

抗血小板薬の血管内治療前投与の効果：頸動脈狭窄と未破裂脳動脈瘤の比較

横浜市立脳卒中・神経脊椎センター 脳神経血管内治療科<sup>1)</sup>，脳神経内科<sup>2)</sup>

甘利和光<sup>1)</sup>，菅原恵梨子<sup>2)</sup>，山本良央<sup>1) 2)</sup>，天野 悠<sup>2)</sup>，山本正博<sup>2)</sup>，城倉 健<sup>2)</sup>

#### キーワード

頸動脈狭窄、未破裂脳動脈、血小板凝集、透過光法、血小板凝集塊

#### 連絡先

甘利和光

横浜市立脳卒中・神経脊椎センター 脳神経血管内治療科

〒 235-0012 横浜市磯子区滝頭 1-2-1

Tel.: 045-453-2500

Fax: 045-753-2879

E-mail: ka00-amari@city.yokohama.jp

本論文を，日本脳神経血管内治療学会 機関誌 JNET Journal of Neuroendovascular Therapy に投稿するにあたり，筆頭著者，共著者によって，国内外の他雑誌に掲載ないし投稿されていないことを誓約致します。

## 和文要旨

「目的」動脈硬化性疾患である内頸動脈狭窄と非動脈硬化性疾患である脳動脈瘤は、血小板機能や抗血小板薬に対する感受性が異なる可能性がある。今回は、これまで両疾患患者に経験的に血管内治療前に一律に投与されている抗血小板剤 2 剤併用投与の妥当性を検証した。

「方法」対象は血管内治療を行った無症候性内頸動脈狭窄群（ACS 群）9 例、症候性内頸動脈群（SCS 群）14 例、未破裂脳動脈瘤群（UCA 群）20 例で、抗血小板薬は治療前に一律にアスピリンとクロピドグレルの 2 剤を投与し（ACS 群と UCA 群は 7-10 日間、SCS 群は急性期治療と合わせ 14-21 日間）、治療日ないしその前日に血小板機能を、透過光法（ADP、コラーゲン、アラキドン酸）および血小板凝集塊検出で評価した。

「結果」ACS 群と SCS 群は UCA 群と比較して有意に動脈硬化リスク因子保有率が高かったが、血小板機能は透過光法で評価しても血小板凝集塊検出で評価しても 3 群間で差はなかった。

「結論」血管内治療に先立ち、病態や背景因子が異なる内頸動脈狭窄と脳動脈瘤患者に抗血小板剤 2 剤を一律に投与することは、妥当と考えられる。

## キーワード

頸動脈狭窄、未破裂脳動脈、血小板凝集、透過光法、血小板凝集塊

## 緒言

頸動脈狭窄患者では、動脈硬化により血小板機能がもともと亢進している可能性や<sup>1)</sup>、アスピリンの効果を減ずる可能性のある糖尿病<sup>2)</sup>や脂質異常症<sup>3)</sup>の有病率が高いことから、血管内治療の血栓合併症予防のために投与した抗血小板剤の効果が、動脈硬化性疾患ではない未破裂脳動脈瘤患者よりも総じて低くなってしまう可能性が否定できない。しかしながら、病態や背景因子の異なるこれらの原疾患に対し、治療前に一律に投与された抗血小板剤の効果が同様であるかどうかは検証されていない。そこで本研究では、血小板機能や抗血小板剤効果にもともと差がある可能性の高い頸動脈狭窄患者と未破裂脳動脈瘤患者に対し、治療前に一律に 2 剤併用で抗血小板剤の投与を行った場合、血管内治療時の血小板抑制状態に差が生じるかどうかを検証した。

