慶應義塾大学学術情報リポジトリ
Keio Associated Repository of Academic resouces

Title	抗凝固療法、抗血小板療法における新規モニタリング指標の網羅的探索
Sub Title	Comprehensive analysis of novel monitoring markers of anticoagulation and antiplatelet therapies
Author	村田, 満(Murata, Mitsuru) 鈴木, 則宏(Suzuki, Norihiro) 河村, 朗夫(Kawamura, Akio)
Publisher	
Publication year	2016
Jtitle	科学研究費補助金研究成果報告書 (2015.)
JaLC DOI	
Abstract	抗血小板薬は主にアテローム血栓症の治療や再発予防に, 抗凝固薬は主に深部静脈血栓症/肺血栓塞栓症や心房細動に用いられている。本研究は血栓症治療薬に特異的な新しい臨床検査指標を包括的に探索開発することを目的とした。 抗血小板薬については脳血管障害, 冠動脈疾患, 周術期患者血栓予防, 心房中隔欠損(ASD)に対するパッチ手術時の血栓予防のための抗血小板薬使用について検討し, 血栓形成能評価法としてPFA-100, VerifyNow, T-TASの意義が示唆された。 抗凝固療法に関しては新規経口抗凝固薬(NOAC)の新たな検査法を検討し, 各凝固検査に対するNOACの特性を十分に考慮する必要性が示唆された。 Antiplatelet drugs are used for the treatment and secondary prevention of atherothrombosis, while anticoagulant drugs are indicated for deep vein thrombosis, pulmonary thromboembolism, and atrial fibrillation. This study aimed for comprehensive exploration and development of new diagnostic markers specific for antithrombotic therapies. For antiplatelet therapy, cerebrovascular disease, coronary artery disease, and thrombosis prevention in perioperative phases (including patch closure of ASD using clopidogrel) were investigated. PFA-100, VerfyNow, and T-TAS were shown to be effective. For anticoagulation therapy, novel diagnostic strategies for new oral anticoagulants (NOACs) were examined. Coagulation studies vary significantly between reagents, which should always be taken into consideration when results were interpreted.
Notes	研究種目 : 基盤研究(A)(一般) 研究期間 : 2011 ~ 2015 課題番号 : 23249030 研究分野 : 医歯薬学
Genre	Research Paper
URL	https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=KAKEN_23249030seika

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.

様　式　Ｃ－１９、Ｆ－１９、Ｚ－１９　（共通）

科学研究費助成事業　　研究成果報告書

平成　２８　年　　５　月　２６　日現在

機関番号：　３２６１２
研究種目：　基盤研究(A)（一般）
研究期間：　2011～2015
課題番号：　２３２４９０３０

研究課題名（和文）抗凝固療法、抗血小板療法における新規モニタリング指標の網羅的探索

研究課題名（英文）Comprehensive analysis of novel monitoring markers of anticoagulation and antiplatelet therapies

研究代表者

村田　満（MURATA, MITSURU）

慶應義塾大学・医学部・教授

研究者番号：５０１７４３０５

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費）　　36,900,000円

研究成果の概要（和文）：　抗血小板薬は主にアテローム血栓症の治療や再発予防に、抗凝固薬は主に深部静脈血栓症/肺血栓塞栓症や心房細動に用いられている。本研究は血栓症治療薬に特異的な新しい臨床検査指標を包括的に探索開発することを目的とした。
　抗血小板薬については脳血管障害、冠動脈疾患、周術期患者血栓予防、心房中隔欠損（ASD）に対するパッチ手術時の血栓予防のための抗血小板薬使用について検討し、血栓形成能評価法としてPFA-100、VerifyNow、T-TASの意義が示唆された。
　抗凝固療法に関しては新規経口抗凝固薬（NOAC）の新たな検査法を検討し、各凝固検査に対するNOACの特性を十分に考慮する必要性が示唆された。

研究成果の概要（英文）：Antiplatelet drugs are used for the treatment and secondary prevention of atherothrombosis, while anticoagulant drugs are indicated for deep vein thrombosis, pulmonary thromboembolism, and atrial fibrillation. This study aimed for comprehensive exploration and development of new diagnostic markers specific for antithrombotic therapies.
For antiplatelet therapy, cerebrovascular disease, coronary artery disease, and thrombosis prevention in perioperative phases (including patch closure of ASD using clopidogrel) were investigated. PFA-100, VerfyNow, and T-TAS were shown to be effective.
For anticoagulation therapy, novel diagnostic strategies for new oral anticoagulants (NOACs) were examined. Coagulation studies vary significantly between reagents, which should always be taken into consideration when results were interpreted.

