

甲 第 号

土井 政明 学位請求論文

審 査 要 旨

奈 良 県 立 医 科 大 学

論文審査の要旨及び担当者

報告番号	甲第	号	氏名	土井 政明
論文審査担当者	委員長		教授	吉栖 正典
	副委員長		教授	小林 浩
	委員		教授	斎藤 能彦
	委員		教授	藤村 吉博
	委員		教授	嶋 緑倫
		(指導教員)		

主論文

Coagulation potentials of immobilized factor VIII in flow-dependent fibrin generation on platelet surfaces

血小板膜上での血流依存性フィブリン形成における固定化第VIII因子の凝固促進能

Masaaki Doi , Mitsuhiro Sugimoto, Hideto Matsui, Yasunori

Matsunari , Midori Shima.

Thrombosis and Haemostasis,

2013 May 2; 110(1).

[Epub ahead of print]

論文審査の要旨

凝固第Ⅷ因子 (FVIII) は止血メカニズムにおいて中心的役割を果たし、この因子の先天性機能欠損症は血友病 A として重篤な出血兆候を示すことが知られている。従来から FVIII の生物学的活性は液相の *in vitro* 凝固アッセイで評価されてきた。しかしながら、生体での止血メカニズムにおける血液凝固反応は生理的血流状況下での血小板膜上 (固相) でのフィブリン形成であり、古典的凝固アッセイで把握される液相での反応とは大きく異なる。

本研究で申請者は、生理的血流状況下における血小板血栓上でのフィブリン形成能で評価する *in vitro* フロー実験系を確立し、この実験系で、従来の血流中の液相 FVIII (soluble FVIII; S-FVIII) と区別して、血栓形成反応局所に固定化された FVIII (immobilized FVIII; I-FVIII) の機能を評価する実験システムを確立した。von Willebrand 因子 (VWF) を固相化したガラスプレートに種々濃度の遺伝子組み換え FVIII を反応させ、様々な表面密度の I-FVIII (-VWF) プレートを作製した。フローシステムで全血を灌流させ、この I-FVIII プレート上の血栓形成を共焦点レーザー顕微鏡で観察し、抗フィブリノゲン抗体と抗フィブリン特異抗体による二重免疫蛍光標識法で血栓内フィブリン形成を評価した。

その結果、I-FVIII は高ずり応力下で特異的に血栓内フィブリン形成を増強し、この I-FVIII の血栓内フィブリン生成増強効果は、S-FVIII と異なり、抗ヒト FVIII 抗体 (インヒビター) に抵抗性であることを見出している。

以上の成績から、速い血流状況の高ずり応力下での血栓内凝固反応においては、血中凝固因子は血流に抗して血栓内に組み込まれる必要があり、血栓形成現場の基底部・深部に固定された凝固因子は、液相の凝固因子よりも効果的に凝固メカニズムに貢献できることが初めて可視的に示された。

従来の FVIII の機能評価システムでは不可能であった固定化 FVIII の機能評価を可能にし、その高ずり応力特異的な生理学的意義を明らかにしており、また、血友病インヒビター患者に対する新機軸の止血療法の可能性も示唆するものと考えられる。本研究内容は、血栓止血医学の基礎ならびに臨床において非常に有用な発見であり、参考論文も併せて十分に学位に相当する内容であると考えられる。

参 考 論 文

1. マウス心筋梗塞モデルにおける ADAMTS13 の心筋保護作用
杉本充彦、土井政明、松井英人、宮田敏行
日本止血血栓学会雑誌 23:590-593, 2012
2. Antithrombotic properties of pravastatin reducing intra-thrombus
fibrin deposition under high shear blood flow conditions.
Masaaki Hamada, Mitsuhiro Sugimoto, Hideto Matsui, Tomohiro
Misuno , Masaaki Doi, Hidetada Fukushima, Kenji Nishio, Akira
Yoshioka, Midori Shima
Thrombosis and Haemostasis 105:313-320, 2011
3. ADAMTS13 safeguards the myocardium in a mouse model of acute myocardial
infarction.
Masaaki Doi, Yukiiji Takeda, Yoshihiko Saito, Yasunori Matsunari,
Hideto Matsui, Hidetada Fukushima, Kenji Nishio, Midori Shima,
Fumiaki Banno, Masashi Akiyama, Koji Kokame, Toshiyuki Miyata,
Mitsuhiro Sugimoto
Thrombosis and Haemostasis 108:1236-1238, 2012

以上、主論文に報告された研究成績は参考論文とともに、先天性出血症から動脈血栓症にいたる広範囲の止血・血栓性疾患に対する治療の進展に寄与するところが大きいと認める。

平成 25 年 7 月 9 日

学位審査委員長

情報伝達薬理学

教授 吉栖 正典

学位審査副委員長

女性生殖器病態制御医学

教授 小林 浩

学位審査委員

循環器・腎臓病態制御医学

教授 斎藤 能彦

学位審査委員

血液・血流機能再建医学

教授 藤村 吉博

学位審査委員（指導教員）

発達・成育医学

教授 嶋 緑倫