

(第7号様式)

学位論文審査結果の要旨

氏名	田口 聖
審査委員	主査 國枝 武治 副査 大澤 春彦 副査 越智 博文 副査 伊賀 淳一 副査 木谷 彰岐

論文名

「ラット外傷性脳損傷モデルにおける急性期トレッドミル運動の悪影響：リハビリテーションはいつ開始すべきか？」

審査結果の要旨 (2,000字以内)

【背景】外傷性脳損傷は、毎年世界中で数百万人の人々に影響を及ぼす不治の神経障害および心理的問題の主要な原因の1つである。深刻な障害を改善する治療は限られ、その一つとしてリハビリテーションプログラムが有効とされているが、至適な介入時期や運動強度は十分解明されていない。急性期リハビリテーションの運動療法実施に至る指標は不明確で、その分子メカニズムも十分に理解されていない。本研究では、それらを解明するためにラット外傷性脳損傷モデルを用いて検討した。【方法】7-9週齢の雄性Wistarラットを用い、頭頂部頭蓋骨を穿孔し、注射針を刺入し扇型に前後に動かす方法で脳傷害を作成した。ラットは非運動群と、術後24時間後に運動する群、48時間後に運動する群の3群に分け、運動群は分速5mの走速度で10分間のトレッドミル走運動を1回のみ実施し、2週間後より運動機能および学習行動実験を行い、急性期単回運動の機能的予後への影響を調べた。また、術後3、4日目に採取した脳組織等を定量的リアルタイムPCR、ウェスタンブロット、ELISAやフローサイトメトリーの手法を用い、機能的予後増悪機序を検討した。なお、本研究における動物実験は、愛媛大学動物実験委員会の承認を得て行った。【結果】術後3日目、4日目に副腎重量および血中コルチコステロンを、体重は術後毎週測定したところ、それらの変化は認められなかった。行動実験では、学習能力や空間認知機

能に変化はなかったものの、特に術後 24 時間後に運動する群に多動性や左前肢の運動障害の悪化を認めた。行動実験終了後には損傷脳組織体積も測定したが有意な差は認められなかった。24 時間後運動の損傷脳組織では CCL2 等のケモカイン、IL-1 β や IL-6 等の起炎症性サイトカインや脳浮腫増悪に起因する AQP4 mRNA 発現の増加および 4 日目に I κ B キナーゼのリン酸化を増加させるなど起炎症反応を増強した。一方で、48 時間後の運動は 4 日目に起炎症性サイトカインやケモカインを抑制した。【結論】用いられた運動モデルは、外傷性脳損傷ラットにとってストレス負荷の低い運動であると考えられたが、受傷後 24 時間後での運動開始は外傷性脳損傷による運動機能障害を悪化させた。これらのことより、本研究におけるリハビリテーションプログラムでは、運動強度の問題ではなく、介入時期が問題となることが推察された。慢性期の損傷脳組織体積には群間差がないため、機能予後の差異は脳実質組織喪失との関連は乏しく、外傷性脳損傷後の急性期リハビリテーションによる起炎症反応の増強が起因となっている可能性がある。結論として、運動の早期開始は、有害な炎症誘発性反応を引き起こす可能性があり、実臨床においても、リハビリテーション開始のタイミングには細心の注意が必要である。

公開審査会は、令和 2 年 1 月 16 日に開催され、申請者は、研究内容を英語で明確に発表した後に、審査員から本研究に関する以下の質問がなされた。①ヒトに当てはめた場合のリハビリテーション課題の運動量、②リハビリテーション課題を連日で行った場合の影響や効果、③非運動群と 48 時間後に運動する群のいずれの機能予後が良いと考えられるか、④リハビリテーション課題を連続した場合に期待される機能予後、⑤課題の影響を見るために解析した mRNA の選択基準と意義、⑥qPCR で mRNA の標準化に GAPDH を用いている理由、⑦リハビリテーションの開始が遅れることによる悪影響についての先行研究、⑧本モデルにおける機能障害の程度と回復の自然経過、⑨性差による影響、⑩一過性の炎症性・浮腫性変化に差異があることが最終的な運動機能予後につながる機序の考察。

その上で、統計解析手法と非運動群をコントロールにすること、起炎症/抗炎症性サイトカインやケモカインの時間的変化を詳細にとらえるために解析対象期間を拡張すること、課される運動以外の自発運動に関する評価を追加することなどのコメントを受けた。これらに対して、申請者は、質問の意図を十分に理解した上で、詳細かつ明解に応答した。

審査委員は、申請者が本論文関連領域に対して学位授与に値する十分な見識と能力を有することを全員一致で確認し、本論文が学位授与に値すると判定した。