

# AMCoR

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

旭川医科大学フォーラム (2014.02) 14巻1号:52～53.

平成23.24年度「独創性のある生命科学研究」個別研究課題  
8) 連続投与した際のONO-1301の抗血小板作用の薬理的解析

研究代表者 柏木 仁

## 8) 連続投与した際の ONO-1301 の抗血小板作用の薬理学的解析

研究代表者 柏木 仁

### [目的]

血小板は、トロンボキサン (TX) A<sub>2</sub> とプロスタグランジン (PG) I<sub>2</sub> によりその機能が調節されている。PGI<sub>2</sub> 受容体 (IP) のアゴニストは、血小板凝集抑制作用を持つが、連続投与によりその作用が容易に減弱することが知られている。一方、研究代表者は、IP アゴニスト様作用と TXA<sub>2</sub> 合成酵素阻害作用を併せ持った ONO-1301 をマウスに連続投与しても、血小板凝集抑制作用が減弱しないことを見出した。そこで本研究は、IP アゴニストの連用に伴う作用減弱の機序を解明することを目的に、連続投与した際の ONO-1301 の抗血小板作用を解析した。

### [方法]

マウスに ONO-1301、ベラプロスト (IP アゴニスト) もしくはオザグレル (TXA<sub>2</sub> 合成酵素阻害薬) を経口投与して 2 時間後に多血小板血漿 (PRP) を調製し、コラーゲンで惹起した血小板凝集に及ぼす各試薬の影響を検討した。また、マウスから洗浄血小板と血漿を調製し、cAMP 産生量と TXB<sub>2</sub> (TXA<sub>2</sub> の安定代謝物) 濃度を測定した。

### [結果]

#### ONO-1301 の血小板凝集抑制作用

ONO-1301 は、コラーゲンで惹起した血小板凝集を濃度依存的に抑制し、その IC<sub>50</sub> 値は 460 nM であった。また、代表的な IP アゴニストであるベラプロストを用いて検討した結果、その凝集抑制作用の効力は ONO-1301 よりも高く、IC<sub>50</sub> 値は 6.8 nM であった。一方、IP 欠損マウスの血小板を用いて検討した結果、ONO-1301 とベラプロストの凝集抑制作用はほぼ完全

に消失した。

#### ONO-1301 による cAMP 産生量の増加

マウスから洗浄血小板を調製して細胞内 cAMP 量を測定した結果、ONO-1301、ベラプロスト共に cAMP 量を有意に増加させた。また、この cAMP 量の増加は、IP 欠損マウスにおいてほぼ完全に消失した。

#### ONO-1301 の TXA<sub>2</sub> 合成酵素阻害作用

ONO-1301 の TXA<sub>2</sub> 合成酵素阻害作用のみを評価するため、IP 欠損マウスから調製した洗浄血小板の TXB<sub>2</sub> 量を測定した。ONO-1301 は、アラキドン酸の添加により誘導された TXB<sub>2</sub> 量の増加を濃度依存的に抑制し、その IC<sub>50</sub> 値は 12 μM であった。また、TXA<sub>2</sub> 合成酵素阻害薬であるオザグレルを用いて同様に検討した結果、その IC<sub>50</sub> 値は 3.4 μM であった。

#### ONO-1301 の血小板凝集抑制作用に及ぼす連続投与の影響

ベラプロストをマウスに連続で経口投与した結果、その血小板凝集抑制作用は経時的に減弱して 10 日目にはほぼ消失した。一方、ONO-1301 の血小板凝集抑制作用は、連続投与しても 10 日間保持されていた。また、オザグレルのマウス血小板に対する凝集抑制作用は、非常に弱いものではあったが連続投与しても 10 日間保持されていた。

#### ONO-1301 の連続投与による cAMP 産生量の変化

ベラプロストを連続で投与したマウスから洗浄血小板を調製し、ベラプロストとフォルスコリン (アデニル酸シクラーゼ活性化薬) で産生を誘導した cAMP 量を測定した結果、連続投与により cAMP 量の増加は有意に抑制された。また、予想に反して、ONO-1301 を連続で投与した場合もベラプロストとフォルスコリンによる cAMP 量の増加は有意に抑制された。

#### ONO-1301 の連続投与による血漿 TXB<sub>2</sub> 濃度の変化

ベラプロストを連続で投与したマウスから血漿を調製して TXB<sub>2</sub> 濃度を測定した結果、連続投与により TXB<sub>2</sub> 濃度は有意に増加していた。一方、ONO-1301 を連続投与しても TXB<sub>2</sub> 濃度の有意な増加は認められなかった。

### [考察]

ONO-1301 は、血小板凝集と TXA<sub>2</sub> 産生を濃度依存的に抑制したが、血小板凝集抑制作用は主に IP を介したものであることが明らかとなった。ベラプロスト

は、連続投与により血小板凝集抑制作用が経時的に減弱し、cAMP 産生量も減少していた。一方、ONO-1301 は、連続投与しても血小板凝集抑制作用が保持されていたが、cAMP 産生量の減少はベラプロストと同程度に認められた。よって、連続投与による IP の脱感作機序としてこれまで報告されている受容体数の減少等は、ベラプロストだけではなく ONO-1301 を投与した場合にも起きていることが考えられる。また、ONO-1301 とベラプロストを投与したマウスの血漿を用いた検討により、ベラプロストを連続で投与した場合にのみ血漿 TXA<sub>2</sub> 産生が亢進していることが明らかとなった。以上の結果より、IP アゴニストを連続で投与した場合には、TXA<sub>2</sub> の産生量が増加することにより血小板凝集抑制作用が減弱し、ONO-1301 はこの TXA<sub>2</sub> 産生量の増加を抑えることにより、連続投与による作用減弱を回避していることが示唆された。