

# 不安定狭心症における 11-dehydro-thromboxane B<sub>2</sub> の検討

# Elevation of 11-dehydro-thromboxane B<sub>2</sub> levels in unstable angina

小池 隆司  
服部 晃  
五十嵐 裕  
松原 琢  
田村 雄助  
山添 優  
和泉 徹  
柴田 昭

Takashi KOIKE  
Akira HATTORI  
Yutaka IGARASHI  
Taku MATSUBARA  
Yuhsuke TAMURA  
Masaru YAMAZOE  
Tohru IZUMI  
Akira SHIBATA

## Summary

To evaluate *in vivo* platelet activation, 11-dehydro-thromboxane B<sub>2</sub> levels in plasma and urine were measured in 9 patients with unstable angina and 11 with stable angina using radioimmunoassay modified by the extraction method of Kawano et al. The 2 groups were matched for age, sex, coronary risk factors, medications or atherosclerotic lesions in coronary angiography. Although there was no difference in the plasma level between the 2 groups in the usual state, urinary 11-dehydro-thromboxane B<sub>2</sub> amount in unstable angina was significantly increased compared to the stable angina group (865.5±238.7 vs 535.9±177.4 pg/mg creatinine (mean±SD), p<0.01). There was no correlation between the 11-dehydro-thromboxane B<sub>2</sub> level and the degree of coronary atherosclerosis in either group. The plasma level increased during the attacks in 2 patients with unstable angina. The amount of urinary 6-keto-PGF<sub>1α</sub> did not differ between the 2 groups.

These findings suggest that platelet activation *in vivo* is more pronounced in unstable angina than in stable angina, and that the measurement of urinary 11-dehydro-thromboxane B<sub>2</sub> may be useful for evaluating and treating angina.

## Key words

11-dehydro-thromboxane B<sub>2</sub>

Unstable angina

Platelet activation

## 緒 言

虚血性心疾患における狭心発作<sup>1)</sup>や、不安定狭心症<sup>2)</sup>から急性心筋梗塞への進展における血栓、特に血小板の役割<sup>3)</sup>は、冠動脈内血栓の確認<sup>4-6)</sup>

と血小板<sup>7-9)</sup>や凝固<sup>1,10-12)</sup>の活性化の研究から明らかになりつつある。しかし安定狭心症との比較で、不安定狭心症は血小板指標では循環凝集血小板など、1, 2<sup>7-9)</sup>を除けば差がなく<sup>11)</sup>、また凝固系指標では fibrinopeptide A, fibrin monomer<sup>1,10-12)</sup>

新潟大学医学部 第一内科  
新潟市旭町通1 (〒951)

The First Department of Internal Medicine, Niigata University School of Medicine, Asahimachidori 1, Niigata 951

Received for publication May 21, 1990; accepted October 25, 1990 (Ref. No. 37-PS143)

を除けば差がない。

これまで血小板の活性化の指標とされてきた thromboxane (TX) B<sub>2</sub> は TXA<sub>2</sub> から非酵素的に速やかに生じるため, 採血などによる人工産物を生じ易く<sup>13,14)</sup>, また狭心発作で一過性に上昇しても, 尿中の定量は腎由来の TX の混在が問題となっていた。最近放射免疫測定 (RIA) が可能になった<sup>15,16)</sup> 11-dehydro-TXB<sub>2</sub> は, 肝などで緩徐に TXB<sub>2</sub> から変換されるため, 採血時の血小板の活性化の影響が回避され<sup>13,14)</sup>, 血中半減期が長い<sup>13)</sup> ので発作時の変化を捉え易く, また尿中量の測定<sup>16,17)</sup> では腎由来の問題が少ないため, より忠実に循環中での血小板の活性化を反映すると期待される。すでに糖尿病では血漿中<sup>18)</sup>, また動脈硬化症では尿中<sup>14)</sup> の増加が報告されている。しかし一方, この 11-dehydro-TXB<sub>2</sub> の測定には, 試料よりの抽出にまだ問題があり, 市販キットを直ちに利用できるわけではない。

