



イヌ冠動脈血栓モデルを用いた 新しい抗トロンビン剤 CX-397 の 冠動脈内血栓溶解療法時の補助薬としての効果

山本健太郎

近畿大学医学部第1内科学教室

抄 録

近年,冠動脈内血栓溶解療法時にヘパリンに代わる抗トロンビン剤としてヒルジンをを用いた大規模臨床試験が報告されているが,効果がある反面出血性合併症が問題となっている.今回我々は新しい抗トロンビン剤である CX-397 の冠動脈内血栓溶解療法時の補助薬としての効果をイヌ冠動脈にネジ式冠閉塞器を用いて有意狭窄を作成し,血栓で閉塞させたモデルを用いてヘパリンと比較した. CX-397 群は全例で再開通が得られたが,ヘパリン群は57%と低率であった ($p < 0.05$). 再開塞率は CX-397 群29%とヘパリン群の75%に比べ低率であった ($p < 0.05$). そのため全再開通時間は CX-397 群 122.6 ± 10.0 min (mean \pm SE) とヘパリン群 38.8 ± 22.6 min に比し有意に長かった ($p < 0.01$). フィブリノペプチドA, トロンビン-アンチトロンビンIII複合体の両方ともヘパリン群では tPA 終了後に再上昇の傾向を示したが, CX-397 群は再上昇を認めず, CX-397 は,ヘパリンより充分な抗トロンビン作用を有すると考えられた. また, CX-397 群ではヘモグロビン値,ヘマトクリット値はほとんど低下しなかったのに対し,ヘパリン群ではそれぞれ $15.8 \pm 4.7\%$ ($p < 0.05$), $13.5 \pm 4.6\%$ ($p < 0.05$) と著明に低下した.

以上より CX-397 はヘパリンよりも,冠動脈内血栓溶解療法の補助薬として有用かつ安全である.

Key words : recombinant hirudin, coronary thrombolysis, hemorrhage

緒 言

冠動脈血栓溶解療法は急性心筋梗塞の治療として広く行われ,予後を改善することが明らかにされている¹⁻³.しかし,20~40%の症例では血栓溶解療法を施行しても再開通が得られず⁴⁻⁶,また再開通が得られても10~30%の症例では早期再開塞が起こる⁷⁻⁹.近年,より効果的な血栓溶解を得るために,再開通率を高め,再開塞率を低下させる目的で多くの新しい抗血小板剤,抗トロンビン剤が開発されてきた.なかでも直接的な抗トロンビン剤である遺伝子組み替え型ヒルジンは,大規模臨床試験でその効果が報告されている¹⁰.一方で,出血性合併症がヘパリンよりも多い結果が報告され,安全性に問題を残している^{11,12}. CX-397 は最近日本で開発されたヒルジン改変体で,天然型ヒルジン-1の53番からC末端までのアミノ酸を天然型ヒルジン-3のものに置

換し酸性アミノ酸を導入することで,ヒトトロンビンへの結合力を高めている¹³.欧米での播種性血管内凝固症候群に対する臨床試験ではヒルジンの10分の1以下の投与量で有効で出血性合併症も起こらなかったとされており,冠動脈血栓溶解療法時の補助薬としてもその効果が期待されている.この研究の目的は CX-397 の tPA による冠動脈血栓溶解療法時の補助薬としての効果を冠動脈血栓モデルを用いて,ヘパリン投与群と比較検討することである.

方 法

この実験は近畿大学医学部,および米国 National Institute of Health の動物実験実施規定に準拠して行った.

器具装着と冠動脈血栓作成

ビーグル成犬28頭(雄12頭,雌16頭.体重8.0-13.5

kg, 平均 10.4 ± 0.3 kg) を用い, ペントバルビタール $20-25$ mg/kg で静注麻酔した後に気管内挿管し, 人工呼吸下で実験を行った. 薬剤注入用ルートを下肢の末梢静脈に, 採血用ルートを頸静脈に置き, 大動脈圧測定用に頸動脈から 6Fr カテ先マンノメーター付きカテーテル (Millar 社製, 米国) を上行大動脈に留置した. 左第4肋間で開胸し心膜テントを作成後, 左冠動脈前下行枝 (LAD) の第2対角枝分枝部の約 1 cm 上流より分枝後約 1 cm まで合計約 2 cm 剝離した. 剝離した前下行枝の近位側に冠血流測定用 Doppler 血流計 (HDP 20・20 S, 20 MHz , Crystal Biotech 社製, 米国) を, 遠位側にネジ式冠血管閉塞器を, さらに冠血流計の直下と冠血管閉塞器の直上に冠閉塞用の絹糸を置いた (図1). その後, 第2対角枝を残して冠血流測定用 Doppler 血流計装着部位から冠血管閉塞器までの間の LAD からの側枝をすべて結紮した. 上記の器具を装着した後, ネジ式冠血管閉塞器で LAD の血流を閉塞前の 40%

