

# AMCoR

Asahikawa Medical University Repository <http://amcor.asahikawa-med.ac.jp/>

医療 (1997.03) 51巻3号:111~115.

慢性期脳血栓症のvon Willebrand factor活性に及ぼす抗血小板薬の効果

相澤仁志、森田一豊、山口修二、南宏明、佐々木信博、飛世克之

## 慢性期脳血栓症の von Willebrand factor 活性におよぼす抗血小板薬の効果

相澤仁志 森田一豊 山口修二  
南 宏明 佐々木信博 飛世克之

**要旨** 慢性期脳血栓症における血管内皮障害指標におよぼす抗血小板薬の効果を検討した。対象は慢性期脳血栓症患者で、抗血小板薬未投与時とアスピリン81 mg/日またはチクロピジン200 mg/日を4週間投与後に、血管内皮障害の指標の一つである血漿 von Willebrand factor 活性 (vWF) を固定血小板凝集法で測定した。

血漿 vWF は抗血小板薬未投与の脳血栓症でコントロールに比べ高値を示し、血管内皮障害の存在が示唆された。この血漿 vWF の上昇はアスピリン81 mg/日またはチクロピジン200 mg/日の投与により抑制された。したがって抗血小板薬は脳血栓症患者における血管内皮障害の進展を抑制する可能性が示唆された。

(キーワード: 脳血栓症, 抗血小板薬, 血管内皮障害, フォンビレプラント因子, 血小板凝集能)

### THE EFFECT OF ANTIPLATELET DRUGS ON PLASMA VON WILLEBRAND FACTOR IN PATIENTS WITH CEREBRAL THROMBOSIS

Hitoshi AIZAWA, Kazutoyo MORITA, Shuji YAMAGUCHI,  
Hiroaki MINAMI, Nobuhiro SASAKI and Katsuyuki TOBISE

We evaluated the effect of aspirin and ticlopidine on the level of plasma von Willebrand factor (vWF), a marker of vascular endothelial damage, in patients with cerebral thrombosis. Plasma vWF was measured by ristocetin cofactor assay in the controls and the patients with cerebral thrombosis before and after oral administration of a daily 81 mg of aspirin or a daily 200 mg of ticlopidine for 4 weeks. The levels of plasma vWF were elevated in the pre-treated patients with cerebral thrombosis as compared with the controls. The vWF activities decreased in the patients after treated with daily 81 mg of aspirin or daily 200 mg of ticlopidine for 4 weeks. These results suggest that these antiplatelet drugs can prevent the vascular endothelial damage in the patients with cerebral thrombosis.

(Key Words: cerebral thrombosis, antiplatelets, vascular endothelial damage, von Willebrand factor, platelet aggregation)

National Institute of Neurological Disorders and Stroke (NINDS) の脳血管障害分類第三版によると、脳梗塞はアテローム血栓性脳梗塞、心原性脳塞栓、ラクナ脳梗塞、その他に臨床分類されている<sup>1)</sup>。心原性脳梗塞を除く脳梗塞の二次予防には主に抗血小板薬が使用さ

れ、ticlopidine aspirin stroke study (TASS)<sup>2)</sup>、The Canadian American ticlopidine study (CATS)<sup>3)</sup>、antiplatelet trialists' collaboration (ATP)<sup>4)</sup>などのメタアナリシスにより、その有用性が認められている。アテローム血栓性脳梗塞やラクナ脳梗塞の一部<sup>5) 6)</sup>で

国立療養所名寄病院 National Hospital Nayoro 内科

Address for reprints: Hitoshi Aizawa, Department of Internal Medicine, National Hospital Nayoro  
91-3 Kyokutoh, Nayoro, Hokkaido, 096 JAPAN

Received October 18, 1996

Accepted November 15, 1996

は血栓による血管内腔の閉塞がその発症原因と考えられ、その治療には抗血小板薬療法が採用されている。しかし、血栓形成機序には血小板や凝固因子などの血液成分や血流の変化などの要因のほか血管内皮障害の存在も重要な因子であり、これらの因子間の密接な関連により血管壁に血栓が形成されると考えられる。現在、抗血小板薬の血小板に対する作用はよく知られているが、血管内皮障害に対する作用については不明な点が多い。そこで、われわれは慢性期の脳血栓症において、血管内皮障害の指標のひとつである血漿 vWF を測定し、抗血小板薬による影響を検討した。また同時に血小板機能として血小板凝集能と血小板放出因子も検討した。

