

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 5 月 11 日現在

機関番号：13301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25462818

研究課題名(和文) DICにおける炎症と凝固の相互作用遮断と血管作動性物質

研究課題名(英文) Blocking the interaction of coagulation and inflammation, and significance of vasoactive substances in DIC

研究代表者

朝倉 英策 (Asakura, Hidesaku)

金沢大学・大学病院・准教授

研究者番号：60192936

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円

研究成果の概要(和文)：播種性血管内凝固症候群(DIC)は、基礎疾患の存在下に全身性持続性の著しい凝固活性化をきたし、微小血栓の多発する重篤な病態である。予後改善のためには、より良い診断基準の作成と、病態に応じた治療介入が必要である。動物DICモデルにおいては、LPSまたは組織因子(TF)のいずれで誘発するのか区別されことなく使用されてきたが、我々は両モデル間に、凝固線溶病態のみならず炎症や血管作動性物質の観点からも大きな差違が見られることを解明した。

研究成果の概要(英文)：Disseminated intravascular coagulation (DIC) is a serious disease that, in the presence of underlying disease, causes persistent, generalized, marked coagulation activation. Early treatment based on an appropriate diagnosis is very important for improving patients' prognosis.

The commonly used conventional animal models of DIC are induced with LPS or tissue factor (TF), and they have been considered to be essentially the same pathologically. However, our group recently showed that the pathology differs greatly depending on the DIC inducer used, at the view point of coagulofibrinolytic activation, inflammation and vasoactive substances.

研究分野：血栓止血

キーワード：DIC

## 1. 研究開始当初の背景

- 1) 播種性血管内凝固症候群(DIC)の本態は顕著な凝固活性化と微小血栓多発であり、予後改善のために早期診断可能な診断基準の作成と pre-DIC からの治療介入が必要である。しかし、DIC モデルを用いた我々の検討では、十分な抗凝固療法を行っても、臓器障害やサイトカイン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病態に関与していると推測される。
- 2) 動物 DIC モデルは、LPS または組織因子(TF)のいずれで誘発するのか区別されることなく使用されてきた。しかし我々は、両モデル間に、凝固線溶病態のみならず炎症の観点から大きな病態の差違が見られることを示唆してきた。
- 3) 血管収縮性物質であるエンドセリン(ET)の制御は、DIC 病態を改善させる可能性があるが、未だこの目的を果たせる方法は発見されていない。一方、血管拡張性物質である一酸化窒素(NO)の適切に調整された作用は、DIC の病態を改善させる可能性がある。
- 4) 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 を介して炎症を惹起する、いわゆる凝固と炎症のクロストークが注目されている。我々はこのクロストークに血管作動性物質が複雑に組み込まれているのではないかと推測しているが未だ不明である。凝固、炎症の両者に作用する薬剤は、DIC に対して有用である可能性が高い。

## 2. 研究の目的

血管作動性物質は、DIC の循環動態に影響を与える可能性が高いが、その意義はほとんど

検討されてこなかった。今回、DIC モデルでの血管作動性物質の発現機序を解明し、内皮障害、微小血栓形成、臓器障害との関連を検討する。

DIC の病態解析には両モデルでの比較が不可欠で、DIC 研究の根幹に関わる重要な点と考えられる。

TF モデルでは、LPS モデルを凌駕する NO 産生亢進がみられるが、産生機序は不明である。TF モデルは臓器障害がないことが特徴であり、同モデルにおける NO 産生機序解明により、新しい DIC 治療開発につながる可能性がある。

DIC の予後改善のためには、DIC の病態ごとに適切に診断する必要がある。より良い診断基準の作成を目指したい。

大動脈瘤は、慢性 DIC の病態をとるために、注射薬による治療は患者に大きな負担となる。経口薬による治療が検討されるべきである。

## 3. 研究の方法

- 1) 動物 DIC モデルの作成と凝血的検討：Wistar 雄性ラットを使用し、LPS または TF を尾静脈より持続点滴し、DIC モデルを作成する。凝血的マーカーにより DIC の発症、病型を確認する。
- 2) ET および NO の動態：両 DIC モデルにおける動態を比較検討する。
- 3) NOS インヒビター投与による NO 産生への影響：両 DIC モデルにおける NO 産生への影響を評価する。
- 4) 臓器障害の評価：両 DIC モデルの臓器障害を血中 Cr、ALT の経時的推移により評価する。
- 5) 造血管悪性腫瘍や固形癌に合併した臨床 DIC 症例における遺伝子組換えトロンボモジュリンの有用性を評価する。
- 6) DIC の病型分類も考慮に入れたより適切な

