



Title	マウス後肢リンパ浮腫モデルにおける低酸素誘導因子の影響に関する研究 [論文内容及び審査の要旨]
Author(s)	星野, 善允
Description	配架番号 : 2782
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(医学)
Dissertation Number	甲第15464号
Issue Date	2023-03-23
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/90011
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	HOSHINO_Yoshitada_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 星野善允

	主査	教授	上田	佳代
審査担当者	副査	准教授	永井	利幸
	副査	教授	若狭	哲

学 位 論 文 題 名

マウス後肢リンパ浮腫モデルにおける低酸素誘導因子の影響に関する研究
(Study of the effects of hypoxia inducible factor in a mouse hindlimb lymphedema model)

申請者は、まずマウス後肢リンパ浮腫モデルにおける創傷治癒モデルの妥当性を検証した。同モデルを用いて低酸素誘導因子 (hypoxia inducible factor, HIF) の活性調整薬がリンパ浮腫およびリンパ浮腫における創傷に与える影響について、HIF-1 α 安定化薬 (Roxadustat) 投与群、HIF-1 α 阻害薬 (YC-1) 投与群、リンパ浮腫群 (LE) に分け、各群に作成した皮膚全層欠損創の閉鎖割合の経過を Sham ope 群と比較した。創傷閉鎖日数は、3群いずれも Sham ope 群よりも延長し、浮腫モデルの3群比較において、LE 群に比べて Roxadustat 群は短縮、YC-1 群は延長した。創傷作成4日時点の創傷閉鎖割合について、リンパ浮腫モデル3群は Sham ope 群よりも減少し、3グループ間の比較では、Roxadustat 群が LE よりも大きかった。次に、マウス後肢リンパ浮腫モデルを用い、Roxadustat 投与による、リンパ浮腫局所への影響を形態学的・組織学的、分子生物学的に検討した。健側に対する患側後肢の周径比では Roxadustat 群がコントロール群よりも小さく、蛍光リンパ管造影で患側肢の dermal backflow がコントロール群よりも軽いことを示した。以上より、HIF-1 α 安定化薬がリンパ管新生因子の VEGH-C, VEGFR-3, Prox1 の mRNA およびリンパ管数を増加させることによりリンパ浮腫を軽減し、その結果として創傷治癒を改善することを示した。本研究の結果は、Roxadustat のリンパ浮腫治療薬としての有望性を示唆した。

学位論文審査にあたり、副査の若狭哲教授から、リンパ浮腫モデルにシリコンシートを用いる理由について質問があり、これに対して申請者は、シリコンシートを用いることにより、瘢痕治癒を阻害するため使用したと答えた。Roxadustat を本研究で用いる着想に至った経緯についての質問には、申請者は糖尿病に対する Roxadustat 使用での創傷治癒改善の経験があり、このことからリンパ浮腫に対する効果への着想を得たと答えた。また、第1章では Roxadustat がリンパ浮腫のある創傷治癒への改善効果が見られたものの、効果の機序としてリンパ浮腫以外の要因の可能性もあったので、第2章ではリンパ浮腫への影響を検証する実験を行ったと答えた。実験2に対して、比較的早期にリンパ管新生が観察される一方で、dermal backflow が28日以降も残っているにもかかわらず、リンパ浮腫が改善することの整合性に対する質問に対して、申請者は、

28 日以降も逆流は起こってるものの、その程度が投与前より改善しており、Backflow 量の減少や、集合リンパ管の機能の改善、collateral の改善が、リンパ浮腫改善に関与している可能性について説明した。最後に、今回の実験では Roxadustat の全身投与であったが、局所投与が組織間圧を下げるのであれば、リンパ浮腫への効果はさらに大きいのではないかとの指摘があった。この指摘に対して、申請者は糖尿病マウスモデルへの他の HIF1- α 安定化薬投与の経験にも言及し、局所投与がより大きな効果をもたらす可能性があるかと答えた。

続いて副査の永井利幸准教授より、実験 1 の創傷治癒の経過写真に関して、マウス個体別の創傷治癒経過のばらつきの有無と評価の妥当性について質問があった。申請者は、創傷作成時のばらつきがあることを認めたとうえで、経過写真撮影時にできる限り、平面にするなど、ばらつきが生じないようにしたと答えた。第 2 章の背景で、実験 1 の結果を述べた文章に関連して、Roxadustat 投与による皮膚厚減少の傾向があるとの表現について、有意な結果が得られているため、傾向があるのではなく、減少したとする方が適切ではないかとの指摘があった。これに対して申請者は修正すると答えた。次に、実験 2 で Roxadustat の血管新生因子の mRNA 発現量増加に関連して、タンパク質レベルの解析の有無について質問があった。これに対して、本研究ではタンパク質の解析は行っておらず、今後の課題であると述べた。さらに、Roxadustat 全身投与による本実験に対して、Roxadustat の血管新生への直接の効果ではなく、エリスロポエチンへの効果を介した VEGF-C, VEGF-3 などの血管新生への作用の可能性について指摘があった。これに対して、申請者は、Roxadustat のリンパ管への影響に関する先行研究が少ない状況を説明し今後の課題であると答えた。最後に、本実験でラットに用いた Roxadustat 投与量は、人への投与量に換算するとどれぐらいになるのかとの質問に関して、申請者は、先行研究をもとに投与量を決定した旨説明し、これまでのところ人への投与に換算した検討がないと答えた。

主査の上田佳代教授より、量-反応関係に関して質問があった。これに対して、申請者は、本検討では量-反応関係については検討していないものの、糖尿病モデルでの知見から同様の結果が得られる可能性について言及した。次に、本検討で用いたのは急性リンパ浮腫モデルであり、慢性リンパ浮腫モデルの検討の可能性について質問があった。これに対して動物モデルでは、慢性リンパ浮腫モデルが現時点で存在しない点に触れ、線維化を考慮するなど人の慢性浮腫を再現するモデルの検討の必要性について述べた。本実験では、リンパ浮腫モデルに対する Roxadustat 投与の効果を見ているが、リンパ浮腫を持たないコントロールへの効果について質問があった。これに対して、申請者は、安全性も含めて全身への影響についても検討する必要があると説明した。

すべての質問に対して申請者は、文献的知見とデータ解析結果をもって適切に回答した。本論文はマウス後肢リンパ浮腫モデルにおける創傷モデルの確立とマウス後肢リンパ浮腫モデルにおける Roxadustat による浮腫の改善効果を示したことについて高く評価され、今後のリンパ浮腫治療の発展に寄与することが期待される。

審査員一同は、大学院課程における研鑽や取得単位なども合わせ、申請者が博士（医学）の学位をうけるに十分な資格を有するものと判定した。