

最終試験の結果の要旨

報告番号	総研第 266 号	学位申請者	武藤 充
審査委員	主査	堀内 正久	学位
	副査	河野 嘉文	副査
	副査	大脇 哲洋	副査
			井戸 章雄

主査および副査の5名は、平成25年12月3日、学位申請者 武藤 充 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) 80%小腸切除後の GLP-2 上昇は代償反応と考えているのか? (回答) はい。
- 質問2) Ghrelin は術後4日目以降、control 群に比べて80%小腸切除群で減少しているように思うが、どう考えるか?
(回答) 測定値は低い統計学的有意差のないことを重視し、血漿レベルには差がないと考えている。
- 質問3) 手術侵襲によってどのタイプの Ghrelin が上昇すると考えたか? (回答) Des-acyl ghrelin と考えた。
- 質問4) 手術侵襲があったときに Acyl ghrelin が上がっては不利になるという状況はあると思うか?
(回答) 侵襲直後の腸管透過性亢進時期には摂食抑制する必要がある、この時期には上がっては不利になると考える。
- 質問5) 実際に GLP-2 と Acyl ghrelin を臨床応用するときに、どのようなプロトコールを考えているか?
(回答) 今回はターゲットホルモンの役割と臨床応用の可能性を検討した。具体的プロトコールは今後組み立てたい。
- 質問6) ラットでの結果が得られた。ヒトへの応用を実施する前に、別の動物種で検証する必要性は考えているか?
(回答) ヒト新生児に最も近いモデルは、新生仔ブタと考えられる。新生児への応用前に、新生仔ブタで検証したい。
- 質問7) この実験では、陰窩での細胞増殖や腸上皮アポトーシスなどについて組織学的評価は加えているか?
(回答) 今回は HE 染色で形態変化のみ評価した。特殊染色を用いたこれらの組織学的評価は既に報告されている。
- 質問8) GLP-2 が直接腸管の上皮に働きかけるのか、それとも別の何か液性因子を介し絨毛増高がおこっているのか?
(回答) GLP-2 の吸収粘膜表面積増大作用のメカニズムについては、詳細が分かっていない。
- 質問9) 今回は、GLP-2 の産生部位が多く残っていると思われる。この部分も切除するとどのような結果が想定されるか?
(回答) GLP-2 分泌減少の影響は出るかもしれない。別の腸管切除モデルでの検証も、今後考えたい。
- 質問10) ターゲットホルモンの阻害剤を用いた実験は行われているか?
(回答) GLP-2 と Ghrelin を経時的に追跡した報告はこれが初で、未だそのような報告はない。次の検討としたい。
- 質問11) 実際の臨床では、喪失腸管の部分の違いによって adaptation に違いが生じているか?
(回答) 回腸と空腸とでは、回腸がより多く残っていた方が理想的な adaptation は起こりやすいといわれる。
- 質問12) このモデルで、もっと長く観察していると80%小腸切除群の体重は sham 手術群の体重に追いつくか?
(回答) 吸収熱量の差は続くので、体重増加直線の傾きの差は変わらない。従って、両群の体重差は開いてゆく。
- 質問13) 手術内容から、今回使用したラットの小腸は全体で1mあるということか? (回答) 概ね1mである。
- 質問14) 80%切除を選択したのは、GLP-2 の産生部位をより多く残したいという意図からか?
(回答) 80%以上の切除で adaptation に大きな差はないという先行報告があった。そのような意図もあったが、モデルの生存率を考慮し80%とした。
- 質問15) GLP-2 の産生部位が減れば減るほど、差が出にくい結果になる可能性は考えたか? (回答) 想定した。

