

科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）研究成果報告書

平成 25 年 5 月 9 日現在

機関番号：10101

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2011～2012

課題番号：23792068

研究課題名（和文） 外傷直後の凝固障害の病態解明とその制御に関する研究

研究課題名（英文） Pathology and treatment of acute coagulopathy just after trauma

研究代表者

早川 峰司 (HAYAKAWA MINEJI)

北海道大学・北海道大学病院・助教

研究者番号：10374282

研究成果の概要（和文）：

各グループとも経過中、低血圧や血清乳酸値の上昇は認めなかった。TF の投与量に依存して血小板数や凝固線溶系データの悪化を認めた。 α 2-plasmin inhibitor は high dose 群で有為に低下していた。フィブリノゲン分解産物は TF の投与量に比例して増加していた。plasmin- α 2-plasmin inhibitor complex も増加していた。大量の TF は組織低灌流を伴わないフィブリン分解とフィブリノゲン分解を伴った DIC を引き起こしている。 α 2-plasmin inhibitor の減少と plasmin の増加が、TF 投与による線溶亢進型 DIC の主な原因と考えられる。

研究成果の概要（英文）：

Hypotension, hypoxemia and lactic acidosis were not observed in any of the three groups. In proportion to the doses of TF, the platelet counts, coagulation and fibrinolysis variables deteriorated in line with DIC. The alpha 2-plasmin inhibitor levels significantly decreased in the high dose group compared to the other groups. The amounts of FgDP increased in proportion to the doses of TF. The plasmin-alpha 2-plasmin inhibitor complex level in the high dose group increased more than that of the other groups. In conclusions, TF can induce DIC associated with fibrinolysis and fibrinogenolysis without tissue hypoperfusion. The decrease in the alpha 2-plasmin inhibitor level and the significant increase in the plasmin level may be the two main factors underlying the pathogenesis of hyper-fibrin(ogen)olysis after TF administration.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
交付決定額	3,200,000	960,000	4,160,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・救急医学

キーワード：組織因子、線溶、凝固、フィブリノゲン分解

1. 研究開始当初の背景

出血は、外傷による死亡原因の中心の1つであることに異論はない。外傷による大量血に対して新鮮凍結血漿を積極的に投与することにより、予後が改善できることが報告さ

れている。

近年、この外傷直後の凝固異常が、その病態解明と制御の側面から注目されている。

国内からは、申請者らの臨床研究により、外傷直後の凝固異常は、線溶亢進が関与して

いることが示されている(Hayakawa M et al Surgery 2010, 早川峰司 他 日救急医学会誌 2010, Sawamura A, Hayakawa M, et al Thromb Res 2009)。

欧米では、最近まで外傷直後の凝固異常は希釈性凝固障害であるとの認識であったが、近年、申請者らと同様に、線溶亢進が関与していることが報告されてきている(Hess et al J Trauma 2008)。

外傷直後の線溶亢進の病態生理に関する考察は、Brohi et al の考察(Brohi et al Ann Surg 2007, Brohi et al J Trauma 2008)と、申請者らの考察では、大きく異なっている部分もあるが、概ね一致している機序は以下のとおりである。

(1) 外傷による血管破綻と組織損傷のため、組織因子が血管内で増加し凝固反応が開始される。

(2) 外傷侵襲に伴う炎症性サイトカインが凝固反応をさらに亢進させる。

(3) 組織因子の増加を引き金として産生されたフィブリン血栓に反応し、線溶系が活性化する。

(4) 重症外傷の場合、“何らかの原因”により過剰な線溶亢進を認め、フィブリノゲンの低下を特徴とした、著しい凝固障害が引き起こされる。

(5) この病態を主軸として、出血性ショックやアシドーシス、低体温、輸液・輸血による希釈性凝固障害が凝固線溶反応を修飾し、外傷直後の凝固異常の全体像となる。

Brohi et al は、外傷直後の線溶亢進は、組織低灌流により血管内皮からトロンボモジュリンが 発現・放出されることにより、プロテインCの活性化を生じ、活性化プロテインCが凝固抑制、線溶活性化を惹起すると考察している(Brohi et al Ann Surg 2007, Brohi et al J Trauma 2008)。

しかし、申請者らは、Brohi et al の示している血中トロンボモジュリン値の上昇は、血管内皮細胞障害の結果でしかなく、正常機能を有したトロンボモジュリンではないと考えており、外傷直後の線溶亢進は組織低灌流により血管内皮から t-PA が放出されることよって惹起されると推測している(Hayakawa M et al Surgery 2010,)。