## 方法

対象は、2016年12月から2018年6月までの間に、当院で抗血小板剤を使用して待機的な血管内治療を行った患者の中で、血小板機能を測定することができた43例である。患者登録は前向きに行った。内訳は、無症候性内頸動脈狭窄（asymptomatic carotid artery stenosis 群；ACS 群）9例、症候性内頸動脈狭窄（symptomatic carotid artery stenosis 群；SCS 群）14例、未破裂脳動脈瘤（unruptured cerebral aneurysm 群；UCA 群）20例である。なお、同期中の当施設の総治療数はACA 群9例、SCS 群15例、UCA 群21例であった。治療前の抗血小板剤としてバイアスピリン100mg とクロピドグレル75mg の2剤を7–10日前から継続した状態（ACS 群、UCA 群）、ないし急性期治療から引き続き14–21日間継続した状態（SCS 群）で血小板機能を評価した。今回の研究では、測定条件による誤差を最小とするために、期間を限定したうえで、測定条件のみならず測定者も完全に同一にして3群の患者の血小板機能を測定した。治療は血小板機能評価日もしくは翌日に行った。

本研究では血小板機能を多角的に評価するために、通常行われている透過光法に加え、全自動血液学分析装置上で形成される血小板凝集塊の評価も同時に行った<sup>4)</sup>。透過光法による血小板凝集能はCS2000i（シスメックス株式会社、神戸）で測定した。採血はプラスチックシリンジ（TERUMO、東京）を用い、血管内治療の前日もしくは当日の朝に21G針（TERUMO、東京）を用いて肘正中皮静脈から行った。透過光法で用いる多血小板血漿（PRP）は、クエン酸管の血液を85×g、15分遠心して作成した。天井効果や床面効果を除外するために、血小板凝集惹起物質は以下に述べるように複数の濃度を用いた：ADPでは0.25 μM、1.0 μM、2.0 μM、**5.0 μM**、10 μM、コラーゲンでは0.05 μg/ml、0.5 μg/ml、**2.0 μg/ml**、5.0 μg/ml、1.0 μg/ml、アラキドン酸では0.1 mM、1.0 mM、1.2 mMの各濃度で行った（Fig1）。3群間の比較は、それぞれの血小板凝集惹起物質濃度の中で、天井効果も床面効果も受けない濃度である、ADPの5 μM<sup>5)</sup>と10 μM<sup>6)</sup>、コラーゲンの**2.0 μg/ml**、アラキドン酸の1.2 mMの各濃度を用いた（Fig 1）。血小板凝集塊の検出は、クエン酸管の血液で全自動血液学分析装置（CELL-DYN Sapphire Hematology System：Abbott Diagnosis、Abbott Park、IL、USA）によって行った。同時採血したエチレンジアミン4酢酸（EDTA）管の血液で、採血時からの血小板凝集は除外した。既報告<sup>7)8)</sup>にならい、今回の検討でもこの測定を血小板凝集塊（Fig 2）が

出現するまで最大 4 回繰り返し、何回目の計測で凝集塊が検出できたのかを比較検討した。本検討では、血小板機能が亢進していれば早い回数（1, 2 回目）で凝集塊が検出され、低下していれば遅い回数（3, 4 回目）で凝集塊が検出されるか、4 回目の測定でも検出されないことになる<sup>7)8)</sup>。

統計学的には、対象者の背景を Kruskal-Wallis 検定ないし Fisher exact 検定で行い、有意差があった項目はさらに Steel-Dwass の多重比較を行って項目間の差を検定した。透過光法結果の 3 群間比較は Kruskal-Wallis 検定、血小板凝集塊検出の 3 群間比較は  $\chi^2$  乗検定を行った。統計学検定ソフトは EZR<sup>9)</sup> を使用した。

本研究は当院の倫理委員会で承認された（承認番号 141501201）。全ての患者からは文書で同意を得ている。

## 結果

対象者の背景は、SCS 群と ACS 群は UCA 群と比べて年齢は有意に高く ( $p < 0.01$ )、男性が有意に多く ( $P < 0.01$ )、糖尿病、脂質異常症、喫煙の動脈硬化リスク因子保有率が有意に高かった (Table1) ( $p < 0.01$ )。一方、ACS 群、SCS 群、UCA 群の透過光法での最大凝集率は、それぞれ ADP (5  $\mu\text{M}$ ) で 69.8%、67.1%、66.7%、ADP (10  $\mu\text{M}$ ) で 69.2%、70.9%、65.1%、コラーゲン (2.0  $\mu\text{g/ml}$ ) で 56.8%、63.2%、52.3%、アラキドン酸 (1.0 mM) で 11.7%、13.4%、12.5% であり、3 群間でいずれも差は認めなかった (Table2) ( $p > 0.05$ )。さらに、血液学分析装置で血小板凝集塊が初めて出現した測定回数 (Table3) にも 3 群間で差を認めなかった ( $p = 1.00$ )。

