

新規抗血小板薬の開発

富山 佳昭

要 旨：血小板は動脈血栓形成の中核をなすだけではなく、動脈硬化の初期病変形成にも関与する。このように動脈硬化と血栓症は相互に関連しあっておりアテローム血栓症として理解されている。血栓形成は血小板粘着，血小板活性化と放出反応，血小板凝集といった過程により構成されており，それぞれの過程に必須である分子を標的に抗血小板薬が開発されている。本稿では，血栓形成の分子機構と新規抗血小板薬の作用を中心に概説する。(J Jpn Coll Angiol, 2011, 51: 301-307)

Key words: atherothrombosis, P2Y₁₂, CYP2C19, GPVI, $\alpha_{IIb}\beta_3$

はじめに

動脈硬化を基盤とした心筋梗塞や脳梗塞などの血栓症の罹病率は増加の一途を辿っており，本邦および世界における死因の約3割を占めるにいたっている。これらの疾患は血小板を主体とした動脈血栓がその原因であり血小板が病態形成の中心的な役割を果たしているため，出血の副作用が少なく，より効果的な抗血小板薬の開発が望まれている。最近，内皮細胞の機能障害を基盤として動脈硬化が発症・進展することが明らかとなり，動脈硬化プラークの破綻を契機とし，その終焉像として閉塞性の動脈血栓が形成される。一方では，血小板が動脈硬化の初期病変形成に重要であることも明らかとなってきた。このように動脈硬化と血栓症は双方向に関連しあっており，これらの病態はアテローム血栓症(atherothrombosis)と呼ばれている。本稿では，最近明らかとなってきたアテローム血栓症の分子機構を踏まえ現在開発中の新規薬剤を中心に，抗血小板薬の作用機序を紹介する。

血小板と動脈硬化

正常な血管内皮はNOやプロスタサイクリンあるいは組織プラスミノゲンアクチベーターなどを産生・発現し抗血栓性に作用するとともに，血小板などの細胞成分

の活性化を抑制している。しかしながら，高脂血症や糖尿病さらにはメタボリックシンドロームなどの種々のリスクファクターが存在すると，これらの異常に伴う炎症性，免疫性機転を基盤として上記の内皮細胞機能が障害され，血小板の粘着や活性化，単球/マクロファージの血管内膜への遊走および酸化LDLの蓄積によるマクロファージの泡沫化をきたし動脈硬化の初期像を呈するようになる。動脈硬化の発症・進展には，血流変化による速度の変化も大きく関与している。とくに血管の分岐部や動脈硬化病変部に生じる血流の乱れは，ずり速度を変化させ，血小板を含む細胞活性化を引き起こし，動脈硬化病変をさらに進展させる。最終的には動脈硬化プラークの破綻をきたし病的血栓を形成するわけであるが，最近では，血小板粘着を含む微小血栓形成と動脈硬化の発症・進展が相互に作用しあっていることが明らかとなってきた¹⁾。血管内皮の炎症時や機能障害時には，血管内皮が脱落しなくても血管内皮上において血小板が粘着する。これらの粘着血小板はIL-1 β ，CD40L，RANTESなど種々の炎症性メディエーターを放出し，血管の炎症性，免疫性機転をさらに誘導し動脈硬化の初期像形成に関与すると考えられるが，実際ヒト動脈硬化発症モデルであるApoE欠損マウスにおいて，血小板粘着を抗GPIIb α 抗体にて抑制すると動脈硬化病変形成が抑制されることが示されている²⁾。このように血栓形成と

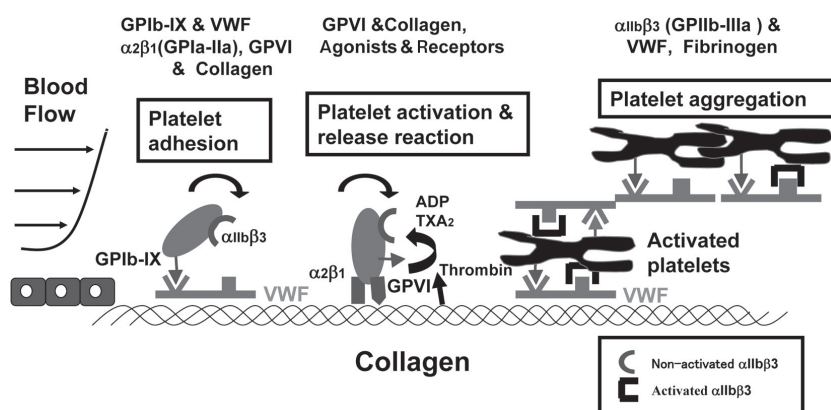


Figure 1 Molecular mechanisms for arterial thrombus formation (adapted from ref. 3).

