

令和 2 年 7 月 9 日現在

機関番号：24601

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K09518

研究課題名(和文)重症大動脈弁狭窄症に合併する消化管出血のフォンビレブランド因子による病態解析

研究課題名(英文)Clinical analysis in pathogenesis of gastrointestinal bleeding with severe aortic stenosis according to von willebrand factor

研究代表者

早川 正樹 (Masaki, Hayakawa)

奈良県立医科大学・医学部・助教

研究者番号：30516729

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円

研究成果の概要(和文)：我々は実臨床で利用されるASによるAVWSを再現し証明し、その病態を解析するために、in-vitroで解析するために試作機を作成し、特許出願を行った(特願2018-192927)。この試作機によって、自由自在にASの大動脈弁にかかる剪断応力を再現することができ、患者血漿を使用して切断の証明実験を行った。その際、大動脈弁の弁口面積以外にVWFの切断に関与する因子として、「血液型」が関与することが示された。O型ではA,ABに比して切断されやすい可能性が示唆され、この試作機でもその結果を追試することができた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

我々はこの後天性フォンヴィレブランド症候群を再現するための実験方法を開発した。そしてこの実験方法を特許出願を行い(特願2018-192927)、自由自在に大動脈弁狭窄症の患者における大動脈弁にかかる変化を再現することができた。その結果から大動脈弁の狭窄率以外にフォンヴィレブランド因子の切断に関与するものとして、「血液型」が関与することが示された。O型ではA,ABに比して切断されやすい可能性が示唆され、今回我々が作成した実験方法でもその結果を追試することができた。以上より大動脈弁狭窄症に伴うフォンヴィレブランド因子の切断は、その弁口面積と血液型が関与する可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：Von Willebrand disease (VWD) is known as the most common inherited bleeding disorder. But acquired von Willebrand syndrome (AVWS) is much less common. It is because AVWS is associating symptom with a number of medical conditions and diseases. Recent study reveals AVWS has been frequently diagnosed in patients with aortic valve stenosis (AS, 79%). AVWS is caused by VWF proteolysis induced by shear stress. According to high levels of shear stress in AS, high molecular-weight VWF Multimers(HM-VWFMs) is more susceptible to cleavage by ADAMTS13. We can find a large number of cases of AVWS related to cardiovascular diseases. We developed a newly-designed shuttle shearing tester to examine the effect of shear stress on blood. HM-VWFMs is extended by the fluid forces in shear flow and are cleaved by ADAMTS13. The mechanical revolving motion in this device induces cleavage in HM-VWFMs. In this study, area of aortic valve and blood type are related to VWF degradation.

研究分野：血栓止血学

キーワード：後天性フォンヴィレブランド症候群 VWF 大動脈弁狭窄症

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

大動脈弁狭窄症について

大動脈弁狭窄症 (Aortic Stenosis; AS) は心臓弁膜症の一つで、その頻度は加齢とともに増加するため高齢化社会の日本では増加の一途をたどる疾患である。AS は重症化すると早急に弁置換術 (AVR) を行わないと予後は極めて不良である。治療は外科的手術による人工弁置換術が標準治療であるが最近では患者負担の少ない経カテーテル的大動脈弁置換術 (TAVI) が開発され治療対象は拡大しつつある。AS の治療が進歩する一方、AS に消化管出血を合併する症候群についてはあまり知られていない。

研究の学術的背景

Heyde 症候群について

1958 年 Heyde が AS に、原因不明の消化管出血を合併する症例を発表し、Goldman は重症 AS では消化管出血の罹患率が 3 倍以上高いことを発表し、AS に消化管出血を合併する病態を Heyde 症候群と呼ぶようになったが、その原因は長らく不明であった。