研究分野：　医歯薬学

キーワード：　血栓症　抗血小板薬　抗凝固薬　モニタリング

１．研究開始当初の背景

血栓症は 21 世紀の国民病であり、その治療や予防に用いられる抗血栓薬（抗血小板薬と抗凝固薬）には莫大な医療費が投じられている。これら薬剤の効果には個体差が大きく、安全、効率的な治療にはモニター検査が重要である。しかるにこれまで長期に渡り実用に供されていた検査、例えば血小板機能検査については、手技の複雑さや影響を受ける因子の多さなどから理想的なモニター検査とは程遠い。また APTT や PT は凝固能を overall で捉える一種の機能検査であり、本来の薬剤標的を特異的に捉えているものではない。今後は新薬として分子標的が明確な抗血小板薬や抗凝固薬が主流になると思われ、それぞれの薬剤に対応した精度の高いモニター検査が求められる。

抗血小板薬は巨大市場を有し、その適正な使用は国民に大きな恩恵をもたらす一方、無益な使用が医療経済に与える影響は甚大である。最近の研究では抗血小板薬服用患者の数割が「抗血小板薬不応または低反応」とされる。その実態は必ずしも明確でないが、降圧剤や脂質異常症治療のような「薬効モニター」をせずに抗血小板薬を使用することは医療費の巨大な損失を発生している可能性が高い。近年、欧米諸国から血栓症の臨床試験の成績が次々と報告されている。アスピリンやワルファリンをはじめとする古典的抗血栓薬に加えて、より強力で副作用の少ない薬物の欧米での成績が明らかになっている。今後、副作用（出血傾向）が極めて少ない抗血栓薬が登場するとの考えもあるが、申請者はこれまでの長い血栓の基礎的研究経験から、いかなる薬剤を用いても効果（血栓阻止）と副作用（出血）は表裏一体であると考えている。従って、モニターが不要であるという理論は少なくとも現時点では根拠に乏しい。

２．研究の目的

本研究は従来型の血小板機能検査や凝固検査から脱却し、それぞれの血栓症治療薬に特異的な新しい臨床検査指標を包括的に探索開発することにより、臨床検査による血栓症治療の効率化を図ることを目的としている。現在市場に出ている総ての抗血小板薬、抗凝固薬、ならびに近未来に主流になると予想される抗血小板薬、抗凝固薬の効果判定の為のモニター法を確立し、これを臨床研究によるアウトカムとの関連にて検証し、標準化に向けた基礎的データを世の中に発信することにある。すなわち血栓症に対する包括的 companion diagnostics(theranostics) の確立が本研究の目的である。

３．研究の方法

本研究は多数の抗血栓薬に対する特異的かつ簡便に測定が出来るモニター法の開発を目指しており、その範囲は抗血小板薬（既存、開発中）、抗凝固薬（既存、開発中）に及ぶ。従って標的分子も多岐にわたり、臨床試料の収集（研究前半）や前向き臨床研究（研究後半）においても疾患が幅広い（脳血栓症、冠動脈疾患、糖尿病、周術期深部静脈血栓症）。

ここでは通常使用されている抗血栓薬対し、一つひとつ別個に検討する。作用時における細胞反応（in vitro および ex vivo）、血漿中物質の変動（in vivo）についてモニターとしての最適分子を決定する。そしてこれら最適分子の測定方法に関してある程度実用的なものをそれぞれ複数準備し、絞り込みを行う。

臨床研究においてこれらの物質の変動とアウトカムを検証する。さらにアウトカムとの関連が示唆された物質について、別の臨床研究において臨床的有用性（治療意思決定における必要性、経済効果）を検証する。

