

## 最終試験の結果の要旨

報告番号	総研第152号	学位申請者	波野 史典
審査委員	主査	林 敬人	学位
	副査	垣花 泰之	副査
	副査	郡山 千早	副査
			博士 (医学)
			西尾 善彦
			浅川 明弘

主査及び副査の5名は、令和元年9月19日、学位申請者 波野 史典 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、以下の様な質疑応答がなされ、いずれも満足すべき回答を得ることができた。

質問1) 心房細動 (AF) における血栓の形成は心房内で起こると考えてよいのか。

(回答) AF における血栓は、主にリズム不整による左心耳内の血流のよどみが原因であり、心房内で形成される。

質問2) 今回測定した可溶性トロンボモジュリン (s-TM) は心房内の状態を反映しているのか。

(回答) 今回測定した s-TM は AF による全身の血管内皮細胞の状態を反映していると考えており心房局所ではない。

質問3) s-TM については日内変動を考慮した上での有意な変化か。

(回答) トロンボモジュリン (TM) の遺伝子発現は早朝に低下し、夕刻に増加する。少なくとも治療後6か月の採血はすべて午前中の外来採血であることから、s-TM の上昇は有意な変化と思われる。

質問4) 内皮型 NO 合成酵素 (eNOS) と非対称性ジメチルアルギニン (ADMA) の血管内皮障害マーカーとしての違いは何か。ADMA は直接的に血管内皮障害を反映しているのか。

(回答) eNOS は血管内皮細胞で産生されるため、血管内皮障害を直接反映する。一方、ADMA は血管内皮細胞の NO 産生を阻害する eNOS の内因性阻害物質であるが、血管内皮障害を直接反映するものではない。

質問5) 今回は治療後6か月までのフォローであったが、9か月後、1年後も同様の結果になるのか。

(回答) アブレーション治療後の長期的な動態の観察については、今後の検討課題としたい。

質問6) 過去に miR-22 と AF の関連を示す報告はあるのか。

(回答) miR-126 と AF の関連報告はあるが、miR-22 と AF との関連を示した報告はない。

質問7) 今回のデータを用いた将来の展望はどうか。

(回答) 今回検討した分子を AF アブレーション治療における「予後予測バイオマーカー」と現段階では位置付けられないが、他の分子との組み合わせることで精度の高い予後予測ができれば良いと考えている。

質問8) 左房容積が大きいと AF の再発率が高いが、s-TM との関連はどうか。

(回答) 左房容積と s-TM 変化量に相関はないが、治療前値の比較で負の相関傾向 ( $r = -0.235, p = 0.038$ ) を認めた。

質問9) 血管内皮機能の低下が AF の再発と関連していると考えた経緯は何か。

(回答) AF は必ずり応力の変化などにより血管内皮機能を変化させると予測される。一方、血管内皮機能により変化した血中分子は心機能に影響を及ぼす。したがって、血管内皮と心内膜の細胞間分子連関を想定した。

質問10) TM から s-TM が切断される機序は何か。

(回答) s-TM の遊離は、好中球エラスターゼ等が血管内皮細胞に作用し TM の細胞外ドメインが切断される場合や、サイトカインなどの刺激を受けた血管内皮細胞から脱落して起こるとされる。

質問11) AF アブレーション治療において患者が注意すべきこと (生活習慣など) は何か。

(回答) 不規則な生活習慣により再発リスクが上昇するため、ストレスや睡眠不足の解消、禁煙など生活習慣の改善が重要である。

## 最終試験の結果の要旨

質問 1 2) ADMA と miR-22、miR-126 の正相関が確認されたが、治療前後の変化で有意差が無いのは何故か。

(回答) AF アブレーション治療が個人において個々の分子に影響を与えなかったためと考えられる。しかし相関が認められた ADMA と miR-22、miR-126 は分子間の相互作用、制御機構が存在すると考えられ、今後検討したい。

質問 1 3) 相関の確認において、群分けを行わなかった理由は何故か。

(回答) 群分けによる解析を行ったが、症例数が少なくなり相関傾向は認めるものの有意差は認めなかった。そこで、各分子間の相互作用を検討するため、群分けを行わず相関関係を解析した。

質問 1 4) primary miRNAs が細胞外に放出される機序はどのように考えられているか。

(回答) 分泌小胞に内包されて分泌される機序、RNA 結合蛋白と結合して放出される機序が想定されている。

質問 1 5) s-TM における ROC 解析の解釈はどうか。

(回答) ROC 曲線下面積 (AUC) が 0.645 であるため予測能として不十分で、臨床では使用できない結果であった。

質問 1 6) 採血の条件 (空腹時、時刻など) は揃えて行ったか。また脱水などの影響はないのか。

(回答) 治療前採血については入院時採血のため採血条件は不均一であるが、治療後 6 か月採血はすべて外来採血であり午前中空腹時の採血である。脱水の有無に関しては検討していないので影響は不明である。

質問 1 7) アブレーション治療後は全て洞調律を得たのか。

(回答) 今回の対象症例においては、治療直後は全例において洞調律を得ている。

質問 1 8) 有意水準を調整したのは何故か。

(回答) 検定を繰り返す多重比較を行う場合、それぞれの検定の有意水準を 0.05 よりも小さくしなければ、familywise error rate を 0.05 にすることができない為、Bonferroni 法による調整を行った。

質問 1 9) 抗凝固薬間での比較検討ならびに、AF の予防効果があるとされる ARB の影響の検討は行ったか。

(回答) ワルファリン群、直接経口抗凝固薬群の群分けによる比較検討の結果、有意差のある因子は認められなかった。ARB の影響の検討については行っておらず、今後の検討課題としたい。

質問 2 0) PAI-1 が非再発群、再発群ともに上昇しているのは何故か。

(回答) 現時点では不明である。PAI-1 は時間経過と共に変化するという報告があり、治療前と治療後 6 か月以外の採血のタイミングを検討すれば、PAI-1 の動態の詳細が明らかになる可能性がある。

質問 2 1) 他の miRNAs での検討は行っているか。

(回答) 今回検討を行った miRNA は心血管系で特に重要とされる miR-22、miR-126、miR-142 とその前駆体 (primary miRNA) である。その他の miRNA の測定は行っていないが、今後検討したい。

質問 2 2) 左房径、左房容積と AF 再発についての過去の報告はないか。

(回答) 左房容積と AF 再発について左房容積のカットオフ値 86 mL にて感度 70%、特異度 64% との報告があるが、報告によりばらつきがある。

質問 2 3) 左房容積が大きくなれば Complex fractionated atrial electrogram (CFAE) エリアも増大するのか。

(回答) 左房容積が大きくなれば心房の線維化も進行するため、CFAE エリアも増大する。

質問 2 4) AF の発症を可及的速やかに反映するマーカーはあるのか。

(回答) 脳性ナトリウム利尿ペプチド (BNP) などは AF の病態に関連していることが報告されている。

質問 2 5) 採血時の状態 (洞調律 か AF か) による検討は行ったのか。

(回答) 採血時の状態 (洞調律 か AF か) での検討は行っていないが、今後検討したいと考えている。

質問 2 6) 血清の分画別 (エクソソームなど) の検討でも同様の結果になるのか。

(回答) 今回は全血清を使用しており、分画別の検討は行っていないが、今後検討したいと考えている。

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。