

最終試験の結果の要旨

報告番号	総研第	号	学位申請者	松久保 眞
審査委員	主査	垣花 泰之	学 位	博士 (医学)
	副査	岡本 康裕	副査	大塚 隆生
	副査	藏原 弘	副査	上野 健太郎

主査および副査の5名は、令和3年5月6日、学位申請者 松久保 眞 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) TPN ラットの動物実験で腸管切除群と非腸管切除群を行っているのはなぜか。

(回答) 今回、非腸管切除の TPN ラットによる肝障害モデルを作成することで、腸管切除群の TPN ラットとの比較が可能となると考えた。

質問2) 観察期間7日間は直感的に短い印象を受けるが、実際ヒトにあたるどれくらいの期間と考えられるのか。長期 TPN と認識できるのか。

(回答) ラットの7日間だと約半年となり、長期 TPN との認識で実験を行った。

質問3) 脂肪肝では臨床的にはトランスアミナーゼ上昇があるが、今回の実験ではトランスアミナーゼ上昇がなかったのはなぜか。

(回答) 今回の TPN モデルは、非アルコール性脂肪肝にはなっていたが、非アルコール性脂肪肝の炎症の状態までは進行してなかったと思われる。

質問4) TPN 群のアルブミン値の評価のため TPN を行っていない血中アルブミンの正常値を教えてください。TPN 群と HGF 投与群で血中アルブミンの値に有意差が出たとしているが、一般的にアルブミンの半減期は長いため、7日間で本当に差がでるのか。

(回答) 追加実験による経口摂取群のラットの血中アルブミンの平均は4 mg/dl 前後であった。指摘のようにアルブミンの半減期は長いため、Rapid turnover protein などの評価も併せて必要と思われる。

質問5) なぜ経腸栄養と比較し、TPN では NAFLD になるのか。同じカロリーを例えば経口で摂取した場合にはどのような病態になると予想されるか。

(回答) TPN では、食物通過に依存しているホルモンなどの欠乏から腸肝循環が保たれにくく、そのため経口摂取と比較すると NAFLD になりやすいと思われる。

質問6) 脂肪のエネルギーを消費する器官が機能しないから脂肪肝になるのではないのか？

(回答) 脂肪は肝臓内に取り込まれ、肝臓内で分解・排泄され末梢の組織で消費されている。脂肪の肝臓への過剰な流入や、排泄の障害は脂肪肝の原因になっていると思われる。

質問7) アポトーシスの指標として Caspase 9 のみを検査しているが、もう少し下流のアポトーシスの指標は評価しなかったのか。Cleaved Caspase 9 (活性型 Caspase 9) を調べたのか。またミトコンドリア障害の有無は分かったのか。

(回答) Caspase 3 も調べたが、有意差を認めなかった。ミトコンドリアの障害への HGF の影響は不明である。Cleaved Caspase 9 に関しては把握していなかった。

質問8) コントロール群は TPN 群ではなく経口のみ群にした方がよかったのではないのか。

(回答) 今後の研究の参考にしたい。

質問9) なぜ、HGF を用いたのか。今までの実験モデルに投与されていた消化管ホルモンや脂肪乳剤は使いやすそうに思える。

(回答) HGF に関しては抗アポトーシスなど様々な生理活性を持つとの知識を得て、今回の実験モデルの肝障害に対し効果が期待できると考え選択した。

質問10) HGF の効果で血中のコレステロールが上昇するため、動脈硬化などのリスクがあるのではないのか。他の文献などではそういった副作用の報告や考察はあるのか。

(回答) 他の論文での結果や考察からは確認できないが、血中コレステロール上昇に関しては、臨床応

最終試験の結果の要旨

用する際には血中脂質を下げる薬剤の併用は必要と考える。

質問 11) HGF 投与によって肝内トリグリセリドのみ下がり、コレステロールは下がっていない理由は。

(回答) トリグリセリドは肝臓から、血中に排泄される経路のみだが、コレステロールは血中に排泄される経路とは別に胆汁として肝臓から腸管に排泄される経路がある。今回 HGF のコレステロールが腸管へ排泄される経路を促進する効果が弱かったのではないかと考えている。

質問 12) この TPN 群の AST の値は上昇しているのではないか。

(回答) 経口摂取群との比較を行っていないので不明である。

質問 13) TPN 群に、HGF 投与の対照としての生食投与などは行っていないのか。

(回答) TPN 群には、HGF 投与群に投与する HGF と同量の生食の静脈内注射を同じ頻度で行った。

質問 14) 肝組織像はどの検体も一様であったのか。

(回答) TPN 群は一様に脂肪肝の組織像を呈していた。TPN+HGF 投与群は、脂肪肝の程度にばらつきはあったが、総合的に TPN 群と比較すると脂肪肝の所見の程度は軽微であった。

質問 15) 腸管は評価していないのか。

(回答) 今回のモデルで現在 HGF 投与による腸管順応の評価も行っており、HGF 投与により腸管粘膜萎縮が予防されたとの結果を得ている。

質問 16) 炎症性サイトカインの発現について、1 週間後の肝組織中の TNF α や IL-6 の値は非常にバラつきが強いようであるが、時系列による評価を行ってもよいのではないか？

(回答) 今後の研究の参考にしたい。

質問 17) HGF 投与群では TPN 群と比較してビリルビン値が高い印象があるが、何か考察はあるか。

(回答) 他の論文には、胆汁うっ滞が改善するとの報告が多い。今回は有意差もなく、正常範囲内でのばらつきだと思われる。

質問 18) 今回アポトーシスの指標としたのは Caspase 9 のようだが、肝線維化や壊死など、それ以外の細胞死の指標についてはどうか。同じ細胞の中でもいくつかの系統があるので検討してみてもいいか？

(回答) 今後の研究の参考にしたい。

質問 19) 学位論文の P354 の non-alcoholic liver disease (NAFLD) となっているが、non-alcoholic fatty liver disease のミスではないか。

(回答) 論文作成時の記載ミスおよび確認不足である。

質問 20) TPN の組成で、論文中には術当日の輸液に糖質としてデキストロースを用いたとあり、その翌日からグルコースを用いたとある。理由は。

(回答) 両方ともグルコースを使用しているため、論文作成時の記載ミスである。

質問 21) TNF α や IL-6 は正常値と比較して高値なのか。またトランスアミナーゼを含めた炎症を示す値がなければ脂肪肝炎が起きているとは言えないのではないか。

(回答) 今回経口摂取群との比較を行わなかったため評価はできてない。

質問 22) Cao らの実験は胆汁うっ滞型のモデルとなり、今回の実験の脂肪肝型のモデルとは異なった原因は TPN のカロリーや組成に起因しているのか。

(回答) カロリーと期間の両方が影響していると思われる。今回の実験で脂肪肝を認めたのはカロリーの過剰投与が原因となっていると思われる。

質問 23) 脂肪を抜いて糖質・アミノ酸のみの輸液をした場合、肝臓はどのような組織像となることが予想されるか。

(回答) 糖質は過剰摂取されると、脂肪として肝臓に貯留されるため、糖質・アミノ酸のみの輸液であっても脂肪肝像を呈する可能性があると考えられる。

質問 24) 糖質の輸液で脂肪肝になるのであれば、糖を上がない管理をして TPN を行なえばどうなるか。

(回答) インスリン製剤など血糖降下薬が NAFLD に効果的との報告があり、併用は脂肪肝の予防になると思われる。

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。