

## 最 終 試 験 の 結 果 の 要 旨

報告番号	保研 第 18 号		氏 名	高田 聖也
審査委員	主 査	樋口 逸郎		
	副 査	米 和徳	副 査	沖 利通
	副 査	新地 洋之	副 査	窪田 正大

**Disruption of Mdkine gene reduces traumatic brain injury through the modulation of Neuroinflammation**  
**ミッドカイン遺伝子の欠損は神経炎症の調節を通じて外傷性脳損傷を軽減する**

主査及び副査の5名は、令和2年2月17日13時30分から14時00分にかけて、学位申請者 高田 聖也氏に対し、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】**今回は外傷性脳損傷モデルだが、ほかのモデル、たとえば脳梗塞モデルでも結果は同様か。

**【回答】**以前、脊髄損傷モデルを作成し検討を行ったところ、ミクログリア/マクロファージの活性化については同様の結果が得られており、WTと比較して損傷遠位部の神経炎症が軽度であることも観察された。したがって、中枢神経の外傷モデルであれば同様の結果が得られる可能性がある。虚血モデルでは発症機序が異なるが、本質的なMKの役割は同様であると考えている。

**【質問2】**炎症期として14日まで見ているようだが、その後の経過はどうなるのか。

**【回答】**中枢神経系は一般的に組織再生能力が低いいため、正常レベルまでの回復は見込めないと考えられる。それゆえに、MK 遺伝子の欠損は、炎症反応の抑制することによる脳ダメージの軽減が、WTよりも機能予後を良くする可能性がある。

**【質問3】**MKは主に急性期に働くサイトカインか。慢性炎症では作用しないのか。

**【回答】**先行研究によると、細菌性慢性心筋炎モデルにおいて、MKは心筋炎を悪化させることが報告されている。したがって、MKの働きは急性炎症に限定されず、慢性炎症においても役割を果たしていると考えられる。

**【質問4】**MK 遺伝子欠損マウスは、特徴的な疾患を持つか。

**【回答】**出征後早期の海馬の発育が遅延することが報告されている。

**【質問5】**評価および解析の日程を損傷3日後、7日後、14日後に設定した理由は何か。

**【回答】**損傷後の炎症持続期間をおおよそ14日と設定し、その中間である7日後と、脊髄損傷モデルで実験を行った際の結果をもとに3日後を設定した。

**【質問6】**M1 M2 表現型解析のために複数実験しているが、矛盾するデータはなかったか。

**【回答】**マーカーの違いや、実験手法によってみているものが異なるため、すべての実験でM1M2表現

型の結果が同一ではなかった。しかし、炎症を抑制するという大筋から外れず、整合性は取れていると思われた。

【質問7】 これらの実験で最も信用のおけるものはフローサイトメトリーなのか。

【回答】 免疫組織化学染色において、主に M1、M2 表現型の発現は損傷周囲部で最も強く観察された。しかし、損傷遠位部においても、例えば、小さく Arginase-1 が染まっている像なども観察されたことから、フローサイトメトリーはそのような細胞もデータとして扱っている可能性がある。したがって、一つの実験の結果が最も信用できるということではなく、M1M2 分極化について調べた実験すべての結果を統合して結果を解釈する必要があると考える。

【質問8】 今回の研究の新規性はなにか。

【回答】 これまで、ミッドカインがミクログリア/マクロファージの分極化に影響を与えるという報告は大変少ない。また、これまでミッドカインの欠損は末梢組織損傷後の炎症の緩和、組織変性および回復を遅延させることが報告されてきたが、本研究では初めて、中枢神経外傷においてミッドカイン欠損によって神経炎症が軽度になり、症状も軽度になることを報告した。したがって上記二点が、本研究の新規な点である。

【質問9】 臨床研究に進む場合、多くの検討すべき点があるが、どのように考えているのか。

【回答】 現在、一過性に MK 発現を抑制する MKRNA アプタマーの特許が取得されており、薬剤応用としての研究も徐々に進んでいる。薬剤の使用時期や容量、副作用など検討すべき点は膨大にある。急性期における RNA アプタマーの使用によって内因性 MK による過剰な炎症反応を抑制し、回復期において外因性 MK 投与することで神経突起伸長を促すようなアプローチが効果的であると考えられる。

【質問10】 臨床応用が進まない理由は何か。

【回答】 臨床応用的研究は外因性 MK の投与による神経保護効果が主であった。ただし、MK はタイムウィンドウが小さく、また、ブラッドブレインバリアを通過できないため、中枢神経損傷後の治療薬として使うことが難しかった。一方、内因性 MK を抑制することが中枢神経炎症に効果的である可能性が示されたのは最近のことであり、内因性 MK 制御は薬剤によって可能であることも分かってきた。したがって、臨床応用が進んでくるのはこれからであると思われる。

以上の結果から、5名の審査委員は本人が大学院博士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と認めた。