

氏名	よしなが せい 英 司		
学位の種類	博 士 (医学)		
学位記番号	医 第 1 0 9 9 号		
学位授与の日付	平 成 2 4 年 3 月 2 2 日		
学位授与の要件	学位規則第5条第2項該当		
学位論文題目	<p>N ε (Carboxymethyl) lysine Modification of Elastin Alters Its Biological Properties: Implications for the Accumulation of Abnormal Elastic Fibers in Actinic Elastics</p> <p>(エラスチンのカルボキシメチルリジン修飾はエラスチンの生物学的特性を変化させる：日光弾力線維症における異常な弾性線維の蓄積への関連について)</p>		
論文審査委員 (主査)	教授	川 田	暁
	(副主査)	教授	池 上 博 司
	(副主査)	教授	宗 像 浩

<p>【目的】 長期の紫外線暴露により高齢者の露光部皮膚には光老化が生じる。真皮では異常な弾性線維が蓄積し、日光弾力線維症と呼ばれている。これには糖化が関係しているが詳細は明らかでない。その機序を探るべく、弾性線維の主要な構成蛋白であるエラスチンを糖化し、その生物学的変化を検討した。</p> <p>【方法】 糖化はリボースを用いて行い、最終糖化生成物の1つであるカルボキシメチルリジン (CML) による修飾を利用した。①エラスチンを糖化させる際に紫外線照射を行い、非照射群と CML 化の程度に差が生じるかを測定した。次に、CML 化および非 CML 化エラスチンの各々をエラステーゼで消化し、経時的に分解量を測定した。②エラスチンは水溶液中で加熱により自己集合するという特性を有するが、この CML 化による変化を測定した。まず、CML 化および非 CML 化エラスチンの水溶液を加熱し、自己集合開始温度、液滴のサイズを測定した。次に、各々のエラスチンについて electrospinning method で線維状シートを作成し、その性状を観察した。③日光弾力線維症の形成にはリゾチームが関与していることが示唆されており、リゾチームと各々のエラスチンとの相互作用について RI を用いて測定した。④各年齢層の露光部および非露光部皮膚を用いてエラスチン、CML、リゾチームの免疫染色を行い、分布を観察した。</p> <p>【結果】 ①エラスチンは紫外線照射で CML 化が促進し、CML 化された程度により消化抵抗性となった。②エラスチンは CML 化されるとより低温で自己集合が始まり、液滴が大きくなった。エラスチンシートの線維は、CML 化エラスチンではより太く、波打った異常な形態となり、特性である弾性も低下していた。③エラスチンは CML 化されるとリゾチームとの相互作用が経時的、濃度依存的に亢進し、これは他の真皮構成蛋白より高度であった。④露光部では 40 歳頃からエラスチン、CML、リゾチームが真皮に陽性となり、分布も一致していた。非露光部では CML、リゾチームは陰性であった。</p> <p>【考察】 露光部皮膚では紫外線暴露によるエラスチンの CML 化 (糖化) が 40 歳頃から始まり、CML 化によるエラスチンの消化抵抗性が、真皮における異常な弾性線維の蓄積に関連があると考えた。自己集合、エラスチンシート作成の実験結果は、日光弾力線維症でみられる太く、波打った異常な弾性線維の形態に関連があると考えた。相互作用の実験、免疫染色の結果から、日光弾力線維症の早期にリゾチームは CML を介して変性した弾性線維に沈着していると考えた。リゾチームの酵素活性は糖化物質で阻害されるため、日光弾力線維症では CML によりリゾチームの過剰な組織障害を防御している可能性が考えられた。</p> <p>【結論】 エラスチンの CML 化、および CML とリゾチームとの相互作用が日光弾力線維症のメカニズムの1つと考えられた。</p>

論文審査結果の要旨

博士論文の印刷公表	公 表 年 月 日	出 版 物 の 種 類 及 び 名 称
	2011年 9月 29日 公 表 (doi : 10.1038/jid.2011.298)	出 版 物 名 Journal of Investigative Dermatology
	公 表 内 容	Vol. No. p. ~
	全 文 と 要 約	冊子体 2011年 9月 日 発 行