1970 年代より、血栓止血分野で先天性止血困難症のフォンビレブランド病 (von Willebrand disease; VWD) 血栓性疾患である血栓性血小板減少性紫斑病 (thrombotic thrombocytopenic purpura; TTP) の研究からフォンビレブランド因子 (von Willebrand factor; VWF) と VWF 切断酵素 (a disintegrin-like and metalloproteinase with thrombospondin type 1 motifs 13; ADAMTS13) との関係が明らかになった。VWF は血管内皮が障害を受けると放出される止血因子で、約 250kDa のサブユニットが直鎖状に多重結合している。電気泳動すると図 1 のように様々な分子量の VWF からなるマルチマーを形成する (図 1)。実際の VWF は球状で、血液と血管の摩擦である「ずり応力」を受けて進展、VWF 上の血小板結合ドメインが露出して血栓を形成する (図 2 右)。高分子 VWF ほどずり応力により進展しやすいため、高い血栓形成能を有する。VWD type2 のような高分子 VWF を欠損するタイプでは血栓形成能が低下する (図 1 右)。一方血管内皮から放出されたばかりの超高分子量 VWF (図 1 左) は非常に強い血栓形成能があり、ADAMTS13 により適正な分子量に切断される (図 2 左)。しかし TTP では ADAMTS13 不全状態にあり超高分子量 VWF を処理できず異常血栓を形成する。

1990 年以降、Heyde 症候群は高分子 VWF が後天性に欠損し

VWD Type2 と同じパターンとなる後天性フォンビレブランド症候群 (Acquired von willebrand syndrome; aVWS) と判明した。弁口径が高度に狭窄した AS では正常の 2-3 倍のずり応力が発生する。そのため高分子 VWF が過剰に進展し ADAMTS13 によって切断され、Heyde 症候群では高分子 VWF が欠損すると説明されている。しかし詳細は分かっていない。

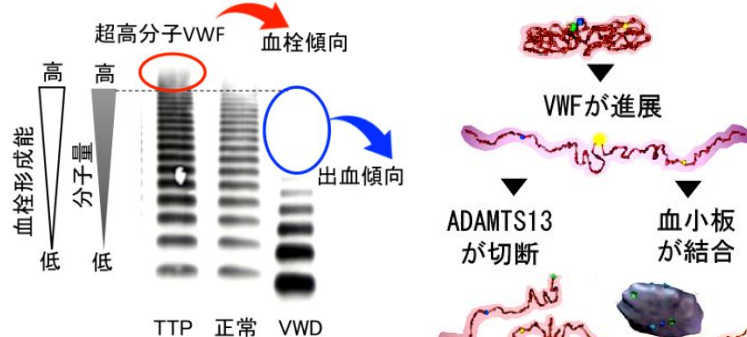


図 1

図 2

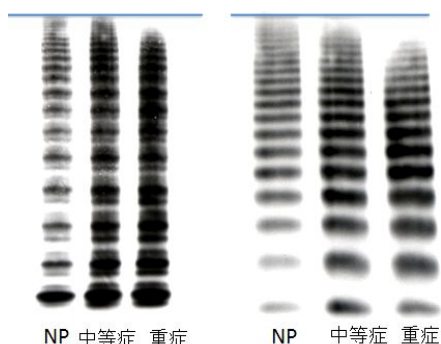
2. 研究の目的

平成 28 年度より東北大学加齢医学研究所などと協力して「循環器疾患に随伴する aVWS の診断基準・重症度分類の確立」における厚生労働省難治性疾患政策研究班に参加している。我々は長年 Heyde 症候群の診断的マルチマー解析を行ってきたことから、全国規模での患者解析の一翼を担う一方で、基礎研究から臨床へアプローチするため Heyde 症候群の「診断」「治療」に着目した。

現在も確立していない VWF アガロース電気泳動 (マルチマー法) を確立する。Heyde 症候群では、VWD Type2 のような明らかに高分子 VWF の欠損ではなく、微量の欠損が多い。高分子 VWF 欠損を感知できる方法を開発する必要がある。また、従来のマルチマー法は解析に通常 36 時間から 48 時間を要していたため、臨床活用を可能とするため 24 時間以内に解析を終了できる検査法を探索する。また、マルチマー法以外にさらに高速・簡易な ELISA 法などを利用した新規診断法の開発を行う。

外科的治療以外に内科的治療法を探索する。TAVI の導入で治療適応範囲は拡大したが、ADL の低下などで、治療を受けられない患者は少なくない。AS による過剰なずり応力が原因であることは間違いないので、「ADAMTS13 による VWF 切断を再現する方法の開発」、それによる「ずり応力に影響するファクター」を探索する。

ことを目的とした。



VWD 用マルチマー Heyde 専用 (開発目的)

3. 研究の方法

奈良県立医科大学輸血部では 1980 年代から ADAMTS13 のクローニング、ADAMTS13 活性測定 ELISA の開発、現在では TTP に対するリツキシマブの医師主導治験など VWF を原因とする基礎、臨床解析を行ってきた。超高齢化社会に伴う AS の増加する一方、未だ Heyde 症候群については診断法、詳細な病態解析が分かっていない。我々は以下の 2 つのテーマについて研究を計画した。

