

# 論 文 内 容 要 旨

Deep Association between Transglutaminase 1 and Tissue Eosinophil Infiltration  
Leading to Nasal Polyp Formation and/or Maintenance with Fibrin Polymerization  
in Chronic Rhinosinusitis with Nasal Polyps

(鼻茸を伴う慢性副鼻腔炎におけるフィブリン重合反応による鼻茸形成および維持につながるトランスグルタミナーゼ 1 と組織中好酸球浸潤との密接な関連について)

International Journal of Molecular Sciences,23,12955,2022.

主指導教員：竹野 幸夫教授

(医系科学研究科 耳鼻咽喉科学・頭頸部外科学)

副指導教員：東 幸仁教授

(原爆放射線医科学研究所 ゲノム障害病理)

副指導教員：石野 岳志講師

(広島大学病院 耳鼻咽喉科・頭頸部外科)

園山 徹

(医歯薬保健学研究科 医歯薬学専攻)

はじめに：

トランスグルタミナーゼ（以下、TGM）は基質タンパクの架橋重合反応を触媒する酵素で、塩基配列およびその構造に高度な相同性を認める 8 つのアイソフォーム（TGM 1 - 7 および第 XIII A 因子）がある。TGM により形成された不溶性多分子タンパクは機械的負荷やタンパク分解に対して高い耐性を示し、細胞死、細胞質間相互作用、組織整合性維持、ある種の病態形成に関係することが報告されている。第 XIII A 因子と鼻茸、TGM2 と気管支喘息との関連性が報告されていることから、他の TGM アイソフォームも未報告ながら、これら病態に関与している可能性がある。慢性副鼻腔炎は鼻茸組織中好酸球数が疾病重症度に関連するため、鼻茸の病態形成において、過剰なフィブリン沈着やタンパクの架橋重合反応が TGM アイソフォームにて誘導され、それが鼻茸組織中好酸球数と関連している可能性を想定して、本研究では慢性副鼻腔炎の鼻茸における第 XIII A 因子を除く各 TGM アイソフォームの発現、TGM アイソフォーム発現量と鼻茸組織中好酸球数との関連、第 XIII A 因子と比較した TGM アイソフォームのフィブリン重合能に関して検討を行った。

方法：

2016 年 10 月から 2019 年 8 月の間に広島大学病院で内視鏡下鼻副鼻腔手術を受けた 56 名（鼻茸合併慢性副鼻腔炎患者（CRSwNP 群：40 名）、手術が必要かつ副鼻腔炎がない患者（対象群：16 名））の鼻茸組織（CRSwNP 群）、鈎状突起（対象群）を用いて以下の検討を行った。

- (1) 各群における TGM アイソフォームの発現量を RT-PCR を用いて定量し検討を行った。
- (2) 有意な発現量の差を認めた TGM アイソフォームにおいて、その発現量と鼻茸組織中好酸球数との関連性について検討を行った。
- (3) 上記で正の相関を認めた TGM アイソフォームにおいて、HE 染色と免疫組織化学染色にて組織内における TGM アイソフォーム産生細胞を同定し、レーザー共焦点顕微鏡(LSCM)で組織中好酸球と TGM アイソフォーム産生細胞の関連性および TGM アイソフォームの細胞内局在について検討を行った。
- (4) 上記 TGM アイソフォームと第 XIII A 因子において、 $\alpha$ -トロンビン存在下でフィブリン凝固能を比較検討した。さらに凝固物を分解した上清を用いて、SDS-PAGE でフィブリン重合反応の相違について検討を行った。

結果：

- (1) TGM 1、2、3、5 は両群間の各サンプルにおいてそれぞれ発現を認めたが、TGM4、6、7 では発現を検出できなかったサンプルが多数認められた。対象群と比較して、CRSwNP 群では TGM1、3、5 の有意な発現の亢進が、TGM2 では有意な発現の低下が認められた( $p < 0.01$ )。
- (2) TGM1 の発現量は鼻茸組織中好酸球数と有意な正の相関( $p < 0.05$ ,  $r = 0.513$ )を示したが、TGM2、3、5 の発現量は有意な相関を示さなかった。
- (3) HE 染色では鈎状突起、鼻茸ともに粘膜下層に組織中好酸球が認められた。免疫組織化学

染色では TGM1 産生細胞はともに粘膜下層に認められたが、鈎状突起に比べて鼻茸でより高度に認められた。LSCM にて、TGM1 産生細胞が好酸球（MBP 陽性細胞）であり、好酸球の細胞質領域に TGM1 が局在していることが認められた。

(4) TGM1 は第 XIIIa 因子と同様のフィブリン重合能を示した。SDS-PAGE におけるフィブリン重合体の構成要素の検討から、 $\alpha$ -、 $\beta$ -、 $\gamma$ -フィブリン単量体、 $\gamma$ - $\gamma$  二量体、 $\alpha$ - $\alpha$  重合体が TGM1 と第 XIIIa 因子でほぼ同様に確認された。

考察：

TGM アイソフォームのうち TGM1 の発現量のみが組織中好酸球数と有意な正の相関を示した。このため、角化細胞のエンベロープ形成に関与するがアレルギー疾患との関連性については未解明である TGM1 のみが鼻茸の病態形成に関与することが想定された。一方、過去にアレルギー疾患との関連性が指摘されている TGM 2 については、有意な関連性は認められなかった。

免疫組織化学染色および LSCM による検討にて、鼻茸組織における TGM 1 の主な供給源が鼻茸組織中好酸球であることが判明し、このことが鼻茸の TGM1 発現量と鼻茸組織中好酸球数が相関する原因であると考えられた。好酸球の細胞溶解と脱顆粒はフィブリノーゲンや II 型サイトカインの過剰な活性化によって誘導されるため、これらを含む漏出血漿タンパクで生じる浮腫状粘膜では、細胞質内および細胞膜結合性に存在している TGM1 が好酸球の細胞融解や脱顆粒で組織中に遊離されることが想定された。

TGM 1 のフィブリン重合能の結果から、第 XIIIa 因子のみならず TGM 1 も鼻茸のフィブリン網形成に関係することが想定された。今回の結果から、第 XIIIa 因子と TGM1 の過剰産生が、過剰なフィブリン沈着とさまざまな基質タンパクとの触媒反応を誘導し、その結果生じた漏出性血漿タンパクの貯留が鼻茸粘膜下組織における高度な浮腫や仮性嚢胞の形成を引き起こしている可能性が示唆された。