我々は, 11-dehydro-TXB<sub>2</sub> 測定に際し, 抽出について若干の検討を試み, 不安定狭心症および安定狭心症例の血漿と尿中のレベルを測定したところ, 特徴的な所見を見出したので報告する。

### 対象と方法

対象は AHA の診断基準を満たす不安定狭心症 9 名 (男 7, 女 2, 年齢 61.7±5.1 歳), 安定狭心症 11 名 (男 10, 女 1, 年齢 61.2±6.2 歳) である。冠動脈造影法により冠動脈硬化病変の程度を検討した。

#### 試料

入院約 1 週間後の発作のない日の早朝空腹時に採血した。後述の 2 例では発作日にも調べた。19G シリコン化針を肘静脈に穿刺し, 血液 6 ml を theophyllin および indomethacin 入りの TXB<sub>2</sub> 測定採血管 (SRL) に入れ, 混和した。ただちに氷冷し, 1,000G 15 分の遠沈後上清を分離し, 測定時まで -20°C 以下に保存した。尿は 1 日量を混和し, 10 ml を同様に保存した。

プロスタグランジンの抽出精製は川野ら<sup>19)</sup> の方

法により行なった。すなわち試料を塩酸性下に octadecylsilyl 担体懸濁液と振盪混和し, 除蛋白次いで脱脂肪した後, 酢酸エチルで溶出し乾固した。そして溶液 A (acetonitrile: chloroform: acetic acid=20:80:0.5) で溶出させ, シリカカラムを通した。それからの溶出は原法では収量が低かったため溶媒組成を変更検討した。その結果 A から溶液 B (30:70:0.5), C (80:20:0.5), 次いでメタノールで行なった。標識 11-dehydro-TXB<sub>2</sub> を用い各溶出液分画の含有率を放射活性より求めた。最終溶出液は乾固後, 測定緩衝液に溶解し, NEN 製 11-dehydro-TXB<sub>2</sub> [<sup>125</sup>I] RIA キットおよび 6-keto-PGF<sub>1α</sub> [<sup>125</sup>I] RIA キットを用いて測定した。

### 結 果

#### 両群の質的検討

年齢, 性, 冠危険因子, 服用薬剤については差はなく (Table 1), 冠動脈造影による冠動脈硬化所見にも差はなかった (Table 2)。

抽出液による TX 回収率: 11-dehydro-TXB<sub>2</sub> は Fig. 1 のように溶液 B の分画に最も多量に抽出され, 回収率は 70.8% であった。以後 11-dehydro-TXB<sub>2</sub> はこの分画, また 6-keto-PGF<sub>1α</sub>

Table 1. Patient background

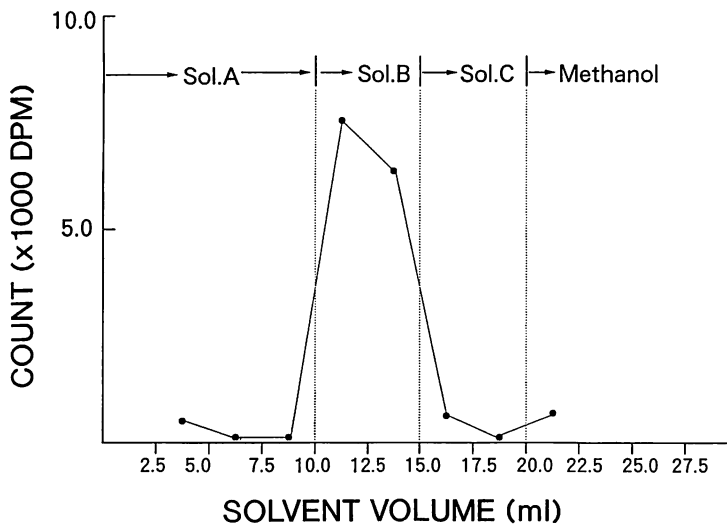
	Stable angina	Unstable angina
No. of patients	11	9
Sex (M/F)	10/1	7/2
Age (mean±SD)	61.2±6.2	61.7±5.1
<i>Coronary risk factors</i>		
Hypertension (%)	4 (36)	5 (56)
Diabetes (%)	2 (18)	4 (44)
Hyperlipidemia (%)	3 (27)	2 (22)
Smoker (%)	8 (73)	5 (55)
<i>Medication</i>		
Nitrate+Ca antagonist	9 (82)	8 (89)
Nitrate only	1 (9)	0 (0)
Ca antagonist only	1 (9)	1 (11)

