

氏名	ほんま きょうか 本間 杏花
学位の種類	博士（薬学）
学位記番号	博士甲 第 号
学位授与の日付	2025年3月10日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
学位論文題目	慢性腎臓病誘発骨格筋萎縮における 酸化系筋線維の優先的な萎縮機序の解明
論文審査委員	（主査）教授 松元 一明（博士（薬学）） （副査）教授 三澤 日出巳（博士（薬学）） 教授 多胡 めぐみ（博士（薬学））
慶應義塾大学学位規程第11条に基づく審査委員会実施日： 2025年 1月 31日	

論文内容の要旨

1. 研究背景

世界的な超高齢社会の波が押し寄せる中、骨格筋萎縮（サルコペニア）は転倒や要介護リスクを招き、健康寿命を脅かす疾患として関心が高まっている。日本の高齢者におけるサルコペニア有病率は12%～21%に上り、年齢と共に上昇する。また、サルコペニアは加齢、栄養不良、不活動、疾患等の様々な原因により発症し、原因によって筋萎縮病態は異なる。しかしながら現在、サルコペニア治療の中心は運動療法及び食事療法であり、承認された治療薬は存在しない。その要因の一つとして、未だ個々の疾患におけるサルコペニア病態の詳細な機序が明らかになっていないことが挙げられる。したがって、サルコペニアに対する新規治療戦略の構築のために、個々の病態に基づいた疾患機序の解明が必要である。

慢性腎臓病（CKD）は、持続的に腎機能が低下した病態と定義される疾患であり、日本人成人の約8人に1人が罹患している国民病である。CKD患者は心血管疾患や呼吸器疾患、サルコペニア等の合併症を発症し、これらはCKD患者の死亡率の増加を引き起こすことが問題視されている。CKDでは、腎機能の低下に伴って、尿毒症物質と呼ばれる物質が体内に蓄積し、これらが過剰な酸化ストレスや炎症を誘導することによって糸球体障害や尿細管線維化が進行していく。そのため、尿毒症物質や腎線維化に伴う線維化関連因子が血液循環を介して、心臓、肺、肝臓、骨格筋などの遠隔臓器障害に関与している可能性が明らかにされている。特に本研究で注目する、骨格筋に対する遠隔臓器障害として、CKD患者におけるサルコペニアの有病率は13～25%にも上り、サルコペニアを合併したCKD患者は腎予後不良及び死亡率の増加をもたらすことが報告されている。したがって、腎機能障害と骨格筋萎縮が密接に関係し、相互に悪循環を形成している可能性が考えられる。この悪循環を断ち切るためにはCKDとサルコペニアが相互に作り出す病態の悪循環メカニズムの解明が必要であり、さらに病態に基づいた治療戦略の構築が重要である。

骨格筋は複数の筋線維で構成され、エネルギー基質の利用能の代謝特性や収縮特性に基づき myosin heavy chain (MyHC) I (slow-oxidative)、MyHC II a (fast-oxidative-glycolytic)、MyHC II b (fast-glycolytic)、MyHC II x (fast-intermediate) の4つのサブタイプに分類される。また筋線維は可塑性に富んでおり、運動や疾患によって筋組織における筋線維サブタイプの構成比が変化する。これまでに CKD 患者では筋線維サブタイプの構成が遅筋型・酸化系代謝筋線維 (I、II a 型) から速筋型・解糖系代謝筋線維 (II b、II x 型) に移行することが報告されている。しかし、CKD 誘発サルコペニアにおける酸化系筋線維の萎縮誘導機序に関して、その全貌は明らかになっていない。

このような背景から本研究では、CKD 誘発サルコペニアにおける筋線維サブタイプ構成変化に焦点を当て、その機序解明並びに治療戦略の探索を目的とした。まず、腎臓と遠隔臓器のクロストークを評価可能な新規 CKD モデルを開発し、腎線維化の主要制御因子である transforming growth factor β (TGF- β) 及び代表的な尿毒症物質のインドキシル硫酸 (IS) が腎外組織の線維化や筋萎縮に及ぼす影響を評価した。次に、TGF- β が CKD 誘発サルコペニア病態における筋線維サブタイプ構成変化に及ぼす影響を検証した。さらに、TGF- β による酸化系筋線維の萎縮機序について詳細に検討し、その機序に基づいて CKD 誘発サルコペニアに対する新規治療戦略の構築を試みた。以下に得られた知見を要約する。