４．研究成果

通常使用されている抗血栓薬一つであるクロピドグレルにまず着目し、患者や健常人の検体収集を開始した。また近年保険収載され急速に普及しつつある新規経口抗凝固薬（NOAC）のうち特に抗 Xa 薬に着目し、有用なモニター法を探索する為の検討を行った。研究期間中、当初予定していた計画の他に下記が新たに追加され、対象疾患、薬剤、血栓形成能評価法がより幅広くカバーされる体制となった。（１）対象疾患としては当初脳血管障害、冠動脈疾患、周術期患者血栓予防、としていたが、これらに加え心房中隔欠損（ASD）に対するパッチ手術時の血栓予防のための抗血小板薬使用、（２）薬剤の使用法の検討としてクロピドグレルの粉砕内服によるローディーングの効果（血小板機能に与える影響）、（３）血栓形成能評価法として研究実施計画に記載した PFA-100 や VerifyNow に加え、新規に開発された血栓形成能解析システム（T-TAS）を取り上げた。T-TAS については健常人を中心に検体を収集してその機能的特徴を観察した。結果、本測定法は従来の血小板機能測定装置と異なる生体内血小板機能を反映している可能性が示唆され、今後の研究に期待がかかった。また T-TAS を用いメタボリック症候群における血栓形成能を解析した。メタボリック症候群における T-TAS 測定値は、凝固系も含めた全血の血栓形成能亢進状態と関連し、虚血性疾患発症予防のためのモニタリングとして有用である可能性が示唆された。さらに抗血小板薬が及ぼす血小板内代謝変化を網羅的に捉えるため、in vitro 培養系での巨核球-血小板産生過程におけるアスピリンの効果を検討した。脂肪前駆細胞は骨髄細胞に比し増殖能が優れ、血小板機能も高い傾向にあることから、血小板産生における抗血小板薬が与える影響を遺伝子発現網羅的解析にて施行する際に有用な細胞と考えた。

抗凝固療法に関しても新規モニタリング指標の探索を行った。具体的にはフィブリノ

ゲン測定試薬を用い、アルガトロバンやダビガトランのモニタリングの為の新たな検査方法を検討した。またトロンビン時間法（Clauss 法）を応用したダビガトランの出血リスク管理を行うため、トロンビン力価の異なる Fbg 測定試薬間での測定値の違いに着目し、アルガトロバンやダビガトランのモニタリングの為の新たな検査方法を検討した。また抗 Xa 薬リバーロキサバン、アピキサバンやエドキサバンが凝固検査値に与える影響について検討した。プロトロンビン時間（PT）、活性化部分トロンボプラスチン時間（APTT）およびアンチトロンビン（AT）活性を測定し、測定値の変動を検討した。PT は 6 試薬、APTT は 4 試薬、AT 活性は 2 試薬（試薬中の残存トロンビンあるいは残存 Xa により測定される合成基質法）で測定し、試薬間差の検討を行った。その結果、各測定試薬のエドキサバンに対する感受性はアピキサバンよりもリバーロキサバンの場合に類似していた。凝固検査に対する新規経口抗凝固薬の影響を十分に理解したうえで、服用患者における検査値を慎重に解釈する必要があると考えられた。今後は作用点が既知の抗血栓薬については標的分子の下流にある因子の変化に着目し臨床検査として実用的なものの絞り込みを行ってゆく必要がある。また NOAC の血中濃度定量の更なる検討が必要である。再現性、直線性試験、最小検出限界試験、干渉物質の確認を行い、正確性評価として当該 NOAC の添加濃度真値との比較相関、および液体クロマトグラフィータンデム質量分析（LC-MS/MS）による測定濃度との比較相関も必要である。

５．主な発表論文等

〔雑誌論文〕（計１３件）

①Fujimori Y, Wakui M, Katagiri H, Ohira K, Shimizu N, Murata M、Evaluation of anticoagulant effects of direct thrombin inhibitors, dabigatran and argatroban, based on the Lineweaver-Burk plot applied to the Clauss assay.、Journal of Clinical Pathology、査読有、69(4)、2016、370-372
DOI:10.1136/jclinpath-2015-203533

②Noguchi K, Morishima Y, Takahashi S, Ishihara H, Shibano T, Murata M、Impact of nonsynonymous mutations of factor X on the functions of factor X and anticoagulant activity of edoxaban.、Blood Coagulation & Fibrinolysis、査読有、26(2)、2015、117-122
DOI:10.1097/MBC.0000000000000147

