

Title	A Novel Method to Assess Platelet Inhibition by Eptifibatide with Thrombelastograph
Sub Title	トロンボエラストグラフを用いた、糖蛋白IIb/IIIa阻害薬エプティフィバタイドによる血小板機能抑制効果の新たな評価法
Author	香取, 信之(Katori, Nobuyuki)
Publisher	慶應医学会
Publication year	2005
Jtitle	慶應医学 (Journal of the Keio Medical Society). Vol.82, No.4 (2005. 12) ,p.15-
JaLC DOI	
Abstract	
Notes	号外
Genre	Journal Article
URL	<a href="https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=AN00069296-20051202-0015">https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=AN00069296-20051202-0015</a>

慶應義塾大学学術情報リポジトリ(KOARA)に掲載されているコンテンツの著作権は、それぞれの著作者、学会または出版社/発行者に帰属し、その権利は著作権法によって保護されています。引用にあたっては、著作権法を遵守してご利用ください。

The copyrights of content available on the Keio Associated Repository of Academic resources (KOARA) belong to the respective authors, academic societies, or publishers/issuers, and these rights are protected by the Japanese Copyright Act. When quoting the content, please follow the Japanese copyright act.

# A Novel Method to Assess Platelet Inhibition by Eptifibatid with Thrombelastograph®

(トロンボエラストグラフを用いた、糖蛋白Ⅱb/Ⅲa阻害薬エプティフィバタイトによる血小板機能抑制効果の新たな評価法)

香 取 信 之

## 内容の要旨

### 1. 背景

Thrombelastograph (TEG) は血液凝固過程における血液弾性粘稠度の変化を測定する機器であり、TEGのパラメータの一つMaximum Amplitude (MA) は血液の凝固因子活性および血小板数・機能の影響を受ける。したがってMAを測定することにより血小板膜表面糖蛋白 glycoprotein Ⅱb/Ⅲa (GP Ⅱb/Ⅲa) 阻害薬の効果を検出できると考えられるが、従来のceliteを用いたTEGでは、GP Ⅱb/Ⅲa阻害薬Eptifibatidの検出は困難であった。そこでトロンビン産生を抑制した状態で血小板を活性化し、フィブリンとの結合能を測定することによってEptifibatidの血小板機能抑制効果をより明確に測定できると仮定し実験を行った。

### 2. 材料・方法

健康成人の全血を用いて、①血小板凝集能検査および②TEGの測定を行った。

①血小板凝集能検査：クエン酸加全血 (Cit検体) およびヘパリン加全血 (UH検体) にEptifibatidを添加し、コントロールとして血小板数を測定した。またADP添加後の血小板数を測定し、その差から血小板凝集率を計算した。

②TEG：Cit検体およびUH検体にEptifibatidを添加した後 (最終濃度0.4, 0.8, 1.6, 4, 8, 24 $\mu$ g/ml)、Cit検体には0.2M CaCl<sub>2</sub> 20 $\mu$ lおよびkaolinを (Kaolin TEG)、UH検体にはbatroxobin-based activator 10 $\mu$ lおよび0.072mM ADP 10 $\mu$ lを (Batroxobin TEG) 添加してTEG測定を行った。

全てのデータは平均値±標準偏差で示した。Cit検体およびUH検体間での血小板数の比較にはpaired t-testを使用した。凝集率およびTEGデータはCit検体およびUH検体間で比較し、Friedman test、post-hocはWilcoxon's t-test、Bonferroni補正を採用した ( $p < 0.01$ )。

### 3. 結果

血小板凝集能検査では、Eptifibatidの添加によってCit検体、UH検体ともにコントロールと比較して有意な凝集率の低下を認めた。Kaolin TEGではEptifibatid濃度24 $\mu$ g/mlでのみ有意なMAの低下を認めたが (56.3 $\pm$ 7.8mm vs. 36.9 $\pm$ 7.0mm ;  $p < 0.01$ )、Batroxobin TEGではEptifibatid濃度0.8 $\mu$ g/ml以上で有意なMAの低下を認めた (44.6 $\pm$ 7.1mm vs. 15.7 $\pm$ 2.3mm ;  $p < 0.01$ )。

### 4. 結論

Batroxobin TEGによって、臨床濃度であっても検出不可能であったclass II GP Ⅱb/Ⅲa阻害薬Eptifibatidの抗血小板作用を検出することが可能である。

## 論文審査の要旨

従来、抗血小板薬であるGlycoprotein Ⅱb/Ⅲa (GP Ⅱb/Ⅲa) 阻害薬Eptifibatidのin vitroでのモニタリング法としては透過光法による凝集能検査が一般的であり、血液弾性粘稠度の変化から血液凝固能をモニターするThrombelastograph (TEG) を用いて抗血小板作用を検出することは困難であった。血液凝固にはフィブリン・フィブリノゲンと血小板のGP Ⅱb/Ⅲaを介した結合が重要であるが、凝固過程で産生するトロンビンによって血小板のGP Ⅱb/Ⅲaが直接活性化されることがEptifibatidの抗血小板作用のTEGでの検出を困難にしてきたと考えた。そこでヘパリンによってトロンビン産生を抑制した後にバトロキシピンでフィブリンを産生させ、血小板とフィブリンのGP Ⅱb/Ⅲaを介した結合強度を血液の弾性粘稠度の変化として捉えることにより、血小板機能を検査することが可能であると仮定し研究を行った。従来のceliteを用いたTEGではEptifibatidの抗血小板作用を血中濃度24 $\mu$ g/ml以上で検出できたのに対し、バトロキシピンを使用したTEGでは0.8 $\mu$ g/mlで検出可能であった。

審査では凝集能検査との相違および血液凝固能検査機器によって血小板機能を測定する意義について質問があったが、凝集能検査がフィブリノゲンおよびvon Willebrand因子を介したGP Ⅱb/Ⅲaの機能を評価するものであるのに対して、今回考案した測定法はGP Ⅱb/Ⅲaを介した血小板とフィブリン網の結合性を測定するため、凝血塊形成における血小板機能の関与を評価可能であると回答された。他の抗血小板薬の検出も可能かとの質問に対しては、COX阻害薬、ADP受容体阻害薬などの検出も可能であると回答された。赤血球とフィブリンの直接的な相互作用が影響する可能性があるかとの質問に対しては、赤血球が受容体を介して直接フィブリンと結合することはないが、血漿成分や血小板数が非常に少ない状態ではその体積比が弾性粘稠度に影響する可能性があるため、今後の研究課題とする回答された。抗凝固薬としてヘパリンは適切であったのかという質問に対しては、クエン酸ではGP Ⅱb/Ⅲaの構造変化をもたらすため血小板機能が正確に評価できないこと、アルガトロバンやヒルジンなどの抗トロンビン薬であれば使用可能であるが、もっとも汎用性が高いヘパリンを選択したと回答された。

本研究は今後の臨床応用について更に検討する必要性は残すものの、GP Ⅱb/Ⅲa阻害薬のみならずTEGでは検出が困難であったシグナル伝達阻害薬の抗血小板作用も検出可能であり、臨床上有意義な研究であると評価された。

論文審査担当者 主査 臨床麻酔学 武田 純三

内科学 池田 康夫 臨床検査医学 村田 満

医化学 末松 誠

学力確認担当者：北島 政樹、池田 康夫

審査委員長：池田 康夫

試問日：平成17年 6月27日