

令和元年6月20日現在

機関番号：24601

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K10580

研究課題名(和文) 肝切除後肝不全におけるADAMTS13の関与及び新規肝不全治療戦略の確立

研究課題名(英文) Involvement of ADAMTS 13 in liver failure after hepatectomy and establishment of novel liver failure treatment strategy

研究代表者

野見 武男 (Nomi, Takeo)

奈良県立医科大学・医学部・学内講師

研究者番号：50570991

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：肝切除を施行した35例を対象とし、術前・術後に血液をサンプリングし、UL-VWFマルチマー解析を行った。UL-VWFマルチマー indexは術前値0.2% (0.0-7.8) から術後7日目に4.2% (0.1-16.3) と有意に増加した ($p < 0.001$)。多変量解析では、Pringle時間が術後UL-VWF出現に関する独立した規定因子であった ($p = 0.043$)。さらにUL-VWF indexは、Pringle時間と正の相関を示した ($r = 0.444$, $p = 0.017$)。以上の結果から、病的血栓の一因となるVWFマルチマーとPringle法による虚血再灌流障害との関連が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

これまでADAMTS13、vWF、VWFマルチマーと肝切除及びPringle法との関連に着目した検討は、国内外において報告がない。本研究により、UL-VWFマルチマーと術中Pringle法による虚血再灌流障害の関連が明らかにされたことで、今後、肝切除後肝不全に対する新たな治療戦略となり得る可能性が示唆される。さらに研究がすすめば、効率的な肝切除後肝不全治療戦略となる可能性がある。ADAMTS13関連因子は病的血栓との関連から心筋梗塞や脳梗塞の治療薬としての可能性も示されており、肝臓のみならず他臓器疾患への波及効果が期待される。

研究成果の概要(英文)：This study aimed to clarify the effect of hepatectomy on UL-VWFMs. Thirty-five patients who underwent hepatectomy were eligible for the study. Multimer analysis of plasma VWF was performed. For analyses, patients were categorized according to UL-VWF positivity after hepatectomy. The UL-VWFMs indices were significantly increased from 0.2% (0.0%-7.8%) before the operation to 4.2% (0.1%-16.3%) on postoperative day seven after the operation ($p < 0.001$). Seven patients remained UL-VWFMs-negative and 22 patients became UL-VWFMs-positive after operation. By multivariable analysis, Pringle's maneuver duration was significantly associated with increased UL-VWFMs level after hepatectomy ($p = 0.043$). UL-VWFMs index was significantly correlated with Pringle's maneuver duration ($r = 0.444$, $p = 0.017$). In conclusion, Plasma UL-VWFMs levels increased after hepatectomy due to ischemia-reperfusion injury with Pringle's maneuver.

研究分野：肝臓外科，腹腔鏡外科，肝胆膵外科

キーワード：ADAMTS13 vWFマルチマー 肝不全 虚血再灌流障害 肝切除 Pringle法

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

1. 研究開始当初の背景

肝癌（原発性肝癌、転移性肝癌）診療において、外科的切除を中心とする集学的治療の進歩により治療成績は改善しつつある。しかしながら現在においても尚、肝切除後肝不全は克服されておらず、その発生機序は未だ十分解明されていない。日常臨床で経験される難治性腹水や遷延性黄疸等の肝不全は、時に mortality に繋がることもある重要な臨床課題である。肝不全を防止するための手術適応については、様々に検討されてきたが、一旦肝不全を発症すると、効果的な治療法には乏しい。さらなる治療成績改善のためには、新たな観点からの術後肝不全に対する治療法の確立が求められる。

