

博士學位論文

内容の要旨

および

審査結果の要旨

令和6年3月

近畿大学大学院

医学研究科

学位論文審査結果の報告書

氏 名 松村 大智

生 年 月 日 昭和 平成 5年 3月 8日

本 籍 (国 籍) 高知県

学 位 の 種 類 博 士 (医 学)

学 位 記 番 号 医 第 1 4 1 3 号

学位授与の条件
(博士の学位) 学位規程第5条該当

論 文 題 目

Effects of elastase-induced emphysema on muscle and bone in mice

(エラスターゼ誘発肺気腫マウスにおける慢性閉塞性肺疾患
(COPD)の筋・骨への影響)

学位論文受理日 2023年 10月 30日

学位論文審査終了日 2024年 1月 17日

審 査 委 員 (主 査) 松本 久子

(副主査) 重吉 康史

(副主査) 伊藤 彰彦

指 導 教 員 後藤 公志

論文内容の要旨

【目的】慢性閉塞性肺疾患（COPD）はサルコペニアと骨粗鬆症を引き起こす。しかし、COPDがサルコペニア、骨量減少を引き起こすメカニズムや筋骨連関に及ぼす影響については十分に解明されていない。そのため、本研究では、豚の膵臓由来エラスターゼ（PPE）を気管内投与することにより肺気腫を誘発したマウスを使用して COPD 状態が筋・骨へ与える影響について検証した。

【方法】12週齢の C57BL/6J マウスに PPE を投与後 8 週に体重・握力・組織重量を測定し、 μ CT で大腿骨骨密度や骨微細構造パラメーターを測定した。また、リアルタイム PCR 法により、腓腹筋・ヒラメ筋での筋・骨に影響を及ぼす既知のマイオカインの発現量、筋分化・筋分解・オートファジーに関わる因子の発現量を測定した。

【結果】マウスへの PPE 気管内投与は海綿骨の骨密度（BMD）、骨量、骨梁数、皮質骨の骨密度（BMD）、皮質骨面積を有意に減少させた。また、握力も低下させたが、筋量や筋分化・筋分解・オートファジーに関わる因子の発現には影響を及ぼさなかった。検証したマイオカインの内、ヒラメ筋でのマイオスタチン mRNA 量は PPE を投与したマウスで有意に増加した。2U の PPE 投与群では、単相関解析において、ヒラメ筋でのマイオスタチン発現量は握力と有意な負の相関関係を示したが、骨パラメーターとは有意な相関関係を示さなかった。握力は、骨パラメーターと有意な正の相関関係を示した。

【考察】マウスへの PPE 気管内投与は皮質骨よりも海綿骨優位に骨量を低下させた。体液性因子は海綿骨へ、メカニカルストレスは皮質骨へ影響を及ぼしやすいことが知られており、本モデルでは、マイオカインや炎症といった体液性因子が骨量減少に関与していると推測して研究を進めた。筋への影響については、筋量には影響を及ぼさず、握力を低下させた。エラスターゼ誘発肺気腫では、筋よりも骨優位に影響を及ぼした。本モデルは、COPD の筋骨への影響を調べる際の、喫煙・低栄養・体重減少といった交絡因子の影響を受けにくいいため、COPD 病態における筋量減少については、肺病変自体の影響ではなく、低栄養などの他の因子による影響を受けている可能性が示唆された。筋骨連関に関しては、PPE 投与により、ヒラメ筋でのマイオスタチン発現量が増加したが、増加したマイオスタチンは骨へは影響を及ぼさなかった。握力や局所の炎症が、骨量減少へ影響していることが示唆された。

【結論】

本研究では、マウスへの PPE 気管内投与により骨量低下や骨微細構造の劣化が生じ、エラスターゼ誘発肺気腫モデルにおける COPD 状態は骨格筋よりも骨優位に負の影響を及ぼすことを示した。筋骨連関に関しては、PPE の気管内投与は、ヒラメ筋でのマイオスタチン発現量増加をもたらし、マイオスタチンの発現量増加は、握力低下と正の相関を示したが、骨量には影響を及ぼさなかった。

博士論文の印刷公表	公表年月日	出版物の種類および名称
	令和5年6月23日 公表 (DOI : 10.1371/journal.pone.0287541)	博士学位論文 PLoS ONE 第18巻 第6号 e0287541
	全文	Effects of elastase-induced emphysema on muscle and bone in mice

論文審査結果の要旨

1) 論文内容の要旨

【目的】慢性閉塞性肺疾患（COPD）はサルコペニアと骨粗鬆症を引き起こす。しかし、COPDがサルコペニア、骨量減少を引き起こすメカニズムや筋骨連関に及ぼす影響については十分に解明されていない。そのため、本研究では、豚の膵臓由来エラスターゼ（PPE）を気管内投与することにより肺気腫を誘発したマウスを使用してCOPD状態が筋・骨へ与える影響について検証した。

【方法】12週齢のC57BL/6JマウスにPPEを投与後8週に体重・握力・組織重量を測定し、 μ CTで大腿骨骨密度や骨微細構造パラメーターを測定した。また、リアルタイムPCR法により、腓腹筋・ヒラメ筋での筋・骨に影響を及ぼす既知のマイオカインの発現量、筋分化・筋分解・オートファジーに関わる因子の発現量を測定した。

