

# 不安定狭心症患者における冠動脈形成術前後での冠静脈洞血中可溶性Pセレクトチンの変動

# Decreased Plasma Soluble P-Selectin Level in Coronary Sinus After Successful Coronary Angioplasty in Patients With Unstable Angina

土肥 直文  
 西尾 健治  
 中谷 秀隆\*  
 林 照剛\*  
 宮本 誠司  
 橋本 俊雄\*  
 土肥 和紘\*

Naofumi DOI, MD  
 Kenji NISHIO, MD  
 Hidetaka NAKATANI, MD\*  
 Terutake HAYASHI, MD\*  
 Seiji MIYAMOTO, MD  
 Toshio HASHIMOTO, MD\*  
 Kazuhiro DOHI, MD\*

## Abstract

P-selectin, an adhesion molecule, is involved in the  $\alpha$ -granules of platelets with several factors such as platelet factor 4 (PF-4) and in Weibel-Parade bodies of endothelial cells with von Willebrand factor. The levels of the soluble form of P-selectin increase after angina episodes in patients with unstable angina, indicating that soluble P-selectin is associated with platelet activation and thrombogenesis in the coronary circulation.

To evaluate the effect of successful coronary angioplasty on platelet activation or thrombogenesis in the coronary circulation, plasma soluble P-selectin, PF-4 and von Willebrand factor antigen levels were measured in blood obtained from the coronary sinus before and after successful coronary angioplasty in 15 patients with unstable angina. Fifteen patients with normal coronary angiograms served as controls. Plasma P-selectin, PF-4 and von Willebrand factor antigen levels were determined by sandwich enzyme-linked immunosorbent assays.

Increased plasma soluble P-selectin ( $159.7 \pm 74.5$  vs  $78.7 \pm 26.4$  ng/ml,  $p < 0.01$ ) and PF-4 ( $456.5 \pm 87.0$  vs  $118.7 \pm 62.3$  IU/ml,  $p < 0.01$ ) levels were found in patients with unstable angina compared with those in controls, and were significantly decreased after angioplasty ( $147.8 \pm 69.6$  ng/ml,  $p < 0.05$ ;  $401.6 \pm 108.5$  IU/ml,  $p < 0.05$ ), whereas von Willebrand factor antigen was unchanged. The ratio of plasma soluble P-selectin levels after and before angioplasty correlated with the corresponding ratio of plasma PF-4 levels ( $r = 0.53$ ,  $p < 0.05$ ), but not with the ratio of plasma von Willebrand factor antigen levels.

The plasma levels of soluble P-selectin, which increase in the coronary circulation in patients with unstable angina, decrease after successful coronary angioplasty. Such data indicate that soluble P-selectin is associated with platelet activation and the therapeutic procedure improves the thrombogenic state in the coronary circulation.

J Cardiol 1999; 33(5): 251-256

## Key Words

- Angioplasty
- Platelets (platelet factor-4)
- Soluble P-selectin
- Unstable angina
- von Willebrand factor

奈良県立医科大学 救急医学, \*第一内科: 〒634-8522 奈良県橿原市四条町840

Department of Emergency and Critical Care Medicine, \*The First Department of Internal Medicine, Nara Medical University, Nara

Address for reprints: DOI N, MD, Department of Emergency and Critical Care Medicine, Nara Medical University, Shijo-cho 840, Kashihara, Nara 634-8522

Manuscript received June 4, 1998; revised February 8, 1999; accepted March 11, 1999

## はじめに

Pセレクトイン(P-selectin)は、動脈硬化や炎症の進展の機序とされる白血球の血管内皮への接着の初期段階に関与する接着分子の一つであり<sup>1)</sup>、トロンビンや補体などの刺激によって血小板膜や血管内皮細胞膜上に発現する膜結合型の糖蛋白である。その局在は血小板の $\alpha$ 顆粒内と血管内皮細胞のWeibel-Palade小体内であり、前者では血小板第4因子などの種々の因子とともに、後者ではvon Willebrand因子とともに存在する<sup>2)</sup>。また、循環血液中にも可溶性のPセレクトインが存在することが知られており、その濃度は血栓性血小板減少性紫斑病や溶血性尿毒症症候群で増加している<sup>3)</sup>。これらの報告から、可溶性Pセレクトインは、血小板活性化のマーカーとして有用であると考えられている。また、可溶性Pセレクトインは、不安定狭心症の発作後に上昇するが、安定狭心症の運動負荷後には不変であることが報告されており<sup>4)</sup>、冠動脈内血栓形成と密接な関係をもつ可能性が注目されている。

