

令和 3 年 6 月 11 日現在

機関番号：24601

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2020

課題番号：18K15726

研究課題名（和文）包括的凝固線溶ダイナミクス解析を基盤とする播種性血管内凝固の新規診断法の確立

研究課題名（英文）Establishment of a new diagnostic method for disseminated intravascular coagulation based on comprehensive coagulation/fibrinolysis dynamics analysis

研究代表者

大西 智子 (Onishi, Tomoko)

奈良県立医科大学・医学部附属病院・研究員

研究者番号：60645589

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,000,000円

研究成果の概要（和文）：播種性血管内凝固（DIC）は、様々な基礎疾患を背景に著しい凝固亢進状態をきたす病態である。基礎疾患により線溶は亢進ないしは抑制され、血栓症/出血症状の程度は、個々の凝固/線溶動態のバランスにより決定される。しかしDICの凝固/線溶バランスの包括的な評価はこれまでなされてなかった。我々は、包括的な凝固能と線溶能を同時に評価可能な凝固線溶波形解析（CFWA）を用いて、66名のDIC患者を4つの病型に分類することができた。バランスに基づいた評価によりDICの病態を把握することができ、より適切な治療選択が可能となる。DICの早期の診断と適切な治療選択につながることを期待できる。

研究成果の学術的意義や社会的意義

播種性血管内凝固（DIC）は様々な基礎疾患を背景に著しい凝固亢進状態をきたす病態である。一旦DICを発症すると死亡率が非常に高く、早期診断、治療が重要である。DICの血栓症/出血症状の程度は、個々の凝固/線溶動態のバランスにより決定され、治療方法も患者ごとで全く異なるため、適切な治療選択のためには包括的な凝固/線溶バランスの評価が重要である。そこで我々は世界で初めて、DIC患者の包括的なバランス評価を行った。バランスに基づいた評価により、例えば敗血症の80%が凝固優位型であることが判明し、抗凝固療法が有用であることが証明された。包括的なバランスの評価を行うことでより適切な治療選択が可能となる。

研究成果の概要（英文）：Disseminated intravascular coagulation (DIC) is a condition characterized by marked hypercoagulability in the setting of various underlying diseases. The degree of thrombosis/hemorrhage is determined by the balance of coagulation/fibrinolysis in each patient. However, a comprehensive evaluation of the coagulation/fibrinolysis balance in DIC has not been performed to date. Using the coagulation-fibrinolysis waveform analysis (CFWA), which can comprehensively assess coagulation and fibrinolysis simultaneously, we were able to classify 66 patients with DIC into four disease types. It is expected to lead to early diagnosis of DIC and appropriate treatment selection.

研究分野：血栓止血

キーワード：播種性血管内凝固 DIC 敗血症 血栓 出血 包括的凝固線溶評価 凝固線溶波形解析 CFWA

1. 研究開始当初の背景

DIC は様々な基礎疾患を背景に著しい凝固亢進状態をきたすことにより、全身性細小血管内に微小血栓が多発して微小循環障害により多臓器障害をきたす極めて致死率の高い重篤な凝固障害症である。旧厚生省の診断基準では 42.4%、急性期 DIC 診断基準では 35.6%の死亡率が報告されている。DIC を発症すると、凝固因子や血小板が消費されて消費性凝固障害に進展する。さらに線溶系も活性化されるために出血症状も呈する。血栓症/出血症状の程度は、個々の凝固・線溶動態のバランスにより決定される。DIC の治療は、基礎疾患の治療に加え支持療法が重要であり、治療選択を誤れば致命的な転帰も取り得る。適切な治療の選択には個々の凝固・線溶動態のバランスの評価、つまり包括的な凝固/線溶動態の評価が必要である。

2. 研究の目的

本研究の目的は DIC の凝固線溶系のダイナミックな動態を解析することにより各種 DIC の病態を凝血的に明らかにし診断の向上につなげること、また DIC の病態・病勢を把握することで、治療法の選択や投与量の決定、治療期間の設定にも応用することで個々の病態に応じた新たなテーラーメイド治療を実現する。

