

令和 6 年 5 月 22 日現在

機関番号：10101

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2021～2023

課題番号：21K09036

研究課題名(和文) 外傷急性期の凝固活性因子の由来と凝固活性化能の違い、その放出のタイミング

研究課題名(英文) Origin of coagulation-activating factors in the acute phase of trauma, their different coagulation activation capacities, and the timing of their release.

研究代表者

早川 峰司 (Hayakawa, Mineji)

北海道大学・大学病院・准教授

研究者番号：10374282

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)： 鈍的外傷では、その外力により実質臓器や筋肉、骨が損傷される。本研究では、鈍的外傷ラットモデルを用いて、受傷直後から放出されてくるマイクロパーティクル(MPs)や各種DAMPsと骨格筋からの逸脱酵素が相関することを明示した。また、同モデルで外傷の重症度を定量的に増加させた場合、その重症度に比例してMPs、DAMPs、骨格筋からの逸脱酵素が増加することも確認し、外傷受傷直後の凝固の活性化が外力により損傷された実質臓器由来であることを示すことができた。

さらには、臓器ごとのMPs活性は大きな差異は認めなかった。しかし、tPA活性に関しては、肺のtPA活性が著しく高かった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

外傷受傷直後の凝固障害が、損傷した骨格筋を含む実質臓器に由来することが明らかになることにより、外傷による損傷部位の違いにより、傷病者の凝固障害の程度やその進展様式(凝固活性化による2次線溶が主体なのか/損傷臓器由来のtissue-plasminogen activatorによる直接的な線溶亢進が主体なのか)が異なる可能性の推測が可能となった。

このことにより、重症外傷患者の凝固障害に対する治療介入の手掛かりが得られる可能性がある。

研究成果の概要(英文)： In blunt trauma, parenchymal organs, muscles, and bones are damaged by the external force. In this study, using a rat model of blunt trauma, we clearly showed that the micro particles (MPs) and various DAMPs released immediately after injury correlate with the deviating enzymes from skeletal muscle. In addition, when the severity of trauma was quantitatively increased in the model, MPs, DAMPs, and skeletal muscle-depleting enzymes increased in proportion to the severity of trauma, indicating that the activation of coagulation immediately after trauma injury originated from the injured parenchymal organs.

Furthermore, no significant differences in MPs activity were observed between organs. However, with regard to tPA activity, tPA activity in the lungs was significantly higher.

研究分野：救急医学

キーワード：外傷 血液凝固

## 1. 研究開始当初の背景

重症外傷の急性期の凝固障害は、外傷による死因の中心である出血に大きな影響を与える重要な病態であり、近年、その病態に関する様々な知見が提示されている。我々は、重症外傷急性期の凝固障害について、下図のように整理し報告している(Hayakawa M. Journal of intensive care. 2017;5(1):14.)

この中に示す外傷自体が引き起こす凝固障害(Trauma-induced coagulopathy)は、「凝固の活性化」と「線溶亢進」が原因となって「消費性凝固障害」を引き起こす病態である。他のアシドーシスや低体温、希釈は修飾因子であり、外傷急性期の凝固障害の病態の本体ではない。

「凝固の活性化」の機序に関しては、敗血症における研究が多く報告されている。敗血症における「凝固の活性化」は循環血液中に次のような凝固活性化因子が播種されることにより生じている。

- 細胞外DNA
- 細胞外DNA結合蛋白
- Microparticles (MPs)

これらの凝固活性化因子のうち、細胞外DNAとDNA結合蛋白は、活性化された好中球から放出される Neutrophil extracellular traps (NETs)の構成因子として凝固や血小板を活性化し、血栓を形成させることにより病原体を局所に封じ込める作用が注目されている。また、MPsに関しては、活性化された血小板から放出される血小板由来のMPsに関する数多くの研究報告がある。このように、敗血症での凝固活性化因子は、白血球や血小板などの血球細胞が活性化され、放出されるものが中心である。

外傷急性期でも、敗血症と同様に、細胞外DNAやDNA結合蛋白などの damage-associated molecular pattern (DAMPs) やMPsを循環血液中に認めているとの報告は多い。しかし、その凝固活性化因子が、どの細胞に由来しているのかを検証した報告はない。

