



Title	虚血性脳血管障害における血小板機能に関する研究 : アラキドン酸およびADP凝集能とトロンボキサン生成能
Author(s)	楠, 正仁
Citation	大阪大学, 1982, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/33605
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed 大阪大学の博士論文について ご参照 ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

氏名・(本籍)	楠 <small>くすのき</small> 正 <small>まさ</small> 仁 <small>ひと</small>
学位の種類	医学博士
学位記番号	第 5855 号
学位授与の日付	昭和 57 年 12 月 21 日
学位授与の要件	学位規則第 5 条第 2 項該当
学位論文題目	虚血性脳血管障害における血小板機能に関する研究：アラキドン酸および ADP 凝集能とトロンボキサン生成能
論文審査委員	(主査) 教授 阿部 裕 (副査) 教授 最上平太郎 教授 神前 五郎

論文内容の要旨

〔目的〕

各種血栓性疾患における血小板機能異常の検出には、血小板凝集能測定が広く行われている。一方、近年アラキドン酸(A.A.)あるいはプロスタグランディン(PG)、トロンボサキン(Tx)代謝と血小板機能ないしは血栓形成性の間の強い関連が明らかとなってきた。したがって各種凝集能測定のうち、A.A.凝集能は、血小板におけるこのA.A.—PG—Tx代謝系を直接反映しうる指標として、重要な検査法と考えられる。

本研究では、虚血性脳血管障害患者(CVD)および本態性高血圧患者においてA.A.凝集能ならびにTxB₂生成能を測定し、両者の関係を明らかにすることを試みた。さらにCVD例において、血小板に対する脳血管通過による影響を直接的に検討する目的で、脳灌流血すなわち内頸静脈血においても血小板凝集能を測定した。またA.A.—PG代謝系阻害剤の1つであるアスピリン投与による血小板機能の修飾についても明らかにした。

〔方法ならびに成績〕

I) 末梢静脈血での血小板凝集能とTxB₂生成能

1) 末梢血血小板凝集能

肘静脈より3.8%クエン酸ナトリウム1/10容を含むプラスチック注射器にて採血し、これを遠沈し多血小板血漿(PRP)および乏血小板血漿(PPP)を得た。血小板数はBrecher—Cronkite法により算定した。凝集能測定はBornによる吸光度法に従い、aggregometerを用いて行った。凝集惹起物質は、アラキドン酸ナトリウム(A.A.)を用い、終濃度が0.3, 0.5, 1.0, 2.0mMとなるように調

製した。凝集能の評価は凝集閾値(TAC)によった。

アスピリン非投与 CVD 群および高血圧群では、低濃度 TAC (0.3mM, 0.5mM) を示す症例が対照群 (非血栓, 非高血圧群) に比し有意に増加しており ($P < 0.05$), 両群での凝集能亢進が認められた。

一方, アスピリン投与 CVD 群では, TAC 2 mM以上の群が他の群に比し有意に増加しており) $P < 0.001$), 著明な凝集抑制が認められた。

2) 血小板 TxB_2 生成能

PRP を 1000 g にて 20 分間遠沈し, 血小板 pellet をとり出し, これを 0.1 M トリス塩酸緩衝液に再浮遊させ血小板数が $2 \times 10^6 / \mu\text{l}$ なる原液を作製し, 凍結保存した。 TxB_2 生成反応は吉本らの方法に準拠し, 上記原液を解凍後, 以下の反応液に加えた。

反応液(a) A. A. からの TxB_2 生成; 血小板浮遊液 (1×10^8 血小板), トリス塩酸緩衝液 (0.1M), トリプトファン (5 mM), ヘモグロビン ($2 \mu\text{M}$), $1 -^{14}\text{C} - \text{A. A.}$ ($50 \mu\text{M}$) 反応液(b) PGH_2 からの TxB_2 生成; 血小板浮遊液 (2×10^7 血小板), トリス塩酸緩衝液 (0.1M), $1 -^{14}\text{C} - \text{PGH}_2$ ($50 \mu\text{M}$)。上記(a), (b) を 24°C にてそれぞれ 2 分間, 1 分間反応させた。 0.3ml の酢酸エチル/メタノール/0.2 M クエン酸添加にて反応終了後, 有機相を分取し, その $50 \mu\text{l}$ をシリカゲル薄層クロマトグラフィーに展開した。展開後 48 時間オートラジオグラフィーを行い, TxB_2 標品の展開位置と対応する部位を剝離後液体シンチレーションカウンターにて放射能を測定し, TxB_2 生成率を算出した。

① 各疾患における TxB_2 生成能

アスピリン投与 CVD 群での A. A. からの TxB_2 生成能は $7.6 \pm 3.2 (10^{-11} \text{ mol} / 10^8 \text{ 血小板})$ で対照群の 19.8 ± 1.0 に比し著明な抑制が認められた。しかしアスピリン非投与 CVD 群, 高血圧群, 対照群の間には有意な差は認められなかった。一方 PGH_2 からの TxB_2 生成能は, 各疾患群の間に有意差は認められず, アスピリン投与 CVD 群においても抑制は認められなかった。

② A. A. 凝集能と TxB_2 生成能の関係

A. A. からの TxB_2 生成能は血小板凝集能が上昇するに従い亢進する傾向が認められた。一方, PGH_2 からの TxB_2 生成能と凝集能の間には一定の関係は認められなかった。

II) 梗塞脳における血小板凝集能

末梢静脈血での検討とは別に, CVD 29 例につき, 内頸動静脈血での凝集能較差につき検討した。凝集惹起物質は A. A. のほか ADP も用い, 後者は TAC として 0.5, 1.0, 2.0, 4.0 μM を使用した。

1) アスピリン非投与 CVD 例では, 内頸静脈血では, A. A., ADP 凝集能のいずれにおいても動脈血, 末梢静脈血のそれらに比べ有意な亢進が認められた ($P < 0.05$, paired t-test による)。

2) このような内頸静脈血での凝集能亢進は脳血管撮影上の, 狭窄群, 閉塞群において顕著であった。

3) アスピリン投与 CVD 群では, 内頸静脈血での凝集能亢進が認められず, A. A. 凝集能, ADP 凝集能の著明な抑制が認められた。

[総括]

1) CVD 群および高血圧群において対照群に比し、末梢血での有意な A.A.凝集能亢進が認められた。

2) A.A.からの TxB_2 生成能は凝集能が亢進するに従って上昇し、両者の平行関係が示された。

3) アスピリン投与により、A.A.凝集能およびA.A.からの TxB_2 生成は著明な抑制をうけたが、 PGH_2 からの TxB_2 生成抑制は認められなかった。このことは、アスピリンによる cyclo-oxygenase 阻害によって血小板活性化機転が抑制されることを示す。

4) 内頸静脈血における凝集能の亢進は、慢性期 CVD においても、病的血管による血小板の活性化を示しており、血小板凝集抑制剤投与の必要性を裏づける成績と考えた。

論文の審査結果の要旨

血栓性疾患においては血小板機能さらにはアラキドン酸、プロスタグランジン代謝の役割が重要な問題の1つとなっている。本研究は、虚血性脳血管障害において、血小板機能の1つである血小板凝集能とトロンボキサン B_2 生成能の関係を明らかにするとともに、局所因子としての脳血管の狭窄性病変の血小板凝集能に与える影響について明らかにしたものである。従って本論文は、虚血性脳血管障害の病態ならびに進展因子の解明に有用な研究と考えられ、高く評価される。