



## INCREASED PROCOAGULANT AND ANTIFIBRINOLYTIC ACTIVITIES IN THE LUNGS WITH IDIOPATHIC PULMONARY FIBROSIS

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 浜松医科大学 公開日: 2014-11-04 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 小谷, 泉 メールアドレス: 所属:
URL	<a href="http://hdl.handle.net/10271/1507">http://hdl.handle.net/10271/1507</a>

学位論文の内容の要旨及び論文審査の結果の要旨

学位記番号	医博論第 230号	学位授与年月日	平成 8年 2月16日
氏 名	小 谷 泉		
論文題目	<p>INCREASED PROCOAGULANT AND ANTIFIBRINOLYTIC ACTIVITIES IN THE LUNGS WITH IDIOPATHIC PULMONARY FIBROSIS (特発性間質性肺炎の気管支肺胞洗浄液中の凝固線溶因子の検討)</p>		

博士(医学) 小 谷 泉

## 論文題目

### INCREASED PROCOAGULANT AND ANTIFIBRINOLYTIC ACTIVITIES IN THE LUNGS WITH IDIOPATHIC PULMONARY FIBROSIS

(特発性間質性肺炎の気管支肺胞洗浄液中の凝固線溶因子の検討)

## 論文の内容の要旨

特発性間質性肺炎 (Idiopathic pulmonary fibrosis : IPF) は原因不明で進行性で診断後の平均生存期間が4年から5年で死に至る疾患である。IPF 患者における肺局所病態への、凝固線溶系因子の関与を解明する一端として気管支肺胞洗浄液 : Bronchoalveolar lavage fluid (BALF) 上清と BALF 細胞成分破砕上清に含まれる Tissue factor (TF)、Tissue type plasminogen activator (t-PA)、Urinary type plasminogen activator (u-PA)、Plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1)、Plasminogen activator inhibitor-2 (PAI-2) を測定し、正常人と比較した。また、IPF 症例において肺組織の免疫染色をおこなった。

対象は開胸肺生検にて診断した無治療の IPF 患者13名とコントロールとして肺疾患の既往のない健康人9人である。

BALF 上清濃縮液、細胞成分破砕上清において以下の物質の抗原量を測定した。

TF : American diagnostica 社 (IMUBAND Tissue Factor ELISA Kit)

t-PA & u-PA : 酵素免疫測定法

PAI-1 & PAI-2 : Biopool 社 (Tint-Elize PAI-1 & PAI-2)

protein : PIERCE 社 BCA protein Assay

結果はすべて検体中の蛋白濃度で補正した。

免疫染色は以下の mouse monoclonal antibodies を用いてビオチンアビディン法で染色した。

TF : American diagnostica 社 (#4509)

u-PA : American diagnostica 社 (#3689)

PAI-1 : Biopool 社 (MAI-11)

PAI-2 : Biopool 社 (MAI-12)

TF の染色には凍結切片を、また u-PA, PAI-1, PAI-2 の染色にはパラフィン切片を用いた。正常コントロールは肺癌症例の切除肺より得た正常部位を用いた。

結果 1. BALF 上清濃縮液中の TF は、コントロール (0~451.4pg/mg protein) に比し、IPF 患者では  $358.2 \pm 87.4$  pg/mg protein) と明らかに高値を示した。さらに特に病状が進行性であった症例の BALF 上清濃縮液中の TF は 6342.2 (No.1), 6708.3 (No.2), 1116.8 (No.3) pg/mg protein と極端な高値を示した。これに対し、細胞成分破砕上清中の TF は両者に差はなかった。

2. BALF 上清濃縮液の PAI-1 は、コントロールでは検出されなかったのに対し、IPF 患者では  $1.7 \pm 4.1$  ng/mg protein と明らかに高値を示した。BALF 上清濃縮液中の PAI-2, u-PA は両者に差はなかった。

