

最終試験の結果の要旨

| 報告番号 | 総研第 440 号 | 学位申請者 | 新山 新 |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|-------|------------------|
| 審査委員 | 主査 | 河野嘉文 | 学位 博士 (医学・歯学・学術) |
| | 副査 | 乾 明夫 | 副査 橋口照人 |
| | 副査 | 前村公成 | 副査 上野健太郎 |
| <p>主査および副査の5名は、平成29年10月18日、学位申請者 新山 新 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) 大建中湯の成分に山椒、人参、ショウガとあるが、山椒が一番可能性がありそうなのか。 (回答) 今のところ山椒が一番可能性があると考えている。</p> <p>質問2) 壊死性腸炎は家族歴を有する疾患なのか。 (回答) 家族歴は無いと考えて良いが、低出生体重児に多発する観点から妊娠中の母体環境と関係がある可能性はあるかもしれない。</p> <p>質問3) 発表のイントロダクションに GLP-2 (Glucagon-like peptide-2) の話があったが、大建中湯の中に GLP-2 が含まれている可能性はないのか。 (回答) 高熱で煎じる製造過程があるため、GLP-2 は失活・消失し含有されることはない。</p> <p>質問4) 発表のイントロダクションに抗 CD3 抗体投与により腸炎が起こるとい論文があったが、その機序は何か。 (回答) 抗 CD3 抗体の投与が、小腸の CD3 陽性 T リンパ球を選択的に活性化し、腸閉塞の状態をおこし、絨毛上皮細胞のアポトーシス、陰窩上皮細胞のアポトーシスが誘導され腸炎を引き起こすとされている。</p> <p>質問5) 大建中湯の作用機序の中で消化管蠕動の改善作用の話があったが、主な作用はどこにあるのか。腸管を支配する交感神経・副交感神経系なのか、それともアウエルバッハ神経叢やマイスナー神経叢の内在神経節に作用するのか。 (回答) 粘膜層でパノロイド受容体を介してサブスタンス P を放出し直接刺激する、モチリン分泌を促進し直接作用する、また筋間神経叢でアセチルコリンの放出を促し刺激する、等あるが主な作用点については解明されていない。</p> <p>質問6) NEC ラットモデル作成において LPS を投与しているが、LPS 単独で壊死性腸炎は発生するのか。 (回答) LPS 単独投与によるモデル作成の論文はなく、低酸素・低温刺激に LPS を加える方法が有効的である。</p> <p>質問7) 実験のデザインとして、大建中湯とは別の漢方薬をコントロールとする方法はなかったか。 (回答) 検討しなかった、一つの実験デザインとして検討する。</p> <p>質問8) 陰窩細胞は IL-6 を産生する細胞として妥当なのか。 (回答) 陰窩細胞は IL-6 を産生する細胞としてこれまでに報告されている。</p> <p>質問9) 大建中湯の抗炎症効果は腸に特異的と考えて良いのか。 (回答) クローン病などの腸管の論文が多いことから、抗炎症効果は腸管が主体であると考えている。</p> | | | |

最終試験の結果の要旨

質問 10) このモデルで実際の死亡率はどのくらいか。

(回答) 96 時間以内でも、重症化するとその時点で擬死してしまうため死亡率として数字はあげることができない。

質問 11) 実験を実際にどのようにしていたのか、どうやってマウスを実験の日に合わせて何匹とりだしていたのか。

(回答) 初期は実験計画から逆算し妊娠させ出生させていた。後半は実験日に出産するラットを購入していた。

質問 12) NEC のグレーディングと IL-6 陽性細胞数は相関するのか。

(回答) グレーディングではコントロールと group III に有意差を認めため、IL-6 の免疫染色はコントロールと group III しか行っていないが、相関するものと考えている。

質問 13) NEC をグレーディングする意義があるのか。

(回答) グレーディングすることで、重症化という表現ができると考えている。

質問 14) 重症化の程度というのが臨床的なものと組織学的なものがあり、96 時間もたないラットがヒトに起こっていることを反映するとして考察がどれくらいできるのか。

(回答) 重症化と時間の関係を検討してないが、早期に擬死したラットはグレードが高い可能性は考えられる。

質問 15) NEC の病態を漢方の世界で言う証はなにか？

(回答) 弱い範疇に入ると考える (虚)。

質問 16) 生後 96 時間はまだ不安定な時期だと考える、この時間帯に大建中湯を投与することで NEC の手術を予防できる様なラットが多かったかどうか。

(回答) 大建中湯の濃度に依存する形でグレードが低下していることから予防できたと考えている。

質問 17) 大建中湯の 1g/kg は多いと思うが、胃腸症状等はなかったのか。

(回答) 嘔吐や下痢などの胃腸症状は認めなかった。

質問 18) 陰窩細胞の IL-6 の免疫染色をしているが血中濃度の測定はしていないのか。

(回答) 5g 前後の新生仔ラットであるため血液の採取は困難であった。

質問 19) NEC モデルを作成したときの、68% の発症率の作成方法を選んだ理由はなにか。

(回答) 低酸素、低温、LPS の様々な組み合わせで実験を行ったが、ストレスが強すぎると死亡するラットが多くなりすぎて実験が成立しなかった。そのため今回のモデルのプロトコルを選択した。

質問 20) Fig1 のグラフで濃度依存性の結果と表現しているが、group I がもう少し高ければ理解しやすい。この結果は濃度依存性作用と考えて良いか。

(回答) group I は生存するラットが少なく組織採取がうまくできず母数に差があったことが影響していると考えられる。

質問 21) group II の母数だけなぜ 26 と多いのか。

(回答) 元々数は多かったが実験中に条件をそろえていき、結果としてデータが 26 になった。

質問 22) IL-6 の免疫染色はコントロールと group III だけで実施したのか。

(回答) NEC グレードで有意差を認めたのがコントロールと group III の間のみであり、2 群間でのみ比較検討した。

質問 23) 大建中湯を英文で書いても Daikenchuto だが、諸外国の研究者は漢方をどのように考えているのか。

(回答) これまでの 2 回の国際学会での発表の経験では、特に批判的な受け入れ方ではなかったと考えている。

質問 24) 治療・予防方法の一つに toll-like receptor の agonist が上がっていたが、LPS は代表的なコンパウンドである。モデルは LPS で作成し、治療・予防がその agonist という事に関する整合性はどうか。

(回答) LPS で作成した NEC モデルとヒトの NEC が同等かという議論が残存する、現段階では問題無いと考えている。

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。