

**P1-529** 胎盤由来血液凝固抑制タンパク Annexin V のヒト単球表面組織因子に与える影響について

秋田大

佐藤宏和, 小西祥朝, 田中秀則, 藤本俊郎, 高橋 道, 田中俊誠

【目的】単球はエンドトキシン (LPS) や免疫複合体などの炎症性刺激物質によって活性化され、細胞表面には組織因子が出現する。この組織因子は炎症や DIC における局所および全身の凝固亢進に密接に関与している。今回我々は、ヒト単球細胞膜表面組織因子活性の測定系を確立し、LPS により惹起される組織因子活性に対する血液凝固抑制タンパク annexin V の影響を検討した。【方法】健康ヒト血液より Ficoll-Hypaque を用いて密度勾配分離法によって単核球層を分離した。10%FBS 添加 RPMI1640 にて調製した単核球を 24 穴コラーゲンプレートに  $1.0 \times 10^6$ /well ずつ撒き込み、1 時間後非付着細胞を洗浄除去した。次に最終濃度 100 $\mu$ g/ml までの各種濃度の LPS (E. coli; 055:B5) にて 4 時間刺激後洗浄し、最終濃度 100 $\mu$ g/ml までの各種濃度の annexin V および  $\text{CaCl}_2$  (6.6mm) を加え 1 時間インキュベートした。その後、合成発色基質 S2222 (0.6 mg/ml) および Proplex (第 VII 因子に換算して 1unit/ml) を加え、37°C, 15 分間インキュベートし、OD405 の値を測定し組織因子活性とした。なお、検量線は Thromborel S の希釈系列を用いて作製し、組織因子活性は annexin V (-) 時を 100% として %activity にて表現した。【成績】1. 至適 LPS 濃度は 1.0 $\mu$ g/ml であった。2. annexin V はこの濃度の LPS により惹起される単球表面組織因子活性を濃度依存性に抑制し、0.6 $\mu$ g/ml (17.6nM) で 50% 抑制が得られた。3. 付着した細胞は非特異的エステラーゼ染色で 90% 陽性であり、実験終了後の cell viability は 95% 以上であった。【結論】annexin V は単球表面組織因子活性を低濃度で抑制することから、エンドトキシンによる DIC に対する臨床的な応用が期待される。