**Table 2. Coronary atherosclerosis and 11-dehydro-TXB<sub>2</sub>**

Stenosis	Stable angina	Unstable angina	Total	11-dehydro-TXB <sub>2</sub> (mean±SD)	
				Urine	Plasma
Three vessels	2	3	5	589.2±115.0	18.4±8.0
Two vessels	4	3	7	735.8±356.3	18.0±8.1
One vessel	2	1	3	522.4±164.6	15.9±1.8
None	3	2	5	719.8±153.4	17.6±6.1
	All N. S.			(pg/mg creatinine)	(pg/ml)

There was no significant differences in atherosclerotic grades between patients with stable and unstable angina, nor in plasma or urine 11-dehydro-TXB<sub>2</sub> values among 4 different sclerosis groups.

N. S.=not significant.

**Fig. 1. Recovery of 11-dehydro-TXB<sub>2</sub> in different solvents.**

11-dehydro-TXB<sub>2</sub> was processed using the method of Kawano et al<sup>19)</sup>. When applied to a silica column the substance was eluted by solvents A, B, C and methanol. Recovery was measured through radioactivity.

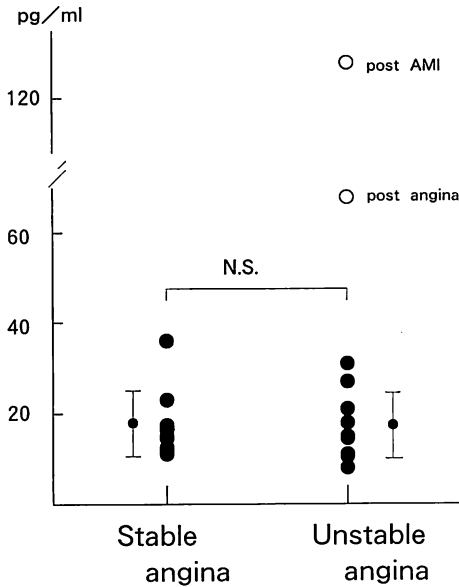
は原法通り溶液 C の分画を使用して測定した。

#### 血漿中の 11-dehydro-TXB<sub>2</sub>

Fig. 2 のように、安定狭心症群 18.1±7.2 (mean±SD) pg/ml (n=9), 不安定狭心症群 17.6±7.3 pg/ml (n=9) と差がなかった。しかし不安定狭心症群で発作を頻発した 1 例および急性心筋梗塞へ移行した 1 例では、発作の 11-dehydro-TXB<sub>2</sub> は白丸のように著増していた。

#### 尿中の 11-dehydro-TXB<sub>2</sub>

クレアチニン補正を行なうと、Fig. 3 のように、安定狭心症群 535.9±177.4 pg/mg creatinine (n=11) に対し、不安定狭心症群は 865.5±238.7 pg/mg creatinine (n=9) と有意に増加していた (p<0.01)。これらの血漿および尿値を冠動脈硬化血管本数別に比較しても差がなかった (Table 2)。一方、尿中 6-keto-PGF<sub>1α</sub> は対照群



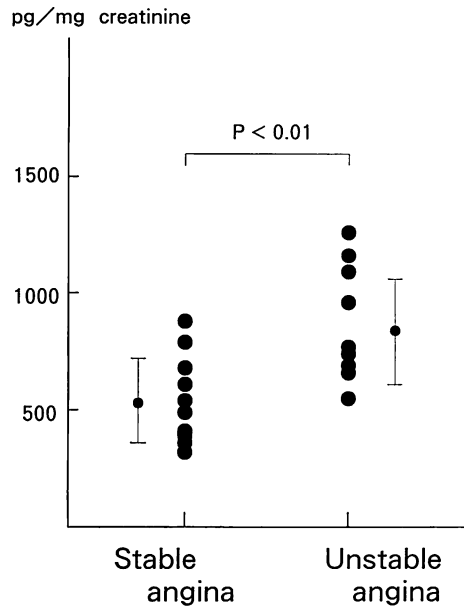
**Fig. 2. Plasma 11-dehydro-TXB<sub>2</sub> in stable and unstable angina pectoris.**

Plasma was processed by the modified method of Kawano et al. Solvent B fraction (see Fig. 1) was used for radioimmunoassay using NEN 11-dehydro-TXB<sub>2</sub> [<sup>125</sup>I] RIA kit.