3. t-PA は IPF 患者、コントロール共にいずれの検体中にも検出されなかった。

4. 細胞成分破砕上清中の PAI-2 は、IPF 患者はコントロールに比し明らかに高値を示した ( $14.4 \pm 12.2$  vs  $3.0 \pm 3.0$  ng/mg protein)。BALF 中の細胞成分は肺胞マクロファージが大部分であり

(約90%)、他の細胞にはほとんどu-PA, PAI-1, PAI-2 がないため、これらの値はすべて肺胞マクロファージ中の値を示していると思われた。細胞成分破碎上清中の PAI-1, u-PA は両者の間に差はなかった。

5. 免疫染色で TF は IPF 患者の胞隔炎の部位の cuboidal epithelial cell に強陽性を示した。コントロールでは TF は陰性であった。

6. 免疫染色で IPF 患者の肺組織において PAI-1, PAI-2 共に cuboidal epithelial cell と肺胞マクロファージに強陽性を示した。コントロールでは PAI-1, PAI-2 共に陰性であった。

7. u-PA は両者いずれも基底膜が僅かに染色されるのみであった。

結論 1. IPF 患者の BALF 上清濃縮液中の TF は、コントロールに比し明らかに高値を示し、特に病状が進行性であった症例の TF が極端な高値を示したことにより、IPF 患者の肺局所では凝固系が活性化されており、TF は病勢を現わしていると考えられた。免疫染色により胞隔炎の部位の cuboidal epithelial cell が TF に強陽性であったことより、刺激された肺胞マクロファージと cuboidal epithelial cell も BALF 中の TF 増加に関与していると思われた。

2. BALF 中において u-PA は両者の間に差はないが、PAI-1, PAI-2 が IPF 患者において明らかに高値であることより IPF 患者の肺局所では線溶系が抑制されており、フィブリンが沈着しやすい環境にあると考えられた。そして、免疫染色で PAI-1, PAI-2 いずれも肺胞マクロファージとともに cuboidal epithelial cell も強く染色されたことより、肺胞マクロファージのみならず cuboidal epithelial cell も IPF 患者の肺局所での線溶抑制に大きく関与していると思われた。

以上より、IPF 患者の肺局所では凝固系が亢進し、線溶系が抑制され、フィブリンが沈着されやすい状態にあると考えられた。そしてその病態には肺胞マクロファージのみならず cuboidal epithelial cell が大きく関与していると思われた。

## 論文審査の結果の要旨

特発性間質性肺炎は原因が不明で、突然発症し、かつ進行性経過をたどり、診断後の平均生存期間が4年から5年で死に至る重篤な疾患である。本症の肺病理所見では肺間質に特異な線維性肥厚と肺胞の破壊がみられ、有効肺胞面積が減少することにより呼吸困難などの臨床症状を呈するものと思われる。申請者はこの疾患の病態を解明するために、肺局所の状態を反映すると考えられる気管支肺胞洗浄液：Bronchoalveolar lavage fluid (BALF) に着目し、そこに凝固線溶系因子がどのように関与しているかについて検討した。

BALF 上清と BALF 細胞成分破碎上清に含まれる Tissue factor (TF)、Tissue type plasminogen activator (t-PA)、Urinary type plasminogen activator (u-PA)、Plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1)、Plasminogen activator inhibitor-2 (PAI-2) を特発性間質性肺炎患者13名について測定し、肺疾患の既往のない健常人(コントロール) 9名と比較した。また、特発性間質性肺炎患者の病変部位、および肺癌患者肺組織の正常な部位(コントロール)について、免疫染色も併せて行った。

その結果、(1) BALF 上清濃縮液中の TF は、コントロール  $0 \sim 451.4 \text{ pg/mg protein}$  に比し、患者では  $1448.9 \pm 2273.8 \text{ pg/mg protein}$  と高値を示した。特に病状が進行性であった3症例の BALF 上清濃縮液中の TF はそれぞれ  $6342.2, 6708.3, 1116.8 \text{ pg/mg protein}$  と極めて高値であった。PAI-1 は、コントロールでは検出されなかったのに対し、患者では  $1.7 \pm 4.1 \text{ ng/mg protein}$  と明らかに高

