

最終試験の結果の要旨

報 告 番 号	総 研 第 651 号		学位申請者	畠中 公作
審 査 委 員	主 査	奥野 浩行	学 位	博士 (医学)
	副 査	石塚 賢治	副 査	山口 宗一
	副 査	堀内 正久	副 査	中原 真由美

主査および副査の5名は、令和 4 年 2 月 7 日、学位申請者 畠中 公作 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) 基礎疾患等の患者背景はどうだったのか。また今回の結果は、基礎疾患等が関与しているのか。

(回答) ICU へ入室した敗血症を疑う患者を選択したが、患者背景は統一しておらず、基礎疾患別に患者背景を分けての解析は今後の課題である。

質問 2) 論文上に、血小板減少の原因は必ずしも血管内凝固の活性化ではなく、補体の活性化でもあると記載している。今回は補体の活性化も起こっているのか。

(回答) 今回は補体の活性化を検討していないため関与したかは不明である。

質問 3) シンデカン-1 と腎機能との関連が示されたが、今回のエピソードによるものなのか、元々の状態を反映しているのか。また腎臓機能低下は、シンデカン-1 のクリアランスも悪くなるという理解でよいのか。

(回答) 感染により腎機能が低下している患者や透析患者も解析対象となっており、今回のエピソードによるものは不明である。腎臓機能低下はシンデカン-1 のクリアランスを低下させるという報告がある。

質問 4) なぜシンデカン-1 を測定したのか。グリコカリックスのメジャーな蛋白という理解でよいのか。

(回答) シンデカン-1 はグリコカリックスのコアな蛋白であるため測定した。

質問 5) シンデカン-1 もしくはグリコカリックスの生体内の分布は異なるのか。

(回答) 臓器ごとに異なる。例えば電子顕微鏡で観察された脳のグリコカリックスの厚さは $2\mu\text{m}$ と非常に厚く、肺のグリコカリックスは $0.2\mu\text{m}$ と非常に薄い形態をしている。

質問 6) シンデカン-1 値は、シンデカン-1 が量的に多いところの障害を反映しているのか。

(回答) 動物実験においては、グリコカリックスの層の薄い肺などが障害を受けていることから、量的に多いところを反映しているのではなく、全身のシンデカン-1 の変化を捉えていると考えている。

質問 7) シンデカン-1 は蛋白分解酵素によって特異的に切断されたものか。

(回答) 蛋白分解酵素の種類によって特異的に切断されるという報告がある。

質問 8) 糖鎖を残したままシンデカン-1 は循環しているのか。

(回答) シンデカン-1 は糖鎖を残したまま循環しているという報告がある。

質問 9) ELISA の抗体が糖鎖の影響で結合の親和性が落ちることはないのか。

(回答) 測定への影響は少ないと考えているが、根拠を示す事ができない。

質問 10) 統計解析で Shapiro-Wilk test をどのように利用したのか。

(回答) Shapiro-Wilk test で全データが非正規性であることを確認し、ノンパラメトリック法で統計解析を行った。

質問 11) Receiver operating characteristic curve (ROC) の AUC を数値で示しているが、なぜ、Delong 検定での群間比較は行わなかったのか。

(回答) AUC だけで予測能を評価できると認識していた為、Delong 検定での群間比較については今後の課題としたい。

最終試験の結果の要旨

質問 1 2) シンデカン-1 の腎排泄を考慮し、シンデカン-1/クレアチニンで補正をかけ、血清シンデカン-1 を評価してみてもどうか。

(回答) 腎障害の影響を除外できるため今後の課題としたい。

質問 1 3) 血小板数が低いと生存率が低下していると他の研究者の報告を提示しているが、消費と産生低下のどちらの影響か。また血小板の産生能を評価することはできるのか。

(回答) 敗血症では消費性に血小板が減少することが報告されている。また、血小板の産生能を評価する方法として、幼若血小板比率 (immature platelet fraction : IPF) 測定がある。

質問 1 4) シンデカン-1 にはファミリーがあると思うが、そのファミリーの中での検討は行ったか。

(回答) シンデカン-1 は 1~4 までのファミリーがあるが、グリコカリックスの構成は主にシンデカン-1 であるため、ファミリー間での比較は行っていない。

質問 1 5) 今回使用した ELISA は、シンデカン-1 だけではなく、他のシンデカンファミリーを認識していたのではないか。また今後、シンデカンファミリーのタイプごとに測定し、クロスリアクションの有無は検討するのか。

(回答) 今回使用した ELISA はシンデカン-1 全長を抗原としたポリクローナル抗体であるため、シンデカン-1 を認識していたと考えている。またシンデカンファミリーのタイプにおけるクロスリアクションの有無については、今後の課題としたい。

質問 1 6) シンデカン-1 を血清で測定しているが、血漿でも測定し比較してみたか。

(回答) 血漿では測定していないため今後の課題としたい。

質問 1 7) Matrix metalloproteinase (MMPs) によるシンデカン-1 の切断部位は決まっているのか。

(回答) 特定の切断部位がある。

質問 1 8) 動脈と静脈ではどちらにグリコカリックスが多く発現しているのか。

(回答) 動脈と静脈のグリコカリックスの形態の違いについての明確な報告は未だない。

質問 1 9) ROC から求めた血清シンデカン-1 のカットオフ値 21.4 ng/mL は、どのような方法で決めたのか。また別のカットオフ値での血小板減少の比較は行ったのか。

(回答) 感度+特異度が最大となる値をカットオフ値とした。別のカットオフ値での比較は行っていない。

質問 2 0) 他の物質を血管内皮細胞障害の指標として検討すれば予測精度はあがるのか。

(回答) 血管内皮細胞上に発現しているトロンボモジュリン、グリコカリックスの構成成分のシンデカン-1 やヒアルロン酸で検討している論文はあるが、どれも血管内皮細胞障害のマーカーとなり得る可能性が報告されている。どの物質の精度が高いかは不明である。

質問 2 1) SOFA スコアや DIC スコアで全体の相関を解析しているが、生存群と非生存群をそれぞれ分けて解析を行なってみてどうか。

(回答) 生存群と非生存群それぞれで、SOFA スコア及び DIC スコアと相関をみることで新たな知見を得られる可能性があるため、今後の課題としたい。

質問 2 2) 多変量解析を行うためには、どの位の症例数を考えているのか。また予測精度があがるのか。

(回答) 症例数は交絡因子の数によって検討したい。多変量解析は、交絡因子で補正を行うことにより、実臨床に近くなるため、予測精度は上がると考えている。

質問 2 3) インフォームドコンセントの倫理的配慮はどのように行なったのか。

(回答) 鹿児島大学病院ホームページ上に本研究の実施についての情報を公開し、可能な限り拒否の機会を保障するオプトアウト方式で行った。

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。