

第16回東京女子医科大学血栓止血研究会

日 時 平成7年9月29日(金) 6:00~8:00 pm

場 所 第一臨床講堂

当番世話人挨拶

(循環器内科) 細田 瑛一

一般演題

座長 (国立横浜病院臨床研究部) 青崎正彦

1. トロンボポエチンの巨核球系細胞への作用とシグナル伝達についての検討
(血液内科) 吉永健太郎・岩部弘治・寺村正尚・溝口秀昭
2. 各種カルシウム拮抗薬の in vitro におけるアゴニストおよびズリ応力におよぼす影響
(神経内科) 松本直美・内山真一郎・山崎昌子・橋口孝子・岩田 誠
3. 卵巣癌における urokinase-type plasminogen activator とその receptor および inhibitor の定量の臨床的意義
(産婦人科) 柿木成子・菊地愛子・石巻静代・矢島正純・武田佳彦
(母子センター) 中林正雄
4. 解離性大動脈瘤における凝血学的検討
— 解離腔の血栓閉塞の指標となり得るか —
(心臓血管研究所) 佐藤加代子・岩出和徳・大木勝義・薄井秀美・早船直彦・半田 淳・山下倫生・一方井裕子・雨宮邦子・細田瑛一・橋本明政
(国立横浜病院臨床研究部) 青崎正彦

特別講演

座長 (循環器内科) 細田 瑛一

血小板機能異常症—ベッドサイドから分子へ—

(京都大学医学部第一内科 教授) 大熊 稔

1. トロンボポエチンの巨核球系細胞への作用とシグナル伝達についての検討

(血液内科) 吉永健太郎・岩部弘治・寺村正尚・溝口秀昭

【はじめに】昨年 cloning されたトロンボポエチン (TPO) は、巨核球の増殖と分化および循環血小板数の調節をしていることが明らかとなっている。今後、化学療法後の血小板減少時への臨床応用や血小板数の異常を示す種々の疾患との関連の解明が期待されている。今回我々はトロンボポエチンの巨核球系細胞に対する作用を検討し、TPO の刺激がどのように細胞内で伝わるか、細胞内蛋白のチロシンリン酸化について明らかにすることを目的とした。

【方法】ヒト巨核球細胞株 Meg-J を用いて、TPO (キリン社より供与) の増殖に与える影響について³H-チミジンの取り込み法を用いて検討した。次に、分化に与える影響について血小板糖蛋白 (CD41, CD42) の変化をフローサイトメトリーで測定した。さらに、

TPO 刺激時のチロシンリン酸化によるシグナル伝達について、抗ホスホチロシン抗体を用いたイムノブロットング法で検討し、免疫沈降法を用いて関与する蛋白 (Shc, Sos, Grb2, Raf-1, MAP kinase, Jak2, Stat5) の同定を試みた。

【結果】Meg-J は TPO 刺激により軽度の³H-チミジンの取り込みの上昇が認められた。また、血小板糖蛋白 (CD41, CD42) の発現の増強も認められた。抗ホスホチロシン抗体を用いたイムノブロットング法では3分後より、130, 95, 42kD のチロシンリン酸化バンドが認められた。これらのバンドは免疫沈降を行うと Jak2, Stat5, MAP kinase であることが明らかとなった。さらに Shc, Sos, Grb2, Raf-1 の関与が明らかとなった。

【考察】以上の結果により、TPO は Meg-J の増殖と分化に関与しており、その細胞内刺激伝達系に関しては Shc, MAP kinase, Jak2, Stat5 の関与が示された。Jak kinase は STAT ファミリーへ、Shc は Ras へつ

なると考えられ、TPOの刺激伝達系には少なくとも2つの経路があることが示唆された。

2. 各種カルシウム拮抗薬のin vitroにおけるアゴニストおよびり応力におよぼす影響

(神経内科) 松本直美・内山真一郎・
山崎昌子・橋口孝子・岩田 誠

【目的】カルシウム拮抗薬は高血圧治療薬として頻用されているが、その血小板凝集能に及ぼす影響は、これまであまり検討されていない。カルシウムは血小板活性化のsecond messengerとして重要な役割を果たしている。今回、我々はin vitroで種々のアゴニストとり応力による血小板凝集能に及ぼす各種カルシウム拮抗薬の影響について検討した。

【方法】対象は健常成人6例(男性3例,女性3例)である。血小板凝集能の測定は、静脈血9mlを1mlの3.8%クエン酸ナトリウムを用いて採取し、遠心により多血小板血漿を分離し、 $4\mu\text{M}$ のアデノシン二リン酸(ADP)、 $2\mu\text{M}$ の血小板活性化因子(PAF)、 $20\mu\text{M}$ のカルシウムイオノフォア(A23187)またはり応力(12 または 108dynes/cm^2)を加え、5分間の最大凝集率を測定しSD-3211, amlodipine, diltiazem, nicardipine, nifedipineの及ぼす影響を検討した。

