






## 最終試験の結果の要旨

報告番号	総研第 425 号		学位申請者	鈴木昌也
審査委員	主査	河野 嘉文 	学位	博士 (医学・歯学・学術)
	副査	小林 裕明 	副査	井本 浩 
	副査	前村 公成 	副査	中村 好宏 
<p>主査および副査の5名は、平成29年3月27日、学位申請者 鈴木 昌也 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) ポリ乳酸は生体内で吸収されるのか。  (回答) 2年以上かけてゆっくりと吸収される。</p> <p>質問2) 生体内の微生物が関わって吸収されるのか。  (回答) 生体内では微生物が関わるのではなく、加水分解により吸収される。</p> <p>質問3) 足場の収縮はなかったか。  (回答) 肉眼上、そのような収縮は見られなかった。</p> <p>質問4) 筋芽細胞に VEGF、HGF、bFGF が与える影響はわかっているのか。  (回答) bFGF は筋芽細胞を増殖させることがわかっている。また、心筋虚血モデルで筋芽細胞を用いたシートから VEGF、HGF が分泌され、周辺組織が修復されるという機序がわかっている。</p> <p>質問5) 血管新生の測定でリンパ管と区別する染色を行っているか。  (回答) 今回の実験では HE 染色で評価し、リンパ管と区別する染色は行っていない。</p> <p>質問6) 筋細胞が従来の周囲組織から伸展していくのは難しいのか。  (回答) 皮膚などと違い難しいとされている。</p> <p>質問7) 巨大腹壁欠損に対する他の臨床的な試みはあるか。  (回答) 腹壁移植がある。免疫抑制剤の長期使用が必要という欠点がある。</p> <p>質問8) 他のラットの骨髄細胞を用いているが生着しているのか。  (回答) 同種ラットの細胞移植での生着の報告が多数ある。</p> <p>質問9) 筋の再生のメカニズムは何か。  (回答) 筋が損傷を受けると筋衛星細胞 (サテライトセル) が活性化し、筋芽細胞に分化し増殖して修復される。</p> <p>質問10) シートに衛星細胞を添加した場合はどうなるのか。  (回答) 衛星細胞が分化誘導された筋芽細胞を用いた実験があるが、長期間の生着は得られていない。</p> <p>質問11) 長期的な実験や新生児ラットを用いた実験は行ったか。  (回答) 今回の実験では行っていない。</p> <p>質問12) フィブラスプレーの半減期はどのくらいか。  (回答) 48時間である。</p> <p>質問13) フィブラスプレーの単回投与の効果はどの程度なのか。  (回答) 短期的なもので限定的であるため、徐放的な材料の使用が必要と考えられる。</p>				

