

審査の結果の要旨

氏名 森口 聡

血小板活性化が脳梗塞の発症原因の一つであり、また発症後の二次血栓形成による循環障害によって梗塞巣拡大や神経症状悪化等の病態進展が惹起することが示唆されており、抗血小板薬は急性期脳梗塞治療薬となる可能性が考えられる。血小板膜糖蛋白(Glycoprotein:GP) II b/III a は血小板膜表面上に存在し、フィブリノーゲン(Fg)受容体として血栓形成過程に関与する。GP II b/III a と Fg の結合が血小板凝集の最終過程であるため、GP II b/III a 拮抗薬は血小板刺激経路に関わらない強力な抗血小板薬となりうる。ただし、強い血小板凝集抑制作用に伴い、出血性の副作用が強くなる可能性が危惧される。近年、in vitro の検討より、血小板の血管壁への接着や初期血栓形成に GP II b/III a と vWF の結合が重要であり、血小板凝集を含む血栓成長に Fg の結合が重要であると報告されている。本研究ではヒト精製 GP II b/III a と Fg 及び vWF との結合試験をスクリーニング系に組み込んで見出した、新規 GP II b/III a 拮抗薬 FK419 ((S)-2-acetylamino-3-[(R)- [1-[3-(piperidin-4-yl)propionyl]piperidin-3-ylcarbonyl]amino]propionic acid trihydrate)の薬理作用を解析し、出血性の低い有望な脳梗塞治療薬となる可能性を示した。

FK419 は既存の GP II b/III a 拮抗薬に比べ vWF よりも Fg との結合を選択的に阻害し、ヒト血小板の凝集抑制作用に比べ接着抑制作用が弱かった。また、イヌ出血時間で検討したところ、FK419 は既存薬と同等の血小板凝集抑制作用を有するが出血時間延長作用は弱いことが明らかになった。出血時間延長作用と凝集抑制作用の血中濃度比は GP II b/III a に対する vWF と Fg の結合阻害作用の比に相関しており、in vitro での血小板接着抑制作用と血小板凝集抑制作用の濃度比ともよく相関していた。次に脳梗塞に対する有効性をモルモット脳梗塞モデルを用いて検討した。FK419 は中大脳動脈(MCA)再開塞回数と総血管閉塞時間を減少させ、24 時間後の脳傷害巣及び神経症状を改善した。脳傷害巣の大きさは総血管閉塞時間との相関が高く、また再開塞回数とも相関していた。

上記の検討中に FK419 に血栓溶解作用がある傾向が認められたので、その点を次に検討した。モルモット脳梗塞モデルでは、FK419、tirofiban 及び t-PA は用量依存性に血栓を溶解させた。FK419 及び t-PA は脳傷害巣も用量依存的に縮小させ、神経症状も改善したが、tirofiban には明らかな作用が認められなかった。FK419 と tirofiban の違いを解明する目的で、虚血中心部である線条体の局所脳血流量(rCBF)を測定した。MCA 閉塞により速やかに rCBF は消失したが、対照群では MCA 血流の自然再開通後 rCBF が回復する動物としない動物が存在した。FK419 投与で MCA 血栓は早期に溶解し、rCBF は虚血前のレベルに回復した。Tirofiban 投与でも MCA 血栓は早期に溶解したが、rCBF は回復しなかった。本モデルにおいては、MCA 閉塞再開通後に no reflow 現象と言われる微小循環障害が発生しているが、FK419 は MCA 本幹部の血栓を溶解するだけでなく、微小循環障害も改善することにより脳障害を抑制す

ることを明らかにした。In vitro の検討で FK419 と tirofiban は同等の血小板凝集抑制作用及び凝集血小板解離作用を示したが、コラーゲンビーズへの血小板及び好中球の接着抑制は FK419 に比べ tirofiban の作用は弱かった。

臨床での有効性をより正確に予測するためには、ヒトにより近い動物を用いて評価することが重要であると提唱されており、リスザル脳梗塞モデルを用いて検討した。白質/灰白質の割合等などヒトの脳構造と類似点の多リスザル脳梗塞モデルでは、覚醒状態、手足の麻痺、歩行異常等の運動障害といったヒトの症状に類似した項目が観察できた。また、梗塞範囲として外側溝周辺の大脳皮質、基底核及び内包が広範に傷害され、脳梗塞好発部位である MCA 系閉塞患者に類似していた。FK419 は用量依存性に血栓を溶解し、神経症状を改善し、さらに脳梗塞巣を縮小した。T-PA は血栓を溶解し脳梗塞巣を縮小したが、神経症状は改善傾向を示す動物と悪化を示す動物に分かれ、一定した成績は得られなかった。組織学的な観察で t-PA を投与した動物の脳に微小出血像が認められた。

本研究では新規 GP II b/III a 拮抗薬 FK419 の薬理作用を検討した。その結果、GP II b/III a とそのリガンドである Fg 及び vWF の結合を選択的に阻害可能であること、出血時間延長作用と GP II b/III a への vWF の結合阻害作用とが相関することを示し、また FK419 はそのリガンド選択的な阻害作用により出血性の副作用とは分離可能な血小板凝集抑制作用を有することを明らかにした。さらに、脳梗塞モデルを用いた検討により、二次血栓形成が脳傷害巣形成に関与しており、FK419 は二次血栓形成を抑制することにより脳傷害を改善することを示した。FK419 は血栓溶解作用のみならず、脳虚血病態の形成に重要な微小循環障害も改善することを明らかにした。これらの作用には凝集血小板解離作用や血小板及び好中球接着抑制作用が関与している可能性を示唆した。これらの知見は GP II b/III a 拮抗薬が有用な脳梗塞治療薬になりうる可能性を示唆するとともに、GP II b/III a の生理学、生化学的研究の進展に貢献するものであり、博士(薬学)の学位を授与するに値するものと認められた。