DIC 診断基準の作成を行う。

#### 4. 研究成果

これまでに行われてきたラット DIC モデルを用いた実験の総合解析から、線溶病態、病理、臓器障害、出血症状、炎症性サイトカインの動態、炎症と凝固の相互作用の面で、LPS 誘発 DIC モデルは線溶抑制型 DIC に、TF 誘発 DIC モデルは線溶亢進型 DIC に類似していることを英文論文で発表し (J Intensive Care 2014)、JSH-EHA Joint Symposium でも口頭発表した (The 77<sup>th</sup> Annual Meeting of the JSH. 2015)。

また、LPS 誘発 DIC モデルと TF 誘発 DIC モデルのいずれにおいても、血管拡張性物質である NO の血中代謝産物 (NOX) 濃度が著増していることが確認された。また、LPS 誘発 DIC モデルでは誘導型 NO 合成酵素 (iNOS) -mRNA 発現が著増しているのに対し、TF 誘発 DIC モデルでは iNOS-mRNA の発現はなく、他の NOS アイソザイムが NO 産生に関与していると考えられた。iNOS 阻害薬が LPS モデルの微小血栓形成を軽減し、LPS モデルにおいて NO が病態に深く関与していることが確認された。LPS モデルでは強力な血管収縮性物質である ET が著増するのに対して TF モデルでは正常であった。ET の制御は DIC の病態を改善する可能性があると考えられた。

一方、TF 誘発 DIC では過剰な線溶活性化のためにフィブリノゲンの分解が進行していることが明らかになった (Shock 2013)

DIC の診断のためにも病型分類の概念は重要である (J Intensive Care 2014)。日本血栓止血学会から発表された新しい DIC 診断基準は我々が提唱してきた病型分類の概念を踏まえており、数々の学会で報告し、現在投稿準備中である (Thromb J, prepared)。

遺伝子組換えトロンボモジュリンは、抗凝固活性のみならず抗炎症作用を合わせもつ

優れた薬剤であり、臨床の現場での処方頻度も増えている。一方で DIC の転帰は基礎疾患に依存することが大きいと言われるなかで、造血器悪性腫瘍や固形癌に合併した DIC に対してどの程度有効であるか不明であった。我々は、造血器悪性腫瘍や固形癌に合併した DIC 症例を詳細に検討して、遺伝子組換えトロンボモジュリンが有効であることを報告した (Thromb Res 2014, Int J Clin Oncol 2015)。

大動脈瘤は慢性に経過する線溶亢進型 DIC を併発するが、炎症は伴わない。直接経口抗凝固薬であるワルファリンは DIC を改善せずに出血を悪化させるが (Int J Hematol, submitted)、直接経口抗凝固薬であれば著効することを欧文誌で報告した (Ann Intern Med 2014)。

#### 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 49 件)

- 1) 朝倉英策: DIC の病型分類: 臨床と動物モデルの両面から。臨床血液 (日本血液学会雑誌) 57: 397-404, 2016. 査読無。
- 2) Tamura K, Saito H, Asakura H, Okamoto K, Tagawa J, Hayakawa T, Aoki N: Recombinant human soluble thrombomodulin (thrombomodulin alfa) to treat disseminated intravascular coagulation in solid tumors: results of a one-arm prospective trial. Int J Clin Oncol 20: 821-828, 2015. doi: 10.1007/s10147-014-0768-1. 査読有。
- 3) Taniguchi F, Morishita E, Sekiya A, Yamaguchi D, Nomoto H, Kobayashi E, Takata M, Kosugi I, Takeuchi N, Asakura H, Ohtake S: Late onset thrombosis in two Japanese patients with compound heterozygote protein S deficiency.