また近年、不安定狭心症に対して保存的な抗凝固療法よりも経皮的冠動脈形成術(percutaneous transluminal coronary angioplasty: PTCA)が積極的に実施されているが、冠動脈内の血栓形成が病態の中心になっている不安定狭心症に対するPTCAが、冠循環内での血小板活性化をより亢進するか否かについては議論のあるところである。

今回我々は、不安定狭心症患者の冠循環局所での可溶性Pセレクトインの動態を冠動脈形成術前後で比較し、不安定狭心症患者に対する早期のPTCAが冠循環内での血小板活性化にどのように影響するかを検討した。またPセレクトインとともに血小板 $\alpha$ 顆粒内に局在する血小板第4因子、および血管内皮細胞のWeibel-Palade小体内にPセレクトインとともに局在するvon Willebrand因子との関係についても検討を加えた。

## 対象と方法

### 1. 対象

対象は左前下行枝の高度狭窄病変に対してPTCAを施行し、残存狭窄率が25%以下で、内腔が平滑に拡張したことを造影で確認した不安定狭心症患者15例(狭心症群)である。Braunwald分類は、クラスIBが10例、クラスIIBが5例で、性別は男性12例、女性3例、

年齢は51-75歳(平均年齢61歳)である。左前下行枝に造影遅延を示した例は、冠静脈洞血に左前下行枝血が反映されないと考えられるため対象から除外した。対照として、冠動脈造影所見で正常冠動脈像を示し、かつアセチルコリン負荷試験で陰性反応を示した胸痛症候群15例(対照群)を用いた。その性別は男性13例、女性2例、年齢は52-76歳(平均年齢62歳)である。運動負荷試験で心電図上ST-T変化を示した例は対照から除外した。

## 2. 方法

### 1) 採血

狭心症群では、PTCA直前と直後に冠静脈洞に留置したカテーテル(7Fウェッジバーマンカテーテル)から、3.8%クエン酸1容量に対して全血9容量の比率で血液を採取した。対照群では、冠動脈造影終了後に冠静脈洞に留置したカテーテルから、同様に血液を採取した。採血の実施に際しては、事前に目的を患者に説明し、同意のもとに施行した。採取した血液は室温で遠心分離(2,300rpm, 10min)し、測定まで $-80^{\circ}\text{C}$ で保存した。

### 2) 測定項目

測定項目は可溶性Pセレクトイン、血小板第4因子、およびvon Willebrand因子抗原であり、いずれもサンドイッチenzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)法で測定した。