2. 結果と考察・展望

2-1. 新規 CKD 誘発サルコペニアマウスモデルの開発及び筋萎縮病態の評価

CKD は心血管疾患や呼吸不全、サルコペニアなどの合併症を引き起こし、これらの合併症が CKD 患者の死因や腎予後不良の原因となる。CKD 患者や CKD モデル動物において、腎機能の低下に伴い血中に尿毒症物質が蓄積し、腎臓の線維化によって線維化関連因子が増加する。これらは血液循環を介して腎外組織の線維化に関与することが報告されている。線維化した組織は正常な機能を持たず、組織が硬化し機能不全の原因となる。そのため、遠隔臓器の線維化は CKD で懸念される病態である。腎外組織障害の一つであるサルコペニアは CKD 患者の 13~25% が発症し、腎予後不良や死亡率の増加を引き起こす重大な合併症である。この病態解析のために CKD モデル動物を用いた研究が行われている。しかし、現在汎用されている CKD モデルを用いた遠隔臓器障害の解析には課題が存在する。最も一般的な CKD モデルである 5/6 腎臓摘出 (5/6 Nx) モデルは、器質的に腎臓ネフロンを削減 (摘出) することでヒトの進行性腎不全を模倣したモデルであり、腎機能低下による尿毒症物質の蓄積を生じるモデルである。しかし腎線維化の誘導には数か月を必要とするため、これら因子を介した遠隔臓器障害の誘導には更なる時間が必要である。一方、片側尿管閉塞 (UUO) モデルは、水腎症により加速的に腎線維化を誘導できる CKD モデルであるが、非閉塞側の腎機能が正常であるために、尿毒症物質の全身への蓄積を伴わずヒトの臨床病態と異なる。そこで本研究では、臨床病態を十分に模倣し、さらに早期から腎-遠隔臓器障害のクロストークを再現できる新規 CKD モデルとして、5/6 Nx モデルと UUO モデルを組み合わせた 2/3 Nx + UUO モデルを着想し、このモデルを用いて CKD に伴う遠隔臓器障害モデルを構築し、

さらに CKD 誘発サルコペニアについて検討した。

CKD モデルとして 2/3 Nx + UUO モデルに加え、比較対象に 5/6 Nx および UUO モデルを作製し、モデル作製後 4 週間目に、体重及び握力の測定並びに血液、腎臓、肝臓、肺、心臓、骨格筋（ヒラメ筋、長趾伸筋、前脛骨筋、腓腹筋）を回収し、組織線維化、尿毒症物質（インドキシル硫酸:IS）の蓄積度及び筋萎縮病態を評価した。その結果、2/3 Nx + UUO モデルにおいて 4 週間後に、腎機能の低下及び尿細管線維化を認めた。また、遠隔臓器の線維化を評価したところ、肝臓及び心臓の線維化が確認された。しかし肺組織では線維化の進行は確認されなかった。このように臓器ごとに線維化誘導の進度が異なった要因について評価した結果、線維化の認められた肝臓および心臓では、臓器中と血中の IS 濃度及び TGF- β 濃度に相関関係が示され、血液循環を介してこれら因子が臓器に到達していること、さらに臓器の線維化と M2 マクロファージ発現に相関関係が認められたことから線維化関連マクロファージ細胞の関与が考えられた。そこで、ヒト肝癌細胞（HepG2）およびマクロファージ細胞（RAW264.7）を用いて IS、TGF- β 及びマクロファージの肝線維化に対する影響を *in vitro* 実験において評価した結果、これらの因子が共存することで線維化が強く誘導された。以上から 2/3 Nx + UUO モデルは IS と TGF- β の蓄積及び組織マクロファージによって、遠隔臓器線維化が誘導されていることが示唆された。