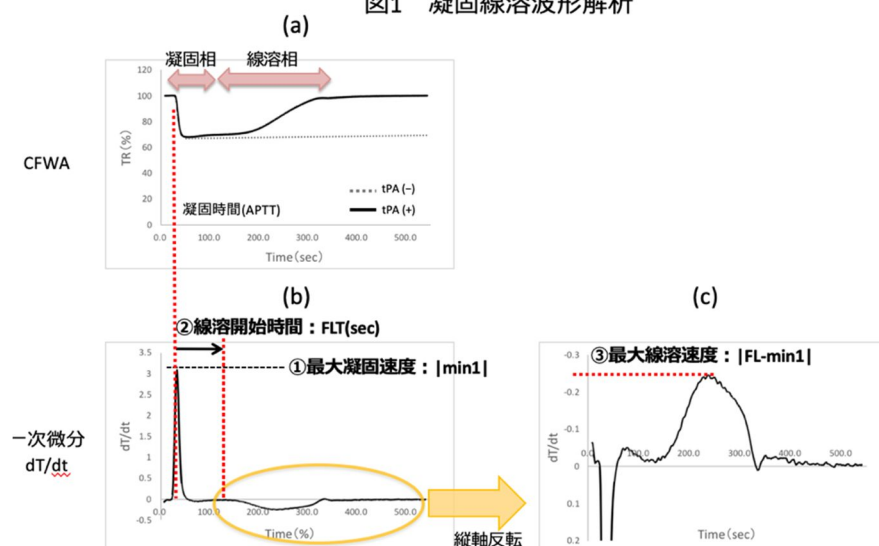
3. 研究の方法

患者の選択-日本救急医学会、日本厚生労働省、日本血栓止血学会の基準に基づいて DIC と診断された患者血漿を用いた。

包括的凝固線溶評価

凝固線溶波形解析 (CFWA : Clot-Fibrinolysis Waveform Analysis) を用いて、包括的凝固線溶評価を行った。CFWA は CS-2000i (Sysmex Corporation) を用いて、フィブリン形成から血栓溶解の一連の過程をモニターすることができる。患者血漿を APTT 試薬 (APTT-SLA) と混合し、CaCl₂ と tPA を加えて反応させた。代表的な血栓線溶の波形を図 1-a に示す。凝固線溶波形は、横軸に反応時間 (秒) を、縦軸に凝固前から凝固後までの光の透過率 (%) をとった透過率 (T) を示した。透過率の一次導関数 (dT/dt) は、凝固速度と線溶速度を反映しており (図 1-b)、一次導関数の最小値 (|min1|) は、凝固の最大速度と定義した。

図1 凝固線溶波形解析



線溶反応に関しては(図 1-b) データは反転した曲線を生成し、この曲線から線溶の最大速度 (|FL-min1|) を求めた(図 1-c)。また線溶開始時間(FLT)は、凝固時間から線溶が始まるまでの間隔と定義した。

4. 研究成果

(1) DIC 血漿の凝固線溶波形解析 (CFWA) 結果

DIC と診断した患者 81 名のうち、敗血症が 87%、急性膵炎が 7.4%、血液腫瘍が 3.7%、大量出血が 1.7%であった。代表的な凝固線溶波形を図 2 に示す。敗血症性 DIC では、症例 1 では、正常コントロールと比較して、光の透過率が著しく低下し、波形がベースラインに近づくが戻っていない(図 1-a)。また、|min1| は上昇し、|FL-min1| の値は著明に低下していた。症例 2 では、凝固開始が大幅に遅れ、凝固線溶波形はベースラインへ戻っていない。また、|min1| および |FL-min1| の値は、対照例と比較して大幅に低下した。敗血症では、凝固機能は DIC の進行度により変化が見られ、線溶能に関しては多くの症例で抑制されていた。

血液腫瘍では(図 2-b) 正常コントロールと比較すると、フィブリンが形成されると速やかに溶解されているのがわかる。また症例 1,2 とともに{min1|の低下が見られたが、線溶の開始が早く、FLT の短縮が見られた。FLT の短縮は潜在的な線溶能の亢進が示唆され血液腫瘍の特徴であった。

