福島県立医科大学 学術機関リポジトリ

FUKUSHIMA MEDICAL UNIVERSITY

Title	The telomerase plays a pivotal role in collateral development under ischemia by suppressing aging-induced production of oxidative stress, expression of p53 and pro-apoptotic proteins(内容・審査結果要旨)
Author(s)	國分, 知樹
Citation	
Issue Date	2019-03-22
URL	http://ir.fmu.ac.jp/dspace/handle/123456789/973
Rights	© International Heart Journal Association. For secondary use, please request the International Heart Journal Association for permission.
DOI	
Text Version	ETD

This document is downloaded at: 2024-04-25T07:20:36Z

Fukushima Medical University

論　文　内　容　要　旨

氏名（しめい）	こくぶん　ともき 國分　知樹
学位論文題名	The telomerase plays a pivotal role in collateral development under ischemia by suppressing aging-induced production of oxidative stress, expression of p53 and pro-apoptotic proteins. （テロメラーゼは加齢に伴う虚血後の酸化ストレスの増加、p53 の発現、アポトーシスを抑制することで側副血行路発達に重要な役割を果たす）

背景：

加齢によるテロメアの短縮は細胞老化の本態の一つであり、心血管疾患を含む老化関連疾病の発症メカニズムにおいて重要な役割を果たしている。テロメアを伸長させる酵素であるテロメラーゼの活性は主に TERT（テロメラーゼ逆転写酵素）発現によって調節される。一方でテロメラーゼはテロメア伸長とは独立して細胞増殖や遺伝子発現調節、ミトコンドリア機能に対する作用が報告されているが老化に伴う下肢虚血後の側副血行路発達不全におけるテロメラーゼの役割は明らかではない。

方法と結果：

本研究では野生型マウスを用いて下肢虚血後骨格筋における側副血行路発達に対するテロメラーゼの役割を検討した。若齢（8 週令）および老齢マウス（80 週令）を用い、若齢マウスには生理食塩水、老齢マウスにはテロメラーゼ活性化薬（TA-65）20 mg/kg/day、または対照として同量の生理食塩水を経口投与し屠殺前日まで継続投与した。投与 21 日後に左大腿動脈を結紮し下肢虚血モデルを作成し結紮前、直後、術後 1、7、14、21 日目にレーザードップラーにて下肢血流を測定した。老齢マウスでは若齢マウスと比較して下肢虚血後の血流回復低下を認め TA-65 投与老齢マウスにおいて対照老齢マウスと比較して有意な血流回復の改善を認めた。また、術後 3、21 日目に屠殺し、下肢骨格筋（ヒラメ筋）を採取し次に示す結果を得た。虚血 21 日目において CD31 免疫染色による毛細血管密度は老齢マウスでは若齢マウスと比較して有意に減少しており、TA-65 投与老齢マウスで対照老齢マウスと比較して有意な増加を認めた。虚血 3 日目の TERT 発現及びテロメラーゼ活性は非虚血肢に比べ虚血肢において有意な上昇を認め、虚血肢では老齢マウスは若齢マウスと比較して有意に低く、TA-65 投与老齢マウスで対照老齢マウスと比較して有意な上昇を認めた。また、虚血骨格筋における活性酸素、DNA 傷害及び p53、p16、Bax/Bcl2 発現ついても検討したが、虚血 3 及び 21 日目において老齢マウスで若齢マウスより有意に高く、TA-65 投与老齢マウスで有意な低下を認めた。また、虚血 3 日目における HIF-1α、VEGF、PGC-1α の発現は老齢マウスで若齢マウスより有意に低く、TA-65 投与老齢マウスで対照老齢マウスと比較して有意な上昇を認めた。

結論：
テロメラーゼは虚血により活性化されるが、老齢マウス骨格筋において下肢虚血後の酸化ストレスの増加はテロメラーゼ活性を低下させ、p53, p16 発現増加を介して側副血行路発達が障害される。下肢虚血骨格筋におけるテロメラーゼ活性化は酸化ストレスの増加、p53、p16 発現、アポトーシスを抑制することで血流回復を促進し、加齢による虚血後の側副血行路発達不全における新たな治療法となる可能性が示唆された。

（1173 字）

※日本語で記載すること。１２００字以内にまとめること。

学位審査論文結果報告書

平成 31 年２月４日

大学院医学研究科長　殿

下記の通り学位論文の審査を終了したので報告いたします

氏名：國分知樹

学位論文題名：The telomerase plays a pivotal role in collateral development under ischemia by suppressing aging-induced production of oxidative stress, expression of p53 and pro-apoptotic proteins.（テロメラーゼは加齢に伴う虚血後の酸化ストレスの増加、p53 の発現、アポトーシスを抑制することで側副血行路発達に重要な役割を果たす）

上記論文について、平成 31 年 1 月 16 日に審査会を行った。はじめに申請者より論文内容の説明があり、引き続いて主査・副査を含む審査会員との質疑応答を行った。本論文は野生型老齢マウスに大腿動脈一時結紮処置を加えて虚血再灌流モデルを作成し、その結果生ずる側副血行路の発達に及ぼす TA-65 投与の結果を検証した *in vivo* 実験である。TA-65 は漢方で汎用されるアストラガルス根（黄耆）から抽出された生薬成分であり、既報ではテロメラーゼを活性化させるとされている。本論文では飲水に TA-65 を混合して強制服用させた老齢マウスでは非服用老齢マウス群に比較して明らかに虚血再灌流後の側副血行路の発達が促進されていた。申請者は以前からマウス虚血再灌流モデルを用いた実験を繰り返しており、モデルの安定性と結果の信頼性について特に議論はなかった。到達した結論は興味深い上に将来の実臨床へのフィードバックも視野に入る価値の高い実験結果である。実際に、本論文は既に International Heart Journal 誌（IF1.826）に掲載が許可されている。問題はその結論に至った機序や途中経過である。TA-65 は生薬であり、申請者らが注目したテロメラーゼ活性化以外にも消炎作用や抗酸化作用などの多彩な薬理効果が報告されている。これらも側副血行の改善という実験アウトカムに影響を及ぼした可能性は否定できないか?TA-65 はバイオアベイラビリティが低いので作用に個体差が大きくなかったか？実験のような急性モデルで得られた効果が、実臨床ではより一般的な慢性モデルに対しても適用しうるか？3 日目と 21 日目のテロメラーゼ活性は比較できるのか？Bax/Bcl-2 比だけ actin による補正していないように見えるのはなぜか？などの疑問点が次々と挙げられた。申請者は審査会会場および後日メールを介してこれらの質問に対して丁寧な回答を行い、概ね主査・副査を満足させた。これらの改善点を学位論文に付記することを前提として、この論文は申請者の学位に相応しいと判断する。

論文審査委員　主査　風間順一郎

副査　佐戸川弘之

副査　橋本　光広