

論文審査の要旨

報告番号	保研 第 <b>13</b> 号		氏名	大塚 章太郎
審査委員	主査	樋口 逸郎		
	副査	新地 洋之	副査	木佐貫 彰
	副査	田平 隆行	副査	大渡 昭彦

Preconditioning exercise reduces brain damage and neuronal apoptosis through enhanced endogenous 14-3-3 $\gamma$  after focal brain ischemia in rats

(脳梗塞発症前運動は、ラットの局所脳虚血後、内在性14-3-3 $\gamma$ の増強を介して脳損傷および神経細胞のアポトーシスを減少させる)

主査及び副査の5名は、平成31年1月30日13時00分から14時00分にかけて、学位申請者 大塚章太郎氏に論文発表を行わせ、論文審査を実施した。その発表要旨と審査結果は以下のとおりであった。

【はじめに】脳梗塞に対する神経保護を獲得する因子として細胞内に存在する内在性保護因子が注目されている。それらは脳虚血などの病態から細胞を保護するために活性化される。14-3-3 $\gamma$ は、虚血性細胞死からの大脳皮質ニューロンにおける重要な初期虚血誘導性保護因子である。本研究では、内因性保護因子の中から転写因子の一つであるHIF-1 $\alpha$ 、内因性保護タンパクである14-3-3 $\gamma$ に着目し、定期的な運動介入によるニューロンとアストロサイトを介した脳虚血耐性の獲得と脳梗塞後の神経保護メカニズムについて検討を行った。

【対象と方法】7週齢の雄性SDラット34匹を用い、3週間のトレッドミル運動群 (Ex-only群)、運動後に脳梗塞を作製する群(Ex群)、運動介入せず脳梗塞を作製する群(No-Ex群)、正常対照群(Control群)、の4群に分類した。トレッドミル運動は25m/minで30分/日、週5回行った。No-Ex群とControl群はゲージ内で3週間自由飼育した。運動終了後に60分間の虚血と再灌流により脳梗塞を作製し、脳梗塞作製48時間後に神経学的所見や運動機能評価を行い、脳を採取した。脳梗塞巣の体積、HIF-1 $\alpha$ 、14-3-3 $\gamma$ 、活性化アストロサイトのマーカーであるGFAP、神経細胞のマーカーであるNeuN、アポトーシスに関与するBax、Caspase-3の発現を免疫組織化学染色及びWestern blotting法を用いて調べた。

【結果】定期的な運動介入による脳内変化に関して、Ex-only群のHIF-1 $\alpha$ と14-3-3 $\gamma$ の発現が有意に増加し、神経細胞やアストロサイト上で発現が観察された。脳梗塞作成後には、Ex群の脳梗塞巣の体積がNo-Ex群と比べて有意に小さく、運動機能は有意に改善していた。脳梗塞発症後には、No-Ex群に比べ、Ex群で14-3-3 $\gamma$ の発現量が有意に増加し、Bax、Caspase 3の発現は有意に減少していた。

【考察】3週間の運動介入を行うことで内因性保護因子であるHIF-1 $\alpha$ 、14-3-3 $\gamma$ の発現を誘導することが明らかとなり、虚血応答に対するこれらの因子が増加することは、運動によって脳虚血耐性が獲得出来たことを示唆している。我々の先行研究では予防的な運動介入は脳梗塞後の血管新生促進、グリア細胞の増殖促進、神経栄養因子の発現増加が生じることを報告しており、今回の運動群における脳梗塞後の神経保護メカニズムにはHIF-1 $\alpha$ や14-3-3 $\gamma$ の発現増加、血管新生促進、神経栄養因子の発現増加、14-3-3 $\gamma$ のBax制御によるアポトーシス抑制が関与していることが示唆された。

【審査結果】本研究は、予防理学療法の視点から運動による脳虚血耐性の獲得と脳梗塞後の神経保護効果とそのメカニズムを明らかにした。本研究の結果は、新たな予防法や治療法の確立の一助になる可能性があると考えられる。従って、5名の審査委員は本論文が博士(保健学)の学位論文として十分な価値を有するものであると判定した。