

肝虚血再灌流障害における von Willebrand 因子依存性炎症反応の制御

杉本充彦

奈良県立医科大学総合医療学

【研究の背景】

von Willebrand 因子 (VWF) は出血～血栓を双方向性に規定する代表的な血栓止血因子であるが、炎症性因子としての側面も最近注目されつつある。近年の研究で、心筋梗塞や脳梗塞などの血栓症の病態形成に VWF 依存性炎症反応が深く関与していることが示唆されているが、詳細なメカニズムは不明である。

一方、肝切除術や肝移植後の肝臓虚血再灌流障害 (hepatic ischemia-reperfusion injury: I/R injury) は患者の予後を大きく左右するが、その発症機序には不明な点が多い。

【目 的】

本プロジェクトでは、肝臓虚血再灌流障害病態をターゲットにして VWF 依存性炎症反応の分子・細胞メカニズムの解明に取り組む。VWF 機能制御を基盤としたさまざまな虚血再灌流障害に対する新機軸治療法の確立を目的とする。

【方 法】

本研究のターゲット分子である VWF ノックアウト (VWF-KO) マウスに肝臓虚血再灌流モデルを導入し、in vivo 実験検証を行った。また、生体において VWF の機能を制御する分子である ADAMTS13 の遺伝子組み換え製剤の hepatic I/R に対する効果を検証した。

マウス肝 I/R モデルは、マウスを開腹し肝動脈および門脈のクランプで肝左葉と中葉の血流を 90 分間遮断して作成した。肝血流はレーザードップラー血流計でモニターし、再灌流後の肝障害は再灌流 3, 6, 24 時間後の血中 ALT 値で評価した。組織炎症は 24 時間後の病理学的所見で評価した。

本実験を野生型 (WT) マウス、VWF-KO マウス、遺伝子組み換え ADAMTS13 (recombinant ADAMTS13:rADAMTS13) 投与マウスで実施した。I/R 後の肝臓類洞血管局所における白血球および血小板動態は、GFP マウスおよび VWF をノックアウトした GFP マウスの生体内顕微鏡によるリアルタイム生体内観察で行った。

【結 果】

I/R 後肝血流は WT マウスで虚血前の 60% 程度まで低下したが、VWF-KO マウスと rADAMTS13 投与マウスでは 88% 程度に留まっていた。これら I/R 後の肝血流低下は再灌流 1 時間後には完成していた。血中 ALT 値で把握される肝障害の程度は VWF-KO マウスで WT マウスの約 50% 程度、rADAMTS13 投与群で 60% 程度であった。再灌流 24 時間後の肝臓の病理組織学所見において、WT マウスでは類洞閉塞、肝細胞壊死、著明な好中球浸潤が確認されたが、VWF-KO マウスと rADAMTS13 投与マウスでは WT に比較して有意に軽度であった。

顕微鏡によるリアルタイム生体内観察では再灌流後に類洞内皮への白血球接着増加と白血球栓による類洞閉塞が確認されたが、これらは VWF-KO では有意に軽度であった。さらに、I/R 後に GFP マウス血中で観察された血小板の付着した白血球は、VWF-KO マウスでは殆ど観察されなかった。また、I/R 後の血管内皮への血小板付着増加は VWF-KO マウスでは有意に減少していた。

【考 察】

肝臓虚血再灌流障害の病態形成には、VWF 依存性の白血球と血管内皮との相互反応が重要な役割を演じていると考えられた。このメカニズムにおいて VWF と血小板との相互作用が関与する可能性が示唆された。rADAMTS13 の投与はこれら VWF 依存性反応を制御し、肝臓虚血再灌流障害を軽減させることが確認された(図 1)。

