

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24 年 4 月 19 日現在

機関番号：13301
 研究種目：基盤研究（C）
 研究期間：2009～2011
 課題番号：21590614
 研究課題名（和文） 播種性血管内凝固における炎症と凝固の相互作用と血管作動性物質の関与
 研究課題名（英文） Significance of the vasoactive substances and interaction between inflammation and coagulation in DIC
 研究代表者
 朝倉 英策（ASAKURA HIDESAKU）
 金沢大学・附属病院・准教授
 研究者番号：60192936

研究成果の概要（和文）：

LPS 誘発播種性血管内凝固症候群（DIC）モデルに対して、凝固と炎症の相互作用を遮断する目的で、エリスロポイエチン、CO 供給物質、HO-1 阻害剤（SnPP）を投与して、血液凝固、線溶、臓器障害、血管作動性物質、病理所見（血栓）、mRNA に対する影響を検討した。薬物用量や臓器毎によって違った影響が観察されたが、凝固や線溶に直接影響を及ぼさないこれらの薬物であっても、DIC 治療薬として展望があると考えられた。

研究成果の概要（英文）：

We investigated the effect of erythropoietin, carbon monoxide release molecule and SnPP that may be able to interrupt interaction between coagulation and inflammation, on LPS-induced rat DIC model. The estimated markers were blood coagulation, fibrinolysis, organ injury, vasoactive substances, pathological findings and the mRNA expression of hemostatic substances. Although the effect of these drugs were different among doses or organs, such drugs without the influence on coagulation and fibrinolysis were expected as new DIC drugs.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2009 年度	1,500,000	450,000	1,950,000
2010 年度	1,000,000	300,000	1,300,000
2011 年度	1,000,000	300,000	1,300,000
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：血栓止血学

科研費の分科・細目：境界医学・病態検査学

キーワード：DIC、血管作動性物質、サイトカイン

1. 研究開始当初の背景

DIC の本態は顕著な凝固活性化と微小血栓多発であり、臓器障害は微小循環障害のためと考えられてきた。しかし、DIC モデルを用

いて検討した我々検討では、低分子ヘパリンによる十分な抗凝固療法を行っても、線溶抑制状態下では臓器障害やサイトカインの発現を伴う炎症の進展は不可逆的であり、凝固

活性化以外の要素が DIC 病態に深く関与していることが推測される。DIC は、従来凝固や線溶からの検討が多かったが、血管作動性物質、サイトカイン、アポトーシスなど循環動態、臓器障害、炎症などに影響を与える可能性が高い物質の検討はなされてこなかった。

炎症により発現されるサイトカインにより凝固活性化が惹起されるが、一方、凝固活性化により産生されたトロンビンや Xa などの活性型凝固因子は PARs (protease activated receptors) を介して炎症を惹起する、いわゆる凝固と炎症の相互作用が近年世界的トピックスとなっている。我々はこの相互作用を遮断することにより、DIC 病態を改善できるのではないかと考えた。

2. 研究の目的

DIC における凝固と炎症の相互作用を遮断する目的で、エリスロポエチン製剤 (EPO) に注目した。EPO は敗血症モデルにおいて臓器障害や臓器細胞のアポトーシスを抑制する可能性が指摘されているが、DIC モデルでの検討はこれまで皆無であった。

次に、LPS 誘発 DIC モデルにおける、CO 供給物質 (CORM) の役割に注目した。CO はシグナル分子としての役割以外にサイトカイン抑制作用や虚血性再かん流モデルにおける抗血栓作用が報告されているが、DIC モデルでの検討はこれまで皆無であった。

更に、DIC における凝固と炎症のクロストークを遮断する目的で、ヘムオキシゲナーゼ-1 (HO-1) に注目した。HO-1 は各種ストレスにおいて誘導され臓器保護的に作用することが知られている一方で、過剰な HO-1 の発現は高濃度の Fe を生成することで組織障害を起こす負の側面も有している。LPS 誘発 DIC モデルにおける HO-1 の役割を明らかにするために、HO-1 阻害剤である SnPP を用いた検

討を行った。

3. 研究の方法

(1) 動物 DIC モデルの作成と凝血的検討：Wistar ラットを使用し、LPS または組織因子 (TF) を尾静脈より持続点滴し、DIC モデルを作成。これらの投与前、中、後において各種マーカー (凝固、線溶、サイトカイン、臓器障害マーカー、病理、mRNA など) を検討する。

(2) 薬物の介入

DIC 病態における凝固と炎症の相互作用を遮断しうる薬物として、エリスロポエチン、CORM、SnPP の投与を行い、病態への影響を検討した。

4. 研究成果

LPS 誘発 DIC モデルにおいては、エンドセリン (ET) が著増し一酸化窒素代謝産物である NOX も中等度上昇した。一方、組織因子誘発 DIC モデルにおいては ET の上昇は見られなかったが、NOX は著増した。