さらに本モデルを用いて、CKD 誘発サルコペニア病態について解析した。体重、筋力及び下肢筋重量を評価したところ、2/3 Nx + UUO モデルにおいていずれも有意な減少を認め、サルコペニア病態の誘導を確認した。次に、筋線維サブタイプの組成が異なる 2 つの下肢骨格筋の筋断面積変化を評価した。その結果、2/3 Nx + UUO モデルでは、酸化系筋線維が豊富な骨格筋（ヒラメ筋、前脛骨筋深部）において筋断面積が有意に減少した。一方で解糖系筋線維が豊富な骨格筋（長趾伸筋、前脛骨筋表層部）の筋断面積はほとんど変化が認められなかった。さらに、筋線維サブタイプごとの筋線維サイズ変化について MyHC アイソフォームに基づく解析の結果、酸化系筋線維である MyHC I 及び IIa が有意に萎縮し、酸化系筋線維の筋線維サブタイプ構成が減少することが明らかになった。

以上の結果より、2/3 Nx + UUO モデルは、遠隔臓器への TGF- β 及び IS の効率的な波及により、臨床病態に即した腎-遠隔臓器クロストークを再現することで、加速的に進行する CKD に伴う遠隔臓器障害モデルを構築した。さらに、CKD 誘発サルコペニアでは酸化系筋線維である MyHC I 及び IIa が優先的に萎縮し、筋線維サブタイプの構成比が攪乱されることが明らかになった。

2-2. CKD 誘発サルコペニアの筋萎縮機序の解明

骨格筋は人体の約半分を占め、姿勢維持や運動において必要不可欠である。近年、骨格筋はマイオカインと呼ばれる因子を分泌し全身の代謝恒常性を調節する役割を担っていることが明らかになってきた。そのため、骨格筋の量や機能の維持が生体恒常性を維持する上で重要な機能を果たすと考えられる。骨格筋は複数の筋線維で構成され、収縮特性や代謝特性に基づき 4 つの筋線維タイプ（MyHC I, IIa, IIb, IIx）に分類される。CKD 患者では筋線維タイプの構成が I 型から IIb 型に移行し、それに伴って持久運動能が低下すると報告されているがその詳細な機序は不明である。

前章では、CKDにおける遠隔臓器障害の主要な因子として腎線維化の主要な病理因子である TGF- β を明らかにした。現在までに明らかになっていることとして、TGF- β は骨格筋に対して筋分化抑制作用を示すことが報告されている。したがって、CKD 誘発サルコペニアにおいて腎臓の線維化に伴って過剰産生された TGF- β が関与している可能性が考えられるが、その影響や機序は十分に明らかにされていない。そこで本研究では、TGF- β が CKD に伴う筋線維サブタイプ構成変化の病理因子であると仮説を立て、TGF- β と CKD 誘発サルコペニアの関係性を検証した。