値を示した。PAI-2, u-PA は両者に差はなかった。t-PA は患者、コントロール共に、いずれの検体中にも検出されなかった。(2) 一方、細胞成分破砕上清中の TF は両者に差はなかった。PAI-2 は、患者ではコントロールに比し明らかに高値を示した ( $14.4 \pm 12.2$  vs  $3.0 \pm 3.0$  ng/mg protein)。BALF 中の細胞成分は肺泡マクロファージが大部分であり (約90%)、他の細胞には u-PA, PAI-1, PAI-2 がほとんど存在しないため、細胞成分破砕上清中の TF, u-PA, PAI-1, PAI-2 の値はすべて肺泡マクロファージに由来するものと思われた。細胞成分破砕上清中の PAI-1, u-PA は両者の間に差はなかった。(3) 免疫染色では TF が患者の胞隔炎の部位の肺泡上皮細胞に強陽性を示した。コントロールでは TF は陰性であった。PAI-1, PAI-2 については共にコントロールでは陰性であるのに対し、患者の cuboidal epithelial cell と肺泡マクロファージに強陽性を示した。u-PA は両者いずれも基底膜が僅かに染色されるのみであった。

以上、特発性間質性肺炎患者の BALF 上清濃縮液中の TF は健常者に比し明らかに高値であり、特に病状が進行性であった症例の TF が極端な高値を示したことにより、患者の肺局所では凝固系が活性化されており、TF の変動は病勢を現わしていると考えられた。また、免疫染色により胞隔炎の部位の cuboidal epithelial cell において TF が強陽性に染色されたことより、これが BALF 中の TF 増加に関与していると推察された。一方、BALF 中の PAI-1, PAI-2 が患者において明らかに高値であったことより、患者の肺局所では線溶系が抑制されており、フィブリンが沈着しやすい環境にあると考えられた。さらに免疫染色で PAI-1, PAI-2 いずれもが肺泡マクロファージとともに cuboidal epithelial cell にも強く染色されたことより、肺泡マクロファージのみならず cuboidal epithelial cell も肺局所での線溶抑制に大きく関与していると考えられた。即ち、特発性間質性肺炎患者の肺局所では凝固系が亢進し、線溶系が抑制され、フィブリンが沈着されやすい状態にあり、その病態には肺泡マクロファージと cuboidal epithelial cell が関与していることが明らかにされた。

本研究は特発性間質性肺炎患者の病変部位における状態、殊に凝固線溶状態を、気管支肺泡洗浄液、並びに肺組織を用いて検討したものであり、本疾患の病態を知る上で重要な示唆を与える研究であると考えられ、本研究の意義は大きいものと高く評価された。

申請者の発表に対し、次のような質疑が行われた。

- 1) 特発性間質性肺炎の病理学的特徴について
- 2) 特発性間質性肺炎で肺癌の合併が多いのはなぜか？また発生する癌の組織型に特徴はあるか
- 3) 気管支肺泡洗浄法の手技について
- 4) BALF に含まれている細胞、各種蛋白、酵素などについて
- 5) 肺疾患の差による BALF 成分の差異について
- 6) 特発性間質性肺炎の患者に開胸肺生検をする意味は何か
- 7) 気管支肺泡洗浄を行ったコントロールはどのような症例か
- 8) BALF 上清中で高値を示した Tissue Factor (TF) の起源について
- 9) TF インヒビターもしくは TF の活性について検討したか
- 10) 特発性間質性肺炎の原因をどのように考えているのか

これらの質問に対し申請者の解答は適切であり、問題点も十分理解しており、博士(医学)の学位論文にふさわしいと審査員が全員一致して評価した。

論文審査担当者 主査 教授 寺 尾 俊 彦

副査 教授 寺 川 進 副査 教授 吉 見 輝 也

副査 助教授 三 浦 克 敏 副査 講師 鈴 木 一 也