126.2 ± 43.6 (n = 11), 不安定狭心症群 142.7 ± 38.9 (n = 9) pg/mg creatinine と差がなかった。

### 考 按

狭心症発作には従来より血管攣縮が重要とされ<sup>20)</sup>, 血小板由来のセロトニン<sup>21)</sup>や TXA<sub>2</sub> 以外の物質<sup>22)</sup>も推定されている。特に不安定狭心症<sup>2)</sup>では前述のように血管病変<sup>23)</sup>と血小板との相互反応の結果としての血小板由来の TXA<sub>2</sub> が, 特に PGI<sub>2</sub> とのバランスの上で重要視されるに至っている<sup>24,25)</sup>。実際, 安定狭心症との対比で, 本症では冠静脈洞血での TXA<sub>2</sub> 上昇<sup>7)</sup>, 循環凝集血小板の増加<sup>9)</sup>, 尿中 2, 3-dinor TXB<sub>2</sub> の増加<sup>8)</sup>が証明され, 血小板の TXA<sub>2</sub> 産生を抑えるアスピリンが本症の急性心筋梗塞への移行防止に有効であるとの臨床成績<sup>26,27)</sup>がある。しかし一方で, 凝固線溶活性の上昇も証明され<sup>10~12,28)</sup>, 1日1回以



**Fig. 3. Urinary 11-dehydro-TXB<sub>2</sub> in stable and unstable angina pectoris.**

Urine was processed as in the case of plasma and measured for 11-dehydro-TXB<sub>2</sub>.

上の狭心発作をもつ活動期の狭心症および慢性期心筋梗塞では, 非活動期のそれらよりも fibrinopeptide A が有意に上昇していたが, β-thromboglobulin や血小板の TXA<sub>2</sub> 産生能には著明な差がなかったとの報告<sup>1)</sup>や, 心筋梗塞への移行防止効果に対し, ヘパリンとアスピリンの併用はヘパリン単独と差がないとの成績<sup>29)</sup>もあり, 本症における血小板の意義ははまだ明確でない。

今回の我々の検討で, 非発作時においても, 安定狭心症に比較して, 不安定狭心症では血小板の活性化が強いことが尿での測定で確認された。血漿値に差がなかった理由は, 方法の測定感度やこの物質の血中よりの減衰の問題などがあるかもしれない。しかし発作や心筋梗塞への移行に際し, 血漿値が上昇(血小板の活性化が増大)することが確認された。本物質は 2,3-dinor TXB<sub>2</sub><sup>8)</sup>と同様に血小板活性化の指標として有効と考えられる。冠動脈硬化所見では安定型と差がなく, かつ尿中

値は冠動脈硬化所見と直接関連がなかったことから、造影では血管病変の血小板活性化の程度を捉えることができない。Fibrinopeptide A などの所見と総合すると、本症では血小板とフィブリン糸からなり、冠動脈造影では捉えられない微小あるいは一過性の血栓が形成されていると推定される。本症における冠血管内視鏡の所見<sup>6)</sup>はその可能性を支持している。現時点で血小板の活性化と凝固の活性化の比重や時期の差、またどちらが一次的かなどの問題は不明である。ともあれ、非発作時の尿中 11-dehydro-TXB<sub>2</sub> の測定、発作時の血中値の測定は本症における血小板活性化の指標として病態解析や治療効果の判定に有用であると思われる。

