

平成 30 年 6 月 14 日現在

機関番号：10101

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K10964

研究課題名(和文) 外傷急性期凝固障害における血管内皮細胞上の抗血栓能の変化に関する研究

研究課題名(英文) Investigating the changes in anti-coagulation ability in vascular endothelial cells during acute phase traumatic coagulopathy

研究代表者

早川 峰司 (Hayakawa, Mineji)

北海道大学・医学研究院・講師

研究者番号：10374282

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：血管内皮細胞上の抗凝固物質であるトロンボモジュリンやグリコカリックスの変化を組織学的に明示することを試みたが、我々の用いたドラムショックモデルでは、有意な変化を確認することは出来なかった。外傷後に凝固活性を有しているマイクロパーティクルが全身循環中に存在していること、その量は外傷重症度の比例していることなどは明示することができた。本研究で得た知見を背景として、臨床データを用いた論文を作成した。また、現在、これらの知見を論文として作成中である。

研究成果の概要(英文)：In the present study, we tried to histologically elucidate the changes in thrombomodulin and glycocalyx in vascular endothelial cells. However, we could not detect significant changes in thrombomodulin and glycocalyx in vascular endothelial cells in DRAM-shock rat models. In these rat models, we identified microparticles, which activate the coagulation cascade, in the systemic circulation. Furthermore, the amounts of these microparticles were correlated with the severity of trauma.

Based on these findings, I formulated manuscripts using clinical data. Furthermore, I am currently formulating a manuscript based on the present study.

研究分野：播種性血管内凝固

キーワード：播種性血管内凝固 外傷 凝固障害 血管内皮細胞 トロンボモジュリン

1. 研究開始当初の背景

近年、外傷急性期の凝固障害の病態に関する様々な知見が提示されている。その中で、欧米から提唱されている acute coagulopathy of trauma-shock (ACoTS) と呼ばれる病態仮説の中心に、下記のような内因性の抗凝固物質による“自己抗凝固作用”仮説がある。

(1) soluble Thrombomodulin (sTM)による Protein C (PC)の活性化

血管内皮細胞から正常な活性を有した sTM が全身循環に放出されることにより、sTM - thrombin 複合体が PC を活性化させて抗凝固作用を生じるとともに、活性化された PC が PAI-1 を抑制するため線溶の制御不全が生じるとの仮説

(2) syndecan による auto-heparinization 血管内皮細胞表面から syndecan (ヘパリン様物質)が遊離することにより、自己ヘパリン化 (auto-heparinization) を来すという仮説

いずれも、血管内皮細胞上の抗血栓性物質が全身循環に放出されることにより、凝固能が抑制されると言う説であり、これらの仮説にもとづく review も多く発表されている。

しかし、我々が発信してきた外傷急性期の凝固障害の病態理解とは大きく異なる。我々は、全身循環中の sTM や syndecan の増加は、正常状態では血管内皮細胞表面を被覆している抗凝固物質が、外傷直後には血管内皮細胞から“脱落”し、臓器/組織全体としての抗凝固能は低下していると報告している。しかし、この病態は血液検体側からの証明しかなされおらず、外傷モデルにおいて組織学的な直接的な証明はなされていない。

また、外傷急性期の凝固障害では、線溶亢進が大きな役割を担っているとされている。

その中心的役割を担うのが、線溶活性化物質である t-PA (tissue-Plasminogen activator) である。t-PA は、外傷侵襲が加わる前には、血管内皮細胞内の Weibel-Palade 小体内に貯蔵されている (Lowenstein C et al, TCM, 2005)。しかし、外傷侵襲により組織低かん流 (ショック) が生じると血管内皮細胞が刺激され、Weibel-Palade 小体内に貯蔵されていた t-PA が von Willebrand factor などと共に循環血液中に放出されると言われている。外傷直後に生じるとされている、この現象は血中の t-PA 活性の上昇などを用いて血液側からの証明がなされているものの、血管内皮細胞を含めた細胞/組織側からは証明されていない。

2. 研究の目的

本研究では、欧米から提唱されている ACoTS と我々の主張する外傷急性期の凝固障害の病態の相違点を明らかにするため下記の4つの点に着目し研究を進めることを目的とした。

(1) 血管内皮細胞上の抗凝固物質に対する組織学的検討

(2) 各臓器における微小血栓形成および微小循環障害の証明

(3) 線溶活性化物質 (tissue-Plasminogen activator, t-PA) の血管内皮細胞からの放出

(4) 抗線溶物質 (Plasminogen activator inhibitor-1, PAI-1) の発現と、そのタイミングの明示

3 . 研究の方法

本研究計画では、これまでの研究で用いてきた、鈍的外傷モデルであるドラムショックモデルを用いて次の3つの側面からの検証を行うことを計画した。

- (1) 臓器全体としての抗凝固能/線溶能/抗線溶能の変化
- (2) 血管内皮細胞上の抗凝固能/線溶能/抗線溶能の変化
- (3) 血小板内と血漿中の PAI-1 の変動
- (4) mRNA レベルでの抗線溶能の変化
- (5) 微小循環障害の動的/静的証明