Platelets adhere to exposed subendothelial matrices, then become activated, change shape, secrete granule content, and aggregate to form thrombi. Critical molecules and proteins involved in these processes are shown.

動脈硬化発症・進展は双方向に密接に関係しているため血小板機能を抑制することは、血栓形成を直接抑制するのみならず間接的に血管病変の進展を抑制することが期待される。

動脈血栓形成機序

アテローム血栓症を予防する目的で種々の抗血小板薬が開発されているが、その作用機序を理解するには、まず血栓形成過程を理解する必要がある。血管内皮が脱落する、あるいは動脈硬化プラークが破綻すると、流血中の血小板は血管内皮を裏打ちしている血管内皮下組織（とくにコラーゲン線維）に曝露され活性化し血栓を形成する。また血栓形成のメカニズムは血流速度（ずり速度）に大きく依存しており、静脈血栓と動脈血栓の形成はおよそその形成メカニズムは異なる。致命的な心筋梗塞や脳梗塞の予防・制御には、細動脈での高いずり速度下で形成される血小板血栓の形成過程の理解が極めて重要となる³⁾。

細動脈で形成される病的血栓形成過程は大きく①血小板粘着→②血小板活性化と放出反応→③血小板凝集、の段階により構成されており、それぞれの過程において中核をなす接着蛋白とその受容体である血小板膜蛋白、さらには重要なアゴニストを **Fig. 1** に示す³⁾。以下にそれぞれの過程における分子機構ならびに新規阻害薬を中心に述べる。抗血小板薬全般に関しては他の優れた総説も参照されたい⁴⁾。

1. 血小板粘着

血小板は直接コラーゲンに粘着しうるが、その結合は強いものではなく、とくに細動脈など高いずり速度下での血小板粘着においては、コラーゲンに結合したフォンビルブランド因子(von Willebrand factor; VWF)が重要な役割を果たす。VWFは血管内皮細胞および巨核球で産生され血中には約 10 μg/ml 存在している。血管内皮により産生された VWF や血中の VWF は血管傷害時にはコラーゲンと直ちに結合するわけであるが、高分子 VWF マルチマーほどその活性は高い。固相化された VWF は、血小板 VWF 受容体である GPIIb-IX-V と結合し、血管内皮下組織上に血小板が粘着する³⁾。この現象は **tethering** とも呼ばれている。しかしながら GPIb-IX を介して VWF に結合した血小板は、血流に抗して留まるだけの結合力はなく、これだけでは粘着は一過性である。血小板が強固に粘着するには、 $\alpha_{IIb}\beta_3$ (GPIIb-IIIa) の活性化が必要である³⁾。血栓形成の初期段階である血小板粘着を抑制すべく GPIb を分子標的として抗 GPIb 抗体などが開発されている。

粘着した血小板は、直ちにコラーゲンに対する受容体を介して活性化する。血小板コラーゲンの受容体として $\alpha_2\beta_1$ および GPVI が明らかにされているが、 $\alpha_2\beta_1$ はコラーゲンとの粘着反応に関与し、GPVI は Fc 受容体 γ 鎖と複合体を形成し、コラーゲンによる血小板活性化シグナルを細胞内に伝達する。

