

氏名 扇谷 桃子

学位の種類 博士（理学）

学位記番号 博 甲 第 10452 号

学位授与年月日 令和 4 年 3 月 25 日

学位授与の要件 学位規則第4条第1項該当

審査学術院 理工情報生命学術院

学位論文題目 Development of Electrically Stimulation System of Skeletal Muscle to Improve Walking Performance in Rat Claudication Model
(歩行機能改善メカニズム解明に向けたラット間欠性跛行モデルにおける骨格筋電気刺激システムの構築)

主査 筑波大学助教 博士（工学） 鶴田 文憲

副査 筑波大学教授 博士（農学） 鈴木 石根

副査 筑波大学准教授 理学博士 坂本 和一

副査 筑波大学准教授 博士（理学） 桑山 秀一

論 文 の 要 旨

本論文では、間欠性跛行の症状を改善させるための治療法確立ならびに標的となる分子の探索同定について論じている。間欠性跛行は、下肢虚血のため歩行時に下肢痛が発生し、歩行の継続が困難となる症状で、下肢閉塞性動脈硬化症の約7割がこの症状を呈する。また間欠性跛行を起因とした歩行機能障害は、活動範囲に制限をもたらし、生活の質低下を招く。さらに近年の高齢化社会に伴い、下肢閉塞性動脈硬化症の患者数が増加していることから、医療費の観点からも解決すべき喫緊の課題といえる。まず著者は、間欠性跛行のモデル動物を作製し、運動療法や電気刺激を施すことで症状が改善することを見出している。次に運動療法と電気刺激で発現変動する遺伝子をスクリーニングし、発現量が現象する遺伝子として、3種の遺伝子を同定している。以上、本論文において著者は、運動療法と電気刺激の組み合わせが間欠性跛行の治療に効果的であると結論づけている。

まず本論文の第1章において、著者は、間欠性跛行患者の病理学的所見を模倣するモデル動物の作製を試みている。実験動物としてラットを用い、(1)腸骨動脈のみ結紮する下肢虚血モデル、(2)腸骨動脈と大腿動脈を同時に結紮する下肢虚血モデル、(3)腸骨動脈を結紮した2週間後に大腿動脈を結紮する下肢虚血モデルの3つのモデル動物を作製している。その結果、時間差を置いて結紮する(3)のモデルが、間欠性跛行患者で見られる持続的な足底血流障害および歩行機能障害を示し、一方で実際の間欠性跛行患者と同様、下肢骨格筋重量には大きな影響を与えなかったことから、(3)が間欠性跛行のモデル動物として適していると結論づけている。

次に著者は、このモデル動物を用いて、運動療法ならびに骨格筋収縮の刺激が歩行機能を改善するか検証している。まず、運動療法が効果的かトレッドミルで検証したところ、足底血流の低下は運動療法によって改善されなかったものの、歩行機能は有意な改善が認められた。臨床の現場においても、運動療法による足底血流の改善は認められないことから、本実験系が間欠性跛行を模倣していると結論づけている。次に、骨格筋収縮そのものが運動療法による歩行機能改善の原因になるか検証するため、埋め込み型電気刺激装置を用いて、直接骨格筋を刺激したところ、部分的ではあるが、歩行機能が改善することを見出した。次に、運動療法と骨格筋刺激により、どのタイプの筋繊維が増加しているか検証し、

著者は運動療法および電気刺激装置による骨格筋刺激で、遅筋と速筋の両方の性質を併せ持つtype IIa線維が増加し、type IIb線維が減少することを見出した。さらに、運動療法と骨格筋収縮で同様の結果が得られたことから、運動療法における骨格筋収縮が、骨格筋および周辺環境に影響を与え、歩行機能改善に寄与していると結論づけている。

第2章において著者は、運動療法と骨格筋収縮に共通して変動する遺伝子をマイクロアレイでスクリーニングしている。その結果、虚血を施したコントロールに対し、運動療法群で419遺伝子、骨格筋刺激群で915遺伝子の発現量が増加し、また虚血群に比較して運動療法群で576遺伝子、骨格筋刺激群で853遺伝子の発現量が減少した。そのうち80遺伝子が運動療法群と骨格筋刺激群で共通して増加し、81遺伝子が共通して減少することを見出した。中でも変動の大きかった遺伝子群を解析し、運動療法と骨格筋刺激で有意に減少する有力な候補遺伝子として、Dpp4、Nov、Ptgesの3種に絞り込むことに成功している。Dpp4はインスリンの分泌を促進するインクレチンを不活性化する酵素で、Dpp4阻害薬は抗糖尿病薬としてすでに市場で利用されており、血糖降下作用だけでなく、アテローム性動脈硬化の抑制や血管障害改善などにも利用されていることから、間欠性跛行においても適した分子標的になると考察している。またNovは筋線維形成を阻害することから、Novの発現抑制が筋線維形成を促進すると考察している。さらにPtges阻害は疼痛緩和治療に有用であり、かつ間欠性跛行における歩行機能低下は虚血による疼痛が主な原因と考えられていることから、Ptgesの発現抑制や阻害による疼痛の制御も新規治療の標的となる可能性があるかと考察している。

以上、本論文において著者は、間欠性跛行のモデル動物作製に成功し、さらに運動療法と電気刺激療法が症状改善に寄与することを明らかにしている。さらに間欠性跛行の症状を改善させる候補因子としてDpp4、Nov、Ptgesに絞り込むことに成功している。これら一連の研究が、間欠性跛行の症状改善ならびに創薬研究に貢献できると結論づけている。

審 査 の 要 旨

本論文において著者は、下肢動脈の閉塞や虚血により生じる間欠性跛行に着目し、間欠性跛行のモデル動物作製を試みた。ラット大腿動脈と腸骨動脈を結紮し、虚血状態を作り出すことで、実際の間欠性跛行患者に近い症状を模倣することに成功した。またこのラットに運動療法や電気刺激を施すことで、歩行機能が改善されることを見出した。さらに、虚血後の運動療法並びに電気刺激で発現変動する遺伝子群をマイクロアレイでスクリーニングし、三つの候補遺伝子を同定した。モデル動物の作製から分子標的へとつながる一連の成果は、これら三つの分子機能に新規の役割を示唆するものであり、医学的にも重要な成果であるといえる。

令和4年1月24日、学位論文審査委員会において、審査委員全員出席のもとに論文の審査及び最終試験を行い、本論文について著者に説明を求め、関連事項について質疑応答を行った。その結果、審査委員全員によって合格と判定された。

よって、著者は博士（理学）の学位を受けるのに十分な資格を有するものとして認める。