

令和 3 年 5 月 20 日現在

機関番号：10101

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18K08905

研究課題名(和文) 外傷急性期の線溶亢進から線溶抑制への病態解明

研究課題名(英文) Pathogenesis of hyperfibrinolysis to fibrinolytic suppression in acute phase of trauma

研究代表者

早川 峰司 (Hayakawa, Mineji)

北海道大学・大学病院・准教授

研究者番号：10374282

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：外傷直後に、血漿中の総tissue-plasminogen activator (tPA)濃度は有意に上昇し、血漿中の活性型tPAと活性型plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1)のバランスは線溶活性に大きく傾いていた。外傷後には、様々な臓器でtPAとPAI-1の両方のレベルが徐々に上昇し、血漿中では活性型および総PAI-1レベルが指数関数的に上昇した。血漿中のtPA濃度は、外傷後60分でコントロール群と同等のレベルに急速に戻った。

研究成果の学術的意義や社会的意義

外傷直後の線溶系の変動を詳細に解明することが出来た。

この病態の解明により、現在広く行われている重症外傷直後の抗線溶薬の投与方法に関して、早期投与は妥当であること。その後の長時間にわたる持続投与は不要である可能性があることが、示された。今後のさらなる検討により、適切な抗線溶薬の投与方法が明らかになるかもしれない。

研究成果の概要(英文)：Immediately after trauma, the total tissue-plasminogen activator (tPA) level significantly increased in plasma, and the balance of active tPA and active plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1) in plasma significantly tipped toward fibrinolytic activation. After trauma, both tPA and PAI-1 levels increased gradually in various organs and active and total PAI-1 levels increased exponentially in the plasma. Total plasma tPA levels 60 minutes after trauma returned quickly to levels comparable to those in the control group.

in conclusions, fibrinolytic activation was observed only immediately after trauma. After trauma, production of both of t-PA and PAI-1 increased gradually in various organs. However, only plasma PAI-1 levels increased exponentially, and plasma tPA levels 60 and 180 minutes after trauma were the same as those before the trauma. Therefore, immediately after trauma, the fibrinolytic system was activated, but its activation was quickly and intensely suppressed.

研究分野：救急医学

キーワード：外傷 凝固障害

1. 研究開始当初の背景

重症外傷では、線溶系の過剰な活性化は、輸血量の増加や死亡率の上昇と関連している(1-5)。重症外傷患者では、外傷直後から線溶活性の過剰な活性化が認められることが多くの研究で報告されている(3-5)。このような重症外傷患者を対象とした国際的な大規模無作為化対照試験では、抗線溶薬であるトランエキサム酸を早期に投与することで死亡率が改善されている(6-8)。しかし、重症外傷後の最初の数時間における線溶系の変化については、十分に解明されていない。

tissue-plasminogen activator (tPA) は、重症外傷患者の外傷直後の過剰な線溶活性化の中心的役割を担っている可能性がある(1,9)。線溶系では、tPA が線溶活性化の引き金となり、プロ酵素プラスミノゲンをプロテアーゼプラスミンに変換する(10)。大量の tPA が全身の血管内皮細胞にある顆粒に蓄えられており、凝固活性化などの様々な刺激に反応して放出され、血中 tPA 濃度を急激に上昇させる(10)。そして、放出された tPA は、プラスミノゲンを活性化してプラスミンに変え、フィブリノーゲンとフィブリンを分解する(10)。この線溶系は、plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1) と 2 plasmin inhibitor (2PI) の 2 段階の抑制を介して制御されている(11,12)。

tPA によってプラスミノゲンがプラスミンに活性化される最初の線溶活性化のステップでは、PAI-1 が活性型 tPA を制御している(11)。PAI-1 は、主に血管内皮細胞や肝細胞で合成され、血漿中に分泌される(13)。活性型 PAI-1 は、活性型 tPA と 1:1 で結合し、tPA-PAI-1 複合体を形成することで、tPA の活性を速やかに阻害する(11)。tPA-PAI-1 複合体が形成された後、tPA と PAI-1 の両方の活性は不可逆的に失われる(11)。プラスミン生成後、2PI はプラスミンと 1:1 で結合してプラスミンを速やかに阻害し、プラスミン-2PI 複合体(PIC)を形成する(12)。

