

研究種目：基盤研究（C）
 研究期間：2007～2008
 課題番号：19590549
 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クロストークと血管作動性物質の意義
 研究課題名（英文） Role of vasoactive substances on the cross-talk between inflammation and coagulation in disseminated intravascular coagulation

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：

LPS または組織因子(TF)で播種性血管内凝固症候群（DIC）モデルを作成し、血管作動性物質である一酸化窒素（NO）やエンドセリン（ET）の役割を評価した。両モデル間で、血管作動性物質は全く異なった役割を果たしていることが明らかになった。血管作動性物質を調節する薬物や PGI2 誘導体を DIC モデルに対して投与すると DIC 病態が変化することが確認され、治療応用が可能ではないかと考えられた。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007 年度	2,200,000	660,000	2,860,000
2008 年度	1,300,000	390,000	1,690,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

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：DIC、血管作動性物質、一酸化窒素、エンドセリン

1. 研究開始当初の背景

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、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。血管作動性物質は、DIC において循環動態に影響を与える可能性が高いが、その意義は従来ほとんど検討されてこなかったのが現状である。

DICモデルは、lipopolysaccharide (LPS) または組織因子 (tissue factor: TF) のいずれで誘発するかあまり意識して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サイトカインの発現や炎症の惹起の観点から大きな病態の差が見られることについて分子マーカーを駆使して解明した。このため、DICの病態解析には両モデルでの比較が不可欠で、この事はDIC研究の根幹に関わる重要な点と考えられる。

2. 研究の目的

DICにおいて、血管作動性物質は循環動態に影響を与える可能性が高いが、従来検討されてこなかった。今回、DICモデルを、LPSまたは組織因子(TF)で誘発して作成し、一酸化窒素(NO)やエンドセリン(ET)の動態を検討する。

また、過剰なNO産生や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。我々は近年脚光を浴びている炎症と凝固のクロストークに血管作動性物質が組み込まれていると推測しているが未だ不明である。この点を解明すると共に、凝固、炎症の両者に作用する薬剤を探索することにより、クロストークを遮断する方策を発見したい。

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、DIC惹起物質である LPS または TF を尾静脈より 4 時間かけて持続点滴し、DICモデルを作成。DIC 惹起物質投与前、投与中、投与後における凝血的のマーカーを測定する。
- (2) ET および NO の動態：血中 ET および

NOX (NO 代謝産物) 濃度の経時的推移、NO 合成酵素 (NOS) アイソザイム特異的インヒビター投与による NO 産生への影響、活性型凝固因子の特異的インヒビターと NO&ET 産生を評価する。

- (3) 血行動態のモニタリング：DIC モデルにおける血圧を経時的に測定。
- (4) 臓器障害および血栓形成の評価：臓器障害は、両 DIC モデルにおける臓器障害の進展を血中クレアチニン、ALT の経時的推移により評価する。血栓形成は腎臓糸球体におけるフィブリン沈着の程度を PTAH 染色にて評価する。
- (5) PGI2 誘導体 (ベラプロストナトリウム、BPS) の影響：DIC モデルに対して、BPS を投与して、凝固、線溶、炎症、血管作動性物質、病理所見、血行動態に対する影響を評価する。

4. 研究成果

LPS モデル (臓器障害は高度) においては、血中 ET は著増し、血中 NOX (NO 代謝産物) も中等度上昇した。この NOX の上昇は、特異的 iNOS 阻害薬である L-NIL により有意に抑制され、臓器障害が有意に軽減した。

一方、TF モデル (臓器障害は軽度) においては、血中 ET は上昇しなかったが、血中 NOX は著増した。TF モデルに対して、抗トロンビン薬であるアルガトロバンまたは抗 Xa 薬を投与したところ、血中 NOX の上昇は著しく抑制された。また、特異的 iNOS 阻害薬である L-NIL を投与しても、血中 NOX の動態に影響を与えなかったが、eNOS 阻害薬である L-NAME を投与したところ血中 NOX の上昇は有意に抑制された。