### 要 約

不安定狭心症 9 例と安定狭心症 11 例における血小板の活性化を探るため、血漿および尿中の 11-dehydro-thromboxane B<sub>2</sub> を川野ら<sup>19)</sup>の抽出精製法文献を一部改変し、RIA で測定した。患者群は年齢、性、冠危険因子、薬剤、および冠動脈狭窄度のいずれにも差がなかった。血漿値は非発作時では差がなかった。しかし不安定狭心症群の発作および急性心筋梗塞へ移行した各 1 例では著増した。尿中値は安定狭心症群 535.9±177.4 pg/mg creatinine (n=11) に対し、不安定狭心症群は 865.5±238.7 pg/mg creatinine (n=9) と有意に増加していた (p<0.01)。冠動脈硬化度とこれらの値は関連しなかった。なお尿中の 6-keto-PGF<sub>1α</sub> には差がなかった。

以上より、不安定狭心症では安定型に比べ非発作時の血小板活性度が高く、発作時ではさらに増加する。活性度は冠動脈硬化度と関連しない。尿中値は本症における血小板活性度の指標として、病態や治療効果の解析に役立つと思われる。

### 文 献

- 1) Seneri GG, Gensini GF, Abbate R, Mugnaini C, Favilla S, Brunelli C, Chierchia S, Parodi O: Increased fibrinopeptide A formation and thromboxane A<sub>2</sub> production in patients with ischemic heart disease: Relationships to coronary pathoanatomy, risk factors, and clinical manifestations. *Am Heart J* **101**: 185-194, 1981
- 2) Braunwald E: Unstable angina: A classification. *Circulation* **80**: 410-414, 1989
- 3) Fuster V, Badimon L, Cohen M, Ambrose JA, Badimon JJ, Chesebro J: Insights into the pathogenesis of acute ischemic syndromes. *Circulation* **77**: 1213-1220, 1988
- 4) Gotoh K, Minamino T, Katoh O, Hanano Y, Fukui S, Hori M, Kusuoka H, Mishima M, Inoue M, Kamada T: The role of intracoronary thrombus in unstable angina: Angiographic assessment and thrombolytic therapy during ongoing anginal attacks. *Circulation* **77**: 526-534, 1988
- 5) Freeman MR, Williams AE, Chisholm RJ, Armstrong PW: Intracoronary thrombus and complex morphology in unstable angina. *Circulation* **80**: 17-23, 1989
- 6) Sherman CT, Litvack F, Grundfest W, Lee M, Hickey A, Chau A, Kass R, Blanche C, Matloff J, Morgenstern N, Ganz W, Swan HJR, Forrester J: Coronary angiography in patients with unstable angina pectoris. *N Engl J Med* **315**: 913-919, 1986
- 7) Hirsh PD, Hillis LD, Campbell WB, Firth BG, Willerson JT: Release of prostaglandins and thromboxane into the coronary circulation in patients with ischemic heart disease. *N Engl J Med* **304**: 685-691, 1981
- 8) Fitz Gerald DJ, Roy L, Catella F, Fitzgerald GA: Platelet activation in unstable coronary disease. *N Engl J Med* **315**: 983-989, 1986
- 9) Fuchs J, Weinsberger I, Rotenberg Z, Joshua H, Almozilino A, Agmon J: Circulating aggregated platelets in coronary artery disease. *Am J Cardiol* **60**: 534-537, 1987
- 10) Wilensky RL, Zeller JA, Wish M, Tulchinsky M: Urinary fibrinopeptide A levels in ischemic heart disease. *J Am Coll Cardiol* **14**: 597-603, 1989
- 11) Theroux P, Latour JG, Leger-Gauthier C, Lara JD: Fibrinopeptide A and platelet factor levels in unstable angina pectoris. *Circulation* **75**: 156-162, 1987
- 12) Kraskal JB, Commerford PJ, Franks J, Kirsch PE: Fibrin and fibrinogen-related antigens in patients with stable and unstable coronary artery