#### 対象および方法

慢性期のアテローム血栓性脳梗塞とラクナ脳梗塞（以下、両者を併せて便宜的に脳血栓症とする）を対象とし、心原性脳塞栓は除外した。はっきりとした脳血管障害や心筋梗塞などの動脈硬化病変のない34例をコントロールとした。脳血栓症患者は抗血小板薬未投与群（P: pre-treated）35例と81 mg/日のアスピリン投与群（A: aspirin）29例、200 mg/日のチクロピジン投与群（T: ticlopidine）31例の3群に分類した（Table 1）。抗血小板薬投与群では、その投与開始より4週間後に検査を施行した。vWF は固定血小板凝集法で測定した。血小板凝集能は ADP とコラーゲンを凝集惹起物質とし、その測定にはメバニクス社 PAC-6S 型血小板凝集計を用いた。血小板凝集能の評価は grading curve (GC) により判定し、強度の亢進から過剰の抑制までⅢ、Ⅱ、Ⅰ、0、-Ⅰ、-Ⅱの6段階に分類した<sup>7)</sup>（Table 2）。血小板凝集惹起物質として ADP を0.5, 1, 2, 4  $\mu$ M の4濃度

Table 1 Clinical information of the patients

	n	age (mean $\pm$ SD)	male/ female
control	34	69 $\pm$ 12	11/23
cerebral thrombosis			
P: pre-treated	35	74 $\pm$ 9	15/20
A: 81mg/day of aspirin	29	74 $\pm$ 8	14/15
T: 200mg/day of ticlopidine	31	71 $\pm$ 11	15/16

Table 2

Definitions of grading curve (GC) type according to platelet aggregation with 4 concentrations of ADP (0.5, 1.0, 2.0 and 4.0  $\mu$ M). Platelet aggregation with 0.25, 0.5, 1.0 and 2.0  $\mu$ g/ml of collagen were also used.

GC type	aggregation	ADP concentration producing irreversible aggregation
Ⅲ	markedly increased	less than 0.5 $\mu$ M
Ⅱ	moderately increased	0.6~1.0 $\mu$ M
Ⅰ	slightly increased	1.1~2.0 $\mu$ M
0	normal	2.1~4.0 $\mu$ M
-Ⅰ	slightly decreased	20~25% of biphasic aggregation at 4.0 $\mu$ M of ADP
-Ⅱ	decreased	reversible aggregation at 4.0 $\mu$ M of ADP

に固定し、横軸を ADP 濃度、縦軸を5分値凝集率とし、それを結んだ線を GC とした。コラーゲンについては 0.25, 0.5, 1, 2  $\mu$ g/ml の4濃度を用いた。また血小板放出因子として  $\beta$ -トロンボグロブリン ( $\beta$ TG) と血小板第4因子 (PF4) をそれぞれ ELISA 法で測定した。

4群間の比較には one-factor ANOVA を用いた。

#### 結 果

##### (1) vWF (Fig. 1)

vWF はコントロール群に比べ P 群で有意に高かった。脳血栓症群の中では、A 群と T 群はいずれも P 群より vWF は有意に低値であった。コントロールと A 群、T 群の間に有意差はなかった。

##### (2) 血小板凝集能 (Fig. 2)

GC type の分布から ADP 凝集とコラーゲン凝集の程度を分析した。コントロール群の ADP 凝集ではⅠと0で約60%を占めた。T 群は他の群に比べ有意に強く ADP 凝集が抑制された。コントロール群と P 群、A 群の間で、ADP 凝集の強さに有意の差はなかった。

コントロール群のコラーゲン凝集ではⅠと0で約60%を占めた。A 群、T 群ともにコントロール群や P 群よりコラーゲン凝集が抑制されていたが、その程度は A 群に強かった。

