

2015. 1

特集号



(題字：脇口宏学長)

国立大学法人

高知大学学報

## 高知大学学位授与記録第七十一号

法人企画課広報戦略室発行

本学は、次の者に博士（学術）の学位を授与したので、高知大学学位規則第14条に基づき、その論文の内容の要旨及び論文審査の結果の要旨を公表する。

\*\*\*\*\*  
\*  
\*  
\*  
\*  
\*  
\*  
\*  
\*  
\*\*\*\*\*

# 高知大学学報

本学は、次の者に博士（医学）の学位を授与したので、学位規則（昭和28年文部省令第9号）第8条の規定に基づき、その論文の内容の要旨及び論文審査の結果の要旨を公表する。

## 目 次

学位記番号	氏 名	学 位 論 文 の 題 目	ページ
甲総医博第24号	野口 達哉	Donepezil Can Improve Ischemic Muscle Atrophy by Activating Angiomyogenic Properties of Satellite Cells (ドネペジルは骨格筋サテライト細胞の血管・筋新生作用を賦活化することで虚血性筋萎縮を改善しうる)	1
甲総医博第25号	黒岩 裕美	The Association between Level of Brachial-ankle Pulse Wave Velocity and Onset of ADL Impairment in Community-dwelling Older Individuals (地域在住高齢者における上腕-足首動脈間脈波伝播速度レベルと基本的日常生活動作能力障害発生との関連)	6

氏名(本籍)	野口 達哉 (高知県)
学位の種類	博士(医学)
学位記番号	甲総医博第24号
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
学位授与年月日	平成26年10月21日
学位論文題目	Donepezil Can Improve Ischemic Muscle Atrophy by Activating Angiomyogenic Properties of Satellite Cells (ドネペジルは骨格筋サテライト細胞の血管・筋新生作用を賦活化することで虚血性筋萎縮を改善しうる)
発表誌名	Circulation Journal 78(9) : 2317~2324 Accepted June 10, 2014; released online July 25, 2014

審査委員	主査	教授	椛	秀人
	副査	教授	渡橋	和政
	副査	教授	池内	昌彦

## 論文の内容の要旨

## 論文審査の結果の要旨

# 学位論文要旨

氏名 野口達哉

## 論文題目

Donepezil Can Improve Ischemic Muscle Atrophy by Activating Angiomyogenic Properties of Satellite Cells

ドネペジルは骨格筋サテライト細胞の血管・筋新生作用を賦活化することで虚血性筋萎縮を改善しうる

(論文要旨)

### 背景

末梢動脈疾患 (peripheral arterial disease : 以下 PAD) は心臓や脳血管を除く全身の動脈硬化性疾患である。下肢動脈に多くみられ、間欠性跛行が初期にみられる一般的な症状である。重症化すると重症下肢虚血と呼ばれる病態となり、皮膚潰瘍や足趾の壊死が認められるようになる。PAD に対しては薬物療法や血管内カテーテル治療、外科的バイパス術などのいくつかの治療法が存在するが、重症化した PAD には十分な治療効果が得られないことが多い。少しでも多くの PAD 患者の足を切断から救うために、虚血肢の血管新生を促す治療が長年試みられてきた。

我々はこれまでの研究で、アセチルコリンエステラーゼ阻害剤でアルツハイマー病の治療薬であるドネペジルが血管新生促進作用を有することを、血管内皮細胞や下肢虚血モデルマウス (ドネペジル投与量 5mg/kg/day) を用いて報告している。今回我々はドネペジルが血管内皮細胞ばかりでなく、骨格筋細胞にも直接働き、血管・筋新生作用を促進しているという仮説をたて、ドネペジルが PAD に対する新しい薬物治療の選択枝となり得るか否かを検討した。

### 方法と結果

本研究は特に以下の二点に注意して行った。すなわち、ドネペジルの投与量と薬物相互作用についてである。これまでの我々の研究ではマウスへのドネペジル投与量は 5mg/kg/day と臨床用量に比し高用量であった。本研究の動物実験では、ドネペジルは一般的な臨床用量である 0.2mg/kg/day で使用した。また PAD 治療薬として広く使用される抗血小板薬のシロスタゾールへ、ドネペジルの併用した場合の効果を検証した。