### 3) 統計学的処理

2群間の比較はStudentの*t*検定、相関関係はPearsonの相関係数で検定した。

なお、本文中の数値は平均±標準偏差で示し、 $p < 0.05$ を有意差の判定とした。

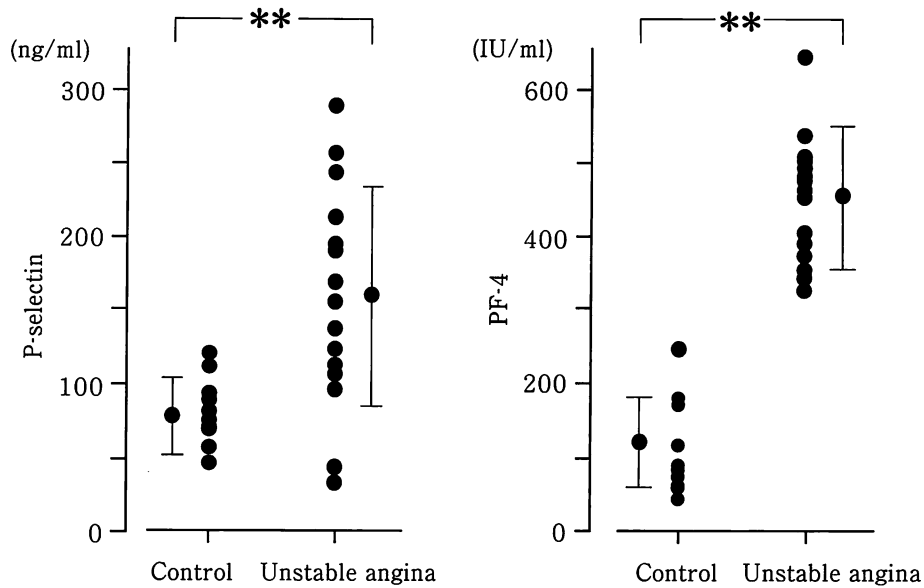
## 結 果

### 1. 不安定狭心症群と対照群との比較

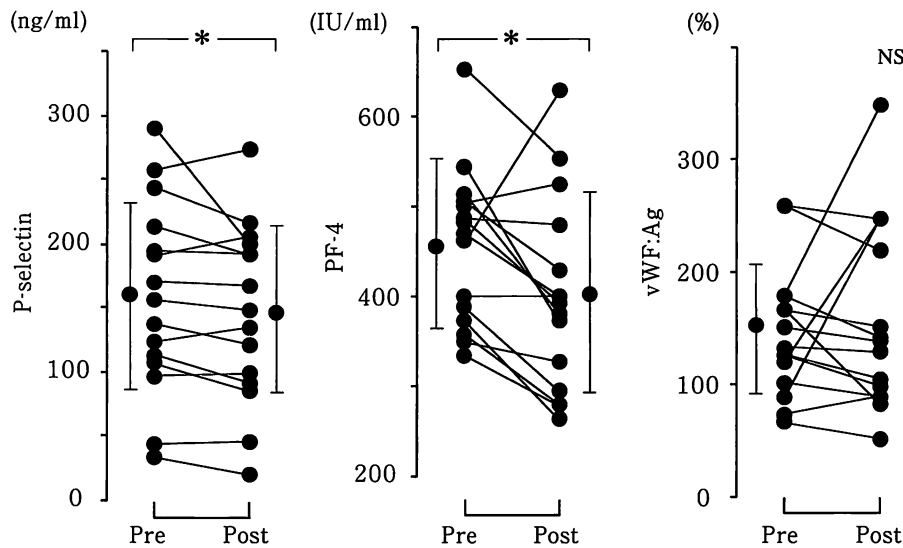
冠静脈洞における血中可溶性Pセレクトインおよび血小板第4因子は、対照群に比べて狭心症群で有意に高値を示した( $159.7 \pm 74.5$  vs  $78.7 \pm 26.4 \text{ ng/ml}$ ,  $p < 0.01$ ;  $456.5 \pm 87.0$  vs  $118.7 \pm 62.3 \text{ IU/ml}$ ,  $p < 0.01$ ; Fig. 1)。

### 2. PTCA前後での比較

血中可溶性Pセレクトインおよび血小板第4因子は、PTCA前に比べてPTCA後で有意に低下した( $159.7 \pm$



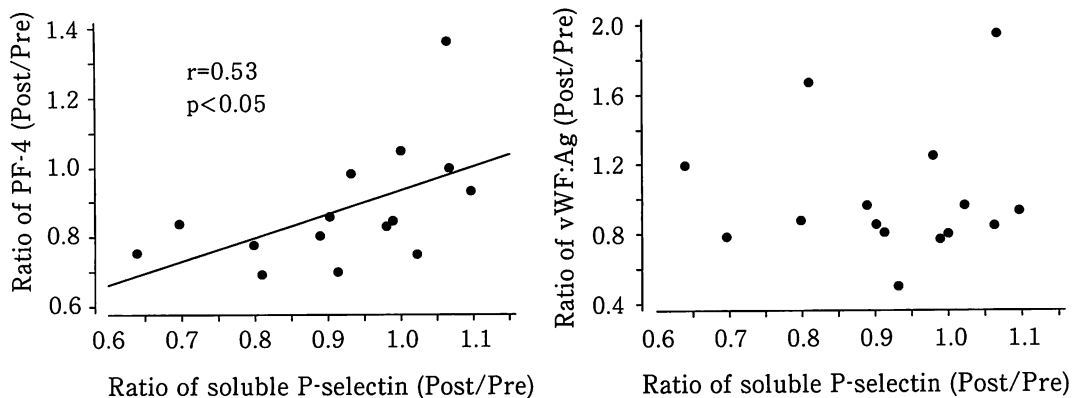
**Fig. 1 Plasma soluble P-selectin levels (left) and plasma platelet factor-4 (PF-4) levels (right) in the coronary sinus in the control subjects and in patients with unstable angina**  
 \*\* $p < 0.01$  between groups.



