

主 論 文 要 旨

論文提出者氏名：

森 美佳

専攻分野：小児科学

コース：

指導教授：山本 仁

主論文の題目：

副腎皮質ステロイドの凝血学的影響：免疫性血小板減少症
およびヒト肝癌細胞株 HepG2 細胞における検討

共著者：

秋田 美恵子、梅沢 陽太郎、足利 朋子、山下 敦己、
長江 千愛、山崎 哲、高山 成伸、金子 英恵、那和 雪
乃、松井 宏晃、瀧 正志

緒言

ステロイドが血栓症の発症に関連するとした報告は多いものの、ステロイドの凝血学的作用や血栓形成機序にまで言及した報告は少なく、未だ不明な点が多い。我々は免疫性血小板減少症 (Immune Thrombocytopenia; ITP) のステロイドパルス治療症例における凝固亢進状態を明らかにするとともに、ヒト肝癌細胞株 HepG2 細胞を用いたメチルプレドニゾロン(m-PSL)による各凝固因子遺伝子の mRNA 発現量の変化を検討し、m-PSL による凝固亢進状態形成機序について考察した。

方法・対象

ステロイドパルス療法として m-PSL (30mg/kg/dose) を 3 日間経静脈投与された ITP 患者 (n=3) から、患者が未成年であったため、患者の保護者より文書で同意を得た上で、投与前及び投与終了翌日に血液を採取し、フィブリノゲン (Fibrinogen; FBG)、プロトロンビン (Factor II; FII)、第 V 因子 (Factor V; FV)、第 VII 因子 (Factor VII; FVII)、第 VIII 因子 (Factor VIII; FVIII)、第 IX 因子 (Factor IX; FIX)、第 X 因子 (Factor X; FX)、第 XI 因子 (Factor XI; FXI)、第 XII 因子 (Factor XII; FXII) の各活性変化を観察した。本研究に際し、聖マリアンナ医科大学生命倫理委員会の承認を得た (第 1210 号)。

さらに培養 HepG2 細胞に、m-PSL を終濃度 100 μ M とするよう添加し、24 時間反応させた後に、各凝固因子遺伝子 mRNA を定量 RT-PCR 法を用いて測定しその変動について検討した。

得られた測定値は、凝固因子活性測定値については対データの *t* 検定、qRT-PCR 値については F 検定による等分散性を確認した後、Student's *t* 検定もしくは Welch 検定にて解析し、いずれも $p < 0.05$ を有意差ありと評価した。

結果

ITP 症例では FVIII:C は治療前値 128% から治療後値 171.4% へと約 1.34 倍に増加した ($p = 0.00064$)。FBG、FII:C、FV:C、FVII:C、FIX:C、FX:C、FXI:C、FXII:C はいずれも有意な変化を認めなかった。

培養 HepG2 細胞においては、FVIII 遺伝子 mRNA は、100 μ M の m-PSL 添加後に、微増したものの、有意な増加ではなかった。FVIII 遺伝子以外の FBG γ 、FII、FV、FVII、FX、および FXII 遺伝子の各 mRNA の発現に関しても、有意な変化は認めなかった。唯一、FXI 遺伝子 mRNA は有意な発現量の低下を示した ($p = 0.044$)。

考察

ITP 患者における m-PSL パルス療法前後の各凝固因子活性の変化の検討において、少数例ではあるが、ステロイド投与後の FVIII:C の増加を明らかにした。しかしながら、引き続き行った、m-PSL 添加培養 HepG2 細胞における各凝固遺伝子 mRNA 発現量の検討では、m-PSL 添加後に FVIII mRNA 発現量の有意な増加はなく、m-PSL パルス療法施行後に上昇した FVIII:C を、補完する結果は得られなかった。この理由については、FVIII の主たる産生部位が肝細胞ではなく肝類洞内皮細胞であることや、FVIII mRNA 発現増加を介さない FVIII:C 増加の機序の存在、すなわち von Willebrand 因子(von Willebrand factor; VWF)の関与と、貯蔵プールからの放出の増加が影響している可能性が考えられた。

FXI に関しては、HepG2 細胞における FXI 遺伝子 mRNA 発現量は低下したものの、ITP 患者における FXI:C の有意な変化は得られなかった。

FVIII 活性の上昇と血栓症の関連が報告されていることから、我々の ITP 患者における研究結果は、ステロイド投与後の FVIII:C 増加が、血栓症を引き起こす少なくとも 1 つの要因となる可能性を示唆する。本研究は限られた症例数での検討であるため、今後症例数を増やすとともに、肝類洞内皮細胞を用いての検討や、FVIII mRNA 上昇を介さない FVIII:C の機序についての検討、さらにはステロイド投与後の FXI mRNA 低下について検討を要する。しかしながら、本研究の結果は、今後、m-PSL による凝固活性化の機序を解明する上で有用であると考えられる。

結論

ステロイド投与によりヒトの FVIII : C は増加し、凝固亢進状態形成に関与する可能性が示唆されたが、遺伝子発現の観点から証明することはできなかった。ステロイドの凝固亢進状態形成の機序に関しては、今後の更なる検討を要する。

