

新規心血管リスクとしての進行性軽度血小板減少症；血小板の Heterogeneity に関する探索的研究

舘野 馨

国際医療福祉大学 医学部・成田病院 循環器内科

【研究の背景】

脳卒中や心筋梗塞などの心血管イベント (CVE) は、古典的な動脈硬化危険因子の管理のみでは十分に予防できない。その背景として近年、血小板の質的变化が関与している可能性が示されている¹⁾。血小板は均質な細胞集団ではなく、慢性炎症など様々な因子によって細胞質容積、プロテオーム、細胞機能などがダイナミックに修飾を受け、結果として幅広い Heterogeneity を示すことが知られている。特に CVE 患者では、細胞骨格、糖代謝、抗酸化に関連するタンパク発現の減少が報告されている²⁾。確かに血小板は、CVE 発症機序に重要な役割を果たす。とはいえ、このような血小板の変化がどのような機序で生じているのか、変化した血小板が CVE 発症の原因となっているのかは、まだよく分っていない。

【目 的】

我々は、動脈硬化の検索と治療を徹底したにも関わらず CVE を発症したケースのなかに、その数か月前から血小板数が緩やかに漸減するケースが度々見られることを発見した (図 1)。そこでこのような「進行性軽度血小板減少症 (mild but progressive thrombocytopenia 以下 MPT)」の病態背景と、CVE 発症との関連を検証しようと後向き調査を行った。その結果、CVE 発症例では血小板数、および血中の可溶性 CD40 リガンド (sCD40L) が低値であることを発見した (図 2、3)。CD40L は一般に血小板活性化指標であり、これは従来の常識と正反対の驚くべき結果であった。しかし血中 sCD40L の 95% は血小板により産生される。従ってこの予想外の現象は血小板の質的变化を反映しており、CVE 発症に寄与しているのではないかと我々は考えた。本研究は、MPT と血小板の質的变化が CVE 発症に先立つ特徴的な現象であるか検証するものである。

図1 血小板減少の後に心筋梗塞を発症した一例

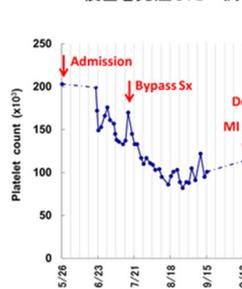


図2 血小板数と透析患者心血管予後

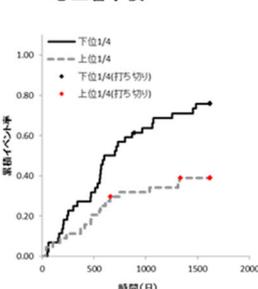


図3 心血管イベント (CVE) 発症の有無と血中 sCD40L レベル

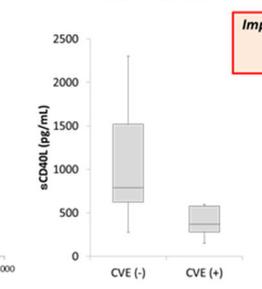
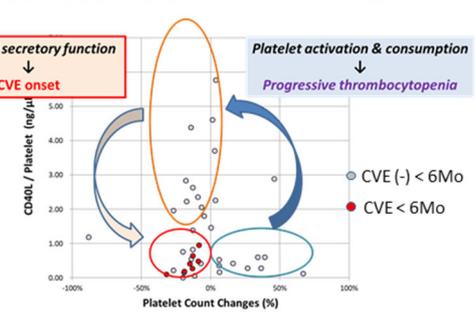


図4 血小板数の増減トレンドと血漿CD40L濃度



【方 法】

透析患者のうち、すでに MPT を示している患者、および CVE 二次予防患者、計 50 名を CVE 超ハイリスクコホートとして登録し、前向きに追跡する。同コホートから毎月血液サンプルを採取し、血小板数・血小板容積・幼若血小板比率を計測しつつ、フローサイトメトリーにより血小板機能・活性化能を分析し、血清・血漿・血小板ペレットを分離して凍結保存しておく。3 年間の観察期間中にコホート内で CVE を発症した全ての症例を同定し、MPT の有無を傾向スコアマッチングして対照を抽出、発症 6 か月前まで遡りサンプル (または対照例の同時期サンプル) を解凍し、タンパク発現を解析する計画であった。本

年はエントリー時点での血小板動態・機能・各種タンパク発現を分析し、MPT の有無で比較解析する予定であった。

【結 果】

研究開始の直後、新型コロナウイルスのパンデミックが始まった。医療従事者の移動制限や研究施設の閉鎖によって臨床研究の継続が困難となり、2020 年 10 月に感染拡大の防止と研究活動の両立に向けたガイドラインが改訂されるまで続いた。このため期待した成果を本稿に報告するに至らなかったが、この期間中に上述の後ろ向きコホートについて探索的なデータ解析を追加したところ、新しい仮説と本研究計画を改良する機会に恵まれたので、ここに報告したい。