**Fig. 2 Plasma soluble P-selectin levels (left), PF-4 levels (middle) and plasma von Willebrand factor antigen (vWF: Ag) levels (right) in the coronary sinus before and after coronary angioplasty**  
 \* $p < 0.05$  between groups (paired  $t$ -test).  
 Pre=before coronary angioplasty; Post=immediate after coronary angioplasty. Other abbreviation as in Fig. 1.

74.5 vs  $147.8 \pm 69.6$  ng/ml,  $p < 0.05$ ;  $456.5 \pm 87.0$  vs  $401.6 \pm 108.5$  IU/ml,  $p < 0.05$ )が, 血中 von Willebrand 因子抗原は変化しなかった (Fig. 2).

3. 血中可溶性PセレクトインのPTCA前後での変化率と血中血小板第4因子および von Willebrand 因子の変化率との関係  
 PTCA 前後での血中可溶性Pセレクトインの変化率は



**Fig. 3** Correlation between the ratio of plasma soluble P-selectin levels after and before coronary angioplasty in the coronary sinus and the corresponding ratio of plasma PF-4 levels (*left*), and correlation between the ratio of plasma soluble P-selectin levels and the ratio of plasma vWF:Ag levels (*right*)

Abbreviations as in Figs. 1, 2.

血中血小板第4因子の変化率と有意の正相関 ( $r=0.53$ ,  $p<0.05$ ) を示したが、血中 von Willebrand 因子抗原の変化率とは関連を示さなかった (Fig. 3)。

## 考 察

### 1. 不安定狭心症における可溶性Pセレクトインの意義

Pセレクトインは血小板内の分泌顆粒である $\alpha$ 顆粒および血管内皮細胞の貯蔵顆粒であるWeibel-Palade小体内に局在しており<sup>2)</sup>、血小板の活性化に伴う脱顆粒時に血小板膜表面に、あるいは血管内皮細胞が活性化されたときに血管内皮細胞膜上に発現する膜結合型糖蛋白の接着分子である。血管内の急性炎症時の血管内皮細胞上や血栓形成時の活性化血小板膜上に発現されたPセレクトインを標的に白血球がローリングすることが明らかにされている<sup>5)</sup>。また、Pセレクトインは膜結合型のほかに可溶性分子が存在することも知られている。

Pセレクトインの可溶性分子の生成機序には諸説<sup>6)</sup>があるが、血中出現機序は不明である<sup>7)</sup>。また、健康成人の循環血液にも可溶性Pセレクトインが存在すること<sup>3)</sup>が知られており、その濃度は血栓性血小板減少性紫斑病や溶血性尿毒症症候群で増加している<sup>3)</sup>。これらの全身性の微小血栓形成性疾患において、血中可溶性Pセレクトインが増加していることは、膜結合型Pセレクトインが増加する病態で血中可溶性Pセレクトインが増加することを示唆している。Blannら<sup>8)</sup>は、虚血性

心疾患患者の血中に可溶性Pセレクトインが増加していることを報告している。また、Ikedaら<sup>4)</sup>は、不安定狭心症の発作後に可溶性Pセレクトインが上昇するのに対して、安定狭心症の運動負荷によって誘発された心筋虚血後には不変であることを明らかにしており、不安定狭心症の発作時には血小板が冠循環内で活性化されるために微小血栓が形成されることになるが、その病態生理には可溶性Pセレクトインが関与しているものと推察している。