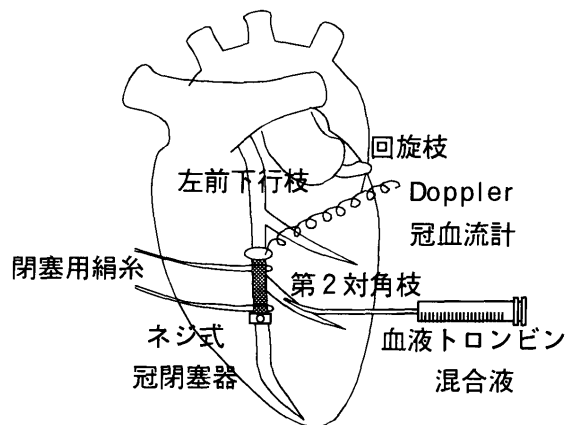


図1 実験器具装着模式図

まで減少させる. Gold ら¹⁴, Yasuda ら¹⁵ は, 冠動脈の冠血流量を 40% 以下にすることで冠動脈造影上 90% 以上の狭窄が作成されていることを報告しており, この報告に基づいて冠動脈血流量の減少量を決定した. その後, 絹糸で血流を完全に遮断し閉鎖腔を作成した. この閉鎖腔に対して止血鉗子で血管外から鈍的に内膜損傷を作成した. 次に第2対角枝を 26G 針で逆行性に穿刺し, 血液 0.3 ml とヒトトロンビン液 0.1 ml (200 U/ml) の混合液を前述の閉鎖腔に注入した. 鈍的に血管内膜損傷を加えて血液とトロンビンの混合液を注入すると, ヒトの冠動脈血栓に類似した血小板の豊富なトロンビン血栓が作成されることが確認されている¹⁵. 混合液注入 20 分後に絹糸を開放し, 前下行枝の血流がないことを確認し, さらに血栓が成長するのを 30 分間待った¹⁵⁻¹⁷.

ヘパリンと CX-397 の容量設定

ヘパリン (Novo Heparin®) と CX-397 (ジャパンエナジー社製) の投与量は Langdell 法で測定した活性化部分トロンボプラスチン時間 (aPTT) の延長を指標として決定した. ビーグルイヌ 28 頭をヘパリン群 18 頭, CX-397 群 10 頭に分けた. ヘパリン群は 60 U/kg を静注した後, 1) 40 U/kg/h 点滴静注 ($n=4$), 2) 60 U/kg/h 点滴静注 ($n=4$), 3) 80 U/kg/h 点滴静注 ($n=4$) の 3 用量, CX-397 群は 0.1 mg/kg/h 点滴静注 ($n=3$), 0.5 mg/kg/h 点滴静注 ($n=3$), 1.25 mg/kg/h ($n=5$) 点滴静注の 3 用量で, それぞれ投与開始前と投与後 1 時間, 3 時間に静脈血採血を行い, aPTT を測定した (図2). 投与後 3 時間の aPTT 値が約 2 倍延長する用量を投与量とし, ヘパリン投与量は 60 U/kg 静注+ 60 U/kg/h 点滴静注, CX-397 投与量は 0.6 mg/kg/h と設定した.

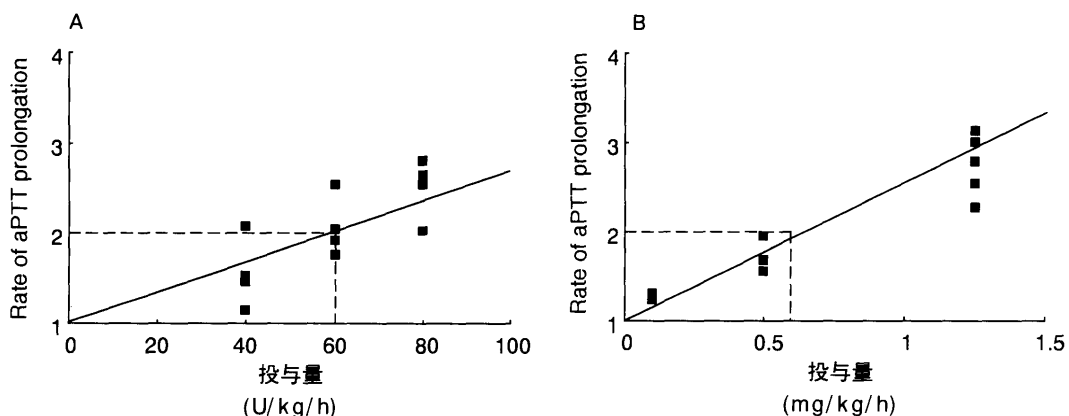


図2 ヘパリン (A) と CX397 (B) の投与量と部分トロンボプラスチン時間の変化
予備実験としてヘパリン, CX397 の容量設定を行なった. aPTT 値が約 2 倍延長する用量を投与量とし, ヘパリン投与量は 60 U/kg bolus 静注+ 60 U/kg/h 点滴静注, CX397 投与量は 0.6 mg/kg/h と設定した.

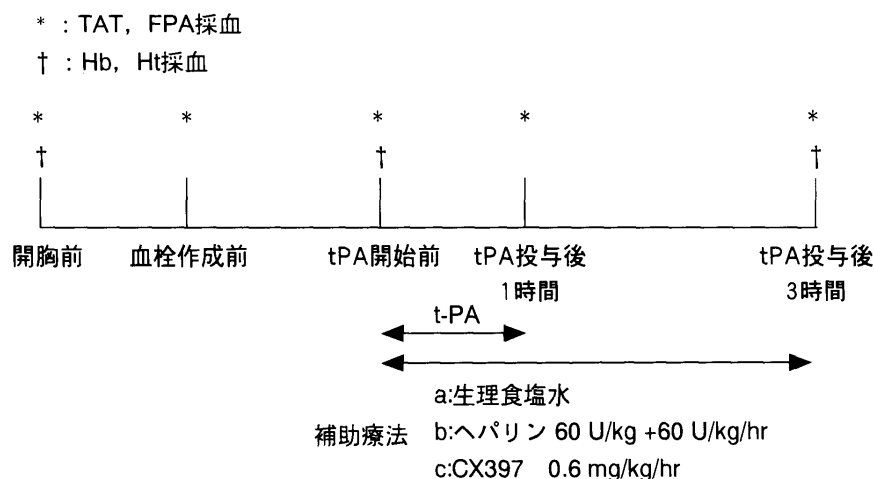


図3

実験プロトコール
左前下行枝に血栓を作成し、血栓成長のため30分間待った後に組織型プラスミノゲンアクチベータ (tPA) を1時間投与した。tPA開始と同時に補助療法を3時間行った。血行動態と冠動脈血流量は、tPA開始後から3時間観察し記録した。フィブリノペプチドA (FPA)、トロンビン-アンチトロンビン複合体 (TAT)、ヘモグロビン値 (Hb)、ヘマトクリット値 (Ht) は上図に示した各時点で採血を行い測定した。