上記の結果より、LPS モデルにおいては iNOS が NO 産生の中心的役割を演じ、TF モデルにおいては eNOS が NO 産生の中心的役割

(トロンビンが刺激物質)を果たしているものと考えられた。また、LPS モデルにおける iNOS は臓器障害を助長し、TF モデルにおける eNOS は臓器保護的に作用しているものと考えられた。

DIC における臓器障害進展の原因としては、従来から指摘されてきた微小血栓の多発に伴う微小循環障害のみならず、血管作動性物質の果たす役割も大きいものと考えられた。

次に、抗炎症作用が期待されている PGI2 誘導体 (ベラプロストナトリウム : BPS) を LPS 誘発 DIC モデルに対して投与することにより、血管作動性物質や炎症に対する影響を検討した。その結果、LPS 誘発 DIC モデルにおいて、BPS は凝固異常 (血小板数、フィブリノゲン、D ダイマー、TAT、PT で評価) を改善した。また、同モデルにおける血中 TNF 濃度の上昇が強く抑制され (IL-6 濃度も軽度抑制)、NOX の上昇も有意に抑制された。ただし、血中 ET の上昇は、BPS によって更に上昇した。また、肝腎障害 (Cr、ALT で評価)、腎糸球体フィブリン沈着 (PTAH 染色で評価) に対する改善効果も明らかであった。BPS は血管拡張作用も有しているために血圧に対する効果も評価したところ、生理的ラットに対しても BPS は軽度の血圧低下作用を有していたが、LPS モデルに対して投与した場合も同程度の血圧低下が観察された。

BPS は、LPS 誘発 DIC モデルにおける凝固、炎症、血管作動性物質の観点から極めて魅力的な治療薬になりうるものと考えられた。

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 21 件) 主要論文のみ

- 1) 朝倉英策、前川実生、門平靖子 : 造血器腫瘍と血栓症。血液フロンティア 18: 1585-1593, 2008. 査読無
- 2) 朝倉英策、前川実生 : リコンビナントトロンボモジュリン。臨床検査 52: 1581-1586, 2008. 査読無
- 3) 朝倉英策、門平靖子 : 急性期 DIC 診断基準の考え方。検査と技術 36: 1425, 2008. 査読無
- 4) 朝倉英策、門平靖子 : 抗凝固剤の今と展望。BIO Clinica 12: 913-921, 2008. 査読無
- 5) 前川実生、朝倉英策 : 動物モデルを用いた DIC/臓器障害研究-最近の話題-。日本血栓止血学会雑誌 19: 369-377, 2008. 査読無
- 6) 林朋恵、朝倉英策 : DIC の病態・診断 (血栓止血の臨床-研修医のために)。日本血栓止血学会雑誌 19: 344-347, 2008. 査読無
- 7) Omote M, Asakura H, et al: Changes in molecular markers of hemostatic and fibrinolytic activation under various sampling conditions using vacuum tube samples from healthy volunteers. Thromb Res 123: 390-395, 2008. 査読有
- 8) Hayashi T, Asakura H, et al: Expression of annexin II in human atherosclerotic abdominal aortic aneurysms. Thromb Res 123: 274-280, 2008. 査読有
- 9) Morishita E, Asakura H, et al: Increased macrophage colony-stimulating factor levels in patients with Graves' disease. Int J Hematol 88: 272-277, 2008. 査読有
- 10) Misaki T, Asakura H, et al: Changes of the soluble fibrin monomer complex level during the perioperative period of hip replacement surgery. J Orthop Sci 13: 419-24. 2008. 査読有

