
*
*
高知大学学位授与記録
*
*

本学は、次の者に博士（医学）の学位を授与したので、学位規則（昭和28年文部省令第9号）第8条の規定に基づき、その論文の内容の要旨及び論文審査の結果の要旨を公表する。

目 次

学位記番号	氏 名	学 位 論 文 の 題 目	ページ
乙総医博第54号	小河 真帆	Evaluation of perioperative intestinal motility using a newly developed real-time monitoring system during surgery (腸音モニタリングシステムを用いた周術期の腸蠕動運動の評価)	1
乙総医博第55号	原 真理子	Transcriptome analysis reveals two distinct endotypes and putative immune pathways in tonsils from children with periodic fever, aphthous stomatitis, pharyngitis, and cervical adenitis syndrome (扁桃のトランスクリプトーム解析によるPFAPA症候群のエンドタイプと分子経路の解明)	6
乙総医博第56号	藤田 博子	Maternally inherited peptides as strain-specific chemosignals (母親を通してのみ受け継がれるミトコンドリアペプチドが系統認識の匂い手がかりとして働く)	11
乙総医博第57号	北村 聡子	Impact of repeated yearly vaccination on immune responses to influenza vaccine in an elderly population (高齢者に対するインフルエンザワクチン連年接種の抗体反応への影響)	16

乙総医博第58号	森田 靖代	Juzentaihoto Suppresses Muscle Atrophy and Decreased Motor Function in SAMP8 Mice (十全大補湯は老化促進モデルマウスにおいて筋肉萎縮および運動機能の低下を抑制する)	21
----------	-------	--	----

氏名(本籍)	小河 真帆 (高知県)
学位の種類	博士(医学)
学位記番号	乙総医博第54号
学位授与の要件	学位規則第4条第2項該当
学位授与年月日	令和3年1月19日
学位論文題目	Evaluation of perioperative intestinal motility using a newly developed real-time monitoring system during surgery (腸音モニタリングシステムを用いた周術期の腸蠕動運動の評価)
発表誌名	World Journal of Surgery, 13 October 2020 01 line掲載

審査委員	主査	教授	佐藤 隆幸
	副査	教授	井上 啓史
	副査	教授	内田 一茂

論文の内容の要旨

論文審査の結果の要旨

論文審査の結果の要旨

	氏 名	小河 真帆
審 査 委 員	主 査 氏 名	佐藤 隆幸 
	副 査 氏 名	井上 啓史 
	副 査 氏 名	内田 一茂 

題 目 Evaluation of perioperative intestinal motility using a newly developed real-time monitoring system during surgery
(腸音モニタリングシステムを用いた周術期の腸蠕動運動の評価)

著 者 Maho Ogawa, Tsutomu Namikawa, Toyokazu Oki, Masaya Munekage, Hiromichi Maeda, Hiroyuki Kitagawa, Ken Dabanaka, Takeki Sugimoto, Michiya Kobayashi, Osamu Sakata, Kenichi Matsuda, Kazuhiro Hanazaki

発表誌名、巻(号)、ページ(~), 年 月
World Journal of Surgery,
15 October 2020 On line 掲載

要 旨

全身麻酔下手術後の早期回復プログラム(ERAS)は、エビデンスに基づいたプロトコルで周術期管理を行い、術後の回復を強化促進しようとするものである。このようなERASでは、早期経口摂取の再開、腸管蠕動運動の促進が勧められているが、腸管蠕動運動を非侵襲的・連続的にモニタリングするための手法は確立されていない。そこで、学位申請者は、腹壁に装着したマイクロフォンを通して腸音を取得し、リアルタイムの周波数解析およびスペクトル波形のテンプレートマッチング法により、腸音を計数することができるシステム(未承認医療機器)の臨床応用の可能性を探索した。

臨床研究のデザインは、前向き観察研究で、2019年5月から2020年6月までの期間に高知大学医学部附属病院で全身麻酔下で非消化管手術を受けた52症例(内訳: 乳癌45例、甲状腺腫瘍3例、副甲状腺腫瘍4例、年齢: 25-80歳)を対象とした。腸音モニタリングは、手術室入室から回復室退室までの期間行った。

分時あたりの腸音数について、手術室入室から全身麻酔開始までの麻酔前期、麻酔

から執刀までの術前期、執刀から手術終了までの術中期、手術終了から回復室入室までの術後期、その後の回復期の5つの時期でどのように推移するか解析した。

その結果、消化管に直接的な処置を加えることの無い乳癌等の手術であっても、全身麻酔や手術ストレスによって腸音数が抑制されること、回復期の腸音数と手術時間が負の相関を示すことが定量的に示された。従来、腸管蠕動運動の評価は、聴診器を用いた方法がよく用いられているが、その信頼性は、聴診者自身の経験に左右されることも多く、また定量性に欠ける。定量的な方法としては、腸管内にインピーダンスセンサーや圧力センサーを挿入する方法があるが、侵襲的である。このような点を鑑みると、学位申請者が、本法により、周術期の腸管蠕動運動を客観的に評価できることを見出したことは、今後のERASの確立の一助に繋がる可能性があり、医学的に高く評価されるものである。

よって、審査委員一同は本論文が高知大学博士（医学）に相応しい価値あるものと判断した。

学位論文要旨

氏名	小河 真帆
論文題目	<p>Evaluation of perioperative intestinal motility using a newly developed real-time monitoring system during surgery</p> <p>新たに開発された腸音モニタリングシステムによる周術期における腸運動評価について</p>
<p>(論文要旨)</p> <p>全身麻酔下で手術を受ける患者は外科的ストレスや炎症、薬物など様々な要因で腸運動に負の影響を受けて術後イレウスを引き起こすが、非腹部手術例でさえも起こりうる。昨今術後の早期回復が重要視されている中で、周術期の腸管機能の評価を正確に行うことが ERAS を促進するために重要である。従来行われてきた聴診による短時間の腸音モニタリングでは、腸蠕動運動が低下している全身麻酔下手術後の患者においては腸蠕動運動の正確な評価が困難であった。今回新たに開発した腸音モニタリングシステムを用いて手術中の腸蠕動運動を評価した。</p> <p>対象は2019年5月から2020年6月までの間に腸音モニタリングシステムを用いた手術52症例で、乳癌と甲状腺腫瘍、副甲状腺腫瘍の手術症例を対象とした。手術室入室から退室までの時間を5つの期間に分けて検討した(手術入室から全身麻酔開始までの麻酔前、麻酔開始から執刀までの手術前、執刀から手術終了までの手術中、手術終了から回復室へ移動するまでの手術後、回復室を退室するまでの回復室の期間)。</p> <p>年齢中央値は57.5歳で、男女比は1:51で乳癌手術が45例と最も多かった。分時あたりの腸音数(cpm)の中央値は麻酔前1.4cpm、手術前1.1cpm、手術中0.07cpm、手術後0.1cpm、回復室1.3cpmで、麻酔前と比較して手術中、手術後で有意に腸音数が低下し(0.07cpm versus(vs) 1.4cpm, P=0.002; 0.1cpm vs 1.4cpm, P=0.025)、</p> <p>また手術中と比較して回復室で腸音数の有意な増加が見られた(1.3cpm vs 0.1cpm, P=0.012)。</p>	

