

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患等政策研究事業（難治性疾患政策研究事業））
分担研究報告書

自己免疫性出血症治療の「均てん化」のための実態調査と「総合的」診療指針の作成
に関する研究

分担研究課題 後天性線溶異常症に関する研究

研究分担者 岩城 孝行 浜松医科大学医学部 准教授

研究要旨

先天性plasminogen activator inhibitor 1 (PAI-1)欠損症患者では生命の危険を伴うような後出血を特徴とする出血傾向を呈する。本研究では、PAI-1に対する自己抗体産生に伴う後天性PAI-1低下症により出血傾向を呈する患者のスクリーニング法の確立を目指す。

A．研究目的

PAI-1に対する自己抗体産生に伴う出血傾向を呈する症例の診断及び重症度分類の基盤となる、検査法の確立を目指す。

B．研究方法

微量PAI-1活性測定法の確立

AlphaLISA法を用いた、微量PAI-1抗原量、並びに活性型PAI-1測定法を開発している。抗原量に関しては、通常のELISA法に比べ2オーダー高い感度で測定可能である結果をすでに得ている。現在home made の種々抗体を用い、最適な組み合わせを検討している。

PAI-1中和抗体の同定及び活性測定法の確立

PAI-1欠損症例は、euglobulin clot lysis time (ECLT) がcalcium ion (Ca⁺⁺) 存在下で短縮するというPAI-1依存性及びトロンビン依存性の現象を欠く事実より発見された。昆虫細胞を利用した抗体ライブラリーのスクリーニングを通して、PAI-1抗体を作出しECLT法やAlphaLISA法による中和抗体のスクリーニング並びに精製を行う。

ライブラリーより作出されたPAI-1中和抗体を標準物質として使用し、PAI-1抗体産生による後天性PAI-1低下症患者をスクリーニングする。

症例の解析においては、連結可能匿名化により検体を扱い、患者保護を徹底する。

C．研究結果

微量PAI-1活性測定法の確立

AlphaLISA法を用いた、微量PAI-1抗原量、並び

に活性型PAI-1測定法を開発している。抗原量に関しては、通常のELISA法に比べ2オーダー高い感度で測定可能である結果をすでに得ている。Biotin標識uPAを用いて活性型PAI-1の良好な検量線を得た。当初準備したBiotin標識uPAが、活性中心mol濃度の測定には十分な高濃度でなかったため、再度標識中である。測定法の一部は新規の PAI-1 欠損症例の報告に際し紹介した(Iwaki T et al, Thromb Haemost 2017 117(5):860-869)。

PAI-1中和抗体の同定及び活性測定法の確立

現在PAI-1中和抗体を用いて正常血漿を用いたECLT (Calcium ion存在下及び非存在下) への影響を解析しているところである。PAI-1欠損を疑わせるECLT所見を有しながら遺伝子解析で異常が認められなかった2症例で自己抗体の有無を検査予定である。

D．考察

「微量PAI-1活性測定法」は先天性PAI-1欠損症の発見に非常に有用であるが、後天性の異常症に関しては中和抗体の存在とその活性を解析する必要がある、「PAI-1中和抗体の同定及び活性測定法」を中心に、その手法の確立を目指している。

E．結論

後天性PAI-1異常症の同定方法の確立と、異常症を惹起する自己抗体の同定方法および活性測定方法の確立に向け努力中である。

F．健康危険情報

なし

G . 研究発表

1. 論文発表

- . Iwaki T, Nagahashi K, Takano K, Suzuki-Inoue K, Kanayama N, Umemura K, Urano T. Mutation in a highly conserved glycine residue in strand 5B of plasminogen activator inhibitor 1 causes polymerization. Thromb Haemost 2017 117(5):860-869

2. 学会発表

H . 知的財産権の出願・登録状況

なし