実験プロトコール

28頭中1頭が冠動脈閉塞後心原性ショックで死亡した。6頭は器具装着中の出血性ショックでモデル作成が不可能であったため、残りの21頭でデータを計測した。図3に実験プロトコールを示す。血栓作成後末梢静脈から血栓溶解剤である遺伝子組み替え型t-PA (Alteplase®) を80 µg/kg 静注し、引き続き8 µg/kg/hr で1時間点滴静注した。t-PA投与と同時に補助療法として a) 生理食塩水60 ml/hr 点滴静注3時間、b) ヘパリン60 U/kg 静注+60 U/kg/hr 点滴静注3時間、c) CX-397 0.6 mg/kg/hr 点滴静注3時間のいずれかを無作為に割り付け、末梢静脈から投与した。薬剤投与開始から実験終了まで標準四肢誘導心電図、大動脈圧、冠血流量を8素子ポリグラフ (RM-6000, 日本光電製) で監視し、tPA開始から10分毎に25 mm/sの紙送り速度で記録後、その間は連続して25 mm/minで連続記録した。

計測

Yasudaら¹⁵ Rigelら¹⁶の報告に基づき再灌流、再閉塞を以下のように定義した。再灌流は薬剤投与後の再灌流を血栓作成前の50%以上の冠血流量が連続して5分以上続いた場合とし、再閉塞は再灌流後の冠血流が再度血栓作成前の50%未満となり、かつ連続して5分以上続いた場合とした。この定義に従い1) 再開通するまでの時間 (再灌流療法開始から初めて再開通するまで、非再開通例は再灌流療法開始から実験終了までの3時間とした)、2) 再開通率、3) 再閉塞するまでの時間 (再灌流後初めて再閉塞するまで、非再閉塞例は再灌流後実験終了までの時間とした)、4) 再閉塞率、5) 全再灌流時間 (再灌流していた時間の合計) を計測した。この他に再灌流時の最大冠血流量、tPA開始後3時間の冠血流量を測定

し冠動脈に狭窄を作成した後の冠血流量に対してパーセント表示した。血栓作成前、tPA投与前、tPA開始後1時間、及び3時間の各時点で採血を行い、補助療法施行中のトロンビン活性の指標としてフィブリノペプチドA (FPA) をELISA法で、トロンビン生成の指標としてトロンビン-アンチトロンビン複合体 (TAT) をEIA法で測定し、補助療法施行に伴う出血への影響を自動計数法で測定したヘモグロビン値、ヘマトクリット値の変化から検討した。

統計処理

すべての計測値は平均値±標準誤差で示した。再開通率、再閉塞率は生理食塩水群とCX-397群、ヘパリン群とCX-397群の各2群間をtwo-tailed Fisher's exact testで検定した。再灌流するまでの時間、再閉塞するまでの時間、全再開通時間、最大冠血流量、実験終了時の冠血流量、Hb値、Ht値は分散分析を行ったのちFisher's PLSD法で3群間の有意性を検定した。血行動態は3群間で分散分析を行い、Dunnett's comparisonでtPA開始時と比較した。検定は $p < 0.05$ をもって有意とした。

成 績

血行動態

tPA開始後から実験終了時までの血行動態を示す (図4)。平均血圧はCX-397群、生理食塩水群では経過中変化なかったが、ヘパリン群では時間経過とともに低下する傾向にあった ($p < 0.05$ vs 生理食塩水群)。このため、ヘパリン群で血圧が低下した例では (4例) 補液を必要とした。心拍数は3群間に差はなく時間経過とともにやや低下する傾向にあった。

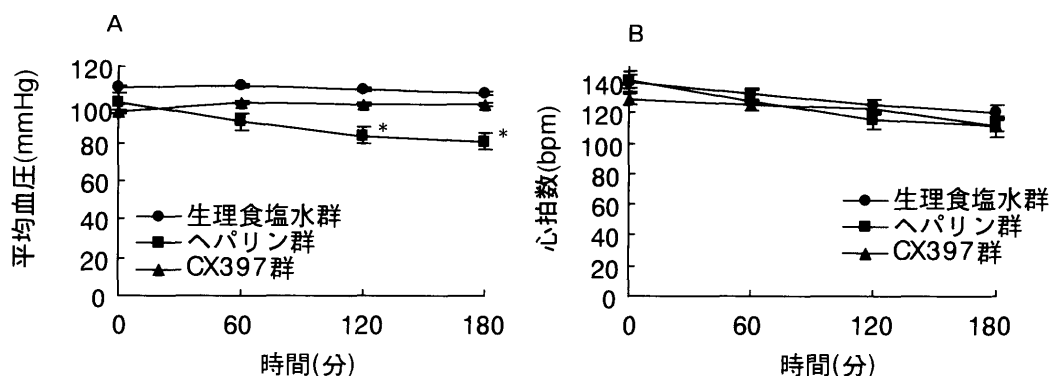


図4 血行動態の経時変化
結果は全て mean±SE (bars) で示した。
生理食塩水群とヘパリン群との比較；*p<0.05

表1 生理食塩水、ヘパリン、CX397の冠再開通及び再閉塞に対する効果

	生理食塩水群 (n=7)	ヘパリン群 (n=7)	CX397群 (n=7)
再開通率 (%)	43%	57%	100%
再開通するまでの時間 (min)	124.2±26.5	114.7±27.4	49.0±5.7*
全再開通時間 (min)	18.8±9.2	38.8±22.6	122.6±10.0***†
再灌流時最大冠血流 (%)	217.4±64.5	174.9±46.5	360.7±36.0†
実験終了時冠血流 (%)	32.4±17.2	56.6±15.7	121.0±27.7***†
再閉塞率 (%)	100%	75%	29%*
再閉塞するまでの時間 (min)	5.1±2.4	28.3±20.9	98.7±24.2***†

