

最終試験の結果の要旨

報告番号	総研第	号	学位申請者	大西 峻
審査委員	主査	夏越 祥次	学位	博士 (医学)
	副査	河野 嘉文	副査	橋口 照人
	副査	井戸 章雄	副査	浅川 明弘

主査および副査の5名は、平成30年7月30日、学位申請者 大西 峻 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) 投与された ghrelin の濃度は、ヒトへの応用が可能な濃度設定なのか。

(回答) 投与量は自施設の以前の実験によって決定した。ヒトへの応用が可能な濃度設定と考える。

質問2) ghrelin 受容体からのシグナルの主な経路は何か。

(回答) 今回の検討にはないが、急性肝障害ラットモデルに対する ghrelin の投与実験において、ghrelin が PI3/Akt 経路を介して肝障害を抑制したとの報告がある。

質問3) IFALD の炎症細胞浸潤の主体はどの種類の細胞か。

(回答) 本実験においてはリンパ球が浸潤していた。

質問4) 臨床における IFALD の組織ではどのような炎症細胞浸潤が認められるか。

(回答) IFALD の病理組織検体が採取されること自体が極めて稀であるが、炎症細胞の浸潤はほとんど見られないという報告はある。

質問5) 肝障害は適正なカロリー管理で予防できると論文中にある。今回は適正なカロリーを投与したにもかかわらず肝障害が引き起こされているのは、大量腸管切除が原因と考えられるのか。

(回答) 大量腸管切除によって胆汁酸の喪失や酸化ストレスが引き起こされたことが原因としての肝障害と考えている。腸管不全を背景とした静脈栄養関連肝障害である IFALD の概念に合致していると考えている。

質問6) 動物モデルとしては新しい報告か。

(回答) このモデルで肝障害が起こるのは新しい報告である。

質問7) 考察では本実験における肝障害の機序としてアポトーシスに言及している。肝障害の評価として炎症細胞の浸潤を評価しているが、アポトーシスが起こると炎症は起きないのではないか。

(回答) 臨床において、NAFLD における細胞死にはアポトーシス機構が重要である。死細胞を貪食した Kupffer 細胞から産生された炎症性サイトカインによって炎症細胞浸潤が誘導されたのではないかと考える。

質問8) 論文中では本モデルにおける肝障害の機序として two-hit theory が考察されており、first-hit = 脂肪沈着、second-hit = 炎症、としているが、first-hit は炎症と考えるのが適切ではないか。

(回答) NASH における two-hit theory は肝細胞への脂肪沈着が first-hit であり、炎症性サイトカインなどの要因が second-hit とされている。臨床における IFALD は、長期間の TPN の経過中にカテーテル感染などの炎症が加わることによって病勢が進行していくという経過をたどるため、そこから今回の two-hit theory を考察した。

質問9) 本実験における90%腸管切除は、臨床では何 cm ほど小腸が残っている計算になるのか。

(回答) 新生児だと20 cm 程度と考えられる。

質問10) 本ラットモデルでは、切除腸管の長さによって肝障害の程度に変化が出るか。

(回答) 手術の侵襲度が変わるので、肝障害の程度が変わる可能性はあるが、本研究では過去の報告を参考に90%切除だけで検討した。

質問11) 効果は成長ホルモンを介した作用である可能性はないか。

(回答) IFALD の病態において成長ホルモンの関与は分かっていない。ghrelin 投与による成長ホルモンの変化は測定していないが、ghrelin 投与で IGF-1 は増加していなかったため、その可能性はないと考えている。

質問12) 臨床においては、魚油由来脂肪乳剤はどれくらいの期間投与するのか。

(回答) 週1回投与を半年継続した例もあるが、現在は急性期のみの投与が一般的となっている

最終試験の結果の要旨

質問 13) SBS/TPN 群は低栄養ではないという理解でよいか。

(回答) 投与した静脈栄養の組成およびカロリーは既報に基づいており、250 g 程度のラットに対し適切な量であるため、飢餓ではないと考えている。

質問 14) SBS/TPN 群において AST は上昇しているが、ALT が上昇していないのはなぜか。

(回答) AST の分画までは測定していないため、ミトコンドリア機能障害による m-AST の上昇かどうかは分からない。そもそも SBS/TPN 群における AST の上昇が肝障害を反映したものではない可能性があるが、今回の実験では検討できていない。

質問 15) 肝組織中の炎症性サイトカインは測定しているか。

(回答) ghrelin 投与によって肝内の炎症性サイトカインが抑えられるという報告はあるが、今回は検討していない。

質問 16) 腸内殺菌を加えると肝障害は抑えられるか。

(回答) 腸内細菌叢と IFALD の関係については報告がある。小腸内の細菌異常増殖を抑えることが IFALD の予防および治療となる可能性がある。

質問 17) 7 週齢のラットを使用しているが、更に若いラットを使えば胆汁うっ滞が起こる可能性はあるか。

(回答) 可能性はあると考えているが、これまでに報告がない。

質問 18) 短腸症候群において、腸管機能の adaptation は絨毛の高さだけで決まるのか。

(回答) adaptation は腸管の表面積だけでは決まらない。栄養の吸収の評価も必要と考える。

質問 19) 臨床的に腸管が adaptation するというのは、下痢が減少して経腸栄養が進むということか。

(回答) 大量腸管切除後、急性期には頻回であった下痢が回復適応期に減少していき、残存小腸の能力に応じた消化吸收レベルに経腸栄養が進んでいく過程を adaptation としている。

質問 20) 本実験における動物モデルにおいても、ghrelin 投与によって経腸栄養に移行できる可能性があるか。

(回答) 可能性はあると考えている。今後の検討課題としている。

質問 21) Sham 群の設定としては Sham 手術+TPN という群を設定したほうが、短腸および ghrelin のファクターが明確にできるのではないか。

(回答) 指摘の通り、本動物モデルにおける肝障害のメカニズムの解明には、Sham 手術+TPN 群が適切と考える。今後の検討課題とする。

質問 22) 使用した ghrelin の種は何か。

(回答) ラットの acylated-ghrelin を使用した。

質問 23) ghrelin を溶解した後に凍結保存するまでにどれくらいの時間を要したか。

(回答) 溶解から凍結まで 30 分程度要した。

質問 24) 糖代謝系およびコレステロールの組成 (HDL, LDL) は測定したか。

(回答) 今回の実験では測定していない。

質問 25) 臨床的に肝不全で亡くなる患者の特徴は何か。

(回答) 残存腸管率が低いということが特徴としてあげられる。IFALD のリスクとして静脈栄養があり、静脈栄養からの離脱率は残存腸管長と相関がある。残存腸管が短いほど静脈栄養の期間が長くなり、カテーテル感染などのリスクも高まる。

質問 26) 内因性の ghrelin は、切除する腸管の部位によって変化するか。

(回答) 今回は検討していないが、ghrelin は主に胃から分泌されるため、切除腸管の部位による変化は可能性が低いと考える。

質問 27) コリンエステラーゼは測定したか。

(回答) 測定していない。

質問 28) 肝臓に ghrelin のレセプターは存在しているか。また外来性の ghrelin によりレセプターの増減は認められるか。

(回答) 肝臓における ghrelin レセプターの発現は報告があるが、ghrelin を投与することによる肝内レセプター発現の増減については報告がない。

質問 29) 小腸移植後の患児に対する ghrelin 投与は、効果が期待できるか。

(回答) ghrelin には組織血流の増加作用があるため、効果があると考えられる。グラフト腸管の絨毛や吸収能については分からない。

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。