

令和 5 年 6 月 26 日現在

機関番号：11301

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2020～2022

課題番号：20H03760

研究課題名(和文) 植込型補助人工心臓対象患者における出血合併症術前予測システムの確立

研究課題名(英文) Establishment of Preoperative Prediction System for Bleeding Complications in Patients with Implantable Left Ventricular Assist Devices

研究代表者

齋木 佳克 (Saiki, Yoshikatsu)

東北大学・医学系研究科・教授

研究者番号：50372298

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,700,000円

研究成果の概要(和文)：独自に開発した高せん断応力負荷装置とフォンウィルブランド因子(von Willebrand Factor, 以下vWF)高分子多量体の保持率を定量的に数値化するvWF large multimer indexという手法を用いて、せん断応力に対するvWFの脆弱性に個人差があることを定量的に証明した。この検査体系を用いることで、少量の血液で、LVAD植え込み前の患者の出血リスクを予測することが可能であることが示唆された。また、凍結血漿でもこの検査体系を用いることが可能であることを実証し、遠方施設から検体を輸送し測定することも検証し得た。

研究成果の学術的意義や社会的意義

高せん断応力負荷装置とvWF高分子多量体の定量評価を併用することで、少量の血液のみでLVAD装着前の患者の出血リスクの予測が可能となり、さらには個々の患者ごとに、認容可能なせん断応力の範囲内にあるLVADの機種選択をすること、また結果を基に個々の患者ごとに抗凝固療法のregimenを調整することを通じて、長期補助が必要な我が国における重症心不全患者の救命率を向上させ、予後を大幅に改善する可能性がある。

研究成果の概要(英文)：Using an originally developed high shear stress loading device and vWF large multimer index, a method that can quantitatively assess retention rate of vWF large multimer, we demonstrated that there are individual differences in vWF fragility to shear stress. Using this test system, we could suggest that it is possible to predict the risk of bleeding in patients before LVAD implantation with a small amount of blood sample. This test system can also be used with frozen plasma, and those samples can be transported from distant facilities for evaluation.

研究分野：医学

キーワード：植込型補助人工心臓 出血性合併症 フォンウィルブランド因子 せん断応力 後天性フォンウィルブランド症候群 消化管出血 重症心不全

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

1. 研究開始当初の背景

左室補助人工心臓 (Left ventricular assist device, 以下 LVAD) は、重症心不全に対する心臓移植までの橋渡し治療、または、心臓移植を前提としない destination therapy (長期在宅治療) に用いられる循環補助デバイスである。近年 LVAD は小型化が進み、体内植込型デバイスが主流となっている。しかし機械式送血ポンプであるために、特有の合併症が生じることが課題となっている。その一つとして全患者の 3 割程度に発症する出血合併症があげられる。これは、ポンプ内で生じる非生理学的レベルに達する高度のせん断応力によって、血液中の主要な止血因子である vWF の高分子多量体が分解されることで止血機能を損失する後天性フォンウィルブラント症候群 (Acquired von Willebrand syndrome; AVWS) が原因とされている。AVWS の血液学的重症度は、vWF 高分子多量体の保持率の高低により規定されるが、これまでこの保持率を測定することは困難であった。我々は、この保持率を vWF large multimer index という定量法によって数値化する方法を提案し、消化管出血と AVWS の重症度に相関関係があることを示し、また出血合併症を発症した全症例が vWF large multimer index < 40% を示したことから、出血合併症を予測する指標となり得る可能性を示してきた。一方で、同一機種種の LVAD であっても AVWS の重症度が様々に異なっていることも明らかにしてきたが、現在、植込型 LVAD 装着後出血合併症の予測は全く不可能であり、出血時に対症的治療を行うのみになっている。

2. 研究の目的

我々は、産業技術総合研究所と東京工業大学との共同研究により、任意のせん断応力を負荷することが可能なカスタムメイドした高せん断負荷装置を開発し、せん断応力に対する vWF の脆弱性には個体差があるという仮説を立て、その個体差を定量的に評価することを課題として設定した。本研究は、開発された検査体系によって、患者の vWF 高分子多量体のせん断応力依存的な脆弱性について LVAD 装着前に評価し、LVAD 装着後の出血性合併症を予知できるようにすることを目的とした。