まず MPT をより正確に評価するため、血小板数の横断的解析に替えて、血小板数のトレンドデータを追加収集した。このトレンドと CD40L をプロットしたところ(図 4 橙)血小板減少傾向にあるケースでは CD40L が高値をとることが判明した。また抗血小板剤を投与されているケースでは、血小板数が多い傾向を認めた(図 5 左)。これらの結果は血小板の活性化による消費が MPT の原因であることを示すものであった。特筆すべきことに、将来 CVE を発症するケースの大半が血小板減少を示していた。ところが CVE が切迫している症で例は、血小板減少トレンドを示しつつも CD40L が低値を示していた(図 4 赤)。これらから、血小板の量的変化に続き質的变化が生じると、CVE を発症することが示唆された³⁾。また抗血小板剤の投与にも関わらず血小板低値を示す群では CVE 予後が最も悪かった(図 5 右)。これは抗血小板剤への不応性を示すと考えられた。このほか血小板数は平均赤血球容積(MCV)と負に相関しており、また統計学的に有意ではないものの、MCV 高値は CVE 発症と実質的に相関していた。MCV 高値と造血幹細胞(HSC)の細胞老化は互いに強く関連し、ともに CVE リスクを示すことが報告されている。したがって、MPT は HCS 老化とも関連する可能性が示唆された⁴⁾。

【考 察】

透析患者において、MPT が血小板の消費と HSC 細胞老化の両者に関連することと、CVE 発症に血小板の質的变化や薬剤不応性が関与することについて、我々は文献的な考察を加えて以下の仮説を立てた。①透析回路で血小板が活性化・凝集したまま返血されると、体内で炎症と酸化ストレスを惹起、②週 3 回の透析で炎症と酸化ストレスが蓄積して HSC が老化、③血小板造血の疲弊をもたらし、血小板消費を補充できずに MPT を発症、④ HSC の老化と血小板の造血疲弊が血小板の質的变化・薬剤不応性を発生させる頃には⑤血液・免疫細胞による血管恒常性維持が困難となっており、⑥ついに CVE を発症するのではと考えた(図 6)。そこで臨床研究の再開にあたり、HSC の生物学的年齢⁵⁾を分析項目に加えることとした。

図 5 抗血小板薬(APT)と血小板数、およびその CVE 予後への影響

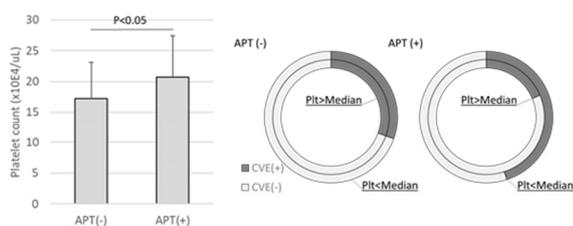
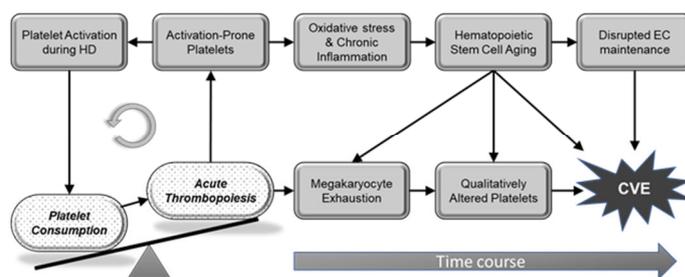


図 6 透析患者における血小板減少と CVE 予後の関連 (仮説)



【臨床的意義・臨床への貢献度】

本研究は心血管イベントの発症を予測するバイオマーカーや、新たな治療標的の発掘を通して、透析患者の予後を改善するものと期待される。また動脈硬化性疾患の機序解明にも資する可能性が高い。さらに、もし血小板の質的变化が本当に CVE をもたらすのであれば、血小板輸血ドナー選定に重大な警鐘を鳴らす、貴重なコンセプトを提供することにもなる。

【参考・引用文献】

1. Martin JF et al. *Nat Rev Cardiol.* 2012; 9: 658-70.
2. Lopez-Farre AJ et al. *Proteomics.* 2011; 11: 3335-48
3. Tateno K et al. *Circulation.* 2019; 140: Issue Suppl 1
4. Toyoda Y, Tateno K et al. (*in submission*)
5. Weidner et al. *Genome Biology* 2014; 15: R24