Von Willebrand factor (VWF) は血管内皮細胞障害の際に発現が増強し、血管内皮障害部位において血小板凝集を促して修復する働きをもつ。種々の原因による血管内皮障害の際に VWF 産生が亢進することが知られており、特に、多くの VWF がつながりあって超高分子量重合体となった unusually large VWF (UL-VWF) は非常に強い血小板凝集活性を有している。肝星細胞で産生される VWF 特異的切断酵素 (ADAMTS13) は近年脚光を浴び、本酵素が欠乏すると UL-VWF が切断されず細小血管内での病的血栓が形成され、消費性の血小板現象を惹起するとともに、諸臓器における微小循環障害をきたして主要臓器において微小循環障害を惹起することが知られている。最近、肝移植後に血管内皮障害から VWF 産生亢進が生じ、消費性の ADAMTS13 活性の低下が認められ、急性拒絶反応時に特に低下が著しいことが報告されている。また、薬剤性肝障害等の急性肝不全において、ADAMTS13 活性が著明に低下しており、予後にも関連するという興味深い報告がなされている。申請者は、肝切除後肝不全には、星細胞の減少に伴う ADAMTS13 産生低下、手術操作に伴う血管内皮障害による消費性の ADAMTS13 の低下、の二つの機序により UL-VWF 依存性血小板凝集が惹起される結果、肝微小循環障害が生じ組織への血流障害を中心とするメカニズムにより、肝不全に至る可能性があるのではないかとこの着想を得た。

2. 研究の目的

肝星細胞で産生される VWF 特異的切断酵素 (ADAMTS13) が欠乏すると、血小板と最も反応性に富む高分子量 VWF マルチマーが増加し、主要諸臓器において微小循環障害が惹起される。本研究では、肝切除後には、ADAMTS13 消費亢進と産生低下から VWF 依存性血小板凝集が生じ、肝微小循環障害を経て肝不全に至るといった新しい観点から、肝切除後肝不全の病態形成を解明し、新規治療法の開発を目指すことを目的とする。さらに肝切除後肝不全に対する新規治療法を臨床展開するための基盤となる研究を行う。

3. 研究の方法

当科にて根治的肝切除を施行した症例を対象とした。術前・術中・術後に血液をサンプリングし、ADAMTS13 活性・VWF 抗原量測定と UL-VWF 解析を行った。

4. 研究成果

ADAMTS13 活性は術前値 $60.84 \pm 23.87\%$ と比較して術後有意に低下し、術後 7 日目には $39.01 \pm 13.46\%$ まで活性は低下していた ($p=0.002$)。UL-VWF index は術前値 0.2% (0.0-7.8) から術後 7 日目に 4.2% (0.1-16.3) と有意に増加した ($p<0.001$)。術後 UL-VWF positive 群は 22 例、negative 群は 7 例であった。UL-VWF positive 群において Pringle 時間は有意に長く ($p=0.001$)、出血量は有意に多かった ($p=0.003$)。多変量解析では Pringle 時間が術後 UL-VWF 出現に関する独立した規定因子であった ($p=0.043$)。さらに UL-VWF index は、Pringle 時間と正の相関を示した ($r=0.444$, $p=0.017$)。以上の結果から、ADAMTS13 と vWF の均衡破綻が生じることで肝切除後は血小板血栓が形成され易い環境にあることが明らかになった。さらに非常に血小板凝集能の強いとされ、病的血栓の一因となる VWF マルチマーは、肝切除において出血制御のため用いられる Pringle 法との関連が示唆された。

以上の成果を現在、英文誌に投稿中である。

従来、肝虚血再灌流障害による肝臓障害に対する保護剤として、炎症性サイトカイン及びそのメディエーターの生成阻害剤、受容体拮抗剤そして好中球-内皮細胞相互作用阻害剤などが検討されてきた。しかし虚血再灌流障害に対する治療法として、肝切除と ADAMTS13 関連因子に着目した検討は、国内外において報告がない。本研究により、UL-VWF マルチマーと術中 Pringle 法による虚血再灌流障害の関連が明らかにされたことで、今後、肝切除後肝不全に対する新たな治療戦略となり得る可能性が示唆される。さらに研究がすすめば、効率的な肝切除後肝不全治療戦略となる可能性がある。ADAMTS13 関連因子は病的血栓との関連から心筋梗塞や脳梗塞の治療薬としての可能性も示されており、肝臓のみならず他臓器疾患への波及効果が期待される。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 37 件)