4 . 研究成果

血管内皮細胞上には、抗凝固物質であるトロンボモジュリンやグリコカリックスが存在し、抗血栓性作用を有している。外傷急性期に、全身循環中の sTM や syndecan が上昇することが確認されているが、その供給源は明らかではない。欧米からの仮説では、血管内皮細胞上の抗血栓性物質は正常な状態であると主張されているが、我々は、外傷急性期に循環血液中に認められる sTM や syndecan の上昇は、血管内皮細胞上の抗血栓性物質が脱落した結果であると主張している。本研究では、血液中の sTM や syndecan の上昇とともに、血管内皮細胞上の抗凝固能を有した膜蛋白が脱落していることを免疫組織学的に明示することを試みた。しかし、我々の用いたドラムショックモデルでは、血液中 sTM や syndecan の有意な変化は確認できたものの、組織学的な変化を確認すること

は出来なかった。

また、外傷後に凝固活性を有しているマイクロパーティクルが全身循環中に存在していること、その量は外傷重症度の比例していることなどは明示することができた。そして、このマイクロパーティクルには、組織因子活性を有しているものと有していないものが混在していること、マイクロパーティクルは血中のヌクレオソーム量と比例していることなどを確認できた。

5 . 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 11 件)
全て査読あり

Wada T, Gando S, Maekawa, Katabami K, Sageshima H, Hayakawa M, et al.:

Disseminated intravascular coagulation with increased fibrinolysis during the early phase of isolated traumatic brain injury, Critical care 21, 219, 2017

DOI: 10.1186/s13054-017-1808-9

Hayakawa M, et al.: Hyperfibrinolysis in severe isolated traumatic brain injury may occur without tissue hypoperfusion: a retrospective observational multicentre study, Critical care 21, 222, 2017

DOI: 10.1186/s13054-017-1811-1

Hayakawa M.: Pathophysiology of trauma-induced coagulopathy: disseminated intravascular coagulation with the fibrinolytic phenotype, Journal of intensive care 5,

14, 2017

DOI: [10.1186/s40560-016-0200-1](https://doi.org/10.1186/s40560-016-0200-1)

Hayakawa M.: Dynamics of fibrinogen in acute phases of trauma, Journal of Intensive Care 5, 3, 2017

DOI: [10.1186/s40560-016-0199-3](https://doi.org/10.1186/s40560-016-0199-3)

Jesmin S, Gando S, Wada T, Hayakawa M, et al.: Activated protein C does not increase in the early phase of trauma with disseminated intravascular coagulation: comparison with acute coagulopathy of trauma-shock, Journal of intensive care 4, 1, 2016

DOI: [10.1186/s40560-015-0123-2](https://doi.org/10.1186/s40560-015-0123-2)

Hayakawa M et al.: High D-Dimer Levels Predict a Poor Outcome in Patients with Severe Trauma, Even with High Fibrinogen Levels on Arrival: A Multicenter Retrospective Study, Shock 45, 308-14, 2016

DOI: [10.1097/SHK.0000000000000542](https://doi.org/10.1097/SHK.0000000000000542)

Hagiwara A, Kushimoto S, Kato H, Sasaki J, Ogura H, Matsuoka T, Uejima T, Hayakawa M, et al.: Can Early Aggressive Administration of Fresh Frozen Plasma Improve Outcomes in Patients with Severe Blunt Trauma? -A Report by the Japanese Association for the Surgery of Trauma, Shock 45, 495-501, 2016

DOI: [10.1097/SHK.0000000000000536](https://doi.org/10.1097/SHK.0000000000000536)

Gando S, Hayakawa M.: Pathophysiology of Trauma-Induced Coagulopathy and Management of Critical Bleeding Requiring Massive Transfusion, Seminars in thrombosis and hemostasis 42, 155-65, 2016

DOI: [10.1055/s-0035-1564831](https://doi.org/10.1055/s-0035-1564831)

Hayakawa M et al.: Noble-Collip Drum Trauma Induces Disseminated

Intravascular Coagulation But Not Acute Coagulopathy of Trauma-Shock, Shock 43, 261-7, 2015

DOI: [10.1097/SHK.0000000000000281](https://doi.org/10.1097/SHK.0000000000000281)

Hayakawa M et al.: Fibrinogen level deteriorates before other routine coagulation parameters and massive transfusion in the early phase of severe trauma: a retrospective observational study, Seminars in thrombosis and hemostasis 41, 35-42, 2015

DOI: [10.1055/s-0034-1398379](https://doi.org/10.1055/s-0034-1398379)

Gando S, Hayakawa M.: Pathophysiology of Trauma-Induced Coagulopathy and Management of Critical Bleeding Requiring Massive Transfusion, Seminars in thrombosis and hemostasis, 155-65, 2015

DOI: [10.1055/s-0035-1564831](https://doi.org/10.1055/s-0035-1564831)

[学会発表](計5件)

早川峰司、敗血症性DICと外傷急性期のDIC～その病態と治療～ 日本Acute Care Surgery 学術集会 2017

外傷急性期の凝固障害～シンプルな理解の為に～ エキスパートから学ぶDIC 2017

早川峰司、外傷性凝固障害の病態と治療 外傷性凝固障害とDIC 日本集中治療医学会 2017

早川峰司、急外傷直後の凝固障害～なぜ線溶亢進型DICなのか～高知Acute Care Surgery 研究会 2016

早川峰司、外傷性凝固障害 最新の知見 外傷急性期のフィブリノゲン, 日本外傷学会 2016

[図書](計0件)

〔産業財産権〕

出願状況（計0件）

取得状況（計0件）

〔その他〕

6. 研究組織

(1) 研究代表者

早川 峰司 (HAYAKAWA, Mineji)

北海道大学・医学研究院・講師

研究者番号：10374282

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：

(4) 研究協力者

()