

## 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	渡辺 裕文
学位授与の条件	学位規則第 4 条第 1・2 項該当		
論文題目 Expression of factor XIII originating from synovial fibroblasts and macrophages induced by interleukin-6 signaling (血液凝固第 XIII 因子の発現は滑膜線維芽細胞とインターロイキン-6 シグナルで誘導されるマクロファージに由来する)			
論文審査担当者			
主査	教授	一戸 辰夫	印
審査委員	教授	保田 朋波流	
審査委員	准教授	藤井 輝久	
〔論文審査の結果の要旨〕			
<p>まずは、血液凝固第 XIII 因子 (FXIII) と関節滑膜の関係について述べられている。FXIII は、A サブユニット (FXIII-A) と B サブユニット (FXIII-B) で構成されるタンパクであり、血液凝固カスケードの最終段階においてフィブリン分子間の架橋を促進する。2012 年以降、関節リウマチ (RA) 患者において抗インターロイキン-6 (IL-6) 受容体抗体投与中の出血性 FXIII 欠損症が複数報告された。その後の検討により、抗 IL-6 受容体抗体を投与された RA 患者群では、他の生物学的製剤 (TNF 阻害薬) を投与された RA 患者群と比較して、血漿中の FXIII 活性が低下していることが明らかとなった。したがって、FXIII と炎症性サイトカインの一種である IL-6 の間には何らかの関連性があることが示唆された。これまで、FXIII-A については血小板や単球/マクロファージから発現していることが報告されているが、FXIII-B の発現している細胞・臓器については不明な点が多い。また、炎症性サイトカインと FXIII の関連性についての報告もほとんど存在しない。</p> <p>これらの問題点を明らかにするために、以下の様な検討を行った。まず、データベース検索 (プロテオミクス解析) を用いて、FXIII の体内分布の確認を行った。FXIII-A については既報通りであったが、FXIII-B は関節液中でもっとも蛋白量が多いことが判明した。この結果を踏まえ、関節滑膜における FXIII の発現分布を評価するため、関節手術から得られた滑膜組織の免疫組織化学を行った。その結果、FXIII-A、FXIII-B はともに関節滑膜に発現していることが明らかになった。二重染色の検証では FXIII-A 陽性細胞のうち CD163 (マクロファージのマーカー) が最も高い陽性率を示した。また、FXIII-B は CD11 (滑膜線維芽細胞 (FLS) のマーカー) 陽性細胞で発現が認められた。以上の結果より、FXIII-A はマクロファージに、FXIII-B は FLS に発現することが明らかになった。この結果をさらに検証するため、FLS の初代培養の培養上清を回収し Western blotting (WB) を行った結果、分泌された FXIII-B が上清中に存在していることも確認することができた。</p> <p>FXIII-A と IL-6 の関係を検証するために、各種マクロファージに IL-6 刺激を加え RT-qPCR を用いて F13A1 遺伝子発現の変動を検証した。健常者血液から分離した単球を培養することで得られた成熟マクロファージに対し、様々な刺激を加えて M0、M1、M2 マクロファージに分化させた。M0 および M2 マクロファージは IL-6 刺激により F13A1 遺伝子発現が亢進した。特に IL-4 で誘導された M2 マクロファージは最も強く F13A1 を発現し、IL-6 の刺激で相乗的に発現が亢進、また、抗 IL-6 受容体抗体を加えることで F13A1 の発現は抑制された。IL-4 で誘導された M2 マクロファージの IL-6 刺激による FXIII-A 発現の増強は WB でも証明された。</p> <p>次に FXIII-B の滑膜における機能の解析を行った。IL-6 を含む各種サイトカインの刺激では FXIII-B の発現に変動は見られなかった。FXIII-B の機能を明らかにするため、FLS に FXIII-B を過剰発現させ、次世代シーケンシング解析 (RNA-seq) を行った。その結果、FXIII-B は抗アポトーシス分子や IL-8 を含むケモカイン遺伝子の発現を亢進させることが明らかとなった。</p>			

本研究の結果、滑膜組織が FXIII の産生源の一つであることが明らかとなった。また、IL-6 がマクロファージにおける FXIII-A の発現を制御していること、FLS における FXIII-B の新たな機能を報告することができた。滑膜における FXIII-A、FXIII-B は好中球の遊走、線維芽細胞の増殖を促進し、炎症性関節疾患の発症に関与している可能性が示唆された。

以上の結果から、本論文は滑膜組織が FXIII の産生源の一つであること示しており、また、IL-6 がマクロファージにおける FXIII-A の発現を制御していることを示した重要な研究と考えられる。

よって審査委員会委員全員は、本論文が渡辺裕文に博士（医学）の学位を授与するに十分な価値あるものと認めた。