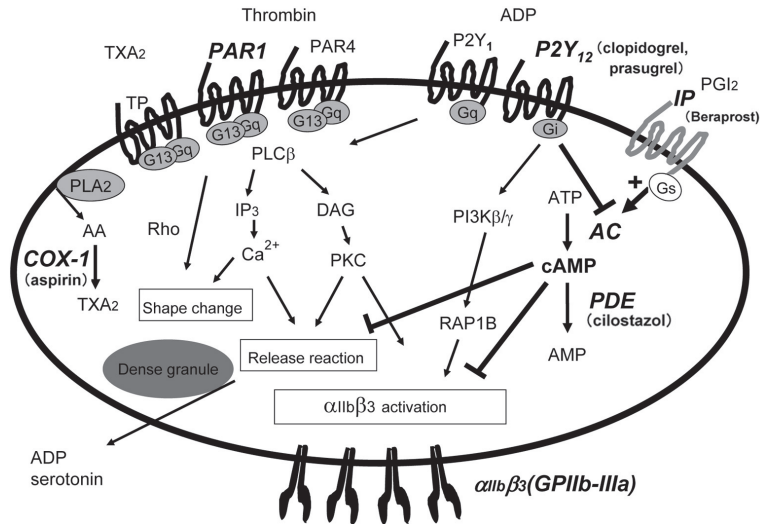


Figure 2 Mechanisms for platelet activation and molecular targets for anti-platelet drugs. Molecular targets for anti-platelet drugs are indicated in **italic and bold** letters.

2. 血小板活性化

血小板活性化は、血小板表面に存在する種々の血小板活性化物質(アゴニスト)に対する受容体が存在している。生理的なアゴニストとしては、すでに述べたコラーゲン(この場合はGPVIおよびFc受容体 γ 鎖を介した活性化である)以外にトロンビン、アデノシン二リン酸(ADP)、トロンボキサン A_2 (TXA $_2$)などがある。受容体の多くはG蛋白共役型の7回膜貫通型であり、トロンビンに対する受容体としてはPAR1とPAR4が知られており、ADPの受容体としてP2Y $_1$ とP2Y $_{12}$ が知られている。

現在開発されている抗血小板薬の多くは、この血小板活性化の段階を抑制している。**Fig. 2**に各種抗血小板薬の作用点を示す。アラキドン酸代謝阻害薬としてはアスピリン(アセチルサリチル酸)やオザグレル(TXA $_2$ 合成酵素阻害剤)が挙げられるが、これらはTXA $_2$ の産生を阻害する。一方、血栓形成を抑制する分子としてはcAMPが知られており、プロスタサイクリン(PGI $_2$)はその受容体を介して血小板内cAMPを上昇させ、 $\alpha_{IIb}\beta_3$ 活性化や放出反応などの血小板機能を抑制する。このため、血小板内のcAMP濃度を上昇させ血小板機能を抑制するベラプロストナトリウムやシロスタゾールなどのcAMP代謝作動薬が使用されており、血小板機能抑制作用に加え血管拡張作用および平滑筋増殖抑制作用を有している。これらの薬剤の血小板機能抑制は軽微であり血管への作

用がその主たる作用と考えられ、そのため出血の副作用は少ない。最近シロスタゾールに関しては、その適応拡大に向けて多くの治験が進行中であり、日本人を対象にした非心原性脳梗塞患者の脳卒中再発予防に関するCSPS 2(Cilostazol Stroke Prevention Study 2)試験では、シロスタゾールのアスピリンに対する非劣性が証明されたのみならず、シロスタゾール群で脳卒中再発リスクがアスピリン群に比べ26%有意に低下し、出血リスクが54%有意に低下するなど、その有効性および安全性が示された⁵⁾。

次に現在脚光をあびているP2Y $_{12}$ 阻害薬および現在開発されつつあるGPVI阻害剤につき、その欠損患者の病態も含めその分子機構を述べる。

(1)P2Y $_{12}$ 阻害薬

ADPは血小板内の濃染顆粒に存在し、血小板活性化時に外部に放出される。ADPはin vitroの血小板凝集惹起作用に関してその活性は強力ではないものの、最近になり生体内での血栓形成における重要性が明らかとなってきた。ADP受容体としてP2Y $_1$ とP2Y $_{12}$ が存在するが、P2Y $_{12}$ 受容体はG α_i を共役しており、ADP刺激による細胞内cAMPの低下を惹起するとともに、血小板凝集の安定化に必要である(**Fig. 3**)⁶⁾。筆者らは本邦初のP2Y $_{12}$ 欠損患者を同定しているが、臨床症状としては出血時間の延長と軽度の出血傾向を示すのみである⁷⁾。

