

論文審査の要旨

筆頭著者（学位申請者）氏名

内田 貞輔

主論文の題目
および
掲載・審査委員名

題目 Comparative Proteomic Analysis of Neutrophils from Patients with Microscopic Polyangiitis and Granulomatosis with Polyangiitis
(顕微鏡的多発血管炎と多発血管炎性肉芽腫症における患者好中球のプロテオームの比較解析)

掲載誌 Journal of Proteomics 2013; 8:91:259-269.

主査 松田 隆 秀
副査 遊道 和 雄
副査 川上 民 裕

[論文の要旨・価値]

抗好中球細胞質抗体（Anti-neutrophil cytoplasmic antibody、ANCA）関連血管炎に分類される顕微鏡的多発血管炎（Microscopic Polyangiitis、MPA）および多発血管炎性肉芽腫症（Granulomatosis with Polyangiitis、GPA）は、全身の小型血管の炎症を主体とした難治性疾患である。両疾患は治療や再発のリスク、生命予後が異なるため、発症初期に両疾患を鑑別することが临床上重要である。両疾患の鑑別診断には ANCA サブタイプを用いるのが有用とされているが、臨床の場では鑑別が困難な症例が少なくない。そこで本研究では両疾患症例の好中球蛋白質を網羅的に解析することにより、両疾患を鑑別するのに有用な疾患特異的マーカーとなる蛋白質を探索している。

（方法・対象）米国リウマチ学会の血管炎診断基準とチャペルヒル分類を用いて ANCA 関連血管炎と診断した患者 20 例（MPA11 例、GPA9 例）および健常者（HC）10 例の末梢血より好中球を分離し、抽出した蛋白質を 2-Dimensional Fluorescence Difference Gel Electrophoresis（2D-DIGE）法により定量比較した。MPA、GPA、HC の 3 群間で発現量に有意差を認めた蛋白質スポットについて、質量分析法により蛋白質を同定した。また、蛋白質定量情報を多変量解析を用いて評価し、さらに疾患特異的マーカーの候補蛋白質に関しては、診断能を ROC 曲線を用いて検討した。（聖マリアンナ医科大学生命倫理委員会 承認 794 号）。

（結果）好中球蛋白質の 2 次元泳動の結果、1 検体あたり 864 個の蛋白質スポットが得られた。その中で MPA、GPA、HC の 3 群間において分散分析(ANOVA)で有意差(p<0.05)のあるスポットが 55 個認められ、31 個が質量分析により同定された。OPLS-DA 解析で検討したところ、同定された 31 個の蛋白質スポットの定量情報を用いると、血管炎群(MPA 群と GPA 群)と HC 群を完全に分けることができた。次に MPA 群と GPA 群を鑑別するマーカーとなる蛋白質スポットを探索したところ、13 個の蛋白質スポット(10 個の蛋白質)の定量情報を用いて両疾患を鑑別することができた。さらに ROC 曲線を用いて検討したところ、neutrophil gelatinase-associated lipocalin NGAL)と A-kinase protein7 isoforms alpha and beta (AKAP7)を組み合わせると高い鑑別能力(感度 100%、特異度 75%、ROC 曲線下面積 89.6%)を示した。以上、本研究は NGAL と AKAP7 を組み合わせることにより、高い能力で顕微鏡的多発血管炎（MPA）と多発血管炎性肉芽腫症（GPA）を鑑別できることを示唆した価値あるものである。臨床応用へ向けた今後の発展に期待したい。

[審査概要]

申請者による 20 分の発表後、25 分間の質疑応答を行った。質疑では、①今回、対象とした顕微鏡的多発血管炎症例および多発血管炎性肉芽腫症例に関して、典型例ばかりを対象としているか、②各群での治療内容と活動性によって蛋白質スポットに差異はなかったか、③ANCA のサブクラスと蛋白質スポットの関連についてはどうか、などの質問があった。本研究の限界と今後の課題も認識し、申請者は概ね適切得的を得た応答を行った。英語読解力は引用文献を用いて、一部の直訳と図表の説明を課題としたが、問題はなかった。

(最終) 試験結果の要旨

[研究能力・学識等]

1) 専門的知識

申請の論文の基礎となる血管炎の病態、臨床に関する知識は充分にあるものと判断した。また、研究のデザインや方法に関する知識も持ち合わせていた。

2) 研究能力

今回の研究の大半のデータを自ら集め、指導の下で自ら解析し、統計学の知識も獲得しており、将来研究者として独り立ちできる知識、技術、考察力を持っていると判断した。

3) 発表能力

発表はわかりやすく工夫され、発表能力は備わっていると判断した。

4) 研究意欲

本研究の意義、限界を述べることができ、今後の研究意欲も感じられた。

5) 態度・人柄

質疑応答における態度は丁寧で、すべての質問に真摯に答えていた。学位授与にふさわしい人物と見受けられた。