

最終試験の結果の要旨

報 告 番 号	総 論 第 11 号		学位申請者	曾我部 篤史
審 査 委 員	主 査	橋口 照人	学 位	博士 (医学)
	副 査	中川 昌之	副 査	西尾 善彦
	副 査	堀内 正久	副 査	東 美智代
<p>主査および副査の5名は、平成25年8月22日、学位申請者 曾我部 篤史 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>質問1) SELDI において、健常者群に比べ IgA 腎症群で Intensity の低い蛋白質も有意差のある蛋白質に含まれているのか。</p> <p>(回答) 含まれている。</p> <p>質問2) 有意差を認めた3つの蛋白質ピークのうち残りの2つを選択しなかった理由は何か。</p> <p>(回答) 健常者との比較で差が比較的小さかったことと、Intensity が低く、解析が困難と判断したためである。</p> <p>質問3) エドマン分解を用いた蛋白質同定は行わなかったのか。</p> <p>(回答) SELDI 上の 8592 m/z を単離精製する必要性があり、本研究では行っていない。</p> <p>質問4) C4a と C4a desArg が区別できなければバイオマーカーとして臨床応用する場合にどのように考えるのか。</p> <p>(回答) C4a desArg は C4a が不活性化して産生されるものなので、両方を測定して補体活性化の程度として考える。</p> <p>質問5) C4a の免疫吸着は治療法の一つとして考えられないか。</p> <p>(回答) 血中 C4a 上昇は腎炎の原因というより結果である可能性が高く、治療の標的とはなりにくいとする。</p> <p>質問6) このバイオマーカーで IgA 腎症の予後の予測はできないのか。</p> <p>(回答) IgA 腎症の病理組織学的活動性と相関し、予後予測のマーカーとして有用である可能性がある。</p> <p>質問7) C4a desArg は IgA 腎症の原因か、あるいは病態と関連するマーカーなのか。</p> <p>(回答) 原因ではなく病態と関連するマーカーであるとする。</p> <p>質問8) SELDI での蛋白質の探索では高分子量領域は除外しているのか。</p> <p>(回答) 2000-11000 m/z の範囲で探索しており、高分子量領域は除外している。</p> <p>質問9) サンプルの保存状態は実験結果に影響を与えるのか。</p> <p>(回答) 保存状態は実験結果に影響を与えられるが、保存状態ができるだけ同じになるように処理した。</p> <p>質問10) C4a desArg ではなく C4a のみ精製された蛋白質はないのか。</p> <p>(回答) C4a は不安定な蛋白質でありすぐに安定した C4a desArg へ変換されてしまうため、C4a の精製は困難である。</p> <p>質問11) C4a は C4a desArg に比べ血中濃度に差があるのか。</p> <p>(回答) SELDI 上では異なる分子量の蛋白濃度を正確に比較できないが、Intensity の違いをもとに蛋白質濃度を比較すると、C4a 濃度は C4a desArg 濃度に比べ少量と推測される。</p> <p>質問12) 血中 C4a 濃度上昇は IgA 腎症に特異的か。例えば、糖尿病性腎症での報告はあるのか。</p> <p>(回答) 糖尿病性腎症を含め他の腎炎において血中 C4a/C4a desArg 濃度を検討した報告はない。</p>				

最終試験の結果の要旨

質問 13) IgA 腎症で血尿が特徴である理由は何か。

(回答) 糸球体毛細血管炎の関与が推測され、その結果、尿細管腔への赤血球の漏出が起こる機序が考えられている。

質問 14) Table 1 において健常者群と IgA 腎症患者群で血清 IgA 値に有意差を認めないのはなぜか。

(回答) IgA 腎症患者では約半数で血清 IgA 値が正常であり、症例数が少なく有意差が検出されなかったと考えられる。

質問 15) eGFR が健常者と患者群で差を認めないのはなぜか。

(回答) 早期の IgA 腎症患者を対象としており、腎機能の低下した IgA 腎症患者は除外しているためと考える。

質問 16) C4a desArg の実際の分子量は 8607 Da で SELDI 上では 8592 m/z となっている。この違いの理由は何か。

(回答) SELDI の測定誤差と考えられる。

質問 17) Figure 3(D) で lane 2 のバンドが lane 1 より薄く、lane 5 でさらに薄くなっている理由は何か。

(回答) 免疫沈降の過程で蛋白質全体のうち一部が喪失してしまった（全て回収できなかった）可能性が考えられる。

質問 18) サンプル採取から測定までの間に進む補体活性化反応は健常者群と患者群で同じか。

(回答) 測定までの間に進む補体活性化反応が最小限になるように迅速な検体処理を行ったが、実際の患者群及び健常者群での補体活性化の程度やその比較は検討できていない。

質問 19) 健常者群はどのような集団なのか。

(回答) 問診にて検尿異常や治療中の疾患がないことを確認できる人を募り、健常者群とした。

質問 20) 患者群はその後の検査値の追跡を行っているか。又、透析を含め、どのような経過を辿っているか。

(回答) 診療の一環としての血液検査値は追跡している。個々の症例についての経過は一部しか把握していない。把握している中では末期腎不全・透析導入に至った症例はない。

質問 21) 腎障害が軽度の早期の患者を対象とした理由は何か。

(回答) クリアランスの影響を除外するためと、免疫抑制療法は腎機能が保たれている患者が対象となるためである。

質問 22) Oxford 分類において IgA 腎症の予後と関連する因子は何と考えるか。

(回答) 尿細管萎縮／間質線維化は予後と関連すると考えられ、その他ははっきりしていない。Oxford 分類では有意差を認めていないが、半月体形成は臨床的には IgA 腎症の予後と関連すると考えている。

質問 23) 再度、腎生検を行うのは臨床的にどのような場合なのか。

(回答) 免疫抑制療法を再開もしくは強化、中止するなど治療方針の変更を検討する場合に行うことが多い。

質問 24) 蛋白質ピークの Intensity はピークの高さかピークの面積かいずれか。

(回答) ピークの高さである。

質問 25) TagIdent database で絞った 40 個ほどの候補蛋白質のうち C4a desArg を選択した根拠は何か。

(回答) SELDI を用いた検討では補体関連分子の報告が多いことと、IgA 腎症に補体活性化が関与しているためである。

質問 26) ウエスタンブロッティングで用いた血清量はいくらか。

(回答) レーン 1 にはカラム処理した血清を脱塩・濃縮後に 2 μ l、PBS 7 μ l、サンプルバッファーを 3 μ l 加えた。

質問 27) C4a desArg が他の疾患のバイオマーカーとなっている報告はあるか。

(回答) C4a desArg は原発性肺高血圧症患者の血清において上昇しているとの報告がある。

質問 28) カラム処理した際にアルブミンは除かれるが、C4a はアルブミンでキャリアーされる蛋白質ではないのか。

(回答) C4a はアルブミンでキャリアーされる蛋白質ではないと考えられ、免疫沈降に関連する実験ではアルブミンは除いた血清蛋白質で検討している。

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同等あるいはそれ以上の学力・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。