

Relevance of tissue factor and tissue factor pathway inhibitor for hypercoagulable state in the lungs of patients with idiopathic pulmonary fibrosis

メタデータ	言語: jpn 出版者: 浜松医科大学 公開日: 2014-10-31 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 藤井, 雅人 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/10271/1664

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 387号	学位授与年月日	平成16年 3月 9日
氏名	藤井雅人		
論文題目	<p>Relevance of tissue factor and tissue factor pathway inhibitor for hypercoagulable state in the lungs of patients with idiopathic pulmonary fibrosis (特発性肺線維症患者の肺における凝固能亢進状態に対する tissue factor と tissue factor pathway inhibitor の関連)</p>		

論文題目

Relevance of tissue factor and tissue factor pathway inhibitor for hypercoagulable state in the lungs of patients with idiopathic pulmonary fibrosis

(特発性肺線維症患者の肺における凝固能亢進状態に対する tissue factor と tissue factor pathway inhibitor の関連)

論文の内容の要旨

[はじめに]

特発性肺線維症 (idiopathic pulmonary fibrosis: IPF) は、肺間質の炎症と線維化が進行して呼吸不全に至る予後不良な原因不明の疾患である。現在のところ、明確なエビデンスを示す治療法は示されておらず、治療につながる病態の解明が望まれている。IPF の線維化進行の機序に関しては、従来よりサイトカイン・バランスや線維芽細胞の動態等の検討がなされているが、我々は線溶・凝固系に注目し、IPF 患者の肺局所における凝固系の活性化状況を検討した。

Tissue factor (TF) は細胞膜に存在する蛋白質で外因系凝固機序の開始因子である。以前、我々は IPF 患者の肺では TF 抗原量が増加し、肺内における凝固活性が上昇していることを示した。同時に、TF は立方状肺胞上皮細胞に局在し、その周囲にフィブリンが沈着していたことから、TF が肺の線維化病態において重要な役割を果たしていることを示唆した。

Tissue factor pathway inhibitor (TFPI) は、TF・活性型血液凝固第 VII 因子複合体により開始される外因系凝固反応を制御するプロテアーゼ・インヒビターであり、1988 年に Brozes らによりヒト TFPI のアミノ酸配列が決定されて以来、機能と構造に関する研究は急速な進歩を遂げている。現在、局所での凝固亢進状態が問題となる敗血症や DIC、さらに血管傷害後の血栓症などにおいて病態的研究や治療薬としての検討が行われているところである。

今回、IPF 患者の肺局所での凝固状態に対する TF と TFPI の関連を調査するために、気管支肺胞洗浄液 (bronchoalveolar lavage fluid: BALF) における TF および TFPI の抗原量と凝固活性、ならびに肺組織における両因子の局在を検討した。

[患者ならびに方法]

IPF 患者 22 例 (進展例 5 例、非進展例 17 例) および健常者 (対照) 10 例の BALF 上清成分を濃縮後、TF、TFPI の抗原量を enzyme-linked immunosorbent assay 法により測定した。次に、TF 活性を chromogenic assay を用い、総凝固能を recalcification assay を用い測定した。

また、IPF 患者より得られた生検肺組織ならびに対照として肺癌切除検体の健常部肺組織の凍結切片を用い、ヒト TF および TFPI に対する単クローン抗体を一次抗体としたアビジン-ビオチン法により免疫染色を行った。

[結果]

1) BALF 上清における TF と TFPI の抗原量

IPF 患者の BALF 上清では、対照と比較して TF および TFPI 抗原量が有意に上昇しており、進展例と非進展例との比較では、両抗原量とも前者でより高値を示した。また、TF 抗原量と TFPI 抗原量の間には、正の相関がみられた ($R_s=0.541, p<0.05$)。

2) BALF 上清における凝固活性と TF および TFPI 抗原量との関係

IPF 患者の BAL 上清では、TF 活性および総凝固活性が有意に高値を示した。TF 抗原量と TF 活性の間には正の相関がみられ ($R_s=0.651, p<0.01$)、さらに TF 抗原量と総凝固活性の間にも正の相関 ($R_s=0.434, p<0.05$) がみられたことより、IPF 患者の肺局所では、TF が凝固系に影響を与える重要な因子であることが示唆された。一方、TFPI 抗原量と TF 活性の間にも正の相関がみられた ($R_s=0.550, p<0.01$)。

3) IPF 患者における TF、TFPI の局在

IPF 患者の肺組織に対する免疫組織学的検索では、TF および TFPI ともに、主として過形成した立方状肺胞上皮細胞における局在が認められた。一方、健常肺組織では TF および TFPI ともに肺胞上皮細胞における局在は認められなかった。

[考察ならびに結論]

