

最終試験の結果の要旨

報告番号	総研第	472号	学位申請者	二木貴弘
審査委員	主査	上村 裕一	学位	博士 (医学)
	副査	橋口 照人	副査	堀内 正久
	副査	松永 明	副査	宮田 篤郎

主査および副査の5名は、平成30年6月11日、学位申請者 二木貴弘 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。

質問1) 絶食時に体温が低下しているがその直前は体動によって体温が上昇するのか。

(回答) 絶食に伴う低体温前に摂食行動が増加し体温が上昇する。

質問2) 絶食時に体動しないような条件で検討すると体温は上昇するのか。

(回答) オレキシン神経が活性化されることによりふるえ熱や非ふるえ熱が産生され体温が上昇すると考えられる。

質問3) ORX-ABで体温が上昇するのはオレキシン神経以外の神経が関与するのか。

(回答) 視床下部背内側部に存在するグルタミン酸作動性ニューロンなどが関与していると考えられる。

質問4) 絶食時の低体温のタイムコースやメカニズムはヒトとマウスで異なるのか。

(回答) タイムコースについてはヒトよりマウスはグリコーゲン貯蔵量が少ないため低体温の発現が早いと思われる。メカニズムは胃からグレリンが分泌され、その信号により網様体のGABA作動性ニューロンが交感神経系を抑制することにより褐色脂肪組織の熱産生が抑制されると報告されている。

質問5) シバリングによる体温上昇と褐色脂肪組織を介した体温上昇の2つのメカニズムの違いは何か。

(回答) シバリングは骨格筋の収縮により熱を産生するのに対し、褐色脂肪組織ではミトコンドリアでエネルギーが生成するとき膜間のプロトン勾配を脱共役することで熱を産生する。

質問6) アデノシンA1受容体からのシグナルはどのような経路をたどるのか。

(回答) アデノシンA1受容体はGi/Goタンパク質共役型受容体であり、アデニル酸シクラーゼの活性化を抑制し、細胞内cAMP量が減少する。

質問7) オレキシン神経は、細胞内ATP濃度を感知することによりAMPK経路に影響を及ぼしているのか。

(回答) オレキシン神経にAMPK経路が存在するか分からない。

質問8) ORX-ABでは赤血球代謝の異常は認められるのか。

(回答) 調べる範囲では認められない。

質問9) イソフルレンによる低体温のメカニズムはどのようなものか。

(回答) 血管が拡張し熱放散により体温が低下する。

質問10) 飢餓により眠気は覚めるのか。

(回答) 飢餓により覚醒作用を有するオレキシン神経が活性化され眠気は覚める。

最終試験の結果の要旨

質問 1 1) アデノシンと冬眠の関係において、冬眠しないマウスにアデノシンを投与する意義は何か。

(回答) マウスは冬眠をしないが冬眠とほぼ同じメカニズムで休眠を行うと考えられている。休眠中は冬眠と同様に周期的に低体温となり代謝が低下する。マウスを用いた実験では、遺伝子組み換えマウスを使用することができ、薬剤を脳内に投与することにより比較的簡単に休眠を引き起こすことができる。

質問 1 2) Fig 2-A において、絶食開始はいつからか。

(回答) Fig 2-A の低体温が開始する 6-10 時間前である。

質問 1 3) 飢餓時のオレキシン神経活性化の生体にとっての意義は何か。

(回答) 覚醒を促し摂食行動を増加させることである。

質問 1 4) 飢餓誘発低体温時の脳波はどのようなものか。

(回答) 今回は脳波を測定していないが、体温低下に伴い徐波となり、さらに低下すると脳波が消失すると報告されている。

質問 1 5) Fig 2 の G-CaMP はどのようなものか。オレキシン神経特異性を担保する仕組みは何か。

(回答) G-CaMP はタンパク質でできたカルシウムセンサーの 1 つである。カルシウム濃度の変化を G-CaMP 蛍光強度の変化として検出することができる。オレキシン神経特異性を担保する仕組みとして、human prepro-orexin promoter が用いられている。

質問 1 6) G-CaMP の活性化はすべてのオレキシン神経の活性を表しているのか。

(回答) G-CaMP はほぼすべてのオレキシン神経に発現しており、その活性を表している。

質問 1 7) Fig 3 において、ORX-AB はアデノシン受容体が少ないのか。反応性が低下しているのか。

(回答) ORX-AB では、オレキシン神経以外に存在するアデノシン受容体の数や反応性は変わらない。

質問 1 8) 2 元配置分散分析において主作用のみで結果を出しているが交互作用はないのか。

(回答) 交互作用はあるので WT と ORX-AB の感受性 (CHA の必要量) に差があると言える。

質問 1 9) 休眠ではマウスは空腹でも眠れるのか。

(回答) 休眠開始時には覚醒し摂食行動が増加するが、その後エネルギー消費を抑えるため体温が低下し休眠状態となる。

質問 2 0) MCH 神経とオレキシン神経の関係は何か。

(回答) MCH 神経はオレキシン神経の近くに存在し、オレキシン神経と同様に体温調整に関与している。MCH の脳室内投与で体温が低下し、飢餓や寒冷暴露により MCH が増加する。

質問 2 1) Fig 1 において、空腹時にシバリングは起きているのか。このセンサーではシバリングはカウントされるのか。

(回答) 今回使用した体動センサーの感度ではシバリングはカウントできなかった。

質問 2 2) 今回の研究結果をもとに、低体温療法に新しい知見を加えるとしたらどのようなことができるのか。

(回答) オレキシン神経をアデノシンで抑制すると体温低下が促進されることが分かった。また、低体温からの復温時には、オレキシン神経が体温上昇に関与していると考えられた。以上のことから、臨床的に低体温療法の補助療法として、オレキシン神経に特異的に分布するアデノシン A1 受容体を刺激することにより低体温の導入をより安全に速やかに行うことと、オレキシン受容体拮抗薬の併用により低体温の維持を安定して行うことの有用性をもたらすと考えられた。

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。