1. **Nomi T**, Hokuto D, Yoshikawa T, Matsuo Y, Sho M. A Novel Navigation for Laparoscopic Anatomic Liver Resection Using Indocyanine Green Fluorescence. Ann Surg Oncol. 25:3982, 2018

2. Ogiso S, Okuno M, Shindoh J, Sakamoto Y, Mizuno T, Araki K, Goumard C, **Nomi T**, Ishii T, Uemoto S, Chun YS, Tzeng CD, Lee JE, Vauthey JN, Conrad C. Conceptual framework of middle hepatic vein anatomy as a roadmap for safe right hepatectomy. *HPB (Oxford)*. 21:43050, 2018.
3. Tanaka S, Ueno M, Iida H, Kaibori M, **Nomi T**, Hirokawa F, Ikoma H, Nakai T, Eguchi H, Kubo S. *J Hepatobiliary Pancreat Sci.* 25:377-387,2018
4. Pietrasz D, Fuks D, Subar D, Donatelli G, Ferretti C, Lamer C, Portigliotti L, Ward M, Cowan J, **Nomi T**, Beaussier M, Gayet B. Laparoscopic extended liver resection: are postoperative outcomes different? *Surg Endosc.* 32:4833-4840,2018.
5. Kasai M, Cipriani F, Gayet B, Aldrighetti L, Ratti F, Sarmiento JM, Scatton O, Kim KH, Dagher I, Topal B, Primrose J, **Nomi T**, Fuks D, Abu Hilal M. Laparoscopic versus open major hepatectomy: a systematic review and meta-analysis of individual patient data. *Surgery.* 163:985-995,2018
6. Hokuto D, **Nomi T**, Yasuda S, Yoshikawa T, Ishioka K, Yamada T, Takahiro A, Nakagawa K, Nagai M, Nakamura K, Kanehiro H, Sho M. Does anatomic resection improve the postoperative outcomes of solitary hepatocellular carcinomas located on the liver surface? *Surgery.* 163:285-290,2018
7. Hokuto D, **Nomi T**, Yasuda S, Yoshikawa T, Ishioka K, Yamada T, Akahori T, Nakagawa K, Nagai M, Nakamura K, Obara S, Kanehiro H, Sho M. Risk Factors for Unresectable Recurrence After Up-Front Surgery for Colorectal Liver Metastasis. *World J Surg.* 42:884-891,2018
8. Yamashita M, **Matsumoto M**, Hayakawa M, Sakai K, Fujimura Y, Ogata N. Intravitreal injection of aflibercept, an anti-VEGF antagonist, down-regulates plasma von Willebrand factor in patients with age-related macular degeneration. *Sci Rep* 24:1491,2018
9. Kawano N, Yokota-Ikeda N, Kawano S, Kuriyama T, Yamashita K, Ono N, Ueda N, Ochiai H, Ishikawa F, Kikuchi I, Shimoda K, **Matsumoto M**. Clinical effect of rituximab as early administration for refractory thrombotic thrombocytopenic purpura associated with connective tissue diseases. *Modern Rheumatology Case Reports* 2:59-67,2018
10. Kawano N, Yokota-Ikeda N, Kawano S, Kuriyama T, Yamashita K, Ono N, Ueda N, Ochiai H, Ishikawa F, Kikuchi I, Shimoda K, **Matsumoto M**. Clinical effect of rituximab as early administration for refractory thrombotic thrombocytopenic purpura associated with connective tissue diseases. *Modern Rheumatology Case Reports*, 2:59-67,2018
11. Matsunaga Y, Ishimura M, Nagata H, Uike K, Kinjo T, Ochiai M, Yamamura K, Takada H, Tanoue Y, Hayakawa M, **Matsumoto M**, Hara T, Ohga S. Thrombotic microangiopathy in a very young infant with mitral valvuloplasty. *Pediatr Neonatol.* 59(6) 595-599,2018
12. Itami H, Hara S, **Matsumoto M**, Imamura S, Kanai R, Nishiyama K, Ishimura M, Ohga S, Yoshida M, Tanaka R, Ogawa Y, Asada Y, Sekita-Hatakeyama Y, Hatakeyama K, Ohbayashi C. Complement activation associated with ADAMTS13 deficiency may contribute to the characteristic glomerular manifestations in Upshaw-Schulman syndrome. *Thromb Res.* 1,170:148-155,2018
13. Tsuda M, Shiratsuchi M, Nakashima Y, Ikeda M, Muta H, Narazaki T, Masuda T, Kimura D, Takamatsu A, **Matsumoto M**, Fujimura Y, Kokame K, Matsushima T, Ogawa Y. Upshaw-Schulman syndrome diagnosed during pregnancy complicated by reversible cerebral vasoconstriction syndrome. *Transfus Apher Sci.* 57(6):790-792,2018
14. Wada H, Matsumoto T, Suzuki K, Imai H, Katayama N, Iba T, **Matsumoto M**. Differences and similarities between disseminated intravascular coagulation and thrombotic microangiopathy. *Thromb J.* 16;14,2018
15. Gupta R, Fuks D, Bourdeaux C, Radkani P, **Nomi T**, Lamer C, Gayet B. Impact of intraoperative blood loss on the short-term outcomes of laparoscopic liver resection. *Surg Endosc.* 31:4451-4457,2017
16. Yoshikawa T, **Nomi T**, Hokuto D, Yasuda S, Kawaguchi C, Yamada T, Kanehiro H, Nakajima Y. Risk Factors for Postoperative Ascites in Patients Undergoing Liver Resection for Hepatocellular Carcinoma. *World J Surg.* 41:2095-2100,2017

