

令和元年6月19日現在

機関番号：16301

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2018

課題番号：17K17054

研究課題名(和文)急性病態における血液凝固線溶動態の解明と治療戦略の構築

研究課題名(英文)Clarification of coagulofibrinolytic responses for developing treatment strategy against coagulopathy in acute critical situations

研究代表者

松本 紘典(Matsumoto, Hironori)

愛媛大学・医学部附属病院・助教(病院教員)

研究者番号：70772531

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：本研究は急性病態における血液凝固線溶動態を解明し、その治療応用を目的としている。今回、急性病態下にある患者血液で、凝固線溶系マーカー及び炎症・血管内皮細胞障害関連の各種マーカーを解析した。急性病態において、ほぼ同様に侵襲に伴う凝固亢進やt-PAやPAI-1による線溶亢進から抑制への変化などの血液凝固線溶動態を捉えた。特に熱中症や腹膜炎に伴うDICに関しては、凝固線溶動態を指標とした治療戦略・効果判定が有用であった。更に、これらの凝固線溶異常と血管内皮細胞障害との関連を明らかにした。今回の結果は、DICなどの凝固線溶異常の病態解明と治療戦略構築に必須なものであると考えられる。

研究成果の学術的意義や社会的意義

急性病態における凝固線溶異常は治療介入すべき問題点である。しかし、DIC治療で見られるように、大規模RCTの結果では肯定されない。その原因の一つは治療開始基準にあると考えられる。今回の結果、急性病態における凝固線溶動態をマーカーを用いて適確に捉えることができ、治療開始基準へと応用が可能であると考えられた。今後、DIC治療が必要かつ奏効する治療開始基準をマーカーとその動態考慮して設定していくことで、真の治療効果が明らかにされるものと思われる。

研究成果の概要(英文)：Our aim of this study was to clarify coagulofibrinolytic responses in critical situations and apply obtained dynamics into treatment strategies. In this study, we assessed coagulofibrinolytic markers including indices of inflammation and endothelial cell injury from acute critical patients admitted to our university hospital. The results of the coagulofibrinolytic responses showed a stress-induced coagulatory activation and a fibrinolytic change from an activated to suppressed state depending on a balance between t-PA and PAI-1 similarly in many critical situations. In certain situations, we demonstrated DIC treatment strategy based on the coagulofibrinolytic changes was very effective. Furthermore, our results represented that coagulofibrinolytic disorders might be associated with endothelial cell injury. These clarifications of coagulofibrinolytic responses and mechanisms should be essential for the construction of treatments for coagulofibrinolytic disorders in critical conditions.

研究分野：医歯薬学

キーワード：凝固線溶動態 血管内皮細胞障害 播種性血管内凝固症候群 外傷 敗血症 心停止後症候群 熱中症 外科周術期

様式 C-19、F-19-1、Z-19、CK-19（共通）

1. 研究開始当初の背景

様々な急性重症病態において DIC を含む血液凝固線溶異常の合併は、予後に影響しうる。そのメカニズムについて細胞レベルでの基礎的解明は進んできたが、臨床経過における凝固・線溶・抗凝固・線溶抑制の動態の把握と病的意義については未だ詳細に検討されていない。外傷や敗血症など凝固線溶異常を来たしうる急性病態において、凝固線溶動態を把握し、介入すべき病態を同定した上で治療を行う必要があると考えられる。

2. 研究の目的

本研究は急性病態における血液凝固線溶動態の解明とその治療戦略の構築を目的とする。本研究では急性病態下にある患者の凝固線溶系マーカーを解析し、各種病態の全体的な動態を把握する。そして、マーカーを用いて凝固線溶状態を的確に捉え、必要な時期と症例に適切な DIC 治療を行うことでの有効性を検討する。

3. 研究の方法

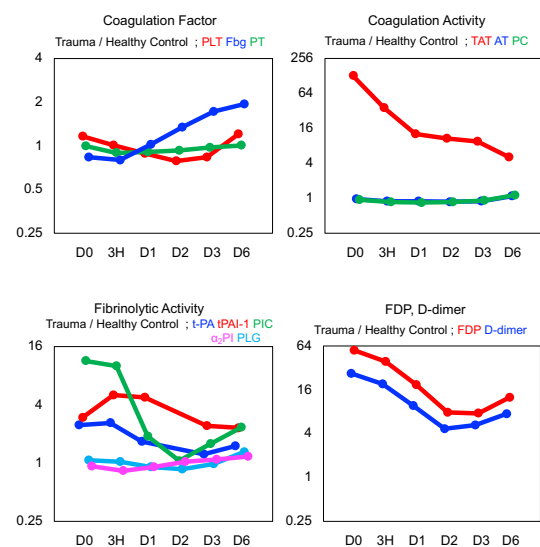
急性病態（外傷、敗血症、心停止後症候群などその他血液凝固線溶系異常を伴う病態）のため、愛媛大学医学部附属病院救急科へ入院となる成人で同意を得られた患者より血液を採取し、前向きに血液凝固線溶系関連マーカーを測定、解析した。腹膜炎・外科定期手術に関しては同院消化器腫瘍外科の協力を得、後向きに測定された血液凝固線溶系マーカーの解析を行った。（愛大医病倫 1412019 号・1902014 号・1902015 号）