図2-a. 敗血症性DICの凝固線溶波形解析

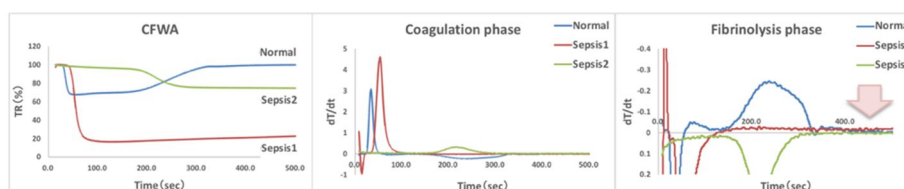
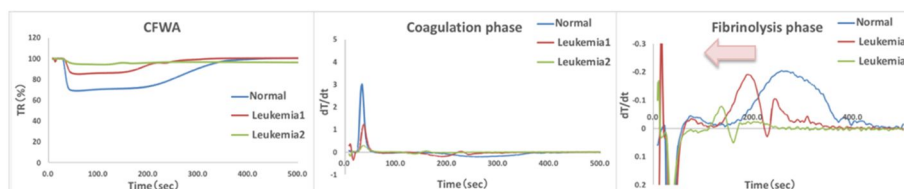


図2-b. 血液腫瘍によるDICの凝固線溶波形解析



(2) 凝固線溶波形解析 (CFWA) の定量的評価

表 1 は、CFWA パラメータを、正常な血漿サンプルから得られたパラメータとの相対的な比率で示している。敗血症のほとんどの症例で CFWA の |min1| 比は上昇し(中央値 1.40 [min-max ; 0.10-2.60])、|FL-min1| 比は低下し(0.61 [0-1.19])、|FL-T| 比は延長していた(1.75 [1.04-4.20])。これらの所見は、敗血症に伴う DIC の初期段階では、凝固線溶解バランスは相対的に凝固優位の状態であることが示していた。血液腫瘍では、CFWA の |FL-min1| 比は低下していたが、|min1| 比はさらに低下していたため、相対的に線溶優位の状態であった。また血液腫瘍は 3 症例とも FLT の延長が見られた。

表1. 凝固線溶波形解析 (CFWA) で得られたパラメータ

	全DIC (n=81) *	敗血症 (n=71) *	血液腫瘍 (n=3)
min1 (凝固能)	1.35 [0.10-2.60]	1.40 [0.10-2.60]	0.09, 0.4, 0.57
FL-min1 (線溶能)	0.57 [0-1.19]	0.61 [0-1.19]	0.49, 0.28, 0.87
FL-T (線溶能)	1.78 [0.63-5.05]	1.75 [1.04-4.20]	0.63, 0.93, 0.81

* 中央値 [最小-最大]

(2) 新規病型分類の構築

CFWA パラメータである $|min1|$ 比と $|FL-min1|$ 比によって、DIC は 4 つのカテゴリーに分類された。

type1 : 凝固優位型 ($|min1|$ 比 $>$ $|FL-min1|$ 比)

DIC の大部分が type1 に分類され、特に敗血症性 DIC の 80% が type1 に分類された。このカテゴリーの患者では、線溶が抑制されている傾向があり、微小血栓が溶解しにくくなり、微小血管の循環の悪化をもたらす。出血の重大なリスクがないにもかかわらず、多臓器不全を引き起こす可能性がある。

type2 ; 凝固・線溶のバランスがとれている均衡型 ($|min1|$ 比 \approx $|FL-min1|$ 比)

type2 は DIC の中では少数であった。このタイプの DIC は、DIC の回復期や、また固形癌に合併する DIC 見られる傾向があった。出血症状や重要臓器の機能障害は比較的少ないと考えられる。