- Thromb Res 135: 1221-1223, 2015. doi: 10.1016/j.thromres.2015.03.023. 査読有.
- 4) Arahata M, Shimizu Y, Asakura H, Nakao S: Persistent molecular remission of refractory AML with inv(16)(p13.1q22) in an elderly patient induced by cytarabine ocfosfate hydrate. J Hematol Oncol 8: 5, 2015. doi:10.1186/s13045-014-0100-6. 査読有.
- 5) 朝倉英策: 急性期 DIC の病態生理: ベッドサイドにおける鑑別アルゴリズム。救急医学 39: 1517-1526, 2015. 査読無.
- 6) Hyashi T, Nakagawa N, Kadohira Y, Morishita E, Asakura H: Rivaroxaban in a patient with DIC associated with an aortic aneurysm. Ann Intern Med 15:158-159, 2014. doi:10.7326/L14-5014-3. 査読有.
- 7) Asakura H: Classifying types of DIC: Clinical and animal models. J Intensive Care 2:20, 2014. doi: 10.1186/2052-0492-2-20. 査読有.
- 8) Asakura H, Takahashi H, Tsuji H, Matsushita T, Ninomiya H, Honda G, Mimuro J, Eguchi Y, Kitajima I, Sakata Y: Post-marketing surveillance of thrombomodulin alfa, a novel treatment of DIC - Safety and efficacy in 1,032 patients with hematologic malignancy. Thromb Res 133: 364-370, 2014. doi: 10.1016/j.thromres.2013.12.033. 査読有.
- 9) Iba T, Saitoh D, Wada H, Asakura H: Efficacy and bleeding risk of antithrombin supplementation in septic disseminated intravascular coagulation: a secondary survey. Crit Care 18(5): 497, 2014. doi: 10.1186/s13054-014-0497-x. 査読有.
- 10) 朝倉英策: 「徹底ガイド DIC のすべて 2014-15」従来の診断基準の問題点。救急・集中治療 26: 773-780, 2014. 査読無.
- 11) 朝倉英策: 造血器悪性腫瘍に合併する血栓症、DIC の予防・治療. 臨床血液(日本血液学会雑誌) 55: 358-367, 2014. 査読無.
- 12) Hayakawa M, Gando S, Ieko M, Honma Y, Homma T, Yanagida Y, Kubota N, Uegaki S, Sawamura A, Asakura H: Massive amounts of tissue factor induce fibrinogenolysis without tissue hypoperfusion in rats. Shock 39: 514-519, 2013. doi: 10.1097/SHK.0b013e318293980d. 査読有.
- 13) Maruyama K, Morishita E, Karato M, Kadono T, Sekiya A, Goto Y, Sato T, Nomoto H, Omi W, Tsuzura S, Imai H, Asakura H, Ohtake S, Nakao S: Antithrombin deficiency in three Japanese families: one novel and two reported point mutations in the antithrombin gene. Thromb Res 132: e118-123, 2013. doi: 10.1016/j.thromres.2013.06.001. 査読有.
- 14) 朝倉英策: 腫瘍と凝固障害。日本小児血液・がん学会学会誌 50:316-321, 2013. 査読無.
- 15) 朝倉英策: 播種性血管内凝固症候群 (DIC) 一病型診断から治療への応用一。日本検査血液学会雑誌 14: 319-329, 2013. 査読無.

