

最終試験の結果の要旨

報告番号	総研第	630号	学位申請者	尾田 悠
審査委員	主査	西尾 善彦	学位	博士(医学)
	副査	大石 充	副査	大脇 哲洋
	副査	垣花 泰之	副査	堀内 正久
<p>主査および副査の5名は、令和4年1月17日、学位申請者 尾田 悠 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。</p> <p>Q1. 健常人ボランティアの、健常であることはどのように定義されたか。 A1. 研究をするにあたって、CPC 治験病院の治験に従事している医師が診察を行い、健常であるかどうか判定した。ご指摘の通り、被験者の一部は一般的な臨床化学試験で異常値を示した。</p> <p>Q2. 女性はエストロゲンの影響もあり、年齢と動脈硬化との関連が一般的に議論になるが、女性における年齢と測定結果との関係性はどのようにになっているか。 A2. 本研究では25~45歳と若年者が多く有意な関連は指摘できなかった。65歳以上の女性13人も含めて検証したが、年齢間に有意な相関は認められなかった。</p> <p>Q3. 心血管リスクとして脈圧を挙げているが、その根拠は何か。 A3. 収縮期血圧の高い対象が少なかったこと、脈圧の方が収縮期血圧よりもAUC10と相関していたため使用した。</p> <p>Q4. 一般的に若年者においては拡張期血圧が高い方、つまり脈圧が小さい方がリスクとなるが、どう考えるか。脈圧が60を超えるのは異常であるが、どう考察されるか。 A4. 今回、拡張期血圧は血栓形成能の指標とは関連しなかった。一般的に循環体液量が増えることは、動脈硬化を悪化させる原因となるが、体液量が多くなることは血液粘度が低下することとなり、T-TASの結果に反映されにくかったと考察される。動脈硬化を反映して脈圧とAUC10が相関した可能性がある。血圧とT-TASとの関連性の検証は今後必須である。</p> <p>Q5. AUC10が非常に低い対象者について、今現在原因が特定できる対象はいないのか。 A5. 血栓形成の初期応答すら起こっていないことから、血小板の接着に原因がある可能性があるが、病的な意義を示す背景を認めず、今後の研究課題となっている。</p> <p>Q6. T-TASの検査にはヒルジンをを用いるが、クエン酸やヘパリンでは代用できるか。 A6. 全血サンプルは採血直後から凝固が始まるため、PLチップには凝固因子の影響を抑制する目的でヒルジンをを用いる。PLチップでカルシウムをキレートすると血小板機能が低下して閉塞に至らない対象が多かったことや、ヘパリンを用いると微小な凝集塊が流れることが多く、安定した検査とならなかったため、ヒルジンをを用いた経緯がある。</p> <p>Q7. 外れ値となった対象について、採血からT-TAS測定までの時間の影響は考えられるか。 A7. 今回は同じ検査者が同じ施設で、採血から同じ時間となるようT-TASを測定しているため、手技に起因した影響は少ないものと考えている。</p> <p>Q8. T10について、T10よりも後の部分で測定するほうがより比較が鮮明になるのではないか。 A8. 実際の圧力波形での曲がり初めであるT10が採用されている。</p> <p>Q9. 10分でAUCを見ているが、それ以上伸ばす方が良いのではないか。 A9. PLチップにおいては他の全血を使用する検査の時間に合わせて10分以内に結果がわかるよう開発された経緯がある。10分を過ぎて閉塞しない場合は、その後観察を続けても閉塞を来すことはほとんど認められない。</p> <p>Q10. 単球は血流下において血管内皮と接着することが考えられるが、本当に血流の中心を流れるのか。 A10. T-TASの流路には、コラーゲン以外に単球と接着する血管内皮の物質がないことや、PLチップの流路が実際の毛細血管よりも細いことから、生理的な環境と乖離が生じた可能性がある。</p> <p>Q11. 検査上のテクニックで結果に作用するものがあるのか。 A11. 熟練した検査者の方が、ばらつきが少ない傾向がある。採血から同じ時間で測定をすること、転倒混和の回数をそろえること、ピペティングの速度を一定にすることなどが挙げられる。</p> <p>Q12. 健常人だけでなく、高齢者についてもデータがあるのか。</p>				

最終試験の結果の要旨

- A12. 実際には 25-45 歳と 65 歳以上では、高齢者の方が AUC10 は低い傾向にある。初期の動脈硬化においては AUC10 が上昇し、動脈硬化が進展すると AUC10 が低下する可能性を示唆している。
- Q13. 1500^s を選んだ理由があるか。
- A13. 1000^s では血液の粘度に関わりある因子が関連し、2000^s では白血球数やフィブリンなど血栓の安定化に関わる因子が関連していた。最も多彩な因子と関連のあった 1500^s を今回使用した。
- Q14. 当日の食事の影響はあるのか。それが AUC の極端に低い対象の原因になりうるか。
- A14. 当日の食事は影響があるが、極端な変動が 1 日の食事で生じる可能性は少ないと考えている。
- Q15. 単球が特に関連したことについて。なぜ単球だけが関連が強かったのか。
- A15. 単球のほかに好中球もよく AUC と関連した。リンパ球や好酸球、好塩基球は T10 との弱い相関を認めるのみで AUC とは関連しなかった。指摘の通り、血小板との関係性が関連していると考えられる。
- Q16. 単球数と AUC10 との散布図で、右下に少しずれた一群がいるが、なにか特徴があるか。
- A16. 散布図で指摘された 7 対象を抽出し、検証したが、共通した特徴は指摘できなかった。ただ 3 例で好中球数が 6000 を超えており、炎症を示唆している可能性がある。今後の検討課題である。
- Q17. CPC 治験病院での、対象者の募集の仕方は具体的にはどのように募集したのか。
- A17. 広く一般に募集せず、主に CPC 治験病院の職員や大学院生を中心に募集した。
- Q18. 食事の影響として、6 時間の絶食時間が設定されているが、T-TAS には食事の制限があるのか。
- A18. 食事の当日の影響は免れ得ないが、現状としては食事の制限をかけて検査は行っていない。今回は基準範囲の設定という意味から、条件を揃えるために絶食時間を設定した。
- Q19. 血小板と年齢、性別との関連があるか。
- A19. 改めて検証したが、血小板数と年齢、性別に有意な相関関係は認められなかった。血小板を介した交絡による、AUC10 の性差や年齢差は考えにくい結果であった。
- Q20. カリウムを添加して T-TAS を測定してみたことはあるか。
- A20. 指摘の通り、実際に実験する必要がある。
- Q21. 過去のデータでは PL チップは低血糖で変化したが、PL チップで異常となる疾患はあるか。
- A21. 現在 PL チップは von Willebrand 病などの一次止血異常をきたす疾患で異常低値をとることが知られている。子宮内膜症や多嚢胞性卵巣症候群における凝固異常の判定に有用という報告もある。
- Q22. AUC10 と T10 は相関するのか。
- A22. 相関する。スピアマンの相関係数は -0.758、有意確率は 0.001 未満であった。
- Q23. 脈圧や喫煙歴について、動脈硬化から血栓形成が変動している可能性があるか。
- A23. 指摘の通り、動脈硬化を反映した結果血栓形成能に影響が及んでいる可能性がある。今回の研究では動脈硬化についてのデータが乏しく、今後脈波図や血管エコーなど、動脈硬化の直接的な指標との関連は調べる必要がある。今回の対象者は収縮期血圧が上昇する前の人々であり、動脈硬化の初期のスクリーニングとして T-TAS が有用となる可能性があると考えている。
- 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。