

令和元年6月3日現在

機関番号：13301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K11396

研究課題名(和文) DIC病態における炎症と凝固のクロストークと血管作動性物質の役割

研究課題名(英文) Crosstalk of Inflammation and Coagulation and the Role of Vasoactive Substances in DIC Pathology

研究代表者

朝倉 英策 (Asakura, Hidesaku)

金沢大学・附属病院・准教授

研究者番号：60192936

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)：DICの本態は、著しい凝固活性化と微小血栓多発であり、進行すると不可逆的な臓器障害や出血症状をきたす。予後改善のためには、適切な診断基準の作成と病態に応じた早期の治療介入が必要である。DICモデルを用いた我々の検討では、十分な抗凝固療法を行っても、特に炎症の強い病態では微小循環障害や内皮障害に起因する臓器障害を伴うDICの進展は不可逆的であり、凝固活性化以外の要素が病態に深く関与していると考えられる。血管作動性物質は、DICの循環動態に影響を与える可能性が高いが、その意義は不明である。DICモデルでの血管作動性物質の意義については今後とも検討を継続する。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本邦では、癌と血栓性が二大死因である。血栓性には、心筋梗塞、脳梗塞、静脈血栓塞栓症(肺塞栓など)が含まれており致死的となる。そのため、血栓症の克服は、日本国民の健康寿命を延伸するための最重要課題の一つである。種々の血栓症の中でも、播種性血管内凝固症候群(DIC)は、「究極の血栓症」とも言える病態である。DICに対する病態解析の手法や治療法改善の考え方は、そのまま一般的な血栓症に応用可能である。ラットを用いたDICモデルの作成は容易であり、このモデルを用いた研究は、広く血栓症全体の病態解析や治療法の改善に応用することができる。

研究成果の概要(英文)：The essential features of DIC are marked coagulation activation and multiple microthrombi, which, when advanced, cause irreversible organ damage and bleeding symptoms. The development of appropriate diagnostic criteria and early intervention according to the disease state are necessary for improvement of prognosis. In our study using the DIC model, even if sufficient anticoagulation therapy is performed, the progression of DIC with organ damage caused by microcirculatory disturbance and endothelial disturbance is irreversible especially in the disease state with strong inflammation, and elements other than coagulation activation seem to be deeply involved in the disease state. Vasoactive substances are likely to affect the hemodynamics of DIC, but their significance is unclear. The significance of vasoactive substances in the DIC model will be continuously examined in future.

研究分野：救急医学 / 血液内科学 / 病態検査学

キーワード：DIC

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

DICの本態は顕著な凝固活性化と微小血栓多発であり、予後改善のために早期診断可能な診断基準の作成と pre-DIC からの治療介入が必要である。しかし、DIC モデルを用いた我々の検討では、十分な抗凝固療法を行っても、線溶抑制状態下では臓器障害やサイトカイン発現を伴う炎症の進展は不可逆的であり、凝固活性化以外の要素が病態に関与していると推測される。血管作動性物質である一酸化窒素 (NO) やエンドセリン (ET) は、DIC の循環動態に影響を与える可能性が高いが、その意義はほとんど検討されてこなかった。DIC モデルでの血管作動性物質の発現機序を解明し、内皮障害、微小血栓形成、臓器障害との関連を検討する。

DIC モデルは、LPS または組織因子 (TF) のいずれで誘発するのか区別されることなく使用されてきた。しかし我々は、両モデル間に、凝固線溶病態のみならず炎症の観点から大きな病態の差違が見られることを解明した。このため、DIC の病態解析には両モデルでの比較が不可欠で、DIC 研究の根幹に関わる重要な点と考えられる。

2. 研究の目的

LPS または TF モデルにおいて、血管作動性物質の動態、各種臓器における発現量を検討し、臓器障害・微小血栓形成との関連を究明する。TF 誘発モデルおよび LPS 誘発モデルでは NO 産生が見られるが、その程度や発現機序、刺激物質、関与する NOS アイソザイムなど不明のままである。また、両モデルに対して、抗炎症 & 抗凝固作用を合わせ持つ薬剤を探索し、サイトカインや ET&NO の動態、凝固線溶、臓器症状、血栓形成、血行動態に対する影響を評価し、DIC における血管作動性物質の意義を考察する。

