

論文内容要旨

論文題目

凝固 XIII 因子 B サブユニットノックアウトマウスの妊娠中の止血における細胞内 A サブユニットの意義

責任講座： 分子病態学 講座

氏名： 張 偉光

【内容要旨】(1,200 字以内)

血液凝固 XIII 因子 (FXIII) は、A サブユニット (FXIII-A) の二量体と B サブユニット (FXIII-B) の二量体が結合した異種四量体として、血漿中に存在する。FXIII-A はトランスグルタミナーゼとしての活性を持ち、フィブリン同士やフィブリンと α_2 -プラスミンインヒビターを架橋結合させて、強固なフィブリン塊を作る。FXIII-B は血漿中の FXIII-A の安定化に働く。FXIII-A は血漿中に存在するだけでなく、単球・マクロファージや巨核球・血小板などの細胞内にも存在するが、細胞内での役割は未だ不明である。自然流産は先天性 FXIII 欠損症の三大症状の一つであり、当研究室での先行研究で、FXIII-A^{-/-}マウスを用いて流産の原因を調べたところ、膣や子宮からの重篤な出血により流産が引き起こされることが分かっている。しかし、血漿中や細胞内 FXIII-A の妊娠中の止血における役割は、まだ明らかになっていない。本研究では、当教室で作製した FXIII-B^{-/-}マウスを用いて、妊娠中における細胞内 FXIII-A の役割を調べた。

野生型、FXIII-A^{-/-}、FXIII-B^{-/-}マウスをそれぞれの系統内で交配させると、以前報告したように、FXIII-A^{-/-}マウスは妊娠中に膣から出血して 6 割が死亡した。一方、FXIII-B^{-/-}マウスでは、妊娠中に膣からの出血により死亡したケースはなかった。FXIII-B^{-/-}マウスでは、非妊娠時の血漿中の FXIII-A が野生型の 2% 未満に低下しているが、妊娠中はさらに低下して、検出限界以下となった。妊娠 10 日目に sacrifice し、子宮を肉眼的に比べると、FXIII-B^{-/-}マウスでは野生型とほぼ同じ外観を示し、FXIII-A^{-/-}マウスで頻繁に観察される血液プールが認められなかった。FXIII-B^{-/-}マウスの子宮の切片をヘマトキシリン・エオシン染色で観察すると、子宮腔で少量の出血が認められたが、FXIII-A^{-/-}マウスより軽度であった。抗 FXIII-A 抗体を用いた免疫染色で子宮内 FXIII-A の分布を調べたところ、多数の FXIII-A 陽性細胞が野生型と FXIII-B^{-/-}マウスの床脱落膜に検出された。一方、FXIII-A^{-/-}マウスの床脱落膜には FXIII-A 陽性細胞は全く検出されず、血管様構造の壁の破綻による出血や間質の高頻度な出血が観察された。FXIII-A^{-/-}メスと野生型オスを交配させると、床脱落膜に FXIII-A 陽性細胞は検出されず、子宮内に血液プールが認められたことから、母体の細胞内 FXIII-A が止血に不可欠であることが示唆された。

今回の実験結果により、細胞内 FXIII-A が妊娠中の止血に重要な役割を果たしていることが明らかになった。ただし、極微量に存在すると思われる血漿中の FXIII-A が作用している可能性を完全に除外することができないので、異なるアプローチによる、更なる研究が必要と思われる。

平成 22 年 / 月 28 日

山形大学大学院医学系研究科長 殿

学位論文審査結果報告書

申請者氏名： 張 偉 光

論文題目： 凝固Ⅲ因子Bサブユニットノックアウトマウスを用いた
妊娠中の止血における細胞内Aサブユニットの意義

審査委員：主審査委員

本山 悌一



副審査委員

倉 智 博 久



副審査委員

藤 井 順 逸



審査終了日：平成 22 年 / 月 13 日

【 論 文 審 査 結 果 要 旨 】

血液凝固Ⅲ因子 (FXⅢ) は、A サブユニット (FXⅢ-A) の二量体と B サブユニット (FXⅢ-B) の二量体とが結合した異種四量体として血漿中に存在している。FXⅢ-A は、フィブリン同士やフィブリンと α_2 -プラスミンインヒビターを架橋結合させて強固なフィブリン塊を作る働きがあることが知られている。FXⅢ-B は、血漿中の FXⅢ-A の安定化に働くことが知られている。しかしながら、FXⅢ-A の役割については未だ十分には解明されておらず、血漿中だけではなく単球・マクロファージや巨核球・血小板などの細胞質内にも存在することが明らかにされてきているが、その役割もこれまでのところ不明であった。これらの背景をもとに、張偉光君は、FXⅢ-A の役割をさらに明らかにすべく本研究に取り組んだ。所属する分子病態学講座における先行研究で極めて流産を起こしやすいことを確認している FXⅢ-A 遺伝子をノックアウトした FXⅢ-A⁻マウスと同講座で開発した FXⅢ-B 遺伝子をノックアウトした FXⅢ-B⁻マウスとを研究材料とした。野生型、FXⅢ-A⁺、FXⅢ-B⁺それぞれのマウスを同じ系統内で交配させ妊娠させたところ、野生型では流産はみられなかったが、FXⅢ-A⁻マウスでは 12 匹中 11 匹に流産が起こり、かつ 7 匹 (約 60%) が失血死した。FXⅢ-B⁻マウスでは、血漿中の FXⅢ-A が非妊時野生型マウスの 2% 未満であるものがさらに低下するにもかかわらず、流産が起こったのは 11 匹中 1 匹のみで、かつ死に至ったものはなかった。組織学的にみると、FXⅢ-A⁻マウスでは胎盤・脱落膜附着部や脱落膜内部に広範に出血がみられたが、FXⅢ-B⁻マウスでは、出血はあっても程度が軽かった。免疫組織化学的に、野生型マウスと FXⅢ-B⁻マウスの脱落膜の多くの細胞に FXⅢ-A が検出されたが、FXⅢ-A⁻マウスの脱落膜には全く検出されなかった。以上のことより、張君は脱落膜細胞内に存在する FXⅢ-A が出血の防止あるいは止血に重要な役割を果たしている可能性を示した。

本研究は、FXⅢ-A の機能を解析する新たな糸口を掴んだものであり、学位論文に相応しいものと審査委員は判断した。

(1, 200 字以内)