まず、骨格筋細胞モデルであるマウス筋芽細胞 (C2C12 細胞) を用いて CKD マウス血漿の添加実験によって、血液中の筋萎縮誘導因子の絞り込みを行った。具体的には分子サイズ分画血漿 (低分子, <3 kDa; 中高分子, $\geq$ 3 kDa)、熱不活化処理血漿 (100°C, 15 分) 及び TGF- β 受容体阻害剤 (R-268712, 2.5 nM) の検討を行った。その結果、TGF- β が MyHC IIa の発現制御に関与していることを確認し、CKD 誘発サルコペニアの筋萎縮に関与する可能性が示された。そこで次に、*in vivo* において骨格筋に対する TGF- β の影響を評価するために、健常マウスに対して TGF- β (50 ng/day) を腹腔内投与したところ、投与開始から 4 週間後において体重及びヒラメ筋重量が有意に減少した。また、MyHC アイソフォームに基づく筋萎縮病態解析により、TGF- β 投与は MyHC I 及び IIa を優先的に萎縮し、CKD モデルと同様な筋線維サブタイプ構成の攪乱が認められた。さらに、CKD マウス (2/3 Nx + UUO) に対して TGF- β 受容体阻害剤 (R-268712, 3 mg/kg/day) を投与したところ、投与開始から 4 週間後において CKD に伴う体重及び筋重量の減少が抑制された。また、CKD 病態下で誘導される MyHC I 及び IIa の萎縮が TGF- β 受容体阻害剤投与により抑制され、筋線維サブタイプ構成の攪乱が抑制された。同時に、CKD 病態で認められた持久運動能の低下も抑制され、CKD 誘発サルコペニアにおける TGF- β の関与を明らかにした。加えて、CKD 誘発サルコペニアの治療において筋線維サブタイプ構成を正常に保つことの有用性が示唆された。以上の結果より、TGF- β は CKD 誘発サルコペニアで認められる MyHC I 及び IIa の萎縮誘導を制御する因子の一つであり、筋線維サブタイプ構成の攪乱に伴い運動機能の低下を誘導することを明らかにした。したがって、TGF- β が CKD 誘発サルコペニアの治療標的となる可能性を示唆した。

2-3. miR-206 を介した CKD 誘発サルコペニア治療の提案

前章までの検討において、TGF- β が CKD 誘発サルコペニアにおける優先的な酸化系筋線維の萎縮に関与することを明らかにし、治療標的となる可能性の一端を示した。しかし、TGF- β は多臓器に発現し、免疫や組織修復など正常な生物学的プロセスも担っているため、TGF- β を標的とした治療戦略の構築は困難である。したがって、骨格筋に特異的な機序に基づく治療戦略の構築が必要である。近年、骨格筋の遅筋表現型の決定において microRNA が関与していることが報告されている。骨格筋において発現の高い筋原性 microRNA (myomiR) の一つに miR-206 があり、TGF- β は miR-206 の発現を抑制することが報告されている。したがって CKD によって過剰産生された TGF- β が骨格筋における miR-206 の発現調節を介して遅筋型筋線維の表現型構成を乱している可能性があるのではないかと考えた。そこで本研究では、CKD 誘発サルコペニアにおける miR-206 の関与と miR-206 の CKD 誘発サルコペニア治療戦略としての有用性を評価

した。

CKD マウス (2/3 Nx + UUO) の前脛骨筋における myomiR の発現解析の結果、miR-206 の発現が有意に減少していた。さらに、酸化系筋線維合成経路関連遺伝子 (*Hdac4*, *Mef2*) および分化関連遺伝子 (*Pax7*, *MyoD*, *Myogenin*) の抑制が認められた。また、miR-206 により制御を受ける遺伝子 (*Hdac4*, *Pax7*) の発現が増加した。これらのことから、CKD に伴う酸化系筋線維萎縮に対する miR-206 の関与が示唆された。次に、miR-206 を過剰発現させた C2C12 細胞では MyHC I, II a, II b の発現が有意に増加し、CKD マウス血漿存在下では MyHC I の発現が増加した。さらに、CKD マウスに対して miR-206 (0.17 nmol/前脛骨筋/week) を筋注投与したところ、投与開始から 4 週間後において筋力は有意に増加し、miR-206 を筋注した骨格筋部位の筋量はわずかに増加した。また、miR-206 投与によって酸化系筋線維である MyHC II a の萎縮が抑制された。以上の結果より、CKD 誘発サルコペニアにおいて骨格筋における miR-206 の発現低下が酸化系筋線維優先的な萎縮病態機序の一端であることを明らかにし、miR-206 が CKD 誘発サルコペニアの治療標的の一つとなる可能性を見出した。

