

論 文 審 査 の 要 旨

筆頭著者（学位申請者）氏名

梅 沢 陽 太 郎

主論文の題目
および
掲載・審査委員

題目 Glucocorticoid Directly Enhances mRNA levels of Endogenous Coagulation Factor VIII in Human Liver Sinusoidal Endothelial Cells
(糖質コルチコイドはヒト肝類洞内皮細胞における内因性凝固第VIII因子を mRNA レベルで直接亢進させる)

掲載誌 Journal of St. Marianna University 2022 (in press)

主査 新井 文子
副査 鈴木 真奈絵
副査 武半 優子

[論文の要旨・価値] **背景と目的**：血栓症は、糖質コルチコイド (Glucocorticoid; GC) 投与の際、臨床上しばしば問題になる重要な合併症である。その発症機序として、凝固第 VIII 因子活性の亢進が報告されているが、そのメカニズムは未解明である。本研究で、申請者らは GC が第 VIII 因子の産生を直接亢進させるという仮説を立て、臨床試料と細胞株を用いて検証した。

方法: GC 投与に伴う生体内での第 VIII 因子と、その安定化に寄与するフォン・ヴィレブランド因子 (von Willebrand Factor; VWF) の蛋白量の変化は、免疫性血小板減少症性紫斑病 (ITP) 患者の血漿を用い、Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay (ELISA) で測定した。産生の解析は、第 VIII 因子産生細胞である肝類洞内皮細胞株 (HLSEC/ciJ) と、VWF の主な産生細胞である血管内皮細胞株 (EA. hy926) を用い、mRNA は Taqman 法による RT-PCR で、蛋白量は SDS 除去後の細胞溶解液を用い ELISA で定量した。

結果：ITP 患者では、GC 治療後に aPTT が短縮し第 VIII 因子活性が亢進、すなわち血栓傾向の亢進が確認され、かつ血漿中の第 VIII 因子抗原量の有意な増加が観察された。一方、VWF 抗原量の増加は認めなかった。細胞株を用いたデキサメサゾン (DEX) 処理後の産生の変化の検討では、HLSEC/ciJ 細胞における第 VIII 因子および VWF mRNA の発現が、1 および 100 μ M の DEX 添加後に有意に増加した。mRNA の増加は、GC 受容体 (GR) 拮抗薬である RU486 による前処置によって抑制された。しかし、DEX 添加後の第 VIII 因子蛋白量の増加は見られなかった。EA. hy926 細胞においては、1 μ M の DEX 添加後に VWF mRNA の発現が有意に増加したが、第 VIII 因子 mRNA の発現の有意な増加はなかった。

考察：GC 投与後の臨床試料の解析結果から、第 VIII 因子活性の亢進は、VWF による安定化の亢進ではなく、第 VIII 因子蛋白量自身の増加による可能性が示唆された。細胞株で GC 処理後第 VIII 因子 mRNA の発現亢進が見られたことはそれを指示すると考えられた。しかし、蛋白量の増加が無かったことは実験系（特に培養時間）の問題に加え、一細胞株のみの解析で、その特性に起因した可能性があった。

本論文の価値：申請者らは、臨床上非常に重要な GC による血栓症の発症機序を丁寧に解析し、GC 処理により肝類洞内皮細胞で第 VIII 因子の mRNA 発現が亢進することを他に先駆けて明らかにした。蛋白量の増加は確認できなかったが今後の研究へ道筋を示した意義のある研究と考える。

[審査概要] 審査は指導教授と 6 名の陪席の下、約 20 分間の PC を用いたプレゼンテーションと、約 40 分間の質疑応答により行われた。プレゼンテーションは明解で、質疑応答では臨床試料選択の根拠、実験系、結果の解釈と今後の展望を多方面から質問したが、いずれも適切な回答を得た。

最 終 試 験 結 果 の 要 旨

[研究能力・専門的学識・外国語（英語）試験等の評価] 英語読解力は英文文献の一部を指定し、その場での和訳により十分な読解力があると判断した。申請者は研究能力・知識等、十分な能力を有し、意欲にあふれる医学博士にふさわしい品格を持つ研究者と考えられ、学位授与に値すると判断した。