結果は全て mean±SE で表した。

CX397群と生理食塩水群との比較；*<0.05, **<0.01

CX397群とヘパリン群との比較；†<0.05

再灌流に対する効果

再灌流動態を生理食塩水群、ヘパリン群、CX-397群で比較すると、再灌流するまでの時間はCX-397群で49.0±5.7分と生理食塩水群の124.2±26.5分、ヘパリン群の114.7±27.4分に比べ短縮された (p<0.05 vs 生理食塩水群, 表1)。再開通率はCX-397群が全例で再開通が得られたのに対し、生理食塩水群43%、ヘパリン群57%の再開通率しか得られなかった。再灌流時の最大冠血流量はCX-397群は冠動脈閉塞前の360.7%となったのに対し、生理食塩水群、ヘパリン群は217.4%、179.4%と冠動脈閉塞前の2倍前後にとどまった (p<0.05 vs ヘパリン群, 表1)。再灌流の得られた群のみでtPA開始3時間後の冠血流量を比較すると、CX-397群は121%と冠動脈閉塞前と同程度の血流が得られた。しかし、生理食塩水群、ヘパリン群は32.4±17.2%、56.6±15.7%と冠動脈閉塞前の半分前後まで低下した (p<0.05 vs ヘパリン群, 表1)。

再閉塞に及ぼす影響

再閉塞するまでの時間は生理食塩水群5.1±2.4分、ヘパリン群28.3±20.9分で、ともに再灌流後30分以内に再閉塞がみられたが、CX-397群は98.7±24.2分と他の2群に比べて再閉塞するまでの時間を有意に延長した (表1)。再閉塞率は生理食塩水群、ヘパリン群はそれぞれ100%、75%とほとんどが再閉塞したが、CX-397群は29%と他の2群に比べて有意に再閉塞率を抑制した。その結果、全再開通時間はCX-397群で122.6±10.0分と最も長時間再灌流を維持する事ができ (p<0.01 vs ヘパリン群, p<0.01 vs 生理食塩水群, 表1)、ヘパリン群の約4倍であった。

CX-397とヘパリンの凝固線溶系への影響

補助薬の抗トロンビン作用をTAT、FPAで比較すると、血栓作成後TAT、FPAはいずれの群でもトロンビン注入により一旦は上昇した。その後、tPA投与終了時には各群とも低下しほぼ前値に戻った。tPA投与後3時間後には生理食塩水群、ヘパリン群で再上昇する傾向を認めたが、CX-397群は再上昇

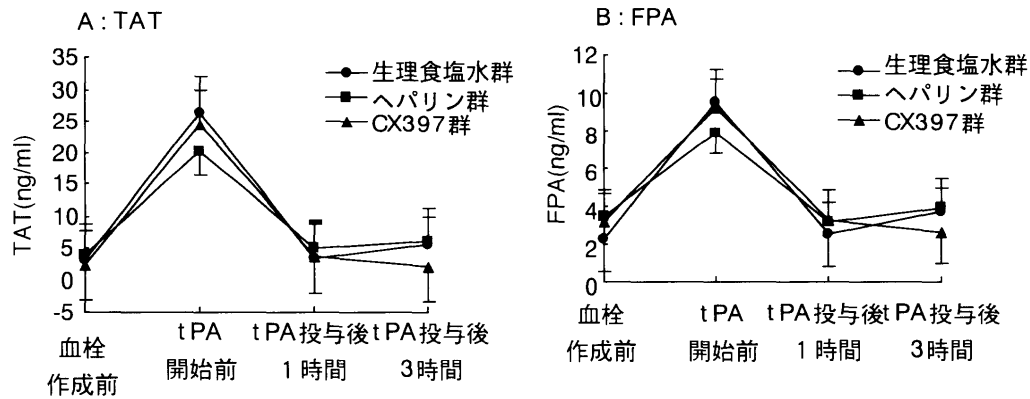


図5 トロニン-アンチトロニン III 複合体 (TAT), フィブリノペプチド A (FPA) の経時変化結果は今て mean±SE (bars) で示した。

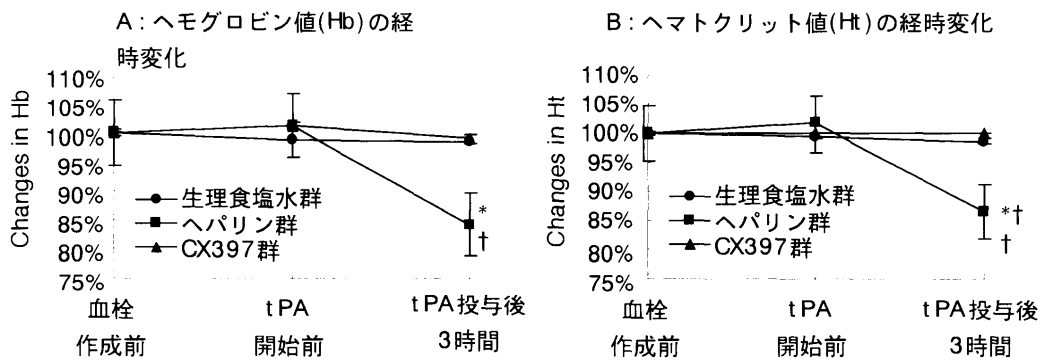


図6 ヘモグロビン値 (Hb) とヘマトクリット値 (Ht) の経時変化結果は全て mean±SE (bars) で示した。
CX397 群と生理食塩水群との比較; *p<0.05
CX397 群とヘパリン群との比較; †p<0.05, ††p<0.01