- disease. *N Engl J Med* **317**: 1361-1365, 1987
- 13) Westlund P, Granstrom E, Kumlin M, Nordstrom A: Identification of 11-dehydro-TXB<sub>2</sub> as a suitable parameter for monitoring thromboxane production in the human. *Prostaglandins* **31**: 929-960, 1986
  - 14) Catella F, Healy D, Lawson JA, Fitz Gerald GA: 11-dehydrothromboxane B<sub>2</sub> formation in the human circulation. *Proc Natl Acad Sci USA* **83**: 5861-5865, 1986
  - 15) Kumlin M, Granstrom E: Radioimmunoassay for 11-dehydro-TXB<sub>2</sub>: A method for monitoring thromboxane production in vivo. *Prostaglandins* **32**: 741-767, 1986
  - 16) Ciabattomi G, Maclouf J, Catella F, Fitz Gerald GA, Patrono C: Radioimmunoassay of 11-dehydrothromboxane B<sub>2</sub> in human plasma and urine. *Biochem Biophys Acta* **918**: 293-297, 1987
  - 17) Roberts LJ II, Sweetman BJ, Oates JA: Metabolism of thromboxane B<sub>2</sub> in man. *J Biol Chem* **256**: 8384-8393, 1981
  - 18) Ono Y, Katoh M, Kudoh M, Nakagawa S, Hirai A, Sugita M, Kawano K: 11-dehydro-thromboxane B<sub>2</sub> in diabetics. *J Jpn Diab Soc* **32**: 127-130, 1989
  - 19) Kawano K, Sugita M, Oka M, Tabata N: A simple, rapid and simultaneous extraction of thromboxane B<sub>2</sub>, 6-keto-prostaglandin F<sub>1α</sub> and prostaglandin E<sub>2</sub>. *Jpn J Inflammation* **7**: 511-515, 1987
  - 20) Maseri A, L'abbate A, Chierchia S, Parodi O, Severi S, Biagini A, Distante A, Marzilli M, Ballestra AM: Significance of spasm in the pathogenesis of ischemic heart disease. *Am J Cardiol* **44**: 788-792, 1979
  - 21) Rubanyi GM, Frye RL, Holmes DR Jr, Vanhoutte PM: Vasoconstrictor activity of coronary sinus plasma from patients with coronary artery disease. *J Am Coll Cardiol* **9**: 1243-1249, 1987
  - 22) Yui Y, Hattori R, Takatsu Y, Kawai C: Selective thromboxane A<sub>2</sub> synthetase inhibition in vaso-spastic angina pectoris. *J Am Coll Cardiol* **7**: 25-29, 1986
  - 23) Falk E: Plaque rupture with severe pre-existing stenosis precipitating coronary thrombosis: Characteristics of coronary atherosclerotic plaques underlying fatal occlusive thrombi. *Br Heart J* **50**: 127-134, 1983
  - 24) Willerson JT, Campbell WB, Winniford MD, Schmitz J, April P, Firth BG, Ashton J, Smitherman T: Conversion from chronic to acute coronary artery disease: Speculation regarding mechanisms. *Am J Cardiol* **54**: 1349-1354, 1984
  - 25) Mehta J, Mehta P: Role of blood platelets and prostaglandins in coronary artery disease. *Am J Cardiol* **48**: 366-373, 1981
  - 26) Lewis HD Jr, Davis JW, Archibald DG, Phil M, Steinke WE, Smitherman TC, Doherty JE, Schnaper HW, LeWinter MM, Linares E, Pouget JM, Sabharwal SC, Chesler E, DeMots H: Prospective effects of aspirin against acute myocardial infarction and death in men with unstable angina. *N Engl J Med* **309**: 396-403, 1983
  - 27) Cairns JA, Gent M, Singer J, Finnie KJ, Froggatt GM, Holder DA, Jablonsky G, Kostuk WJ, Melendez JJ, Myers MG, Sackett DL, Sealey BJ, Tanser PH: Aspirin, sulfinpyrazone, or both in unstable angina: Results of a Canadian Multicenter Trial. *N Engl J Med* **313**: 1396-1375, 1985
  - 28) Irie T, Imaizumi T, Matuguchi T, Koyanagi S, Kanaide H, Takeshita A, Nakamura M: Increased fibrinopeptide A during anginal attacks in patients with variant angina. *J Am Coll Cardiol* **14**: 589-594, 1989
  - 29) Theroux P, Ouimet H, McCans J, Latour JG, Joly P, Levy G, Pelletier E, Juneau M, Stasiak J, DeGuise P, Pelletier GB, Rinzler D, Pharm BS, Waters DD: Aspirin, heparin, or both to treat acute unstable angina. *N Engl J Med* **319**: 1105-1110, 1988