

論文の内容の要旨

論文題目 全自動血液凝固測定装置 CS-2400 を用いた、実臨床での抗血小板療法の効果判定
氏名 武田悦寛

(序文)

心筋梗塞における冠動脈内の血栓形成には、血管内皮機能の障害とそれに引き続く血小板の活性化が大きく関わっている。このため、虚血性心疾患の治療では、血栓症予防のために、アスピリンによる抗血小板治療が推奨されている。また、冠動脈が高度に狭窄した場合、冠血流を保つための治療の一つとして、経皮的冠動脈形成術 (PCI) がある。薬剤溶出性ステントは、遠隔期のステント血栓症を予防するために、アスピリン単剤療法 (SAPT=Single Anti-Platelet Therapy) に加えて、別の血小板抑制機序をもつ P2Y₁₂ 受容体阻害薬 (チエノピリジン系) を併用するという、抗血小板薬二剤併用療法 (DAPT=Dual Anti-Platelet Therapy) が推奨されている。しかしながら、アスピリンとクロピドグレル (第 2 世代チエノピリジン) の DAPT 下でも、残存血小板機能が高い症例では、ステント血栓症の頻度が高いことが報告されている。プラスグレル (第 3 世代チエノピリジン) は、クロピドグレルの欠点を改善すべく我が国で開発されたものだが、逆に出血の副作用が多くなるという欠点がある。このように抗血小板療法は、病的血栓の形成を予防する一方で、生理的な止血機能を阻害する為に不可逆的に出血性合併症が惹起され、“副作用” が必発するという矛盾を内包している。

この矛盾を解決すべく、抗血小板薬の薬効評価の必要性が提唱された。抗血小板薬の量を調節することで治療成績向上を目指す「個別化医療」がクローズアップされるようになり、臨床現場における血小板機能検査に基づき、介入を行った大規模臨床研究 (GRAVITAS trial、TRIGGER-PCI、ARCTIC trial など) が行われた。これらの研究は血小板凝集能の簡易モニタリングである VerifyNow[®] (米国 Accumetrics 社) システムを用いたものである。そこでは、残存血小板機能が高い場合に P2Y₁₂ 受容体阻害薬を強化する血小板機能モニター群と、通常治療群とで予後を比較した。その結果、群間で心血管疾患による死亡、心筋梗塞発症率、ステント血栓症や出血の合併症に有意差はなく、VerifyNow[®]を用いた血小板機能モニタリングによる抗血小板薬調整の有効性は示されなかった。しかしながら、VerifyNow[®]は、現在のゴールドスタンダード法である透過光法の血小板凝集能と高い相関性を有するものの、あくまでポイント・オブ・ケアの簡易モニタリング法である。GRAVITAS Study などの臨床研究は、本格的な血小板凝集能検査用の機器で検証されたものではない。

現在、抗血小板療法のモニタリングの分野では、ソフトウェアとハードウェアの両面で開発が進んでおり、モニタリング法の標準化の流れに向かっているが、最近、凝固スクリーニング検査機器として多くの病院で汎用されているシスメックス株式会社が全自動血液凝固測定装置 CS-2400 を開発した。これにより従来の労働集約性であった透過光法の手技が、既存の測定機器と比較してもより簡便となった。CS-2400 の同時再現性や、既存血小板凝集能測定器との良好な相関性は既に複数報告されている。また CS-2400 と透過光法以外の測定原理による血小板凝集能についても良好な相関性は確認されている。この全自動血液凝固測定装置 CS-2400 を用いた血小板機能モニタリングによって、薬剤溶出性ステント留置後の抗血小板薬を調整することで、心血管イベントの抑制や出血の副作用を軽減できる可能性があると考えた。

そこで今回は、CS-2400 の実臨床における血小板機能モニターの有効性を検討する第一段階として、健常人を対象とした血小板凝集能の検者間・検者内誤差の検討、および、虚血性心疾患患者を対象とした抗血小板薬投与による血小板凝集能低下を検出できるかの検討を行った。

(目的)

本研究の目的は、(1) 健常ボランティアを対象とした CS-2400 による血小板凝集能指標の検者間・検者内誤差の検討、(2) アスピリン内服中の労作性狭心症患者が、チエノピリジン系抗血小板薬を追加内服したことによる血小板凝集能の低下効果を、CS-2400 による血小板凝集能指標

によって検出できるかを検討することにある。

(方法-1：研究プロトコール)

(1) 健常ボランティアを対象とした CS-2400 による血小板凝集能指標の検者間・検者内誤差の検討

2018 年 3 月から 4 月までに主に東京大学医学部附属病院検査部の掲示板にある募集を通してリクルートした健常人ボランティアを対象とした。本研究は東京大学倫理委員会によって事前に承認された(審査番号 1584-(5))。各ボランティアから 1 回ずつ採血を行い、2 名の検者が CS-2400 を用いて血小板凝集能を測定し、検者間誤差を検定した。また、同一検体を用いて、各血小板惹起物質の各濃度における血小板凝集能を、それぞれ連続 10 回測定し、検者内誤差を検定した。

(2) アスピリン内服中の労作性狭心症患者が、チエノピリジン系抗血小板薬を追加内服したことによる血小板凝集能の低下効果を、CS-2400 による血小板凝集能指標によって検出できるかの検討

