

最終試験の結果の要旨

報告番号	保研 第 42 号		氏 名	谷 明
審査委員	主 査	岡本 裕嗣		
	副 査	大渡 昭彦	副 査	沖 利通
	副 査	根路銘 安仁	副 査	宮田 昌明

主査及び副査の5名は、2024年1月16日、18:00～19:10の間、学位請求者 谷 明 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。

問1. 今回は漢方薬を使用したけど、薬剤で同様な介入をした研究はどのようなものがあるか。
回答：脳内神経伝達物質を増加させることで機能回復の促進を目指す薬剤として、デキストロアンフェタミンやレボドパとカルビドパの合剤、SSRIが検討されたが、いずれも運動機能回復効果は認められなかった。現在、脳卒中後のリハビリテーション効果を促進する新薬として「T-817MA」の臨床試験が進行中である。

問2. P75の発現は今回検討していないが、Akt経路には関与しないのか
回答：神経栄養因子の前駆体（proNGFやproBDNF）がp75に結合することで、PTEN発現が促進され、PIP₃（PI3k-PTP₃-Akt経路）を抑制することで間接的にAkt経路に関与し生存を抑制する可能性はある。今回はより直接的に関与するBDNF/TrkBとNGF/TrkAについて検討した。

問3. 摂食量は正常コントロールでどのくらいなのか
回答：1日あたりおよそ20-25gであった。

問4. 今回人參養榮湯を治療薬として選択した理由について
回答：最近、フレイルやサルコペニア、軽度認知機能障害の予防に対する人參養榮湯の効果が報告されつつある。人參養榮湯の12種類の構成生薬の中には、脳梗塞後の運動療法と同様に、神経栄養作用や神経保護作用を示すものがあり、脳梗塞後の機能回復を促進できる可能性があったため、治療薬として選択した。

問5. 摂食量の示し方は1匹あたりか
回答：摂食量は各群の1匹あたりの平均摂取量で示す。1ケージあたり2匹のラットを飼育し、餌の量は50g/ケージを毎日あたえた。餌の残量をはかり1日の摂食量とした。

問6. 1個体あたりの漢方の摂取量は人間に換算するとどのくらいか
回答：人參養榮湯は脳梗塞1日後から飼料に人參養榮湯1%を混ぜて投与した。この人參養榮湯の投与量は体重60kgのヒトのエキス末の1日投与量に相当する。

問7. Akt活性が高いとアポトーシスが抑制されるか
回答：リン酸化 Akt（p-Akt）は、アポトーシス抑制など下流のシグナル伝達経路の活性化の指標となる。運動や人參養榮湯の介入群では Cleaved caspase-3 の発現が低下していた一方、p-Akt/Akt 比が上昇していたため、Akt シグナル伝達経路を介してアポトーシスが抑

制されたと考えた。

問8. 介入初期のNYT+Ex群の摂食量がその後の機能回復につながった可能性が高い。

回答：心臓術後や婦人科のがん切除術後の早期における摂食量が機能予後を改善するという報告がいくつかある。今回、NYT+Ex 群では介入早期の摂食量が他の群より高く機能回復が促進された可能性があるが、NYT 群では摂食量が最も少ないなど不明な点も多くある。最適な投与時期も含め、人参養榮湯が脳梗塞後の運動機能や摂食量に与える影響について今後さらに検討が必要である。

問9. 今回のペナンプラ周辺を撮った2か所はどのように決定したか

回答：各切片の病変周囲の運動野から2か所、視野が重ならないように撮影した。連続切片のHE染色と比較しながら、ネクロシスをあきらかに起こしていない場所を撮影した。

問10. 餌は固形で実験を行っているが、置いていて変性はないのか。

回答：ケージに置いた餌は少なくとも2日に一回は新しい餌にすべて変更し、人参養榮湯の効能が失われないよう工夫した。

問11. 脳梗塞作成方法は今回どのような方法で行ったか。

回答：今回は、中大脳動脈閉塞モデル（小泉法）を用いた。簡略に説明すると、内頸動脈からフィラメントを中大脳動脈の分岐部まで挿入して60分間虚血し、その後抜糸することで虚血再灌流障害を起こし、脳梗塞を作製した。

問12. TrkAのリン酸化がどのくらい起こっているかは基質あたりで算出すべきではないか。

回答：p-TrkA/TrkAの比でNGF/TrkAの活性化を示す報告が多くみられる。今回、TrkAとp-TrkAとで抗体の会社が異なっており、同様の性質を持つ基質として比で算出すべきか判断できず、 α -tubulinとの比で算出した。

問13. 梗塞中心部や健側でのタンパク発現はどのようなものだったか。

回答：脳梗塞作成4週後の脳組織ではほとんどの個体で梗塞巣の脱落がみられたため、梗塞中心部では検討しなかった。また、健側に関してはwestern blotting用の組織が損傷側のみであったため今回は検討していない。

問14. 人参単独ではなく、運動との併用で効果が表れた理由はどのようなものか。

回答：運動と人参養榮湯はそれぞれ神経栄養因子発現を介して神経保護作用や神経可塑性を向上させる可能性がある。今回、相乗効果的に機能や神経保護作用が改善したが、詳しいメカニズムの解明にはさらに研究が必要である。

問15. 人参養榮湯の投与時期や運動開始時期の変更は検討されているか。

回答：先行研究で脳梗塞作成後14日以上運動療法でBDNF発現が増加したことが報告されていたため、今回は4週間の介入実験を行った。しかし、脳梗塞後のリハビリテーションとしては期間が短い可能性があることや投与時期が遅れた場合（いわゆる慢性期）の人参養榮湯と運動療法の併用の効果については、さらに研究が必要である。

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ものと認めた。