3. 研究の方法

(1) 健常人血液を用いた vWF 高分子多量体のせん断応力依存的な脆弱性の個体差の究明

日本赤十字社の献血検体 20 名分を研究用に提供いただき、高せん断負荷装置を用いて、 $20000s^{-1}$ 、 $25000s^{-1}$ 、 $30000s^{-1}$ 、 $35000s^{-1}$ 、 $40000s^{-1}$ の 5 段階のせん断応力負荷を行った。せん断応力負荷後の血液から血漿を得て、ウエスタンブロットを行い、vWF large multimer index を測定した。

(2) LVAD 装着術前患者の血液検体を用いた vWF 高分子多量体のせん断応力依存的な脆弱性と術後 Index との関連性を究明した。

LVAD 装着術前患者より採血し得られた血液検体から血漿を抽出し、得られた血漿に同血液型の血球成分を Hct が 40% となるように加え、全血を作成した後、高せん断負荷装置を用いて、 $20000s^{-1}$ 、 $30000s^{-1}$ 、 $40000s^{-1}$ の 3 点のせん断応力負荷を行った。せん断応力負荷後の血液より血漿を得て、ウエスタンブロットを行い、vWF large multimer index を測定した。また、vWF に対する LVAD 治療による長期的な影響を探索するために、LVAD 装着術後 1 週間、1 ヶ月後、3 ヶ月

後、6ヶ月後、以降6ヶ月後毎に採血を行い、vWF large multimer indexを測定した。

4. 研究成果

(1) せん断応力が負荷された血液はControlと比較し、vWF高分子多量体が欠損していることが確認された。また、せん断応力が大きくなるにつれ、vWF高分子多量体の欠損も大きくなることが確認された。vWF large multimer indexを測定すると、せん断応力依存的にIndexが低下することも確認された。一方で、vWFの分解酵素であるADAMTS13の活性は補助人工心臓によって発生し得るせん断応力とは関連せず明らかな変化は認めなかった。

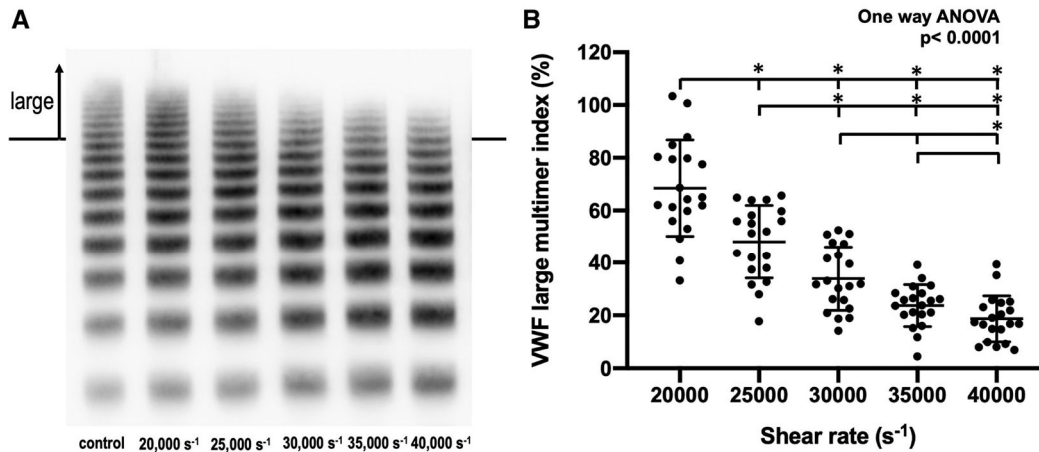


図1. 各せん断応力におけるvWF高分子多量体およびvWF large multimer index

せん断応力可変領域でのvWF large multimer indexの数値を測定し、低せん断応力領域でのIndexの数値(Initial Drop: IDと定義)、中せん断応力領域でのIndexの数値(Index at Medium shear stress: IMと定義)、高せん断応力領域でのIndexの数値(Final Index: FIと定義)をそれぞれ比較したところ、IDは $31.5\% \pm 18.3\%$ 、IMは $34.2\% \pm 11.9\%$ 、FIは $18.7\% \pm 8.7\%$ と、Indexの減少パターンは被験者間でばらつきを示し、個人差が大きいことを証明した。

