

## 最終試験の結果の要旨

報告番号	総研第 455 号	学位申請者	倉野 美穂子	
審査委員	主査	橋口 照人	学位	博士 (医学)
	副査	井戸 章雄	副査	大石 充
	副査	谷本 昭英	副査	堀内 正久

主査および副査の5名は、平成30年2月15日、学位申請者 倉野 美穂子 君に面接し、学位申請論文の内容について説明を求めると共に、関連事項について試問を行った。具体的には、以下のような質疑応答がなされ、いずれについても満足すべき回答を得ることができた。

質問1) FMD には喫煙の影響があるが、喫煙者の場合に測定タイミングはどのようにしたか。

(回答) 喫煙者は検査日の朝から禁煙するように指導した。

質問2) 単核白血球の中で PAFR が発現している血球とそうでないものがあるのか。

(回答) 単核球を構成するのは主にリンパ球と単球だが、PAFR は単球には発現しているが、リンパ球での発現は少ないと報告されている。

質問3) 大血管合併と PAFR との関連に、LDL コレステロール (LDLC) や血圧を交絡因子として入れるべきだと考えるが、入れなかった理由はあるのか。

(回答) LDLC や血圧に関しては薬剤投与中であつたためモデルに投入しなかった。

質問4) PAFR 発現別に3群に分けると、高発現群より中発現群の方が FMD は低く oxLDL も高いため血管機能が低い印象がある。FMD は PAFR の発現と関連性があると言い切れるのか。

(回答) FMD は単変量、多変量解析ともに PAFR 遺伝子レベルと統計学的に有意な相関があつた。中発現群と高発現群に逆転があつたのは、測定時の血糖や血圧、脂質など他の因子の影響を受けていた可能性がある。

質問5) PAF の生理的作用は何か。

(回答) 血圧低下作用や生殖生理 (受精卵着床、排卵由発) などのオータコイド作用がある。

質問6) 血球以外の臓器で PAF や PAFR が発現する意義は何か。どのような環境で発現してどのような生理作用をもつのか。

(回答) PAF や PAFR は生理的作用よりも、なんらかの病態における悪玉メディエーターとして注目されている。喘息や COPD においては気管支上皮や肺胞上皮での発現が上昇し、病態を悪化させている。一方で、肝臓においては脂肪沈着を抑える良い面があり、エネルギー支出を制御する作用が推察される。

質問7) 糖尿病性腎症の免疫染色での PAFR 発現の報告があるが局在はどこか。

(回答) 報告されているのは皮質の尿細管領域であり、今回の仮説とは異なる部位であつた。

質問8) 動脈硬化では PAFR が染まるのか。

(回答) プラークの lumen 部には PAFR を強く発現した単球が並んでおり、またマクロファージや増

殖する平滑筋細胞にも発現しているが、コア内ではその発現は抑制されている。

質問 9) 実際の糖尿病腎症の病理では糸球体にほとんど白血球は存在していないが、文献的には報告があるのか。

(回答) 腎症患者の腎組織に浸潤するマクロファージについては、糸球体障害が中等度までのものには多く認められ、高度に進行したものにはむしろ少ないとの報告がある。臨床的に生検するような進行した腎症におけるアルブミン尿には、PAFR シグナルや白血球が寄与する部分は低いのかもかもしれない。

質問 10) 糖尿病では PAF の発現は内皮細胞で上昇しているのか。

(回答) 血管内皮細胞で PAF レベルが上昇しているとの報告はないが、2 型糖尿病患者の尿中の PAF レベルが上昇しアルブミン尿と相関しているとの報告はあり、糸球体の内皮細胞で PAF レベルの上昇が推察される。

質問 11) PAFR が大血管障害とどのようにつながるのか。

(回答) PAFR シグナルが血管内皮機能障害に関わることの他、マクロファージの ox-LDL 取り込みや血栓形成にも関連する機序が考えられる。

質問 12) 本研究の Limitation のうち追跡調査は具体的にどのように調査を行うか。また動物モデルはどのようなモデルを考えているのか。

(回答) PAFR レベルの腎症の進行への関与について、1 年後の ACR や eGFR を追跡して調査している。また、アルブミン尿を生じる db/db マウスモデルの解析を検討している。

質問 13) 血液中の遊離 PAF はどのような病態にどのように関わるのか。血中や尿の PAF は測定していないのか。

(回答) 血清ストックより PAF の測定は行ったが、PAF を分解する PAF acetylhydrolase 酵素の失活処置を行っていなかったため、信頼できる結果は得られなかった。また、遊離 PAF レベルが非常に上昇する病態としてはショックがあり血管の虚脱や血圧低下に関与しているが、慢性炎症性疾患での血中遊離 PAF のレベルや病的意義は不明である。

質問 14) Parametric 解析はどの項目で行ったのか。

(回答) 年齢、罹病期間、BMI、収縮期血圧、HDL コレステロール、eGFR は parametric 解析を行い、その他の項目は非正規分布であったため non-parametric 手法で解析した。

質問 15) Western blot を行った上位 5 名と下位 5 名の具体的な選抜方法はどのようにしたか。

(回答) PAFR 遺伝子発現レベルで順に並べ、最高位者から 5 人、最低位者から 5 人を選抜した。

質問 16) PAFR は細胞内受容体としても存在していることが報告されているが、その作用や意義は分かっているのか。

(回答) PAFR は細胞表面だけでなく、細胞内部のエンドゾーム領域に存在することが分かっているが、その意義は明らかではない。

質問 17) PAFR 高発現群で自律神経障害が多いが、自律神経障害と PAFR との関連はあるのか。

(回答) 動物モデルで PAF や PAFR が neuropathic pain に関連したとの報告がある。臨床的に自律神経障害を有する患者は末梢神経障害が進行しており、重篤な末梢神経障害を反映している可能性がある。

質問 18) DM→RAGE 活性亢進→NF $\kappa$ B→PAFR 発現上昇という流れが存在するのではないか。

(回答) 指摘の通り糖尿病では AGE の上昇及びそのレセプターの活性化が知られており、AGE レセプターは NF $\kappa$ B を活性化することが報告されている。PAFR 遺伝子のプロモーター領域には NF $\kappa$ B 結合配列が存在しており、PAFR 遺伝子発現が上昇したものと考えられる。

以上の質疑結果から、5 名の審査委員は申請者が大学院博士課程修了者としての学力・識見を有しているものと認め、博士 (医学) の学位を与えるに足る資格を有するものと認定した。