本研究では、CKD 誘発サルコペニアに特徴的な骨格筋の酸化系表現型の減少に着目し、CKD 誘発サルコペニアにおける酸化系筋線維の萎縮機序の解明並びに治療戦略の提案を試みた。まず、遠隔臓器障害を加速的に進行させる新規 CKD モデルを開発した。この新規 CKD モデルを用いた筋萎縮病態の検討により、CKD 誘発サルコペニアは尿毒症物質及び腎線維化因子の全身への蓄積を介して優先的に酸化系筋線維である MyHC I 及び II a を萎縮誘導することを明らかにした。次に、CKD 病態における酸化系筋線維萎縮の制御因子として TGF- β を *in vitro* により絞り込み、健常マウスに対する TGF- β 投与実験および CKD マウスへの TGF- β 阻害剤投与実験により明らかにした。また筋線維サブタイプ構成の攪乱を抑制することで運動機能の低下も抑制し、筋線維サブタイプ構成を正常に保つことが CKD 誘発サルコペニアの治療において重要である可能性を示した。最後に、*in vitro* 及び *in vivo* 実験において、CKD 誘発サルコペニアにおける miR-206 の関与を明らかにし、miR-206 の補充が CKD に伴う酸化系筋線維の萎縮を抑制することを明らかにした。

以上より、CKD 誘発サルコペニアに伴う酸化系筋線維の萎縮誘導因子の一つとして TGF- β を確認し、その下流制御因子である miR-206 が CKD 誘発サルコペニアの治療標的になり得る可能性を明らかにした。加えて、CKD 誘発サルコペニアの治療戦略として破綻した筋線維サブタイプ構成の正常化が重要であることを示した。これらの知見は、CKD 誘発サルコペニアにおける新たな筋萎縮機序及び治療戦略を提供するものであり、将来的なサルコペニア治療への貢献が期待される。

論文審査結果の要旨

1. 審査概要及び判定結果

2024年1月31日に実施された審査委員会では、まず申請者が約25分間のプレゼンテーションを行い、その後約40分間の質疑応答を行なった。最後に、申請者が退出して、審査委員による協議を行なった。

審査委員からの「CKDモデル骨格筋におけるmiR-206の発現やPAX7とHDAC4のmRNA発現量を検証しているが、これらの変化は生体内現象としてどのくらいの影響があるものなのか。また、PAX7とHDAC4のタンパク質レベルでの発現はどうか。」という質問に対し、申請者は「まず、HDAC4の発現はタンパク質レベルで増加を確認しているが、PAX7はタンパク質レベルで検証を行っていない。miR-206の発現減少に関しては、酸化系筋線維の減少を反映した結果であると考えている。実際、解糖系筋線維により構成される長趾伸筋と酸化系筋線維で構成されるヒラメ筋におけるmiR-206の発現量の検証では、ヒラメ筋におけるmiR-206の発現量が長趾伸筋に比べて約8倍多く、miR-206の発現量が酸化系筋線維の豊富さを反映していた。それに対して今回のCKDモデルにおけるmiR-206発現は75%に減少しており、酸化系筋線維の萎縮病態を反映した妥当な変化であると考えられる。また、CKD患者の血液中ではmiR-206発現量が低下することが報告されていることから、CKD患者における骨格筋miR-206の減少は妥当であると考えている。」と回答した。

審査委員からの「microRNAの投与は臨床的に可能か。また、microRNA投与による毒性や全身臓器への移行性などはどうか。」という質問に対し、申請者は「microRNAは治療薬として臨床応用できる可能性があると考えられている。現在までに、microRNAの補充を目的としたmicroRNA mimic投与に関する臨床試験はいくつか実施されており、microRNAを基盤とした治療の臨床応用は期待されている。また、今回注目したmyomiRは骨格筋特異的に発現するmicroRNAであることから、骨格筋特異的な作用が期待できると考えられる。」と回答した。

審査委員からの「本研究で使用しているTGF- β 阻害剤はどのような阻害剤か。TGF- β 中和抗体のようにTGF- β 自体を直接阻害するものか。」という質問に対し、申請者は「TGF- β 阻害剤としてTGF- β 受容体1(=ALK5)阻害剤であるR-268712を使用した。TGF- β 中和抗体ではなく、TGF- β 受容体の阻害剤である。」と回答した。