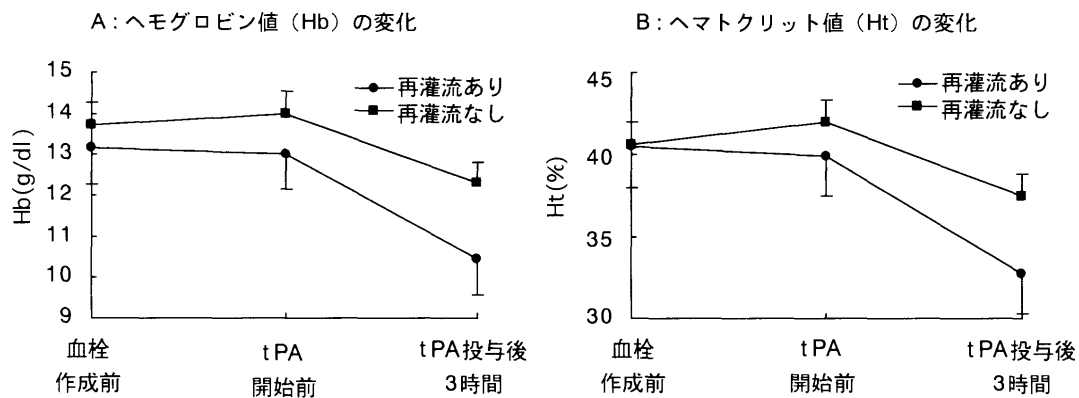


図7 ヘパリン群を再灌流の有無で分けた場合のヘモグロビン値(Hb)とヘマトクリット値(Ht)の変化結果は全て mean±SE (bars) で示した。

を認めなかった (FPA : p=ns, TAT : p=ns, 図5-A, 5-B).

出血性合併症

血栓溶解療法を施行した際の合併症で問題になるのが出血性合併症であり, CX-397の出血への影響をヘパリンと比較した。肉眼的には生理食塩水群, CX-397 群は開胸部創面からの出血はほとんどなか

ったのに対し、ヘパリン群では開胸部創面だけでなく、心表面の剝離した部位、口腔、鼻腔からの出血が著しかった。実験終了時のヘモグロビン値は、CX-397群、生理食塩水群が血栓溶解療法施行前と比べ、ほとんど低下しなかったのに対し、ヘパリン群は血栓溶解療法前と比較して有意に低下した(15.8±4.7%, $P < 0.05$ vs CX-397群, 生理食塩水群, 図6)。ヘマトクリット値についても同様でCX-397群、生理食塩水群は血栓溶解療法前と比べ、低下率はそれぞれ0.1±4.4%, 1.4±4.6%とほとんど低下しなかったのに対し、ヘパリン群では13.5±4.6%も低下した($P < 0.01$ vs CX-397群, $P < 0.05$ vs 生理食塩水群, 図7)。このヘパリン群で、再灌流が得られた群4例と、再灌流が得られなかった群3例でHtの低下を比較したところ、再灌流が得られた群でHtが著明に低下した(図7)。

考 察

今回の実験で、tPAを用いた冠動脈内血栓溶解療法の補助薬としてCX-397はヘパリンと比較して再開通するまでの時間を短縮し、再開通率を高め、再開塞率を低下させ、より長時間にわたり再灌流した状態を維持することが可能であった。また、再灌流時の最大冠血流量はCX-397ではヘパリンより良好な血流が得られ、実験終了時においても血栓で閉塞する前と同等の冠血流量を確保する事ができた。また、出血によるHb, Htの低下はヘパリンと比べて、極軽度であった。

抗トロンビン作用

抗トロンビン剤は現在ヘパリンが広く用いられているが、ヘパリンはアンチトロンビンIIIの立体構造を変化させることで血液中のアンチトロンビンIIIを活性化し、トロンビンや第X因子を阻害することによって効果発現するが、血栓に結合したトロンビンには作用しない^{18,19}。さらに、ヘパリンは血小板第4因子, histidine rich glycoproteinで中和され、ヘパリン自身にも血小板活性化作用があると報告されている²⁰。このような背景から、より直接的な抗トロンビン剤が求められ、種々の直接的な抗トロンビン剤が開発されてきた。直接的な抗トロンビン剤であるヒルジン、ヒルログ、ヒルゲン、アルガトロバンなどは、選択的にトロンビンを阻害すること、ヘパリンのように作用の発現にアンチトロンビンIIIなどの補助因子を必要としないこと、ヘパリン結合蛋白などによっても中和されないことから、強い凝固抑制作用を有している。一方で、血小板凝集も抑制するとの報告もある²¹⁻²³。また、血中トロンビン