【結果】SD-3211 ($20\mu\text{M}$)はA23187凝集を 77.8 ± 2.5 (SD)→ $73.3\pm 2.5\%$ ($p=0.0172$)、amlodipine ($50\mu\text{M}$)はADP凝集を $69.3\pm 14.8\rightarrow 55.8\pm 12.7\%$ ($p=0.0172$)、diltiazemは $20\mu\text{M}$ でADP凝集を $65.7\pm 15.3\rightarrow 60.3\pm 14.6\%$ ($p=0.0061$)、 $50\mu\text{M}$ でPAF凝集を $66.5\pm 16.3\rightarrow 35.2\pm 6.6\%$ ($p=0.0029$)、nicardipineは $20\mu\text{M}$ でPAF凝集を $67.8\pm 17.7\rightarrow 65.8\pm 17.2\%$ ($p=0.0066$)、 $5\mu\text{M}$ でPAF凝集を $66.5\pm 16.3\rightarrow 35.2\pm 6.6\%$ ($p=0.0029$)、nicardipineは $20\mu\text{M}$ でPAF凝集を $67.8\pm 17.7\rightarrow 65.8\pm 17.2\%$ ($p=0.0066$)、 $50\mu\text{M}$ でA23187凝集を $77.3\pm 2.3\rightarrow 71.3\pm 4.7\%$ ($p=0.0446$)、ADP凝集を $69.3\pm 14.8\rightarrow 63.5\pm 17.1\%$ ($p=0.014$)、nifedipineは $20\mu\text{M}$ でA23187凝集を $77.8\pm 2.5\rightarrow 75.7\pm 2.5\%$ ($p=0.0411$)、ADP凝集を $65.7\pm 14.8\rightarrow 63.0\pm 13.6\%$ ($p=0.0477$)、へと抑制された。り誘導血小板凝集(SIPA)はdiltiazem ($50\mu\text{M}$)により低り凝集が $8.2\pm 2.6\rightarrow 6.3\pm 2.3$ ($p=0.0007$)へと抑制されたのみであった。

【結論】今回検討したカルシウム拮抗薬はin vitroにおいて $20\mu\text{M}$ もしくは $50\mu\text{M}$ でいずれかの血小板凝集を抑制したが、今後臨床用量におけるex vivoでの

検討を要するものと思われる。

3. 卵巣癌におけるurokinase-type plasminogen activatorとそのreceptorおよびinhibitorの定量的臨床的意義

(産婦人科, *母子センター)

柿木成子・菊地愛子・石巻静代・
矢島正純・中林正雄*・武田佳彦

【目的】悪性腫瘍の増殖・転移には線溶系酵素であるurokinase-type plasminogen activator (uPA)とそのreceptor (uPAR)およびinhibitorであるPAI-1の関与が示唆されている。本研究では卵巣癌の原発巣および転移巣におけるこれらの酵素の関与について検討した。

【方法】卵巣癌II~IV期の原発巣および転移巣、良性卵巣腫瘍より腫瘍組織を採取し、細切、可溶化しtPA, uPA, uPAR, PAI-1をEIA法により測定した。また、uPA, PAI-1の局在を免疫組織染色により検討した。

【結果】組織抽出液中のtPAは正常卵巣で高値を示した。uPAは正常卵巣で高値を示した。uPAは卵巣癌で正常卵巣に比して高値を示し、またtotal PA(=tPA+uPA)に占めるuPAの割合も腫瘍細胞を有する卵巣癌、良性腫瘍で共に正常卵巣に比し高値を示した。uPA/uPARも卵巣癌で高値であった。PAI-1/total PAも卵巣癌、特に転移巣で有意に高値を示した。

【結論】卵巣癌では良性腫瘍、正常卵巣に比べて線溶促進因子であるuPA, uPARが高値を示し、これらが卵巣腫瘍の悪性度判定の指標になる可能性が示唆された。一方、癌転移巣では線溶系阻因子が強く作用していることが示された。

4. 解離性大動脈瘤における凝血学的検討—解離腔の血栓閉塞の指標となり得るか—

(東京女子医大心研)

佐藤加代子・岩出和徳・大木勝義・
薄井秀美・早船直彦・半田 淳・
山下倫生・一方井裕子・雨宮邦子・
細田瑛一・橋本明政

(国立横浜病院臨床研究部) 青崎正彦

【目的】解離性大動脈瘤(DA)は致命率の高い疾患であり、発症時期・偽腔の血栓閉塞の有無を考慮し、慎重な治療方針決定が重要である。今回我々は、DAにおける発症時期と血栓閉塞型(T型)・偽腔開存型(NT