

最終試験の結果の要旨

報告番号	総研第 504	号	学位申請者	坂ノ上 正直
審査委員	主査	橋口 照人	学位	博士 (医学)
	副査	原 博満	副査	垣花 泰之
	副査	速見 浩士	副査	上村 修司

主査および副査の5名は、平成30年6月21日、学位申請者 坂ノ上 正直 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) GMA の効果は iC3b 依存的か。

(回答) iC3b 依存的である。

質問 2) IL-2R α の myeloid lineage cell への作用機序は何か。

(回答) IL-2R α が myeloid lineage cell を活性化するが、それ以上の作用機序は不明である。

質問 3) MIF は T 細胞が分泌しているのか。

(回答) T 細胞が分泌する。

質問 4) GMA により T 細胞の活性が低下することは炎症性腸疾患でも報告されているのか。

(回答) 作用機序は様々だが T 細胞の活性が低下し、炎症性腸疾患においても同様のことが報告されている。

質問 5) GMA の同様の研究で低下したサイトカインについては何か傾向があるか、同じものを測定しているか。

(回答) IL-8 など同じサイトカインが低下した結果もあったが、過去の文献で完全に共通した傾向はなかった。本研究での新しい発見は IL-2R α と MIF の低下である。

質問 6) Figure 2A について説明しなさい。

(回答) Figure 2A は CD33+CD11b+HLA-DR+細胞の population を示している。MDSC 以外の myeloid cell の population であり治療前後で上昇している。

質問 7) Figure 2B, 2C について説明しなさい。

(回答) Figure 2B は CD33+CD11b+HLA-DR-CD14+細胞、また Figure 2C は CD33+CD11b+HLA-DR-VEGFR1+細胞の population であり治療前後で上昇している。

質問 8) TGF- β や IL-10 などの MDSC の機能分子は観察したか。

(回答) 観察していない。今後検討の予定である。

質問 9) MDSC を測定した 8 人の症例で臨床との相関性はあったか。

(回答) 明らかな相関は認めなかった。

質問 10) ミニカラムでの iC3b 活性と EDTA について方法を説明しなさい

(回答) EDTA 処理により補体系の活性化に不可欠であるカルシウムがキレートされるため、iC3b が活性化されない。

質問 11) MAC 1 high の MDSC が CA ビーズに結合しているために MDSC がカラム内で濃縮し、GMA 後の割合が上昇しているのではないのか。

(回答) Figure 3 はビーズと結合していない MDSC 数を示している。仮に指摘のようであれば、補体の不活化により結合している MDSC が遊離するためフロースルー中の MDSC が増えると考えられる。

質問 12) iC3b が MDSC を誘導するというヒトでの報告はあるか

(回答) ない。

質問 13) GMA で効果がある患者とない患者に特徴はあるか

(回答) 急性期に GMA を行うと臨床的に改善することから、急性期の症例に有効例が多い印象である。白血球数、CRP 値などで比較検討しているが、現時点で有効な指標は同定されていない。今後検討の予定である。

質問 14) GMA 治療に対して MDSC の影響、効果はどの程度か。

(回答) 自己免疫疾患に対して直接的に MDSC の効果があるという報告はあるが効果を数値で表すのは難しいと考える。

最終試験の結果の要旨

質問 15) サイトカインの測定時期について。何故一週間後なのか。

(回答) 免疫反応などの生体反応を考慮して一週間後に測定し、多施設共同試験では2週間後に測定した。

質問 16) monocytic MDSC と granulocytic MDSC の増加の反応の違いは何か。

(回答) granulocytic MDSC の方が細胞サイクルが短いのでこのような差が出ていると考える。

質問 17) IL-2R α と IL-8 と MIF の共通した特徴は何か。

(回答) いずれも炎症を促進する。

質問 18) 原因が同じ好中球なのに疾患の表現型が異なる理由は何か。

(回答) 好中球のターゲットとして、表皮、真皮など攻撃する部位が違うので表現型が異なる。また炎症細胞のホーミングリセプターの違いが考えられる。

質問 19) 活性化した白血球の定義は何か。

(回答) Mac 1 の発現がある、炎症性サイトカインを分泌する、高い遊走能や貪食能を有する、などである。

質問 20) GMA で処理する血液量は定量であるのに、対象患者体重は異なる。データを一律に比較するにはどう考えるか。

(回答) 体重による処理量の違いは検討すべきであり現在共同研究施設等で検討されている。今回は GMA の保険で適応された 1800ml の処理量で測定した。

質問 21) サイトカインの低下と臨床症状との相関はあるか。

(回答) 炎症性サイトカインの低下により臨床症状が改善したと考えている。但し、両者に有意の相関があるかについては検討していない。

質問 22) MDSC 測定の際の患者の選択理由はあるか。

(回答) 研究実施期間中に受診された患者を受診順に選択した。選択はランダムでバイアスはない。

質問 23) サイトカインを測定した患者背景、治療歴は選択基準に入るのか。

(回答) サイトカインを測定した患者背景は、未治療の例、GMA 以外の既存の治療で難治であった例などランダムに選択した。年齢、性別なども様々である。既存の治療を施行中の症例では治療内容を変更せず GMA を行った。

質問 24) 有意差を認めた3つのサイトカインは再度 ELISA で評価したか。

(回答) 行っていない。今後検討する。

質問 25) ミニカラムの血液処理量についての条件は実際の患者と同じか。

(回答) 全く同一ではない。アダカラムのメーカーで共同研究を行っている JIMRO の実績に基づいてミニカラムの実験系を設定した。

質問 26) MDSC また IL-10 の皮膚における局在はどこか。

(回答) MDSC の分泌する IL-10 の皮膚病変部における局在は調べていない。既報にもない。今後の検討材料とする。

質問 27) サイトカインの発現量と疾患による差はあるか。

(回答) 疾患との相関性はない。

質問 28) IL-2R α 、IL-8、MIF を発現している細胞と皮膚疾患の関連性について述べよ。

(回答) IL-2R α は T 細胞や B 細胞が発現しており、リンパ腫、感染症、自己免疫疾患などにより血中に放出される。IL-8 は線維芽細胞、マクロファージ、血管内皮細胞が産生し好中球の遊走を促す。MIF は T 細胞が産生しマクロファージの病巣への集積を維持し、創傷を遅延させる。いずれも皮膚疾患の症状を増悪させ、治癒を遅延させると考えられる。

質問 29) iC3b の活性化は CA ビーズによる影響か。

(回答) iC3b は CA ビーズにより活性化する。

質問 30) EDTA により阻害される反応は多くあるが、iC3b が阻害されることにフォーカスして良いのか。

(回答) EDTA により Ca をキレートし補体経路の活性化を阻害することは少なくとも間違いないと考える。

質問 31) PPP を 56°C で incubate して補体を不活化することは想起しなかったか。

(回答) 想起しなかった。今後検討する。

質問 32) Bone marrow stromal cell は検討しているか。

(回答) 検討していない。今後検討する。

以上の結果から、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。