

Title	動脈血栓形成におけるトロンボキサン A2 の役割
Author(s)	井村, 良視
Citation	
Issue Date	
Text Version	none
URL	<a href="http://hdl.handle.net/11094/36817">http://hdl.handle.net/11094/36817</a>
DOI	
rights	
Note	

*Osaka University Knowledge Archive : OUKA*

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

## 【14】

氏名・(本籍)	井 村 良 視
学位の種類	薬 学 博 士
学位記番号	第 8965 号
学位授与の日付	平成 2 年 2 月 2 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	動脈血栓形成におけるトロンボキサン A <sub>2</sub> の役割
論文審査委員	(主査) 教授 西原 力 (副査) 教授 近藤 雅臣 教授 岩田平太郎 教授 三村 務

## 論 文 内 容 の 要 旨

血栓症は、血栓により血管腔の狭窄または閉塞をきたし、心、脳、肺などの主要臓器の機能障害を招来して臨床的に重要な疾患を惹起する。血栓はその形成される部位により動脈血栓、静脈血栓および毛細血管血栓に分けられるが、動脈血栓は心筋梗塞や脳梗塞など時として致命的となる疾患と深く関わりあっているために特に重要である。動脈血栓は血管内皮細胞の障害により、内皮下組織に血小板が粘着し、それに続いて種々のケミカルメディエータの放出によって粘着血小板の周囲に存在する血小板が凝集を起こして凝集塊を形成し、これとともに凝固系活性化によってフィブリンが生じ、血小板凝集塊や他の血球をも取り込んで安定な血栓を作ることによって形成されると考えられている。

血小板が刺激されるとホスホリパーゼ A<sub>2</sub> が活性化されて細胞膜リン脂質からアラキドン酸が遊離する。アラキドン酸はシクロオキシゲナーゼによりプロスタグランジン エンドペルオキサイド (PGH<sub>2</sub>) に代謝される。PGH<sub>2</sub> は血小板内ではさらにトロンボキサン A<sub>2</sub> (TXA<sub>2</sub>) に代謝され、一方血管壁ではプロスタサイクリン (PGI<sub>2</sub>) に代謝される。TXA<sub>2</sub> は非常に強力な血小板凝集および血管収縮作用を有するのに対し、PGI<sub>2</sub> は TXA<sub>2</sub> とは全く相反する作用、すなわち血小板凝集抑制および血管弛緩作用を有している。また、TXA<sub>2</sub> と PGI<sub>2</sub> の共通の前駆物質である PGH<sub>2</sub> は TXA<sub>2</sub> と同じレセプターに結合し、作用は弱い TXA<sub>2</sub> アゴニストとして作用する。TXA<sub>2</sub> は強力な生理活性を有することから血栓症をはじめ種々の疾患の発症におけるメディエータの一つである可能性があり、TXA<sub>2</sub> の安定なアゴニストである U-44069、U-46619 および TXA<sub>2</sub> 合成酵素阻害薬やレセプター拮抗薬を用いた検討がなされているが、その病態生理学的役割はいまだ明らかにされていない。

本論文では、血栓症の発症過程における TXA<sub>2</sub> の役割を明らかにするために、以下の 3 点について

TXA<sub>2</sub> 合成酵素阻害薬およびレセプター拮抗薬を用いて検討し、血栓形成における TXA<sub>2</sub> の役割を薬理的に解析した。

- 1) 特異的な TXA<sub>2</sub> 合成酵素阻害薬 (CV-4151) および TXA<sub>2</sub> レセプター拮抗薬 (AA-2414) のウサギでの頸動脈血栓モデルにおける有効性。
- 2) 血栓形成時における血中 TXA<sub>2</sub> の動態。
- 3) 外因性の TXA<sub>2</sub> による血栓形成。