2. 研究の目的

鈍的重症外傷の急性期において、線溶系の活性化と抑制、そして両者のバランスの経時的変化は、まだ解明されていない。本研究では、重症鈍的外傷ラットモデルを用いて、外傷後数時間における線溶活性の活性化と抑制、そして両者のバランスの経時的変化を明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

ラット(体重 280~320g)を、メドミジン 0.375mg/kg, ミダゾラム 2.0mg/kg, プトルファンール 2.5mg/kg の混合麻酔薬(14)を用いて麻酔をかけた後、仰臥位で拘束した。頸部を小切開し気管切開を行い、左頸動脈と右外頸静脈を露出させた。続いて、ラットを Noble-Collip ドラム(内部に柵がある直径 38cm のプラスチック製ホイール)に入れ、50rpm で 500 回転させた(15,16)。回転中、麻酔をかけたラットはドラム内部の上部から繰り返し叩き落とされた(15,16)。この外傷モデルは大量出血を伴わない定量的な重症鈍的外傷モデルである(15,16)。28 匹のラットを 7 匹ずつ 4 つのグループに無作為に分けた。コントロール群は重度の鈍的外傷を受けていないが、残りの 3 群は重度の鈍的外傷を与えた。サンプルは、ドラムから取り出した直後、60 分後、180 分後に、それぞれのグループから採取した。

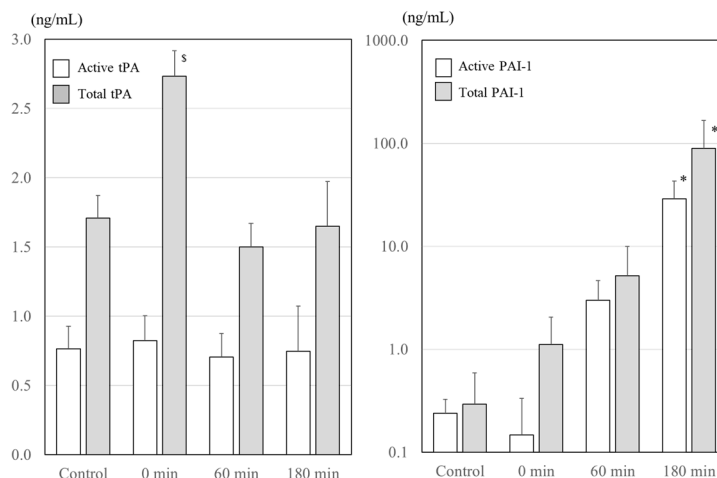
4. 研究成果

血漿中の tPA および PAI-1 濃度

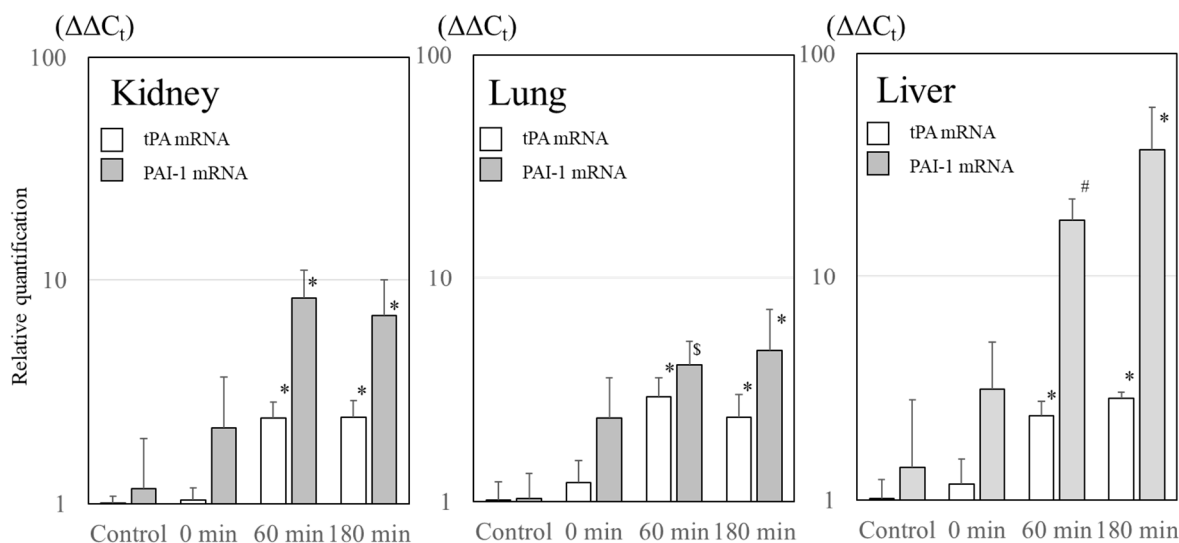
血漿中の活性型および総 tPA レベルの変化を下図左に示した。外傷直後(0 分群)の tPA 総量は、有意に増加した。しかし、活性型 tPA レベルは変化しなかった。血漿中の総 PAI-1 レベルと活性 PAI-1 レベルの変化を下図右に示した。活性型 PAI-1 レベルは外傷直後に減少したが、180 分後のグループの活性型および総 PAI-1 レベルは、コントロールグループのよりも数百倍高かった。