## 最終試験の結果の要旨

質問 1 4) 線維芽細胞の増殖は見られたか。

(回答) シート内は肉芽組織に置き換わっており、増殖が見られたと考えられる。

質問 1 5) 間葉系幹細胞は骨髄以外からも採取可能か。

(回答) 脂肪細胞から採取出来るほか、臍帯血の利用も可能である。

質問 1 6) ポリ乳酸シートは最終的にどうなるのか。

(回答) 吸収され、従来の組織と置き換わると考えている。

質問 1 7) 長期成績について、成長に対する影響はあるか。

(回答) シートが吸収性なので非吸収性の材料と比較すると成長に適合していくと考えられる。

質問 1 8) 血管新生の評価で血管内皮細胞の免疫染色は行ったか。

(回答) 今回の実験では行っていないがそういう手法も可能である。

質問 1 9) 骨髄細胞が血管新生に働いた可能性はあるか。

(回答) 骨髄細胞のパラクライン効果が血管新生に働いた可能性がある。

質問 2 0) in vitro で骨髄細胞や growth factor を用いた実験ではどのような報告があるか。

(回答) 骨髄細胞から分離した間葉系幹細胞と筋芽細胞を共培養し FGF を加えることによりシート状の筋細胞が分化誘導されたという報告がある。

質問 2 1) その場合には足場は必要か。

(回答) 心筋シートのように足場を用いない方法もある。

質問 2 2) 骨髄細胞が炎症を引き起こすのではなく、免疫を抑える可能性はあるのか。

(回答) 今回は検討を行っていないが可能性はある。

質問 2 3) 骨髄細胞の注入を繰り返すと効果が強くなる可能性はあるか。

(回答) 可能性はあると考えられる。

質問 2 4) フィブラストスプレーはコラーゲンスポンジとポリ乳酸を接着するために用いたものなのか。

(回答) コラーゲンスポンジが脆弱で接着するために用いた。さらに血管新生を期待した。

質問 2 5) なぜ CS 群にはフィブラストスプレーを用いなかったのか。

(回答) スキャホールドのみの群を作成する目的で CS 群には growth factor を用いなかった。

質問 2 6) 筋の再生が見られないのはなぜか。

(回答) 骨髄細胞の筋への分化誘導が得られなかったためと考えている。

質問 2 7) 臨床的に腹壁破裂でサイロをたてて徐々に腹腔内に腸管が還納されていく機序はどうか。

(回答) 腸管の重みにより、腹腔容積が徐々に広がり還納されていくと考えている。

質問 2 8) ポリ乳酸シートだけは素材としては不適切なのか。

(回答) 今回の実験では縫着することが難しい線維性の素材であり、断念した。

質問 2 9) table1 で示すように 8 週まで血管新生が増加しているが 16 週で血管新生が減少しているのはなぜか。

(回答) 細胞の生着率の低下が原因ではないかと考えている。

質問 3 0) 実臨床で応用する際に、足場への筋の伸展を促すために、シート縫着で注意すべき点はあるのか。

(回答) 今回は欠損孔を覆うように縫着したが、臨床では大網から血流を期待できるため、腹腔側からシートを縫着するなどの工夫で効果が期待できる可能性がある。

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。

## 最終試験の結果の要旨

質問 1 0) FMD の評価の際に血圧は影響がないのか。

(回答) FMD には血圧も影響する。介入前後での変動が大きくなるように降圧薬を含めた薬剤変更は行わず、さらに検査時の室温や照明、安静時間を統一し検査を行った。

質問 1 1) 多重回帰分析の際に説明変数として、劇的に減少している VLDL は寄与していなかったのか。

(回答) FMD と VLDL の変化量の相関係数は cholesterol -0.309、triglyceride -0.139 であり、有意な相関はなかった。また、Lp(a) と very small HDL-C とともに VLDL を追加して多重回帰分析を行ったが説明因子とならなかった。本研究の症例では TG が正常範囲内に保たれている例が多く、有意な関係を認めなかった可能性はある。

質問 1 2) Lp(a) には LDL が付着しており、LDL 粒子径の変化により酸化ストレスが減少した可能性はないのか。

(回答) フィブラートやエゼチミブが Lp(a) を減少させることについてのこれまでの研究は否定的であり、本研究の変更群の Lp(a) 低下の理由ははっきりしない。しかし、変更群における Lp(a) と large LDL-C の変化は有意な相関 (ピアソン相関係数 0.413) があり、関連している可能性がある。

質問 1 3) MDA-LDL は 2 群間において介入前後ともに有意に低下しているがその機序はどう考えられるか。

(回答) MDA-LDL は small dense LDL 増加に比例する。small dense LDL は正常 LDL に比べ LDL レセプターとの結合能が弱く、血中滞留時間が延長し酸化変性を受け易い。そのため small dense LDL 減少が MDA-LDL 低下の要因と思われる。また、エゼチミブが酸化脂質や脂肪酸吸収を抑えることも、この機序に関連する可能性がある。

質問 1 4) 脂質負荷時に紅茶を服用しているが、カフェインが含まれるため FMD に影響を与えるのではないのか。

(回答) 本来なら水のみが望ましいが、本研究では FMD の絶対値ではなく、FMD がどのように変化するかに注目したことから、介入前後の食事負荷時は飲料の種類と飲水量を揃えて評価した。

質問 1 5) FMD に影響する因子として喫煙があるが、喫煙の状況に関してはどうであったか。

(回答) 問診上はで両群 1 名ずつであったが、虚偽申告されている症例が発覚し、再確認が取れていない症例があるため記載を割愛した。しかし、両群間に有意差は認めないと考えている。

質問 1 6) フェノフィブラートは添付文書上 80 mg/日から投与となっているが、本研究で投与量の調整はしたのか。

(回答) 一律 160 mg/日で投与を行っている。副作用のリスクを考え、経過中は原則として 1 か月おきに肝機能・腎機能を含めた副作用の確認を行った。

質問 1 7) 本研究における 2 群間 (スタチン継続群と変更群) の割り付けはどのように行ったのか。

(回答) 年齢、性別、BMI を調整し、その後乱数表を使用してランダムに割り付けた。

質問 1 8) strong statin 内服症例と standard statin 内服症例がフェノフィブラート・エゼチミブに変更することで両方同じ程度の LDL-C 値になることが疑問である。LDL-C が同じ値になるように dose up するほうが調整しやすいと思われるがその点に関してはどうか。

(回答) 本研究を strong statin 症例だけで行くと LDL-C 値は有意に上がった可能性が高く、LDL-C 値に合わせて dose up した方が調整しやすいと考えられる。本研究における患者は standard statin を使用している方も多く、strong statin を使用していても少量で使用している方が多かったことが、LDL-C 値が変化しなかった理由と思われる。

質問 1 9) 介入後に変更群で AST が上昇したのはなぜか。

(回答) コレステロール合成が抑えられたため、肝臓における脂質貯留が増えたためと考えられる。長期で観察すると改善する可能性がある。

質問 2 0) very small HDL-C と FMD の相関は全症例で解析をしても認めるか。

(回答) 全症例で解析をしても相関は認めない (ピアソン相関係数 0.125,  $p=0.39$ )。フィブラートにより小径化した HDL のみが抗動脈硬化作用をもつ可能性がある。

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。