17. Hokuto D, Nomi T, Yasuda S, Kawaguchi C, Yoshikawa T, Ishioka K, Obara S, Yamada T, Kanehiro H. The safety of the early removal of prophylactic drainage after liver resection based solely on predetermined criteria: a propensity score analysis. *HPB (Oxford)*. 19:359-364,2017
18. Portigliotti L, Fuks D, Slivca O, Bourdeaux C, Nomi T, Bennamoun M, Gentilli S, Gayet B. A comparison of laparoscopic resection of posterior segments with formal laparoscopic right hepatectomy for colorectal liver metastases: a single-institution study. *Surg Endosc*. 31:2560-2565,2017
19. Hokuto D, Nomi T, Kawaguchi C, Yoshikawa T, Yasuda S, Obara S, Yamato I, Yamada T, Kanehiro H, Nakajima Y. The Administration of Celecoxib as an Analgesic after Liver Resection Is Safe. *Dig Surg*. 34:108-113,2017
20. Scully M, Cataland S, Coppo P, de la Rubia J, Friedman KD, Kremer Hovinga J, Lämmle B, Matsumoto M, Pavenski K, Sadler E, Sarode R, Wu H, on behalf of the international working group for Thrombotic thrombocytopenic purpura (TTP). Consensus on the standardization of terminology in thrombotic thrombocytopenic purpura and related thrombotic microangiopathies. *J Thromb Haemost* 15:312-322,2017
21. Matsumoto M, Fujimura Y, Wada H, Kokame K, Miyakawa Y, Ueda Y, Higasa S, Moriki T, Yagi H, Miyata T, Murata M; For TTP group of Blood Coagulation Abnormalities Research Team, Research on Rare and Intractable Disease supported by Health, Labour, and Welfare Sciences Research Grants. Diagnostic and treatment guidelines for thrombotic thrombo- cytopenic purpura (TTP) 2017 in Japan. *Int J Hematol* 106:3-15, 2017
22. Scully M, Cataland S, Coppo P, de la Rubia J, Friedman KD, Kremer Hovinga J, Lämmle B, Matsumoto M, Pavenski K, Sadler E, Sarode R, Wu H, on behalf of the international working group for Thrombotic thrombocytopenic purpura (TTP). Consensus on the standardization of terminology in thrombotic thrombocytopenic purpura and related thrombotic micro- angiopathies. *J Thromb Haemost* 15:312-322,2017
23. Matsui T, Hori A, Hamako J, Matsushita F, Ozeki Y, Sakurai Y, Hayakawa M, Matsumoto M, Fujimura Y. Mutant botrocetin-2 inhibits von Willebrand factor- induced platelet agglutination. *J Thromb Haemost* 15: 538-548,2017
24. Yoshii Y, Fujimura Y, Bennett CL, Isonishi A, Kurumatani N, Matsumoto M. Implementation of a rapid assay of ADAMTS13 activity was associated with improved 30-day survival rate in patients with acquired primary thrombotic thrombocytopenic purpura who received platelet transfusions. *Transfusion*. 57:2045-2053,2017
25. Akutagawa T, Shindo T, Yamanouchi K, Hayakawa M, Ureshino H, Tsuruoka N, Sakata Y, Shimoda R, Noguchi R, Furukawa K, Morita S, Iwakiri R, Kimura S, Matsumoto M, Fujimoto K. Persistent Gastro -intestinal Angiodysplasia in Heyde 's Syndrome After Aortic Valve Replacement. *Intren Med* 56:2431-2433,2017
26. Yoshida Y, Matsumoto M, Yagi H, Isonishi A, Sakai K, Hayakawa M, Hori Y, Sado T, Kobayashi H, YFujimura Y. Severe reduction of free-form ADAMTS13, unbound to von Willebrand factor, in plasma of patients with HELLP syndrome. *Blood Advances* 1:1628-1631,2017
27. Takaya H, Yoshiji H, Kawaratani H, Sakai K, Matsumoto M, Fujimura Y, Fukui H. Decreased activity of plasma ADAMTS13 are related to enhanced cytokinemia and endotoxemia in patients with acute liver failure. *Biomed Rep* 7:277-285, 2017
28. Yagi H, Yamaguchi N, Shida Y, Sugimoto M, Tubaki K, Fujimura Y, Matsumoto M. Highly elevated plasma level of von Willebrand factor accelerates the formation of platelet thrombus under high shear stress in plasma with deficient ADAMTS13 activity. *Thromb Res* 159:91-95,2017
29. Hokuto D, Nomi T, Yamato I, Yasuda S, Obara S, Yoshikawa T, Kawaguchi C, Yamada T, Kanehiro H, Nakajima Y. The prognosis of liver resection for patients with four or more colorectal liver metastases has not improved in the era of modern chemotherapy. *J Surg Oncol*. 114:959-965,2016
30. Kaibori M, Nitta H, Hayashi M, Takemura S, Nagano H, Matsui K, Ikoma H, Nakai T, Yasunaga M, Kido M, Aoki T, Rikiyama T, Sano K, Kudo A, Katagiri S, Otsuka Y, Kuroki T, Nomi T, Yano K, Endo I, Ueno M, Kanazawa A, Terajima H, Ko S, Honda G, Seyama Y, Sunagawa H, Aibara T. Questionnaire survey on work motivations of