の阻害のみならず、血栓や内皮下組織と結合しているトロンビンに対しても阻害効果を認める。ヒルジン製剤の有用性は、Rigelら¹⁶をはじめとするこれまでのヒルジンを用いた同様の動物実験では全てで、臨床例でもヒルジンではTIMI 5¹⁰, HIT III⁷, ヒルログはLidónら²⁹が、アルガトロバンはTabataら³⁰がヘパリンよりも優れた結果であったことを報告している。直接的な抗トロンビン剤がトロンビンに結合する部位はanion-binding-exosite(以下ABE), active siteおよびapolar binding siteの3ヶ所あり、ヒルゲンはABEのみで結合、ヒルログはABEとactive siteで結合し抗トロンビン作用を発揮する。一方ヒルジンはトロンビンのactive siteに46Pro-47Lys-48Proがはまり込んでフィブリノーゲンからフィブリンの生成を阻害し、C末側でフィブリノーゲンとの結合部位であるABEと結合し、またN末側がトロンビンの活性部位の近位にあるapolar binding siteにはまり込み、3ヶ所で結合するため他の直接的な抗トロンビン剤より強くトロンビンと結合する。このことは、抗体などでABE,あるいはapolar binding siteとの結合を阻害した場合、トロンビンとヒルジンの解離速度が早くなることから証明されている。トロンビンのABEのアミノ酸配列は、プラスの電荷を帯びているため、ヒルジンのC末端はマイナスの電荷を帯びているほうが結合が強固になる。天然型で存在するヒルジンは65個のアミノ酸よりなるポリペプチドで、ヒルジン-1, ヒルジン-2, ヒルジン-3の3種類がある。CX-397は最近日本で開発された新しいヒルジン改変体で、ヒルジン-1の53番からC末端までのアミノ酸をヒルジン-3のものに置換し酸性アミノ酸を導入したものである。C末端にヒルジン-1より多くの酸性アミノ酸を有するため、よりトロンビンのABEと結合しやすく、従来のヒルジン-1よりトロンビンの阻害能が強いと考えられ、実際CX-397はヒルジン-1よりも小さいKi値を示し、阻害活性が強いことが報告されている¹³。Takiguchiら²⁴はin vivoの実験としてラットの大腿動脈の血栓モデルを用いてCX-397がヘパリンより抗血栓作用が強いことを報告している。このように基礎的にはCX-397は直接的な抗トロンビン剤の中で最も理想的な薬剤と思われる。

CX-397の冠動脈灌流動態に対する効果

今回の結果では、aPTTが同程度延長する容量でCX-397はヘパリンと比較して再開通するまでの時間を短縮し、再開通率を高め、再開塞率を低下させ、より長時間にわたり再灌流した状態を維持すること

が可能であった。また tPA 開始 3 時間後の冠血流量が CX-397 では血栓作成前と同等の冠血流量を有していたことから、CX-397 を投与することで、冠動脈造影上の TIMI III 以上の冠動脈灌流を確保することが可能となり、慢性期の心機能の改善²⁵ が期待できると考えられた。また、再開通後も新たな血栓の生成を抑制しつつ、残存している血栓に付着したトロンビンにも作用して血栓化を阻止するために、再開塞が生じにくくなり良好な冠動脈灌流が得られたものと考えられる。トロンビン活性の指標となる FPA と、トロンビン生成の指標である TAT は、ヘパリン群、生理食塩水群で tPA 終了後に再上昇する傾向があった。一方 CX-397 群では、FPA と TAT は tPA 終了後も再上昇は認めなかった。Rapold ら²⁶ は臨床例で血栓溶解療法 24 時間後の血漿 FPA 値が高値の症例では再灌流に成功した後再開塞を来す症例が多いと報告している。Gulba ら²⁷、Anderotti ら²⁸ は TAT で同様の検討を行い TAT 値が高値の症例では再灌流に成功した後再開塞を来す症例が多いと報告している。CX-397 は TAT、FPA ともに再上昇を認めず、強い抗トロンビン作用が功を奏して投与中の再開塞を予防したのと考えられた。また現在、臨床的に抗トロンビン作用をモニターする場合に aPTT が広く用いられているが、本実験の結果をみると、同程度の aPTT を延長させる容量を用いても実際の抗トロンビン作用には差を認めており、正確な抗トロンビン作用をモニタリングするには TAT や FPA を測定する必要があると考えられた。

臨床的には直接的な抗トロンビン剤の有用性が考えられ、ヒルジンは TIMI 5¹⁰、HIT III⁷、ヒルログは Lidón ら²⁹ が、アルガトロバンは Tabata ら³⁰ など、大小の臨床試験が行われ心筋梗塞の再灌流療法の補助薬としての効果がヘパリンに比べ優れていることが当初報告された。しかし、GUSTO 2a¹¹、TIMI 9a¹² で出血性合併症が指摘され、その後の GUSTO 2b³¹、TIMI 9b³² で投与量を見直した結果、ヘパリンと比べ有意な差がなかったと報告されている。このように現在臨床応用されている直接的な抗トロンビン剤で心筋梗塞の再灌流療法の補助薬としてヘパリンより明らかに効果がある薬剤の報告はなく、現在臨床治療中である CX-397 は本実験の結果からその効果が期待される。

出血性合併症

血栓溶解剤、抗血小板剤、抗トロンビン剤を用いる場合問題となるのは GUSTO 2a¹¹、TIMI 9a¹² で報告されたように出血性合併症である。今回の予備

実験でヘパリン群は aPTT の延長にばらつきが著明で、本実験においても出血の指標である Hb、Ht は CX-397 群に比べより低下した。ヘパリン群で再灌流した群のみでみると、Hb、Ht は著明に低下し、肉眼的にも開胸断面だけでなく口腔や鼻腔からの出血が著しかった。また、再灌流の得られなかったヘパリン群では著明な出血を認めなかった。一方、CX-397 は Hb、Ht の低下はほとんど認めず良好な再灌流が得られ、実際実験中の創部からの出血もヘパリン群に比べ少なかった。このことからヘパリンにより十分な効果を得ようとする出血の危険が高く、薬理作用に個体差があるため投与中の十分なモニタリングが必要であると思われた。それに比べ CX-397 は薬理効果のばらつきが少なく出血を生じにくくより安全に使用できると考えられた。

