

令和 4 年 6 月 13 日現在

機関番号：13802

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2021

課題番号：18K16535

研究課題名(和文)凝固カスケード制御による頭部外傷後の肺障害に対する新規治療戦略の開発

研究課題名(英文) Regulation of the coagulation cascade as a new therapeutic strategy for pulmonary injury following traumatic brain injury

研究代表者

安井 秀樹 (Yasui, Hideki)

浜松医科大学・臨床研究センター・特任講師

研究者番号：60804937

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：頭部外傷患者では、遠隔臓器において全身性合併症を来すことは良く知られている。中でも頭部外傷後の肺障害は、予後に直結する重大な合併症であるが、発生機序はいまだに不明点が多い。動物モデルにおいて、頭部外傷直後に血液中の凝固カスケードの活性化が見られた。肺障害に関しては、頭部外傷直後より組織学上肺障害が確認され、頭部外傷後60分まで持続した。一方で、肺障害の機序として考えられているカテコラミンの上昇や循環動態の変動がなく肺障害を合併した症例を報告し、頭部外傷直後より血液中の凝固カスケード活性化を伴う症例を確認した。肺障害の発症機序として凝固カスケードの活性化が関与していることが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

頭部外傷は、死亡や身体障害につながる主要な要因であり、頭部外傷後に肺障害を合併することで予後がさらに悪化することが判明している。これまで肺障害の発症メカニズムとしては、頭部外傷後のカテコラミンストームとその後の循環動態の変化が主要な要因と考えられてきた。しかしながら、今回の研究では、頭部外傷後短時間のうちに、上記の現象とは無関係に肺障害を発症することが確認された。一方で、肺障害には凝固カスケードの活性化という新たな機序の関与が示唆され、頭部外傷の治療戦略を考えるうえで意義のある研究であり、更なる研究の継続をする意義があるものと考えられる。

研究成果の概要(英文)：Extracranial complications frequently occur in patients with traumatic brain injury (TBI). Among them, pulmonary injury is a serious complication that affects the prognosis; however, its mechanism is unclear. In an animal model, activation of the coagulation cascade was seen immediately after TBI. Histological findings of lung injury were also observed immediately after TBI, and these findings were persistent at 60 minutes after TBI. Additionally, we observed a case of pulmonary injury accompanied by neither a catecholamine elevation nor a change in the systemic circulation, both of which have historically been considered to be mechanisms of pulmonary injury after TBI. We also observed a case involving activation of the coagulation cascade immediately after severe brain injury. These findings indicate that activation of the coagulation cascade might be related to the mechanism of lung injury after TBI.

研究分野：救急

キーワード：頭部外傷 肺障害

1. 研究開始当初の背景

頭部外傷とは、直接または間接的に外力が作用して頭蓋内外の組織に器質的ないし機能的損傷を生じるものを総称する。外傷関連死において頭部外傷は主要な死因であり、米国では年間170万人が受傷し、うち5万人が死亡、8万人以上が後遺症を発症し、530万人もの人々が長期後遺症に苦しんでいる。特に若年者の死亡や長期後遺症は大きな社会問題であるが、頭部外傷の病態は複雑で未解明な点が多い。

頭部外傷患者では遠隔臓器において全身性合併症をきたすことはよく知られているが、中でも肺障害は重症頭部外傷患者において20~25%に合併し、予後に直結する最も重大な合併症である(Holland MC, et al. J. Trauma 2003)。発症機序として、ノルエピネフリンなどのカテコラミンの過剰産生に伴う血行力学的な要素(Theodore J, Robin ED. Am Rev Respir Dis 1976)が考えられているが、現時点では未解明な点が多い。ラットを用いた先行研究では、頭部外傷5分後より肺障害と血液中ならびに肺組織中に外因系凝固カスケードの開始因子である組織因子の増加が確認された。凝固カスケードの下流に位置するトロンピンは、強力な肺の毛細血管透過性亢進を引き起こす物質の一つであることは以前から知られているが、同研究においてさらには、トロンピン直接阻害薬を前投与することで、頭部外傷後の肺障害を軽減することが組織学上確認された。上記の結果より、組織因子より開始する凝固カスケードの活性化とトロンピンの過剰産生が頭部外傷後の肺障害の原因であることが示唆された(Yasui H, Ploplis VA, et al. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol 2016)。

