

学位論文題名

血小板 GPIIb/IIIa に対する新規拮抗薬、 TAK-029
の抗血栓作用に関する薬理学的研究

学位論文内容の要旨

動脈血栓の主体は血小板凝集塊である。血小板粘着及び凝集反応は血漿フィブリノーゲン及びフォンビルブランド因子（vWf）と血小板 GPIIb/IIIa との結合により生じる。この結合には両血漿蛋白に含まれる RGD（Arg-Gly-Asp）配列が関与していることが知られている。TAK-029 はRGDF（Arg-Gly-Asp-Phe）の化学構造を基に合成された非ペプチド性の GPIIb/IIIa 拮抗薬である。本研究では、初めに TAK-029 の GPIIb/IIIa 阻害作用、血小板凝集及び粘着抑制作用について検討した。次にモルモットを用いた動静脈シャントモデル、頸動脈バルーン傷害モデル、脳底動脈血栓モデル及びイヌを用いた冠動脈血栓モデルを用いて TAK-029 の抗血栓作用を検討した。また、抗血栓薬の副作用として危惧される出血時間の延長を既知の抗血栓薬と比較した。

1. TAK-029 は精製ヒト血小板 GPIIb/IIIa へのフィブリノーゲン及び vWf の結合を強力に阻害して、種々の凝集惹起物質によるヒト血小板凝集を 29-38 nM の IC_{50} 値にて抑制した。血小板凝集抑制作用はヒト、モルモット及びサルで強力であり、ウサギ及びラットでは弱かった。
2. TAK-029 はヒト血管内皮細胞のピトロネクチンへの接着及びリストセチンによるヒト血小板凝集に影響を与えなかった。
3. TAK-029 はコラーゲン及び vWf へのモルモット血小板の粘着をそれぞれ 79 及び 260 nM の IC_{50} 値にて抑制した。
4. モルモットにおいて TAK-029 の静脈内及び経口投与は ADP による *ex vivo* 血小板凝集を用量依存性に抑制した。凝集を 50% 抑制する血漿中 TAK-029 濃度及び出血時間を 2 倍に延長させる濃度はそれぞれ 21 及び 33 ng/ml であった。血漿中 TAK-029 濃度が 100 ng/ml 以上の場合、出血時間は 5 倍以上に著明に延長した。
5. モルモットでの経口投与実験において TAK-029 の血小板凝集抑制作

用はチクロピジン及びクロピドグレルより10-100倍強力であった。凝集抑制率が50-99%の場合の抑制率と出血時間との関係は、TAK-029投与群とチクロピジン及びクロピドグレル投与群で類似していた。一方、TAK-029はコラーゲンコートしたガラスビーズへの*ex vivo*血小板粘着を用量依存性に抑制し、その作用はチクロピジン及びクロピドグレルより100-300倍強力であった。コラーゲン凝集を完全に抑制するアスピリンは粘着に影響を与えなかった

6. モルモット動静脈シャントモデルにおいてTAK-029 (1及び3 mg/kg, p.o.) は出血時間延長をとまわずに血栓形成をそれぞれ31及び75%抑制した。同程度の出血時間延長を示す用量にて比較した場合、TAK-029はチクロピジン、クロピドグレル及びアスピリンより強力に血栓形成を抑制した。
7. モルモット頸動脈バルーン傷害モデルにおいてTAK-029 (12 μ g/kg/hr, i.v.) は出血時間に影響を与えずに血栓形成を81%抑制した。一方、プロスタグランジンE₁・ α -シクロデキストリンは血圧を有意に低下させる用量でも抗血栓作用を示さなかった。トロンビン阻害剤であるアルガトロバンは出血時間及び血液凝固時間を2-3倍に延長させる用量でも抗血栓作用を示さなかった。
8. モルモットでの光化学反応による脳底動脈血栓モデルにおいてTAK-029 (30 μ g/kg, i.v.) は4倍以上の出血時間延長を伴い血栓形成を48%抑制し、100 μ g/kg (i.v.) では9倍以上の出血時間延長を伴い血栓形成を完全に抑制した。
9. イヌ冠状動脈を用いた不安定狭心症モデルにおいて、TAK-029 (30 μ g/kg, i.v.) は出血時間に影響を与えずに血栓形成を22分間抑制し、100 μ g/kg (i.v.) では約4倍の出血時間延長を伴い血栓形成を45分間抑制した。