## 考察

本研究の結果、透過光法で測定しても血小板凝集塊検出で評価しても、頸動脈狭窄と未破裂動脈瘤の患者の治療時の血小板機能は同程度であることが示された。

脳神経血管内治療で最も多い合併症である血栓性合併症は、症候性および無症候性内頸動脈狭窄症に対する頸動脈ステント留置術で 2% 程度<sup>10)12)</sup>、未破裂脳動脈瘤のコイル塞栓術で 4%-8.2% に生じる<sup>13)15)</sup>。脳神経血管内治療の成績を向上するためには、血栓性合併症を低下させることが課題である。こうした血栓性合併症を減らす目的で、現時点では経験的に頸動脈狭窄も脳動脈瘤も一

律 2 剤の抗血小板剤が投与されている<sup>16)</sup>。しかしながら、病態や背景因子の異なるこれらの原疾患に対し、一律に投与された抗血小板剤の効果が同様であるかどうかは検証されていなかった。

動脈硬化のリスクファクターである糖尿病<sup>2)</sup>や高コレステロール血症<sup>3)</sup>はアスピリンの不利因子であり、喫煙はクロピドグレルの抗血小板機能を亢進させる<sup>17)</sup>。従って、動脈硬化性疾患である頸動脈狭窄では、抗血小板剤の効果がこうした要素に影響される可能性がある。一方、非動脈硬化性疾患である脳動脈瘤はこうした要素に影響を受ける可能性が低いいため、抗血小板剤の効果が頸動脈狭窄の場合と異なる可能性がある。こうした状況下で一律に抗血小板剤を投与した場合、もし病態や背景因子によって血小板抑制状態の程度が異なることがあるようであれば、血管内治療の血栓合併症予防のための抗血小板剤の投与方法を、病態や背景因子によって変更する必要が生じる。しかしながら、逆に病態や背景の違いにあまり左右されず、いずれも予防効果の得られることが期待される同程度の血小板抑制状態が得られるのであれば、日常診療で常に血小板機能を測定することのできない施設も多いため、臨床上極めて有益な情報となる。

血小板機能検査のゴールドスタンダードは透過光法であるが、透過光法のみだと血小板凝集機能の亢進が判定できないため<sup>7)</sup>、今回我々は、血小板凝集塊による評価も併用した<sup>4)</sup>。既報告に倣い、血小板凝集塊の評価は全自動血液学分析装置の自動攪拌で生じたスキャッタグラム上の血小板凝集塊で行った<sup>7)8)</sup>。当施設で全く同じ条件で評価した健常人 65 名（平均年齢 44.7 歳）の透過光法最大凝集率は、ADP (5  $\mu$ M) で 89.7%、ADP (10  $\mu$ M) で 87.3%、コラーゲン (2.0  $\mu$ g/ml) で 91.7%、アラキドン酸 (1.0 mM) で 91.1%であり<sup>7)</sup>、血液学分析装置で 2 回目の測定までに血小板凝集塊が検出される割合は 29.4%（本研究では ACS 群 11%、SCS 群 14%、UCA 群 15%）であったことから<sup>7)</sup>、抗血小板剤は血小板機能を実際に十分抑制しており、しかも今回抽出した血小板機能評価項目は、天井効果も床面効果も受けていないことが確認できた。従って本研究から、頸動脈狭窄と未破裂動脈瘤の患者では、病態や背景因子の差にかかわらず、抗血小板剤 2 剤を一定期間以上投与すれば概ね類似した血小板機能の抑制状態が得られることが示唆された。

頸動脈狭窄や未破裂脳動脈瘤患者において、血管内治療目的で投与された抗血小板剤の効果を疾患ごとに評価した報告や<sup>18,19)</sup>、単一の検査方法で評価した