LPS 誘発 DIC モデルに対して、EPO を投与することにより LPS 投与開始後に D ダイマーの有意な抑制が認められた。また、EPO 投与により臓器障害、特に肝障害および肝細胞アポトーシスが有意に抑制された。ただし、血管作動性物質や炎症性サイトカインへの影響はみられなかった。EPO に低分子ヘパリンを併用すると、凝固異常の改善とともに、肝細胞アポトーシスが更に改善された。このように、アポトーシスを標的とした EPO 薬物治療が、DIC に伴う臓器障害に対して有効であると考えられた。

次に、LPS 誘発 DIC モデルに対して CORM を投与することにより、以下の結果が得られた。CORM は、血中 TNF を抑制し、肺障害 (病理学的に核面積、間質面積で評価)、肝障害を抑

制した（ただし高用量 CORM 投与では腎障害は悪化した）。また、肝臓でのトロンボモジュリン (TM) mRNA 発現を増加させた（腎での TM mRNA 発現は抑制され、PAI mRNA 発現は増加した）。このように、LPS 誘発 DIC モデルに対して、CORM は臓器障害を軽減することで DIC 病態を改善させる可能性があるものと考えられた。ただし、用量や臓器によって CORM の作用の仕方は異なっていた。

更に、LPS モデルに対して SnPP を投与すると、血小板数、フィブリノゲン、PT、TAT に対する影響はみられなかったが、D ダイマーは有意に抑制された。また、炎症性サイトカイン TNF は上昇した。臓器障害に関しては、肝障害は軽減したが、腎障害は悪化した。凝固線溶関連蛋白 mRNA による検討では、SnPP は、肝における TF-mRNA の発現を有意に抑制したが、肺における発現を上昇させた。また、腎における PAI-1-mRNA の発現を亢進させた。LPS 誘発 DIC モデルにおいて、HO-1 は臓器によって果たす役割が異なることが明らかになった。本病態では臓器毎に配慮した、注意深い検討が必要と考えられた。

以上、LPS 誘発 DIC モデルに対して凝固・線溶に対して直接には影響を与えない薬物であっても、DIC 病態に対して影響を与えて、新しい方向性からの治療薬になりうるということが明らかになった。

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 58 件)

1) Hayashi T, Asakura H, et al: A case of acquired FXIII deficiency with severe bleeding symptoms. Haemophilia, in press. 2012. 査読有

DOI:10.1111/j.1365-2516.2012.02763.x

2) Maruyama K, Asakura H, et al: Plasma levels of platelet-derived microparticles in patients with obstructive sleep apnea syndrome. J Atheroscler Thromb 19: 98-104, 2012. 査読有

3) Ohata K, Asakura H, et al: Tamibarotene-induced low-grade reversible intravascular coagulation in a patient with acute promyelocytic leukemia. Thromb Res 129: 213-4, 2012. 査読有

4) Sai Y, Asakura H, et al: A randomized, quadruple crossover single-blind study on immediate action of chewed and unchewed low-dose acetylsalicylic acid tablets in healthy volunteers. J Pharm Sci 100: 3884-3891, 2011. 査読有
DOI:10.1002/jps.22602

5) Sekiya A, Asakura H, et al: Two case reports of inherited antithrombin deficiency: a novel frameshift mutation and a large deletion including all seven exons detected using two methods. Int J Hematol 93:216-219, 2011. 査読有
DOI: 10.1007/s12185-010-0763-x

6) Tsubokura M, Asakura H, et al: Fatal Intracranial Hemorrhage Following Administration of Recombinant Thrombomodulin in a Patient after Cord Blood Transplantation. Bone Marrow Transplantation 46:1030-1031, 2011. 査読有
DOI:10.1038/bmt.2010.229