##### (3) 血小板放出因子 (Fig. 3)

血小板放出因子は  $\beta$ TG と PF4 のいずれもコントロール群に比べ P 群で高値を示した。他の群間には有意差はなかった。

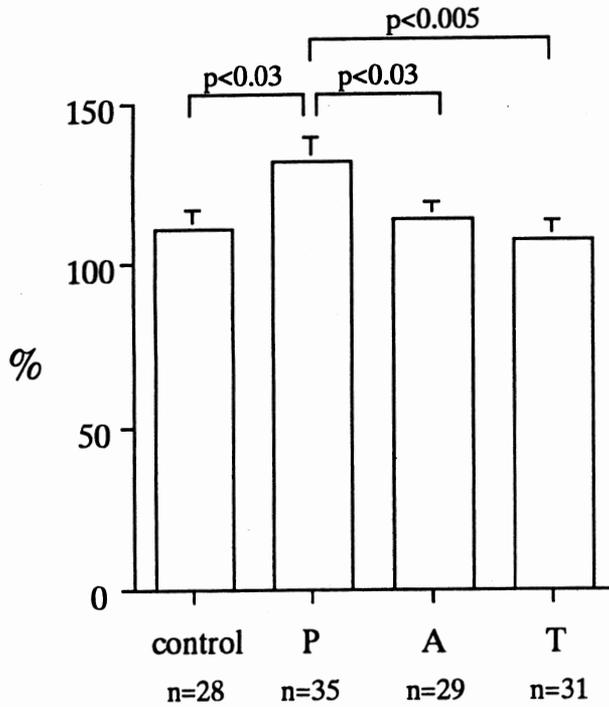


Fig 1. Plasma von Willebrand factor activities (mean  $\pm$  SEM) measured by ristocetin cofactor assay. One-factor ANOVA was used for the statistical analyses. P=pretreated cerebral thrombosis; A=81mg/day of aspirin; T=200mg/day of ticlopidine

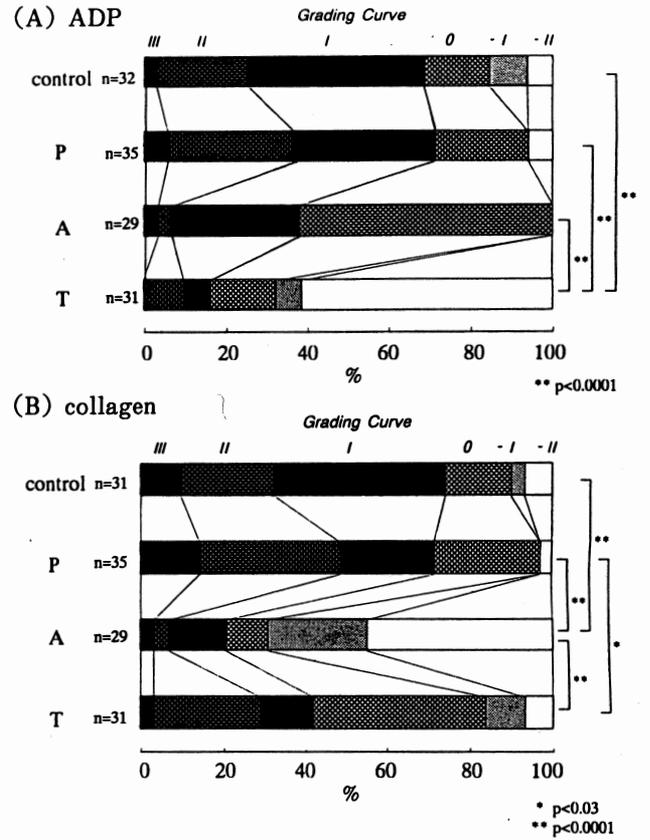


Fig 2. Grading of platelet aggregation induced by (A) ADP (0.5, 1.0, 2.0, 4.0  $\mu$ M) or (B) collagen (0.25, 0.5, 1.0, 2.0  $\mu$ g/ml). One-factor ANOVA was used for the statistical analyses. P=pre-treated cerebral thrombosis; A = 81mg/day of aspirin; T = 200mg/day of ticlopidine.