2. 研究の目的

本研究では、“頭部外傷に伴う血液脳関門の破綻により、脳由来の組織因子が全身へ流入することによって外因系凝固カスケードを全身性に活性化させ、過剰なトロンピン産生が毛細血管透過性ならびに肺障害を引き起こす”との仮説のもと、頭部外傷後の肺障害の病態解明ならびに新規治療戦略の確立を目的とした。

3. 研究の方法

頭部外傷装置を作成し、齧歯類を用いた頭部外傷モデルを作成する。

頭部外傷モデルを用いて、頭部外傷後60分以内を中心に、麻酔下に血液サンプル、気管支肺胞洗浄液、肺組織を採取する。

採取した血液サンプルを用いて、血漿中のThrombin-Antithrombin(TAT)をはじめとした凝固因子の経時的変化を評価する。また、頭部外傷に伴う肺障害の主要な要因の一つと考えられているノルエピネフリンをはじめとした血漿中のカテコラミン濃度を測定する。また、循環動態の大きな変化の有無を臓器障害として間接的に評価するためトランスアミナーゼ(AST、ALT)、クレアチニン値を測定する。

組織学上の肺障害の経時的な変化を評価する。組織因子より開始する外因系凝固カスケードを阻害することにより肺障害を抑制できるか確認する。また、遊離型トロンピンと結合し、遊離トロンピンがもつ凝固促進活性を消失させること、ならびにプロテインCの活性化を促進し、活性化第Ⅲ因子を不活化してトロンピン生成を抑制するトロンボモジュリンを投与することにより肺障害を抑制できるか確認する。

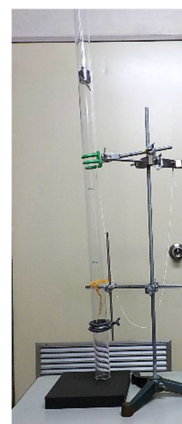
並行して頭部外傷患者での肺障害の合併ならびに血漿中の凝固因子を評価する。

4. 研究成果

図1

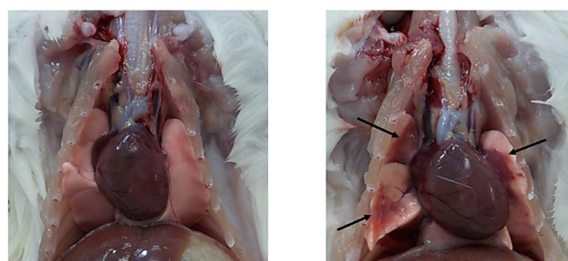
先行研究と同様にラットを用いてイソフルラン吸入麻酔下に頭部への外傷を与える方法を検討したが、モデル作成に至るまで時間と苦勞を要した。方法1として、ドリル(1.0mm)を用いて頭蓋に穴を開け、6mm程度まで頭蓋内にドリルを進めることによりダメージを与える鋭的外傷モデルを作成した。方法2として80cmの高さよりラットの頭部に分銅(200g)を落としダメージを与える鈍的外傷モデルを作成した(図1)。

イソフルラン麻酔下に後大静脈より採血を実施し、その後開胸し、肺の表面を肉眼的に確認後、右側の肺より気管支肺胞洗浄液を回収し、その後肺組織を採取した。同一個体より血液、気管支肺胞洗浄液、肺組織を採取す