質問 1 6) 今回は、通常このような論文で評価される mucosal thickness の評価はしていないか？

(回答) していない。切除後に吸収粘膜面積が増大することがポイントのため、絨毛の変化に焦点をおいた。

質問 1 7) 手術時の抗菌薬投与は皮下注か？ 術前に投与されているか？

(回答) 処置の便宜上、脱水予防の生食および鎮痛薬とともに術後に皮下投与を行った。術前投与はしていない。

質問 1 8) 手術前夜の絶食だけで体重の 10%程度が減ったのか？

(回答) 計測結果から、そうである。

質問 1 9) 体重変化のグラフは、切除腸管の重量の影響も含まれるか？

(回答) 腸管重量分の影響も含まれている。

質問 2 0) Des-acyl ghrelin の上昇が Acyl ghrelin 上昇のための前段階と推察すれば、もっと早期で高値を示しているか？

(回答) 測定していない 2~3 日目で、より Acyl ghrelin が高い可能性はあるかもしれない。今後確かめたい。

質問 2 1) Acyl ghrelin / Des-acyl ghrelin 比はどのような結果になるか？

(回答) A/D 比は短小腸群でも正常腸管群でも漸次上昇した。残存小腸長の違いによる統計学的差異は生じなかった。

質問 2 2) Acyl ghrelin への変換酵素レベルの推移を追跡したら興味深い結果が得られたかもしれない。どう考えるか？

(回答) 理想的な生体変化をきたすべく推移するのだろうと推察する。今後の課題にしたい。

質問 2 3) ラットとヒトではターゲットホルモンは全く一緒か？

(回答) 分子構造、生体内作用は酷似している。

質問 2 4) 腸管が短くなった時に、拡張が起こっているが、それはなぜ起こるのか？

(回答) 拡張の理由は未詳だが、炎症による蠕動鈍麻が一因と考えられている。GLP-2 の効果もあるかもしれない。

質問 2 5) 腸管が短くなった時に、伸びてゆくという事象はおこらないのか？

(回答) 成長分の伸長はあるが、実験でも臨床でも短くなったことが影響して有意に伸長するという確証はない。

質問 2 6) 15 日を過ぎて観察を続けていった場合にどんなふうになると想定されるのか？

(回答) 術後 2 週~10 週目に大きな差はないとする先行報告がある。長期間でも概ね同様な傾向と思われる。

質問 2 7) 病理組織像は 15 日目のままでずっと続いてゆくと考えてよいのか？

(回答) 以後も日齢に応じた成長はしてゆくとと思うが、どこかの時点で変化が止まると思われる。

質問 2 8) GLP-2 が増えているが、どんな仕組みで増えていると考えられるのか？

(回答) Acyl ghrelin による摂食促進により、未消化食物渣が L 細胞に与えた直接接触刺激の関与が大きいと思う。

質問 2 9) それはヒトでも同じか？ 腸を使わないとダメという事か？

(回答) その通りで、消化管を使わないとこのような変化は生じない。短小腸も使わないと順応作用は誘導できない。

質問 3 0) 吸収粘膜表面積のグラフでは sham 群のグラフも増えているように見える。病理組織程その差がないのか？

(回答) この数値は近似式から算出されており、測定誤差も含んでいる。有意差が生じたことに意義がある。

質問 3 1) 未消化食物渣による刺激で GLP-2 が分泌されるのは、物理的刺激によるのか？化学的刺激なのか？

(回答) この点は、未詳で回答はもちあわせていない。

質問 3 2) 物質であれば何でも通過させれば、分泌促進を起こせるか？ 効率のよいものはあるのか？

(回答) 最も有効な分泌刺激は長鎖脂肪酸といわれる。特に効率の高い物質として、脂質類が挙げられている。

質問 3 3) 残存小腸での粘膜変化は場所によって違うのか？

(回答) 肛門側に向かうに従ってその変化は大きく出ている。空腸よりも回腸の方が、adaptive response は高かった。

質問 3 4) その理由は何か？ (回答) おそらくは、GLP-2 受容体の数の相違も一因なのではないかと考えている。

質問 3 5) このモデルを使って長期の予後を検討できるような実験は組み立てることが出来そうか？

(回答) 急性期の変化をとらえるのには適しているが、慢性期の状態を評価するためには工夫が必要と思われる。

質問 3 6) Table 3 で対象ホルモンレベルが示されているが、脱水の影響を考慮しヘマトクリット等は測っているか？

(回答) 今回は測定していない。今後の実験では、考慮に入れて併せて評価してゆきたいと思う。

質問 3 7) 60 匹のデータを残すために何匹の実験をしているか？

(回答) 生存率や摂食量等の評価のため 25 匹のラットで別の実験を組んだ。動物実験計画書に明記し認可されている。

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。