【目的】

長期の紫外線暴露により高齢者の露光部皮膚には光老化が生じる。真皮では異常な弾性線維が蓄積し、日光弾力線維症と呼ばれている。これには糖化が関係しているが詳細は明らかでない。その機序を探るべく、弾性線維の主要な構成蛋白であるエラスチンを糖化し、その生物学的変化を検討した。

【方法】

糖化はリボースを用いて行い、最終糖化生成物の1つであるカルボキシメチルリジン (CML) による修飾を利用した。①エラスチンを糖化させる際に紫外線照射を行い、非照射群と CML 化の程度に差が生じるかを測定した。次に、CML 化および非 CML 化エラスチンの各々をエラスターゼで消化し、経時的に分解量を測定した。②エラスチンは水溶液中で加熱により自己集合するという特性を有するが、これの CML 化による変化を測定した。まず、CML 化および非 CML 化エラスチンの水溶液を加熱し、自己集合開始温度、液滴のサイズを測定した。次に、各々のエラスチンについて electrospinning method で線維状シートを作成し、その性状を観察した。③日光弾力線維症の形成にはリゾチームが関与していることが示唆されており、リゾチームと各々のエラスチンとの相互作用について RI を用いて測定した。④各年齢層の露光部および非露光部皮膚を用いて、エラスチン、CML、リゾチームの免疫染色を行い、分布を観察した。

【結果】

①エラスチンは紫外線照射で CML 化が促進し、CML 化された程度により消化抵抗性となった。②エラスチンは CML 化されるとより低温で自己集合が始まり、液滴が大きくなった。エラスチンシートの線維は、CML 化エラスチンではより太く、波打った異常な形態となり、特性である弾性も低下していた。③エラスチンは CML 化されるとリゾチームとの相互作用が経時的、濃度依存的に亢進し、これは他の真皮構成蛋白より高度であった。④露光部では 40 歳頃からエラスチン、CML、リゾチームが真皮に陽性となり、分布も一致していた。非露光部では CML、リゾチームは陰性であった。

【考察】

露光部皮膚では紫外線暴露によるエラスチンの CML 化 (糖化) が 40 歳頃から始まり、CML 化によるエラスチンの消化抵抗性が、真皮における異常な弾性線維の蓄積に関連が有ると考えた。自己集合、エラスチンシート作成の実験結果は、日光弾力線維症でみられる太く、波打った異常な弾性線維の形態に関連があると考えた。相互作用の実験、免疫染色の結果から、日光弾力線維症の早期にリゾチームは CML を介して変性した弾性線維に沈着していると考えた。リゾチームの酵素活性は糖化物質で阻害されるため、日光弾力線維症では CML によりリゾチームの過剰な組織障害を防御している可能性が考えられた。

【結論】

エラスチンの CML 化、および CML とリゾチームとの相互作用が日光弾力線維症のメカニズムの1つと考えられた。

【最終試験の結果】

この研究内容を公聴会において口頭発表を行い、以下の質疑応答が行われた。

- ①日光弾性線維症は病的なものか生理的なものか、②紫外線の関与はどの程度か、
- ③グルコースで CML はできるのか、④糖尿病患者では光老化が起こりやすいか、
- ⑤病理組織と臨床症状は相関するのか、⑥変性したエラスチンが CML 化されやすい可能性は、
- ⑦使用したエラスターゼの基質特異性は、⑧濁度の上昇の意味は何か、
- ⑨CML 化するとリゾチームが結合しやすくなるのか、などが質問され、全ての質問に適切な回答がなされた。

その結果、皮膚科学及び生化学一般において、学位授与に相当する十分な学識を有する事が認められ、最終試験に合格した。

氏名	岡田紀久子
学位の種類	博士(医学)
学位記番号	医第1100号
学位授与の日付	平成24年3月22日
学位授与の要件	学位規則第5条第2項該当
学位論文題目	Standardization of laparoscopically assisted vaginal hysterectomy for uterine myoma and uterine adenomyosis at a single institution (単一施設における子宮筋腫・子宮腺筋症に対する腹腔鏡補助下膣式単純子宮全摘術の標準化の試み)
論文審査委員(主査)	教授 星 合 吳
(副主査)	教授 奥 野 清 隆
(副主査)	教授 竹 山 宜 典