



Title	SYT17(Synaptotagmin17)の腎移植後慢性拒絶反応に対する新規尿中バイオマーカーとしての研究〔論文内容及び審査の要旨〕
Author(s)	高田, 祐輔
Description	配架番号 : 2540
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(医学)
Dissertation Number	甲第14075号
Issue Date	2020-03-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/78289
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	Yusuke_Takada_review.pdf, 審査の要旨



学位論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称 博士（医 学） 氏 名 高田 祐輔

	主査	教授	西浦 博
審査担当者	副査	教授	渡利 英道
	副査	教授	安斉 俊久
	副査	教授	豊嶋 崇徳

学 位 論 文 題 名

SYT17(Synaptotagmin17)の腎移植後慢性拒絶反応に対する新規尿中バイオマーカーとしての研究
(Study on SYT17 <Synaptotagmin 17> as a novel urinary biomarker in chronic rejection after
kidney transplantation)

医療技術の発達によって移植腎生着率は飛躍的に改善しているが、慢性拒絶反応が近年でも移植腎機能廃絶の 25%を占める。このうち、ドナー特異的抗体（Donor Specific Antigen : DSA）の新規発生によって発症する慢性活動性抗体関連型拒絶反応（Chronic Active Antibody Mediated Rejection : CAAMR）が大部分である。しかし、確立された診断・治療戦略が存在しない。分子神経免疫学教室は、非免疫細胞における NF κ B（Nuclear Factor-kappa B）と STAT3（Signal Transducer and Activator of Transcription 3）の同時活性化により、炎症性サイトカインが相乗的に発現される機構を報告している。この機構は炎症アンプ（Inflammation Amplifier）と命名され、炎症疾患の形成に重要である。CAAMR は、DSA に端を発する移植腎で起きる炎症性疾患と予想される。そこで、本研究では炎症アンプに関わる遺伝子の中から、CAAMR にも関与する遺伝子を同定し、新規バイオマーカーおよび治療ターゲットの発見を目的とした。

ヒト腎細胞株を用いた RNA シーケンスにより、炎症アンプに関わる遺伝子として、SYT17（Synaptotagmin17）を抽出した。SYT17 抑制することで炎症性サイトカインの発現が抑制された。逆に、過剰発現させた場合は、NF κ B・IL-6 の発現活性が高まった。これらのデータは、SYT17 が炎症アンプの正のレギュレーターとして働いていることを示す。

はじめに、移植腎での SYT17 の発現を確認するために、移植腎生検サンプルを用いて免疫染色を行った。各群 6 例ずつ検討したところ、CAAMR 群で有意差をもって、SYT17 が強発現していた。次に、SYT17 が CAAMR 診断の尿中バイオマーカーとして有用であるのかを検討した。まず、Whole urine（未処理尿）の状態で評価を行ったが、SYT17 タンパク質の測定が困難であった。その一方で、尿中エクソソームによる評価では、CAAMR 症例のサンプルで SYT17 タンパク質の強い発現が確認された。検討症例数を増やした結果、CAAMR 群のみで、統計学的有意差をもって、SYT17 の高値を認めた。現在臨床で使用している検査値には、NAG（N-acetyl- β -D-glucosaminidase）、尿蛋白、eGFR（estimated glomerular filtration rate）がある。これらの検査の中で、CAAMR 群と他群の有意差を示すことができるものはなかった。加えて、SYT17 との間で、有意な相関関係を認めるものもなかった。これらの結果から、現在の検査では診断ができない CAAMR を、SYT17 であれば発見・診断できるという新規性があると考えられる。尿中エクソソーム SYT17 は、これまで存在しなかった CAAMR の新規診断バイオマーカーである。

学位論文内容の口頭発表後、副査の安斉教授より、CAAMR 以外の腎での炎症をきたす疾患で検討についての質問があった。申請者は、膜性腎症やループス腎炎などの腎炎の患者サンプルでも同様に上昇を認めたと回答した。さらに、SYT17 は、腎または CAAMR に特異的なマーカーであるのかと質問があった。申請者は、CAAMR だけに特異的というわけではなく、腎での微少な炎症を鋭敏に測定できるマーカーと考えていると回答した。

続いて、副査の渡利教授より、SYT17 と DSA の出現するタイミングについての見解についての質問があった。申請者は以下のように回答した。DSA は早期炎症イベントの後に発生すると考えられている。現在、臨床的にこの早期炎症イベントのタイミングを検知することは難しい。したがって、本研究ではどのタイミングから SYT17 が上昇するのかを判断することは困難であり、今後の更なる観察・研究が望まれる。さらに、DSA が根本となっていると考えられるので、これを予防する方法はあるのかと質問があり、医療者による免疫抑制剤など定期的なモニタリングや、患者自身の自己管理など双方の努力が必要と回答した。また、炎症アンプは IL6 をトリガーとするため、IL6 自体の抑制の治療効果についての質問があり、申請者は、すでに IL6 をターゲットとした介入で治療効果を得たという報告がある。しかし、より下流の物質を阻害して効果を得ることができれば、副作用も少なく、治療薬として優れている可能性があるかと回答した。そして、Whole urine（未処理尿）で SYT17 の測定が困難であった理由については、Whole urine では Tamm-Horsfall 蛋白などの尿中に多量に含まれるものの修飾を受け、微量蛋白である SYT17 は正確に測定できないと回答した。血液での検討は行ったのかと質問に対しては、血清中エクソソームも検討し、群間の差を認めなかったと回答した。

続いて、副査の豊嶋教授より、SYT17 と現在のバイオマーカーに相関がないため新規性があるというが、データ異常とサンプル回収のタイミングについての確認があり、データの異常をきたした際のサンプルは除外し、検査値が安定している定期生検の際のサンプルのみを対象としたと回答した。また、DSA によって糸球体に変化を起こしている証明はあるのかと質問があった。申請者は、CAAMR と診断された患者は、すべて血清中の DSA の存在が確認され、かつ腎生検で血管内皮細胞障害が証明されていると回答した。そして、血清中で群間の差がないのであれば、血尿がある患者では感度が落ちるのかという質問に対しては、尿中エクソソームを抽出する際の洗浄工程によって、血尿の有無による有意差は認めなかったと回答した。

続いて、主査の西浦教授より、感度が 0.77 と低値であることの考察についての質問があった。申請者は、SYT17 以外の複数のマーカーを組み合わせることで感度・特異度を上昇させることが可能と考えている。健常ボランティアと CAAMR 患者の尿中エクソソームの Mass Spectrometry も行い候補となる蛋白のスクリーニングを行ったが、研究期間内で処理することは困難であり、今後の課題と考えていると回答した。

申請者は質問の主旨を的確に理解し、専門領域の文献的見解を混じえて適切に回答した。また、今後の課題や展望についても、逐次的に解決すべき問題を明確に挙げ、今後の研究への展開について自らの考えを示すことができた。

この論文は、これまで存在しなかった CAAMR のバイオマーカーを、新たに発見した点が高く評価される。さらに、炎症アンプを通じて、バイオマーカーや治療標的となる新たな物質を抽出することの布石となる研究であり、今後のさらなる発展により、CAAMR の病態解明・治療への貢献が期待される。

審査委員一同は、これらの成果を高く評価し、大学院課程における研鑽や取得単位なども併せ、申請者が博士（医学）の学位を授与されるのに十分な資格を有すると判定した。