

論文内容の要旨

報告番号	空欄	氏名	土井 政明
Coagulation potentials of immobilized factor VIII in flow-dependent fibrin generation on platelet surfaces			
(和 訳)			
血小板膜上での血流依存性フィブリン形成における固定化第 VIII 因子の凝固促進能			

論文内容の要旨

凝固第VIII因子(FVIII)は止血メカニズムにおいて中心的役割を果たすことが知られており、実際、この因子の先天性機能欠損症は血友病Aとして重篤な出血兆候を示す。従来、FVIIIの生物学的活性は概ね静止系の閉鎖攪拌システムでのin vitro凝固アッセイで評価されてきた。しかしながら、生体での止血メカニズムにおける血液凝固反応は生理的血流状況下の血小板膜上(固相)でのフィブリン形成であり、上述の液相でのin vitroアッセイの設定とは大きく異なる。したがって今回、FVIIIの生物学的活性を、生理的血流状況下における血小板血栓上でのフィブリン形成能で評価するin vitro実験系を確立した。この実験系において、従来の血流中の液相FVIII(soluble FVIII; S-FVIII)と区別して、血栓形成反応局所に固定化されたFVIII(immobilized FVIII; I-FVIII)の機能を評価することが可能となった。

von Willebrand因子(VWF)を固相化したガラスプレートに種々濃度の遺伝子組み換えFVIIIを反応させ、様々な表面密度のI-FVIII(-VWF)プレートを作製した。in vitroフローチャンバー実験システムを用いて全血を灌流させ、このI-FVIIIプレート上の血栓形成を共焦点レーザー顕微鏡で観察し、抗フィブリノゲン抗体と抗フィブリン特異抗体による二重免疫蛍光標識法で血栓内フィブリン形成を評価した。

その結果、I-FVIIIはS-FVIIIに依存しないで、高ずり応力下における血栓内フィブリン形成を抗原量依存性に増強した。このI-FVIIIの血栓内フィブリン生成増強効果は、コントロール血に抗ヒトFVIII抗体(インヒビター)を反応させて作成した合成‘後天性’血友病全血灌流においてもコントロール血と同様に認められ、その効果は血液中の抗第VIII因子インヒビター力価に影響を受けなかった。

以上の成績から、速い血流状況の高ずり応力下での血栓内凝固反応においては、血中凝固因子は血流に抗して血栓内に組み込まれる必要があり、血栓形成現場の基底部・深部に固定された凝固因子は、液相の凝固因子よりも効果的に凝固メカニズムに貢献できることが示された。

今回明らかとなったI-FVIIIの凝固促進効果は、S-FVIIIよりも抗第VIII因子インヒビターに抵抗性であり、この概念を応用したインヒビター保有血友病患者に対する新規止血療法の可能性を示唆した。