片側下肢虚血モデルマウスでの、サーモグラフィーによる健肢と虚血肢の皮膚温度差は、シロスタゾール、ドネペジル併用群で最も改善がみられた。また併用群では虚血肢の骨格筋サテライト細胞における血管内皮増殖因子 (vascular endothelial growth factor : 以下 VEGF) の発現が最も亢進していることを明らかにした。また健肢と虚血肢の骨格筋量を CT にて経時的に定量したところ、ドネペジルは患肢の虚血性筋萎縮を抑制するばかりでなく、虚血肢の超回復を誘導することを明らかにした。In vitro 実験では正常ヒト大動脈内皮細胞においてドネペジル単独あるいはドネペジル、シロスタゾール併用群において、pAkt/低酸素誘導因子 (HIF-1 $\alpha$ ) /VEGF 蛋白の発現の亢進が認められた。同様

にマウスの骨格筋から採取したサテライト細胞の初代培養系において、ドネペジル単独あるいはドネペジル、シロスタゾール併用群で VEGF やインターロイキン 1β、線維芽細胞増殖因子 (FGF) などの血管新生因子の蛋白発現の亢進がみられた。

#### 結論

本研究結果は、臨床用量のドネペジルが血管内皮細胞だけでなく、骨格筋サテライト細胞にも直接働き、血管・筋新生作用を促進することを示唆する。ドネペジルは PAD に対する薬物治療の新しい選択肢となり得る。

## 論文審査の結果の要旨

	氏名
	野口 達哉
審査委員	主査氏名                      梶 秀人 
	副査氏名                      渡橋 和政 
	副査氏名                      池内 昌彦 

題 目    Donepezil Can Improve Ischemic Muscle Atrophy by Activating Angiomyogenic Properties of Satellite Cells  
 (ドネペジルは骨格筋サテライト細胞の血管・筋新生作用を賦活化することで虚血性筋萎縮を改善しうる)

著 者    Tatsuya Noguchi, MD; Yoshihiko Kakinuma, MD, PhD; Mikihiko Arikawa, PhD; Kayo Okazaki, BSc; Eri Hoshino, PhD; Tatsuo Iiyama, MD, PhD; Toru Kubo, MD, PhD; Hiroaki Kitaoka, MD, PhD; Yoshinori Doi, MD, PhD; Takayuki Sato, MD, PhD

発表誌名、巻(号)、ページ( ~ )、年 月  
 Circulation Journal 78(9) : 2317~2324  
 Accepted June 10, 2014; released online July 25, 201

### 要 旨

末梢動脈疾患 (peripheral arterial disease: PAD) は、足や手の動脈が動脈硬化のため進行性に狭くなったり詰まったりして血液の流れが悪くなることで、様々な症状を引き起こす疾患である。人口の高齢化や生活習慣病などにより PAD は年々増加している。症状としては、しびれや痛みがあり、重症化すると皮膚潰瘍や組織の壊死が認められるようになる。PAD の治療法には、薬物療法、理学療法、血管内治療を含めた手術という 3 つの治療法がある。しかし、重症化した PAD には十分な治療効果が得られないことが多く、新しい治療戦略の創出が期待されてきた。その 1 つとして、従来治療に抵抗性で、潰瘍を伴うような重症下肢虚血病変に対し血管再生治療が試みられてきた。

申請者らはすでに、血管内皮細胞や下肢虚血モデルマウスを用いて、アルツハイマー病の治療薬として処方されているアセチルコリンエステラーゼ阻害薬ドネペジルが血管新生を促進することを明らかにしている。今回申請者らは、ドネペジルが血管内皮細胞のみならず、骨格筋細胞に対しても血管・筋新生を促し、新しい薬物治療の

選択肢となり得るか否かを検討した。本研究で申請者らが特に注意して行った点は、ドネペジルの投与量と薬物相互作用である。これまでの研究では、マウスにおけるドネペジルの経口投与量は臨床用量に比して高用量の 5 mg/kg/day であった。本研究では、一般的な臨床用量である 0.2 mg/kg/day を用いた。また、ドネペジル単独、PAD 治療薬として広く処方されている抗血小板薬シロスタゾール (30 mg/kg/day) 単独、及び両者の併用を組み合わせて用いた。具体的には、片側下肢虚血モデルマウスを用いた *in vivo* 実験、正常ヒト大動脈内皮細胞を用いた *in vitro* 実験、マウスの骨格筋から採取したサテライト細胞の初代培養系を用いた *in vitro* 実験において血管・筋新生に対する薬物の効果を評価するために、*in vivo* 実験ではサーモグラフィーによる皮膚温度測定、骨格筋サテライト細胞における血管内皮増殖因子 (vascular endothelial growth factor: VEGF) の発現解析、CT による骨格筋量の経時的変化の解析等を行い、*in vitro* 実験では pAkt、低酸素誘導因子 (hypoxia inducible factor-1  $\alpha$ : HIF-1  $\alpha$ )、VEGF、インターロイキン 1 $\beta$ 、線維芽細胞増殖因子 (fibroblast growth factor: FGF) の発現解析等を行った。

