

論文審査の結果の要旨

博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)	氏名	小 野 寺 利 恵
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1・②項該当		
論 文 題 目			
<p>Anti-human neutrophil antigen-1a, -1b, and -2 antibodies in neonates and children with immune neutropenias analyzed by extracted granulocyte antigen immunofluorescence assay</p> <p>(顆粒球抽出抗原を用いた免疫蛍光法による新生児・小児免疫性好中球減少症の抗 HNA-1a, -1b, -2 抗体の検出)</p>			
論文審査担当者			
主 査	教 授	一 戸 辰 夫	印
審査委員	教 授	菅 野 雅 元	
審査委員	准教授	福 島 伯 泰	
〔論文審査の結果の要旨〕			
<p>好中球抗原 Human Neutrophil Antigen (HNA) に対する抗体は、新生児同種免疫性好中球減少症 (NAN) や乳幼児自己免疫性好中球減少症 (AIN), 非溶血性輸血副作用の輸血後急性肺障害などの原因になることが知られている。抗 HNA 抗体の検出には種々の検査法があるが、いずれも新鮮血由来の数種類のパネル好中球が必要である。また、検査には多くの血清量を必要とするため、新生児や乳幼児の検査に十分な血清量を確保することができない。この度、これらの問題を解決できる顆粒球抽出抗原を用いた免疫蛍光染色法 (EGIFA) を開発した。EGIFA は、遺伝子発現パネル細胞株 (KY-1a, -1b, 2a) からそれぞれ抽出した HNA-1a, -1b, -2a 抗原を、モノクローナル抗体を固相した Microsphere (マイクロビーズ) に結合させ (eHNA-MoAb-Microsphere), 患者血清と eHNA-MoAb-Microsphere との反応性を Luminex システムで分析した。EGIFA では少量の血清で 3 種類の異なる抗原 HNA-1a, -1b, -2 に対する抗体を同時に、かつ多数検体の解析が可能であり、eHNA-MoAb-Microsphere は 4°C で 8 か月間安定して保存することが可能であった。血清の、陰性コントロール IgG-Microsphere の蛍光強度 (FI) に対する eHNA-MoAb-Microsphere の FI の比 (RFI) を求めた。健常成人 40 名の平均 RFI 値は、0.5~1.1 (標準偏差: 0.1~0.7) の範囲であり、RFI 分布に基づいて、RFI が 3 倍以上である場合を陽性と判定した。</p> <p>EGIFA を評価するために、抗 HNA 抗体が顆粒球免疫蛍光染色法(GIFT)によって同定された成人患者の血清サンプル (n=9) を用いて、EGIFA, 全血を用いた免疫蛍光染色法 (IFT),</p>			

および monoclonal antibody-specific immobilization of granulocyte antigens (MAIGA) で反応性を比較した。EGIFA は、9つの血清サンプルすべてにおいて抗 HNA 抗体を矛盾なく正確に検出することができ、感度は MAIGA より高く、GIFT および IFT の感度と同等であった。したがって、抗 HNA-1a, -1b, -2 抗体を迅速に検出するために簡便で実用的であることに加え、特異性と感度に優れた方法であることが証明できた。

さらに NAN 疑いの家族症例 9 例 (n = 19) と AIN 疑いのある小児 (6 か月~5 歳; n = 88) の抗 HNA 抗体を EGIFA で測定した。EGIFA は、NAN 疑いの家族症例 9 例のうち 7 例において抗 HNA-1a または -1b 抗体を検出したが、抗 HNA-2 抗体は EGIFA, IFT, MAIGA のいずれの方法によっても検出されなかった。IFT で検出できなかった 2 検体において、EGIFA は抗 HNA 抗体を感度よく検出することができた。IFT では HNA 特異性を示すとは限らないことがよく知られており、IFT 陽性で EGIFA 陰性のサンプルでは、抗 HNA-1a, -1b, -2 以外の抗体の可能性が考えられ、本検討からは抗 HLA-I 抗体が検出された。

AIN 疑い小児の 88 例の検査から、抗 HNA-1a 抗体 4.5% (4 例) , 抗 HNA-1b 抗体 12.5% (13 例) , 抗 HNA-1a と -1b 抗体の共存は 20.5% (18 例) の合計 40.9% に抗 HNA 抗体を検出した。また EGIFA による抗 HNA 抗体陰性の患児のうち 30.8% (52 人中 16 人) が抗 HLA 抗体陽性であったが、抗 HNA 抗体を有する患児の約 36.1% (36 人中に 13 人) でも抗 HLA 抗体を有していた。抗 HNA-2 抗体は AIN では 3.4% (88 例中 3 例) で検出された。本研究では、特異性の高い確認検査である MAIGA によって検出されたすべての抗 HNA 抗体が EGIFA によって再現性良く検出された。さらに EGIFA および GIFT は、MAIGA が検出できなかったいくつかの抗 HNA 抗体を検出することが可能であったことは、本検査法の特異性と感度の高さを示していると考えられた。

以上の結果から、本論文は新規の抗好中球抗体検出法を開発することで、輸血学、血液学分野において、免疫性好中球減少症の診断に貢献すること大である。よって審査委員会委員全員は、本論文が著者に博士 (医学) の学位を授与するに十分な価値あるものと認めた。

第9号様式

最終試験の結果の要旨

博士の専攻分野の名称	博士（医学）	氏名	小野寺利恵
学位授与の要件	学位規則第4条第1・②項該当		
論文題目			
<p>Anti-human neutrophil antigen-1a, -1b, and -2 antibodies in neonates and children with immune neutropenias analyzed by extracted granulocyte antigen immunofluorescence assay</p> <p>（顆粒球抽出抗原を用いた免疫蛍光法による新生児・小児免疫性好中球減少症の抗HNA-1a, -1b, -2抗体の検出）</p>			
論文審査担当者			
主査	教授	一戸辰夫	印
審査委員	教授	菅野雅元	
審査委員	准教授	福島伯泰	
〔最終試験の結果の要旨〕			
判定合格			
<p>上記3名の審査委員会委員全員が出席のうえ、平成29年11月2日の第71回広島大学研究科発表会（医学）及び平成29年11月7日本委員会において最終試験を行い、主として次の試問を行った。</p>			
<ol style="list-style-type: none"> 1 Cut-off 基準設定の根拠 2 HNA 抗原発現頻度の人種差 3 抗体産生における糖鎖抗原の関与 4 抗好中球自己抗体産生の機序 5 好中球減少症の有病率と検査の意義 			
<p>これらに対して極めて適切な解答をなし、本委員会が本人の学位申請論文の内容及び関係事項に関する本人の学識について試験した結果、全員一致していずれも学位を授与するに必要な学識を有するものと認めた。</p>			