麻酔前の腸音数中央値 1.4cpm をカットオフとして 2 群に分けて検討すると、1.4 以上群の手術前腸音数中央値は 1.78cpm で 1.4 未満群の中央値 0.40cpm と比較して有意に高値を示した ($P=0.006$)。

同様に手術中の腸音数を中央値 0.07 でカットオフとして検討すると、麻酔前、手術前、手術後において腸音数 0.07 以上群でそれぞれ有意に高値を示した (0.48cpm vs 2.83cpm, $P=0.007$; 0.40cpm vs 1.81cpm, $P=0.008$; 0.07cpm vs 0.42cpm, $P=0.006$)。

腸音数と手術時間の関係を検討したところ、手術中腸音数と手術後腸音数では手術時間と有意な相関関係は認めなかった ($r=-0.106$, $P=0.916$; $r=-0.166$, $P=0.240$)。

回復室での腸音数と手術時間には有意差は認められなかったものの手術時間が長いほど腸音数は減少する傾向にあった ($r=-0.358$, $P=0.111$)。

今回の評価検討により、麻酔中および手術中の腸音数は麻酔前に比べて低下し術後回復を認めた。また手術時間と回復室での術後腸音数は負の相関を認める傾向にあったと言える。

ERASの概念では早期経口摂取の再開、腸管蠕動運動促進薬投与が勧められており、外科的侵襲による腸蠕動の変化を腸音数で数値化し、早期栄養再開のタイミングを決定できれば、術後早期回復、術後合併症の軽減、入院期間の短縮およびコスト削減にも貢献できるものと思われる。また今回本システム運用に伴う有害事象は特に認められず非侵襲的な安全なモニタリングシステムであると言える。

今後、本システムの研究を発展させ、病態変化や手術合併症の発生予兆の検出技術を確立して緻密な周術期管理による侵襲からの早期回復、術後成績の向上を目指したい。

氏名(本籍)	原 真理子 (新潟県)
学位の種類	博士(医学)
学位記番号	乙総医博第55号
学位授与の要件	学位規則第4条第2項該当
学位授与年月日	令和3年2月12日
学位論文題目	Transcriptome analysis reveals two distinct endotypes and putative immune pathways in tonsils from children with periodic fever, aphthous stomatitis, pharyngitis, and cervical adenitis syndrome (扁桃のトランスクリプトーム解析によるPFAPA症候群のエンドタイプと分子経路の解明)
発表誌名	Allergy、 2020 Jun 27. doi: 10.1111/all.14477. 2020年6月27日

審査委員	主査	教授	宇高	恵子
	副査	教授	兵頭	政光
	副査	教授	大畑	雅典

論文の内容の要旨

論文審査の結果の要旨

論文審査の結果の要旨

		氏 名	原 真理子
審 査 委 員	主 査 氏 名	宇高 恵子	
	副 査 氏 名	兵頭 政光	
	副 査 氏 名	大畑 雅典	

題 目

Transcriptome analysis reveals two distinct endotypes and putative immune pathways in tonsils from children with periodic fever, aphthous stomatitis, pharyngitis, and cervical adenitis syndrome
 (扁桃のトランスクリプトーム解析による PFAPA 症候群のエンドタイプと分子経路の解明)

著 者

Mariko Hara, Noriko Morimoto, Noriomi Suzuki, Nana Tsuchihashi, Manabu Komori, Keisuke Yoshihama, Kae Fujii, Sota Yamaguchi, Mayumi Tsunoda, Shuta Tomisato, Nozomi Takahashi, Koichiro Oyake, Yuzuru Okuba, Mikiya Fujieda, Kenji Matsumoto

発表誌名、巻(号)、ページ(~)、年 月
 Allergy, 2020 Jun 27. doi: 10.1111/all.14477.
 2020年6月27日

要 旨

原真理子先生の学位審査は令和3年1月14日16時より、1時間あまり行いました。まず、公開にて研究内容の発表をしていただきました。

アフタ性口内炎、咽頭炎およびリンパ節炎を伴う周期熱症候群(PFAPA)はその50%に家族歴がある、幼児期に発症する疾患であるが、原因は明らかになっていない。抗生物質に抵抗性で、治療には副腎皮質ステロイドとヒスタミン H2 受容体の拮抗薬であるシメチジンが使われ、成長に伴い自然寛解もみられる。重症例では扁桃摘出術により7,8割の患者に寛解がみられる。そこで、病因の解明や治療へのヒントを得るため、申請者らは患児15名分の摘出扁桃を用いて、自然免疫系の52の遺伝子について発現解析(primary component analysis: PCA)を行った。

その結果、2つの特徴的な endotype 1, 2 が観察され、患者はほぼ半数ずつ、それらの

どちらかに属する遺伝子発現の偏りを示すことが明らかになった。Endotype 1 は TLR2, 4, 8 を主とする細胞内小胞 (endosome や phagosome) に寄生する病原体の認識に関わる遺伝子群、endotype 2 は NLRP5, 8, 9, 10, 13 等の細胞質寄生型の病原体の認識にかかわる遺伝子群が高発現していた。Endotype 1 の異物認識分子の発現量は、扁桃組織の単球/マクロファージの活性化に伴い発現が高まる MCP-1 や MIF の発現量と相関があった。これら遺伝子の発現を高める上流の因子としては、TLRs の活性化や interferon- γ 産生、1, 25-dihydroxyvitamin D の低下などが示唆された。Endotype 2 の異物認識分子の発現量は、特定の細胞種の活性化との関連はみられなかったが、将来、症例数を増やした、より詳しい解析ができれば、明らかになるかもしれない。Endotype 1, 2 のいずれも、COX1, 2 および prostaglandin-E2 関連遺伝子の発現とは関連しなかった。ただし、今回の扁桃組織はいずれも発熱エピソードから少なくとも 3 週間経った寛解期の試料であり、周期熱のエピソードのタイミングで調べれば、もっとはっきりした情報が得られたかもしれない。

PFAPA は、これまで phenotype の解析を含め研究が進んでいないことから、今回の発現解析は、病態および治療法の開発に重要なヒントを与える情報となった。近年、口腔、咽頭に常在する *Streptococcus pyogenes* のような典型的な細胞外寄生型の細菌であっても、一部に貪食細胞に細胞内寄生をして抗生物質に曝されることなく生き延び、病原性を発揮する菌株が存在することが示されている。今後、具体的に方向性を定めた研究が可能になり、本研究が果たす役割は大きい。