IPF 患者では、TF と TFPI がともに立方状肺胞上皮細胞に局在しており、肺局所での凝固系の動態には、過形成した立方状肺胞上皮細胞が深く関与していると考えられた。また、従来の報告では、TFPI の生理的条件下での局在は血管内皮細胞であるとされてきたが、IPF 病態では、増殖した立方状肺胞上皮細胞における発現の可能性が示された。

IPF 患者では、TF 抗原量ならびに総凝固活性とともに、TFPI 抗原量の増加が観察された。これらの所見は、今回みられた程度の TFPI 増加では、IPF 患者の肺における凝固活性亢進状態を抑制するには不十分である可能性を示している。

フィブリンは、線維芽細胞の接着と増殖を促すことが知られている。IPF 患者の肺内では凝固系の活性亢進が十分に是正されず、局所におけるフィブリン沈着が生じていることが推定され、IPF における凝固活性のコントロールは、線維化の進展抑制につながっていく可能性がある。

論文審査の結果の要旨

特発性肺線維症 (idiopathic pulmonary fibrosis: IPF) は、肺間質の炎症と線維化が進行して呼吸不全に至る予後不良な原因不明の疾患である。申請者らは IPF の新しい治療につながる病態の解明の目的で、肺胞壁におけるフィブリンの過形成と IPF の線維化に着目した。血液凝固の初期作動物質である tissue factor (TF) と IPF の関連について気管支肺胞洗浄液 (bronchoalveolar lavage fluid: BALF) を用いて研究を行なった。また IPF 患者の肺組織に対する免疫組織学的検索も同時に行なった。

研究は IPF 患者 22 例 (進展例 5 例、非進展例 17 例) および健常者 (対照) 10 例の BALF 上清を用いて行なった。申請者らは BALF 上清中の TF、tissue factor pathway inhibitor (TFPI) の抗原量を enzyme-linked immunosorbent assay 法により測定した。また、TF 活性を chromogenic assay を用い、総凝固能は recalcification assay を用い測定した。IPF 患者より得られた生検肺組織と、対照として肺癌切除検体の健常部肺組織の凍結切片を用いヒト TF および TFPI の免疫染色を行った。

申請者らは以下の結果を得た。

1) BALF 上清における TF と TFPI の抗原量では、IPF 患者で対照と比較して TF およ

び TFPI 抗原量が有意に上昇していた。進展例と非進展例との比較では、両抗原量とも進展例でより高値を示した。TF 抗原量と TFPI 抗原量の間には、正の相関がみられた。

2) IPF 患者の BAL 上清では、TF 活性および総凝固活性が有意に高値を示した。TF 抗原量と TF 活性の間には正の相関がみられ、さらに TF 抗原量と総凝固活性の間にも正の相関がみられた。一方、TFPI 抗原量と TF 活性の間にも正の相関がみられた。

3) IPF 患者の TF および TFPI の局在は主に立方状肺胞上皮細胞に見られたが、健常肺組織では TF および TFPI ともに発現が認められなかった。

以上の結果から注目すべき点として2つが挙げられる。第1に IPF 患者ではより重症例の進展型で非進展例と比較して TF 抗原量、TF 活性、総凝固活性が有意に上昇していたことである。そして TF の特異的インヒビターである TFPI は IPF 患者で上昇していたもの TF 活性を抑制するには不十分であることが考えられた。TFPI の産生不全が TF 活性の上昇の1因であることが示唆された。第2に IPF 患者では TF と TFPI がともに立方状肺胞上皮細胞に局在しており、肺局所での凝固系の動態には立方状肺胞上皮細胞が密接に関連することを見出した点である。立方状肺胞上皮細胞の TF 発現の制御が IPF の病態改善につながることを示したことは重要であろう。

本研究は IPF の病態解明に発展しうる有益な研究であると考えられた。

審査委員会は本論文について、次のような試問を行った。

- 1) 病態を進展型と非進展型に分類した根拠について
- 2) フィブリン形成により IPF の重症度を評価する意義について
- 3) BALF 上清中の TF、TFPI の測定の基準について
- 4) BALF 上清中の TF、TFPI の存在形式について
- 5) BALF 上清中の他の凝固因子について
- 6) TF 活性に用いる合成基質について
- 7) TFPI と TF の解離定数について
- 8) 各種臨床パラメーターと TF、TFPI との相関について
- 9) TF と炎症性サイトカインの関連について
- 10) Hypoxia が TF を誘導する機序の可能性について
- 11) TFPI の臨床応用について

これらの試問に対して、申請者からは適切な解答が得られた。問題点も充分理解しており、このことより博士（医学）の学位論文にふさわしいと審査員全員一致で判定した。

論文審査担当者 主査 金山 尚 裕
副査 筒井 祥 博 副査 今野 弘 之