## 2. 研究の目的

外傷急性期の凝固線溶異常の制御は、外科的な止血と共に、交通事故などによる外傷の急性期治療のために重要である。本研究において、外傷急性期の凝固線溶異常の病態を明らかにすることは、その制御方法を検討するための足掛かりとなる。外傷急性期の凝固障害の病態が明らかになり、制御することが可能となれば、出血量を減少させ、必要な輸血量が減少し、患者の救命につながるであろう。

外傷急性期における「凝固の活性化」については複数の検討が存在するが、本研究で解明を試

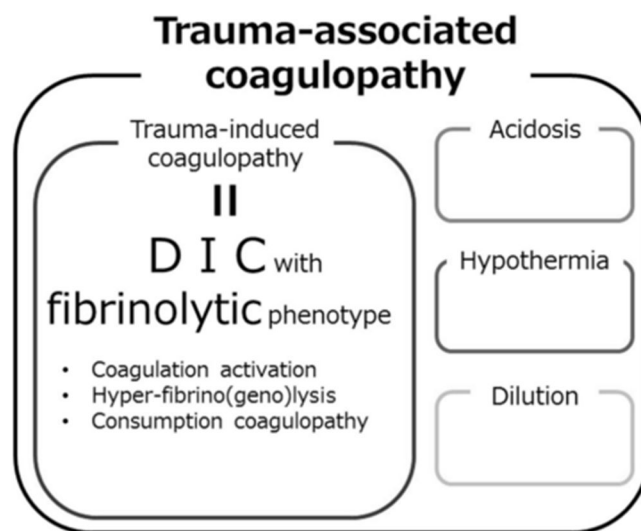


Fig. 1 Trauma-associated coagulopathy and trauma-induced coagulopathy. Trauma-associated coagulopathy is caused by multiple factors and includes trauma-induced coagulopathy, which is caused by trauma itself.

みた外傷急性期の凝固活性化因子の由来と、その特性と出現のタイミングを検証する。

### 3 . 研究の方法

回転するドラムの中で、上から下ヘラットが繰り返し叩きつけられることにより、全身打撲を生じる鈍的外傷モデルを用いる。本モデルは、ドラムの回転数によりその重症度を定量化することが可能である。

本モデルを用いて、どのような凝固活性化物質が放出されてくるか、評価を行う。また、外傷の重症度を段階的に変化させ、凝固活性化因子の放出量がどのように変化するかを評価する。

また、健常ラットから脳/肺/肝臓/脾臓/骨格筋/骨を採取し、超高速ホモジナイザーを用いてホモジナイズ溶液を作成し遠心後上清を採取し、凝固活性化能や線溶亢進能を評価した。

### 4 . 研究成果

本研究では、鈍的外傷ラットモデルを用いて、MPs や各種 DAMPs が受傷直後から上昇していること、また、その値は骨格筋からの逸脱酵素の値と相関することを明示した。また、同モデルで外傷の重症度を定量的に増加させた場合、その重症度に比例して MPs、DAMPs、骨格筋からの逸脱酵素が増加することが確認された。これらの結果は、外傷直後に全身循環に放出される MPs や各種 DAMPs は骨格筋などの実質細胞由来であることを示している。

さらには、脳、肺、肝臓、骨格筋、脾臓、腎臓をホモジナイズして作成したホモジナイズ溶液の凝固活性化能を評価した。各臓器の g 重量当たりの MPs 活性や組織因子含有 MP s の濃度には、臓器ごとの大きな差異は認めなかった。また、線溶抑制因子としての plasminogen activator inhibitor-1 は、いずれの臓器でも検出限界以下であった。しかし、tissue-plasminogen activator ( tPA ) の活性に関しては、臓器ごとで大きな差異を認めていた。肺の tPA 活性が著しく高く、次いで腎、脳の順であった。このような、凝固線溶系に与える影響の損傷臓器ごとの特異性が、外傷受傷直後の凝固線溶系異常に大きな影響を与えていると推測できた。なお、これらのホモジナイズ溶液を生体に投与した際の影響に関しては、今後の検討課題である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔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
---------	---------