審査委員からの「TGF- β 阻害剤は臨床応用されていないのか。」という質問に対し、申請者は「TGF- β 阻害剤は、臨床応用されていない。TGF- β は様々な臓器に発現する免疫抑制性サイトカインであり、損傷・治癒などの幅広い働きを担っているため、TGF- β 阻害剤の臨床応用は困難である。」と回答した。

審査委員からの「この研究における最もオリジナルなところはどこですか。新規CKDモデルを作製したことが最もインパクトのある仕事なのか。」という質問に対し、申請者は「本研究における一番の成果は、TGF- β 阻害剤投与はCKDマウスにおける酸化系筋線維の萎縮を抑制し、同時に運動機能の低下を抑制させることを明らかにしたことで、TGF- β がCKD誘発サルコペニアにおいて重要な制御因子であることを明らかにした点である。新規CKDモデルは、CKDに伴うサルコペニアを加速的に誘導可能にしたCKDモデルであり、筋萎縮病態

を短期間で検証可能にしたことはインパクトがある。しかし、既存の CKD モデルにおいても時間をかければ同様の現象が確認できると考えている。」と回答した。

審査委員からの「C2C12 細胞で添加した健常マウス血漿と CKD マウス血漿における IS や TGF- β 量はどのくらいか」という質問に対し、申請者は「健常マウス血漿と CKD マウス血漿において、IS 濃度はそれぞれ $8.17 \pm 4.3 \mu\text{M}$ 、 $26.4 \pm 5.9 \mu\text{M}$ 、TGF- β 濃度はそれぞれ $3.72 \pm 1.1 \text{ ng/mL}$ 、 $4.42 \pm 1.7 \text{ ng/mL}$ であった。」と回答した。

審査委員からの「TGF- β の活性化という表現ではなく、TGF- β の過剰発現と表現したほうが良いのではないか。」という質問に対し、申請者は「表現方法を TGF- β の過剰発現に変更する。」と回答した。

審査委員からの「発表上の表現方法として、2 つの CKD モデルの掛け合わせ、という表現はトランスジェニックマウスやノックアウトマウスの掛け合わせのような印象を受けてしまうので、言い方を考えた方が良い。」という質問に対し、申請者は「表現方法を 2 つの CKD モデルの組み合わせに変更する。」と回答した。

審査委員からの「PAX7 や HDAC4 が発現している細胞は何か。」という質問に対し、申請者は「PAX7 は衛星細胞、HDAC4 は衛星細胞と筋管細胞に発現している。」と回答した。

審査委員からの「PAX7 や HDAC4 はサテライト細胞等で発現しているとのことだが、この CKD モデルにおけるサテライト細胞や筋芽細胞の変化はどのような状態か。筋肉は萎縮しているのか。PAX7 が増えているとはどういうことか。」という質問に対し、申請者は「サテライト細胞における PAX7 及び HDAC4 の発現変化は検証していない。本研究では、骨格筋における PAX7 の遺伝子発現量の増加並びに HDAC4 のタンパク質発現の増加を確認した。今回、CKD 病態の骨格筋においてはサテライト細胞マーカーである PAX7 の遺伝子発現増加に加え、筋芽細胞の分化マーカーである myoD 及び myogenin の遺伝子発現の減少が確認されている。そのため、CKD 病態では筋芽細胞は分化抑制状態にあり、サテライト細胞は休止状態にある細胞が多い状態であると予測され、骨格筋組織全体として評価すると筋分化が抑制状態にあることで、正常マウスと比較すると萎縮が誘導された状態にあると予測される。」と回答した。

審査委員からの「今回の検証における筋タイプの変化は、筋線維 1 本 1 本の性質が変わることか、筋肉における筋線維の組成や筋線維サブタイプの比率や面積が変わることか。」という質問に対し、申請者は「今回の現象に関しては、筋線維の性質変化は生じず、筋肉における筋線維の組成や筋線維サブタイプの比率や面積が変わることを示している。」と回答した。