4. 研究成果

(1) 外傷の凝固線溶動態

外傷における凝固線溶異常として、受傷初期の出血と後に続く血栓とそれに伴う臓器障害が問題となり、生命予後に大きく影響する。しかし、外傷急性期の凝固線溶動態はこれまでに Gando ら (*Gando. Semin Thromb Hemost. 2001*)により報告されているものの、詳細に評価された報告は少ない。そのため、出血に対する線溶抑制薬であるトラネキサム酸の投与のタイミングなど、凝固線溶異常に対する治療方法など課題が多く残されている。外傷侵襲に伴い、受傷初期の凝固亢進と、t-PA と PAI-1 の上昇ピークのずれによる線溶活性が亢進・低下・再亢進する 3 相性変化が見られた。この結果は Gando らの結果に矛盾しないものであった。この結果から、受傷初期の線溶亢進時期に線溶抑制薬は有用であるが、線溶抑制期にはむしろ有害に可能性が示唆される。これは外傷症例に対するトラネキサム

酸の有効性を評価した CRASH-2 トライアルとそのサブグループ解析の結果を説明する動態であると考えられる。今回の結果は今後、凝固線溶異常の病態解明やそれに対する治療の評価のための重要な礎となる。



(2) 外傷やその他急性病態における AT 活性低下の機序

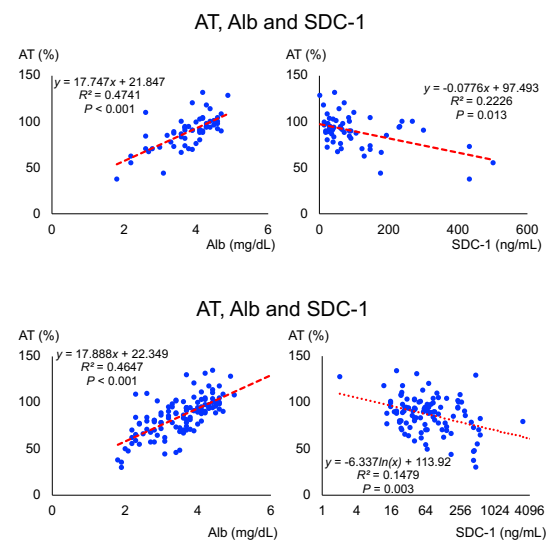
抗凝固因子である AT は、その低下により血 栓塞栓症の発症のリスクが上がるということが知ら

れている。外傷早期に、AT 活性が低下することがこれまでに報告されている。外傷における AT 活性低下の機序は敗血症などでの報告を元に、消費や肝合成能低下、血管外漏出などが考えられているが、これまで検討されたことがない。今回の検討の結果、外傷に伴う AT 活性の低下は、TAT などの凝固活性マーカーとは相関せず、Alb と強い相関関係を示した。TM や IL-6 との関連も見られており、AT 活性低下の機序は消費性ではなく、炎症や血管内皮細胞障害による機序が考えられ、これを報告した(*Thromb J 2018*)。更に今回、直接的に Glycocalyx の構成成分である SDC-1(syndecan-1)との相関を確認し、AT 活性低下と血管内皮細胞障害の関連を明らかとした。重症外傷症例では、Alb や AT など比較的高分子量の蛋白の血管外漏出を伴うほどの血管内皮細胞障害が併存すると考えられ、それに対応して、輸血を中心とした循環・凝固障害に対する初期蘇生を検討する必要があると考えられる。さらに敗血症や PCAS、脳卒中や急性冠症候群など、救急集中治療領域で取り扱う様々な急性病態を統合して、それらの関連を検討したところ、外傷だけに限らず、

