



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	プロテアソーム機能低下が褥瘡の病態形成に与える影響 [論文内容及び審査の要旨]
Author(s)	村田, 恵理
Description	配架番号 : 2632
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(医学)
Dissertation Number	甲第14520号
Issue Date	2021-03-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/81546
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	Eri_Murata_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 村田 恵理

	主査	教授	近藤	亨
審査担当者	副査	准教授	舟山	恵美
	副査	准教授	岩永	ひろみ

学 位 論 文 題 名

プロテアソーム機能低下が褥瘡の病態形成に与える影響

(Decreased proteasomal function increases oxidative stress in the early stage of pressure ulcer)

本学位論文は、高齢者を念頭においたモデルを用いて、褥瘡の病態形成及び病態増悪の予防や治療について検討したものである。研究手法は、皮膚虚血再灌流モデルマウスと基本的な分子細胞生物学実験を用いた病態形成及び治療実験を多面的に展開している。褥瘡とは、皮膚が圧迫や剪断応力を受け、虚血、循環障害により組織壊死をもたらす疾患である。近年、病態形成における虚血再灌流障害 (ischemia-reperfusion injury; IRI) が注目されており、再灌流により発生する活性酸素種 (reactive oxygen species; ROS) に起因する酸化ストレスが炎症と組織傷害の中心的な役割を担う。プロテアソームは、細胞内タンパク質分解酵素複合体であり、細胞の生命活動に重要な役割を担う。プロテアソームの機能は加齢により低下し、様々な疾患と密接に関連するが、褥瘡との関連は明らかにされていない。老化は、褥瘡の重大な危険因子であるものの、病因として老化に焦点を当てた研究は殆ど見られない。本研究では、老化の表現型を示すプロテアソーム機能低下マウス (Tg) を用いた IRI モデルの検討と IRI における細胞傷害についてマウス皮膚線維芽細胞を用い、プロテアソーム機能低下が IRI の初期段階における皮膚損傷を悪化させることを示した。更に、細胞培養系を用いた検討により、プロテアソームの機能障害は H/R による酸化ストレスを増大させ、ROS 産生が増加する一方、Nrf2 経路の活性化による抗酸化応答が適切に機能しない可能性を示した。また、フリーラジカル消去剤である Edaravone (EDA) の IRI モデル、細胞の H/R に与える効果についての検討では、プロテアソーム機能低下により生じた酸化ストレスは EDA により効果的に抑制された。本研究により、プロテアソーム機能が低下した高齢者の褥瘡の初期段階において、EDA 投与が保護効果をもたらす可能性が示唆された。

審査にあたり、副査の船山恵美准教授から褥瘡の肉眼的評価の参考に応じた DESIGN-R について、傷の大きさという項目を除外した理由についての質問があり、申請者は深い傷の治癒が遅延することや国際基準の評価が傷の深さに主眼を置かれていることから、傷の深さの評価に係る発赤・滲出液・表皮びらんについて評価を行ったと回答した。次に、Keap1^{+/-}/Tg では皮膚創傷が改善しているのではないかとという質問に対し、申請者は Tg と比較して Keap1^{+/-}/Tg では抗酸化酵素遺伝子群の発現が亢進していることが創傷改善に働いていると考えられる。一方で、IRI で上昇した Tg の酸化ストレスの改善には、抗酸化酵素遺伝子群の発現亢進よりも ROS 産生の抑制が効果的で

あり、その詳細なメカニズムは現在検討中であると回答した。

副査の岩永ひろみ准教授から褥瘡の作製方法についての質問があり、申請者はマウスの背部を剃毛後、正中線に沿ってマグネットを対に装着したものを虚血、マグネット装着12時間後にマグネットを外したものを再灌流モデルとし、本法が褥瘡作製の定法であると回答した。EDAはPBSで溶解しているのかの質問に対して、申請者はEDAが水に不溶性であるためDMSOに溶解していると回答した。また、DMSOは毒性が高いことから、使用濃度を追記する必要があるとの指摘に対して、追記修正すると回答した。

最後に主査の近藤亨教授から加齢によるプロテアソーム機能の低下について、酵素複合体のどのタンパク質の活性が加齢により低下するのかの質問に対して、申請者は関連論文を確認すると回答した。また、 $\beta 5t$ 発現によるプロテアソーム活性の低下の理由についての質問に対し、申請者は $\beta 5$ がプロテアソームの活性ユニットであることから、変異型 $\beta 5t$ が酵素複合体に取り込まれることによりキモトリプシン様活性が低下すると回答した。また、阻害剤を用いた実験結果を確認するために、標的因子のノックアウト又はノックダウン実験を行う必要があるとのコメントに対し、申請者はTgの初代培養細胞を用いて助言頂いた実験を検討すると回答した。EDAのNF- κ Bシグナル伝達系への効果についての質問に対し、申請者はEDAが炎症生サイトカイン発現を抑制することが報告されているが、本研究では未検討であり今後の検討課題であると回答した。

全ての質問に対して申請者は文献的知見と実験結果をもって適切に回答した。また本研究で解明した研究成果の意義、今後解明すべき点を明確に理解し、次段階の研究指針や応用の方向性も十分把握していた。

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て申請者が博士（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。