炎症により発現されるサイトカインにより凝固活性化が惹起されるが、一方、凝固活性化により産生されたトロンピンや Xa などの活性化凝固因子は PARs を介して炎症を惹起する、いわゆる凝固と炎症のクロストークがトピックスとなっている。この相互作用の遮断が病態を改善する可能性がある。我々はこのクロストークに血管作動性物質が複雑に組み込まれているのではないかと推測しているが未だ不明である。この点を明らかにすると共に、凝固、炎症の両者に作用する薬剤を探索することにより、相互作用を遮断する方策を発見したい。

3. 研究の方法

- 1) 動物 DIC モデルの作成と凝血的検討：Wistar 雄性ラットを使用し、LPS または TF を尾静脈より持続点滴し、DIC モデルを作成する。凝血的マーカーにより DIC の発症、病型を確認する。
- 2) ET および NO の動態：両 DIC モデルにおける動態を比較検討する。
- 3) NOS インヒビター投与による NO 産生への影響：両 DIC モデルにおける NO 産生への影響を評価する。
- 4) 臓器障害の評価：両 DIC モデルの臓器障害を血中 Cr、ALT の経時的推移により評価する。
- 5) DIC の病型分類も考慮に入れたより適切な DIC 診断基準を作成するとともに、その検証作業を行う。
- 6) FDP、D-ダイマー、PIC、TAT 上昇が見られて、DIC との鑑別が問題になる AL アミロイドーシスや凝固因子インヒビターの凝固線溶病態と臨床所見の関連を検討する。

4. 研究成果

我々がこれまでに行なってきた多数の DIC 臨床症例を対象とした検討や、DIC ラット DIC モ

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

デルを用いた実験結果から、凝固線溶病態、病理学的な血栓形成程度、肝腎障害、血尿などの出血症状、炎症性サイトカインの動態、炎症と凝固のクロストークの面で、LPS 誘発 DIC モデルは臨床の線溶抑制型 DIC に、TF 誘発 DIC モデルは線溶亢進型 DIC に類似していることを明らかにし、論文および学会発表を行ってきた。

我々は両 DIC モデルにおいて、血管拡張性物質である NO の血中代謝産物 (NOX) 濃度が著増することや、誘導型 NO 合成酵素阻害薬が LPS モデルの微小血栓形成を軽減することを明らかにした。LPS モデルにおいて、誘導型 NO 合成酵素 (iNOS) による NO 産生が病態に深く関与していることが明らかになったが、一方で TF モデルでは、LPS モデルを凌駕する NO 産生亢進がみられるにも関わらず、iNOS の関与はないことが判明した。LPS モデルでは強力な血管収縮性物質である ET が著増するのに対して TF モデルでは正常であったことより、ET の制御は線溶抑制型 DIC の病態を改善する可能性があると考えられた。TF モデルは臓器障害がないことが特徴であるが、同モデルにおける ET 産生を伴わない NO 産生により、血流が温存されることが一因と考えられた。

DIC 診断の上で大きな比重をしめる血液凝固検査の意義およびその限界に関して、数々の学会学術集会での発表を行うとともに、総説論文や著書を通して積極的に啓蒙活動を行った。TMA と DIC には病態の差異があるが、凝血的検査には類似点も多い。TMA の特徴的検査所見の一つとして LDH 著増がこれまで信じられてきたが、LDH が軽度上昇にとどまる例も多いことを文献的検討から指摘して、学会発表を行った。日本血栓止血学会 DIC 診断基準 2017 年版の作成において我々は中心的な役割を果たし、検証作業を行なっている。

大動脈瘤、血管奇形などの血管疾患は、線溶亢進型 DIC を併発することで知られており、しばしば出血症状が問題となる。また、大動脈瘤に起因する DIC は炎症病態に乏しいが慢性に経過するのが特徴であり、外来管理のためには経口薬治療が可能であれば理想的である。ワルファリンは DIC に対して病態を悪化させるのに対して、直接経口抗凝固薬は速やかに DIC 病態を改善させるという新知見を得て英文論文化した。さらに、血管奇形に伴う DIC に対しても直接経口抗凝固薬が極めて有効であることを見出した。