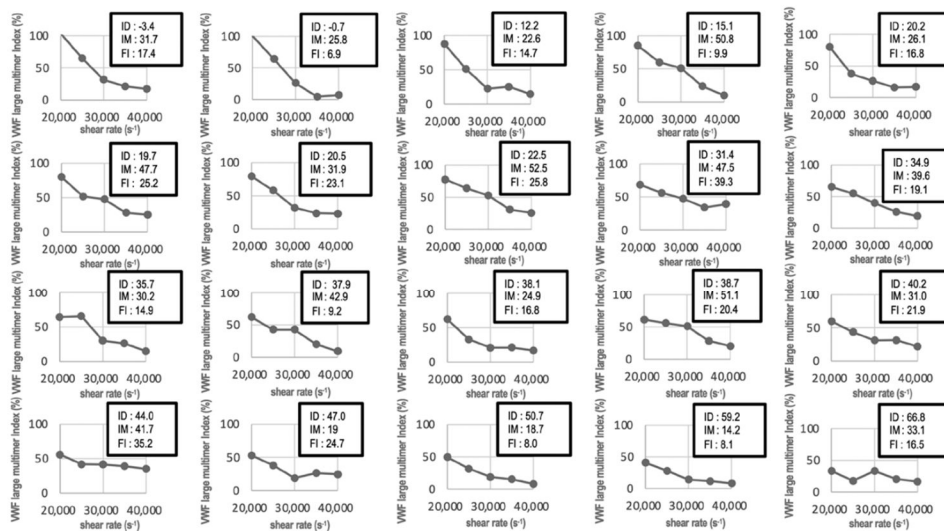


図2. せん断応力に対するvWF large multimer indexの減少パターン

(2) 同血液型の血球成分の加えた検体においても全血検体と同様にせん断応力依存的なvWF large multimer indexの減少パターンを示すことが確認された。これにより、遠方施設から凍結血漿として検体を輸送し、同血液型の血球成分の加え全血とした上でせん断応力負荷装置を利用し、より実態に近いvWF large multimer indexの測定が可能であると示唆された。また、

