



Enhancement of thrombolytic efficacy of tissue-type plasminogen activator by adjuvants in the guinea pig thrombosis model

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 浜松医科大学 公開日: 2014-11-05 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 西山, 浩史 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/10271/1522

学位論文の内容の要旨及び論文審査の結果の要旨

学位記番号	医博論第 245号	学位授与年月日	平成 9年 1月10日
氏名	西山浩史		
論文題目	Enhancement of thrombolytic efficacy of tissue-type plasminogen activator by adjuvants in the guinea pig thrombosis model (血栓溶解作用に対する各種併用薬の効果)		

博士(医学) 西山浩史

論文題目

Enhancement of thrombolytic efficacy of tissue-type plasminogen activator by adjuvants in the guinea pig thrombosis model

(血栓溶解作用に対する各種併用薬の効果)

論文の内容の要旨

近年急性心筋梗塞などの疾患における血栓溶解療法は高い有効性が報告されている。しかし、血栓溶解後の再開塞は臨床において重要な問題となっているが、血管再開塞のメカニズムは未だ明らかになっていない。そこで今回我々は、ローズベンガルと540nmの緑色光による光増感反応誘発内皮傷害性のモルモット大腿動脈血栓モデルを用いて、遺伝子組み替え組織型プラスミノゲンアクチベータ (rt-PA) による血栓溶解後の血管再開塞のメカニズムについて検討した。

実験方法は、麻酔下モルモット頸静脈にダブルルーメンカテーテルを留置後、右大腿動脈にパルスドップラー血流計を装着し、大腿動脈血流を測定した。血栓はローズベンガル (10mg/kg) 静脈内投与と540nmの緑色光 (55万ルクス) を右大腿動脈に照射して形成した。血栓形成は大腿動脈血流の完全停止を指標とした。血栓形成30分後に自然再開通のないことを確認した後、rt-PA (1mg/kg/30min) を静脈内に30分間持続投与し、投与開始2時間後まで大腿動脈血流を測定し、再開通時間、開通期間、intermittent reflow の数、血流変化を測定した。TXA₂ 受容体拮抗薬バビプロスト (VAPI) は、rt-PA の持続投与開始と同時に静脈内に0.3mg/kg投与する同時投与群と血栓溶解剤との併用による出血を考慮し、rt-PA の作用が消失する rt-PA 投与終了30分後に投与する後投与群の2群を行った。抗トロンビン薬のアルガトロバン (ARG) は VAPI と同様 rt-PA の投与と同時に200 μ g/kg/min の用量を2時間持続投与する同時投与群と rt-PA 投与終了30分後から1時間持続投与する後投与群の2群を行った。ロイコトリエン類合成酵素阻害薬の MK-886 (MK) は、rt-PA の持続投与開始と同時に3mg/kgを腹腔内投与した。また、血栓溶解24時間後の再開塞に対する各薬物の影響を検討するため、各測定項目終了後手術部位を縫合し、覚醒下モルモットに VAPI 投与群の2群には VAPI 3mg/kgの経口投与、ARG 投与の2群には ARG100mg/kgの皮下投与を1日2回、MK 投与群には MK30mg/kgの経口投与を行った。さらに、血栓溶解24時間後に再開塞した血管の組織学的な検討も行った。

rt-PA を単独投与した群に比較して、VAPI 同時投与群では、血栓溶解急性期の血栓溶解作用の増強と intermittent reflow の抑制、さらに血栓溶解24時間後の再開塞を抑制した。しかし、VAPI 後投与群は、24時間後の再開塞を抑制しなかった。一方 ARG 同時投与群は、血栓溶解急性期において、開通期間の延長効果のみが認められたが、intermittent reflow は抑制しなかった。しかし、24時間後の再開塞は抑制した。また ARG 後投与群は24時間後の再開塞は抑制しなかった。MK 投与群は、血栓溶解急性期において、血栓溶解作用には影響を与えなかったが、24時間の再開塞を抑制した。さらに、24時間後に再開塞した血管は赤色血栓であり、光学顕微鏡像において血栓内への白血球の浸潤がみられていた。