- 1) VWF アガロース電気泳動 (マルチマー法) の確立、更に高速で簡便な検査法の確立
 - 2) 「VWF」「ADAMTS13」「ずり応力」の基礎解析から Heyde 症候群の実験的再現方法の開発
- 1) 2) を確立するためにはずり応力による VWF の進展、ADAMTS13 による切断について解析が必然である。初年度に検査法を確立し、その結果を基に制御方法を 2 年で探索した。

4. 研究成果

我々は実臨床で 利用される AS による AVWS を再現し証明し、その病態を解析するために、in-vitro で解析するために試作機を作成し、特許出願を行った(特願 2018-192927)。この 試作機によって、自由自在に AS の大動脈弁にかかる剪断応力を再現することができ、患者血漿を使用し て切断の証明実験を行った。 その際、大動脈弁の弁口面積以外に VWF の切断に關与する因子として、「血液型」が關与することが示された。0 型では A,AB に比して切断されやすい可能性が示唆され、この試作機でもその結果を追試することができた。以上より AS に伴う VWF の切断は、剪断応力に比例して切断されることより、その弁口面積に左右されることが示唆された。また、弁口面積以外にファクターとして血液型が關与する可能性が示唆された。同じ弁口面積であっても、0 型では A,AB 型に比べて切断されやすい可能性が示された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 3件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 4件）

1. 著者名 Hayakawa Masaki, Kato Seiji, Matsui Taei, Sakai Kazuya, Fujimura Yoshihiro, Matsumoto Masanori	4. 巻 17
2. 論文標題 Blood group antigen A on von Willebrand factor is more protective against ADAMTS13 cleavage than antigens B and H	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Thrombosis and Haemostasis	6. 最初と最後の頁 975 ~ 983
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) https://doi.org/10.1111/jth.14444	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Otani Tomoyuki, Hatakeyama Kinta, Yamashita Keigo, Hayata Yoshihiro, Hayakawa Masaki, Matsumoto Masanori, Taniguchi Shigeki, Ohbayashi Chiho	4. 巻 69
2. 論文標題 A histological description of intestinal 'angiodysplasia' in an autopsy case of Heyde's syndrome	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Pathology International	6. 最初と最後の頁 727 ~ 729
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) https://doi.org/10.1111/pin.12874	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 早川正樹	4. 巻 7
2. 論文標題 後天性ボンヴィレブランド症候群	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 臨床血液	6. 最初と最後の頁 in publication
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Yasuyuki Shiraishi, Yuma Tachizaki, Yusuke Inoue, Masaki Hayakawa, Akihiro Yamada, Michinori Kayashima, Masanori Matsumoto, Hisanori Horiuchi, Tomoyuki Yambe	4. 巻 in publication
2. 論文標題 Hemolysis and von Willebrand Factor Degradation in Mechanical Shuttle Shear Flow Tester	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 artificial organs	6. 最初と最後の頁 in publication
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 1件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 早川正樹
2. 発表標題 ABO血液型A型抗原を持つvon Willebrand因子はADAMTS13による切断を受けにく
3. 学会等名 第66回日本輸血・細胞治療学会総会
4. 発表年 2018年～2019年

1. 発表者名 早川正樹
2. 発表標題 VWF切断生成物の定量的検査方法の開発と臨床応用
3. 学会等名 第20回検査血液学会
4. 発表年 2019年～2020年

1. 発表者名 早川正樹
2. 発表標題 後天性フォンヴィレブランド症候群
3. 学会等名 第81回日本血液学会学術集会（招待講演）
4. 発表年 2019年～2020年

〔図書〕 計0件

〔出願〕 計1件

産業財産権の名称 血液、血球又は凝固関連因子へ定量的にずり応力を加える剪断発生装置	発明者 早川正樹、松本雅則 ら	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、特願2018-192927	出願年 2018年	国内・外国の別 国内

〔取得〕 計0件

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 分担者	松本 雅則 (Matsumoto Masanori) (60316081)	奈良県立医科大学・医学部・教授 (24601)	
研究 分担者	酒井 和哉 (Sakai Kazuya) (60790384)	奈良県立医科大学・医学部附属病院・研究員 (24601)	