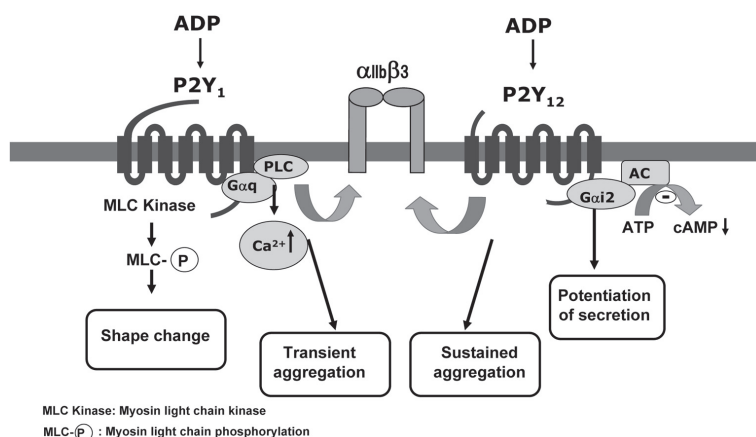


Figure 3 Platelet ADP receptors (from ref. 6 with modification). Platelets possess at least two G-protein coupled receptors, P2Y₁ and P2Y₁₂, as ADP receptors.

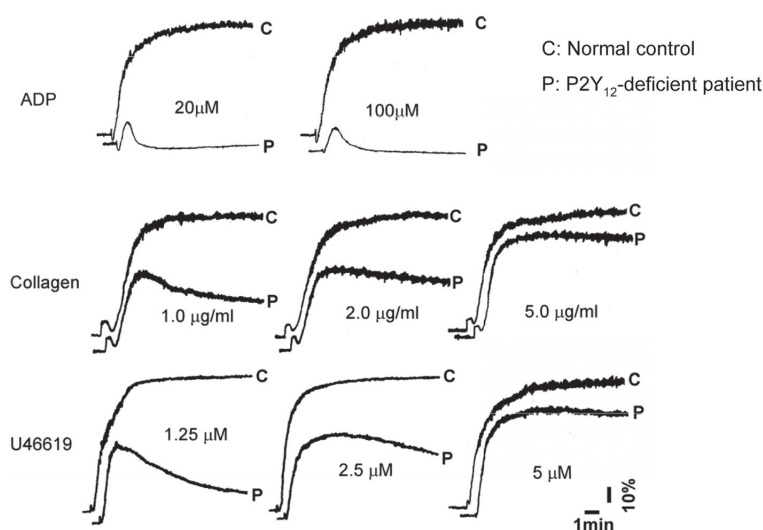


Figure 4 Impaired platelet aggregation in a patient with P2Y₁₂ deficiency (from ref. 7 with modification). ADP-induced platelet aggregation was markedly impaired even at high concentrations of ADP. In addition, impaired platelet aggregation was evident in response to low concentrations of collagen and U46619 (TXA₂ analogue) in a patient with P2Y₁₂ deficiency.

Fig. 4にP2Y₁₂欠損患者の血小板凝集能を示すが、ADP以外にも、コラーゲンやU46619(TXA₂のアナログ)に対しても血小板凝集が障害されており、この障害は血小板から放出されたADPがP2Y₁₂に作用できないことに起因している。さらなる解析にてP2Y₁₂は後述するα_{IIb}β₃活性化を持続させるために必須であることが明らかと

なった⁸⁾。このようにP2Y₁₂が欠損すると血小板凝集反応が障害されるため血栓形成が脆弱となる。

P2Y₁₂阻害剤としてはチエノピリジン系抗血小板薬であるチクロピジン、クロピドグレルやプラスグレルが知られており、これらの薬剤の優れた抗血栓作用は周知のとおりである⁹⁾。これらの薬剤はプロドラッグであり肝臓