報告<sup>20)</sup>はあるが、本研究のように、両疾患の治療前の血小板機能を多角的に評価した報告は、これまでなされていない。別々の研究で得られた頸動脈狭窄患者での結果<sup>18)</sup>と未破裂脳動脈瘤患者<sup>19)</sup>での結果を直接比較することはできない。また、単一の検査方法のみでの評価では、検査の特性により結果が特定の背景因子の影響を強く受ける可能性がある<sup>20)</sup>。これに対し、本研究のように、頸動脈狭窄患者と未破裂脳動脈瘤患者の血小板機能を多角的に直接比較すれば、実臨床に即した現実的な結果が得られる。従って、今回の、頸動脈狭窄と未破裂脳動脈瘤の血管内治療前の抗血小板剤 2 剤併用投与の効果が同様であった結果からは、背景因子を鑑みて頸動脈狭窄と未破裂脳動脈瘤の術前抗血小板治療強度を調整する必要性は低いことが伺える。

本研究は、前向き観察研究で観察期間中の治療患者のほぼ全例（95.6%）が登録された点や血小板機能を多角的に比較評価できたことが強みとして挙げられる反面、患者の登録数が少ない点に限界がある。さらに、個々の患者の病態や背景因子による抗血小板剤の効果の差を検証していない点も限界として挙げられる。しかしながら本研究結果は、頸動脈狭窄患者および未破裂脳動脈瘤患者の両者に対して経験的に一律に行ってきた血管内治療前の抗血小板剤 2 剤併用予防投与を肯定するものであり、日常診療で手軽に血小板機能評価を行えない施設も多い現状を鑑みると、臨床上有用と考えられる。本研究の結果を確認するためには、より多い患者数での検討や、個々の患者の遺伝子多型まで踏まえた検討が必要である。また、遺伝子多型も含めた個々の患者毎の背景因子評価が全ての施設で迅速に行えるようになれば、今後病態や背景因子に即した抗血小板剤予防投与の調整が必要になってくる可能性もある。

## 結論

頸動脈狭窄と無症候性脳動脈瘤の血管内治療では、病態や背景因子は異なるが、これまで経験的に行ってきたアスピリンとクロピドグレルの 2 剤投与により概ね同等の血小板抑制状態が得られる。

## 利益相反

なし

## 文献

- 1) Shimizu M, Kohara S, Yamamoto M, et al. Significant relationship between platelet activation and intra-media thickness of the carotid artery in patients with ischemic cerebrovascular disease. *Thromb Res* 2006; 117: 647-52.
- 2) Ajjan R, Storey RF, Grant PJ. Aspirin resistance and diabetes mellitus. *Diabetologia* 2008; 51: 385-390.
- 3) Wang N, Tall AR. Cholesterol in platelet biogenesis and activation. *Blood* 2016; 127: 1949-1953.
- 4) Shimizu. M, Yamamoto M, Takizawa S, et al. Platelet Aggregates Detected by a Conventional Hematology Analyzer Method Is a Risk Factor for Stroke or a Predictive Factor in Patients With Chronic-Stage Cerebral Infarction. *J Stroke and Cerebrovascular Diseases* 2011; 20: 275-281.
- 5) Lordkipanidz M, Pharaud C, Schampaert E, et al. A comparison of six major platelet function tests to determine the prevalence of aspirin resistance. *Eur Heart J* 2007; 28: 1702-1708.
- 6) Harrison P, Bethel MA, Kennedy I, et al. Comparison of nine platelet function tests used to determine responses to different aspirin dosages in people with type 2 diabetes. *Platelets* 2019; 30: 521-529.
- 7) Sugawara E, Shimizu M, Yamamoto M, et al. Pitfall of Light Transmission Aggregometry-Based Assessment of Platelet Function in Acute Ischemic Stroke Patients. *J Stroke Cerebrovasc Dis* 2019 Nov 12:104496. doi: 10.1016/j.jstrokecerebrovasdis.(in press)
- 8) Sugawara E, Shimizu M, Yamamoto M, et al. Influence of platelet aggregate formation in blood samples on light transmission aggregometry results. *J Stroke Cerebrovasc Dis* 2019; 28: 1001-1006.
- 9) Kanda Y. Investigation of the freely available easy-to-use software 'EZR' for medical statistics. *Bone Marrow Transplantation* 2013; 48: 452-458.
- 10) Tokuda R, Yoshimura S, Uchida K, et al. Real-world experience of carotid artery stenting in Japan : Analysis of 8458 Cases from the JR-NET3 Nationwide Retrospective Multi-center Registries. *Neurol Med*

Chir (Tokyo) 2019; 59: 117-125.