審査委員からの「C2C12 細胞を用いた実験では、萎縮を見ているのか、分化を見ているのか。in vitro で萎縮を見る実験はしなかったのか。」という質問に対し、申請者は「本研究における細胞実験では、実験プロセスから判断すると分化過程を見ている。C2C12 細胞を用いた実験では、分化 2 日目と 6 日目における TGF- β 添加実験を実施し、TGF- β の筋分化と筋萎縮への影響を検証した。分化 2 日目の TGF- β 添加では筋線維タイプの発現が変化した。分化成熟した分化 6 日目の細胞を用いた TGF- β 添加実験では筋線維タイプ発現の変化が認められなかった。つまり TGF- β による萎縮作用はなく分化抑制作用のみが確認された。」と回答した。

審査委員からの「先行研究では、miR-206 は骨格筋に発現している microRNA であるが、作用点として神経終末に働いている報告がある。CKD モデルにおいて腎臓からの尿毒症物質や

TGF- β が何らかの神経細胞に作用を及ぼすことによって骨格筋萎縮を誘導している可能性はあるか」という質問に対し、申請者は「今回、miR-206 や尿毒症物質、TGF- β が神経系に及ぼす影響に関しては検証していない。尿毒症物質と TGF- β が神経系に及ぼす影響に関する報告は把握できていないが、これまでに尿毒症物質と TGF- β の運動神経との関連について報告したものはない。今回の実験では早期 CKD 病態を検証したことから、神経作用はなかったと考えているが、長期的には筋線維タイプ変換が見られることから神経作用をもつ可能性がある。」と回答した。

審査委員からの「新規 CKD モデルの名前の付け方に関して、腎臓全体で見ると 2/6 (=1/3) 腎摘出なので 2/3Nx+UUO モデルではなく、1/3Nx+UUO モデルではないか。」という質問に対し、申請者は「今回は右腎の 2/3 腎摘出 (2/3Nx) と左腎の尿管結紮 (UUO) から、2/3Nx+UUO モデルと名付けた。」と回答した。

上記に加えて、審査委員より、プレゼンテーションに関して以下のアドバイスがあった。臓器としての骨格筋の話をしているのか、筋線維 1 本 1 本の話をしているのか言葉の使い方が曖昧であるため、表現を工夫したほうが理解しやすくなると助言を受けた。また、中間審査での指摘に誠実に対応した点、また発表スライドの構成・説明が建設的であり、全体的な流れが分かりやすくなった点が評価された。

公聴会において、審査委員からの「I 型筋線維が豊富なヒラメ筋に miR-206 を投与する検討は行ったか」という問いに対し、申請者は「ヒラメ筋は腓腹筋深部に存在しており、技術的に投与が困難であったため実施していない。」と回答した。この回答に対し、審査委員から「骨格筋の周囲に投与することで筋全体に作用させて、筋線維サブタイプ特異的な抗体を用いて解析することで検証することも可能である。」とアドバイスを頂いた。

本研究は、CKD 誘発サルコペニアにおける酸化系筋線維の優先的な萎縮において、CKD の病理因子である TGF- β が関与することを明らかにし、さらにその下流制御因子である miR-206 が CKD 誘発サルコペニアの治療標的になり得る可能性を明らかにした。加えて、CKD 誘発サルコペニアにおいて破綻した筋線維サブタイプ構成を正常化することが骨格筋機能の低下抑制に繋がることを示した。これらの知見は、CKD 誘発サルコペニアにおける新たな筋萎縮機序の解明と新規治療戦略を提供するものである。

申請者は、審査会および博士論文公聴会における質問やコメントに対して、丁寧且つ適切に回答しており、本研究およびその関連領域に対する知識と理解は、ほぼ満足できるものであった。

以上より、申請者は博士（薬学）学位に十分値するものと評価された。

論文目録

Homma K, Enoki Y, Uchida S, Taguchi K, Matsumoto K. A combination of 5/6-nephrectomy and unilateral ureteral obstruction model accelerates progression of remote organ fibrosis in chronic kidney disease. *FASEB BioAdvances*. 2023;5(10):377-94.