公開審査の後、審査員からは、解析前にこれらふたつの endotype の存在を予期させるような phenotype や疾患の経過の違い等はあったか、この疾患になぜ、シメチジンが使われるのか、また扁桃以外に腸管等にも炎症がみられるか、GWAS 解析は考えなかったのか、等の質問があった。申請者はこれらの質問に根拠をあげて議論することができた。また、実際に疾患の診療に関わった経験から今回の研究に取り組んだ動機付けや興味が明らかであった。これらを鑑みて、審査員一同、申請者の研究成果は高知大学博士 (医学) の称号を与えるのに十分な研究内容であると判断した。

学位論文要旨

	氏名	原 真理子
論文題目	Transcriptome analysis reveals two distinct endotypes and putative immune pathways in tonsils from children with periodic fever, aphthous stomatitis, pharyngitis, and cervical adenitis syndrome (扁桃のトランスクリプトーム解析によるPFAPA症候群のエンドタイプと分子経路の解明)	
<p>(論文要旨)</p> <p>1. 背景</p> <p>Periodic fever, aphthous stomatitis, pharyngitis and cervical adenitis syndrome (PFAPA症候群)は周期性発熱疾患(周期性発熱)のひとつであり、小児の周期性熱の中では最も罹患率が高い。発熱周期や発熱期間、発症年齢、随伴症状、治療への反応性などは患者によって異なり、患者ごとに同様の症状を反復することから、PFAPA症候群には複数の臨床病型(phenotype)が存在することが想定されている。</p> <p>本疾患は、発熱時に血中proinflammatory cytokineが増加することから、抗原非特異的な自然免疫の活性化による炎症反応が重要と推測されている。一方、抗菌薬治療が無効であり、副腎皮質ステロイドが顕著な解熱効果を示すことから、本疾患では自然免疫系の活性化がtriggerとなっており、獲得免疫系を活性化していると考えられているが、その詳細は不明である。また、治療法で最も有効であるのは扁桃摘出術であり、発熱時に多くの症例が扁桃炎を随伴することから、扁桃組織における炎症が本疾患の本態と考えられているが、本疾患の扁桃組織の自然免疫系に関する検討はあまり行われていない。</p> <p>2. 目的</p> <p>PFAPA症候群の扁桃組織における自然免疫関連遺伝子を網羅的に測定することにより、病態形成に関与する自然免疫系の分子経路と、その上流因子を明らかにすることを目的とする。</p> <p>3. 方法</p> <p>PFAPA症候群患児から摘出した扁桃組織よりRNAを抽出し、52個の自然免疫関連遺伝子の発現についてmicroarrayを用いて網羅的に測定した。また、cluster解析によりendotypeを同定し、さらに、endotype間の細胞組成の違い、活性化される分子経路や上流因子などの背景因子についてpathway解析を行った。また、endotypeとphenotypeとの関連についても解析した。</p> <p>4. 結果・考察</p> <p>小児PFAPA症候群15例を対象とし、自然免疫関連遺伝子の発現パターンをcluster解析した結果、患者群は2つのendotype (Endotype1、Endotype2)に分かれることが明らかとなった。</p>		

Endotype1では、6個のTLRs (TLR2, 4, 6, 8, 9, 10) と3個のinflammatory関連遺伝子 (NLRP2, 3, NLRC4) を含む11遺伝子の発現増加を認めた。両群の扁桃構成細胞組成を比較しところ、Endotype1では、単球/マクロファージの細胞マーカーであるCD14やCD68の発現がEndotype2よりも有意に増加していた。CD14、CD68の発現はTLR2, 4, 8、NLRC4の発現と正の相関を認め、さらには、単球/マクロファージの遊走因子であるMCP-1、MIFの発現とも相関が認められた。以上から、Endotype1では、扁桃組織内に単球/マクロファージが遊走し、TLRsやinflammatoryを介する自然免疫応答が惹起され炎症が誘導された可能性が示唆された。また、上流因子解析から、TLRs活性化やIFN- γ 産生、1,25-(OH) $_2$ ビタミンD減少がEndotype1に特異的な遺伝子群の発現増加に関与する可能性が示唆された。一方、Endotype2では、TLR3と5個のinflammatory 関連遺伝子 (NLRP5, 8, 9, 10, 13) を含む7遺伝子の発現増加を認めた。Endotype2では、増加している細胞成分や、細胞マーカー遺伝子との発現の相関は認められなかった。以上から、Endotype2では、細胞構成の変化以外の因子が自然免疫関連遺伝子群の発現に影響していることが示唆された。

最後に、endotypeと各種臨床症状との相関を検討した。多変量解析の結果、発熱期間、最高体温、腹痛と頭痛の随伴の有無、随伴症状の数が、Endotype2で有意に多いことが示された。

以上より、PFAPA症候群の扁桃組織では自然免疫応答に関して2つのendotypeが存在し、TLRs活性化、IFN- γ 産生、1,25-(OH) $_2$ ビタミンD減少などの自然免疫系と獲得免疫系の相互作用が、病態形成に寄与する可能性が示唆された。さらにこのendotypeはphenotypeとも関連していることが明らかとなった。

氏名(本籍)	藤田 博子 (京都府)
学位の種類	博士(医学)
学位記番号	乙総医博第56号
学位授与の要件	学位規則第4条第2項該当
学位授与年月日	令和3年3月4日
学位論文題目	Maternally inherited peptides as strain-specific chemosignals (母親を通してのみ受け継がれるミトコンドリアペプチドが系統認識の匂い手がかりとして働く)
発表誌名	Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. 117 (48) 30738~30743 2020年12月1日

審査委員	主査	教授	宇高	恵子
	副査	教授	前田	長正
	副査	教授	奥谷	文乃

論文の内容の要旨

論文審査の結果の要旨

論文審査の結果の要旨

	氏 名	
	藤田 博子	
審 査 委 員	主 査 氏 名 宇高 恵子	
	副 査 氏 名 前田 長正	
	副 査 氏 名 奥谷 文乃	

題 目 Maternally inherited peptides as strain-specific chemosignals
 (母親を通してのみ受け継がれるミトコンドリアペプチドが
 系統認識の匂い手がかりとして働く)

著 者 Hideto Kaba*, Hiroko Fujita*, Takeshi Agatsuma, Hiroaki Matsunami.
 *contributed equally to this work

発表誌名、巻(号)、ページ(~), 年 月
 Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America.
 117 (48) 30738~30743 2020年12月1日

要 旨 藤田博子さんの学位審査は2/3/2021(水)に、約1時間にわたり行いました。
 まず、公開で研究内容の発表をしました。

【背景・目的】

マウスでは妊娠後1,2日間に同種異系統の雄に由来する化学物質を鋤鼻器で検知すると、妊娠が破綻し、自然流産が起こる(ブルース効果)。その結果、出産育児期間を経ることなく雑種の子孫が生まれ、種の中に遺伝的多様性を保つしくみのひとつとして注目されている。鋤鼻器から脳の視床下部および下垂体を介した妊娠阻止機構の解明が進む一方、鋤鼻器で検知される化学物質とそのレセプターも異なるタイプのものが見つかってきている。今回、Duke大学の松波らと共同で、尿中に分泌され鋤鼻器の神経細胞に認識される、交尾する雄の母親の系統から伝わる妊娠阻止因子を明らかにした。

【方法と結果】

1. ブルース効果を引き起こすペプチドの同定

H-2が異なる、あるいは、同一のマウスの系統間で尿によるブルース効果を調べたところ、H-2が共通であるBALB/cとNZBの系統間でも、androgen非依存性に尿中に分泌され、ブルース効果を引き起こす新規ペプチドの存在が示唆された。ミトコンドリアゲノムに遺伝子多型が報告されているNADH脱水素酵素は、3系統のマウス間でアミノ酸置換がみられることから、候補としてN末端から9アミノ酸長のペプチド2種(ND1, ND2)を合成し、妊娠マウスの口鼻溝に垂らして観察した。すると、妊娠阻止が起こった。興味深

いことに、これまでに鋤鼻器で認識されることが報告されたミトコンドリア由来のペプチドは、N末端に formyl 化を受けた fMet から始まるペプチドであるのに対し、formyl 化を受けないペプチドが認識されることがわかった。また、ND1, ND2 はミトコンドリアゲノムにコードされるため、交尾する雄の母系統から継承される遺伝様式を示した。

2. ペプチドに対する記憶とブルース効果発現の関連性

BALB/c の雌マウスに妊娠阻止反応を起こす NZB 由来の ND1-6A ペプチドを NZB の雄と交尾させた後、持続的に暴露したところ、その雌マウスには ND1-6A に対する記憶ができ、次回の妊娠ではもはや妊娠阻止が起こらなかった。したがって、妊娠阻止反応には、交尾時に記憶されるなじみの雄由来のペプチドに対する記憶の生成が関与することがわかった。

【考察】

同種異系統間で起こる妊娠阻止反応に関わる鋤鼻器に発現するレセプターとして、7回膜貫通型の G タンパク共役型レセプターファミリー V2R が見つかっており、リガンドとして、MHC class I 結合性ペプチド、および 7kD のポリペプチドフェロモン ESP1 が見ついている。鋤鼻器にはその他に、細菌やミトコンドリア由来の fMet ペプチドを認識する FPR ファミリーも発現され、感染動物に対する行動への影響が示唆されている。今回見つかったミトコンドリア由来のペプチドは、N-formyl 化が起こっていないものが妊娠阻止活性を有するため、関与するレセプターの同定や生理学的意義は今後の研究にゆだねられるが、同種異個体を識別し、種内に遺伝的多型性を保つのに役立つ化学識別機構として意義深い研究結果である。

審査員からは、ブルース効果がげっ歯類に限られる現象であるのか、また、妊娠阻止は受精卵着床の前と後のどちらで起こるのか、妊娠が阻止される機序はどの程度解明されているのか、質問があった。また、ペプチドを 9 アミノ酸長に限定した理由や尿中に十分な濃度のペプチドが分泌されうるしくみについて質問があった。それらに対し、申請者は適切に説明をし、議論することができた。

学位論文要旨

論文題目	<p style="text-align: center;">氏名</p> <p style="text-align: center;">藤田 博子</p> <p style="text-align: center;">Maternally inherited peptides as strain-specific chemosignals</p> <p style="text-align: center;">(母親を通してのみ受け継がれるミトコンドリアペプチドが系統認識の匂い手がかりとして働く)</p>
<p>【背景・目的】</p> <p>哺乳動物の社会行動（母子間の絆、配偶者認識、近親交配の回避など）には個体識別が必須である。多くの哺乳動物は、同種の他個体が発する揮発性分子や不揮発性ペプチドなどの「匂い（化学感覚シグナル）」を嗅上皮や鋤鼻器で検知して個体を認識するが、その匂いの本態は依然不明のままである。我々は、遺伝子多型に由来した体臭の違いが鋤鼻系で嗅ぎ分けられることから、個体識別に機能し得る新規の匂い分子としてミトコンドリアゲノムにコードされ、遺伝的多型を示す呼吸鎖酵素由来ペプチドに着目した。NADH脱水素酵素 1および2の各N末端から9つのアミノ酸残基からなるND1ペプチドとND2ペプチドは各々の第6番目および第7番目のアミノ酸残基が系統間で一塩基多型を示す（Aの場合、ND1-6A、ND2-7Aと略称）。我々は、これらのペプチドが体外に分泌され、個体識別の手がかりとなる匂い分子として機能するとの作業仮説を設定し、鋤鼻系の働きで惹起される系統特異的流産現象（ブルース効果）を用いて検証した。</p> <p>【方法】</p> <p><u>妊娠阻害実験</u>：BALB/c、NZBおよびCBA系統のマウスを昼夜逆転明暗サイクルで単独飼育した。性経験のない発情期の雌を特定の系統雄と同居させ自然交配させた後、再び隔離した。交尾の翌日より48時間、交配雄もしくは別系統の馴染みのない雄と同居させた。尿または合成ペプチドを添加した尿への曝露は実験者がこれらを口鼻溝に垂らして行われた。交尾7日後、雌の子宮への胚の着床の有無を調べて妊娠成立か流産かの判定を行った。</p> <p><u>ミトコンドリアDNA配列シーケンス</u>：上述3系統の肝臓よりゲノムDNAを抽出後、BALB/cJのnd1およびnd2のミトコンドリアDNA配列をもとにPCRで増幅して得たDNA断片をABI PRISM 3100-Avant DNA sequencerにて解析した。</p> <p>【結果・考察】</p> <p>雌マウスを雄と交尾させ（交尾時の曝露）、24時間後に再び交配雄に曝露させても（テスト曝露）流産は起こらないが、交配雄とは別系統の馴染みのない雄に曝露させると流産が起こる。テスト曝露で交配雄が流産を起こさないのは、交尾を引き金として雌が交配雄の系統を認識記憶することで交配雄の流産誘起シグナルを中枢（副嗅球）で抑制することによる。別系統の雄由来のシグナルはこの交配雄系統の認識記憶した神経経路をバイパスして流産誘起シグナルを視床下部へ送るために流産を起こす。</p> <p>(1) ND1・ND2ペプチドのアミノ酸配列が異なるBALB/cとNZB間でブルース効果が惹起される</p> <p>主要組織適合遺伝子複合体（MHC）ハプロタイプ抗原について、H-2ハプロタイプが異なる交配雄と曝露雄の間でブルース効果が惹起されることが判明している。そこでH-2ハプロタイプが共通で、ND1およびND2ペプチドのアミノ酸配列が異なる系統間でブルース効果の有無を検討した。BALB/c雌をBALB/c雄と交尾させ、翌日からNZB雄に曝露させたところ、ブルース効果が惹起された。この効果はNZB雄の尿でも、さらにはアンドロゲンの影響を受けないNZB雌の尿でも再現された。これによりND1ペプチドとND2ペプチドがブルース効果を引き起こす匂い分子となり得ることが示唆された。</p>	

(2) 脱ホルミル化されたND1・ND2ペプチドへの曝露によりブルース効果が惹起される

BALB/c雌マウスをBALB/c雄と交尾させ、翌日からペプチドへの曝露を行った。ND1およびND2ペプチドはN末端のメチオニンがホルミル化されているが、さらに脱ホルミル化される代謝経路も存在する。6種類のホルミルペプチドはどれもブルース効果を起こさなかったが、脱ホルミル化されたペプチドのうち非自己のペプチドは程度を異にしてブルース効果を惹起した。特にND1-6AとND2-7Tによって有意に高い流産率が得られ、ND1-6Aの効果には濃度依存性が確認された。また、ND1-6Aの効果は、すでにブルース効果を誘起することが示されているH-2^bハプロタイプのMHCペプチドリガンドと同程度の強さであった。ND1-6Aのスクランブルペプチドは無効であった。本結果は、(1)のブルース効果の本態を担う匂い分子が脱ホルミル化されたND1ペプチドとND2ペプチドであることを強く示唆するとともに、単一アミノ酸残基の違いが鋤鼻系で明確に識別されることを示した。

(3) 雌マウスは交配雄のミトコンドリアペプチドの記憶を形成する

ミトコンドリアペプチドが尿などを介して体外に自然に分泌されていると、BALB/c雌はNZB雄との交尾時に体外のNZBのペプチドを嗅いで記憶し、そのペプチドを馴染みのものと認識することでNZBのペプチド(ND1-6A)に反応しなくなるはずである。BALB/c雌マウスをNZB雄と交尾させ、翌日からペプチドへの曝露を行ったところ、ND1-6Aはもはや流産を惹起しなくなった。この結果は、BALB/c雌がNZB雄との交尾時にNZBから分泌されたND1-6Aを嗅いで記憶し、そのペプチドを馴染みなものと認識することで流産を回避したことを示唆している。

(4) ブルース効果は母性遺伝する

母性遺伝を示すミトコンドリアゲノム由来ペプチドでブルース効果が起きるのであれば、ブルース効果も母性遺伝的に観察されることが期待される。そこで、BALB/cとNZBの正逆交雑により雑種第一代(F1)を得、その雄の流産誘起作用を検討したところ、BALB/c雄と交尾したBALB/c雌はテスト曝露のF1雄の母親がNZBの時に高い流産率を示した。この効果はF1の雄の尿でも再現された。すなわち、この結果はブルース効果が母性遺伝し、その有効成分が尿に含まれていることを示している。

本研究により、アンドロゲン非依存性かつミトコンドリアゲノム由来、すなわち母親を通してのみ受け継がれ、脱ホルミル化されたND1ペプチドとND2ペプチドが体外に分泌され個体認識の手がかりとなる匂い分子として機能していることが明らかとなった。ブルース効果を惹起する匂い分子としてアンドロゲン依存性で涙中に分泌されるペプチド性フェロモンESP1と尿中にも分泌されるMHCペプチドに加えてさらにアンドロゲン非依存性で母性遺伝性ミトコンドリアペプチドを組み合わせることにより、より厳密な個体識別が可能になり、生存戦略に有利に働くと考えられる。

氏名(本籍)	北村 聡子 (大阪府)
学位の種類	博士(医学)
学位記番号	乙総医博第57号
学位授与の要件	学位規則第4条第2項該当
学位授与年月日	令和3年3月20日
学位論文題目	Impact of repeated yearly vaccination on immune responses to influenza vaccine in an elderly population (高齢者に対するインフルエンザワクチン連年接種の抗体反応への影響)
発表誌名	American Journal of Infection Control (in press) https://doi.org/10.1016/j.ajic.2020.05.011 2020年 5月

審査委員	主査	教授	藤枝 幹也
	副査	教授	大畑 雅典
	副査	教授	高田 淳

論文の内容の要旨

論文審査の結果の要旨

論文審査の結果の要旨

	氏 名	北村 聡子
審 査 委 員	主 査 氏 名	藤 枝 幹 也 
	副 査 氏 名	大 畑 雅 典 
	副 査 氏 名	高 田 淳 印

題 目 Impact of repeated yearly vaccination on immune responses to influenza vaccine in an elderly population
(高齢者に対するインフルエンザワクチン連年接種の抗体反応への影響)

著 者 Satoko Kitamura MD , Masahide Matsushita MD , Naoki Komatsu MD , Yusuke Yagi PharmD , Seisho Takeuchi MD, Hiromi Seo MD

発表誌名、巻 (号)、ページ

American Journal of Infection Control 48(12):1422-1425, 2020

<https://doi.org/10.1016/j.ajic.2020.05.011> 2020年 5月

要 旨

【背景・目的】

インフルエンザの感染予防にはワクチン接種が有用である。過去のワクチン接種歴が現在のワクチン効果に及ぼす影響については意見が分かれ、過去のワクチン接種歴が、同一ワクチン接種による効果に対して、悪影響を及ぼすという報告がある一方、影響がないという報告もある。インフルエンザワクチンについては、1シーズンのワクチン接種では十分に疾患予防ができないことは周知であるが、同ワクチンの連年接種による抗体価上昇効果など、十分な検討がなされていない。本研究では、同ワクチンの連年接種による抗体価の変化を毎年接種前後で調査し、ワクチン連年接種の効果について検討した。

【方法】

2005-2006年シーズンから2009-2010年シーズンで、対象は、61歳以上の高齢者の111名に対して、調査に同意した参加者に、WHOが推奨したインフルエンザA/H1N1、A/H3N2、およびBの3つのウイルス株をインフルエンザワクチン0.5mlを接種し、接種時と接種4週間後に、3つのウイルスに対する抗体価(HI法)を測定した。同時に、5年連続でインフルエンザワクチンを接種し、ワクチン連年接種による抗体価の変化を調査した。解析

には、抗体価に加えて、感染予防に必要とされる40倍以上の抗体価を獲得した対象者の割合(sero-protection rate (PR)および接種後に抗体価が4倍以上上昇した対象者の割合(sero-conversion rate (CR)も検討した。

【結果・考察】

1. A/H1N1株の2007-2008シーズンは、接種前は7.05倍の抗体価が、接種時には43.7倍に上昇していた。その他の株も同様で、接種前後で抗体価は有意に上昇していた。抗体上昇効果は毎年観察された。
2. 接種後に上昇した抗体価は次年度の接種前には、元のレベルまで下降することが観察され、すべての株で同様なことが認められた。このことは、ワクチン接種が毎年必要なことを示している。
3. 接種後のPRは、A/H1N1の2006-2007シーズンと2009-2010シーズンがそれぞれ、46.8%、45.9%であり、連年接種によるワクチン効果の減弱は認められなかった。
4. ワクチン株とCRの関係を比較すると、A型はワクチン株を変更したシーズンのCRが有意に変化する傾向があり、B型に関しては、CRに大きな変化は認められなかった。全体として、ワクチン株の変更とCRの変化は75%のタイミングで一致していた。このことは、ワクチン株の変更がワクチン効果に影響を与える因子の一つであることを示している。

【結論】

本研究は、実際のインフルエンザ患者数を検討していない点、高齢者のみである点、人口密集地でない地方である点など限界はあるものの、5年連続してインフルエンザワクチン抗体価の推移を検討した研究は、高齢者では貴重であることなど、非常に価値のある研究である。

インフルエンザ流行株の変化に関係なく、同ワクチン接種は、抗体価の推移から毎年必要であること、さらに、連年接種による抗体価上昇効果減弱がないことも証明できた。

以上のように、本論文は、インフルエンザワクチン効果について、5年連続の検討により証明した論文であり、医学的に高い価値を有するものである。

よって、審査委員一同は本論文が高知大学博士(医学)に相応しい価値あるものと判断した。

学位論文要旨

	氏名	北村 聡子
論文題目	Impact of repeated yearly vaccination on immune responses to influenza vaccine in an elderly population (高齢者に対するインフルエンザワクチン連年接種の抗体反応への影響)	
(論文要旨)		
<p>【背景・目的】 インフルエンザの感染予防にはワクチン接種が有用である。近年、過去のワクチン接種歴が、現在のワクチン効果に影響を及ぼす事が示されている。過去のワクチン接種歴は、現在のワクチン効果に悪影響を及ぼすという報告がある一方、影響を及ぼさないという報告もある。さらに、1 シーズンだけのワクチン接種では効果が不十分で、過去のワクチン接種も必要であるという報告もあり、インフルエンザワクチン連年接種の影響についてはまだ解明されていない点が多い。本研究では、インフルエンザワクチン接種前後の抗体価の変化を調査し、ワクチン連年接種の影響を検討する。</p> <p>【方法】 61 歳以上の高齢者 111 人に対し、5 年連続でインフルエンザワクチンを接種し、ワクチン連年接種に伴う抗体価の変化を調査した。調査に同意した参加者に、WHO が推奨したインフルエンザ A/H1N1、A/H3N2、および B の 3 つのウイルス株を含むインフルエンザワクチン 0.5ml を 1 回皮下接種し、接種時と接種後 4 週間に、3 つのインフルエンザウイルスに対する抗体価を測定した。解析には、抗体価に加えて、感染予防に必要とされる 40 以上の抗体価を獲得した人の割合を示す sero-protection rate (PR)、およびワクチン接種により抗体価が 4 倍以上に上昇した人の割合を示す sero-conversion rate (CR) の 2 つの変数も用いた。</p> <p>【結果】 接種前後の抗体価を比較すると、A/H1N1 の 2007-2008 シーズンの接種前の 7.05 が接種後には 43.7 に上昇していた。その他の株についても同様の結果で、毎年全ての株において接種後は接種前より有意に上昇していた。以上の事から、ワクチン接種の効果は毎年あると考えられた。 接種前の抗体価を年ごとに比較すると、A/H3N2 の 2005-2006 年シーズンの接種後の 117 が、2006-2007 年シーズンの接種前には 15.6 に低下しており、これは 2005-2006 年シーズン接種前の 16.2 と同等であった。その他の株についても同様の結果で、接種後に上昇した抗体価は、次年度の接種前には元のレベルまで下がっていた。A/H3N2 の 2005-2006 シーズンの接種前抗体価は 16.2 で、2009-2010 シーズンの接種前抗体価の 16.4 とはほぼ同じであった。他の株でも同様の結果で、毎年接種前には抗体価が前年の接種前のレベルまで下がっており、ワクチン接種は毎年必要であると考えられた。</p>		

接種後の抗体価を年ごとに比較すると、B では 2006-2007 年シーズンは 13.8 で、2009-2010 シーズンは 22.5 と低下傾向はなかった。また、接種後の PR を年ごとに比較しても、A/H1N1 では 2006-2007 年シーズンは 46.8 で、2009-2010 シーズンは 45.9 と低下傾向はなかった。これらの結果から、連年接種によるワクチン効果の減弱はないと考えられた。

ワクチン株と接種後 CR の関係を検討すると、ワクチン株が変更された後の接種後 CR が高くなる傾向があり、ワクチン株の変化と CR の変化は、75% のタイミングで一致していた。一方、B における接種後 CR を比較すると、2005-2006 シーズンは 29.7 で、2009-2010 シーズンの 24.3 と大きな差は認められなかった。この結果から、連年接種よりワクチン株の変更の方が、ワクチン効果により大きく影響すると考えられた。

【考察】

本研究は我々の知る限り、インフルエンザワクチンに対する抗体反応を 5 年連続で調査した初めてのものである。本研究の限界としては、実際のインフルエンザ感染者数を比較していない事、高齢者のみを対象とした事、および人口が密集していない田舎を対象とした事などがある。

本研究によって、ワクチン株が変化しなくても毎年ワクチン接種が必要な事が明らかになった。また、連年接種によってワクチン効果が減弱しない事も証明した。

氏名(本籍)	森田 靖代 (高知県)
学位の種類	博士(医学)
学位記番号	乙総医博第58号
学位授与の要件	学位規則第4条第2項該当
学位授与年月日	令和3年3月20日
学位論文題目	Juzentaihoto Suppresses Muscle Atrophy and Decreased Motor Function in SAMP8 Mice (十全大補湯は老化促進モデルマウスにおいて筋肉萎縮および運動機能の低下を抑制する)
発表誌名	Biological and Pharmaceutical Bulletin, Vol. 44 No. 1 (掲載予定) 2021年1月1日発行予定

審査委員	主査	教授	池内	昌彦
	副査	教授	北岡	裕章
	副査	教授	前田	長正

論文の内容の要旨

論文審査の結果の要旨

論文審査の結果の要旨

	氏名	森田 靖代
審査委員	主査氏名	池内 昌彦 
	副査氏名	北岡 裕章 
	副査氏名	前田 長正 

題目 Juzentaihoto Suppresses Muscle Atrophy and Decreased Motor Function in SAMP8 Mice
(十全大補湯は老化促進モデルマウスにおいて筋肉萎縮および運動機能の低下を抑制する)

著者 Yasuyo Morita, Tomoaki Ishida, Shumpei Morisawa, Kohei Jobu, Yanglan Ou, Hiroko Fujita, Kazuhiro Hanazaki, and Mitsuhiko Miyamura

発表誌名、巻(号)、ページ(~), 年 月
Biological and Pharmaceutical Bulletin, Vol. 44 No. 1
2021年1月1日発行予定

要 旨

【背景・目的】

サルコペニアは加齢による筋肉量の低下、筋力の低下を症状とする疾患であり、患者の運動機能を低下させ、生活の質を著しく低下させる。薬物療法は確立されておらず、治療方法は運動療法、食事療法しか存在しない。申請者の教室では、サルコペニアに対する天然資源由来物質の有用性に関する研究を行ってきた。これまでに、糖尿病性マウスの筋萎縮に対して、虚弱、疲労、倦怠の状態に対して臨床上使用されている十全大補湯(JTT)が骨格筋萎縮を抑制することを明らかにしている。今回、加齢に伴う筋萎縮に対するJTTの効果を検証するために、老化促進マウス senescence-accelerated mouse (SAM) を用いた研究を行った。SAMは、促進老化・短寿命を特徴とする senescence prone (SAMP) 系統と、正常老化を示す senescence resistant (SAMR) 系統からなり、加齢性疾患に関する研究に用いられる。その中でも申請者は、SAMP8において若齢からの骨格筋量の低下が観察されることに着目し、SAMP8を用いてJTTの加齢性筋萎縮進行抑制効果を評価した。

【方法】

SAMP8 マウス(12 週齢 雄性)を 2 群に分け、普通食または 4%JTT 混合食を 36 週齢になるまで自由摂取させた。対照群として別途、正常老化を示すマウス senescence-resistant inbred strain 1 (SAMR1) に普通食を投与した。投与期間中は 2 週間毎に体重測定、ロータ・ロッドを用いた運動機能試験を行った。36 週齢時に、下行大静脈より全血液を採取し、ELISA 法にて血中の炎症性サイトカイン TNF α 、IL-6、タンパク同化ホルモン IGF-1 濃度を測定した。また、下腿より腓腹筋、長趾伸筋、ヒラメ筋の湿重量を測定した。さらに、腓腹筋については、筋線維の断面積を計測し、定量 PCR 法によりユビキチンリガーゼ Atrogin1、MuRF1 の mRNA 発現量を比較した。

【結果】

SAMP8 に対して JTT を投与することで骨格筋萎縮が緩和され、ロータ・ロッド試験における運動機能の低下が抑制された。正常老化モデルである SAMR1 と比較して、SAMP8 マウスでは、速筋線維が多く含まれる腓腹筋の湿重量、筋線維断面積、長趾伸筋の湿重量が有意に小さかった。これに対して、JTT を投与したマウスでは、これらの筋肉の萎縮が有意に抑制されていた。一方で、主に遅筋線維で構成されるヒラメ筋では、JTT 投与によるヒラメ筋の湿重量の変化は無かった。この結果から、JTT は SAMP8 における速筋優位な筋萎縮を抑制する効果があると考察される。

SAMR1 と比較して JTT を投与した SAMP8 において、腓腹筋における Sirt1 の mRNA 発現量が上昇し、Sirt1 の mRNA 発現量と腓腹筋の筋線維断面積は有意な相関関係を示した ($r = 0.719$, $p < 0.001$)。また、SAMR1 と比較して JTT を投与した SAMP8 において、血清中 IGF-1 発現量は上昇し、血清中 TNF α 、IL-6 の発現量が有意に低下していた。さらに、SAMP8 におけるユビキチンリガーゼ MuRF1、Atrogin1 の発現量は SAMR1 と比較して増加しており、JTT を投与することで発現量が低下した。

【結論】

本研究の結果から、SAMP8 に対して JTT を投与することで IGF-1 発現量上昇及び Sirt1 を介した炎症性サイトカインの発現低下、酸化ストレスの軽減が起こり、ユビキチンリガーゼの発現量が低下し、SAMP8 における速筋優位な骨格筋萎縮が抑制されることが示唆された。SAMP8 における骨格筋萎縮はサルコペニアの症状に酷似しており、JTT は臨床の現場においてサルコペニア症状の進行を抑制させる作用を発揮することが期待される。

以上の発表の後、公開審査で質疑応答を行った。これらの内容をふまえ、審査員一同は本論文が高知大学博士 (医学) に相応しい価値あるものと判断した。

学位論文要旨

	氏名	森田 靖代
論文題目	Juzentaihoto Suppresses Muscle Atrophy and Decreased Motor Function in SAMP8 Mice (十全大補湯は老化促進モデルマウスにおいて筋肉萎縮および運動機能の低下を抑制する)	
<p>(論文要旨)</p> <p>【目的】</p> <p>フレイルは、高齢期に生理的予備能が低下することでストレスに対する脆弱性が亢進し、生活機能障害、要介護状態、死亡などの転帰に陥りやすい状態で、身体的、精神・心理的、社会的問題を含む概念であり、加齢により有病率が高くなる。そのためフレイルの早期の対策、予防が重要となる。フレイルの要素のひとつである身体的フレイルにおいてサルコペニアの関与が考えられている。サルコペニアは加齢による筋肉量の低下、筋力の低下を症状とする疾患であり、患者の運動機能を低下させ、生活の質を著しく低下させる。特に先進国においては高齢化に伴い患者数が増加しており、深刻な社会問題となっている。しかし、薬物療法は確立されておらず、治療方法は運動療法、食事療法しか存在しない。申請者の教室では、高齢化社会で未病の状態を維持することの重要性はフレイルにおいても同様であることから、フレイルのなかでもサルコペニアに対する天然資源由来物質の有用性に関する研究を行ってきた。サルコペニアは、加齢が原因である一次性サルコペニアと、肥満、糖尿病、COPD、悪性腫瘍等の基礎疾患が原因となり発症する二次性サルコペニアに大別される。一次性サルコペニアの発症には加齢に伴う複数の要因が関連しており、その一つとして加齢による炎症性サイトカイン、酸化ストレスの上昇が挙げられる。酸化ストレス、炎症性サイトカインの上昇は、骨格筋において、Atrogin1、muscle RING finger protein-1 (MuRF1)等のユビキチンリガーゼを誘導し、骨格筋線維の萎縮を生じる。また、加齢によりIGF-1等のタンパク同化ホルモンの分泌低下により、骨格筋の筋線維が萎縮する。これらの要因が複合的に働くことにより、骨格筋量が低下すると考えられている。</p> <p>十全大補湯は、临床上、虚弱、疲労、倦怠の状態に対して体力を補うために使用されている漢方処方の一つであり、抗炎症作用や抗がん作用、抗肥満作用、免疫賦活作用を有するとの報告がある。また、我々はこれまでに、糖尿病性マウスの筋萎縮に対して十全大補湯が骨格筋萎縮を抑制することを明らかにしている。糖尿病では体内の炎症、酸化ストレスの亢進、インスリン感受性の低下により骨格筋細胞の成長が阻害され、骨格筋萎縮が亢進する。十全大補湯は Sirt1 発現量を上昇させ、Sirt1 遺伝子が有する炎症性サイトカインの抑制、活性酸素除去、インスリン感受性の改善作用により、糖尿病性マウスの筋萎縮を緩和することにより、加齢による筋萎縮に対しても改善効果を示すことが期待される。</p> <p>老化促進マウス senescence-accelerated mouse (SAM) は、促進老化・短寿命を特徴とする senescence prone (SAMP) 系統と、正常老化を示す senescence resistant (SAMR) 系統からなり、加齢性疾患に関する研究に用いられる。その中でも申請者は、SAMP8 において若齢からの骨格筋量の低下が観察されることに着目した。そこで、本研究では、SAMP8 を用いて十全大補湯エキス(JTT)の加齢性筋萎縮進行抑制効果を評価した。</p> <p>【方法】</p> <p>JTT は(株)ツムラより恵与いただいた賦形剤添加前の医療用十全大補湯エキスを用いた。SAMP8</p>		

マウス(12週齢 雄性)を2群に分け、通常餌(CE-2)又は4%JTT(w/w)混合餌を36週齢になるまで自由摂取させた。対照群として別途、正常老化を示すマウス senescence-resistant inbred strain 1 (SAMR1)に普通食を投与した。投与期間中は2週間毎に体重測定、ロータ・ロッドを用いた運動機能試験を行った。36週齢時に、下行大静脈より全血液を採取し、ELISA法にて血中の炎症性サイトカイン TNF α 、IL-6、タンパク同化ホルモン IGF-1 濃度を測定した。また、下腿より腓腹筋、長趾伸筋、ヒラメ筋の湿重量を測定した。さらに、腓腹筋は10%ホルマリンで固定後、ヘマトキシリン・エオジン染色を行い、筋線維の断面積を計測した。さらに腓腹筋より mRNA を抽出し、定量 PCR 法によりユビキチンリガーゼ Atrogin1、MuRF1 の発現量を比較した。

【結果・考察】

本研究において、SAMP8に対してJTTを投与することで骨格筋萎縮が緩和され、ロータ・ロッド試験における運動機能の低下が抑制されることが分かった。

SAMP8における筋肉萎縮はサルコペニアにおける症状と同様に、速筋優位な骨格筋萎縮が起こることが報告されている。正常老化モデルである SAMR1 と比較して、SAMP8 マウスでは、36週齢の時点において、速筋線維が含まれる筋肉組織である腓腹筋の湿重量、筋線維断面積、長趾伸筋の湿重量が有意に小さかった。これに対して、JTT を投与したマウスでは、これらの筋肉の萎縮が有意に抑制されていた。一方で、主に遅筋線維で構成されるヒラメ筋では、SAMR1と比較してSAMP8では有意に湿重量が小さかったが、JTT 投与によるヒラメ筋の湿重量の変化は無かった。この結果から、JTT は SAMP8 における速筋優位な筋萎縮を抑制する効果があると考察される。

SAMP8では、SAMR1と比較してMuRF1、Atrogin1の発現量が増加しており、MuRF1、Atrogin1の発現量を低下させることで骨格筋萎縮が緩和されることが報告されている。本研究でも、SAMP8におけるMuRF1、Atrogin1の発現量はSAMR1と比較して増加しており、JTTを投与することで発現量が低下した。これにより、JTTはSAMP8における速筋優位な骨格筋萎縮を抑制したと考えられる。サルコペニアでは、炎症性サイトカイン、酸化ストレス、タンパク同化ホルモンなどの様々な要因により、MuRF1とAtrogin1の発現量が増加することが知られている。

これまでの研究により、JTTにはSirt1遺伝子の増加を介して炎症性サイトカインの産生抑制、抗酸化酵素の活性上昇を発揮し、streptozotocin誘発糖尿病マウスにおける骨格筋萎縮を抑制させることを申請者らは報告している。本研究では、SAMR1と比較してJTTを投与したSAMP8において、腓腹筋におけるSirt1のmRNA発現量が上昇し、Sirt1のmRNA発現量と腓腹筋の筋線維断面積は有意に相関関係を示した($r = 0.719, p < 0.001$)。さらに、SAMR1と比較してJTTを投与したSAMP8において、血清中TNF α 、IL-6の発現量が有意に低下していた。この結果から、SAMP8の骨格筋萎縮に対してJTTを投与することで、Sirt1遺伝子の発現量を上昇し、骨格筋における炎症性サイトカインの発現量、酸化ストレスを低下させることで骨格筋萎縮を軽減したと考察される。

また、サルコペニアにおける骨格筋萎縮の原因としてタンパク同化ホルモンの低下が挙げられる。SAMR1と比較してSAMP8ではタンパク同化作用のあるIGF-1の発現量が低下しており、これに対してIGF-1を上昇させることで骨格筋萎縮が抑制されることも報告されている。本研究では、SAMP8にJTTを投与することで血清中IGF-1発現量が上昇した。この結果から、JTTはSirt1だけではなく、IGF-1発現上昇作用によっても骨格筋萎縮を抑制するように働いたと考えられる。さらに、本研究の結果から、天然資源由来物質の加齢性筋萎縮進行抑制効果を評価する上で、SAMP8が加齢性筋萎縮モデルとして有用であることが示唆された。

【結語】

本研究の結果から、SAMP8に対してJTTを投与することでIGF-1発現量上昇及びSirt1を介した炎症性サイトカインの発現低下、酸化ストレスの軽減が起こり、ユビキチンリガーゼの発現量が低下し、SAMP8における速筋優位な骨格筋萎縮が抑制されることが示唆された。SAMP8における骨格筋萎縮はサルコペニアの症状に酷似しており、JTTは臨床の現場においてサルコペニア症状の進行を抑制させる作用を発揮することが期待される。