本研究の limitation

本実験は、イヌの冠動脈にネジ式冠閉塞器を用いて有意狭窄を作成し、血管外から機械的に内膜損傷を作成したモデルだが、ヒトの心筋梗塞例と異なり動脈硬化が基本的にない実験系である。また、トロンビン注入により作成したトロンビン主体の血栓であるために、抗トロンビン剤の効果が強調されている可能性がある。このほかイヌとヒトの種の差による影響も考えられるが、CX-397 はヒトトロンビンへの親和性がイヌのトロンビンより高いと報告されており、この点に関しては本実験より少ない容量で効果が期待できる可能性がある。

謝 辞

本稿を終えるにあたり、御指導ならびに御校閲を賜りました近畿大学第一内科石川欽司教授、近畿大学ライフサイエンス香取瞭教授に深甚なる謝意を捧げます。また直接御指導いただきました元第一内科講師坂口好秀先生をはじめ本研究に御協力いただきました教室各員各位ならびにジャパンエナジーの各位に心から感謝いたします。

文 献

1. The GUSTO investigators (1993) An international randomized trial comparing four thrombolytic strategies for acute myocardial infarction. *N Engl J Med* 329: 673-682
2. ISIS-3 (Third International Study of Infarct Survival) Collaborative Group (1992) ISIS-3: a randomized comparison of streptokinase vs tissue plasminogen activator vs anistreplase and of aspirin plus heparin vs aspirin alone among 41299 cases of suspected acute myocardial infarction. *Lancet* 339: 753-770
3. Gruppo Italiano per lo Studio della Sopravvivenza nell' Infarto Miocardico GISSI-2 (1990) A factorial randomised trial of alteplase versus streptokinase and

- heparin versus no heparin among 12490 patients with acute myocardial infarction. *Lancet* 336 : 65-71
4. Chesebro JH, Knatterud G, Roberts R, Borer J, Cohen LS, Dalen J, Dodge HT, Francis CK, Hillis D, Ludbrook P, Markis JE, Mueller H, Passamani ER, Powers ER, Rao AK, Robertson T, Ross A, Ryan TJ, Sobel BE, Willerson J, Williams DO, Zaret BL, Braunwald E (1987) Thrombolysis in Myocardial Infarction (TIMI) Trial, Phase I: a comparison between intravenous tissue plasminogen activator and intravenous streptokinase. Clinical findings through hospital discharge. *Circulation* 76 : 142-154
 5. Topol EJ, Califf RM, George BS, Kereiakes DJ, Abbottsmith CW, Candela RJ, Lee KL, Pitt B, Stack RS, O'Neill WW (1987) A randomized trial of immediate versus delayed elective angioplasty after intravenous tissue plasminogen activator in acute myocardial infarction. *N Engl J Med* 317 : 581-588
 6. Guerci AD, Gerstenblith G, Brinker JA, Chandra NC, Gottlieb SO, Bahr RD, Weiss JL, Shapiro EP, Flaherty JT, Bush DE, Chew PH, Gottlieb SH, Halperin HR, Ouyang P, Walford GD, Bell WR, Fatterpaker AK, Llewellyn M, Topol EJ, Healy B, Siu CO, Becker LC, Weisfeldt ML (1987) A randomized trial of intravenous tissue plasminogen activator for acute myocardial infarction with subsequent randomization to elective coronary angioplasty. *N Engl J Med* 317 : 1613-1618
 7. Neuhaus KL, von Essen R, Tebbe U, Jessel A, Heinrichs H, Mäurer W, Döring W, Harmjan D, Kötter V, Kalhammer E, Simon H, Horacek T (1994) Safety observations from the pilot phase of the randomized r-hirudin for improvement of thrombolysis (HIT-III) study. *Circulation* 90 : 1638-1642
 8. Ellis SG, Topol EJ, George BS, Kereiakes DJ, Debowey D, Sigmon KN, Pickel A, Lee KL, Califf RM (1989) Recurrent ischemia without warning. Analysis of risk factors for in-hospital ischemic events following successful thrombolysis with intravenous tissue plasminogen activator. *Circulation* 80 : 1159-1165
 9. Ohman EM, Califf RM, Topol EJ, Candela R, Abbottsmith C, Ellis S, Sigmon KN, Kereiakes D, George B, Stack R TAMI Study Group (1990) Consequences of reocclusion after successful reperfusion therapy in acute myocardial infarction. *Circulation* 82 : 781-791
 10. Cannon CP, McCabe CH, Henry TD, Schweiger MJ, Gibson RS, Mueller HS, Becker RC, Kleiman NS, Haugland JM, Anderson JL, Sharaf BL, Edwards SJ, Rogers WJ, Williams DO, Braunwald E (1994) A pilot trial of recombinant desulfatohirudin compared with heparin in conjunction with tissue-type plasminogen activator and aspirin for acute myocardial infarction: results of the Thrombolysis in Myocardial Infarction (TIMI) 5 trial. *J Am Coll Cardiol* 23 : 993-1003
 11. The Global Use of Strategies to Open Occluded Coronary Arteries (GUSTO) IIA Investigators (1994) Randomized trial of intravenous heparin versus recombinant hirudin for acute coronary syndromes. *Circulation* 90 : 1631-1637
 12. Antman EM for the TIMI IIA investigators (1994) Hirudin in acute myocardial infarction. a Safety report from the Thrombolysis and Thrombin Inhibition in Myocardial Infarction (TIMI) 9A Trial. *Circulation* 90 : 1624-1630
 13. Komatsu Y, Misawa S, Sukesada A, Ohba Y, Hayashi H (1993) CX-397, A novel recombinant hirudin analog having a hybrid sequence of hirudin variants-1 and -3. *Biochemical and Biophysical Research* 196 : 773-779
 14. Gold HK, Collier BS, Yasuda T, Saito T, Fallon JT, Guerrero JL, Leinbach RC, Ziskind AA, Collen D (1988) Rapid and sustained coronary artery recanalization with combined bolus injection of recombinant tissue-type plasminogen activator and monoclonal antiplatelet GPIIb/IIIa antibody in a canine preparation. *Circulation* 77 : 670-677
 15. Yasuda T, Gold HK, Fallon JT, Leinbach RC, Garabedian HD, Guerrero JL, Collen D (1989) A canine model of coronary artery thrombosis with superimposed high grade stenosis for the investigation of rethrombosis after thrombolysis. *J Am Coll Cardiol* 13 : 1409-1414
 16. Rigel DF, Olson RW, Lappe RW (1993) Comparison of hirudin and heparin as adjuncts to streptokinase thrombolysis in a canine model of coronary thrombosis. *Circ Res* 72 : 1091-1102
 17. Golino P, Ashton JH, McNatt J, Glas-Greenwalt P, Yao SK, O'Brien RA, Buja LM, Willerson JT (1989) Simultaneous administration of thromboxane A₂- and serotonin S₂-receptor antagonists markedly enhances thrombolysis and prevents or delays reocclusion after tissue-type plasminogen activator in a canine model of coronary thrombosis. *Circulation* 79 : 911-919
 18. Rosenberg RD, Damus PS (1973) The purification and mechanism of action of human antithrombin-heparin cofactor. *J Biol Chem* 248 : 6490-6505
 19. Markwardt F (1989) Development of hirudin as an antithrombotic agent. *Semin Thromb Hemost* 15 : 269-282
 20. Hirsh J (1991) Heparin. *N Engl J Med* 324 : 1565-1574
 21. Nicolini FA, Lee P, Rios G, Kottke-Marchant K, Topol EJ (1994) Combination of platelet fibrinogen receptor antagonist and direct thrombin inhibitor at low doses markedly improves thrombolysis. *Circulation* 89 : 1802-1809
 22. Heras M, Chesebro JH, Webster MW, Mruk JS, Grill DE, Penny WJ, Bowie EJ, Badimon L, Fuster V (1990) Hirudin, heparin, and placebo during deep arterial injury in the pig. The in vivo role of thrombin in platelet-mediated thrombosis. *Circulation* 82 : 1476-1484
 23. Fareed J, Walenga JM, Pifarre R, Hoppensteadt D, Koza M (1991) Some objective considerations for the neutralization of the anticoagulant actions of recombinant hirudin. *Haemostasis (Suppl 1)* : 64-72

