

機関番号：11301

研究種目：基盤研究 (C)

研究期間：2008～2010

課題番号：20591511

研究課題名 (和文)

血栓組織化促進による大動脈瘤破裂の治療

研究課題名 (英文)

Accelerated thrombus organization in the swine abdominal aortic aneurysm model

研究代表者

佐藤 成 (SATO AKIRA)

東北大学・大学院医学系研究科・講師

研究者番号：20250764

研究成果の概要 (和文)：動脈瘤破裂時に血栓組織化による状態の安定化をもたらす治療法の開発を目的として、ブタ腹部大動脈瘤モデルにおいて、内部の血栓に FGF、XIII 因子を投与して血栓の組織化が促進されるかを評価した。FGF 投与では瘤の縮小が促進され、 α -SMA 陽性細胞、マクロファージ、コラーゲン沈着量が増加した。XIII 因子投与では α -SMA 陽性細胞、コラーゲン沈着量の増加がみられた。FGF は XIII 因子よりも大きな組織化促進の効果が見られた。血栓の組織化促進に FGF 投与は有効であった。

研究成果の概要 (英文)：FGF injection to the intra-aneurysmal thrombus accelerated the shrinkage of the aneurysm, migration of myofibroblast and macrophage, and collagen deposition in the swine abdominal aortic aneurysm model.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008 年度	2,000,000	600,000	2,600,000
2009 年度	900,000	270,000	1,170,000
2010 年度	700,000	210,000	910,000
年度			
年度			
総計	3,600,000	1,080,000	4,680,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・外科学一般

キーワード：動脈瘤、血栓、組織化、線維芽細胞増殖因子

1. 研究開始当初の背景

大動脈瘤破裂はきわめて予後が悪く、治療に至らない例を含めた真の死亡率は 90%程度と言われている。来院し治療の対象となるのは、血腫および周囲組織の圧迫により出血が小康状態となり、一旦は循環がある程度安定した症例のみである。治療法は通常、外科手術が行われ、条件によっては血管内治療も限定的に行われている。このような例では、非破裂例に対する場合よりも状態が悪い例に対し、さらに外科手術の大きな侵襲を加える

ことになり、そこから回復できた例のみが救命できている。根治的手術を行い救命できれば最良であるが、高齢者、心肺機能、腎機能低下が著しい例、分枝再建など複雑な手術が必要な例などに対し、循環が安定している場合にも、すべてに外科手術を行うことは賢明ではなく、実際、そのような例では予後はきわめて不良である。大動脈瘤破裂には、稀に血腫辺縁に線維組織が形成され、血栓の組織化により慢性に経過して、手術を行わなくとも死亡に至らない例が存在する。リスクの大きな症例で循環が安定している例では、血栓

の組織化を促進・誘導して、このような状態に誘導できれば治療目的が達成でき、状況によっては状態を改善して待機手術を行うことができるようになると考えられる。我々は、基盤研究 C「線維芽細胞増殖因子・生体吸収性ポリマー複合体の局所投与による大動脈瘤治療」(平成 18 年、19 年)において、生体吸収性ポリマー(ゼラチンハイドロゲル: GSS)の局所投与により、内因性の諸因子が産生され組織破壊の抑制と修復が促進され、瘤拡大が防止される結果が得られた。bFGF を加えることにより効果は増強された。ここで観察された壁破壊の抑制と修復促進効果は、血栓の組織化促進と共通のメカニズムを有すると考えられ、大動脈瘤破裂のコントロールを目的として、生体吸収性ポリマーと bFGF の血腫への投与を検討する意義が大きいと判断した。

また、血栓が安定化し器質化されていくためには、フィブリンに XIII 因子が作用し安定化されることが必要である。通常、血液中には XIII 因子が十分量存在しているとされているが、大量出血の際には局所では不足している可能性がある。XIII 因子の血栓への投与の効果を検討することとした。