今回の成績から、冠静脈洞血中可溶性Pセレクトインは血小板第4因子と同様に、正常冠動脈患者に比べて不安定狭心症患者で有意に高値を示しており、上昇している可溶性Pセレクトインは冠動脈内で膜結合型可溶性Pセレクトインの発現が増加していることを表しているかもしれない。つまり、冠循環血中可溶性Pセレクトインは、不安定狭心症の冠動脈内での血小板活性化の指標になりうることを示唆される。

### 2. PTCAによる可溶性Pセレクトインの変化

今回の成績では、冠静脈洞血中可溶性Pセレクトインおよび血小板第4因子は、正常冠動脈患者に比べて高値を示した不安定狭心症患者のPTCA後に有意に低値であった。つまり、可溶性Pセレクトインだけではなく、従来から血小板活性化の指標として用いられている血小板第4因子もPTCA後に低下していることから、冠循環局所での血小板活性化はPTCAによって減弱することが示唆される。

可溶性Pセレクトチン、血小板第4因子ともにPTCA前後での差が比較的小さいことについては以下のように推察される。すなわち、従来から血管内皮はPTCAの手技によって損傷するため、血小板活性化が冠動脈内で亢進する可能性が指摘されている<sup>9,10)</sup>。一方、狭窄病変がPTCAによって十分に拡張した場合、流体や血管壁から血小板が受ける物理的な抵抗であるはずの応力は、狭窄部局所で低下することになる。したがって、血小板活性化の一因子であるはずの応力が低下するため、血小板の活性化は減弱する可能性がある。また、狭窄部局所のプラークや既存の血栓がPTCAによって破碎された場合には、局所でのthrombogenic surfaceが減少するために血小板の活性化も減弱する可能性も考えられる。

このようにPTCAでは、局所の血小板活性化増強効果と減弱効果が同時に存在するため、可溶性Pセレクトチン、血小板第4因子ともにPTCA前後での差が小さいと考えられる。しかし今回の成績が示すように、PTCAによって十分な拡張が得られた場合は、血管内皮の損傷による血小板活性化増強効果よりも、狭窄部でのはずり応力の減少やthrombogenic surfaceの減少による血小板活性化減弱効果のほうが、より大きいことが示唆される。このことから、不安定狭心症患者に対す

る早期のPTCAは、その拡張が十分であれば、冠循環局所の血小板活性化を減弱させると考えられる。

### 3. 血中可溶性Pセレクトチンの起源

血小板第4因子は、従来から血小板活性化の指標とされており、血小板 $\alpha$ 顆粒内でPセレクトチンとともに局在する。この血小板第4因子と可溶性PセレクトチンがPTCA前後で同様の変動を示したことから、血管内皮細胞Weibel-Palade小体内でPセレクトチンとともに局在するvon Willebrand因子と関連を示さなかった。このことから、不安定狭心症患者の冠循環局所に認められた可溶性Pセレクトチンの上昇は、血小板からの脱顆粒で遊離したことに起因しているものと推察される。

## 結 論

不安定狭心症患者における冠循環局所での血中可溶性Pセレクトチンの上昇は、血小板第4因子の上昇と同様に、冠循環内の血小板活性化を表している。また、この上昇は、経皮的冠動脈形成術によって減弱する。つまり、不安定狭心症患者に対する早期の経皮的冠動脈形成術は、その拡張が十分であれば、血小板活性化を減弱せうるものと考えられる。

## 要 約

Pセレクトチンは血小板膜や血管内皮細胞膜上に発現する膜結合型糖蛋白の接着分子であるが、血中にも可溶性のPセレクトチンが存在しており、全身性の血栓性疾患で血漿中に増加することが明らかにされている。また、急性冠動脈症候群の冠動脈内血栓形成の病態とも関連することが示唆されている。今回我々は、不安定狭心症患者の冠循環局所での可溶性Pセレクトチンの血中動態を経皮的冠動脈形成術(PTCA)前後で比較し、不安定狭心症患者に対するPTCAが冠循環内での血小板活性化にどのような影響を与えているかを検討した。また、Pセレクトチンとともに血小板 $\alpha$ 顆粒内に局在する血小板第4因子、および血管内皮細胞のWeibel-Palade小体内にPセレクトチンとともに局在するvon Willebrand因子との関係についても検討を加えた。

