

論文審査の結果の要旨

博士の専攻分野の名称	博士（医学）	氏名	園山 徹
学位授与の条件	学位規則第 4 条第①・2 項該当		
論文題目			
<p>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</p> <p>（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）</p>			
論文審査担当者			
主査	教授	神沼 修	印
審査委員	教授	平田 信太郎	
審査委員	講師	岩本 博志	
〔論文審査の結果の要旨〕			
<p>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あり、これまで 8 つのアイソフォーム（TGM1 - 7 および第 XIII A 因子）が報告されている。TGM により形成された不溶性タンパク質重合体は機械的負荷およびタンパク質分解に対して高い耐性を示す。鼻茸の組織形成においては血漿漏出を伴う浮腫性結合組織の過形成を認めるが、これは TGM アイソフォームの 1 つである第 XIII A 因子の触媒作用によるフィブリン架橋重合反応が影響していることがすでに報告されている。TGM アイソフォームは基質タンパク質の架橋反応に共通の触媒作用能力を有するが、第 XIII A 因子以外の TGM アイソフォームと鼻茸形成との関連性はこれまで報告がない。また、好酸球性副鼻腔炎の疫学と診断基準作成などに関する研究からも、鼻茸の易再発性と相関する好酸球性副鼻腔炎の病態は Type2 炎症が主役であり、好酸球の活性化が関与することが示されている。このような背景をもとに、本研究は既知の第 XIII A 因子を除く各 TGM アイソフォームの鼻茸組織中への発現、TGM アイソフォーム発現量と鼻茸組織中好酸球数との相関、組織中における TGM1 の発現部位、第 XIII A 因子と比較した TGM1 のフィブリン重合能に関して検討を行った。</p> <p>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 名を対象とした。鼻茸を合併する慢性副鼻腔炎患者（CRSwNP 群：40 名）と鼻中隔矯正などの手術適応でかつ慢性副鼻腔炎の存在しない患者（対象群：16 名）に分類し、以下の 4 つの項目に関して検討した。</p> <p>(1) CRSwNP 群における鼻茸組織と対象群における鈎状突起を用い、TGM アイソフォームの発現を RT-PCR を用いて定量し、各群における TGM アイソフォーム mRNA 発現レベルの比較。</p> <p>(2) (1) で有意な発現増加を認めた TGM アイソフォームについて、その発現量と鼻茸組織中好酸球数との関連性を比較。</p> <p>(3) 鼻茸と対象組織に対し、HE 染色と (2) で相関関係を認めた TGM1 の免疫組織化学染色による組織分布。レーザー走査型共焦点顕微鏡（LSCM）を用いた組織中好酸球と TGM1 産生細胞の細胞内局在の検討。</p> <p>(4) (2) で正の相関関係を認めた TGM1 と第 XIII A 因子における <math>\alpha</math>-トロンビン存在下でのフィブリン凝固能と SDS-PAGE によるフィブリン重合反応の比較。</p>			

各試験の結果としては、まず(1)においてTGM1、2、3、5は両群間の各サンプルで発現を認めたが、TGM4、6、7は発現を検出されないサンプルが多く認められた。対象群と比較して、CRSwNP群ではTGM1、3、5の有意な発現亢進とTGM2の有意な発現低下を認めた( $p < 0.01$ )。(2)では、TGM1の発現量は鼻茸組織中好酸球数密度と有意な正の相関( $p < 0.05$ ,  $r = 0.513$ )を示した。TGM2、3、5の発現量は鼻茸組織中好酸球数と有意な相関を示さなかった。(3)の免疫組織化学染色においてTGM1産生細胞は粘膜下層に集簇しており、鈎状突起に比べて鼻茸でより高度に認められた。LSCMによる観察では、TGM1産生細胞は好酸球(MBP陽性細胞)と共局在しており、特に細胞質領域に顕著であった。(4)では、TGM1は第XIII A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成分の検討では、 $\alpha$ -、 $\beta$ -、 $\gamma$ -フィブリン単量体、 $\gamma$ - $\gamma$ 二量体、 $\alpha$ - $\alpha$ 重合体がTGM1と第XIII A因子ではほぼ同様に確認された。

TGM1のみが組織中好酸球数と有意な正の相関を認め、さらに免疫組織化学染色およびLSCMでの結果から、鼻茸組織におけるTGM1の主な供給源が鼻茸組織中の活性化好酸球であることが推測された。このことはTGM1と気道好酸球性病態との関連性を示唆しており、好酸球の細胞溶解と脱顆粒はフィブリノーゲンやType2サイトカインの産生亢進によって誘導され、脱顆粒を契機に好酸球細胞質内および細胞膜結合性に存在するTGM1が放出されている機序が考えられた。一方、過去に気道アレルギー疾患と関連した報告の多いTGM2については有意な関連性が認められなかった。

また、第XIII A因子と比較したフィブリン重合能の検査はTGM1が鼻茸のフィブリン網形成に関与する可能性を示している。すなわち、第XIII A因子とTGM1の過剰産生はいずれも過剰なフィブリン沈着または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滞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惹起している可能性が示唆された。現在TGMの基質となるタンパクはすべて同定されたわけではないため、今後は鼻茸組織中でのTGM1のフィブリン重合へ関与する機序やTGM1の基質物質の検索などが望まれる。

以上の結果から、本論文は、鼻茸におけるTGM1の発現が亢進しており好酸球数と相関すること、TGM1は鼻茸粘膜下の好酸球細胞質に局在していること、TGM1は第XIII A因子と同様のフィブリン重合能力を有することで鼻茸形成に関与している可能性を示し、耳鼻咽喉科学の発展に寄与する重要な研究と考えられる。よって審査委員会委員全員は、本論文が著者に博士(医学)の学位を授与するに十分な価値のあるものと認めた。