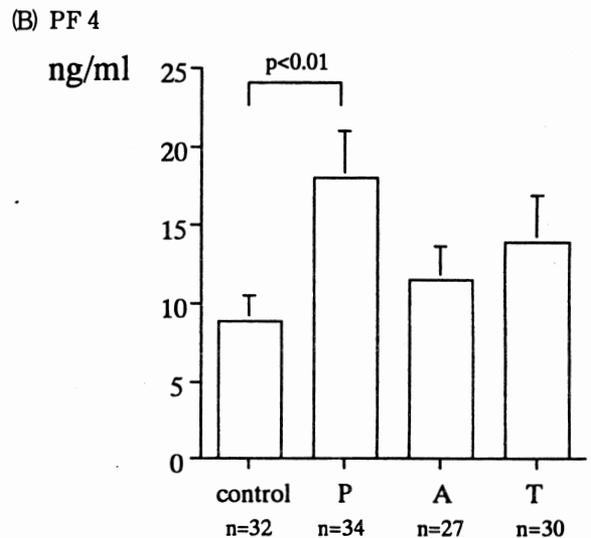
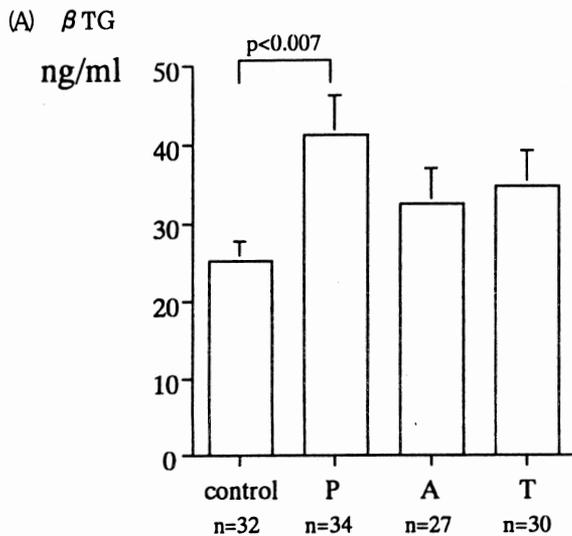


Fig 3. Concentrations of (A) plasma  $\beta$ -TG and (B) plasma PF4 (mean  $\pm$  SEM). One-factor ANOVA was used for the statistical analyses. P=pre-treated cerebral thrombosis; A = 81mg/day of aspirin; T=200mg/day of ticlopidine.

## 考 察

### 1. 脳血栓症の血管内皮障害と vWF について

血栓症の発症は血小板の血管壁への粘着がきっかけであるが、抗血栓性機能を有する血管内皮細胞の変性・脱落や機能障害が存在していることが前提となる。近年、血管障害を基礎とする種々の疾患で慢性的に血中 vWF が上昇していることから、vWF が血管内皮障害の指標として有用であるとの報告が集積されつつある<sup>8)~11)</sup>。生理的には vWF は主に血管内皮細胞で生成され constitutive pathway と regulatory pathway で分泌される。すなわち、内皮細胞は血漿中や内皮下細胞間質に vWF を分泌し (constitutive pathway)、また一部は内皮細胞内の Weibel-Palade body に蓄え<sup>12)</sup>、トロンビンなど種々の刺激に反応して分泌する (regulatory pathway)<sup>13)</sup>。vWF は血小板の  $\alpha$  顆粒内にも存在するが、流血中の vWF は主に血管内皮細胞に由来すると考えられている<sup>14)</sup>。本研究で慢性期脳血栓症患者の血漿 vWF が高値を示したことは、脳血栓症における血管内皮障害の存在を示唆するものと考えられる<sup>10)</sup>。アスピリン 81 mg/日またはチクロピジン 200 mg/日を 4 週間投与された脳血栓症患者ではいずれも vWF がコントロール群レベルまで低下した。また抗血小板薬により血小板の  $\alpha$  顆粒内に存在する  $\beta$ TG と PF4 が低下する傾向にあったことから、血漿 vWF の低下に血小板由来の vWF の低下も一部関与していた可能性があるが、前述したようにその影響は少ないものと考えられた<sup>13) 14)</sup>。以上より抗血小板薬によって脳血栓症患者的血管内皮障害の進展が抑制される可能性が示唆された。