2016 年 7 月から 2017 年 3 月までに当院で診断目的に冠動脈造影検査(CAG)を施行された安定狭心症の患者を対象とした。本研究は東京大学倫理委員会によって事前に承認された(審査番号 11122-(2))。CAG の結果により、① 経皮的冠動脈形成術の適応となり、CAG 翌日からチエノピリジン系抗血小板薬が追加処方(抗血小板二剤併用群：SAPT-DAPT 群とする)された群、② 薬物治療または外科的治療(冠動脈バイパス手術)の適応となり、アスピリンのみ継続処方された群(アスピリン単剤群：SAPT-SAPT 群とする)、の 2 群に分けた。今回の研究では、この、SAPT-SAPT 群と SAPT-DAPT 群を解析対象とした。なお、① SAPT-DAPT 群では、追加処方されたチエノピリジン系抗血小板薬は、クロピドグレル(第 2 世代チエノピリジン系抗血小板薬)またはプラスグレール(第 3 世代チエノピリジン系抗血小板薬)のどちらかである。

各症例で、① CAG 前(Baseline)と② CAG 後 1 カ月から 1 年の間(Follow-up)の 2 回のタイミングで採血を行い、CS-2400 を用いて血小板凝集能を測定した。SAPT-DAPT 群と SAPT-SAPT 群との間で血小板凝集能を比較することで、バイアスピリン内服中の患者において、チエノピリジン系抗血小板薬投与による血小板凝集能の低下を、CS-2400 により検出できるかを検討した。さらに、SAPT-DAPT 群において、クロピドグレルとプラスグレールとの間で薬効の差を検出できるか検討した。

(方法-2：血小板凝集能測定法と評価項目)

CS-2400 を用い、血小板惹起物質添加による血小板凝集率を測定した(透過光法)。本研究では、血小板惹起物質として、アデノシン 5'-二リン酸(adenosine 5'-diphosphate：ADP)、Collagen を用いた。試薬濃度は、ADP は 10 μ M、3 μ M、2 μ M、1 μ M、Collagen は 5 μ g/mL、2 μ g/mL、1 μ g/mL、0.25 μ g/mL とした。血小板凝集能のパラメータのうち、「透過光血小板凝集検査法の標準化：国際血栓止血学会 血小板機能標準化部会からの提言」(2013 年)を参照し、最大凝集率を用いて定義した① 解離率、② 抑制率、を評価した。また、③ PATI (=platelet aggregatory threshold index：凝集閾値)も評価した。

統計解析はすべて両側検定とし、P 値 0.05 未満を有意差ありとみなした。統計解析ソフトは JMP Pro14 を用いた。

(結果)

(1) 健常ボランティアを対象とした CS-2400 による血小板凝集能指標の検者間・検者内誤差の検討

① 検者間誤差の検討：級内相関係数 ICC(Case2 検者間信頼性)は血小板惹起物質の種類と濃度により、0.358(Fair)~0.862(Almost perfect)とばらつきがみられた。② 検者内誤差の検討：変動係数は 10%以下であった。

(2) アスピリン内服中の労作性狭心症患者が、チエノピリジン系抗血小板薬を追加内服したことによる血小板凝集能の低下効果を、CS-2400 による血小板凝集能指標によって検出できるかの検討

① SAPT-SAPT 群と SAPT-DAPT 群との比較：ADPPATI5 分値、CollagenPATI5 分値、ADP

全濃度(10, 3, 2 および 1 μ M)、Collagen 各濃度(5,2 および 1 μ g/ml)の抑制率は、SAPT-SAPT 群と比較して SAPT-DAPT 群で有意に上昇した。

② クロピドグレル群とプラスグレル群との比較：CollagenPATI5 分值は、クロピドグレル群では Baseline 時と Follow-up 時に有意差は認めないが、プラスグレル群では Follow-up 時に有意に上昇した。ADP 全濃度(10, 3, 2 および 1 μ M)、Collagen 各濃度(2,1 および 0.25 μ g/ml)の抑制率は、クロピドグレル群と比較して、プラスグレル群で有意に上昇した。

(考察)

本研究は、凝固スクリーニング検査機器として多くの病院で汎用されているシスメックス株式会社の全自動血液凝固測定装置 CS-2400 を用いて虚血性心疾患の実臨床における抗血小板療法の効果判定を行った研究であり、私が調べた中では、最も症例数が多い研究である。まず CS-2400 の信頼性と妥当性に関して、検者間誤差の検証ではばらつきが生じたが、血小板そのものが示す特異的な血小板凝集反応パターンの経時的変化の影響が考えられた。検者内誤差は良好な相関性を確認した。本研究の結果、CS-2400 により、バイアスピリンにチエノピリジン系抗血小板薬を上乗せ投与することによる血小板凝集能の低下を検出できた。また、クロピドグレルとプラスグレルの薬効の差を検出できた。

(今後の見通しについて)

今回の対象患者(Baseline 時)は、アスピリン単剤内服中の安定狭心症である。低リスク患者コホートで、かつ、短期間フォローである。長期的なフォローアップでは、臨床アウトカムのみならず、患者側・デバイス側・術者側要素などの PCI に関連する因子も含めた多変量解析を行う。また、血漿および血清残検体は、1 回目 (Baseline) と 2 回目 (Follow-up) の検体確保時に、患者の同意を得た上で別個凍結保存してある。将来、血小板機能に関わると思われる生化学的マーカーがあれば、改めて倫理申請の上、追加で測定する。

(結論)

今回の臨床研究の結論は、全自動血液凝固測定装置である CS-2400 が臨床現場において、血小板機能抑制のモニタリングに有用である、と評価できる。チエノピリジン系 P2Y₁₂ 受容体阻害薬に関しては、第 2 世代のクロピドグレルと第 3 世代のプラスグレルについて、薬効の差を検出できる可能性までも合わせて示した。血小板機能モニタリングの標準化に向けて一歩前進することが期待される。