- 11) Yadav JS, Wholey MW, Kuntz RE, et al. Protected carotid artery stenting versus endarterectomy in high-risk patients. *NEJM* 2004; 351: 1493-1501.
- 12) Brott TG, Hobson RW, Howard H, et al. Stenting versus endarterectomy for treatment of carotid-artery stenosis. *NEJM* 2010; 363: 11-23.
- 13) Shigematsu T, Fujinaka T, Yoshimine T, et al. Endovascular therapy for asymptomatic unruptured intracranial aneurysms; JR-NET and JR-NET2 findings. *Stroke* 2013; 44: 2735-2742.
- 14) Yamaki VN, Brinjikji W, Murad MH, et al. Endovascular treatment of very small intracranial aneurysms: Meta-Analysis *AJNR* 2016; 37: 862-867.
- 15) Rahme RJ, Zammar SG, El Ahmadieh TY, et al. The role of antiplatelet therapy in aneurysmal coiling. *Neurol Research* 2014; 36: 383-388.
- 16) Enomoto Y, Mizutani D, Yoshimura S, et al. Changing paradigms of periprocedural antithrombotic therapy: Analysis of JR-NET 3 *Neurol Med Chir (Tokyo)* 2019; 59: 247-256.
- 17) Gremmel T, Steiner S, Seidinger D, et al. Smoking promotes clopidogrel-mediated platelet inhibition in patients receiving dual antiplatelet therapy. *Thromb Research* 2009; 124: 588-591.
- 18) Song TJ, Suh SH, Min PK, et al. The influence of anti-platelet resistance on the development of cerebral ischemic lesion after carotid artery stenting. *Yonsei Med J* 2013; 54: 288-294
- 19) Kang HS, Kwon BJ, Kim JE, et al. Preinterventional clopidogrel response variability for coil embolization of intracranial aneurysms: Clinical implications. *AJNR* 2010; 31: 1206-1210 PRU 276
- 20) Nakagawa I, Park HS, Yokoyama S, et al. Influence of diabetes mellitus and cigarette smoking on variability of the clopidogrel-induced antiplatelet effect and efficacy of active management of the target P2Y12 reaction unit range in patients undergoing neurointerventional procedure. *J Stroke Cerebrovasc Dis* 2016; 25: 163-171.

PMID: 31732459



## 図の説明

### **Fig 1 : 透過光法による ADP 各濃度での凝集曲線**

横軸は時間（秒）、縦軸は凝集率（%）を示す。最大凝集率が得られる反応時間は 300 秒とした<sup>48)</sup>。図には示していないが、コラーゲン凝集およびアラキドン酸凝集も同様の曲線が描ける。最大凝集率反応時間はコラーゲン凝集が 300 秒、アラキドン酸凝集が 270 秒とした<sup>48)</sup>。

### **Fig 2 : 全自動血液学分析装置での血小板凝集塊の検出**

横軸は血球や凝集塊の大きさ、縦軸は核の分葉や凝集塊の複雑さ。白矢印が血小板塊の領域を示している。

表 1 患者背景の比較

	ACS (9 人)	SCS (14 人)	UCA (20 人)	p 値	ACS vs SCS	ACS vs UCA	SCS vs UCA
年齢 (歳)	72.9±4.5	72.4±6.8	59.0±12.3	<0.01	0.99	<0.01	<0.01
性 男:女	8:1	16:0	4:16	<0.01	0.62	<0.01	<0.01
高血圧	8 (89%)	12 (75%)	10 (50%)	0.11			
糖尿病	4 (45%)	9 (56%)	1 (5%)	<0.01	0.69	<0.01	<0.01
脂質異常症	4 (45%)	14 (88%)	8 (40%)	<0.01	0.06	1	<0.01
飲酒	5 (56%)	5 (31%)	4 (20%)	0.16			
喫煙	5 (56%)	6 (38%)	1 (5%)	<0.01	0.43	<0.01	0.03

ACS = asymptomatic carotid artery stenosis, SCS = symptomatic carotid artery stenosis, UCA = unruptured cerebral aneurysm.