2. 研究の目的

前述したように、外傷直後には、何らかの原因により、線溶亢進を認め、フィブリノゲンの低下を特徴とした、著しい凝固障害が引き起こされることは、これまでの報告により明らかにされている。また、上記で認めるフィブリノゲンの低下は、血栓形成を原因とする消費だけではなく、フィブリノゲンの直接的な分解が大きな影響を与えていることも、申請者らが明らかにしている(早川峰司 他 日救急医学会誌 2010, Sawamura A, Hayakawa M, et al Thromb Res2009)。

しかし、下記の3点が明らかにされていない。

- (1) 線溶亢進の直接原因は何か?
- (2) なぜ、フィブリノゲン分解が亢進するのか?
- (3) これを制御するためには、どのような治療が必要か?

本研究では、この3点を明らかにする為TF投与モデルにおける線溶の動態を検証する。

3. 研究の方法

本研究では、初めに、組織因子(TF)静注ラットモデルを用いて、外傷後の凝固障害における線溶亢進の機序を明らかにする。

申請者らのこれまでの研究により、線溶亢進の原因として、

- (1) ショック
 - (2) TF の短時間過剰発現
- が考えられている。

これらの影響を検証するため、通常の TF 静注モデルに脱血負荷と低酸素負荷を行い検証する。

また、投与する TF 量を段階的に増加させ、凝固線溶系の変動を確認する。

次に、ラットに全身打撲を加えるドラムショックモデルを用いて、凝固障害の制御に関する検討を行う。

検討対象の薬剤として、トラネキサム酸とエプタコグアルファ(ノボセブン)、トロンボモジュリン製剤を使用する。

両実験の検討項目は、採血による凝固線溶系のグローバル/分子マーカー、westan blot による検証に加え、各臓器における t-PA や TF、PAI、TM の蛋白および mRNA 発現量も観察する。

9 週齢のラットを TF の投与量により 0U/kg(control)、4U/kg(low dose)、16U/kg(high dose)の 3 群(各 6 匹)に分けた。

麻酔下に、右頸静脈(TF 投与ルート)と左大腿動脈(動脈圧モニタリング・採血ルート)にカニューレーションを行った。

設定の TF を 4 時間かけて投与しつつ、0、2、4 時間目に経時的に採血を行った。

4. 研究成果

各グループとも経過中、低血圧や血清乳酸値の上昇は認めなかった。TF の投与量に依存して血小板数や凝固線溶系データの悪化を認めた。

$\alpha 2$ -plasmin inhibitor は high dose 群で有為に低下していた。フィブリノゲン分解産物は TF の投与量に比例して増加していた。

plasmin- $\alpha 2$ -plasmin inhibitor complex も増加していた。

大量の TF は組織低灌流を伴わないフィブリン分解とフィブリノゲン分解を伴った DIC を引き起こしている。 $\alpha 2$ -plasmin inhibitor の減少と plasmin の増加が、TF 投与による線溶亢進型 DIC の主な原因と考えられる。

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 1 件)

1. Hayakawa M

Massive amounts of tissue factor induce fibrinogenolysis without tissue hypoperfusion in rats.

査読有

Shock 2013 in press

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23542400>

[学会発表] (計 4 件)

1. 早川 峰司

外傷直後の凝固障害の知見に関する混乱

第 2 回 埼玉県西部腹部救急フォーラム
(招待講演) 2013 年 2 月 19 日
坂戸グランドホテル WIN (埼玉)

2. 早川 峰司

組織因子投与 DIC モデルにおける線溶動態の検証

第 34 回日本血栓止血学会学術集会

2012 年 6 月 7 日～6 月 9 日

ハイアット リージェンシー 東京 (東京)

3. 早川 峰司

組織因子投与 DIC モデルにおける線溶動態の検証

第26回日本外傷学会

2012年5月24日～5月25日

リーガロイヤルホテル東京（東京）

4. 早川 峰司

外傷直後の凝固障害の知見に関する混乱

第6回日本血栓止血学会学術標準化委員会(SSC)シンポジウム

2012年1月21日

東京 東医健保会館（東京）

6. 研究組織

(1) 研究代表者

早川 峰司（ HAYAKAWA MINEJI ）

北海道大学・北海道大学病院・助教

研究者番号：10374282

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし