

## 論文審査の結果の要旨および担当者

報告番号	※	甲	第	号
------	---	---	---	---

氏 名 川上 大輔

論 文 題 目

**Rapid quantification of extracellular neurotransmitters in mouse brain by PESI/MS/MS and longitudinal data analysis using the R and Stan-based Bayesian state-space model**

(PESI/MS/MS を用いたマウス脳細胞外神経伝達物質の迅速定量法と R と Stan を用いた状態空間モデルの時系列データへの適用)

論文審査担当者 名古屋大学教授

主 査 委員 山田 清文  
名古屋大学教授

委員 若井 建志  
名古屋大学教授

委員 加藤 昌志  
名古屋大学教授

指導教授 石井 晃

## 論文審査の結果の要旨

別紙 1 - 2

本研究では、マイクロダイアリシス法で回収した細胞外の神経伝達物質の濃度変化を観察する手法として、探針エレクトロスプレーイオン化タンデム質量分析 (PESI/MS/MS) を用いた、グルタミン酸 (L-Glu) および  $\gamma$ -アミノ酪酸 (GABA) の定量分析法を新たに開発した (以下、本分析法)。本分析法のバリデーションを実施した結果、高い定量性が示された。さらに、本分析法の実用性を評価するために、高濃度カリウムイオン誘導脱分極時のマウス線条体中 L-Glu および GABA の変化を観察した。また、得られた時系列データに対しては、ベイズ統計モデリングによる状態空間モデルを適用した。最も時間分解能を高めた条件下においては、自由行動下のマウス脳内神経伝達物質の挙動を 1 分ごとに観察することができた。また、状態空間モデルを適用することで、脳内神経伝達物質の挙動を 1 匹のマウスごとに解析することができることを示した。

本研究に対し、以下の点を議論した。

1. 予備実験において人工脳脊髄液 (aCSF) に添加したアセチルコリンの検出が可能であることを確認している。一方、PESI/MS/MS を用いて生きたマウスの脳からグルタミンを直接検出できることを本研究の責任著者 (財津准教授) らが既に報告している。よって、本分析法を用いてマウス脳内のアセチルコリンやグルタミンの濃度変化も同時に観察できる可能性は高いと考えられる。
2. リアルタイム測定用に微小流路デバイスの試作品を作製し、現在、特許出願中である。本デバイスを用いた条件検討が必要であるが、本デバイスを PESI/MS/MS と組み合わせることで、リアルタイム測定を実現性できると考えられる。
3. ベイズ統計モデリングには R に加えて確率的プログラミング言語 Stan を用いた。乱数を 8000 回発生させる行為を 4 回繰り返し、最初の 2000 回は採用しないようにした。また、収束判定指標である Rhat から、発生させた乱数が定常分布に収束することも確認しており、本研究で用いたベイズ統計モデリングは妥当であると考えられる。
4. 線条体以外にも海馬、淡蒼球および内側前頭前皮質に埋め込んだ微小透析プローブを介した細胞外の神経伝達物質の濃度変化の観察例が報告されている。
5. 脳のスライス切片に対し、クレシルバイオレットを用いた神経細胞の染色を行うことで、微小透析プローブ挿入時に生じた微細な亀裂の位置を確認することで、挿入部位を特定することが可能である。

本研究は、細胞外の神経伝達物質の挙動を観察および評価する上で、新たな手法の提唱と重要な知見を提供した。

以上の理由により、本研究は博士 (医学) の学位を授与するに相応しい価値を有するものと評価した。

## 試験の結果の要旨および担当者

報告番号	※ 甲 第	号	氏 名	川上大輔
試験担当者	主査 山田清文		副査 <sub>1</sub> 若井建志	
	副査 <sub>2</sub> 加藤昌志		指導教授 石井晃	
(試験の結果の要旨)				
<p>主論文についてその内容を詳細に検討し、次の問題について試験を実施した。</p> <ol style="list-style-type: none"><li>1. グルタミン酸およびGABA以外の神経伝達物質の測定の可能性について</li><li>2. リアルタイム測定法構築の現状と実現可能性について</li><li>3. 使用したベイズ統計モデリングの妥当性について</li><li>4. 線条体以外の部位における手法の適応の可能性について</li><li>5. プローブを埋め込んだ位置を確認する方法について</li></ol> <p>以上の試験の結果、本人は深い学識と判断力ならびに考察力を有するとともに、法医・生命倫理学一般における知識も十分具備していることを認め、学位審査委員合議の上、合格と判断した。</p>				