高度の出血症状や FDP、D-ダイマー上昇のために DIC との鑑別が問題になる凝固因子インヒビターに起因する出血性素因において、ノルモテストと PT の乖離現象が迅速診断に極めて有効であることを見出して、英文論文化した。

ALアミロイドーシスは時に全身性の出血傾向をきたし、FDP、D-ダイマー、TAT、PICの上昇をきたすため DIC との鑑別が問題になる。当院での ALアミロイドーシスを網羅的に登録して、凝固線溶病態を解析した。特に PIC 上昇、第 X 因子低下などの特徴的所見がみられるが、トラネキサム酸の投与により、これらのデータの改善とともに出血症状が消失することを見出した (英文論文投稿中)。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 47 件)

- 1) Iba T, Asakura H, et al. A Proposal of the Modification of Japanese Society on Thrombosis and Hemostasis (JSTH) Disseminated Intravascular Coagulation (DIC) Diagnostic Criteria for Sepsis-Associated DIC. Clin Appl Thromb Hemost. 2018; 24: 439-445. doi: 10.1177/1076029617720069. (査読有り)

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

- 2) Arahata M, Asakura H. Antithrombotic therapies for elderly patients: handling problems originating from their comorbidities. Clin Interv Aging. 2018; 13: 1675-1690. doi: 10.2147/CIA.S174896. (査読有り)
- 3) Kadohira Y, Asakura H, et al. A discrepancy between prothrombin time and Normotest (Hepaplastintest) results is useful for diagnosis of acquired factor V inhibitors. Int J Hematol. 2018; 108: 145-150. doi: 10.1007/s12185-018-2453-z. (査読有り)
- 4) Kadohira Y, Asakura H, et al. Aortic Aneurysm-associated Disseminated Intravascular Coagulation that Responded Well to a Switch from Warfarin to Rivaroxaban. Intern Med. 2017; 56: 2913-2917. doi: 10.2169/internalmedicine.8666-16. (査読有り)
- 5) Wada H, Asakura H, et al. The approval of revised diagnostic criteria for DIC from the Japanese Society on Thrombosis and Hemostasis. Thromb J. 2017; 15: 17. doi: 10.1186/s12959-017-0142-4. (査読有り)
- 6) Aota T, Asakura H, et al. An Evaluation of the Modified Diagnostic Criteria for DIC Established by the Japanese Society of Thrombosis and Hemostasis. Clin Appl Thromb Hemost. 2017; 23: 579-584. doi: 10.1177/1076029616654263. (査読有り)
- 7) Aota T, Asakura H, et al. The valuable diagnosis of DIC and pre-DIC and prediction of a poor outcome by the evaluation of diagnostic criteria for DIC in patients with hematopoietic injury established by the Japanese Society of Thrombosis and Hemostasis. Thromb Res. 2016; 147: 80-84. doi: 10.1016/j.thromres.2016.09.028. (査読有り)
- 8) Asakura H, Wada H, et al. Proposal for new diagnostic criteria for DIC from the Japanese Society on Thrombosis and Hemostasis. Thromb J. 2016; 14: 42. doi: 10.1186/s12959-016-0117-x (査読有り)
- 9) Iba T, Asakura H, et al. Revision of the Japanese Association for Acute Medicine (JAAM) disseminated intravascular coagulation (DIC) diagnostic criteria using antithrombin activity. Crit Care. 2016; 20: 287. doi: 10.1186/s13054-016-1468-1. (査読有り)
- 10) Arahata M, Asakura H, et al. Three cases of systemic amyloidosis successfully diagnosed by subcutaneous fat tissue biopsy of the hip. Clin Interv Aging. 2016; 11: 1061-6. doi: 10.2147/CIA.S110636. (査読有り)
- 11) Asakura H. Classifying types of DIC: clinical features and animal models. Rinsho Ketsueki. 2016; 57: 397-404. doi: 10.11406/rinketsu.57.397. (査読有り)