2. 研究の目的

ハイリスクの大動脈瘤破裂例において、壁在血栓、血腫および周囲組織の圧迫により、出血が小康状態にあり循環が維持されている場合に、生体吸収性ポリマー、及び、徐放化された線維芽細胞増殖因子(basic fibroblast growth factor: bFGF)を血腫内に投与することで、血栓の組織化を促進して出血をコントロールする、低侵襲的大動脈瘤破裂の治療法を開発することを最終目的とする。そのために、ブタ大動脈瘤モデルにおいて、ポリマーおよび bFGF を血腫内に投与による血栓の組織化促進を評価する。また、血栓への XIII 因子投与効果について検討する。

3. 研究の方法

(1) 動物モデル

体重 30-40kg のブタを用い、両側頸静脈を長さ 3cm 採取、腹部大動脈瘤の 2 箇所(5mm)の縦切開を置き、それぞれに頸静脈を端側吻合し静脈端は結紮して、直径約 10mm の球形に近い囊状瘤を作成した。

(2) 瘤血栓化

瘤モデル作成後、27G 針でトロンビン液 50 単位/50 μ L を瘤に注入し、瘤内を完全に血栓化させた。

(3) FGF+GSS 血栓内投与

尾側の動脈瘤に FGF 1 μ g/GSS 溶液 100 μ L を注入し、頭側の瘤をコントロールとした。

(4) XIII 因子投与

尾側の動脈瘤に XIII 因子溶液 50 μ L (血漿の

60 倍濃度)を注入し、頭側の瘤をコントロールとした。

(5) 観察スケジュール

3 日目、7 日目、14 日目、30 日目に安楽死させ、腹部大動脈を摘出し、瘤サイズを測定した。コントロールでは瘤血栓化後、FGF、XIII 因子注入群では注入直後の瘤サイズに対する比率%であらわした。各観察日、各群で n=3。

(6) 組織学

各観察期間において α -SMA antibody、anti-human macrophage antibody、anti-collagen type I antibody を用い免疫染色を行い、筋線維芽細胞、マクロファージ、コラーゲン量を評価した。計測は FGF、XIII 因子を注入した瘤中心部で行った。

4. 研究成果

(1) FGF

① 瘤サイズ (Fig. 1)

FGF 投与群において、7、14、30 日目でコントロールと比較し、有意にサイズの縮小が見られた。

② 筋線維芽細胞 (Fig. 2)

FGF 投与群において、7 日目、14 日目でコントロールと比較し有意に α -SMA 陽性細胞が増加していた。

③ マクロファージ (Fig. 3)

FGF 投与群において、3 日目、7 日目でコントロールと比較し有意にマクロファージの浸潤が増加していた。

④ コラーゲン沈着 (Fig. 4)

FGF 投与群において、14 日目、30 日目でコントロールと比較し有意にコラーゲン沈着が増加していた。

(2) XIII 因子

① 瘤サイズ (Fig. 5)

XIII 因子投与群において、コントロールと比較し、有意なサイズの変化は見られなかった。

② 筋線維芽細胞 (Fig. 6)

XIII 因子投与群において、7 日目、14 日目でコントロールと比較し有意に α -SMA 陽性細胞が増加していた。

③ マクロファージ (Fig. 7)

XIII 因子投与群において、コントロールと比較し、有意なマクロファージ浸潤の変化は見られなかった。

④ コラーゲン沈着 (Fig. 8)