7) 朝倉英策: 凝固・線溶マーカー測定値解

- 積のポイント。臨床病理 59: 970-977, 2011. 査読無
- 8) 朝倉英策、森下英理子：造血器悪性腫瘍と DIC。医学のあゆみ 238:33-39, 2011. 査読無
- 9) 朝倉英策：DIC の定義・概念（動物実験からの概念）。臨床病理レビュー特集 147: 6-12, 2011. 査読無
- 10) Iba T, Asakura H: Comparison between British and Japanese guidelines for the diagnosis and treatment of disseminated intravascular coagulation. Br J Haematol 149:461-462, 2010. 査読有
DOI:10.1111/j.1365-2141.2009.08067.x
- 11) Okamoto K, Asakura H, et al; Japanese Society of Thrombosis Hemostasis/DIC subcommittee: Frequency and hemostatic abnormalities in pre-DIC patients. Thromb Res 126: 74-78, 2010. 査読有
- 12) Wada H, Asakura H, et al: Japanese Society of Thrombosis Hemostasis/DIC subcommittee. Expert consensus for the treatment of disseminated intravascular coagulation in Japan. Thromb Res 125:6-11. 2010. 査読有
DOI:10.1016/j.thromres.2010.03.017
- 13) 朝倉英策、他：DIC 病態（動物モデルを含む）の多様性、臨床症状、病型分類。臨床血液 51: 12-19, 2010. 査読無
- 14) Hayashi T, Asakura H, et al: Expression of annexin II in experimental abdominal aortic aneurysms. Int J Hematol 90:336-342, 2009. 査読有
DOI:10.1007/s12185-009-0410-6
- 15) 朝倉英策、他：止血薬、抗線溶薬の適応と使用法－抗線溶薬－。日本血栓止血学会雑誌 20: 285-288, 2009. 査読無
- 16) 朝倉英策、他：播種性血管内凝固症候群の病態と診断。日本検査血液学会雑誌 10: 236-242, 2009. 査読無
- 17) 朝倉英策、他：凝固・線溶検査～苦手克服のコツ～日本検査血液学会雑誌 10: 284-290, 2009. 査読無
- [学会発表] (計 9 件)
- 1) 朝倉英策: DIC の臨床と血液検査。第 26 回日本救命医療学会総会、2011.9.17. ホテルポートプラザちば (千葉)
- 2) 朝倉英策: 凝固・線溶マーカー測定値解釈のポイント。第 30 回日本臨床検査医学会 東海・北陸支部総会、2011.8.6. 名古屋国際会議場 (名古屋)
- 3) 朝倉英策: 深部静脈血栓症/肺塞栓の病態と臨床。第 41 回日本人工関節学会、2011.2.26. グランドプリンスホテル赤坂 (東京)
- 4) 朝倉英策: 凝固線溶分子マーカーによる DIC 病態の解析。日本臨床検査自動化学会、2010.10.8. 神戸コンベンションセンター (神戸)
- 5) 朝倉英策: DIC モデルと病態の多様性－線溶、血管作動性物質、HMGB-1 の観点から－。第 33 回日本血栓止血学会、2010.4.24. 城山観光ホテル (鹿児島)
- 6) 朝倉英策: DIC の臨床－最近の話題－日本内科学会 北陸支部第 49 回生涯教育講演会、2010.3.7. 福井県国際交流会館 (福井)
- 7) 朝倉英策: DIC の病態・診断。第 51 回日本小児血液学会、2009.11.28. 東京ベイホテル東急 (東京)
- 8) 朝倉英策: 悪性腫瘍 (造血器を含む) における DIC の病態と臨床。日本血栓止血学会 学術標準化委員会シンポジウム、

2009. 11. 21. 慶應義塾大学医学部 (東京)
- 9) 朝倉英策: 播種性血管内凝固症候群の病態と臨床。第 32 回日本血栓止血学会、2009. 6. 5. リーガロイヤルホテル小倉 (福岡)

[図書] (計 17 件)

- 1) 林朋恵、朝倉英策: 播種性血管内凝固症候群の病態・診断「わかりやすい血栓と止血の臨床」(日本血栓止血学会編) 190-194, 南江堂、2011.
- 2) 朝倉英策、林朋恵: 抗線溶薬 (トラネキサム酸)「わかりやすい血栓と止血の臨床」(日本血栓止血学会編) 269-272, 南江堂、2011.
- 3) 朝倉英策: 活性化プロテイン C の敗血症治療薬としての意義 「Annual Review 血液 (高久史麿, 小澤敬也, 坂田洋一, 金倉譲, 小島勢二編)」208-215, 中外医学社、2011.
- 4) 朝倉英策: 播種性血管内凝固症候群 (DIC)。「血液専門医テキスト」(日本血液学会編)南江堂、366-369、2011.
- 5) 朝倉英策: 抗リン脂質抗体症候群 (APS)。「血液専門医テキスト」(日本血液学会編)南江堂、380-382、2011.
- 6) 朝倉英策、林朋恵: 播種性血管内凝固症候群。「血液疾患 最新の治療 2011-2013」(直江知樹、小澤敬也、中尾眞二編)284-288、南江堂、2010.
- 7) 朝倉英策、林朋恵: 骨髄増殖性疾患と血栓症、最近の進歩 「Annual Review 血液 (高久史麿, 小澤敬也, 坂田洋一, 金倉譲, 小島勢二編)」p. 208-214, 中外医学社、2010.
- 8) 朝倉英策、林朋恵、前川実生、門平靖子: DIC の概念と病態「DIC 診療ガイドブック」(丸山征郎編) 18-29、メディカルレ

ビュー、2009.

- 9) 朝倉英策、林朋恵: DIC (播種性血管内凝固) に対する対策。「白血病治療マニュアル (改訂第 3 版)」(大野竜三、小寺良尚監修) 157-160、南江堂、2009.
- 10) 朝倉英策、中尾眞二: DIC・凝固異常「炎症・再生医学事典」(松島綱治、西脇徹編)、p. 304-307, 朝倉書店、2009.

[その他]

<http://www.3nai.jp/weblog/archive/category3932.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

朝倉 英策 (ASAKURA HIDESAKU)
金沢大学・附属病院・准教授
研究者番号: 60192936