③Ikeda Y, Shimada K, Teramoto T, Uchiyama S, Yamazaki T, Oikawa S, Sugawara M, Ando K, Murata M, Yokoyama K, Ishizuka N、Low-dose aspirin for primary prevention of cardiovascular events in Japanese patients 60 years or older with atherosclerotic risk factors: a randomized clinical trial.、The Journal of the American Medical Association、査読有、312(23)、2014、2510-2520
DOI:10.1001/jama.2014.15690

④Yamaguchi Y, Moriki T, Igari A, Matsubara Y, Ohnishi T, Hosokawa K, Murata M、Studies of a microchip flow-chamber system to characterize whole blood thrombogenicity in healthy individuals.、Thrombosis Research、査読有、32(2)、2013、263-270
DOI:10.1016/j.thromres.2013.05.026

⑤Matsubara Y, Ono Y, Suzuki H, Arai F, Suda T, Murata M, Ikeda Y、OP9 Bone Marrow Stroma Cells Differentiate into Megakaryocytes and Platelets.、PLoS One、査読有、8(3)、2013、e58123
DOI:10.1371/journal.pone.0058123

⑥Yamaguchi Y, Abe T, Sato Y, Matsubara Y, Moriki T, Murata M、Effects of VerifyNow P2Y12 test and CYP2C19*2 testing on clinical outcomes of patients with cardiovascular disease: A systematic review and meta-analysis.、Platelets、査読有、24(5)、2013、352-361
DOI:10.3109/09537104.2012.700969

⑦村田満、臨床血液学 今後の展望（2013 年版）-血小板・凝固・線溶系疾患-「オーバービュー」、臨床血液、査読無、54(2)、2013、177-178、
http://doi.org/10.11406/rinketsu.54.177

⑧猪狩敦子, 村田満、遺伝子多型・総論（網羅的解析方法:SNP 解析・DNA チップ・GWAS）、血栓止血学会誌、査読有、23(5)、2012、436-442、
http://doi.org/10.2491/jjsth.23.436

⑨村田満、序～止血凝固障害ガイドライン update にあたって～、血液フロンティア、査読無、22(4)、2012、483-486、
https://www.iyaku-j.com/iyakuj/system/M2-1/summary_viewer.php?trgid=24728

⑩Arai T, Kawamura A, Matsubara Y, Yokoyama K, Ikeda Y, Fukuda K, Murata M、Effect of chronic kidney disease on platelet reactivity to dual-antiplatelet therapy in patients treated with drug-eluting stents.、Heart and Vessels、査読有、27(5)、2012、480-485
DOI:10.1007/s00380-011-0180-y

⑪Yokoyama K, Kojima T, Sakata Y, Kawasaki T, Tsuji H, Miyata T, Okamoto S, Murata M、A survey of the clinical course and management of Japanese patients deficient in natural anticoagulants.、Clinical and Applied Thrombosis/Hemostasis、査読有、18(5)、2012、506-513
DOI:10.1177/1076029611435839

⑫Ono Y, Wang Y, Suzuki H, Okamoto S, Ikeda Y, Murata M, Poncz M, Matsubara Y、Induction of functional platelets from mouse and human fibroblasts by p45NF-E2/Maf.、Blood、査読有、120(18)、2012、3812-3821
DOI:10.1182/blood-2012-02-413617

⑬Igari A, Nakagawa T, Moriki T, Yamaguchi Y, Matsumoto M, Fujimura Y, Soejima K, Murata M、Identification of epitopes on ADAMTS13 Recognized by a panel of monoclonal antibodies with functional or non-functional effects On catalytic activity.、Thrombosis Research、査読有、130(3)、2012、e79-83
DOI:10.1016/j.thromres.2012.06.006

〔学会発表〕（計１１件）
①涌井昌俊, 藤森祐多, 片桐尚子, 清水長子, 柴田綾子, 三ツ橋雄之, 村田満、Clauss 法を用いたフィブリノゲン濃度測定における光学的凝固反応曲線に対するダビガトランの影響、第 63 回日本臨床検査医学会学術集会、2016 年 9 月 1 日～2016 年 9 月 4 日、神戸国際会議場, 神戸国際展示場, 神戸ポートピアホテル(兵庫県神戸市)

