HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	免疫プロテアソーム機能低下が腎虚血再灌流傷害に与える影響［論文内容及び審査の要旨］
Author(s)	石井, 保志
Description	配架番号：2664
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(医学)
Dissertation Number	甲第14930号
Issue Date	2022-03-24
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/85760
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	ISHII_Yasushi_review.pdf, 審査の要旨

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

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　石井 保志

主査　　教授　佐邊 壽孝
審査担当者　副査　　准教授　工藤 正尊
副査　　教授　伊藤 陽一

学 位 論 文 題 名

免疫プロテアソーム機能低下が腎虚血再灌流傷害に与える影響
（Impaired immunoproteasomal function exacerbates ischemia-reperfusion injury）

本学位論文で申請者は、免疫プロテアソームの発現低下が腎臓の虚血再灌流傷害（ischemia-reperfusion injury; I/R injury）を増悪させ、移植後合併症である移植腎機能遅延（delayed graft function; DGF）の発症リスクとなる可能性があることを示した。

審査にあたり、副査の伊藤 教授からβ5i 遺伝子ホモ欠損（β5i homo-knockout; KO）マウスの免疫プロテアソーム複合体形成について質問があり、申請者は、β5 で置換され、β1i と β2i と複合体を形成していると推定されるが確認を要すると回答した。また β5i 発現量と免疫プロテアソームの量的相関について質問があり、申請者は相関が推定されるが、確認を要すると回答した。伊藤 教授からは、免疫プロテアソーム発現量と機能の関連性を確認することが望ましいとコメントがあった。さらに、DGF の治療法についてアメリカ食品医薬品局以外での認可薬の有無について質問があり、臨床研究で明確な効果を示した報告は調べた限りではないと回答した。

続いて、副査の工藤 准教授から DGF で β5i 発現低下を発見したのは本研究が初めての報告であるか質問があり、β5i 染色はルーティン検査でなく、今回初めて発見したと回答した。また、炎症性サイトカインの検討に腎組織全体を用いた理由について質問があり、腎臓全体での変化を検討した上で、細胞にターゲットを絞った解析を進めたと回答した。また、野生型マウスへの免疫プロテアソーム阻害剤負荷実験について質問があり、未実施であるが、同様の結果が期待されること、今後の実験で確認したいと回答した。さらに、細胞実験について、低酸素/再酸素化（hypoxia/reoxygenation; H/R）非処理コントロール群の必要性について質問があり、申請者は、今回は H/R を前提とした免疫プロテアソーム阻害が内皮細胞に与える影響に主眼をおいた実験を行なったが、H/R 非処理群との比較についても今後実験を行いたいと回答した。また、グルコースとパルミチン酸の負荷による細胞毒性の有無について質問があり、グルコース負荷は顕著な細胞傷害を認めないが、高濃度なパルミチン酸（100μM）では傷害が窺われると回答した。さらに、プロテアソーム機能の低下と腎実質細胞のアポトーシス死の関連について質問があり、申請者は I/R injury によるアポトーシス細胞死の増加を想定して検出を試みたが、手技的な問題により検出が困難であったと回答した。

引き続き、主査の佐邊 教授から移植患者への免疫抑制剤の使用について質問があった。申請者は、1 ヶ月プロトコールやエピソード生検では免疫抑制剤の使用を認めるが、0 時間プロトコールはドナーより採取直後であるため通常は免疫抑制剤への暴露はないと回答し

た。また、免疫抑制剤の免疫プロテアソーム発現に与える影響について質問があり、申請者は調べた限りではそのような報告は見つけられなかったと回答した。佐邊 教授からは、研究の臨床的意義を考える上でも重要なポイントであるので、詳しく調べる必要性があるとコメントがあった。続けて、免疫プロテアソームに着眼した論拠を含め、学位論文緒言を修正する必要性について指導があった。続いて、カルボニル化タンパクの測定方法について質問があり、申請者は、腎臓から抽出したタンパク溶解液を用いて市販の ELISA キットで測定し、全タンパク中の当該タンパク量の割合を比較する解析を行ったと回答した。さらに、β5i 免疫染色に用いた抗体について質問があり、abcam 社から購入した抗体を用いて定法による染色を行った旨を回答した。

最後に工藤 准教授と佐邊 教授から、基礎論文の進捗状況、学位論文の修正について質問とコメントがあった。基礎論文の進捗状況については、学位申請書類の提出時は査読中であり reject の結果であったと回答した。また reviewer の評価コメントに関して質問があり、申請者は虚血時間の設定理由や過去論文との相違についての記載が不足している等のコメントがあったことを回答した。工藤 准教授から再投稿の進捗について確認があり、修正準備中の状態であると申請者は回答した。学位論文の修正については、研究の背景や I/R injury の分子メカニズム、免疫抑制剤の影響、免疫プロテアソームに着眼した論拠等を諸言に盛り込み、学位論文をさらに修正する必要性がある旨、指導があった。

この論文は令和４年１月２４日に開催された審査会において審査されたが、上記のようにいくつかの改善点が指摘された。それらは introduction における論理的記述や周辺文献情報の不足であった。その後、申請者はそれらを十分取り入れ申請論文に追加記載を行なった。revise された論文は主査が審査確認し、このことは他の審査員にも伝達され了承された。最終的に審査員一同、本論文の成果を十分評価し、大学院課程における研鑽や単位取得なども併せ、申請者が博士（医学）の学位を受けるのに充分な資格を有するものと判定した。