

最終講義抄録



故きを温ねて新しきを知る
—フィブリノゲン・フィブリン
研究の歴史と先天性フィブリノゲン
異常症の研究—

奥村伸生

信州大学学術研究院保健学系検査技術科学専攻病因・病態検査学領域

奥村伸生 教授 略歴

[学歴・職歴]

- 1977年3月 信州大学医療技術短期大学部衛生技術科卒業
- 1977年4月 東海大学医学部附属病院中央臨床検査部勤務
- 1982年3月 東京理科大学理学部Ⅱ部化学科卒業
- 1982年4月 信州大学医学部附属病院中央検査部勤務
- 1992年11月 博士（医学）信州大学
- 1993年4月 信州大学医療技術短期大学部衛生技術学科講師
- 1999年2月 信州大学医療技術短期大学部衛生技術学科助教授
- 2002年10月 信州大学医学部保健学科助教授（検査技術科学専攻病因・病態検査学）
- 2003年4月 信州大学医学部保健学科教授（検査技術科学専攻病因・病態検査学）
- 2005年4月 信州大学医学部保健学科検査技術科学専攻主任（2015年3月まで）
- 2007年4月 信州大学大学院医学系研究科保健学専攻教授併任
（博士前期課程 検査技術科学分野）
- 2009年4月 信州大学大学院医学系研究科保健学専攻教授併任
（博士後期課程 医療生命科学分野2018年3月まで）
- 2014年4月 信州大学学術研究院保健学系病因・病態検査学領域教授
- 2018年4月 信州大学大学院総合医理工学研究科医学系専攻保健学分野教授併任

[研究歴]

- 1983年5月-1985年12月 信州大学医学部寄生虫学教室矢野明彦先生の研究室
- 1988年11月-1995年9月 信州大学医学部小児科学教室中畑龍俊先生の研究室
- 1996年6月-1997年3月 文部省在外研究員 ノースカロライナ大学チャペルヒル校

[資格など]

- 臨床検査技師，二級臨床病理技術士（細菌学，臨床化学，血清学），認定臨床化学者，健康食品管理士
- 2002年- Clinica Chimica Acta（Editorial board）
- 2013-2015年 日本学術振興会 特別研究員等審査会専門委員及び国際事業員会書面審査委員・書面評価委員
- 2013-2016年 一般社団法人日本臨床検査学教育協議会・日本臨床検査学教育学会副理事長
- 2017-2020年 一般社団法人日本臨床検査学教育協議会・日本臨床検査学教育学会理事長
- 2019-2020年 厚生労働省 臨床検査技師学校養成所カリキュラム等改善検討会委員
- 2020-2021年 文部科学省 大学設置・学校法人審議会（大学設置分科会）専門委員

[所属学会]：日本臨床衛生検査技師会，日本臨床検査学教育学会（理事長），日本臨床化学会（評議員），日本臨床検査医学会（評議員），日本血液学会，日本血栓止血学会，国際血栓止血学会，国際フィブリノゲン学会など

故きを温ねて新しきを知る —フィブリノゲン・フィブリン研究の歴史と 先天性フィブリノゲン異常症の研究—

奥村 伸生

信州大学学術研究院保健学系検査技術科学専攻病因・病態検査学領域

フィブリノゲン・フィブリンの“故き”

広く知られたフィブリノゲン・フィブリンにはどのような歴史があるのでしょうか。文献で追えるものでは、1686年 Malpighi が凝固血液を水で洗浄して白い繊維状物質を得る、1770年 Hewson は血液凝固は現在の血漿で生じることを提唱し、凝固前の血漿中に前駆物質が存在することを予測した。フィブリンという言葉は1797年 Chaptal が使用し、1847年 Virchow が前駆物質をフィブリノゲンと呼んだ。

先天性フィブリノゲン (Fbg) 異常症 (Congenital Fibrinogen Disorders) には、蛋白が存在しない無 Fbg 血症 (ホモ症例)、無 Fbg 血症のヘテロ症例である低 Fbg 血症、蛋白は存在するがフィブリンになる機能に異常がある Fbg 機能異常症の3種がある。無 Fbg 血症は1920年 Rabe と Salomon によって報告され、わが国では1954年斎藤によって報告された。一方、Fbg 機能異常症は1955年 Ingram により報告され、わが国では1971年徳島大学から報告された。その後1968年に Blomback により報告されたホモ Fbg 機能異常症例 Detroit は、後の Fbg の研究に大きく貢献した。この異常 Fbg は A α 鎖19番 Arg が Ser に置換したもので、当時行われた Edman 分解法による N 末端配列解析により同定されたもので、鎌形赤血球症の原因である HbS (β 6Glu \rightarrow Val) に次ぐ世界第2例目の分子病であった。