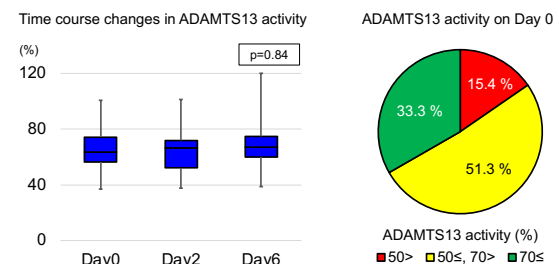
(3) 外傷における ADAMTS13 活性

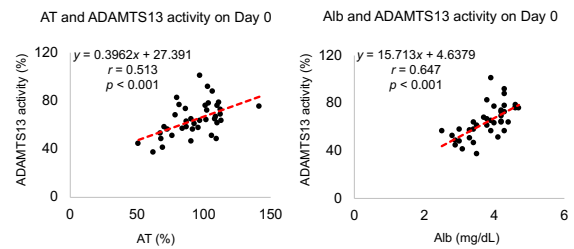
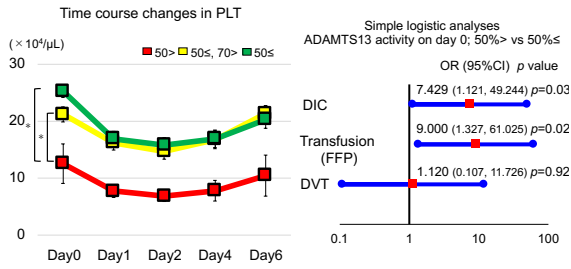
ADAMTS13 とは血小板を凝集させる vWF を分解する酵素で過剰な血小板血栓形成を抑制する。自己抗体などによりこの活性が 10%未満に低下し、様々な血栓症状を呈する病態として TTP が知られている。TTP 以外にも二次性に ADAMTS13 活性が低下し、血栓症状との関連を示す病態が多く報告されているが、外傷における ADAMTS13 の動態を検討した報告は少ない。今回の研究の結果、外傷においても ADAMTS13 活性は中等度の低下が見られ、この低下は凝固障害や、凝固因子補充の必要性との関連が見られた。この低下の機序として、AT や Alb との強い相関関係から肝合成能や炎症による影響、血管内皮細胞障害などに強く影響を受けている可能性が示唆された。血小板減少を含む凝固障害

急性病態全体において凝固線溶異常と血管内皮細胞障害は密接に関連している結果が見られた。我々は、敗血症病態において、血管透過性亢進が強く、AT が著明に低下しているような重症血管内皮細胞障害を伴う DIC に対しては、AT 製剤の投与方法を持続投与して安定した血中 AT 活性を維持するようにしている(*Aibiki et al. Shock. 2007*)。このように重症な DIC 症例においては、血管内皮細胞障害を考慮した治療戦略が必要であり、今後更なる検討が必要である。



を来した重症外傷症例においては ADAMTS13 活性の低下が併存している可能性があり、FFP 投与による補充を行うことで凝固障害の改善が得られる可能性がある。今後更なる検討が必要である。

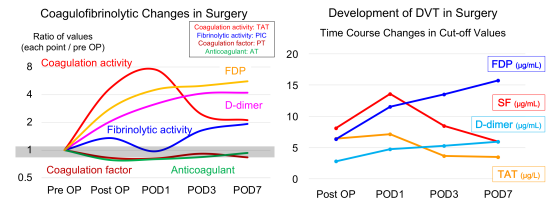




(4) 周術期凝固線溶動態と DVT 予測

周術期の DVT や PE の発生は重篤な転帰を来す可能性があり、その予防・早期発見が重要な課題である。これまでその発生の早期診断マーカーとして D-dimer が報告されているが、周術期においては手術侵襲に伴う影響を受けるため診断能が低下する。そこで、今回、周術期の生理的な凝固線溶動態の把握とそれを元にした凝固線溶系マーカーの DVT 診断能の評価を行った。下部消化管予定手術症例で周術期の凝固線溶動態を解析した所、その特徴として、一過性の凝固亢進、線溶の 3 相性変化(亢進・低下・再亢進)、FDP・D-dimer の持続上昇が見られた。周術期の DVT 予測を凝固線溶系マーカーで解析した所、周術期の