### 2. アスピリンと血管内皮について

アスピリンは実験的血管損傷において、血管内皮や平滑筋細胞の増殖やコレステロールの取り込みを抑制しないとする報告<sup>15)</sup>、内膜増生と中膜肥厚を抑制するという報告<sup>16)</sup>がみられ一定の見解が得られていない。また白血球と血管内皮の接着に関しても、アスピリンは促進するという報告と、抑制するという報告が対峙している。これらの成績の差は実験方法の違いにより生じた可能性があると考えられる。

血小板自体と血管内皮細胞では含有するプロスタグランジン (PG) H<sub>2</sub> から、前者ではトロンボキサン (TX) A<sub>2</sub>、後者では GPI<sub>2</sub> が産生される。血小板の TXA<sub>2</sub> は、血小板凝集促進作用と血管収縮作用を有し、血管内皮の GPI<sub>2</sub> は血小板凝集抑制作用と血管拡張作用を有する。われわれが用いたアスピリン 81 mg/日のような低用量では血小板の TXA<sub>2</sub> 生成を抑制するが、内皮の GPI<sub>2</sub>

産生には影響が少ないと報告されている<sup>17)</sup>。一方、高用量のアスピリンは血小板のシクロオキシゲナーゼ阻害により TXA<sub>2</sub> の生成を抑制するのみならず、血管内皮のシクロオキシゲナーゼ阻害により GPI<sub>2</sub> 産生も抑制してしまい、いわゆるアスピリンジレンマが問題となることが指摘されている。

### 3. チクロピジンと血管内皮について

チクロピジンは in vitro での抗血小板作用はきわめて弱く、in vivo ではその代謝産物が血小板機能を抑制していると考えられている。その作用機序としては、血小板膜糖蛋白 GPIIb/IIIa と fibrinogen との結合を阻害すること、アデニルシクラーゼを活性化し cAMP を増加することにより血小板機能を抑制することなどが考えられている<sup>18) 19)</sup>。またチクロピジン自体には血管弛緩作用がなく、血管内皮の PGI<sub>2</sub> 合成にも影響しないとされている。

### 4. 血小板機能と血管内皮について

血小板の  $\alpha$  顆粒内に存在する PDGF (platelet-derived growth factor)<sup>20)</sup> や、細胞質中に存在する PD-ECGF (platelet-derived endothelial cell growth factor)<sup>21)</sup> は、血管平滑筋細胞の遊走や内皮細胞の増殖をもたらす。また活性化血小板は直接血管内皮を障害し、アスピリンによりその細胞毒性は減弱される<sup>22) 23)</sup>。血小板には血管内皮の作用に拮抗するような血管収縮性物質、たとえば TXA<sub>2</sub>、PGF<sub>2</sub>、セロトニンなども存在する。したがって血小板の過剰な活性化を抑制することも血管内皮を保護する方向に作用し、結果として動脈硬化の進展を抑制する可能性があると考えられた。

### 5. 脳血栓症の血小板凝集能と血小板放出因子について

われわれの検討ではアスピリンにより主にコラーゲン凝集が抑制された。一般にアスピリンはアラキドン酸凝集、コラーゲン凝集、エピネフリン凝集をよく阻害するが、TXA<sub>2</sub> の関与の少ないトロンビン凝集、ズリ応力凝集などは抑制しないという。チクロピジンは ADP 凝集、コラーゲン凝集とも抑制したが、その程度は ADP 凝集に強くあらわれ、いずれも今までの報告と矛盾しない。血小板放出因子は脳血栓症で高値を示し、抗血小板薬により低下する傾向にあった。したがって、抗血小板薬によって脳血栓症患者的の過剰な血小板機能亢進が抑制されたと考えられる。

今後はアスピリンやチクロピジン、さらに SR 25990 C など新しい抗血小板薬も開発されているので、これらの薬剤の至適用量を再発防止と血小板機能、副作用という点のみならず、血管内皮に対する作用も含め検討する必要があると思われた。

