

学位論文審査結果の要旨

所 属	三重大学大学院医学系研究科 乙 生命医科学専攻 臨床医学系講座 運動器外科学・腫瘍集学治療学分野	氏 名	中西 ^{なかにし} 巧也 ^{たくや}
審 査 委 員	主 査 西村 有平 副 査 渡邊 昌俊 副 査 水野 修吾		

(学位論文審査結果の要旨)

Protective Effect of Edaravone Against Oxidative Stress in C2C12 Myoblast and Impairment of Skeletal Muscle Regeneration Exposed to Ischemic Injury in Ob/ob Mice

著者らは論文において下記の内容を述べている。

【背景】骨格筋萎縮の病態機序は未だ不明な点も多いが、要因の一つとして酸化ストレスの関与が示されている。また、肥満は異所性脂肪沈着により局所に慢性炎症をきたし、多くの組織に障害をきたすことが知られているが、骨格筋も同様の障害に曝されている可能性がある。そこで本研究では、まずC2C12筋芽細胞の酸化ストレス障害に対するフリーラジカル除去剤であるエダラボンの影響を解析し、次にob/obマウスの骨格筋を評価し、さらにob/obマウス後脚における血流障害後の骨格筋再生に対するエダラボン投与の効果を検討した。

【方法】C2C12筋芽細胞を250μMのH₂O₂へ4時間曝露することで酸化ストレス負荷を加えた。100μMのエダラボンを1時間前に前投与した群と投与しなかった群で、細胞の生存率およびTNF-α発現を、それぞれMTSアッセイおよびreal-timePCRで計測し比較検討した。In vivoでは、C57/BL6-ob/obマウスと、その対照系統であるC57/BL6マウスを用いて実験を行った。下腿骨格筋の血流量を測定した後、筋肉を摘出し湿重量を測定した。摘出した筋肉を用いてHE染色による組織形態学的評価、MDA定量を行った。また、右大腿動脈を結紮切離することで血流障害モデルを作成し、7日後に同様に筋肉を摘出してMyoD発現を免疫組織化学的解析とwestern blotting法で評価した。さらに、エダラボンの効果を検討するため、大腿動脈結紮の30分前にエダラボンを投与し、同様の解析を

行った。

【結果】C2C12筋芽細胞の生存率は、H₂O₂での処理により減少したが、エダラボンの前投与群では、エダラボン非投与群に比して生存率の低下を有意に抑制した。また、TNF- α 発現は、H₂O₂での処理で増加がみられたが、エダラボン投与群はTNF- α 発現の増加が有意に抑制された。In vivoでは、ob/obマウスでは体重増加に反して骨格筋湿重量はコントロールマウスよりも有意に低かった。骨格筋の組織学的検討では、ob/obマウスでは多角形状を失った筋線維を、有意に多く認め、MDAも有意に高かった。また、骨格筋の血流量と筋損傷スコアは両群間で有意差がなかったが、免疫組織化学的検討とwestern blottingにおいてob/obマウスでは大腿動脈結紮後に骨格筋のMyoD発現の低下を認めた。これらの筋損傷スコアやMyoD発現は、エダラボン投与によりob/obマウスでも有意に改善が示された。

【考察】本研究の結果、エダラボンはC2C12筋芽細胞における酸化ストレスに対する有意な保護効果を示した。また、ob/obマウスの骨格筋湿重量はコントロールマウスよりも低く、組織学的には萎縮性筋線維が認められ、さらにMDAが高値であったことから、異所性脂肪による脂質過酸化障害が筋萎縮に関与していると考えた。またob/obマウスでは、大腿動脈の結紮7日後の骨格筋のMyoD発現が低く、骨格筋の血流障害に対する再生能力が乏しいことが示された。中高年の肥満では末梢動脈疾患を合併する例が多く、このことが肥満型サルコペニアの病態機序の一つであると推察した。また、エダラボン投与は肥満での骨格筋血流障害に対して有用である可能性が示された。

以上より、肥満における骨格筋障害では、異所性脂肪沈着と血流障害後の筋再生障害が筋萎縮を進行すると推察され、エダラボンの投与が有効である可能性が示された論文であり、学術上極めて有益であり、学位論文として価値あるものと認めた。

Frontiers in Physiology 2020;10:1596.

Published: January 15, 2020

doi:10.3389/fphys.2019.01596

Takuya Nakanishi, Masaya Tsujii, Takahiro Asano, Takahiro Iino, and Akihiro Sudo