XIII 因子投与群において、14 日目でコントロールと比較し有意にコラーゲン沈着が増加していた。

(3) FGF 投与と XIII 因子の比較

FGF 投与は、30 日目の α -SMA 陽性細胞浸潤、7 日目のマクロファージ浸潤で XIII 因子投与に比較し有意に増加していた。

Fig. 1

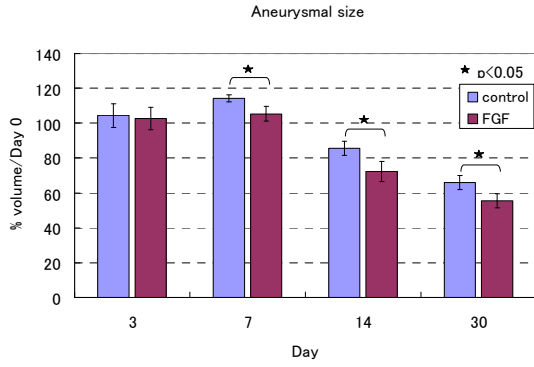


Fig. 2

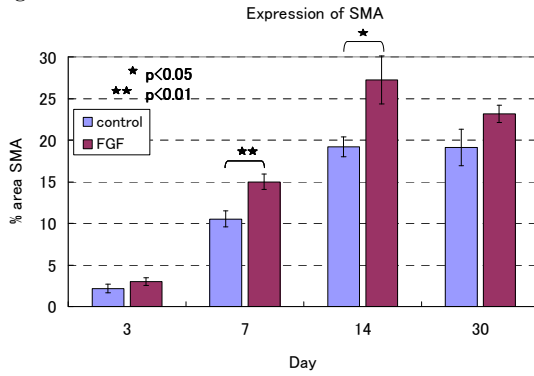


Fig. 3

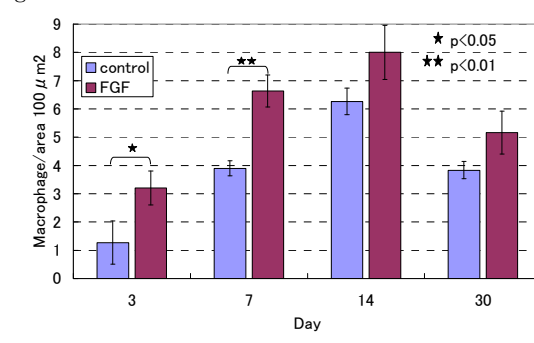


Fig. 4

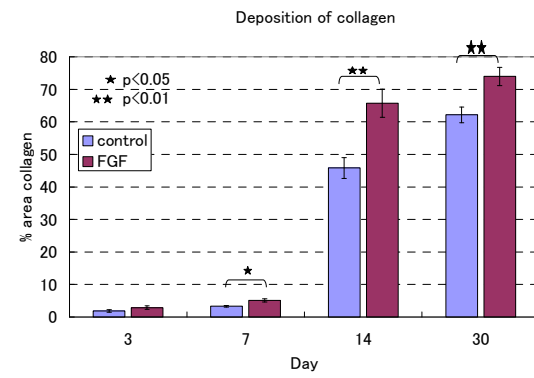


Fig. 5

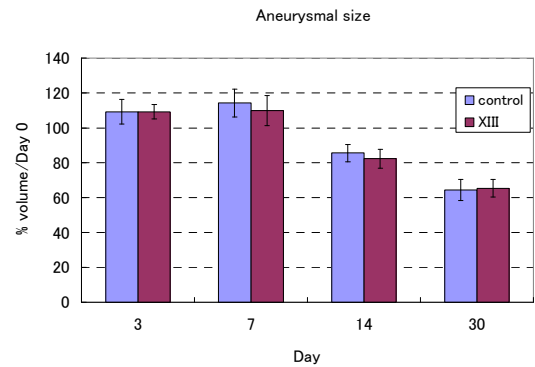


Fig. 6

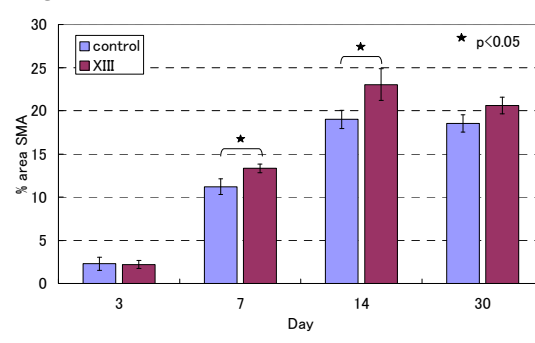


Fig. 7

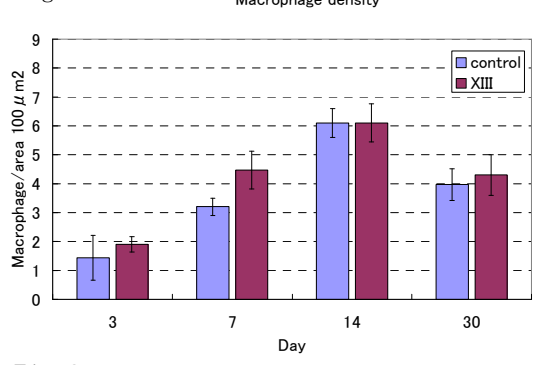
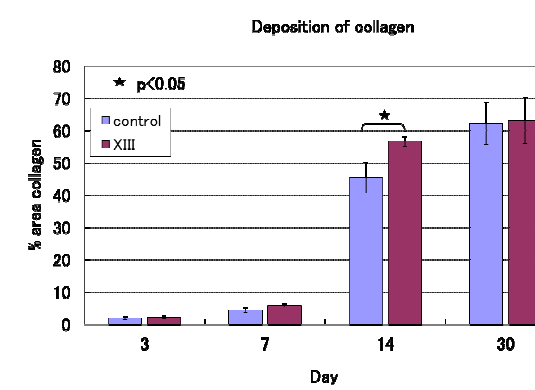


Fig. 8



(4) 考察

ブタ腹部大動脈瘤モデルにおいて、内部の血栓に FGF、XIII 因子を投与した結果、FGF 投与では瘤の縮小が促進され、 α -SMA 陽性細胞、マクロファージ、コラーゲン沈着量が増加した。XIII 因子投与では α -SMA 陽性細胞、コラーゲン沈着量の増加がみられた。FGF は XIII 因子よりも大きな組織化促進の効果が見られた。

FGF に徐放性を付与するために GSS に溶解して投与した。ラット腹部大動脈にエラストマーで作成した動脈瘤モデルでは瘤拡大の抑制効果は GSS の作用が主で、FGF の作用は付加的であった。この研究では GSS 単独の効果については解析に至った動物数が少なく、結論できなかったが、やはり効果はある印象を持った。動脈瘤モデル作成後に自然に形成される血栓は、固体ごとに異なり不安定であるため、トロンビンを瘤内に注入し均一な安定血栓を作成した。さらにフィブリンを安定化させる XIII 因子を投与すると組織化促進の効果が見られた。

血栓内に細胞遊走を促進し、血栓組織化を促す方法はプアリスクの動脈瘤破裂患者の状態を安定化する方法として有用となる可能性がある。

(5) 文献

Miyama N, Sato A, Matsubara M, Watanabe T, Ikada Y, Satomi S.
Inhibitory effects of a biodegradable gelatin hydrogel sponge sheet on the progression of experimental abdominal aortic aneurysms.
Ann Vasc Surg. 2009 Mar;23(2):224-30.

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 0 件)

[学会発表] (計 0 件)

[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：
出願年月日：
国内外の別：

○取得状況 (計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

[その他]
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

佐藤 成 (SATO AKIRA)
東北大学・大学院医学系研究科・講師

研究者番号：20250764

(2) 研究分担者

後藤 均 (GOTO HITOSHI)
東北大学・病院・助教

研究者番号：00400333

橋本 宗敬 (HASHIMOTO MUNETAKE)
東北大学・病院・助教

研究者番号：10375040

赤松 大二郎 (AKAMATSU DAIJIRO)
東北大学・病院・助教

研究者番号：40420012

渡辺 徹雄 (WATANABE TETSUO)
東北大学・大学院医学系研究科・非常勤講師

研究者番号：50291266