

Tissue factor expression and fibrin deposition in the lungs of patients with idiopathic pulmonary fibrosis and systemic sclerosis

メタデータ	言語: jpn 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: 妹川, 史朗 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/10271/1061

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	医博第 208号	学位授与年月日	平成 8年 3月26日
氏名	妹川史朗		
論文題目	Tissue factor expression and fibrin deposition in the lungs of patients with idiopathic pulmonary fibrosis and systemic sclerosis (特発性肺線維症と全身性強皮症に合併した間質性肺炎における組織因子、およびフィブリンの局在に関する検討)		

博士(医学) 妹川史朗

論文題目

Tissue factor expression and fibrin deposition in the lungs of patients with idiopathic pulmonary fibrosis and systemic sclerosis

(特発性肺線維症と全身性強皮症に合併した間質性肺炎における組織因子およびフィブリンの局在に関する検討)

論文の内容の要旨

(目的)

特発性肺線維症 (idiopathic pulmonary fibrosis:IPF) は、慢性、進行性に肺の線維化をきたす予後不良な疾患であり、その機序として局所の肺障害が推定されているが、詳細は不明である。

局所における fibrin の沈着は、fibronectin の関与を介して線維芽細胞の遊走や増殖に関与する。IPF 患者では、気管支肺胞洗浄 (bronchoalveolar lavage: BAL) 液中の凝固系および抗線溶系が活性化されていることが知られている。Tissue factor (TF) は膜内在性の蛋白で、外因型凝固系の初期段階を規定する重要な因子である。IPF では BAL 液中の TF が、進行例で高値を示すが、その意義は明らかではない。そこで、IPF の肺線維化における TF の役割を検討する目的で、IPF および IPF と類似の組織および画像所見を認める間質性肺炎を合併した全身性強皮症 (systemic sclerosis: SSc)、急性肺障害の組織所見を呈する特発性の idiopathic bronchiolitis obliterans organizing pneumonia (BOOP) について、肺組織中 TF の局在および fibrin との関係につき検討した。

(対象)

組織学的に usual interstitial pneumonia (UIP) の所見を認めた IPF 患者10例、UIP 類似の組織所見を認める間質性肺炎を合併した SSc 患者 4 例、特発性 BOOP 3 例、および治療目的で肺切除を施行された肺癌患者10例を対象とした。

(方法)

- 1) 免疫組織学的検討: ホルマリン固定パラフィン切片を 3 mm の連続切片で切り出し、ヒト TF および surfactant protein-A (SP-A) に対する単クローン抗体を用いて、ストレプトアビジン-ビオチン法にてその局在、および両者の関係につき検討した。また、凍結未固定肺組織にて、fibrin の局在についても単クローン抗体を用いて、同様の方法で検討した。
- 2) in situ hybridization による検討: 4 % パラホルムアルデヒドで固定した凍結組織を用い、ジギキニンで標識したヒト TF に対する cRNA プロブを用いて、IPF 4 例、SSc 2 例、肺癌患者 4 例につき、TF の mRNA の局在につき検討した。

(結果)

- 1) 免疫組織学的検討: 正常肺では TF 陽性細胞は、気道上皮のごく一部にみられるのみであった。IPF 患者の線維化肺では、TF は線維化周囲を覆う上皮と一部のマクロファージと思われる単核細胞で陽性所見がみられた。これらの上皮は連続切片で SP-A にも陽性であったことから、II 型上皮であると考えられた。また、fibrin は形態的に II 型上皮と思われる上皮の周囲に陽性所見を認めた。SSc でも IPF と同様の結果であったが、一部の患者で、均一に胞隔の浮腫性肥厚を認める領域の II 型上皮にも TF が陽性であり、その周囲にも fibrin が認められた。また、特発性 BOOP でも TF は II 型上皮に認められ、周囲に fibrin の沈着がみられた。

2) in situ hybridization による検討:IPF および SSc では、TF の mRNA は線維化周囲のⅡ型上皮および一部のマクロファージで発現が認められた。

(考案ならびに結語)

従来より、Ⅱ型上皮細胞は肺組織障害の修復に関与すると考えられており、慢性経過を呈するIPF、SScのみならず、急性肺障害パターンを示す特発性 BOOP でも TF の局在がⅡ型上皮にみられたことから、肺における TF の発現は、病因固有の現象ではなく、肺組織障害における再生の一般的過程を観察している可能性がある。