対象は左前下行枝の高度狭窄病変に対してPTCAを施行し、良好な結果が得られた不安定狭心症患者15例(狭心症群)である。対照として冠動脈造影所見で正常冠動脈像を示した15例(対照群)を用いた。PTCA直前と直後に冠静脈洞に留置したカテーテルから採血し、可溶性Pセレクトチン、血小板第4因子、およびvon Willebrand因子抗原をサンドイッチELISA法で測定した。

冠静脈洞での血中可溶性Pセレクトチンおよび血小板第4因子は、対照群に比べて狭心症群で高値を示した( $159.7 \pm 74.5$  vs  $78.7 \pm 26.4$  ng/ml,  $p < 0.01$ ;  $456.5 \pm 87.0$  vs  $118.7 \pm 62.3$  IU/ml,  $p < 0.01$ )が、PTCA後にはともに有意に低下した( $147.8 \pm 69.6$  ng/ml,  $p < 0.05$ ;  $401.6 \pm 108.5$  IU/ml,  $p < 0.05$ )。また、PTCA前後における血中可溶性Pセレクトチンの変化率と血中血小板第4因子の変化率は、有意の正相関( $r = 0.53$ ,  $p < 0.05$ )を示した。一方、血中von Willebrand因子抗原はPTCA前後で変化しなかった。

今回の成績から、不安定狭心症患者の冠循環局所における血中可溶性Pセレクトインの上昇は血小板第4因子の上昇と同様に、血小板活性化を表しており、この上昇がPTCAによって減弱することが明らかにされた。つまり、不安定狭心症患者に対する早期のPTCAは、その拡張手技が十分であれば、血小板活性化を減弱させようと考えられる。

*J Cardiol* 1999; 33(5): 251-256

## 文 献

- 1) Hamburger SA, McEver RP: GMP-140 mediates adhesion of stimulated platelets to neutrophils. *Blood* 1990; **75**: 550-554
- 2) McEver RP, Beckstead JH, Moore KL, Marshall-Carlson L, Bainton DF: GMP-140, a platelet alpha-granule membrane protein, is also synthesized by vascular endothelial cells and is localized in Weibel-Palade bodies. *J Clin Invest* 1989; **84**: 92-99
- 3) Katayama M, Handa M, Araki Y, Ambo H, Kawai Y, Watanabe K, Ikeda Y: Soluble P-selectin is present in normal circulation and its plasma level is elevated in patients with thrombotic thrombocytopenic purpura and haemolytic uraemic syndrome. *Br J Haematol* 1993; **74**: 702-710
- 4) Ikeda H, Takajo Y, Ichiki K, Ueno T, Maki S, Noda T, Sugi K, Imaizumi T: Increased soluble form of P-selectin in patients with unstable angina. *Circulation* 1995; **92**: 1693-1696
- 5) Mayadas TN, Johnson RC, Rayburn H, Hynes RO, Wagner DD: Leukocyte rolling and extravasation are severely compromised in P selectin-deficient mice. *Cell* 1993; **74**: 541-554
- 6) Ishiwata N, Takio K, Katayama M, Watanabe K, Titani K, Ikeda Y, Handa M: Alternatively spliced isoform of P-selectin is present in vivo as a soluble molecule. *J Biol Chem* 1994; **269**: 23708-23715
- 7) Butcher E: Leukocyte-endothelial cell recognition: Three (or more) steps to specificity and diversity. *Cell* 1991; **67**: 1033-1036
- 8) Blann AD, Dobrotova M, Kubisz P, McCollum CN: von Willebrand factor, soluble P-selectin, tissue plasminogen activator and plasminogen activator inhibitor in atherosclerosis. *Thromb Haemost* 1995; **74**: 626-630
- 9) Scharf RE, Tomer A, Marzec UM, Teirstein PS, Ruggeri ZM, Harker LA: Activation of platelets in blood perfusing angioplasty-damaged coronary arteries: Flow cytometric detection. *Arterioscler Thromb* 1992; **12**: 1475-1487
- 10) Gawaz M, Neumann FJ, Ott I, Schiessler A, Schömig A: Platelet function in acute myocardial infarction treated with direct angioplasty. *Circulation* 1996; **93**: 229-237