氏 名 及川 哲志

学 位 の 種 類 博士 (スポーツ医学)

学位記番号 博甲第 9134 号

学位授与年月 平成 31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 查 研 究 科 人間総合科学研究科

学位論文題目 運動誘発性血管新生におけるマイクロ RNA の役割

副 查 筑波大学教授 博士(体育科学) 前田 清司

副 查 筑波大学教授 医学博士 徳山 薫平

論文の内容の要旨

及川哲志氏の博士学位論文は、持久性運動により誘導される骨格筋の毛細血管新生に、ノンコーディング RNA の1つであるマイクロ RNA が影響するか否かについて、複数の遺伝子改変マウスを用いて検討したものである。その要旨は以下の通りである。

(目的)

持久性運動は、筋線維タイプの遅筋化、ATP 産生を担うミトコンドリアの量・活性の増加(ミトコンドリア新生)、さらに骨格筋内で毛細血管新生を誘導することが知られている。しかしながら、これら持久性運動による骨格筋適応の分子メカニズムは十分に明らかにされていない。持久性運動による骨格筋適応の分子メカニズムを明らかにすることは、肥満や糖尿病といった代謝性疾患や閉塞性動脈硬化症などの治療標的の開発に寄与することが期待される。これまでに持久性運動による骨格筋適応の分子メカニズムについては、転写調節を中心として研究が発展してきた一方で、転写後調節の役割は不明である。マイクロ RNA はタンパク質をコードしない、約22塩基の一本鎖ノンコーディング RNA であり、メッセンジャーRNA(mRNA)の翻訳抑制および分解といった転写後調節を介して遺伝子発現を負に調節する。著者は、持久性運動による骨格筋適応におけるマイクロ RNA の役割を検討することを目的としている。

(方法)

著者は、上記の目的を達成するために2つの研究課題を設定し、それぞれの方法について次のことを行っている。まず、研究課題1では、持久性運動による骨格筋適応におけるマイクロRNAの役割につ

いて概観を得るため、骨格筋で全てのマイクロ RNA が減少する、マイクロ RNA 合成酵素 (Dicer) 欠損マウスを作出している。著者は、このマウスに持久性運動を行わせ、筋線維の遅筋化やミトコンドリア新生、血管新生を観察した。研究課題 2 では、課題 1 で得られたデータをもとに、毛細血管を構成する血管内皮細胞のマイクロ RNA に着目し検討を進めた。血管内皮細胞で全てのマイクロ RNA が減少するマウスの作出を試み、運動誘発性血管新生を観察している。最後に、著者は、血管新生を調節することが報告されているマイクロ RNA としてマイクロ RNA-23 クラスターに着目し、これらのマイクロ RNA を血管内皮細胞で欠損させたマウスを用いて、運動誘発性血管新生を検討している。

(結果)

著者は、それぞれの研究課題について次のような結果を得ている。研究課題1:骨格筋で全てのマイクロRNAを減少させるために作出したマイクロRNA合成酵素欠損マウスでは、骨格筋のDicerの遺伝子発現が顕著に減少し、マイクロRNAの発現は約50%減少したことを確認している。このマウスでは、特久性運動による筋線維の遅筋化やミトコンドリア新生は正常に誘導されたのに対し、運動誘発性血管新生は抑制されたことを明らかにしている。研究課題2:血管内皮細胞で全てのマイクロRNAが欠損するマウスは胎生致死であり、ヘテロ欠損マウスでは運動誘発性血管新生に差は認められなかったとしている。最後に、血管内皮細胞特異的なマイクロRNA-23クラスター欠損マウスを用いて、運動誘発性血管新生を観察したが、顕著な差は認められなかったとしている。

(考察)

全ての研究課題を総括し、著者は次のように考察している。本研究では、持久性運動による骨格筋適応におけるマイクロ RNA の役割を概観するため、マイクロ RNA 合成酵素欠損マウスを作出し、持久性運動による骨格筋適応を観察した。このマウスでは、運動誘発性血管新生が抑制されたことから、マイクロ RNA が運動誘発性血管新生に必須の分子であることを示唆している。次に、毛細血管を構成する血管内皮細胞に着目し、血管内皮細胞のみで全てのマイクロ RNA が減少するマウスの作出を試みたが、モデルの問題により運動誘発性血管新生に関して十分な解析を行うことができなかった。そのため、培養細胞において血管新生を調節するマイクロ RNA として報告されていた、マイクロ RNA-23 クラスターに着目した。このマイクロ RNA を血管内皮細胞のみで欠損したマウスでは、運動誘発性血管新生に異常は認められなかったことから、血管内皮細胞のマイクロ RNA-23 クラスターの役割は限定的であったと結論付けている。本研究で得られた一連の結果は、運動誘発性血管新生におけるマイクロ RNA の重要性を示唆した初めての報告であることや、培養細胞と生体マウスにおける血管内皮細胞のマイクロ RNA-23 クラスターの血管新生に対する役割を明確にした点から、その学術的意義は極めて大きいと考えられる。

審査の結果の要旨

(批評)

本論文は、持久性運動により誘導される骨格筋の毛細血管新生とノンコーディング RNA の 1 つであるマイクロ RNA に着目して検討を行い、学術的意義の極めて大きい知見を得た。本論文で得られた主な知見は以下の通りである。①Dicer 欠損マウスでは持久性運動による筋線維の遅筋化およびミトコンドリア新生は正常に誘導されること、②全身的な Dicer の欠損により運動誘発性血管新生は抑制されたことから、マイクロ RNA は重要な役割を担う可能性が示唆されること、③運動誘発性血管新生において、血管内皮細胞のマイクロ RNA-23 クラスターの役割は限定的であること、を明らかにした。本論文は、論理的に構成されており、運動誘発性血管新生とマイクロ RNA において、重要かつ学術的意義のある結論を導き出した論文として非常に高く評価された。

平成31年1月10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論文について説明を求め、関連事項について質疑応答を行い、最終試験を行った。その結果、審査委員全員が合格と判定した。よって、著者は博士(スポーツ医学)の学位を受けるのに十分な資格を有するものと認める。