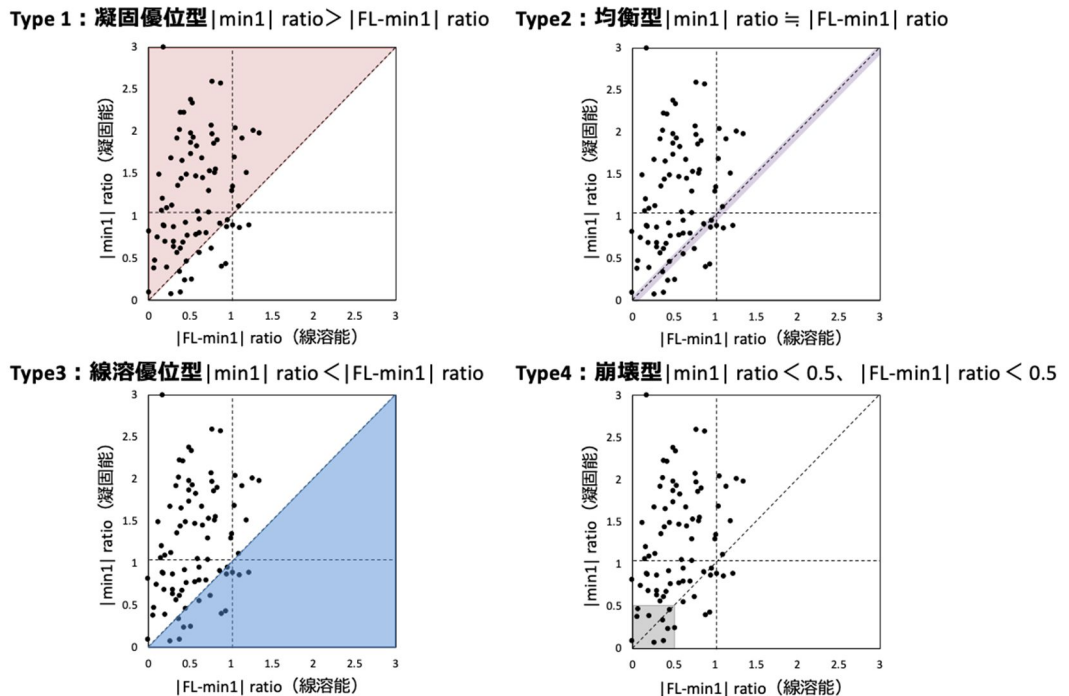
type3 ; 線溶優位型 ($|min1|$ 比 $<$ $|FL-min1|$ 比)

血液腫瘍では 3 例とも type3 に分類された。また固形癌合併の敗血症性 DIC 症例も一部見られた。type3 の DIC では、出血傾向が特徴的である。

type4 : 崩壊型 ($|min1|$ 比 < 0.5 、 $|FL-min1|$ 比 < 0.5)

凝固・線溶活性が著しく低下した状態で、DIC が進行した症例で見られた。このカテゴリーの患者では、重度の出血を呈し、臓器不全を発症する。出血のコントロールができない場合には、積極的な補充療法が必要になることもある。

図3. 凝固/線溶バランスから見た病型分類



DIC は血栓症状と出血症状という、相対する症状を発症しうる非常に病態が複雑な疾患である。支持療法の選択を誤れば致命的な経過をとりうるため、凝固と線溶のバランスを明確に理解することは適切な支持療法を選択する上で非常に重要である。Type1 であれば抗凝固療法が有用であり、type2 であれば出血コントロールが不良であれば抗線溶療法も検討され、また type4 であれば積極的な凝固因子の補充療法が必要となってくる。包括的な凝固線溶評価を行うことで、個々の患者に応じた適切な治療選択につながる。

(3) 経時的な変化

敗血症性 DIC 症例の経時的な変化を評価した (図 4)。

図 4(上)が CFWA パラメータの推移で、図 4(下)のグラフが従来の DIC マーカーの推移や治療内容を示す。治療内容は、抗凝固療法である遺伝子組み換えトロンボモジュリン製剤 (rTM)、アンチトロンピン製剤 (AT)、補充療法である新鮮凍結血漿 (FFP)、血小板 (PLT) また出血症状を示した。