vWF 高分子多量体のせん断応力依存的な脆弱性は、付加した同型血球の個体差に影響されず、血漿成分由来の個体差に依存することを証明した。

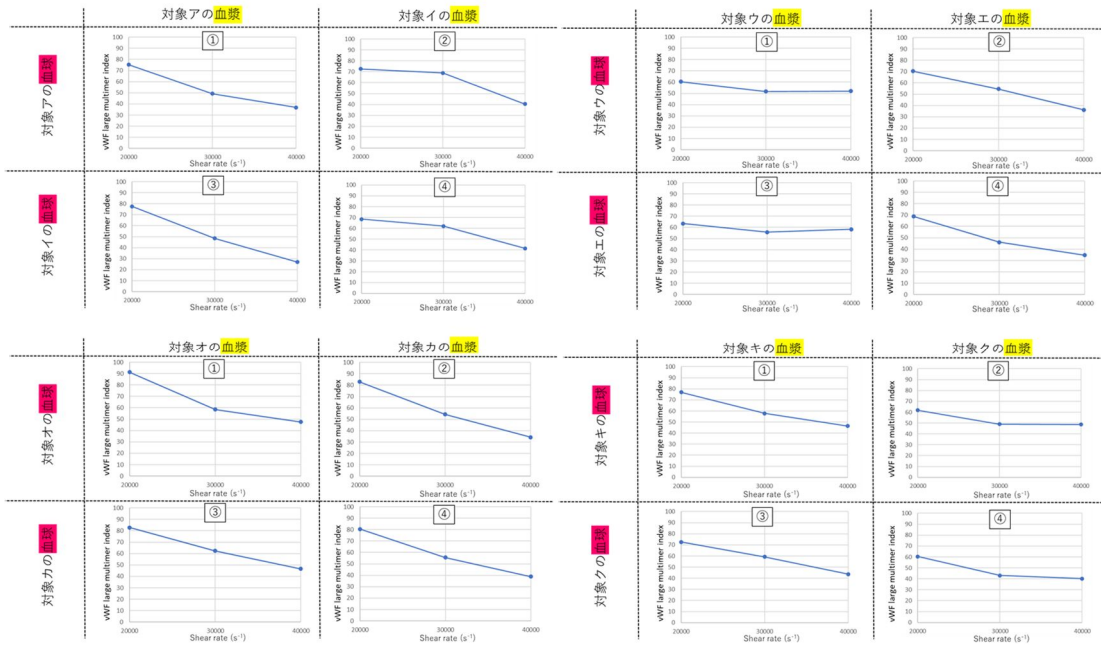


図 3. 疑似全血のせん断応力に対する vWF large multimer index 減少パターン

vWF large multimer index の減少は、術後 1 ヶ月以上で plateau に達することが確認された。出血性合併症についてのデータは後ろ向きに臨床経過を確認した上で抽出し、vWF large multimer index と出血性合併症には関連があることを確認した。これにより術後 1 ヶ月以上経過し状態が安定している時期に採血し、vWF large multimer index を測定することで出血リスクを推定することも可能であることが示唆された。

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 Sakatsume K	4. 巻 68(9)
2. 論文標題 Individual variability in von willebrand factor fragility in response to shear stress : A possible clue for predicting bleeding risk	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 ASAIO J	6. 最初と最後の頁 1128-1134
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1097/ MAT.0000000000001623	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4件（うち招待講演 0件/うち国際学会 1件）

1. 発表者名 武富龍一
2. 発表標題 VAD装着患者における溶血とVWFの相関性の検討～溶血の1指標であるLDHから出血傾向を予想することは可能か～
3. 学会等名 第59回 日本人工臓器学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Taketomi R
2. 発表標題 Correlation between hemolysis and von Willebrand factor degradation in patients with VAD; Is it possible to predict bleeding tendency from LDH?
3. 学会等名 The 30th Annual Meeting of Asian Society for Cardiovascular and Thoracic Surgery (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 武富龍一
2. 発表標題 補助人工心臓装着患者における血清学的後天性フォンウィルブランド症候群重症度の長期的推移
3. 学会等名 第50回人工心臓と補助循環懇話会学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 武富龍一
2. 発表標題 植込型補助人工心臓患者における血小板機能
3. 学会等名 第51回人工心臓と補助循環懇話
4. 発表年 2022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
研究分担者	坂爪 公 (Sakatsume Ko) (10837032)	東北大学・医学系研究科・大学院非常勤講師 (11301)	
研究分担者	丸山 修 (Maruyama osamu) (30358064)	国立研究開発法人産業技術総合研究所・生命工学領域・総括研究主幹 (82626)	
研究分担者	土方 亘 (Hijikata Wataru) (30618947)	東京工業大学・工学院・准教授 (12608)	
研究分担者	佐々木 康之輔 (Sasaki Konosuke) (50755642)	東北大学・医学系研究科・助教 (11301)	
研究分担者	堀内 久徳 (Horiuchi Hisanori) (90291426)	東北大学・加齢医学研究所・教授 (11301)	

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
研究分担者	吉岡 一郎 (Yoshioka Ichiro) (90770272)	東北大学・医学系研究科・大学院非常勤講師 (11301)	
研究分担者	秋山 正年 (Akiyama Masatoshi) (80526450)	東北大学・医学系研究科・大学院非常勤講師 (11301)	

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