

学位論文内容の要旨

論文提出者氏名	論文審査担当者
下村 裕章	主査 教授 北 浦 泰 副査 教授 勝 間 田 敬 弘 副査 教授 芝 山 雄 老 副査 教授 大 槻 勝 紀 副査 教授 森 浩 志
主論文題名 Autophagic Degeneration as a Possible Mechanism of Myocardial Cell Death in Dilated Cardiomyopathy (拡張型心筋症におけるオートファジー変性による心筋細胞死の可能性)	
学位論文内容の要旨	
<p>《研究目的》</p> <p>拡張型心筋症(DCM)患者の心筋細胞ではしばしば高度の空胞変性や筋原線維の粗少化、さらに置換性線維化など心筋細胞死や脱落を示唆する所見がみられる。しかし、典型的なアポトーシス像が観察されず、心筋細胞死の機序について十分には明らかにされていない。また、本症患者の心筋細胞におけるリソソーム活性亢進や虚血心の心筋細胞死に際してミトコンドリアなどの細胞内小器官を含むオートファジー空胞の増加が報告されている。</p> <p>そこで、本症患者の切除心筋を用いて、心筋細胞の変性・細胞死にオートファジー機序が関与するかどうかを検討した。</p> <p>《対象および方法》</p> <p>DCM 27 症例(男性 20 名、女性 7 名、年齢 47±14 歳)の左室形成術による切除心筋および非心疾患による死亡剖検例 5 症例の剖検心について、光顕、電顕、免疫組織化学を用いて心筋細胞変性とリソソーム関連蛋白質の発現について検討した。光顕的観察はヘマトキシリン-エオジン染色について行い、電顕的観察は 0.2%グルタルアルデヒド固定、エポン包埋の後に心筋の超薄切片を作製し、酢酸ウランとクエン酸鉛による二重染色標本について行った。また、リソソーム酵素であるカテプシン D およびリソソーム膜タンパクの Lysosomal membrane protein-1 (LAMP-1) については、それぞれの抗体を使用し Avidin-biotin peroxidase complex 法により免疫染色を行い、光顕的に観察した。さらにカテプシン D 発現について NIH image ソフトウェアを用いて定量解析を行った。すなわち、撮影倍率 100 倍の免疫染色画像について、間質を除く心筋実質部分に占めるカテプシン D 染色陽性細胞質の割合を求め、非心疾患のそれと比較した(student <i>t</i> 検定)。</p> <p>《結 果》</p> <p>DCM 患者の心筋細胞において筋原線維の粗少化および著明な空胞変性がみられ、間質の線維化巣近傍ではしばしば変性や萎縮した心筋細胞が認められた。</p> <p>電顕的検索では、筋原線維の融解やミトコンドリアの膨化、クリスタの崩壊など細胞内小器官の変性像がみられ、また、ミエリン様物質の集簇も認められた。変性心筋細胞内にはしばしば大きな空胞が多</p>	

数観察された。これらの空胞は、一枚の膜構造で包まれ、融解した筋原線維や変性した細胞内小器官の近傍に観察された。さらに、その内部にときに細胞内小器官が存在した。核膜はしばしば複雑に陥入し、偽空胞を形成するが、アポトーシスにみられるクロマチンの凝縮は観察されなかった。また、変性心筋細胞において、ネクローシスで観察される形質膜や基底膜の断裂は認めなかった。カテプシンDおよびLAMP-1の発現は共に正常心筋において軽微であったが、DCM患者の萎縮あるいは変性した心筋細胞では細胞質と核近傍の顆粒に発現がみられ、特に空胞において著明であった。心筋におけるカテプシンD発現部分の面積比率は正常心筋で $6.20 \pm 2.04\%$ 、DCM心筋で $18.18 \pm 5.79\%$ とDCM心筋において比率が高かった($p < 0.001$)。

《考 察》

DCM患者の心筋細胞、特に変性した細胞では空胞変性が著明で、空胞は一重膜で包まれ、内部に細胞内小器官が存在することより、これらはオートファジー空胞と考えられる。また、高度に空胞変性を来した心筋細胞でも細胞膜が保たれ、核のクロマチンに凝縮がみられないことなどより、細胞死の機序としてアポトーシスやネクローシスは否定的と考えられる。

これらの所見に加えてリソソーム酵素や関連蛋白質の発現が亢進し、心筋細胞内の空胞に著明なことなどより、DCMの心筋細胞死においてはオートファジー変性が主な機序と推定される。

しかし、カテプシンDの発現亢進があり、カテプシンDがアポトーシスの誘導に関与するとの報告があるため、オートファジー変性がアポトーシスの過程の一部なのかアポトーシスとは独立した過程であるのかに関しては今後の検討が必要である。

《結 論》

DCM患者心筋における心筋細胞死の主な機序としてオートファジー変性が示唆され、オートファジー変性が本症の発症・進展に関与している可能性が考えられた。

審査結果の要旨および担当者

報告番号	乙 第 号	氏 名	下村 裕章
論文審査担当者		主 査 教授 北 浦 泰 副 査 教授 勝 間 田 敬 弘 副 査 教授 芝 山 雄 老 副 査 教授 大 槻 勝 紀 副 査 教授 森 浩 志	
主論文題名 Autophagic Degeneration as a Possible Mechanism of Myocardial Cell Death in Dilated Cardiomyopathy (拡張型心筋症におけるオートファジー変性による心筋細胞死の可能性)			
論文審査結果の要旨			
<p>拡張型心筋症 (DCM) 患者の心筋細胞に細胞死が推測されるにもかかわらず典型的なアポトーシス像が観察されないことより、申請者は心筋細胞死にオートファジー変性が関与しているのではないかと考え、以下の研究を行っている。</p> <p>DCM 患者の左室形成術に際して得た切除心筋について光顕、電顕および免疫組織化学による検索を行い、非心疾患患者の剖検心筋と比較して以下の結果を得ている。</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. 光顕で DCM 患者心筋において、しばしば空胞変性が著明な心筋細胞がみられ、線維化巣内および近傍で頻度が高く程度も強かった。 2. 電顕で変性した心筋細胞の細胞質内に多数のオートファジー空胞が観察されたが、典型的なアポトーシス像はみられなかった。 3. 免疫組織化学的にはリソソーム酵素であるカタペシン D とリソソーム膜蛋白質である Lysosomal membrane protein-1 (LAMP-1) の発現は DCM 患者の変性・萎縮した心筋細胞に高度で、特に細胞内の空胞に著しかった。 <p>以上の結果は、DCM 患者心筋細胞の光顕・電顕的観察より本症患者の心筋細胞死にオートファジー変性機序が関与していることを示唆し、変性心筋細胞およびその細胞内小器官におけるリソソーム関連蛋白質発現亢進はこれを支持すると考えられる。</p> <p>本研究は DCM における心筋細胞死の機序を検討したもので、オートファジー変性が主な心筋細胞変性・細胞死の機序であることを示唆するもので、本症の病因および進展機序に重要な知見を与えるものである。</p> <p>以上より、本論文は本学学位規程第3条第2項に定める所の博士(医学)の学位を授与するに値するものと認める。</p> <p>(主論文公表誌) Japanese Circulation Journal 65(11): 965-968, 2001</p>			