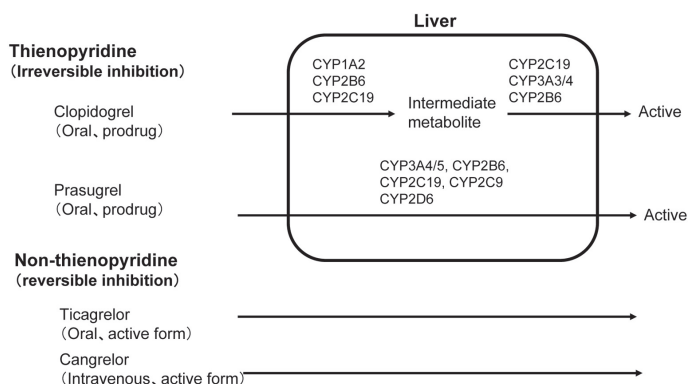


Figure 5 Classification of P2Y₁₂ inhibitors.

Thienopyridine P2Y₁₂ inhibitors are prodrugs and irreversibly inhibit P2Y₁₂, whereas newly developed drugs are active and reversibly inhibit P2Y₁₂.

で代謝され活性体となり作用するが、最近クロピドグレルの代謝にチトクローム P450 遺伝子 CYP2C19 が影響しており、CYP2C19 の機能欠失変異を有する患者ではその作用が減弱し治療成績が悪いことが明らかにされた¹⁰⁾。この成績はクロピドグレル抵抗性の一因を明らかにした点で興味深い。クロピドグレルと較べより効果発現が早くより強力な作用を有する P2Y₁₂ 阻害剤、プラスグレルの作用には CYP2C19 の遺伝子多型は関係しないことが示されている。クロピドグレルとプラスグレルとの二重盲検比較試験 (TRITON-TIMI38 試験) においては、血管性イベントは約 19% 減少したものの (プラスグレル群 9.9%, クロピドグレル群 12.1%), 出血合併症は約 32% 増加した (プラスグレル群 2.4%, クロピドグレル群 1.8%)¹¹⁾。これらの成績は、より強力な P2Y₁₂ 阻害は血管イベントの抑制効果は増強するが、一方では出血の合併症も増加させることを示している。

上記チエノピリジン系薬剤は P2Y₁₂ を非可逆的に阻害するが、最近プロドラッグではなく P2Y₁₂ を可逆的に阻害する薬剤として Ticagrelor (経口) (PLATO 試験)¹²⁾ や Cangrelor (静注) (CHAMPION 試験)¹³⁾ が開発されている (Fig. 5)。PLATO 試験において Ticagrelor はクロピドグレルに対して血管イベントを約 16% 減少させたが、重篤な出血イベントは増加しなかった。一方、静注剤である Cangrelor に関しては CHAMPION 試験にて血管イベントの抑制効果がみられなかった。今後 P2Y₁₂ 阻害に関してクロピドグレルやプラスグレルなどの非可逆的阻害剤と新規の可逆的阻害剤の間での対象疾患や使用のタイミング

グに関して差別化が必要であると考えられる。

(2) GPVI 阻害剤

コラーゲン受容体である GPVI は、コラーゲン凝集のみが特異的に欠如した患者の血小板解析より同定された。GPVI は免疫グロブリンスーパーファミリーに属し、Fc 受容体 (FcR) γ 鎖と複合体を形成し、コラーゲンからのシグナルを伝達し血小板を活性化させる¹⁴⁾。GPVI 欠損患者は軽度の出血症状を呈するのみである。興味深いことに正常マウスに抗マウス GPVI 抗体を投与すると、血小板より GPVI が切斷 (shedding) および internalize されて消失することが明らかとなった。1 回の抗体投与にて少なくとも 14 日以上は欠損状態となる¹⁴⁾。GPVI 欠損患者には抗 GPVI 自己抗体が存在しており、この抗体により GPVI が後天的に欠損すると考えられる。また抗マウス GPVI 抗体投与にて作製された GPVI 欠損マウスは出血時間の延長は軽度であるものの種々の血栓モデルにおいて血栓形成が抑制されるため、抗 GPVI 抗体による抗血栓療法の可能性が示唆された。現在、抗ヒト GPVI 抗体が作製され臨床応用に向けて霊長類を用いた研究がなされているが、GPVI の欠損を誘導する抗体と誘導しない抗体が作製されている。今後の展開を期待したい。

