



Title	ミトコンドリア脳筋症におけるミトコンドリア内膜電子伝達系の解析
Author(s)	依藤, 史郎
Citation	大阪大学, 1986, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/35580">https://hdl.handle.net/11094/35580</a>
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed</a> 大阪大学の博士論文について

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

## 【19】

氏名・(本籍)	依	藤	史	郎
学位の種類	医	学	博	士
学位記番号	第	7345	号	
学位授与の日付	昭和	61年	5月	12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	ミトコンドリア脳筋症におけるミトコンドリア内膜電子伝達系 の解析			
論文審査委員	(主査) 教 授	垂井清一郎		
	(副査) 教 授	鎌田 武信	教 授	田川 邦夫

## 論文内容の要旨

## [目的]

ミトコンドリア内膜電子伝達系の障害によるencephalopathy, myopathyの存在が近年主として形態的検討より明らかになってきた。一方ミトコンドリアの生化学的分析は従来ミトコンドリアを単離してシトクロムを分光分析し、酸素電極で酸素消費をみる方法が行われてきた。しかしながらこの方法は臨床的に生検にて得られる検体の量的な制限のためスクリーニングとして行うことが不可能であり多くのmitochondrial encephalopathyの生化学的障害部位は不明のままで残されていた。そこで臨床的に適切と考えられた方法は、ミトコンドリア内膜電子伝達系のI, II, III, IVの4つの複合体活性を測定することである。そこで本研究では、生検筋での複合体活性の測定条件を決定し、これに従ってmitochondrial encephalomyopathyの代表的な疾患ともいえるKearns-Sayre症候群のミトコンドリアエネルギー代謝を分析した。

## [方 法]

- 症例：Kearns-Sayre症候群の3主徴である慢性進行性外眼筋麻痺、網膜変性、心伝導障害をすべて伴った完全型3名、心伝導障害を欠く不全型2名、合計5名である。全例に難聴を、1例に小脳性失調を認めた。
- 形態学的検討：大腿四頭筋より得た生検筋をドライアイスイソペンタンにて凍結後クリオスタッフにて薄切りし、Gomori trichrome染色及び組織化学染色としてNADH-tetrazolium reductase, succinate dehydrogenase染色等を行った。また生検筋の一部はグルタルアルデヒド固定を行い電顕用検索に供した。得られた電顕写真よりpoint fraction stereometryによりミトコンドリアのmor-

phometryを行った。

3. 生化学的分析：好気的運動負荷テストとして、エルゴメーターを15分間、15ワットでこがせ、その間経時に採血し乳酸、ピルビン酸を測定した。生検筋は、緩衝液でhomogenize後 $650 \times g$ で15分間遠心した上清を用いてミトコンドリア内膜電子伝達系の複合体I, II, III, IV及びI+III, II+III, succinate dehydrogenase活性を測定した。複合体I, 及びI+IIIはそれぞれ特異的な阻害剤に感受性を示す活性値を求めた。さらにミトコンドリア蛋白量は遠心分離にてミトコンドリア分画を得、Lowry法で測定し回収率をcytochrome c oxidase活性により求めて補正した。ミトコンドリア分画は、SDS-PAGEで電気泳動しそのパターンを正常対照と比較した。

#### [成 績]

##### 1. 形態学的検討

全例光顕にて所謂ragged red fiberを認めた。電顕所見でも巨大なミトコンドリアや正常生検筋ではみられない結晶様封入体を持つミトコンドリアを認めた。morphometryによるミトコンドリアfractionは正常対照の2.4倍に増加していた。

##### 2. 生化学的検討

エルゴメーターによるごく軽度の運動負荷にても血中乳酸、ピルビン酸及び乳酸／ピルビン酸比は正常対照に比し有意に上昇し、ミトコンドリア内膜電子伝達系の障害が示唆された。骨格筋ミトコンドリア内膜電子伝達系の各複合体の活性は湿重量当たりでは正常対照との間に差を認めなかった。しかしながらミトコンドリアが、蛋白量として2.2倍に増加しており、またSDS-PAGEによるミトコンドリア分画の電気泳動パターンには対照との間に差がみられなかった。生化学的および形態学的所見の結果を総合すると組織内のミトコンドリア数は明らかに増加していることが示された。以上の結果にもとづき内膜電子伝達系の各複合体活性をミトコンドリア蛋白当たりで求めると全般的な低下がみられ、特に複合体I, II, IVは統計的に有意に低下していることが明らかとなった。

#### [総 括]

1. Kearns-Sayre症候群と診断された5例の生検筋を用いて、ミトコンドリア内膜電子伝達系を分析した。
2. 組織当たりのミトコンドリア数は、形態学的にも生化学的にも増加していることが示された。
3. ミトコンドリア内膜電子伝達系のI, II, III, IVの各複合体活性を測定したところミトコンドリア当たりの活性は全般的な低下を示し、特にI, II, IVは有意に低下していた。
4. 本症候群では、ミトコンドリアが特殊な原因で変性しエネルギー産生の低下がおこり、それを補うため代償性にミトコンドリアが増加し組織全体としての内膜電子伝達系活性を保持している可能性が示唆された。

## 論文の審査結果の要旨

本論文では、まず従来原因不明であった疾患のなかからミトコンドリア脳筋症を臨床的にスクリーニングする方法として、生検筋を用いるミトコンドリア内膜電子伝達系複合体活性の系統的な測定法を開発した。つづいて本症を用いミトコンドリア脳筋症の代表的疾患であるKearns-Sayre症候群5例につき分析したところ、ミトコンドリアの増加にもかかわらずミトコンドリア当りの各複合体活性は全般的に低下していることが明らかとなった。すなわち新たに開発したミトコンドリア内膜電子伝達系異常の分析法を用いKearns-Sayre症候群における骨格筋の性状を解明した本研究は、博士論文に値すると判断される。