得られた成績を纏めると次のようになる。

- 1) 片側下肢虚血モデルマウスの健肢と虚血肢の皮膚温度差の有意な改善がシロスタゾールとドネペジルの併用群に認められた。
- 2) 虚血肢の骨格筋サテライト細胞における VEGF 発現細胞数及び VEGF の mRNA と蛋白の両者とも併用群において最も増加していた。
- 3) CT による健肢と虚血肢の骨格筋量の経時的変化の解析結果は、ドネペジルが虚血性筋萎縮を抑制するのみならず、虚血肢の超回復をもたらすことを示した。このドネペジルの効果は VEGF 受容体の選択的阻害薬であるアクシチニブによって阻止された。
- 4) 正常ヒト大動脈内皮細胞を用いた *in vitro* 実験において、ドネペジル単独群及びドネペジルとシロスタゾールの併用群に pAkt、HIF-1  $\alpha$ 、VEGF の蛋白発現の有意な増加が認められた。
- 5) マウスの骨格筋から採取したサテライト細胞の初代培養系を用いた *in vitro* 実験において、ドネペジル単独群あるいはドネペジルとシロスタゾールの併用群に VEGF、インターロイキン 1 $\beta$ 、FGF などの血管新生因子の蛋白発現の有意な増加が認められた。
- 6) マウス骨格筋サテライト細胞の初代培養系において、ドネペジルによる HIF-1  $\alpha$  の有意な増加が認められ、この効果は PI3K/Akt 阻害薬である LY294002 によって阻止されたことから、ドネペジルの作用発現に IP3K/Akt/mTOR 経路が関わり得る。

以上の成績は、臨床用量のドネペジルが血管内皮細胞のみならず、骨格筋サテライト細胞に直接働き、血管・筋新生を促進することを明らかにしている。

以上のように、本論文は末梢動脈疾患の病態解明のみならず、ドネペジルが末梢動脈疾患の薬物治療の新しい選択肢となり得ること、さらには骨格筋萎縮の予防・阻害薬となり得る可能性など、予防・治療の向上に大きく寄与することが期待される。よって、審査員一同は本論文が高知大学博士 (医学) に相応しい価値あるものと判断した。

氏名(本籍)	黒岩 裕美 (高知県)
学位の種類	博士(医学)
学位記番号	甲総医博第25号
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
学位授与年月日	平成26年10月21日
学位論文題目	The Association between Level of Brachial-ankle Pulse Wave Velocity and Onset of ADL Impairment in Community-dwelling Older Individuals (地域在住高齢者における上腕-足首動脈間脈波伝播速度レベルと基本的日常生活動作能力障害発生との関連)
発表誌名	Geriatrics & Gerontology International, in press

<b>審査委員</b>	主査	教授	菅沼	成文
	副査	教授	杉浦	哲朗
	副査	教授	瀬尾	宏美

## 論文の内容の要旨

## 論文審査の結果の要旨



# 学 位 論 文 要 旨

氏 名 黒岩 裕美

## 論 文 題 目

The Association between Level of Brachial-ankle Pulse Wave Velocity and Onset of ADL Impairment in Community-dwelling Older Individuals

(地域在住高齢者における上腕・足首動脈間脈波伝播速度レベルと基本的日常生活動作能力障害発生との関連)

(論文要旨)

心血管疾患が主な死亡原因となる高齢者にとり arterial stiffness の評価は重要である。近年、開発された arterial stiffness の指標である brachial-ankle Pulse Wave Velocity; baPWV は、従来方法の carotid-femoral Pulse Wave Velocity; cfPWV に比し簡便で非侵襲的な方法である。baPWV 高値は地域在住高齢者における心血管疾患死亡のリスク増加と関連が報告されている。一方、日本において activities of daily living; ADL 障害を伴った高齢者の増加が社会的問題となっており、ADL 障害の予知は重要である。PWV 高値は認知機能障害や大腿筋量の減少と関連することが報告されているが、ADL 障害との関連についての縦断的な報告はなされていない。今回の研究目的は、地域在住の基本的 ADL の自立した高齢者において baPWV と基本的 ADL 障害発生との関連を縦断的に検討することである。