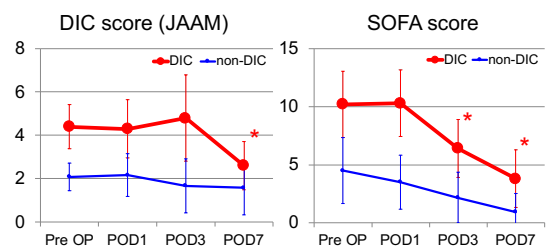
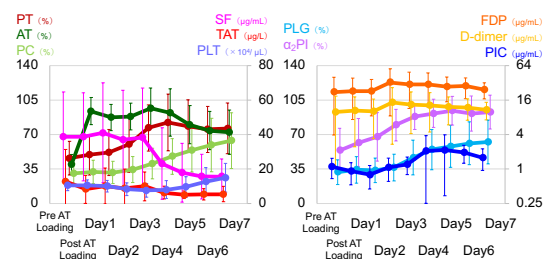
生理的な動態を把握したカットオフ値を設定すれば、FDP・D-dimer・SF・TAT が有用なマーカーとなることを見出した。これらのマーカーは血栓性合併症の早期診断マーカーのみでなく、周術期の血栓予防の抗凝固療法の効果判定や適応の判断指標になりうる可能性があり、今後更なる検討が必要である。



5) 腹膜炎における DIC 治療

敗血症性 DIC に対する AT を含めた抗凝固療法の検討が多くされているが、RCT において明らかな有効性は示されず、その適応は未だに議論される場所である。本来の AT の作用を考慮すると、凝固亢進状態が遷延する DIC 病態においてその有効性が十分発揮されることが考えられるが、これまで凝固線溶系マーカーで過凝固に対する抗凝固療法の効果を詳細に検討した報告はない。今回、緊急手術を要した腹膜炎による DIC に対して Antithrombin γ (AT γ : アコアラン®) の使用効果を凝固線溶系マーカーで評価した。AT γ 投与により良好な AT 活性を維持でき、凝固亢進状態の改善が得られ、その結果 DIC・臓器障害の改善が得られた。AT γ は腹膜炎による DIC の凝固亢進状態に対し、良好な抗凝固作用を有する可能性が示唆された。DIC 病

態において、抗凝固療法が有効となる治療開始基準を設定するにあたり、凝固線溶系マーカーが重要な役割を担うものと考えられる。



(6) 熱中症の凝固線溶動態と DIC 治療

重症の熱中症では臓器障害と共に DIC を来たすことが知られている。DIC は線溶亢進型から体温是正と共に線溶抑制型へと移行していくことが報告されているが、その詳細は未だ不明な点も多く、治療方法も確立されていない。今回、DIC を伴う重症熱中症症例を経験し、凝固線溶系マーカーによる詳細な評価を行った。体温是正後も増悪する凝固及び線溶活性の亢進から初期には線溶亢進型 DIC を来たし、侵襲後に遅れて合成される PAI-1 の上昇に伴い線溶抑制型 DIC への phenotype change の経過を明らかとした。そして、凝固亢進状態に対する rTM+AT 製剤の治療効果をマーカーを用いて確認した。熱中症による凝固線溶活性の亢進は、体温是正で速やかに改善が得られるわけではなく、熱侵襲の程度が影響し、熱暴露後も数時間から数日という期間で増悪していく可能性がある。そして、DIC の phenotype change は tPA と PAI-1 の

バランスにより規定される。凝固線溶系マーカーはこの凝固線溶異常のダイナミックな変化を確実に捉え、最適な治療方法の選択に有用であると考えられた (*J Intensive Care 2019*)。

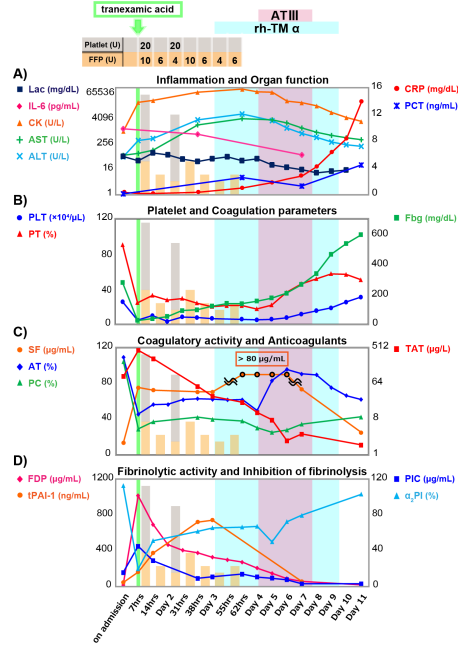
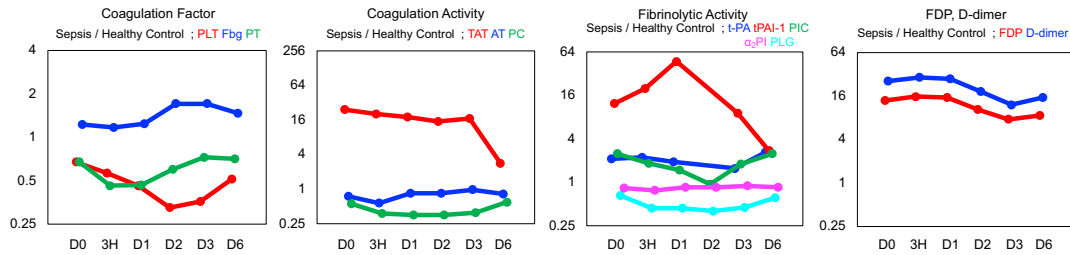


Figure 4 Time course of laboratory parameters and treatments.