先天性フィブリノゲン異常症 (CFD) の研究の きっかけ

私は1993年信州大学医療技術短期大学部衛生技術学科講師に採用された。採用決定後、数か月間研究テーマを探していたところ、CFD の患者検体 (後の Fbg Matsumoto II : M-II) の検査を担当した。

Fbg 分子を構成する A α , B β , γ 鎖の全アミノ酸配列は Henschen と Doolittle により1979年までに決定され、その DNA 塩基配列は1985年までに Davie のグ

ループにより完読された。当時は臨床検査における遺伝子検査の聡明期で、1990年には信大病院臨床検査部に国立大学初の遺伝子検査室が設置され遺伝子検査・研究が拡大する時期であった。また当時、CFD の中でも分子異常が明らかな Fbg 機能異常症は、わが国で16例、世界で110例であり、年々報告が増加するという状況であった。教員赴任後すぐ、別の CFD 患者 (後の Fbg M-I) が来院したので、早速解析を開始した。

血液凝固におけるフィブリノゲンの機能

電子顕微鏡観察法が発展し Fbg, フィブリンモノマー, プロトフィブリル, フィブリン線維 (塊) を観察できるようになったが、Fbg がどのような機序でフィブリンになるのかわからなかった。1974年 Kudryk らはトロンビン処理 Fbg N-DSK 分画 (ほぼ E 領域と同じ) が Fbg のプラスミン分解産物である D 領域に結合することを発見した (現在は knob-A-hole-a 結合と表現される)。また、1978年 Laudano らはトロンビンの作用で FpA が切断され露出する GPR ペプチド (knob-A) によりフィブリン重合反応が抑制されるが、GPS (Fbg Detroit の knob-A) ペプチドでは抑制されないことを明らかにした。さらに、1992年 hole-a は γ 363Tyr が重要な構成アミノ酸であることが同定された (Yamazumi K, et al.)。1993年に私共が発見した Fbg M-I は γ 鎖364Asp \rightarrow His ヘテロ症例で、フィブリン重合反応が著しく低下していた (1996年報告)。

私が研究を開始した当時、フィブリン重合の機序について次のように考えられていた。Fbg にトロンビンが作用すると、A α 鎖 N 末端から FpA が切断され新たに “knob-A” が露出する (この状態をフィブリンモノマーという)。この knob が γ 鎖 D 領域にある “hole-a” に結合することにより2本鎖プロトフィブリルが形成される。プロトフィブリルの長さが Fbg 15-20個分程度になる頃、トロンビンにより B β 鎖 N

末端から FpB が切断され新たに “knob-B” が露出し、 β 鎖 D 領域にある “hole-b” に結合するとプロトフィブリル同士が束になることが促進され、フィブリン線維が形成される。一方、FpB を切断できない蛇毒中酵素 Batroxobin を添加して形成されたフィブリンは、トロンビンによって形成されたフィブリンとほとんど変わらないことも知られていた。すなわち、knob-B—hole-b 結合はフィブリン形成に大きな影響を与えない。それならば、knob-B—hole-b 結合はフィブリン形成においていったいどのような機能を有しているのかという課題が存在していた。

フィブリノゲン Matsumoto I の機能異常

二量体分子である Fbg はヘテロ患者血漿から異常 Fbg だけを精製することは困難であったので、遺伝子工学で異常 M-I 型 Fbg を作成するため、1996 年文科省長期在外研究員としてノースカロライナ大学チャペルヒル校の Susan T Lord 教授の元へ留学した。作成 M-I 型 Fbg は、トロンビンにより重合しないと予測していたが、添加 2.5 時間後に重合を開始すること（正常型は 2-3 分）を明らかにした（1997 年）。

1997 年 Davie と Doolittle の両グループから同時に X 線構造解析により hole-a の立体構造と GPRP (knob-A) ペプチドの結合が解明され、G のアミノ基との結合に最も重要なアミノ酸が γ 364Asp (M-I 変異部位) であることが証明された。