24. Takiguchi Y, Asai F, Wada K, Hayashi H, Nakashima M (1995) Antithrombotic effect of a novel recombinant hirudin analogue, CX-397, in a rat arterial thrombosis model. *Br J Pharmacol* 116 : 3056-3060
25. Zaret BL, Wackers FJ, Terrin ML, Forman SA, Williams DO, Knatterud GL, Braunwald E for the TIMI Study Group (1995) Value of radionuclide rest and exercise left ventricular ejection fraction in assessing survival of patients after thrombolytic therapy for acute myocardial infarction: results of Thrombolysis in Myocardial Infarction (TIMI) phase II study. *J Am Coll Cardiol* 26 : 73-79
26. Rapold HJ, de Bono D, Arnold AER, Arnout J, De Cock, F, Collen D, Verstraete M, for the European Cooperative Study Group (1992) Plasma fibrinopeptide a levels in patients with acute myocardial infarction treated with alteplase correlation with concomitant heparin, coronary artery patency, and recurrent ischemia. *Circulation* 85 : 928-934
27. Gulba DC, Barthels M, Westhoff-Bleck M, Jest S, Rafflenbeul W, Daniel WG, Hecker H, Lichtlen PR (1991) Increased thrombin levels during thrombolytic therapy in acute myocardial infarction relevance for the success of therapy. *Circulation* 83 : 937-944
28. Anderotti F, Kluft C, Hackett DR, Regan T, Davis GJ, Maseri A (1990) Thrombin elevation during acute myocardial infarction: Relation ship to t-PA treatment and coronary patency (abstr). *Eur Heart J* 11 : 315
29. Lidón RM, Théroux P, Lespérance J, Adelman B, Bonan R, Duval D, Levésque J (1994) A pilot, early angiographic patency study using a direct thrombin inhibitor as adjunctive therapy to streptokinase in acute myocardial infarction. *Circulation* 89 : 1567-1572
30. Tabata H, Mizuno K, Miyamoto K, Etsuda H, Isojima K, Satomura K, Shibuya T, Arakawa K, Kurita A, Nakamura H (1992) The effect of a new thrombin inhibitor (Argatroban) in the prevention of reocclusion after reperfusion therapy in patients with acute myocardial infarction (abstract). *Circulation* 86 : I-260
31. The Global Use of Strategies to Open Occluded Coronary Arteries (GUSTO) IIb investigators. (1996) A comparison of recombinant hirudin with heparin for the treatment of acute coronary syndromes. *N Engl J Med* 335 : 775-782
32. Antman EM, for the TIMI 9B Investigators (1996) Hirudin in acute myocardial infarction. Thrombolysis and Thrombin Inhibition in Myocardial Infarction (TIMI) 9B trial. *Circulation* 94 : 911-921