ることに難渋したが、手技の向上等により気管支肺泡洗浄液採取後に同一個体より肺組織を採取することが可能となった。ドリルによる鋭的外傷モデルでは、先行研究で確認された肺表面の出血斑がほとんど確認することができなかったが、鈍的頭部外傷モデルでは、頭部外傷後 10 分以内より肉眼的に肺表面に出血斑を確認することができた(図2)。

図2



Control

頭部外傷後
(矢印) 出血斑

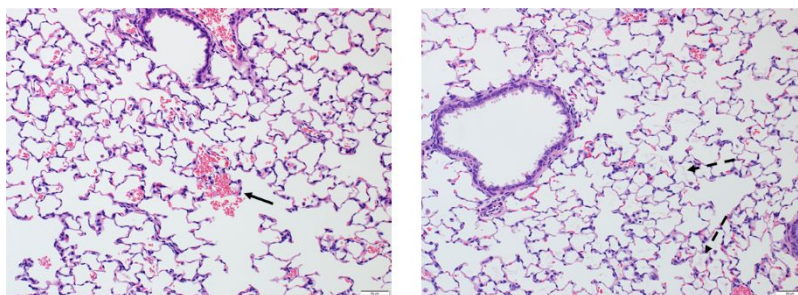
頭部外傷後の凝固カスケードの活性化を確認するため血漿中の TAT 濃度

を ELISA キットにて測定した。鋭的頭部外傷モデルにおいては、外傷後に採取した血漿サンプルでは TAT 濃度の変化は確認できなかった。一方で、鈍的外傷モデルでは、頭部外傷 5 分後に TAT 濃度の上昇が確認できたため、凝固カスケードの活性化を確認するため現在その他の凝固因子(プロトロンビンフラグメント F1+2、可溶性フィブリン)の測定も進めている。鈍的外傷モデルにおいて、頭部外傷後早期より再現性を持って肺表面の肉眼的な出血斑が確認されたため、以降の実験は分銅落下による鈍的外傷モデルを用いて実施した。鈍的外傷モデルにおいて、頭部外傷 60 分までに血漿中のノルエピネフリン濃度の上昇は確認できず、血液中のトランスアミナーゼ (AST、ALT)、クレアチニンの値も変化が確認できなかった。追加で頭部外傷 10 分まで 2 分ごとに血圧測定を行ったが、頭部外傷後に有意な血圧低下は確認できなかった。以上の結果より、本モデルにおいては、肺障害の発症にカテコラミンストームに伴う急激な循環動態変化の関与は否定的であり、凝固カスケードの活性化をはじめ

とした異なる機序が原因であることが示唆された。

鈍的頭部外傷において頭部外傷後早期より、ヘマトキシリン・エオジン染色を実施した肺組織において、肺胞内への出血、滲出物、肺胞壁の浮腫が確認され(図3)、それらの所見は頭部外傷

図3



頭部外傷後の肺組織： (矢印) 出血、(破線) 滲出物

60 分後まで持続した。現在、外因性凝固カスケードを抑制する抗体やトロンボモジュリンを用いて、頭部外傷後の肺障害を抑制できるか検討中である。

頭部外傷直後にカテコラミン上昇や循環動態の変動がなく、肺障害を合併した症例を経験し、誌上発表を行った (Yasui H, et al. Intern Med 2018)。また、重症の頭部単独外傷患者において、外傷直後より凝固カスケードの活性化と肺障害を合併した症例を経験し、現在論文作成中である。

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 Yasui H, Arima H, Hozumi H, Suda T	4. 巻 57(14)
2. 論文標題 Neurogenic Pulmonary Edema without Norepinephrine Elevation.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Intern Med.	6. 最初と最後の頁 2097-2098
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.2169/internalmedicine.9825-17.	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 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 Hideki Yasui
2. 発表標題 Early Coagulation Events Induce Lung Injury after Traumatic Brain Injury
3. 学会等名 Kyungpook Hamamatsu Joint Medical Symposium
4. 発表年 2018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
---------	---------