このモデルにおいて、急性期の rt-PA による血栓溶解効果を VAPI が著明に増強し、intermittent reflow も完全に抑制した。この抑制作用は ARG と MK にはみられなかった。以上のことから、血栓溶解急性期に出現する intermittent reflow は TXA₂ が関与していると思われる。また、VAPI と ARG は rt-PA と同時に併用しないと、血栓溶解24時間後の再開塞抑制作用が減弱した。このことから、血小板および凝固系以外の他の因子が血栓溶解24時間後の再開塞に関与する可能性が示唆され、これらの因子

の一つとして光顕像およびMKの24時間後の再開塞抑制作用から、白血球の関与が示唆された。

論文審査の結果の要旨

急性心筋梗塞等における血栓溶解療法は高い有効性が報告されている。しかし血栓溶解後の血管再開塞が問題になっており、そのメカニズムは未だ明らかにされていない。

(対象及び方法)

申請者は、ローズベンガルと540nmの緑色光による光増感反応誘発血管内皮傷害を利用したモルモットの大腿動脈血栓モデルを用いて、遺伝子組み換え組織型プラスミノゲンアクチベータ (rt-PA) による血栓溶解後の血管再開塞に対するトロンボキサン A₂ 受容体拮抗薬バビプロスト、抗トロンビン薬アルガトロバン及びロイコトリエン類生合成酵素阻害薬 MK-886の影響を調べ、急性期の血管再開塞のメカニズムを推測した。

(結果)

rt-PA 投与後、血栓溶解とこれに続く間欠性閉塞及び24時間後の再開塞が観察された。バビプロストは間欠性閉塞と24時間後の再開塞を抑制した。アルガトロバンは間欠性閉塞を有意に抑制しないが、24時間後の再開塞を抑制した。MK-886は24時間後の再開塞のみを抑制した。

(結論)

これらの結果から、申請者は血栓溶解に続く間欠性閉塞にはトロンボキサン A₂ が関与し、24時間後の再開塞には血小板系、凝固系以外に白血球も関与するという新しい考え方を提示した。

本研究では、血栓溶解療法の問題点である溶解後再開塞について、そのメカニズムに関する重要な知見が得られ、更に新しい抗血小板薬、抗凝固薬の有効性が示唆された。これらの成果は今後の血栓溶解療法の向上に寄与する可能性があるものとして評価された。また、従来の血栓モデルよりも侵襲が少ないモデルを利用し、rt-PA による血栓溶解後の再開塞のモデルを作成したことに対して、その実験方法の独創性も評価された。

本論文の審査の過程で次のような質疑が行われた。

- 1) rt-PA を投与しない場合の自然再開通はどれだけあるか
- 2) 血栓形成部位と血流モニターの位置関係はどのようになっているか
- 3) 血流の測定法について
- 4) この血栓モデルはヒトのどのような血栓症を想定しているか
- 5) この研究でモルモットを使用している理由
- 6) rt-PA 投与後の再開塞の発生頻度はヒトの場合と比較してどうか
- 7) アルガトロバン、バビプロストの再開塞抑制の機序
- 8) 閉塞部遠位側の微小多発塞栓の、再開塞に対する影響について
- 9) 白血球がどのように再開塞に関与するのか
- 10) rt-PA と他剤2剤の3剤併用効果はどうか
- 11) アルガトロバンがrt-PAによる出血を増大させる機序は
- 12) 薬物の投与量を変えて検討したか

これらの質問に対し申請者の解答は適切であり、問題点も十分理解しており、博士(医学)の学位論文にふさわしいと審査員全員一致で判定した。

論文審査担当者 主査 教授 橋本 久 邦

副査 教授 寺尾 俊彦 副査 助教授 浦野 哲盟