



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	Studies on the Development Process of Angiotensin II-Induced Skeletal Muscle Abnormalities and Role of NAD(P)H Oxidase 2 [an abstract of dissertation and a summary of dissertation review]
Author(s)	門口, 智泰
Description	配架番号 : 2140
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(医学)
Dissertation Number	甲第11658号
Issue Date	2015-03-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/58971
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.1/jp/
Type	doctoral thesis
File Information	Tomoyasu_Kadoguchi_review.pdf, 審査の要旨



学位論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称 博士（医 学） 氏 名 門 口 智 泰

主査 教授 岩崎 倫政
審査担当者 副査 教授 石田 晋
副査 教授 畠山 鎮次
副査 教授 筒井 裕之

学 位 論 文 題 名

Studies on the Development Process of Angiotensin II-Induced Skeletal Muscle Abnormalities and Role of NAD(P)H Oxidase 2

（アンジオテンシン II 誘発性骨格筋異常の進展過程と NAD(P)H oxidase 2 が及ぼす役割の検討）

申請者は、雄性 10-12 週齢 C57BL/6J マウスおよび NAD(P)H oxidase (Nox) 2 欠損 (KO) マウスにアンジオテンシン II (Ang II) を投与し (1000 ng/kg/min), Ang II により様々な病態で臨床的に観察される骨格筋異常 (ミトコンドリア機能障害, 骨格筋線維型変化, アポトーシスおよび筋萎縮の総称) および運動能力低下が引き起こされるかどうかを経時的変化も含めて検討し (研究 1), またそれらに対する Nox2 の役割を検討した (研究 2)。

研究 1 においては, ①体重, 下肢骨格筋重量および筋横断面積は Ang II 投与 1 週後で低下傾向を示し, 4 週後で有意に低下した. ②骨格筋ミトコンドリア機能 (クエン酸合成酵素活性・電子伝達系複合体活性) は, Ang II 投与 1 週後で低下し, 4 週後においても持続的に低下した. ③NADH 染色により定量評価した骨格筋 type I 線維 (有酸素的線維) の割合は, Ang II 投与 1 週後で有意に低下, 対照的に type IIb 線維 (解糖的線維) は有意に増加した. ④Akt および p70S6K リン酸化 (タンパク合成指標) のタンパク発現は, Ang II 投与 4 週後で有意に低下した. 一方 MuRF-1 および atrogin-1 (タンパク分解指標) の遺伝子およびタンパク発現は, 4 週後において有意に増加した. ⑤酸化ストレスの指標である NAD(P)H oxidase 活性およびスーパーオキシド産生は, Ang II 投与 1 週後で有意に増加し, 4 週後も維持された. ⑥運動能力の代表的な指標である仕事量, 走行時間および走行距離は, Ang II 投与 1 週後で低下傾向を認め, 4 週後で有意に低下した (①-⑥, いずれも $P<0.05$).

研究 2 においては, ①Ang II 投与による体重, 下肢骨格筋重量および筋横断面積低下は, Nox2 KO マウスで有意に抑制された. ②Ang II 投与による MuRF-1 および atrogin-1 遺伝子発現増加は Nox2 KO マウスで有意に抑制され, 体重, 下肢骨格筋重量および筋横断面積の結果と一致した (いずれも $P<0.05$). ③Ang II 投与によるミトコンドリア機能障害および運動能力低下は, Nox2

KO マウスでは改善しなかった。

以上の結果より、申請者は以下の考察をするに至った。研究 1 の①・⑥の結果から、マウスにおける Ang II 投与がミトコンドリア機能障害、骨格筋線維型変化、アポトーシスおよび筋萎縮を含む骨格筋異常を引き起こし、さらに運動能力低下を引き起こすことを明らかとなった。ミトコンドリア機能障害および骨格筋線維型変化は Ang II 投与初期に出現し、骨格筋萎縮過程は後期に起こった。したがって、Ang II は加齢や心不全を始めとする慢性疾患における骨格筋異常において中心的な役割を果たしており、また骨格筋異常の表現型が相互に関連している可能性が示唆された。研究 2 の①・③の結果から、Nox2 KO マウスでは、Ang II 投与による骨格筋萎縮が抑制された。またその変化は、MuRF-1 および Atrogin-1 遺伝子発現抑制の結果と一致していた。しかしながら、ミトコンドリア機能障害およびアポトーシスは改善されなかったことから、これらとは独立した機序による萎縮の改善である可能性が示唆された。

以上の研究結果について、主査および副査の教授より、①臨床的に、Ang II 1 型受容体拮抗薬 (ARB) を服用している患者では、骨格筋異常および運動能力低下が抑制されるか。②血管拡張薬である Hydralazine を用いた実験では、高血圧および心肥大の影響が除外できなかったため、それらに独立した効果であるとは言えないのではないか。③Ang II の投与量を減らし、長期間介入することで、高用量、短期間で認められる骨格筋異常および運動能力低下が観察されるか。④Inhibitor を用いた実験を実施したか。⑤今回用いた投与モデルは高用量であるが、実臨床を考慮した場合、血漿の Ang II はどの程度になるか。⑥Ang II 1 型受容体および 2 型受容体の関与はどうか。⑦今回の結果は想定されるものだったのか。また結果に矛盾点はあったのか。⑧Ang II による骨格筋線維型変化は、Ang II そのものによる影響なのか、あるいは Ang II によるミトコンドリア機能障害などエネルギー代謝系の影響が関与しているのか。⑨血圧の影響を除外することを考慮した場合、Hydralazine の他に ARB を用いた検討をする必要はないのか。⑩臨床現場にて、治療を考えた場合、骨格筋異常となると治療戦略を立てづらいのではないか。⑪骨、骨格への影響はどうか。⑫各種病態に対する ARB 投与が、骨格筋異常や運動能力低下を改善させるとする文献の数はどの程度か。⑬運動トレーニングにより骨格筋異常が改善することがわかっているが、薬剤単独あるいは両方を実施した場合、運動トレーニングの効果と薬剤の効果は相加的なものか。について質問を受けた。申請者は、それぞれの質問に対し自身の実験データや文献的考察に基づき、概ね適切に返答した。

審査員一同は、これらの成果を高く評価し、大学院課程における研鑽や取得単位なども併せ、申請者が博士（医学）の学位を受けるのに十分な資格を有するものと判定した。