【結果】マウスへのPPE気管内投与は海綿骨の骨密度（BMD）、骨量、骨梁数、皮質骨の骨密度（BMD）、皮質骨面積を有意に減少させた。また、握力も低下させたが、筋量や筋分化・筋分解・オートファジーに関わる因子の発現には影響を及ぼさなかった。検証したマイオカインの内、ヒラメ筋でのマイオスタチンmRNA量はPPEを投与したマウスで有意に増加した。2UのPPE投与群では、単相関解析において、ヒラメ筋でのマイオスタチン発現量は握力と有意な負の相関関係を示したが、骨パラメーターとは有意な相関関係を示さなかった。握力は、骨パラメーターと有意な正の相関関係を示した。

【考察】マウスへのPPE気管内投与は皮質骨よりも海綿骨優位に骨量を低下させた。体液性因子は海綿骨へ、メカニカルストレスは皮質骨へ影響を及ぼしやすいことが知られており、本モデルでは、マイオカインや炎症といった体液性因子が骨量減少に関与していると推測して研究を進めた。筋への影響については、筋量には影響を及ぼさず、握力を低下させた。エラスターゼ誘発肺気腫では、筋よりも骨優位に影響を及ぼした。本モデルは、COPDの筋骨への影響を調べる際の、喫煙・低栄養・体重減少といった交絡因子の影響を受けにくいいため、COPD病態における筋量減少については、肺病変自体の影響ではなく、低栄養などの他の因子による影響を受けている可能性が示唆された。筋骨連関に関しては、PPE投与により、ヒラメ筋でのマイオスタチン発現量が増加したが、増加したマイオスタチンは骨へは影響を及ぼさなかった。握力や局所の炎症が、骨量減少へ影響していることが示唆された。

【結論】

本研究では、マウスへのPPE気管内投与により骨量低下や骨微細構造の劣化が生じ、エラスターゼ誘発肺気腫モデルにおけるCOPD状態は骨格筋よりも骨優位に負の影響を及ぼすことを示した。筋骨連関に関しては、PPEの気管内投与は、ヒラメ筋でのマイオスタチン発現量増加をもたらす、マイオスタチンの発現量増加は、握力低下と正の相関を示したが、骨量には影響を及ぼさなかった。

本論文は、エラスターゼ誘発肺気腫マウスを使用して、COPD状態の筋・骨への影響や筋骨連関について論じたものである。COPDは肺病変だけでなく、サルコペニアや骨粗鬆症といった肺外合併症を引き起こすことが知られており、患者のQOLを低下させ、死亡率を増加させる。しかし、COPDがサルコペニアや骨粗鬆症を引き起こすメカニズムは十分に解明されていない。申請者は、COPDモデルの中から、喫煙や低栄養といった交絡因子を除き、肺病変による直接の影響を評価するのに適するエラスターゼ誘発肺気腫モデルを選択し、そのメカニズムを解析した。

肺気腫モデルのCOPD状態では、筋量低下は見られず、骨量や骨微細構造と握力が障害された。マイオカインについての検討では、筋でのマイオスタチン発現量は増加したが、発現したマイオスタチンは骨指標とは相関せず、握力と負の相関関係を示した。一方で握力低下は骨指標と相関関係を示した。肺気腫モデルにおけるCOPD状態では、筋骨連関としてはマイオカインではなく、握力低下が骨量や骨微細構造の障害に関与することが示唆された。

本研究においてエラスターゼを気管内に投与することで肺気腫モデルマウスを作成し、COPD状態における筋骨連関・マイオカインに着目して進めた研究アプローチと研究手技は極めて独創的であり、申請者の有する高い整形外科的知識と研究能力を示している。さらにCOPDの肺気腫モデルにおいて、筋骨連関としてマイオカインではなく握力低下が骨を障害することを見出した報告はこれまでになく、マイオカインのCOPD状態における役割を示唆した点、また、エラスターゼ誘発肺気腫マウスモデルにおいて、骨と握力が障害され、握力低下が骨パラメーターの悪化と相関することを示唆した点を含め、本論文は、極めてOriginalityの高い研究論文と思われる。

2) 審査結果の要旨

本論文に対する最終試験は、令和5年12月25日の午後6時から第8講義室で実施された。最終試験では、学位申請者から本研究を行うに至った背景、方法、結果および考察が発表され、それに対して主査である松本久子、副主査である伊藤彰彦、重吉康史両教授がいくつかの疑問点を質問した。

まず主査の松本から、他疾患で関係性が示されている筋由来のIrisin減少と骨量減少との関係について、また骨芽細胞・破骨細胞などの評価、マウスの活動性と筋骨指標との関連について質問をした。次に副主査の伊藤教授は、COPD病態を反映する呼吸機能や気種肺の程度を示すMLIと筋骨指標との関係について、また実臨床において炎症性指標と筋骨指標が関係する印象があるかについて質問された。最後に副主査の重吉教授は、骨量減少の機序に他の炎症性疾患と別にCOPD特有の機序があるのか、COPDのどのstageから生じうるのか、肺病変から全身性に炎症がspill overする可能性について質問された。

これらの多方面にわたる質問に対して、申請者は、具体的な例をあげながら極めて的確に応答した。また、論文内容から骨粗鬆症、サルコペニアや筋骨連関に対する整形外科的知識や、それらに関して実際に実験で解析する技能についても卓越した見識を持つことが確認された。

以上の経過を踏まえ、主査と副主査は合議の上、提出された博士論文が確かに松村大智氏自ら主導して行った研究の成果であること、松村大智氏には学位授与に相応しい学識と、専門領域において研究を指導する能力とがあることを確認し、最終試験を合格と判定した。

3) 最終試験の結果：合格

審査基準に基づく評価点

A項目 50/50点 48/50点 46/50点

B項目 5/5点 5/5点 3/5点

合

4) 学位授与の可否：可