この一方で、何らかの機序でⅡ型上皮における持続的な TF 産生の亢進が生じ、この外因系凝固系の活性化による周囲への fibrin の沈着が線維芽細胞の遊走・増殖を促進し、肺線維化に関与している可能性も否定されるものではなく、Ⅱ型上皮活性化機序の解明が、IPF および膠原病に合併した間質性肺炎の線維化機序解明に重要であると考えられた。しかし、このような現象は IPF に特異的ではなく、肺組織障害における生体の反応であると考えられ、IPF や SSc ではこのような肺障害が局所で持続的に起こっている可能性が示唆された。

論文審査の結果の要旨

進行性に肺の線維化を示し予後不良な難治性肺疾患の1つ特発性肺線維症 (idiopathic pulmonary fibrosis:IPF) では、線維化肺に外因型凝固系を規定する膜内在性の tissue factor (TF) が高値を示し、それが局所の fibrin 沈着や、線維芽細胞の遊走、増殖に関与すると考えられているが、その詳細は明らかでない。申請者は TF 産生を肺障害に対する細胞学的修復機構の1つととらえ、IPF とその類似肺疾患の肺組織における TF の局在と fibrin 沈着の関係を免疫組織化学的手法によって解明しようとした。

申請者の口頭発表、および論文について審査した結果、審査委員会において評価された点はつぎのとおりである。

1. 研究は目的に対してよく焦点がしぼられてなされており、しかも用いられた材料、および方法はほぼ適切であると評価された。すなわち、IPF10例、間質性肺炎を合併した全身性強皮症 (systemic sclerosis:SSc) 4例、idiopathic bronchiolitis obliterans organizing pneumonia (BOOP) 3例、肺癌10例の患者から生検、あるいは切除で肺組織を採取し、ホルマリン固定パラフィン包埋切片を作成し、抗ヒト TF、および surfactant protein-A (SP-A) 単クローン抗体を用いてストレプトアビジン-ビオチン法で免疫組織化学染色をおこなった。fibrin は凍結切片標本を作成し、抗 fibrin 単クローン抗体を用い同様に検索した。また、TF の mRNA の局在はジゴキシゲニン標識ヒト TF・cRNA プロブを用いた in situ hybridization 法で検索した。これらの方法は、いずれもすでによく確立されたものであり精度と再現性に問題はないと評価された。

2. IPF 線維化肺の SP-A 陽性のⅡ型上皮とマクロファージにおいて TF 陽性所見が認められた。さらに上皮の周囲に fibrin 沈着像が認められた。SSc、および特発性 BOOP においても TF 陽性のⅡ型上皮と、その周辺に fibrin 沈着が認められた。なお、正常肺組織では TF 陽性細胞は気道上皮のごく一部に認められるのみであった。

Ⅱ型上皮、およびマクロファージにおける TF の局在は、in situ hybridization 法による mRNA レベルにおいても確認された。これらの所見を基に申請者は、肺における TF の発現は、急性、および慢性経過に関係なく肺組織障害に対する組織修復から再生の細胞反応に随伴して惹起されるものであ

り、IPF や SSc はこの反応が遷延的に長期間持続する病態であると主張した。審査委員会では、本研究はⅡ型上皮細胞の活性化機序を TF 産生の面から追求し、fibrin 沈着との関連性を示すことにより、線維芽細胞の遊走・増殖による肺線維化の機序を解明する上できわめて示唆に富むものであると高く評価された。

審査の過程において申請者に対し次のような質問をおこなった。

1. IPF において TF 陽性上皮細胞が臓側胸膜直下に初発する理由
2. IPF においてリンパ球浸潤やリンパ濾胞形成の好発部位はどこか
3. TF の生産とその作用機序について
4. TF は全てが膜内在性か、気管支洗浄液中に分泌されるか
5. TF-cRNA 作成においてプライマーとして何を用了か
6. 肺マクロファージをどのように同定したか
7. クララ細胞とⅡ型上皮の鑑別法は
8. IPF のⅠ型上皮は TF 陰性か
9. IPF において TF 陽性Ⅱ型上皮細胞の増殖がみられるか
10. fibrin 沈着とフィブロネクチンの線維芽細胞遊走促進作用について
11. IPF と BOOP との病態変化の相違について

以上の質問に対して申請者よりほぼ適切な解答が得られたので、本論文は博士（医学）の授与に相応しい内容を備えていると全員一致で判定した。

論文審査担当者	主査	教授	山下	昭				
	副査	教授	大野	龍三	副査	教授	吉見	輝也
	副査	助教授	小出	幸夫	副査	助教授	三浦	克敏