謝辞：血小板凝集能の測定を担当していただいた国立療養所名寄病院検査科坂元隆司、伊原紀彦の両氏に深謝いたします。

文 献

- 1) Whisnant JP, Basford JR, Bernstein EF et al : Special report form the National Institute of Neurological Disorders and Stroke. Classification of cerebrovascular diseases III. Stroke, 21 : 637, 1990
- 2) Hass WK, Eatson JD et al : for the Ticlopidine Aspirin Stroke Study Group : Arandomised trial comparing ticlopidine hydrochloride with aspirin for the prevention of stroke in high-risk patients. N Engl J Med, 321 : 501, 1989
- 3) Gent M, Blakely JA, Easton JD et al : and the CATS group : The Canadian American ticlopidine study (CATS) in thromboembolic stroke. Lancet 1 : 1215, 1989
- 4) Antiplatelet Trialists' Collaboration: Collaborative overview of randomized trials of antiplatelet therapy-I: Prevention of death, myocardial infarction, and stroke by prolonged antiplatelet therapy in various categories of patients. Br Med J, 308 : 81, 1994
- 5) Millikan C, Futrell N : The fallacy of the lacune hypothesis. Stroke, 21 : 1251, 1990
- 6) Tei H, Uchiyama S, Maruyama S : Capsular infarcts : Localization, size and etiology of pure motor hemiparesis, sensory motor stroke and ataxic hemiparesis. Acta Neurol Scand. 88 : 269, 1993
- 7) 間瀬勘史, 柳原 太, 浅田高広他 : Grading Curve による血小板凝集能検査の評価。臨病理, 40 : 857, 1992
- 8) Pearson JD: Markers of endothelial perturbation and damage. Br J Rheumatol, 32 : 651, 1993
- 9) Blann AD, Naqvi T, Waite M et al : Von Willebrand Factor and endothelial damage in essential hypertension. J Human Hyper, 7 : 107, 1993
- 10) 郡山達男, 片山禎夫, 田中英司他 : 各種の血管障害における血栓・止血学的指標-脳血栓症, 糖尿病ならびに膠原病性ニューロパチーにおける検討-, 臨神経, 33 : 606, 1993
- 11) 郡山達男, 田中英司, 片山禎夫他 : 慢性期脳血栓症における抗血小板療法の治療効果-血栓・止血学的指標による検討-, 臨神経, 34 : 771, 1994
- 12) Wagner DD, Olmsted JB, Marder VJ : Immunolocalization of von Willebrand protein in Weibel-Palade bodies of human endothelial cells. J Cell Biol, 95 : 355, 1982
- 13) Wagner DD : Cell biology of von Willebrand factor. Annu Rev Cell Biol, 6 : 217, 1990
- 14) Pearson JD : Vessel wall interactions regulating thrombosis. Br Med Bull, 50 : 776, 1994
- 15) Landymore RW, MacAulay MA, Fris J : Effect of aspirin on intimal proliferation and tissue cholesterol in long-term experimental bypass grafts. Eur J Cardiothorac Surg, 6 : 422, 1992
- 16) Volker W, Faber V : Aspirin reduces the growth of medial and neointimal thickenings in balloon-injured rat carotid arteries. Stroke, 21 (12 Suppl) : IV 44, 1990
- 17) Uchiyama S, Sone T, Nagayama T, et al : Combination therapy with low-dose aspirin and ticlopidine in cerebral ischemia. Stroke, 20 : 1643, 1989
- 18) Cahill M, Mistry R, Barnett DB : The human platelet fibrinogen receptor : clinical and therepeutic significance J Clin Pharmacol, 33 : 3, 1992
- 19) Schror K : The basic pharmacology of ticlopidine and clopidogrel. Platelets, 4 : 252, 1993
- 20) Ross R, Glomset J, Kariya B et al : A platelet-dependent serum factor that stimulates the proliferation of arterial smooth muscle in vitro. Proc Nalt Acad Sci USA, 71 : 1207, 1974
- 21) Miyazono K, Okabe T, Urabe A et al : Purification and properties of endothelial cell growth factor from human platelets. J Biol Chem, 262 : 4098, 1987
- 22) Numano F, Kishi Y, Ashikaga T et al : Antiplatelet therapy for atherosclerotic disorders. Ann NY Acad Sci, 598 : 356, 1990
- 23) Numano F, Kishi Y, Ashikaga T et al : What effect does controlling platelets have on atherosclerosis? Ann NY Acad Sci, 748 : 383, 1995

(平成 8 年 10 月 18 日 受付)

(平成 8 年 11 月 15 日 受理)