既知の抗血栓薬と比較して、TAK-029 は出血時間の著明な延長を伴わずにより強力な抗血栓作用を示した。TAK-029 はモルモット及びイヌを用いた4つの異なった動脈血栓モデルにおいて強力な抗血栓作用を示した。TAK-029 は血小板 GPIIb/IIIa を阻害する新しいタイプの抗血小板薬であり、難治性の動脈血栓症に対する有効な薬剤となる可能性が考えられた。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 中 里 幸 和
副 査 教 授 斉 藤 昌 之
副 査 教 授 葉 原 芳 昭
副 査 助 教 授 伊 藤 茂 男

学 位 論 文 題 名

血小板 GPIIb/IIIa に対する新規拮抗薬、TAK-029 の抗血栓作用に関する薬理学的研究

申請者は動脈血栓症に対する治療薬の開発を目的として、血小板膜上のGPIIb/IIIaに対する新規拮抗薬、TAK-029の薬理作用を検討し以下の成果を納めた。

1. TAK-029は精製ヒト血小板GPIIb/IIIaへのフィブリノーゲン及びフォンビルブランド因子(vWf)の結合を強力に阻害し、凝集惹起物質によるヒト血小板凝集を抑制した。血小板凝集抑制作用はヒト、モルモット及びサルで強力であった。
2. TAK-029はヒト血管内皮細胞のビトロネクチンへの接着及びリストセチンによるヒト血小板凝集に影響を与えなかった。
3. TAK-029はコラーゲン及びvWfへのモルモット血小板の粘着を抑制した。
4. モルモットにおいてTAK-029は静脈内及び経口投与によりADPによる*ex vivo*血小板凝集を用量依存性に抑制した。経口投与実験で作用はチクロピジン及びクロピドグレルより10-100倍強力であった。血漿中TAK-029濃度が100 ng/ml以上の場合、出血時間は5倍以上に著明に延長した。
5. TAK-029はコラーゲンコートしたガラスビーズへの*ex vivo*血小板粘着を用量依存性に抑制し、その作用はチクロピジン及びクロピドグレルより100-300倍強力であった。
6. モルモット動静脈シャントモデルにおいてTAK-029(1及び3 mg/kg, p.o.)は出血時間延長をとまわずに血栓形成をそれぞれ31及び75%抑制した。この作用はチクロピジン、クロピドグレル及びアスピリンよりも強力であった。
7. モルモット頸動脈バルーン傷害モデルで、TAK-029(12 μ g/kg/hr, i.v.)は出血時間に影響を与えずに血栓形成を81%抑制した。
8. モルモットでの光化学反応による脳底動脈血栓モデルにおいてTAK-029(30及び100 μ g/kg, i.v.)は出血時間延長を伴い血栓形成をそれぞれ48%及び100%抑制した。
9. イヌ冠状動脈を用いた不安定狭心症モデルにおいて、TAK-029(30 μ g/kg, i.v.)は出血時間に影響を与えずに血栓形成を22分間抑制し、100 μ g/kg(i.v.)では約4倍の出血時間延長を伴い血栓形成を45分間抑制した。

以上の成果は、TAK-029 は血小板GPIIb/IIIaを阻害する新しいタイプの抗血小板薬であって、難治性の動脈血栓症に対する有効な薬剤となる可能性が高いことを示しており、審査委員一同、川村正起氏は、博士（獣医学）の学位を受けるのに十分な資格を有するものと認めた。