(3) その他の阻害剤

血栓形成および血管平滑筋増殖においてトロンビンが重要な役割をはたしているが、トロンビンの高親和性受容体である PAR1 の阻害剤 (E5555 など) が開発されている。

3. 血小板凝集

血小板の活性化に伴う劇的な機能変化としては、VWF およびフィブリノーゲンの受容体である $\alpha_{IIb}\beta_3$ が活性化型に構造変化し、その受容体としての機能を発揮することが挙げられる。この変化は強固な血小板粘着および血小板どうしが結合して大きな凝集塊を形成する上で必要不可欠である。 $\alpha_{IIb}\beta_3$ は接着蛋白受容体ファミリーであるインテグリンに属しており、 $\alpha_{IIb}\beta_3$ の先天性な欠損（あるいは機能異常）が血小板無力症の原因である。本疾患では著明な出血傾向を呈するとともにすべてのアゴニストによる血小板凝集が欠如することより、 $\alpha_{IIb}\beta_3$ の重要性は明らかである³⁾。

$\alpha_{IIb}\beta_3$ は血小板凝集の共通の最終経路に位置するため、 $\alpha_{IIb}\beta_3$ を分子標的として抗血栓薬が開発されているが、残念ながら $\alpha_{IIb}\beta_3$ インヒビターは本邦では承認されなかった。 $\alpha_{IIb}\beta_3$ インヒビターの血小板凝集抑制作用は、アスピリンや塩酸チクロピジンなど他の抗血小板薬に較べて極めて強力である。キメラモノクローナル抗体 (Abciximab) などの静注 $\alpha_{IIb}\beta_3$ インヒビター製剤は冠動脈インターベンション時や急性冠動脈症候群に対してその有効性が示されている¹⁵⁾。一方、長期にわたる $\alpha_{IIb}\beta_3$ 機能抑制を目指し低分子経口 $\alpha_{IIb}\beta_3$ インヒビターが開発された。これらはすべてプロドラッグで吸収後活性化型に変化する。残念ながら、大規模臨床試験において経口 $\alpha_{IIb}\beta_3$ インヒビターが心筋梗塞発症抑制に有効であるとの成績は得られなかった。このように、 $\alpha_{IIb}\beta_3$ 阻害により急性期における血栓形成は極めて強力に抑制されるが、アテローム血栓症の発症予防には $\alpha_{IIb}\beta_3$ の阻害は有効ではない。動脈硬化の進展には血小板から放出される種々の生理活性物質が重要な役割を担っているため、血小板の活性化を抑制する薬剤がより効果的に血栓形成を予防しうると考えられる。

おわりに

血小板は動脈病変の発症・進展およびその終焉に深く関わっている。本稿では抗血小板薬の新たな分子標的に関して概説した。冠動脈ステント血栓症の予防にはアスピリンとクロピドグレルの併用が標準治療であるが、脳血管障害を対象とした MATCH 試験¹⁶⁾においてアスピリン単独群とアスピリンとクロピドグレル併用群を比較すると、2 剤を併用してもその有効性の改善はなく、逆に併用群においては出血の副作用の増加がみられた。この

ように、アテローム血栓症の制圧に関して臓器別の治療戦略が必要であると考えられる。アテローム血栓形成の分子病態のさらなる解明は、血栓形成の分子機構を明らかにするのみならず、より安全でかつ効率的な抗血栓療法の開発に寄与するものと確信する。