②藤森祐多, 片桐尚子, 清水長子, 柴田綾子, 三ツ橋雄之, 涌井昌俊, 村田満、直接型経口抗凝固薬添加血漿を用いた活性化部分トロンボプラスチン時間凝固波形解析の検討、第 17 回日本検査血液学会学術集会、2016 年 8 月 6 日～2016 年 8 月 7 日、福岡国際会議場(福岡県福岡市)

③藤森祐多, 大平賢太郎, 片桐尚子, 清水長子, 三ツ橋雄之, 涌井昌俊, 村田満、添加血漿を用いた DOACs の凝固系検査への影響に関する検討、第 10 回日本血栓止血学会学術標準化委員会シンポジウム、2016 年 2 月 20 日、野村コンファレンスプラザ日本橋(東京都中央区)

④大平賢太郎, 藤森祐多, 片桐尚子, 清水長子, 涌井昌俊, 三ツ橋雄之, 村田満、新規経口抗 Xa 薬モニタリングに関する基礎検討、第 15 回日本検査血液学会学術集会、2014 年 7 月 20 日～2014 年 7 月 21 日、仙台国際センター(宮城県仙台市)

⑤森木隆典, 広瀬寛, 神田武志, 横山裕一, 森正明, 武田彩乃, 西村知泰, 和井内由充子, 村田満, 河邊博史、メタボリックシンドロームにおける T-TAS による血栓形成能解析、第 111 回日本内科学会、2014 年 4 月 11 日～2014 年 4 月 13 日、東京国際フォーラム(東京都千代田区)

⑥村田満、抗血小板療法－最近の流れ、第 39 回日本脳卒中学会(STROKE 2014) 日本脳卒中学会・日本血栓止血学会合同シンポジウム、2014 年 3 月 13 日～2014 年 3 月 15 日、大阪国際会議場(大阪府大阪市)

⑦村田満、「臨床検査の再生と将来展望」血液学の発展と臨床検査、第 59 回日本臨床検査医学会学術集会 会長シンポジウム、2012 年 11 月 29 日～2012 年 12 月 2 日、国立京都国際会館(京都府京都市)

⑧山口雄亮, 猪狩敦子, 森木隆典, 松原由美子, 細川和也, 大西朋子, 村田満、新規血流下血栓形成能解析装置 T-TAS と各種血小板機能検査の関連について、第 74 回日本血液学会学術集会、2012 年 10 月 19 日～2012 年 10 月 21 日、国立京都国際会館(京都府京都市)

⑨Ono Y, Matsubara Y, Iida K, Ikeda Y, Okamoto S, Murata M、Generation of platelets from adipose tissues in the absence of exogenously added thrombopoietin、第 74 回日本血液学会学術集会、2012 年 10 月 19 日～2012 年 10 月 21 日、国立京都国際会館(京都府京都市)

⑩猪狩敦子, 森木隆典, 山口雄亮, 中川央充, 和田英夫, 松本雅則, 藤村吉博, 副島見事, 村田満、ADAMTS13 機能ドメインを特異的に認識する自己抗体の定量測定系に関する検討、第 34 回日本血栓止血学会学術集会、2012 年 6 月 7 日～9 日、ハイアットリージェンシー東京(東京都新宿区)

⑪Matsubara Y, Ono Y, Suzuki H, Okamoto S, Ikeda Y, Murata M、Induction of Megakaryocytes and platelets from Fibroblasts by p45NF-E2/Naf.、Platelets 2012 International Symposium、2012 年 6 月 7 日～2012 年 6 月 11 日、ボストン(アメリカ)

〔図書〕（計３件）
①村田満、金芳堂、新・血栓止血血管学 検査と診療、2015、216(2-7)

②村田満、中山書店、最新ガイドライン準拠 血液疾患 診断・治療指針、2015、

576(25-32)

③村田満、医学書院、標準臨床検査医学、2013、413(68-77,91-92)

〔産業財産権〕
○出願状況（計０件）
なし

○取得状況（計０件）
なし

〔その他〕
なし

６．研究組織
(1)研究代表者
村田　満（MURATA, Mitsuru）
慶應義塾大学・医学部・教授
研究者番号：５０１７４３０５

(2)研究分担者
なし

(3)連携研究者
鈴木　則宏（SUZUKI, Norihiro）
慶應義塾大学･医学部･教授
研究者番号：１０１５８９７５

河村　朗夫（KAWAMURA, Akio）
慶應義塾大学･医学部･講師
研究者番号：６０２８６４５８