対象者は、高知県香北町在住の 65 歳以上の高齢者。2000～2003 年に健康診断を初回受診した 577 名のうち、baPWV 測定不可能 18 名、基本的 ADL 低下 80 名、心房細動の既往 15 名、閉塞性動脈硬化症の既往 5 名、足関節上腕血圧比(ABI)0.9 未満 9 名の 127 名を除外した結果、最終分析対象者は 450 名であった(男性 181 名、女性 269 名、平均年齢 77 歳)。基本的 ADL 評価は自記式アンケート調査にて、歩行、階段昇降、食事、更衣、排泄、入浴、整容の 7 項目について 0-3 点(0 点:全介助～3 点:自立)の合計 21 点満点で行った。初回健診受診時の基本的 ADL 20 点以上を基本的 ADL 自立とし、3 年間の追跡調査を実施した。追跡期間中、基本的 ADL 評価、心血管疾患、転倒/骨折の発生は年次アンケート調査より、死亡の確認、死亡日は死亡診断書より得た。基本的 ADL 19 点以下となった追跡対象者を ADL 障害とした。初回受診時に測定された baPWV の中央値により、対象者を low baPWV 群 (baPWV < 18.61 m/sec, n=225) と high baPWV 群 (≥ 18.61 m/sec, n=225) に二分した。baPWV レベル 2 群間において連続変数の平均値は t 検定、カテゴリー変数の比率はカイ二乗検定を用いて比較した。追跡期間中の ADL 障害発生および死亡と baPWV レベルとの関連を多重ロジスティック回帰分析にて検討した。ADL 障害を発生した追跡対象者について、心血管疾患、転倒/骨折の発症の有無により 4 グループ化(心血管疾患のみ発症、転倒/骨折のみ発症、心血管疾患・転倒/骨折の両方発症、どちらも発症なし)し、それらグループと baPWV レベルとの関連を多重ロジスティック回帰分析で検討した。

追跡期間中、ADL 障害 60 名、死亡 28 名を認めた。high baPWV 群は low baPWV 群に比し ADL 障害(high baPWV 群:low baPWV 群、40 名(20.7%):20 名(9.3%))および死亡(high baPWV 群:low baPWV 群、21 名(9.3%):7 名(3.1%))の発生率が高かった。また、多重ロジスティック回帰分析にて年齢、性別、収縮期血圧

(SBP)調整後も high baPWV は ADL 障害(調整オッズ比(OR)=1.94、95%信頼区間(CI)=1.03~3.63)および死亡(調整 OR=3.22、95%CI=1.26~8.22)と有意な関連を認めた。ADL 障害を発生した 60 名のうち、「心血管疾患のみ発症」を 7 名(11.7%)、「転倒/骨折のみ発症」を 13 名(21.7%)、「心血管疾患・転倒/骨折の両方発症」を 8 名(13.3%)、「どちらも発症なし」を 32 名(53.3%)に認めた。high baPWV は「転倒/骨折のみ発症」を伴った ADL 障害と有意な関連を認めた(調整 OR=5.40、95%CI=1.11~26.38)。

これまで baPWV 高値はサルコペニア、脳微小血管障害、認知機能障害との関連が報告されており、これらを介し baPWV 高値が ADL 障害の発生と関連した可能性が考えられた。結論として、地域在住の基本的 ADL の自立した高齢者において、baPWV による arterial stiffness の評価は、特に転倒/骨折に関連する ADL 障害の予測において有用であることが示唆された。

## 論文審査の結果の要旨

	氏 名
	黒岩 裕美
審 査 委 員	主 査 氏 名      菅沼 成文 
	副 査 氏 名      杉浦 哲朗 
	副 査 氏 名      瀬尾 宏美 

題 目    The Association between Level of Brachial-ankle Pulse Wave Velocity and Onset of ADL Impairment in Community-dwelling Older Individuals  
 (地域在住高齢者における上腕-足首動脈間脈波伝播速度レベルと基本的日常生活動作能力障害発生との関連)

著 者    Yumi Kuroiwa, Ichiro Miyano, Masanori Nishinaga, Jun Takata, Yuji Shimizu, Kiyohito Okumiya, Kozo Matsubayashi, Toshio Ozawa, Hiroaki Kitaoka, Yoshinori Doi, Nobufumi Yasuda