- 11) Saito H, Maruyama I, Shimazaki S, Yamamoto Y, Aikawa N, Ohno R, Hirayama A, Matsuda T, Asakura H, Nakashima M, Aoki N: Efficacy and safety of recombinant human soluble TM (ART-123) in DIC: results of phase III randomized, double-blind, clinical trial. J Thromb Haemost 5: 31-41, 2007. 査読有
- 12) Koseki M, Asakura H, et al: Successful combined use of tranexamic Acid and unfractionated heparin for life-threatening bleeding associated with intravascular coagulation in a patient with chronic myelogenous leukemia in blast crisis. Int J Hematol 86: 403-406, 2007. 査読有
- 13) Takami A, Asakura H, et al: Immature platelet fraction for prediction of platelet engraftment after allogeneic stem cell transplantation. Bone Marrow Transplant 39: 501-507, 2007. 査読有
- 14) Takami A, Asakura H, et al: Safety and efficacy of foscarnet for preemptive therapy against cytomegalovirus reactivation after unrelated cord blood transplantation. Transplantation Proceedings 39: 237-239, 2007. 査読有
- 15) 朝倉英策, 門平靖子, 前川実生: DIC 臓器障害のヒエラルキー。クリニカ 34: 236-241, 2007. 査読無
- 16) 前川実生, 朝倉英策: DIC の治療とそのトピックス (ダナパロイドナトリウム)。Surgery Frontier 14: 289-294, 2007. 査読無
- 17) 門平靖子, 朝倉英策: 出血性疾患の実施診療の実際(DIC へのアプローチ)、Medical Practice 24: 2139-2144, 2007. 査読無
- 18) 門平靖子, 朝倉英策: 血栓性疾患における凝固検査の最前線。日本血栓止血学会雑誌 18: 127-139, 2007. 査読無
- 19) 御館靖雄, 朝倉英策: DIC における凝固・線溶・炎症とその制御。日本検査血液学会雑誌 8: 127-133, 2007. 査読無
- 20) 門平靖子, 朝倉英策: DIC の病態解析と新しい治療戦略。日本救命医療学会雑誌 21: 87-94, 2007. 査読無
- 21) 門平靖子, 朝倉英策: DIC に対する線溶／抗線溶療法。治療学 41: 289-290, 2007. 査読無
- [学会発表] (計4件) シンポジウムのみ
- 1) 朝倉英策: 血小板(数)異常を呈する疾患の病態ならびに診断—播種性血管内凝固症候群の病態と診断—第55回日本臨床検査医学会シンポジウム。2008.11.28. (名古屋)
- 2) 朝倉英策: がんと血栓症の最前線(基礎から臨床まで)—悪性腫瘍(造血器を含む)における血栓・止血異常とその対策—第31回日本血栓止血学会学術推進 SPC シンポジウム。2008.11.20 (大阪)
- 3) 朝倉英策: 組織因子およびLPS誘発DIC動物モデルの病態比較—凝固・線溶、炎症、薬物効果の観点から—日本血栓止血学会学術標準化委員会シンポジウム 2008.2.16. (東京)
- 4) 朝倉英策: DIC 治療ガイドラインとその後—血液内科における DIC 診断の現状と問題点—第30回日本血栓止血学会・日本救急医学会合同シンポジウム。2007.11.16 (伊勢)

[図書] (計5件) 主要著書のみ

- 1) 朝倉英策 : 抗腫瘍薬投与に伴う血栓症
「Annual Review 血液 (高久史磨, 小澤敬也, 坂田洋一, 金倉譲, 小島勢二編)」
p. 237-243, 中外医学社, 2009.
- 2) 朝倉英策 : 播種性血管内凝固症候群 (DIC)
「今日の治療指針 2009 年版」(山口徹、北原光夫、福井次矢 総集編) 医学書院、東京、522-524, 2009.
- 3) 朝倉英策、門平靖子 : 播種性血管内凝固症候群の概念・定義と疫学「静脈血栓症・肺塞栓症と DIC」(斉藤英彦編)、141-148 最新医学社、2008.
- 4) 前川実生、朝倉英策 : 血栓症モデル作成法 (組織因子誘発モデル)「小動物の血栓症・動脈硬化モデル作成法」(鈴木宏治編)、144-153、金芳堂、京都、2007.
- 5) 門平靖子、朝倉英策 : Xa 因子と血栓一病的血栓の発症に果たす Xa 因子の役割—「Xa 阻害薬のすべて」(丸山征郎、池田康夫、坂田洋一編) p. 45-53, 先端医学社, 東京, 2007.

[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