表 2 透過光法による最大凝集率の比較

	ACS	SCS	UCA	p 値
ADP (5 $\mu$ M)	69.8 $\pm$ 9.0	67.1 $\pm$ 18.0	66.7 $\pm$ 13.0	0.739
ADP (10 $\mu$ M)	69.2 $\pm$ 9.2	70.9 $\pm$ 8.0	65.1 $\pm$ 12.2	0.641
コラーゲン	56.8 $\pm$ 27.2	63.2 $\pm$ 18.0	52.3 $\pm$ 24.7	0.566
アラキドン酸	11.7 $\pm$ 7.7	13.4 $\pm$ 8.3	12.5 $\pm$ 17.7	0.362

ACS = asymptomatic carotid artery stenosis, SCS = symptomatic carotid artery stenosis, UCA = unruptured cerebral aneurysm.

表 3 全自動血液学分析装置で血小板凝集塊が初めて検出できた測定回数の比較

測定回数	ACS	SCS	UCA
1, 2 回目	1 (11%)	2 (14%)	3 (15%)
3, 4 回目	4 (45%)	6 (43%)	9 (45%)
4 回目でも検出されず	4 (45%)	6 (43%)	8 (40%)
合計	9 (100%)	14 (100%)	20 (100%)

ACS = asymptomatic carotid artery stenosis, SCS = symptomatic carotid artery stenosis, UCA = unruptured cerebral aneurysm.

Fig 1

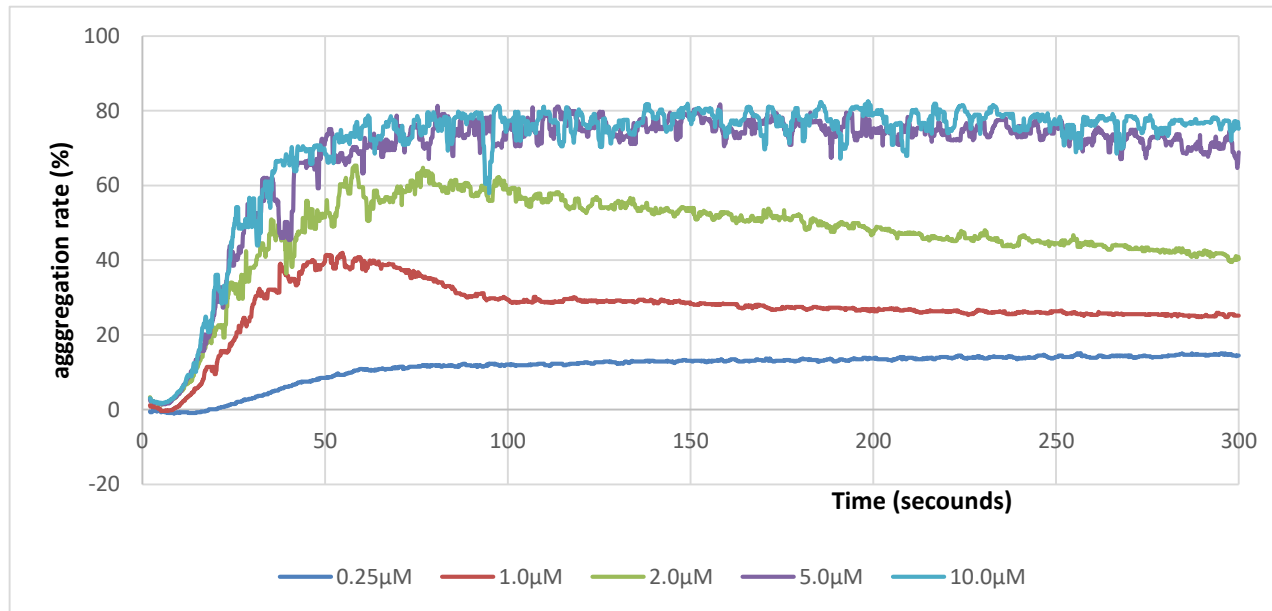


Fig 2