[学会発表](計 33 件)

- 1) 荒幡昌久、高松博幸、朝倉英策. AL アミロイドーシスにおける凝固線溶異常. 第 13 回日本血栓止血学会学術標準化委員会(SSC)シンポジウム, 2019.
- 2) 朝倉英策. DIC に潜む TMA の併存. 第 46 回日本集中治療医学会学術集会教育セミナー, 2019.
- 3) 朝倉英策. 悪性腫瘍と血栓症. 第 19 回日本検査血液学会学術集会(教育講演), 2018.
- 4) 朝倉英策. 出血と凝固. 日本外科学会 第 94 回卒後教育セミナー(教育講演), 2018.
- 5) 朝倉英策. FDP と D-ダイマーの両測定意義と使い分けについて. 第 11 回日本血栓止血学会学術標準化委員会 (SSC) シンポジウム, 2017.
- 6) 門平靖子、寺上貴子、朝倉英策. 後天性凝固因子インヒビター～第 VIII、第 V 因子を中心

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

に～. 第11回日本血栓止血学会学術標準化委員会(SSC)シンポジウム, 2017.

- 7) 朝倉英策. MPNと血栓症. 第79回日本血液学会学術集会, 2017.
- 8) 朝倉英策. DICの最新の診断と治療について. 第18回日本検査血液学会セミナー, 2017.
- 9) 朝倉英策. 新DIC診断基準についての最新の話題. 第15回日本検査血液学会北海道支部会学術集会, 2017.
- 10) 朝倉英策. 大動脈瘤に合併した慢性DICの臨床と血液凝固第XIII因子の意義. 第23回大動脈シンポジウム, 2016.

〔図書〕(計47件)

- 1) 朝倉英策: 播種性血管内凝固症候群(DIC)。「臨床に直結する血栓止血学 改訂2版」(朝倉英策編)286-299、中外医学社、東京、2018.10.
- 2) 朝倉英策: 日本血栓止血学会DIC診断基準2017年版。「臨床に直結する血栓止血学 改訂2版」(朝倉英策編)300-308、中外医学社、東京、2018.10.
- 3) 朝倉英策: 直接経口抗凝固薬(DOAC)。「臨床に直結する血栓止血学 改訂2版」(朝倉英策編)548-557、中外医学社、東京、2018.10.
- 4) 朝倉英策: ヘパリン類・アルガトロパン。「臨床に直結する血栓止血学 改訂2版」(朝倉英策編)583-590、中外医学社、東京、2018.10.
- 5) 朝倉英策: トラネキサム酸。「臨床に直結する血栓止血学 改訂2版」(朝倉英策編)671-676、中外医学社、東京、2018.10.
- 6) 山田真也、朝倉英策: 基礎疾患との関連性/悪性腫瘍。「炎症と凝固・線溶」(松田直之編)182-193、中山書店、東京、2017.3.
- 7) 朝倉英策: 播種性血管内凝固症候群の疑い。凝固データはどう読む? 「血液診療をスッキリまとめました」(神田善伸編)103-110、南江堂、東京、2017.10.
- 8) 朝倉英策: DICに対する治療「EBM 血液疾患の治療2017-2018」(金倉謙、木崎昌弘、鈴木律朗、神田善伸編)404-410、中外医学社、東京、2016.10.
- 9) 朝倉英策: 播種性血管内凝固症候群。「血液科 研修ノート」(神田善伸編)診断と治療社、東京、387-395.2016.5.
- 10) 朝倉英策: DICとTTPの鑑別診断。「血栓性微小血管症(TMA)診断・治療実戦マニュアル」(宮川義隆編)31-32、医薬ジャーナル社、大阪、2016.10.

〔産業財産権〕

出願状況(計0件)

取得状況(計0件)

〔その他〕

ホームページ等: <http://www.3nai.jp/weblog/index.html>

6. 研究組織

研究協力者氏名: 門平 靖子、山田 真也、荒幡 昌久、森下 英理子

ローマ字氏名: (KADOHIRA, Yasuko)(YAMADSA, Shinya)(ARAHATA, Masahisa)(MORISHITA, Eriko)