では、なぜ M-I 型 Fbg はトロンビンでゆっくりフィブリン重合を起こすのかと考え、次の実験を行った。FpB を切断できない Batroxobin を添加したところ、まったく重合反応が起らなかった。すなわち、hole-a に高度異常がありトロンビンにより knob-A—hole-a 結合が起らない M-I の場合、knob-B—hole-b 結合が機能することを明らかにした（2007 年）。それならば、knob-A に高度異常があり knob-A—hole-a 結合が起らない場合にはどうなるだろうかと考え、FpA が切断されない Fbg を作成し実験を行った。すると、トロンビンでも重合が起らなかった。このことはトロンビンにより B-knob が露出しても、knob-B—hole-b 結合が生じるためには FpA の放出が必須であることを示した（2013 年）。

以上の研究とは別に、2001 年に同定したヘテロ型 Fbg Otsu I (γ Δ319,320) の重合反応は M-I よりさらに低下していた。この型のリコンビナント Fbg も hole-a の構造に著しい異常があるが、 γ 364Asp と異

なりトロンビンによって全くフィブリンになれないことを明らかにした（2019 年）。その原因として γ Δ319,320 では γ 鎖から遠く離れた β 鎖に存在する hole-b にまで異常が波及することを推測した。現在このことを証明するために、博士課程の上條君が繊維学部新井亮一先生のご指導の下、X 線構造解析による立体構造の観察研究を開始した。

フィブリノゲン・フィブリンの“新しき”とは？

私の研究期間中に“新しき”フィブリノゲン・フィブリン関連疾患・機能が明らかになった。

フィブリン糊 (fibrin glue) は最近わが国では「組織接着剤」と呼ばれている。主に手術時に使用する血漿分画製剤で Fbg, トロンビン, XⅢ因子が含まれる。原型は 1944 年に皮膚移植において用いられたが、わが国では液状型が 1988 年、シート状型が 1999 年に発売され、手術時間の短縮などに大きく貢献している。これはフィブリノゲン・フィブリンの凝固機能の治療への応用である。

1993 年 Benson らにより変異 Fbg (A α 554Arg → Leu) による遺伝性腎アミロイドシス (HRA) が報告された。わが国では 2015 年保健学科矢崎先生らにより報告された (A α Ser523fsX547)。HRA を生じる変異は A α 鎖 C 末端近傍のみ報告されている。研究室では現在、発現細胞を作成して発症原因の究明について共同研究を実施している。

2000 年 Brennon らにより変異 Fbg (γ 284Gly → Arg) によるフィブリノゲン蓄積病 (FSD) が報告された。本疾患では、肝細胞内で産生された異常 Fbg が分泌されず小胞体に蓄積し、肝硬変を発症して 10 歳未満で死亡する。わが国では 2009 年 Sogo らにより報告された (γ 375Arg → Trp)。この病気の変異は γ 鎖 C 末端側のみで報告されている。我々が発現細胞を作成したところ、特徴的な細胞内封入体を形成することを見出した（2014 年）。2019 年に解析依頼された症例の子供 (γ 375Arg → Trp) で原因不明の肝機能障害を有する例を経験した。研究グループの新井慎平先生のメカニズム解明に期待している。

2001 年 Masson-Bessiere らは関節リウマチ患者の関節における抗シトルリン化蛋白抗体の対応抗原の一つがシトルリン化 Fbg α 鎖と β 鎖であることを報告した。これは Fbg 中の Arg が好中球酵素 (PAD) によりシトルリンに変換したものである。私共は 2009 年シトルリン化 Fbg はトロンビンによりフィブリンにな

れないことを証明した。現在研究グループの樋口先生が血清中のシトルリン化 Fbg 出現と疾患との関係を研究している。

以上の様に、Fbg は凝固・線溶系にとどまらず細胞間マトリックスとして種々の病態形成に関与していること、さらに再生医療における細胞培養の基材としての有用性が広く知られている。今後の益々の研究の発展と臨床応用に期待している。

おわりに

医療短大学生時代 3 年, 信大病院臨床検査部 11 年,

医療短大・保健学科教員として 28 年, 総計 44 年間, 大変長期に亘り信州大学でお世話になった。この間臨床検査を教育・指導いただいた恩師の先生方・先輩諸氏, 研究を指導いただいた先生方, 一緒に研究した医師・臨床検査技師・大学院生・卒業研究生の皆様にご心より感謝を申し上げます。

信州大学医学部が地域に根差した医療・教育に励むことと, 世界に発信できる研究成果が出されることを祈念する。