- 1) 朝倉英策: ヘパリンの在宅自己注射。第 10 回日本血栓止血学会学術標準化委員会 (SSC) シンポジウム。2016.2.20.野村カンファレンスプラザ日本橋(東京都中央区)
  - 2) 門平靖子、松浦絵理香、林朋恵、森下英理子、朝倉英策: 慢性 DIC の治療について。第 10 回日本血栓止血学会学術標準化委員会 (SSC) シンポジウム。2016.2.20.野村カンファレンスプラザ日本橋(東京都中央区)
  - 3) Asakura H: Classifying types of DIC - clinical and animal models - The 77<sup>th</sup> Annual Meeting of the Japanese Society of Hematology. 2015.10.17.金沢市アートホール(石川県金沢市)
  - 4) 朝倉英策: 後天性出血性疾患の臨床。第 37 回日本血栓止血学会学術講演会セミナー。2015.5.23.甲府市総合市民会館(山梨県甲府市)
  - 5) 朝倉英策: 新しい DIC 診断基準。第 61 回日本臨床検査医学会セミナー。2014.11.24.福岡国際会議場(福岡県福岡市)
  - 6) 朝倉英策: 造血器腫瘍に合併した DIC の特徴と対策。第 76 回日本血液学会セミナー。2014.11.1.大阪国際会議場(大阪府大阪市)
  - 7) 朝倉英策: 造血器悪性腫瘍に合併する血栓症、DIC の予防・治療(教育講演)。第 76 回日本血液学会。2014.10.31.大阪国際会議場(大阪府大阪市)
  - 8) 朝倉英策: 新しい DIC 診断基準(DIC 診断/治療の新展開)。第 36 回日本血栓止血学会学術集会 日本血栓止血学会・日本救急医学会 ジョイントシンポジウム。2014.5.29.大阪国際交流センター(大阪府大阪市)
  - 9) 朝倉英策: DIC 診断基準の問題点～改訂作業にむけて～。第 8 回日本血栓止血学会学術標準化委員会シンポジウム。2014.2.22.野村カンファレンスプラザ日本橋(東京都中央区)
  - 10) 朝倉英策: DIC の臨床。第 14 回日本検査血液学会学術集会。2013.7.27.京王プラザホテル(東京都新宿区)
- [図書](計 43 件)
- 1) 朝倉英策: 播種性血管内凝固症候群。「血液科 研修ノート」(神田善伸編)診断と治療社、東京、印刷中。
  - 2) 朝倉英策: 止血異常(DIC、L-Asp 投与時など)「白血病・リンパ腫 薬物療法ハンドブック」(松村到編)南江堂、東京、印刷中。
  - 3) 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、東京、378-381、2015。
  - 4) 朝倉英策(単著): 「しみじみわかる血栓止血 vol.2 血栓症、抗血栓療法編」(朝倉英策著)中外医学社、東京、1-188、2015。
  - 5) 朝倉英策: 内科領域の DIC。「止血・血栓ハンドブック」(鈴木重統編)西村書店、東京、74-82、2015。
  - 6) 朝倉英策: 日本血栓止血学会 DIC 診断基準暫定案(2014 年)。「止血・血栓ハンドブック」(鈴木重統編)西村書店、東京、407-411、2015。
  - 7) 朝倉英策: 播種性血管内凝固症候群(DIC)「血液疾患診療マニュアル」(金倉讓編)中山書店、東京、520-528、2015。
  - 8) 朝倉英策: 播種性血管内凝固「Principles and practice 血液・造血器・リンパ系」(千葉滋編)文光堂、東京、352-361、2015。
  - 9) 朝倉英策(単著): 「しみじみわかる血栓止血 vol.1 血液凝固検査、播種性血管内凝固症候群編」(朝倉英策著)中外医学社、東京、1-146、2014。
  - 10) 朝倉英策: 血液疾患と DIC。「よくわかる

血栓・止血異常の診療」( 富山佳昭編 ) 中山書店、東京、184-192, 2014.

- 11) 朝倉英策: 播種性血管内凝固. 「スタンダード検査血液学第3版」( 日本検査血液学会監修 ) 医歯薬出版株式会社、東京、368-371, 2014.
- 12) 朝倉英策: 播種性血管内凝固症候群( DIC ). 「出血性疾患の実践診療マニュアル～すべての臨床医のために～」( 矢富裕編 ) 南江堂、東京、135-142, 2014.
- 13) 朝倉英策: 播種性血管内凝固症候群( DIC ). 「今日の治療指針 2014年版」( 山口徹、北原光夫監修 ) 医学書院、東京、657-659, 2014.
- 14) 朝倉英策: 播種性血管内凝固症候群. 「臨床に直結する血栓止血学」( 朝倉英策編 ) 中外医学社、東京、168-178, 2013.

〔産業財産権〕

出願状況 ( 計 0 件 )

取得状況 ( 計 0 件 )

〔その他〕

ホームページ:

<http://www.3nai.jp/weblog/index.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

(2) 研究分担者

なし。

(3) 連携研究者

なし。