

### 学位論文審査の結果の要旨

平成 31年 2月 5日

審査委員	主査	西山 成		
	副主査	中村 隆範		
	副主査	南野 哲男		
願出者	専攻	分子情報制御医学	部門	生体情報学
	学籍番号	15D746	氏名	劉 文華
論文題目	Coagulation factor XI induces Ca <sup>2+</sup> response and accelerates cell migration in vascular smooth muscle cells via proteinase-activated receptor 1			
学位論文の審査結果	<input checked="" type="radio"/> 合格 <input type="radio"/> 不合格      (該当するものを○で囲むこと。)			

〔要旨〕

活性化型血液凝固第XI因子 (FXIa) はセリンプロテイナーゼであり、内因系凝固開始経路において重要な役割を果たす。第XI因子欠損マウスの解析から第XI因子が動脈硬化に寄与することが示唆されている。しかしながら、その基盤となるメカニズムには不明な点がある。セリンプロテイナーゼであるトロンビン、第VII因子、第X因子はプロテイナーゼ活性化型受容体1 (PAR<sub>1</sub>) を介して血管平滑筋作用を発揮することが報告されている。本研究では、FXIaがPAR<sub>1</sub>を介して血管平滑筋作用を発揮するという仮説を立て、培養平滑筋細胞を用いて検証した。Fura-2蛍光測定によって、ラット胎児大動脈平滑筋細胞A7r5細胞においてFXIaが細胞内カルシウムシグナルを発生させることが明らかとなった。このカルシウムシグナルの発生には、細胞内貯蔵部からのカルシウム放出より細胞外からのカルシウム流入がより重要な役割を果たす。FXIa が引き起こすカルシウムシグナルはPAR<sub>1</sub>拮抗薬アトパクサおよびプロテイナーゼ阻害剤4-アミジノフェニルメタンスルホニルフルオライド (p-APMSF) の前処置によって消失した。PAR<sub>1</sub>欠損マウス由来の胚線維芽細胞においてもFXIa が引き起こすカルシウムシグナルは消失した。組換え蛋白質を用いた細胞外切断実験から、FXIaは、PAR<sub>1</sub>アゴニストであるトロンビンと同様の部位 (R45/S46) で、PAR<sub>1</sub>細胞外領域を切断することが明らかとなった。FXIa が引き起こすカルシウム流入は、L型カルシウムチャネル阻害剤ジルチアゼムの前処置およびsiRNAの導入によるCa<sub>v</sub>1.2の発現抑制により阻害された。さらに、FXIaが引き起こすカルシウム流入は、プロテインキナーゼC阻害剤GF109203Xおよびロトレリンによっても抑制された。創傷治癒実験において、FXIaは細胞遊走速度をコントロールの2.46倍に促進した。この遊走促進作用の一部はアトパクサおよびジルチアゼムによって抑制された。以上の結果から、FXIaは、血管平滑筋細胞において、主にPAR<sub>1</sub>/Ca<sub>v</sub>1.2を介したカルシウム流入により、細胞内カルシウムシグナルを発生させ、細胞遊走を加速すると結論付けられる。本研究は、FXIaが血管平滑筋に直接に細胞作用を発揮する証拠を初めて提示するものである。

本研究に関する学位論文審査委員会は平成31年2月4日に行われた。

本研究は、第XI因子の血管平滑筋細胞作用に関して、第XI因子がカルシウムシグナルと遊走促進を引き起こすことを指摘したもので、結果に対する十分な考察もなされている。本研究で得られた成果は第XI因子による動脈硬化促進の機序の解明で意義があり、学術的価値が高い。委員会の合議により、本論文は博士（医学）の学位論文に十分値するものと判定した。

審査においては

1. 第XI因子をPARsのアゴニストとして研究を着目した理由。
2. 第XI因子とトロンビンは同様な部位でPAR<sub>1</sub>を切断し、活性化するのに、なぜ細胞遊走に対する作用違うか。
3. 細胞遊走を評価した際に、細胞増殖の関与をどう処理したか。
4. トロンビンとPAR<sub>1</sub>-APは低い濃度で細胞遊走を促進するか。
5. 研究に使用した第XI因子はダイマーかモノマーか。
6. 第XI因子の細胞作用に対する高分子キニノゲンの作用に対する感想。
7. 生体内でをPAR<sub>1</sub>活性化する際に第XI因子とトロンビンはどう影響しあうか。
8. 第XI因子は生物種間で違うか。なぜ細胞と違う生物種の第XI因子を使ったか。
9. 第XI因子欠損が動脈硬化を抑制する原因。第XI因子欠損自身か、それによるトロンビンの活性低下か。
10. 本研究は病気治療に対してどんな意義があるか。

などについて多数の質問が行われた。申請者はいずれにも明確に応答し、医学博士の学位授与に値する十分な見識と能力を有することが認められた。

掲載誌名	American Journal of Physiology-Cell Physiology		
	平成31年2月5日現在印刷中		
	第 巻, 第 号		
(公表予定) 掲載年月	オンライン公表 平成30年12月19日	出版社(等)名	American Physiological Society

(備考) 要旨は、1, 500字以内にまとめてください。