

## 審査結果報告書

2020年 1 月 29 日

主 査 氏 名 岩 瀬 和 也



副 査 氏 名 阿 古 瑠 哉



副 査 氏 名 佐 藤 俊 哉



副 査 氏 名 石 倉 健 司



1. 申請者氏名 : DM16030 桃園 明

2. 論文テーマ :  
安定同位体標識ペプチドを用いた血清蛋白メチオニン残基の酸化定量法の確立

3. 論文審査結果 :

酸化ストレスは心血管疾患、認知症、神経変性疾患、悪性腫瘍などの発症・進展に重要な役割を果たしていると示唆されている。しかし、臨床的に酸化ストレスレベルを評価し、疾患発症予測に寄与できるバイオマーカーは存在しない。申請者は、液体クロマトグラフィー-高分解能質量分析を用いてヒト血清アルブミン (HSA) の 147 番目のメチオニン残基 ( $^{147}\text{Met}$ ) の酸化型 ( $^{147}\text{Met}$  sulfoxide;  $^{147}\text{Met SO}$ ) のレベルがヒト血中の酸化ストレスレベルを反映する可能性が高いことを見出した。HSA の  $^{147}\text{Met SO}$  を高い再現性をもって定量評価するため、 $^{147}\text{Met}$  の自然酸化とペプチドN末端のカルバミドメチル化をそれぞれ  $L$ -Met、 $L$ -Cys 添加により抑制し、 $^{147}\text{Met SO}$  および  $^{147}\text{Met}$  を含有する HSA トリプシン消化ペプチドを、既知量の安定同位体標識ペプチドを試料に添加することで、正確に定量して酸化レベルを算出するという精密測定法を完成させた。本法を用いて2型糖尿病患者で血中酸化ストレスレベルを測定すると、患者で有意に高かったが、平均血糖値とは相関せず、連続グルコースモニタリングで計測した血糖変動や低血糖時間に強い相関を示した。さらに抗酸化作用を有する血中の HDL コレステロールやビリルビンと負の相関を示すなど、本指標がヒト血中の酸化ストレスレベルを鋭敏に反映する普遍的な臨床バイオマーカーとなりうる可能性を強く示唆する結果が得られた。この発表に対して、副査の阿古教授より、本法の定量性、正常対照者の選定法、測定値を左右する物質・薬物、他のストレスマーカーとの相関などについて、佐藤教授より、非常に少ない変化を鋭敏に測定し、酸化レベルに差を見出している点の確認と再現性、 $^{147}\text{Met SO}$  高値を示す疾患・病態の有無について、石倉教授より、多変量解析結果について個々の因子、血糖変動と酸化ストレスレベル上昇の相関メカニズムについて、主査の岩瀬より、複数ある Met 残基のうち  $^{147}\text{Met}$  を選んだ理由、 $^{147}\text{Met}$  の酸化度、酸化ストレスレベルと相関する液性因子の候補などについて、質問がなされ、申請者はいずれの質問にも適切な回答を行った。審査員一同は、これらの成果を高く評価し、大学院医療系研究科博士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) の学位を受けるのに十分な資格を有するものと判定した。