薬物を用いてケミカルメディエータの役割を解析する場合、その薬物の作用の特異性を明らかにしておくことが重要である。そこで、今回 TXA<sub>2</sub> 合成酵素阻害薬として用いた CV-4151 および TXA<sub>2</sub> レセプター拮抗薬として用いた AA-2414 の薬理作用を調べた。TXA<sub>2</sub> 合成酵素、シクロオキシゲナーゼおよび PGI<sub>2</sub> 合成酵素に対する両薬物の作用を調べたところ、CV-4151 は TXA<sub>2</sub> 合成酵素 (ウマ血小板ミクロゾーム) を強力に抑制し、その IC<sub>50</sub> 値は  $2.6 \times 10^{-8}$  M であったが、他の酵素に対しては無影響であった。次に TXA<sub>2</sub> の主な標的臓器と考えられる血小板および血管における両薬物の TXA<sub>2</sub> レセプター拮抗作用を調べた。モルモット洗浄血小板への [<sup>3</sup>H] U-46619 (TXA<sub>2</sub> の安定なアゴニスト) の特異的結合およびウサギ大動脈の U-44069 (TXA<sub>2</sub> の安定なアゴニスト) による収縮に対し、CV-4151 はそれぞれ IC<sub>50</sub> 値:  $1.1 \times 10^{-6}$  M および pA<sub>2</sub> 値: 5.9 で抑制した。AA-2414 は、それぞれ IC<sub>50</sub> 値:  $8.2 \times 10^{-9}$  M および pA<sub>2</sub> 値: 8.3 で抑制した。以上の成績から、CV-4151 は TXA<sub>2</sub> 合成酵素阻害作用とレセプター拮抗作用の両作用を併せ持つユニークな化合物であるが、両作用の IC<sub>50</sub> 値の間には約 50 倍の開きがあり、その主作用は TXA<sub>2</sub> 合成酵素阻害作用であり、一方、AA-2414 は、特異的な TXA<sub>2</sub> レセプター拮抗薬であることが示された。

次に、両薬物のウサギでの血栓モデルにおける作用について検討した。ウサギをウレタン麻酔下に背位固定し、頸動脈を露出させ、その 1 cm の部分をプロナーゼ (蛋白分解酵素) で 10 分間灌流して血管内皮細胞を障害させたのち、生理食塩水で灌流して血管内のプロナーゼを完全に除去して血液を 1 時間循環させると、内皮障害部位に血栓が形成される。CV-4151 (0.1-10 mg/kg, p.o.) および AA-2414 (0.1-10 mg/kg, p.o.) は、用量に依存して血栓の形成を抑制し、両薬物を併用すると併用効果が認められた。さらに、両薬物の本モデルにおける血栓形成抑制作用と *ex vivo* 実験におけるアラキドン酸凝集に対する抑制作用との間、CV-4151 の血栓形成抑制作用と *ex vivo* 実験における血清 TXA<sub>2</sub> 産生抑制作用との間に有意な相関が認められ、本モデルでの血栓形成に TXA<sub>2</sub> が関与していることが示唆された。

TXA<sub>2</sub> は非常に不安定であるため、血中 TXA<sub>2</sub> 濃度の指標としてはその安定な代謝産物である 11-dehydro TXB<sub>2</sub> が測定されている。そこで本血栓モデルにおいて、血中 11-dehydro TXB<sub>2</sub> を測定した。血管内皮障害により、血栓が形成された対照群の血中 11-dehydro TXB<sub>2</sub> 濃度は約 25 pg/ml であり、血栓の形成されていない sham ope. 群に比べ約 7 倍に増加し、この増加は CV-4151 により抑制された。すなわち、血栓形成時において血中の TXA<sub>2</sub> の産生が増加していることが明らかとなった。

ウサギ頸動脈血栓モデルにおいて TXA<sub>2</sub> が重要であることを示したので、次に外因性の TXA<sub>2</sub> により血栓が生じるどうかを調べた。アラキドン酸をウサギに静脈内投与すると TXA<sub>2</sub> が産生され、肺に

血栓が詰まって呼吸不全によりウサギが死亡することが知られている。そこでアラキドン酸 (1.5mg/kg, i.v.) をウサギに投与し、死亡したウサギの肺の光顕所見を調べたところ、肺動脈に血栓の形成および血管の収縮が認められた。CV-4151 (1, 10mg/kg, p.o.) は、ウサギの死亡および肺における血栓の形成を抑制した。

以上の成績から、動脈血栓の形成において  $\text{TXA}_2$  が非常に重要な役割を果たしていることが明らかとなった。

### 論文の審査結果の要旨

アラキドン酸の代謝産物であるトロンボキサン  $\text{A}_2$  ( $\text{TXA}_2$ ) は、強力な血小板凝集および血管収縮作用を有することから、動脈血栓形成において重要な働きをしていることが推察されていたが、詳細な病態生理学的役割については不明であった。井村良視君は  $\text{TXA}_2$  の合成酵素阻害薬およびレセプター拮抗薬についてその特性を明らかにするとともに、それらの薬剤を用いて血栓形成時の血中  $\text{TXA}_2$  の動態および外因性  $\text{TXA}_2$  による血栓形成について薬効薬理学的に検討することにより、血栓形成と  $\text{TXA}_2$  の関係を明らかにした。

以上の研究成果は、薬学博士の学位請求論文として充分価値あるものと認められる。