謝 辞

この研究の一部は厚生労働省科学研究費補助金事業、文部科学省科学研究費補助金事業の助成を受けた。

文 献

- 1) Davi G, Patrono C: Platelet activation and atherothrombosis. *N Engl J Med* 2007; **357**: 2482–2494
- 2) Massberg S, Brand K, Grüner S, et al: A critical role of platelet adhesion in the initiation of atherosclerotic lesion formation. *J Exp Med* 2002; **196**: 887–896
- 3) 富山佳昭：先天性血小板機能異常症－受容体異常症。別冊・医学のあゆみ 血液疾患—state of arts Ver. 3(坂田洋一、小澤敬也編)、医歯薬出版、東京、2005、728–732
- 4) Meadows TA, Bhatt DL: Clinical aspects of platelet inhibitors and thrombus formation. *Circ Res* 2007; **100**: 1261–1275
- 5) Shinohara Y, Katayama Y, Uchiyama S, et al: Cilostazol for prevention of secondary stroke (CSPS 2): an aspirin-controlled, double-blind, randomised non-inferiority trial. *Lancet Neurol* 2010; **9**: 959–968
- 6) Gachet C: ADP receptors of platelets and their inhibition. *Thromb Haemost* 2001; **86**: 222–232
- 7) Shiraga M, Miyata S, Kato H, et al: Impaired platelet function in a patient with P2Y₁₂ deficiency caused by a mutation in the translation initiation codon. *J Thromb Haemost* 2005; **3**: 2315–2323
- 8) Kamae T, Shiraga M, Kashiwagi H, et al: Critical role of ADP interaction with P2Y₁₂ receptor in the maintenance of $\alpha_{IIb}\beta_3$ activation: association with Rap1B activation. *J Thromb Haemost* 2006; **4**: 1379–1387
- 9) CAPRIE Steering Committee: A randomised, blinded, trial of clopidogrel versus aspirin in patients at risk of ischaemic events (CAPRIE). *Lancet* 1996; **348**: 1329–1339
- 10) Simon T, Verstuyft C, Mary-Krause M, et al: Genetic determinants of response to clopidogrel and cardiovascular events. *N Engl J Med* 2009; **360**: 363–375
- 11) Wiviott SD, Braunwald E, McCabe CH, et al: Prasugrel versus clopidogrel in patients with acute coronary syndromes. *N Engl J Med* 2007; **357**: 2001–2015
- 12) Wallentin L, Becker RC, Budaj A, et al: Ticagrelor versus clopidogrel in patients with acute coronary syndromes. *N*

- Engl J Med 2009; **361**: 1045–1157
- 13) Harrington RA, Stone GW, McNulty S, et al: Platelet inhibition with cangrelor in patients undergoing PCI. N Engl J Med 2009; **361**: 2318–2329
- 14) 諸井将明：血小板 GPVI —最近の進歩。別冊・医学のあゆみ 血液疾患— state of arts Ver. 3(坂田洋一, 小澤敬也編), 医歯薬出版, 東京, 2005, 123–126
- 15) Topol EJ, Byzova TV, Plow EF: Platelet GPIIb-IIIa blockers. Lancet 1999; **353**: 227–231
- 16) Diener HC, Bogousslavsky J, Brass LM, et al: Aspirin and clopidogrel compared with clopidogrel alone after recent ischaemic stroke or transient ischaemic attack in high-risk patients (MATCH): randomised, double-blind, placebo-controlled trial. Lancet 2004; **364**: 331–337

Newly Developed Anti-platelet Drugs

Yoshiaki Tomiyama

Department of Blood Transfusion, Osaka University Hospital, Osaka, Japan

Key words: atherothrombosis, P2Y₁₂, CYP2C19, GPVI, $\alpha_{IIb}\beta_3$

Platelets play a crucial role in arterial thrombus formation. Atherosclerosis is initially triggered by dysfunctional endothelial cells via inflammatory processes. Recent studies have shown that platelets also play an important role in the initiation of atherosclerotic lesions by releasing inflammatory mediators. Thus, atherosclerosis and thrombosis are interdependent, and these processes are designated as atherothrombosis. As an initial step in thrombogenesis, platelets adhere to altered vascular surfaces or exposed subendothelial matrices. Following adhesion, they become activated, change shape, secrete granule content, and aggregate to form thrombi and provide catalytic surfaces to enhance blood coagulation. A number of adhesive proteins [e.g., von Willebrand factor (VWF), collagen], cell-adhesion receptors (e.g., GPIb-IX, $\alpha_{IIb}\beta_3$), and platelet receptors (e.g., P2Y₁₂, GPVI, PAR1) are involved in thrombus formation. This review describes molecular mechanisms for thrombus formation and the targets of newly developed anti-platelet drugs.

(J Jpn Coll Angiol, 2011, **51**: 301–307)