tPA および PAI-1 の mRNA 発現量

次頁の図には、腎臓、肺、肝臓における tPA と PAI-1 の mRNA 発現量の変化を示す。tPA と PAI-1 の mRNA の発現量は、外傷後、すべての臓器で徐々に増加した。PAI-1 の mRNA 発現量の増加は、tPA の mRNA 発現量の増加よりも高

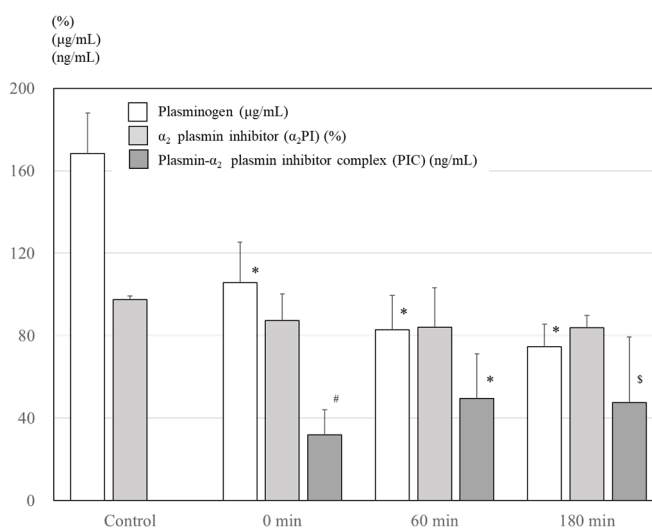


かった。



血漿中プラスミノゲン、 α_2 plasmin inhibitor、プラスミン- α_2 PI 複合体のレベル

右図に、血漿中のプラスミノゲン、 α_2 PI、プラスミン- α_2 PI 複合体 (PIC) の変化を示す。プラスミノゲン濃度は外傷直後に有意に低下した。プラスミンの産生を示す PIC 濃度は外傷直後に有意に上昇した。しかし、 α_2 PI レベルは外傷直後にわずかに減少したのみであった。



結論として、重症鈍的外傷の直後には、tPA の大量放出が血漿中の PAI-1 の抑制効果を圧倒した。しかし、PAI-1 の産生は各臓器で徐々に増加し、血漿中の PAI-1 濃度は指数関数的に上昇した。したがって、外傷直後には線溶系が活性化されるが、その活性化は迅速かつ強力に抑制される。さらに、本研究の結果は、重度の外傷直後の線溶系活性化を抑制するためには、トラネキサム酸の早期投与が不可欠であるが、外傷後数時間の持続注入は必要ないことを示唆している。

