

## 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	浅野孝基
学位授与の条件	学位規則第4条第1・2項該当		
論文題目 Enhanced AKT Phosphorylation of Circulating B Cells in Patients With Activated PI3K $\delta$ Syndrome (Activated PI3K $\delta$ syndrome 患者末梢血 B 細胞における AKT の過剰リン酸化)			
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	横崎典哉	
<p>〔論文審査の結果の要旨〕</p> <p>Activated PI3K<math>\delta</math> syndrome (APDS)は、反復呼吸器感染、リンパ球減少、血中 Bリンパ球前駆細胞増加、ガンマグロブリン産生異常 (IgM増加, IgG2減少), EBウイルス, サイトメガロウイルスに対する易感染性, リンパ濾胞過形成等を臨床的特徴とし, PI3キナーゼ (PI3K) の過剰活性化を病因とする原発性免疫不全症として同定された。PI3Kは細胞の分化/増殖, 生存, 代謝シグナルを制御する酵素である。Class IのPI3Kはヘテロ二量体からなり, 触媒サブユニット p110<math>\delta</math> (責任遺伝子 <i>PIK3CD</i>) と調節サブユニット p85<math>\alpha</math> (責任遺伝子 <i>PIK3RI</i>) の二量体が白血球において重要な役割を果たしている。2013年に <i>PIK3CD</i> 遺伝子の機能獲得型変異により APDS1 が発症することが報告され, 2014年には, <i>PIK3RI</i> のヘテロ接合性変異により類似した症状を呈する APDS2 が報告された。また, 2016年には, 同じ PI3K 経路の <i>P TEN</i> のヘテロ接合性変異により類似の症状を呈する APDS-like (APDS-L) の発症が報告された。APDS1/APDS2 (APDSs), APDS-L は, 近年同定された疾患概念であるが, 本邦において既に30例以上の患者が集積されている。そのため APDSs, APDS-L は稀少疾患であるものの, 原発性免疫不全症の中では比較的頻度が高いと考えられ, 迅速かつ適切な診断法の確立が必要である。</p> <p>本研究では, APDS1, 4例; APDS2, 4例; APDS-L, 4例; 他の抗体産生不全症, 5例; 健常者, 24例を対象として, CD3<sup>+</sup> T 細胞, CD19<sup>+</sup> B 細胞, CD14<sup>+</sup> 単球, CD16<sup>+</sup> CD56<sup>+</sup> NK 細胞における, 無刺激での細胞内 AKT のリン酸化をフローサイトメトリーで検討した。AKT は細胞の分化/増殖, 生存, 代謝に重要な役割を果たす PI3K 経路において中心的役割を果たすセリン/スレオニンキナーゼである。APDSs と APDS-L 患者では, 無刺激での細胞内 AKT のリン酸化亢進が B 細胞においてのみ認められ, この AKT のリン酸化亢進は, p110<math>\delta</math> 阻害薬処理にて抑制されることが確認された。一方で, B 細胞以外の細胞分画では, 健常者, 抗体産生不全症例と APDSs/APDS-L 患者間で, 細胞内 AKT のリン酸化の差異は認められなかった。B 細胞における細胞内 AKT の亢進を Mean Fluorescence Intensity (MFI) を用い, p110<math>\delta</math> 阻害薬処理の前後で細胞内 AKT リン酸化の変化量 (<math>\Delta</math>MFI) を算出し比較検討した。<math>\Delta</math>MFI は APDSs 患者群において, 健常者, 他の抗体産生不全症と比較して有意に高値を示した。また, APDSs 患者間で比較すると, APDS2 が APDS1, APDS-L と比較して有意に <math>\Delta</math>MFI 高値を示した。しかしながら, 一部の <math>\Delta</math>MFI が低めに算出された APDSs 患者において, <math>\Delta</math>MFI が高めに算出された健常者, 他の抗体産生不全症例との間でオーバーラップが認められた。APDSs 患者では, 末梢血, 骨髄で transitional B 細胞が増加する特徴があることから, CD10<sup>+</sup>CD19<sup>+</sup> immature B 細胞 (transitional B 細胞に相当) と CD10<sup>-</sup>CD19<sup>+</sup> mature B 細胞に分画して, 細胞内 AKT のリン酸化を検討した。患者群では, CD10<sup>+</sup>CD19<sup>+</sup> immature 細胞では細胞内 AKT のリン酸化の亢進はより顕著となり, B 細胞全体での解析でみられた AKT リン酸化の <math>\Delta</math>MFI のオーバーラップは解消された。これらから, フローサイトメトリーを用いて, CD19<sup>+</sup> B 細胞, CD10<sup>+</sup>CD19<sup>+</sup> immature B 細胞における AKT リン酸化の <math>\Delta</math>MFI を測定すること</p>			

で、APDSs/APDS-L 患者の迅速診断が可能となることが示唆された。本研究では、フローサイトメトリーを用いた簡便な検査法と遺伝子解析を併用することで、APDS 患者群の正確な診断が可能となることを明らかとした。

以上の結果から、本論文はフローサイトメトリーを用いて APDSs/APDS-L 患者の迅速診断を容易とすることから、原発性免疫不全症の診断と解析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。

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	浅野孝基
学位授与の条件	学位規則第4条第(1)・2項該当		
論文題目 Enhanced AKT Phosphorylation of Circulating B Cells in Patients With Activated PI3Kδ Syndrome (Activated PI3Kδ syndrome 患者末梢血 B 細胞における AKT の過剰リン酸化)			
最終試験担当者			
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	横崎典哉	
〔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30年5月7日の第74回広島大学研究科発表会（医学）及び平成30年5月9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"> <li>1 APDS の疾患概念，臨床所見と PI3Kδ との関係</li> <li>2 AKT の過剰リン酸化が B 細胞のみに認められる理由と意義</li> <li>3 PI3K の分類ならびにその触媒サブユニットの違いと APDS との関係</li> <li>4 FACS を用いた細胞内リン酸化同定の手技と問題点</li> <li>5 AKT の過剰リン酸化の評価法とその程度による臨床所見の差異</li> </ol> <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>			