(7) 敗血症の凝固線溶動態

敗血症性 DIC の特徴は、凝固亢進と PAI-1 高値による線溶抑制を伴う凝固障害が特徴となるが、今回、我々が検討した凝固線溶系マ

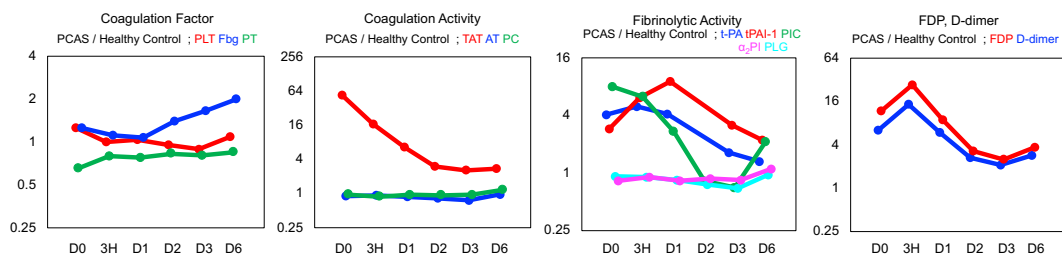
ーカーにおいても同様の結果が確認できた。今後更なる症例の集積を行い、DIC 治療評価等の検討を行う予定である。



(8) 心停止後症候群の凝固線溶動態

PCAS における凝固線溶動態はこれまでに詳細な報告はない。今回の結果、外傷と同様に侵襲に伴い、凝固亢進と線溶の 3 相性変化が見られた。外傷や PCAS、熱中症や腹膜炎などによる敗血症発症時などの侵襲急性期にお

いては凝固線溶系の亢進に程度の差はあるものの動態としてはほぼ同様であると考えられる。更に検討を進め、詳細な機序解明を行い、病的な凝固線溶異常の発症機転を同定し、治療開始基準の設定していく必要がある。



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 (計 2 件)

- 1) Matsumoto H, Takeba J, Umakoshi K, Nakabayashi Y, Moriyama N, Annen S, Ohshita M, Kikuchi S, Sato N, Aibiki M. Successful treatment for disseminated intravascular coagulation (DIC) corresponding to phenotype changes in a heat stroke patient. *J Intensive Care*. 2019; 7: 2 DOI: 10.1186/s40560-019-0359-3. 査読有り
- 2) Matsumoto H, Takeba J, Umakoshi K, Kikuchi S, Ohshita M, Annen S, Moriyama N, Nakabayashi Y, Sato N, Aibiki M. Decreased antithrombin activity in the early phase of trauma is strongly associated with extravascular leakage, but not with antithrombin consumption: a prospective observational study. *Thromb J*. 2018; 16: 17 DOI: 10.1186/s12959-018-0171-7. 査読有り

〔学会発表〕 (計 5 件)

- 1) 松本紘典. 外科周術期凝固線溶動態と DVT. *Onco-Cardiology Seminar in Matsuyama*. 2019年5月24日 松山
- 2) 松本紘典. 外傷における ADAMTS13 活性低下は DIC と関連する. 第 46 回日本集中治療医学会総会. 2019年3月1日~3日 京都
- 3) Matsumoto H. Perioperative coagulofibrinolytic responses in colorectal surgery. The 10th Congress of the Asian-Pacific Society on Thrombosis and Hemostasis. June 28-30, 2019 Sapporo, Japan
- 4) Matsumoto H. Setting perioperative cut-off values of coagulofibrinolytic markers to predict the development of deep vein thrombosis in colorectal surgery. 41th Annual conference on SHOCK. June 9-12, 2019 Scottsdale, America
- 5) 松本紘典. 敗血症性 DIC を伴う腹部緊急手術症例に対する Antithrombin γ (アコアラン®) の使用経験. 第 45 回日本集中治療医学会総会. 2018年2月21日~23日 幕張

〔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〕

ホームページ等なし

6. 研究組織

(1)研究分担者 なし (2)研究協力者 なし

※科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。