

## 最終試験の結果の要旨

報告番号	総研第 410 号	学位申請者	中目和彦
審査委員	主査	河野嘉文	学位 博士(医学)
	副査	乾明夫	副査 小林裕明
	副査	松永明	副査 前村公成
<p>主査および副査の5名は、平成29年1月24日、学位申請者 中目 和彦 君に面接し、学位申請論文の内容について説明を求めると共に、関連事項について試問を行った。具体的には、以下のような質疑応答がなされ、いずれについても満足すべき回答を得ることができた。</p> <p>質問1) NECの発症には栄養が影響を持つのか。 (回答) NECの原因の一つとして人工乳による未熟な腸管への物理的な損傷が考えられている。</p> <p>質問2) 食事を遅らせて点滴を行い、治療をすることもあるのか? その間にGLP-2を投与することも考えているか。 (回答) 今回の研究の目標としている。</p> <p>質問3) 最近、腸内細菌の重要性が指摘されているが、NECに対して知見はあるのか。 (回答) 長期抗生剤投与などによる異常腸内細菌増殖やカンジダ感染がNECの発症の原因の一つと考えられている。</p> <p>質問4) GLP-2の投与に関してラットの成長に長期的な影響は与えるのか。 (回答) 生後96時間後に餓死しているため、長期の影響は観察できていない。</p> <p>質問5) GLP-1などの他の消化管ホルモンとの相互作用はあるのか。 (回答) GLP-1の腸管に対する研究は少ないが、GLP-1分解酵素DDP-4阻害薬の投与により短腸症候群への腸管増殖作用が報告されている。これはGLP-2に対する間接的な影響を示していると考えられる。</p> <p>質問6) グレリンは腸管運動を亢進するがNECに対する報告はあるか? またGLP-2との相互作用は考えられるか。 (回答) NECに対するグレリンに関する報告はない。しかし大量腸管切除後にグレリンとGLP-2の血中濃度が高くなる報告やGLP-2投与によりグレリンの産生が抑制されるとの報告があり、何らかの相互はあると考えている。</p> <p>質問7) 動物実験モデルは安定した実験モデルなのか。 (回答) NECの実験モデルとしては一般的であり、研究においても安定してNECが作成できている。</p> <p>質問8) 新生仔ラットのClinical sickness scoreは具体的にどのように評価するのか。評価は簡単か。 (回答) 第三者による評価が望ましかったが、今回は研究者が各項目について評価した。評価は難しくはない。</p> <p>質問9) 低用量と高用量でGLP-2の用量設定を行っているがその根拠はなにか。 (回答) 人で研究されているのは通常、100ug/kg/日であり、今回の研究の低用量投与群に相当する。しかし今回の研究では低用量では効果は不十分だった。人でも高用量で検討した研究があり、用量はそのデータを参考にした。</p> <p>質問10) GLP-2の抗炎症作用はどのような機序作用するのか。 (回答) GLP-2の抗炎症作用についてはGLP-2レセプターを有する腸管神経から産生される血管作動性ペプチド(VIP)が抗炎症作用に関与することが報告されている。詳細なシグナル伝達経路は分かっていない。</p> <p>質問11) GLP-2の投与量により異なる作用があることも考えているのか。 (回答) 今回の研究結果としてそのような作用を考えている。</p>			

## 最終試験の結果の要旨

質問 1 2) 炎症性サイトカイン抑制については高用量 GLP-2 投与の方がより効果的で、絨毛高などの組織学的構造については低用量、高用量でも変化がなかったのはなぜか。

(回答) GLP-2 投与により陰窩細胞増殖が亢進し、絨毛構造の維持に効果があることを予想していたが、陰窩細胞増殖率は差がなかった。NEC においては陰窩細胞増殖が亢進していることが報告されており、今回の GLP-2 投与では有意差が出るほど陰窩細胞増殖が亢進しなかった可能性がある。なぜ生食投与群と比較して絨毛構造が保たれたかについては GLP-2 の高アポトーシス効果を考えているが、評価できていない。

質問 1 3) 臨床上の NEC と今回の実験における病理学的相違はあるのか。壁内気腫や凝固壊死は認められるか。

(回答) grade3 以上では凝固壊死が認められる。粘膜下の剥離までは認めるが、気腫形成までは形成されない。

質問 1 4) Ki-67 のカウントのしかたはどのように行なっているのか。

(回答) 陰窩における細胞数に対して Ki-67 陽性の細胞をカウントした。

質問 1 5) サイトカインの局所的な投与で NEC は発症しないのか。

(回答) サイトカインを局所投与した研究は報告されていない。抗 TNF- $\alpha$  製剤を投与した研究は報告されている。

質問 1 6) GLP-2 は NEC 発症を遅らせるが、予防はできないとの報告があるが、後から NEC が発症することがあるか。

(回答) 全例 96 時間で餓死しているため評価はできない。今回の研究における低用量 GLP-2 に相当する量を豚に用いて研究した報告であり、高用量 GLP-2 を使用することで効果が異なってくるかもしれない。

質問 1 7) NEC モデルに関して低酸素刺激と LPS の経管投与がなければ NEC は発症しないか。

(回答) 低酸素刺激のみでも NEC は発症するが、LPS を投与することで NEC 発症率が増加することが報告されている。

質問 1 8) LPS を生直後と 24 時間後に投与しているが、その間の GLP-2 の効果により 2 回目の LPS に対する腸管の反応が違ってくることは考えられるか。

(回答) GLP-2 投与による LPS に対する腸管の反応は検討していないのでわからない。

質問 1 9) LPS の経管投与は多臓器には影響を与えないのか。

(回答) 全身への影響は検討されていない。静脈投与などと異なり、LPS の影響は限局的ではないかと考えている。

質問 2 0) NEC スコアと生存率の相関は検討しているのか。

(回答) NEC スコアと生存率の相関は検討していない。

質問 2 1) Clinical sickness score の分布と NEC スコアの分布に差があるのはどう考えるか。

(回答) 既報と異なる結果となったが、この実験モデルでは低酸素刺激が強く、NEC 発症以外に低酸素の影響が出ていると考えている。

質問 2 2) GLP-2 の皮下投与後の血中濃度はどれくらいか。

(回答) 今回は血中濃度は測定してない。他の研究では皮下投与後 1、2 時間でピークを認め、8 時間後には低値となることが報告されている。

質問 2 3) 母乳で NEC が発症しにくいといわれているが、その成分はわかっているか。

(回答) IgA やラクトフェリン等が報告されているが証明はなされていない。

質問 2 4) 臨床治験が実施されている短腸症候群では、GLP-2 のどの作用で効果が期待できるのか。

(回答) 腸管粘膜の絨毛と陰窩を増殖による腸管粘膜面積の拡張効果と、腸管蠕動抑制作用による効果が期待されている。

以上の結果から、5 名の審査委員は申請者が大学院博士課程修了者としての学力・識見を有しているものと認め、博士(医学)の学位を与えるに足る資格を有するものと認定した。