

論 文 要 旨

2025 年 1 月 9 日

※報告番号	第	号	氏 名	井上 雅喬
主論文題名 赤血球膜酸化と血小板物質取り込み能のせん断依存性解明と血小板を用いた薬物送達システム開発に向けた総合的基礎研究				
内容の要旨 急性心筋梗塞は世界中の死亡原因の大部分を占めており、心原性ショックを併発するリスクを有している。心原性ショックを罹患した患者の治療に当たっては、対処療法の一つとして機械的循環補助による心拍出量の補助が行われる。機械的循環補助は臨床現場における延命処置として優れた有効性を発揮している一方で、溶血や血栓症などの2次障害を引き起こすリスクがある。この機械的循環補助による溶血や血栓症には複合的な要因があると言われているものの、デバイス内で発生する非生理的なせん断流れが主要因の一つであると考えられている。 本論文の第2章では機械的循環補助による溶血のメカニズムの解明に向けて、赤血球膜の過酸化脂質量に着目し、血液ポンプ循環による機械的ストレスが赤血球膜の過酸化脂質量を増加させるのではないかと仮説を立て、血液ポンプ内の血液循環が赤血球の過酸化脂質量に及ぼす影響を明らかにすることを目的として研究を行った。その結果、180分間の血液ポンプ循環の後に溶血量の上昇、赤血球の変形能の低下、過酸化脂質量の増加傾向が確認された。この現象は、せん断応力による溶血によってオキシヘモグロビンが自己酸化され、過酸化脂質量が増加し、赤血球の変形性が低下することで引き起こされたと推察される。これらの結果は、血液ポンプ循環が赤血球の過酸化脂質量を増加させることも機械的循環補助における溶血性合併症の一因であることを示唆しており、さらに血栓症も亢進する可能性を示すことから機械的循環補助による溶血の理解を深める新たな知見を示したといえる。 さらに本論文の第3章では機械的循環補助の血栓症のメカニズム解明に向けて、血小板の活性化と血液凝固の関係に着目した。機械的循環補助における血栓症においては、せん断応力による物理的な血小板活性化や、アデノシン二リン酸 (adenosine diphosphate, ADP) による生理化学的な血小板活性化が関連している。これら2つの血小板活性化のメカニズムは大きく異なるものの、どちらが血液凝固において重大な影響を及ぼすかという議論は未だ充分に行われていない。そこで第3章では機械的循環補助における血栓症の理解を前進させるため、せん断応力による物理的な血小板活性化とADPによる生理化学的な血小板活性化が、血液凝固能に与える影響の違いを明らかにすることを目的として実験を行った。その結果、せん断応力によって血小板が活性化したサンプルから採取した血漿では、より早い時間での凝固開始が確認され、結果として凝固時間は有意に短縮された。そのため、せん断応力による物理的な血小板活性化は、ADPによる生理化学的な血小板活性化よりも血液凝固を促進することが明らかとなった。この違いは、活性化した血小板から放出されるホスファチジルセリン量の差によって生じたことが推察された。				

※印欄記入不要

論 文 要 旨

2025 年 1 月 9 日

※ 報告番号	第	号	氏 名	井上 雅喬
<p>内容の要旨</p> <p>加えて本研究では血栓症の新規治療法の考案にも挑戦し、血小板を利用した薬物送達法 (drug delivery system, DDS) による血栓治療法の基礎検討を行った。血栓塞栓症の治療における血栓溶解薬 Alteplase の使用は優れた治療有効性が報告されているものの、血液脳関門の透過性を上昇させることで脳内出血のリスクを上昇させる。そのため、Alteplase を血栓部位のみで作用される DDS を開発することで副作用のリスクを低減できるのではないかと考えた。しかしながら、従来の DDS に利用される粒子は免疫反応によって血中から排除され、アナフィラキシー様症状を発症するリスクがある。そのため、生体適合性の高い血液細胞を DDS に応用する研究が着目されている。特に血小板は血栓部位への粘着能力を有し、さらに血栓部位粘着時に内部物質の放出能力を備えているため、血栓症治療の DDS として高いポテンシャルを有しているといえる。そこで第 4 章では、Alteplase を負荷した血小板が血栓溶解能を有するかを検証することを目的とした。検証の結果、①血小板に Alteplase が導入されたことを確認し、②Alteplase を導入した血小板は ADP 刺激によって活性化した際に Alteplase を放出するものの、凝集能力が低下することを明らかにした。加えて③Alteplase を導入した血小板が血栓溶解効果を示すことを明らかにした。このことから Alteplase を封入した血小板を用いた DDS は、生体適合性が高く低侵襲な血栓溶解方法へと発展していく可能性が示された。</p> <p>また近年では血小板を用いた DDS が研究されており、血小板への薬剤導入に関しては血小板による液相の取り込み (ピノサイトーシス) が重要な要素となっている。また血小板は血中の循環内で生理的範囲内の様々なせん断流れに曝されており、血小板は周囲のせん断速度環境によって様々な機能変化を伴う。しかしながら、血小板のピノサイトーシスに関する研究は十分に発展しておらず、せん断速度が血小板のピノサイトーシスに与える影響は明らかになっていない。そこで第 5 章ではせん断速度によって血小板に薬剤を導入する適切な環境が存在するのではないかという着想から、せん断速度が血小板のピノサイトーシスに与える影響を明らかにすることを目的として実験を行った。結果として生理的範囲のせん断速度の増加に伴い、血小板による蛍光標識済デキストランの取り込み量が増加することが明らかとなった。さらに蛍光標識済デキストランを取り込んだ血小板について、凝集能力には変化が生じないことが明らかとなった。これらのことから、生理的範囲である $1,000s^{-1}$ から $1,500s^{-1}$ 程度のせん断速度を負荷した流れ環境下において、効率的に血小板への薬剤導入を実施できる可能性が示唆された。</p> <p>結論として、本論文では機械式循環補助の使用に伴う溶血および血栓症のメカニズム解明と、より副作用の少ない血栓治療法の考案に向けて基礎的な研究を実施した。その結果、得られた知見は機械式循環補助の使用に伴う溶血および血栓症の理解を前進させるとともに、将来的にはこれらの合併症を低減する方法に繋がる可能性がある。また Alteplase を導入した血小板による血栓溶解法には多くの検証事項が残されているものの、副作用の少ない新規血栓治療法に繋がる可能性がある。加えて、このような血小板を利用した DDS において、生理的範囲のせん断速度環境下において、より効率的に血小板に薬剤を導入できる可能性が示唆された。</p>				

※印欄記入不要