参考文献

- Hayakawa M. Pathophysiology of trauma-induced coagulopathy: disseminated intravascular coagulation with the fibrinolytic phenotype. *Journal of intensive care* 2017;5(1):14.
- Moore HB, Moore EE. Temporal Changes in Fibrinolysis following Injury. *Seminars in thrombosis and hemostasis* 2020;46(2):189-198.
- Hayakawa M, Maekawa K, Kushimoto S, et al. Hyperfibrinolysis in severe isolated traumatic brain injury may occur without tissue hypoperfusion: a retrospective observational multicentre study. *Critical care* 2017;21(1):222.
- Hayakawa M, Maekawa K, Kushimoto S, 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* 2016;45(3):308-314.
- Chapman MP, Moore EE, Moore HB, et al. Overwhelming tPA release, not PAI-1 degradation, is responsible for hyperfibrinolysis in severely injured trauma patients. *The journal of trauma and acute care surgery* 2016;80(1):16-23; discussion 23-15.
- collaborators C-t, Shakur H, Roberts I, et al. Effects of tranexamic acid on death,

vascular occlusive events, and blood transfusion in trauma patients with significant haemorrhage (CRASH-2): a randomised, placebo-controlled trial. *Lancet* 2010;376(9734):23-32.

7. collaborators C-, Roberts I, Shakur H, et al. The importance of early treatment with tranexamic acid in bleeding trauma patients: an exploratory analysis of the CRASH-2 randomised controlled trial. *Lancet* 2011;377(9771):1096-1101, 1101 e1091-1092.
8. Effects of tranexamic acid on death, disability, vascular occlusive events and other morbidities in patients with acute traumatic brain injury (CRASH-3): a randomised, placebo-controlled trial. *Lancet* 2019.
9. Gando S, Hayakawa M. Pathophysiology of Trauma-Induced Coagulopathy and Management of Critical Bleeding Requiring Massive Transfusion. *Seminars in thrombosis and hemostasis* 2016;42(2):155-165.
10. Kruithof EK, Dunoyer-Geindre S. Human tissue-type plasminogen activator. *Thrombosis and haemostasis* 2014;112(2):243-254.
11. Urano T, Suzuki Y, Iwaki T, et al. Recognition of Plasminogen Activator Inhibitor Type 1 as the Primary Regulator of Fibrinolysis. *Current drug targets* 2019;20(16):1695-1701.
12. Reed GL, Houg AK, Singh S, et al. 2-Antiplasmin: New Insights and Opportunities for Ischemic Stroke. *Seminars in thrombosis and hemostasis* 2017;43(2):191-199.
13. Konkle BA, Schuster SJ, Kelly MD, et al. Plasminogen activator inhibitor-1 messenger RNA expression is induced in rat hepatocytes in vivo by dexamethasone. *Blood* 1992;79(10):2636-2642.
14. Kawai S, Takagi Y, Kaneko S, et al. Effect of three types of mixed anesthetic agents alternate to ketamine in mice. *Exp Anim* 2011;60(5):481-487.
15. Noble RL, Collip JB. A QUANTITATIVE METHOD FOR THE PRODUCTION OF EXPERIMENTAL TRAUMATIC SHOCK WITHOUT HÆMORRHAGE IN UNANÆSTHETIZED ANIMALS. *Quarterly Journal of Experimental Physiology and Cognate Medical Sciences* 1942;31(3):187-199.
16. Hayakawa M, Gando S, Ono Y, et al. Noble-Collip Drum Trauma Induces Disseminated Intravascular Coagulation But Not Acute Coagulopathy of Trauma-Shock. *Shock* 2015;43(3):261-267.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Hayakawa M, Ooyasu T, Sadamoto Y, Saito T, Yoshida T, Katabami K et al.	4. 巻 26
2. 論文標題 Microparticles and Nucleosomes Are Released From Parenchymal Cells Destroyed After Injury in a Rat Model of Blunt Trauma.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Clin Appl Thromb Hemost.	6. 最初と最後の頁 1-8
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1177/1076029620950825	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1件（うち招待講演 1件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 早川峰司
2. 発表標題 外傷直後の凝固の活性化と線溶反応の推移～ラット多発外傷モデルからの考察～
3. 学会等名 35回日本外傷学会総会学術集会（招待講演）
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔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
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------