- gastrointestinal and hepatobiliary pancreatic surgeons enrolled in a Japanese national interdisciplinary program. *J Hepatobiliary Pancreat Sci.* 23:697-702,2016
31. **Nomi T**, Fuks D, Louvet C, Nakajima Y, Gayet B. Outcomes of Laparoscopic Liver Resection for Patients with Large Colorectal Liver Metastases: A Case-Matched Analysis. *World J Surg.* 40:1702-8,2016
 32. **Nomi T**, Fuks D, Ogiso S, Nakajima Y, Louvet C, Gayet B. Second and Third Laparoscopic Liver Resection for Patients With Recurrent Colorectal Liver Metastases. *Ann Surg.* 263:e68-72,2016
 33. Fujino Y, Inoue Y, Onodera M, Kikuchi S, Sato M, Kojika M, Sato H, Suzuki K, **Matsumoto M**. Acute pancreatitis-induced thrombotic thrombocytopenic purpura with recurrent acute pancreatitis. *Clin J Gastroenterol.* 9:104-108,2016
 34. Miyakawa Y, Imada K, Ichinohe T, Nishio K, Abe T, Murata M, Ueda Y, Fujimura Y, **Matsumoto M**, Okamoto S. Efficacy and safety of rituximab in Japanese patients with acquired thrombotic thrombocytopenic purpura refractory to conventional therapy. *Int J Hematol.* 104:228-235,2016
 35. Ichikawa S, Sasaki K, Takahashi T, Hayakawa M, **Matsumoto M** Harigae H. Thrombotic thrombocytopenic purpura associated with Klebsiella pneumonia in the background of alcoholic liver cirrhosis. *Case Reports in Internal Medicine* 3:30-35,2016
 36. Tsujii N, Nogami K, Yoshizawa H, Hayakawa M, Isonishi A, **Matsumoto M**, Shima M. Influenza-associated thrombotic microangiopathy with unbalanced von Willebrand factor and a disintegrin and metalloproteinase with a thrombospondin type 1 motif, member 13 levels in a heterozygous protein S-deficient boy. *Pediatr Int* 58:926-929, 2016
 37. Tsujii N, Shiraishi I, MD, Kokame K, Shima M, MD, Fujimura Y, MD, Takahashi Y, **Matsumoto M**. Severe hemolysis and pulmonary hypertension in a neonate with Upshaw-Schulman syndrome. *Pediatrics*, 138: e20161565,2016