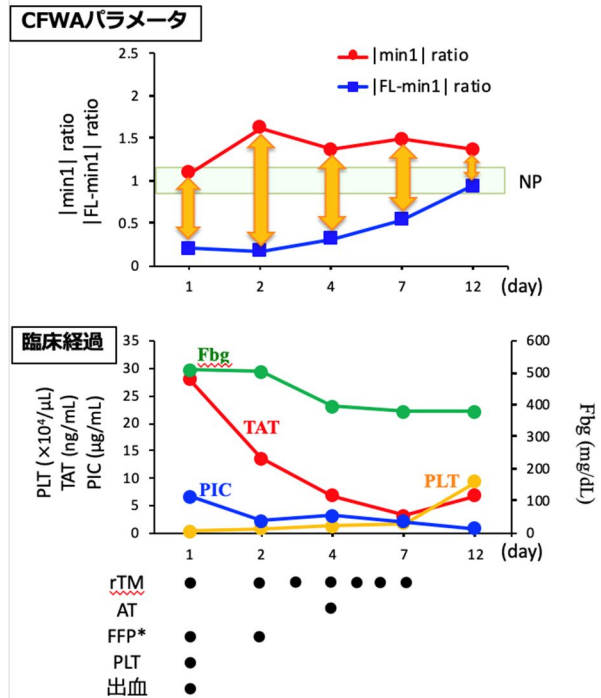
入院時は (day1) バランスとしては凝固優位の状態であったが、DIC 治療によりバランスが改善してきているのがわかる。

一方で、DIC マーカーでは PIC、FDP が高値であって、出血症状 (皮膚の紫斑と消化管出血) も伴っていた。症状や検査所見から

は線溶亢進も疑われる経過で治療選択が難しい症例ではあるが、実際には抗線溶療法は行わず、凝固因子・血小板の補充を行った。後方視的に CFWA を見ても、線溶亢進の所見はなく、選択した治療は妥当だったのではないかと考えられる。

以上より、CFWA は、DIC の凝固能/線溶能のバランスの評価に有用であり、病態病勢の把握が可能であった。DIC 治療による凝固能/線溶能のバランスの変化も評価可能であり、最適な治療法の選択に有用なモニタリング法と考えられた。

図 4. CFWA の経時的変化と臨床経過



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 2件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Tomoko Onishi	4. 巻 120(9)
2. 論文標題 A Pathological Clarification of Sepsis-Associated Disseminated Intravascular Coagulation Based on Comprehensive Coagulation and Fibrinolysis Function	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Thrombosis and Haemostasis	6. 最初と最後の頁 1257-1269
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1055/s-0040-1713890	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 該当する

1. 著者名 Tomoko Onishi	4. 巻 Online print
2. 論文標題 Coagulation and fibrinolysis balance in disseminated intravascular coagulation	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Pediatric International	6. 最初と最後の頁 Online print
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/ped.14684	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 該当する

〔学会発表〕 計5件（うち招待講演 0件/うち国際学会 1件）

1. 発表者名 大西智子
2. 発表標題 凝固線溶均衡/不均衡パターンにより分類したDIC各病型における トロンビン・プラスミンの動態
3. 学会等名 第41回 日本血栓止血学会 学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 大西智子
2. 発表標題 敗血症性DIC症例における包括的凝固/線溶動態の経時的評価
3. 学会等名 第122回 日本小児科学会 学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 大西智子
2. 発表標題 凝固/線溶動態絡みた播種性血管内凝固 (DIC) の新規分類法
3. 学会等名 第80回 日本血液学会 学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 大西智子
2. 発表標題 敗血症性DIC症例における包括的凝固/線溶動態の経時的評価
3. 学会等名 第122回 日本小児科学会 学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Tomoko Onishi
2. 発表標題 A new classification of sepsis-associated disseminated intravascular coagulation (DIC) based on comprehensive evaluation of coagulation and fibrinolysis
3. 学会等名 ISTH 2020 (国際学会)
4. 発表年 2020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
研究協力者	野上 恵嗣 (Nogami Keiji)		

6. 研究組織（つづき）

	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
研究協力者	石原 卓 (Ishihara Takashi)		

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