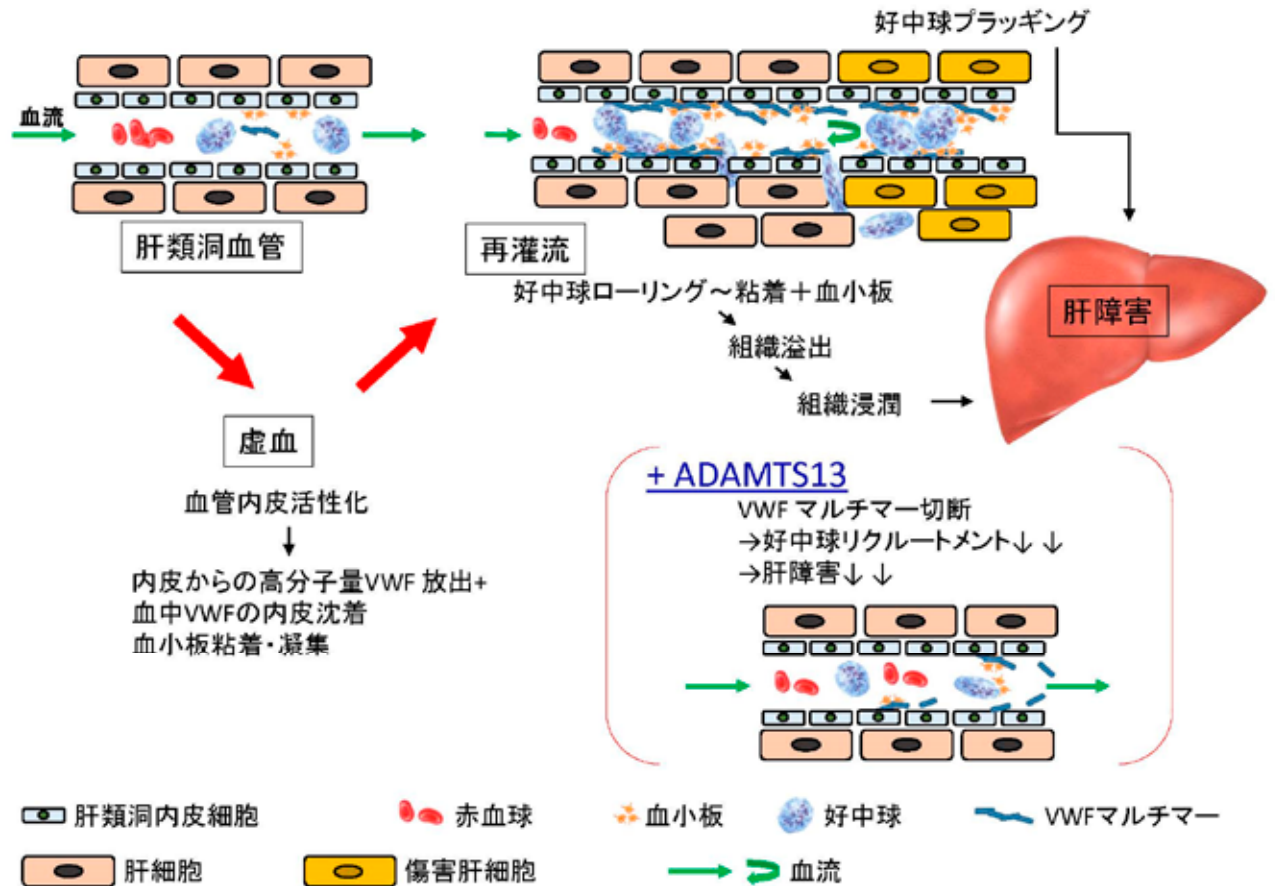


図1 肝虚血再灌流障害のVWF依存性メカニズム

【臨床的意義・臨床への貢献度】

肝臓は極めて血管が豊富な臓器であり、肝臓部分切除や肝臓移植などの肝臓手術においては、術中の過剰出血を防ぐ目的で意図的に間歇的な虚血—再灌流を行う必要がある。したがって肝虚血再灌流障害の克服は手術成功率の向上や移植後拒絶反応の軽減に直結し、肝臓外科領域における喫緊の命題となっている。本研究の「ADAMTS13 による VWF 依存性炎症反応の適正な制御」は、全く新たな切り口でこの病態の解明および新機軸治療法に直結すると考えている。

【参考・引用文献】

1. Urisono Y, Matsui H, Kasuda S, Ono S, Nishio K, Akiyama M, Miyata T, Okuchi K, Sugimoto M. Functional relevance of von Willebrand factor in mouse model of hepatic ischemia-reperfusion injury (Meeting Abstract of ASH Annual Meeting; Blood 128:1356, 2016)
2. Urisono Y, Matsui H, Nishio K, Okuchi K, Sho M, Sugimoto M. Relevant role of von Willebrand factor-ADAMTS13 axis in hepatic ischemia-reperfusion injury (Meeting Abstract of EHA Annual Meeting; Abstract No.1590, 2017)