〔学会発表〕(計8件)

1. 吉川高宏, 野見武男, 北東大督, 松尾泰子, 庄 雅之. Pringle 法に伴う虚血再灌流障害は Unusually Large Von Willebrand Multimers を誘導する. 第 118 回日本外科学会定期学術集会. 2018 年 4 月 5 日
2. 吉川高宏, 野見武男, 北東大督, 松尾泰子, 庄 雅之. 肝左葉切除後門脈血栓の 1 例 ADAMTS13 関連因子の観点から. 第 15 回消化器外科学会大会. 2017 年 10 月 12 日
3. 松本雅則. Pringle 法に伴う虚血再灌流障害は Unusually Large Von Willebrand Multimers を誘導する. 第 118 回日本外科学会学術集会. TMA における血漿療法と病因に基づいた新規治療法の選択. 第 64 回日本輸血・細胞治療学会総会. 2016 年 4 月 28 日 (シンポジウム)
4. 杉邑俊樹, 長谷川真弓, 隅志穂里, 下村志帆, 馬場由美, 辻内智美, 前田美和, 早川正樹, 松本雅則. 当院で過去 5 年半に血液型判定困難で精査となった 65 症例の検討. 第 64 回 日本輸血・細胞治療学会総会. 国立京都国際会館. 2016 年 4 月 28 日
5. 高橋幸博, 長谷川真弓, 松本雅則. 自施設作成混合血の組成およびその機能解析と緊急時の新生児の交換輸血. 第 64 回日本輸血・細胞治療学会総会. 2016 年 4 月 28 日
6. 松本雅則. 病因に基づいた TMA の診断と治療法の選択. 第 38 回日本血栓止血学会学術集会. 2016 年 6 月 17 日(教育講演)
7. 吉井由美, 早川正樹, 石西綾美, 堀勇二, 藤村吉博, 松本雅則. 後天性原発性血栓性血小板減少性紫斑病の再発危険因子の検討第 38 回日本血栓止血学会学術集会. 2016 年 6 月 18 日
8. 小亀浩市, 内田裕美子, 宮田敏行, 松本雅則, 藤村吉博, 吉田瑶子, 加藤秀樹, 南学正臣. デジタル PCR を用いた aHUS 関連遺伝子異常の検出第 38 回日本血栓止血学会学術集会. 2016 年 6 月 18 日

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕

出願状況 (計0件)

名称:

発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年：
国内外の別：

取得状況（計 0 件）

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6 . 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名：松本雅則

ローマ字氏名：Matsumoto Masanori

所属研究機関名：奈良県立医科大学

部局名：輸血部

職名：教授

研究者番号（8 桁）：60316081

(2)研究協力者

研究協力者氏名：尾原伸作

ローマ字氏名：Obara Shinsaku

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。