

最終試験の結果の要旨

| | | | |
|------|------------------|-------|----------|
| 報告番号 | 保研 第 13 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 γ 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 γ 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 に対し、論文の内容について質疑応答を行うと共に、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】論文の中では、免疫染色の定量画像はM1、M2領域を撮影しているように見えたが、発表スライドはペナンプラ領域を示していた。どの領域を評価したかったのか。

【回答】本研究においては、脳全体の神経保護効果を獲得できているかを確認するために、脳の領域指定はなく、発表スライドは理解しやすいように定量画像を撮影したペナンプラ領域を示したため、論文とは異なっております。

【質問2】Western blotにおいて、 α -tubulinとの濃度比でタンパクを定量しているが、何故、 α -tubulin だけだったのか。

【回答】先行研究で α -tubulinを使用した論文が多く、予備実験で α -tubulinでタンパクがばらつきなく採取できていたため、問題ないと判断し、使用しました。

【質問3】脳梗塞後の14-3-3 γ の発現動態は、ほかのタンパクと比べると早いのか。

【回答】14-3-3 γ の発現は、虚血後15分で増加し、72時間発現し続けるとの報告があり、今回の研究においては、運動終了後から発現し続けているのではないかと考えております。

【質問4】BDNFの発現はアストロサイトを介すとタイムラグが生じているのではないのか。

【回答】BDNFの発現に関しましては、運動に伴うATPの産生と関連して発現量が増加するという先行研究があり、今回のアストロサイトの虚血耐性獲得にともない、BDNFの産生を増加させるという点においてどちらもATPの産生が関与しているので、タイムラグを判別するのは難しいのではないかと考えております。

【質問5】14-3-3 γ の発現は、脳梗塞後の組織の変性に伴い発現量が増加するのか、それともシグナル伝達に伴い増加するのか。

【回答】14-3-3 γ の発現に関しては、虚血に対応するように発現が増加するという報告がありますので、虚血に反応するシグナルの伝達で発現が増強すると考えております。

【質問6】MCAOはヒトでいうとどのような脳梗塞になるのか。

【回答】今回の脳梗塞モデルは、小泉法を使用しており中大脳動脈をフィラメント挿入で閉塞し、60分後に再灌流して脳梗塞を作成しています。ヒトにおいても中大脳動脈閉塞における脳梗塞と同じ病態であると報告されております。

【質問7】論文では皮質と線条体では発現に差があるかもしれないと報告がありましたが、何故ですか。

【回答】先行研究においては、線条体においてアストロサイトが活性化した後、皮質領域まで拡大するとの報告があり、今回、皮質領域に着目して検討したので、線条体においては違う結果

が得られるのではないかと考えております。

【質問8】 神経行動学的評価においてNeurological Score は差がなかったのは何故か。

【回答】 今回、神経行動学的評価は、4つのテストを用いて総合的に評価を行いました。

Neurological Score においては、0-4の5段階評価であり、今回の評価時において、ばらつきもみられたため、軽減はしていたが有意な差は見られなかったのだと考えております。

【質問9】 今回の動物実験のデータと同じような臨床のデータはあるのか。

【回答】 臨床研究では、神経麻痺や運動機能に大きな差はみられておりませんが、日常生活動作能力に差がみられ、予防運動の効果が示されております。

【質問10】 データにおけるバイアスをどう省いたのか。

【回答】 全ての結果において、一人では行わず、2-3人でのブラインドでの評価を行いました。

【質問11】 各群N6という群分けは適切なのか。

【回答】 今回、動物を使用する数を最小限にするように努めたことで、実験で使用した34匹（各6群）という数になりました。

【質問12】 今回の運動強度の設定はどうやって決めたのか。

【回答】 今回設定した運動強度は、先行研究をもとに3週間、週5日、1日30分、25m/minという設定を行いました。今回の運動強度においては、嫌気性代謝閾値に切り替わる程度であり、中等度程度の強度であると考えて、介入致しました。ヒトにおける強度においても中等度程度であると考えております。

以上の結果から、5名の審査委員は大塚章太郎が大学院博士後期課程修了者としての学力と識見を十分に具備しているものと判断し、博士（保健学）の学位を与えるに足る資格をもつものと認めた。