発表誌名、巻(号)、ページ( ~ ), 年 月  
 Geriatrics & Gerontology International,  
 in press

### 要 旨

心血管疾患が主な死亡原因となる高齢者にとり arterial stiffness の評価は重要である。近年、開発された arterial stiffness の指標である brachial-ankle Pulse Wave Velocity; baPWV は、従来方法の carotid-femoral Pulse Wave Velocity; cfPWV に比し簡便で非侵襲的な方法である。baPWV 高値は地域在住高齢者における心血管疾患死亡のリスク増加と関連が報告されている。一方、日本において activities of daily living; ADL 障害を伴った高齢者の増加が社会的問題となっており、ADL 障害の予知は重要である。PWV 高値は認知機能障害や大腿筋量の減少と関連することが報告されているが、ADL 障害との関連についての縦断的な報告はなされていない。今回の研究目的は、地域在住の基本的 ADL の自立した高齢者において baPWV と基本的 ADL 障害発生との関連を縦断的に検討することである。

対象者は、高知県香北町在住の 65 歳以上の高齢者。2000~2003 年に健康診断を初回受診した 577 名のうち、baPWV 測定不可能 18 名、基本的 ADL 低下 80 名、心房細動の既往 15 名、閉塞性動脈硬化症の既往 5 名、足関節上腕血圧比 (ABI) 0.9 未満 9 名の 127 名を除外した結果、最終分析対象者は 450 名であった (男性 181 名、女性 269 名、平均年齢 77 歳)。基本的 ADL 評価は自記式アンケート調査にて、歩行、階段昇降、食事、更衣、排泄、入浴、整容の 7 項目について 0-3 点 (0 点: 全介助~3 点: 自立) の合計 21 点満点で行った。初回健診受診時の基本的 ADL 20 点以上を基本的 ADL 自立とし、3 年間の追跡調査を実施した。追跡期間中、基本的 ADL 評価、心血管疾患、転倒/骨折の発生は年次アンケート調査より、死亡の確認、死亡日は死亡診断書より得た。基本的 ADL 19 点以下となった追跡対

象者を ADL 障害とした。初回受診時に測定された baPWV の中央値により、対象者を low baPWV 群 (baPWV<18.61m/sec、n=225) と high baPWV 群 ( $\geq$  18.61m/sec、n=225) に二分した。baPWV レベル 2 群間において連続変数の平均値は t 検定、カテゴリー変数の比率はカイ二乗検定を用いて比較した。追跡期間中の ADL 障害発生および死亡と baPWV レベルとの関連を多重ロジスティック回帰分析にて検討した。ADL 障害を発生した追跡対象者について、心血管疾患、転倒/骨折の発症の有無により 4 グループ化 (心血管疾患のみ発症、転倒/骨折のみ発症、心血管疾患・転倒/骨折の両方発症、どちらも発症なし) し、それらグループと baPWV レベルとの関連を多重ロジスティック回帰分析で検討した。

追跡期間中、ADL 障害 60 名、死亡 28 名を認めた。high baPWV 群は low baPWV 群に比し ADL 障害 (high baPWV 群 : low baPWV 群、40 名 (20.7%) : 20 名 (9.3%)) および死亡 (high baPWV 群 : low baPWV 群、21 名 (9.3%) : 7 名 (3.1%)) の発生率が高かった。また、多重ロジスティック回帰分析にて年齢、性別、収縮期血圧 (SBP) 調整後も high baPWV は ADL 障害 (調整オッズ比 (OR)=1.94、95%信頼区間 (CI)=1.03~3.63) および死亡 (調整 OR=3.22、95%CI=1.26~8.22) と有意な関連を認めた。ADL 障害を発生した 60 名のうち、「心血管疾患のみ発症」を 7 名 (11.7%)、「転倒/骨折のみ発症」を 13 名 (21.7%)、「心血管疾患・転倒/骨折の両方発症」を 8 名 (13.3%)、「どちらも発症なし」を 32 名 (53.3%) に認めた。high baPWV は「転倒/骨折のみ発症」を伴った ADL 障害と有意な関連を認めた (調整 OR=5.40、95%CI=1.11~26.38)。

これまで baPWV 高値はサルコペニア、脳微小血管障害、認知機能障害との関連が報告されており、これらを介し baPWV 高値が ADL 障害の発生と関連した可能性が考えられた。結論として、地域在住の基本的 ADL の自立した高齢者において、baPWV による arterial stiffness の評価は、特に転倒/骨折に関連する ADL 障害の予測において有用であることが示唆された。