The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	“All-or-none” cytochrome c oxidase positivity in mitochondria in chronic progressive external ophthalmoplegia : an ultrastructural-cytochemical study
Author(s)	松岡, 太郎
Citation	大阪大学, 1996, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/40305
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、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

【 21 】

氏　　名	松（まつ）　岡（おか）　太（た）　郎（ろう）
博士の専攻分野の名称	博　　士（医　　学）
学 位 記 番 号	第　12654　号
学位授与年月日	平成 8 年 7 月 8 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 2 項該当
学 位 論 文 名	"All-or-none" cytochrome c oxidase positivity in mitochondria in chronic progressive external ophthalmoplegia : an ultrastructural-cytochemical study （慢性進行性外眼筋麻痺のミトコンドリアにおけるチトクローム c 酸化酵素活性の"全か無か"の発現について：電顕細胞化学的検討）
論 文 審 査 委 員	（主査） 教 授　岡田伸太郎 （副査） 教 授　松沢　佑次　　教 授　柳原　武彦

論 文 内 容 の 要 旨

〔目　的〕

ミトコンドリア脳筋症の三大病型のひとつである慢性進行性外眼筋麻痺（CPEO ; Kearns-Sayre 症候群を含む）の骨格筋では，しばしば，正常なミトコンドリア DNA（mtDNA）と欠失をもつ mtDNA とが混在していることが報告されてきた。筆者らは先に，筋線維ときほぐし法を用いて，欠失をもつ mtDNA 陽性の CPEO 患者 6 例の骨格筋を光学顕微鏡にて検索し，①全ての症例で，チトクローム *c* 酸化酵素（CCO）活性陽性部と陰性部とが節状に分布する単一筋線維がみられること，② CCO 活性陽性部と陰性部との境界は鮮明であること，そして③ CCO 活性陰性部の割合は，欠失をもつ mtDNA の比率と正の相関を示すこと，を報告した。今回筆者らは，CPEO の病態をより明らかにする目的で，この筋線維ときほぐし法でえられた筋線維を電子顕微鏡にて観察した。

〔方　法〕

臨床症状，筋病理組織所見より診断された CPEO 6 例を対象とした。生検骨格筋（上腕二頭筋）の凍結横断切片にて ragged-red fiber および CCO 部分欠損の所見を全例に認めた。Southern 法による筋 mtDNA の分析では全例に欠失をもつ mtDNA を認めた。筋生検の結果，神経筋疾患とは診断されなかった 3 例を対照とした。

生検筋（長さ 1 cm）を 2 %グルタールアルデヒド溶液（0.05 M リン酸緩衝溶液内，pH 7.4）で10分間固定した。実体顕微鏡下でこの生検筋をピンセットを用いて数本ずつの筋線維よりなる筋束にときほぐした後，Seligman らの方法により CCO 染色した。染色後，再びピンセットを用いて一本一本の筋線維にまでときほぐし，実体顕微鏡にて観察した。一本の筋線維上に分布する CCO 活性陽性部と陰性部を切り出し，それぞれ別々に OsO_4 で後固定し，脱水，エポン包埋した。超薄切片を作製し，ウラニール染色を行い，電子顕微鏡にて観察した。

〔成　績〕

1）対照骨格筋では，数%のものを除き大部分のミトコンドリアが CCO 活性陽性に染まった。ミトコンドリアの形態に有意の異常はなかった。

2）CPEO 患者骨格筋の CCO 活性陽性部では，数%のものを除き大部分のミトコンドリアが CCO 活性陽性に染まっ

た。一例でミトコンドリアの異常な集積を認めたが，形態異常は例外的で，対照と有意な差はなかった。

3）CPEO 患者骨格筋の CCO 活性陰性部では，形態的に正常な区域に混じって，異常な集積などミトコンドリアの形態異常が明らかな区域が点在していた。形態異常の有無にかかわらず，全てのミトコンドリアは CCO 活性染色されなかった。

〔総　括〕

CPEO 患者骨格筋の CCO 活性陽性部，陰性部それぞれのミトコンドリアの染色性にバラツキは少なく（CCO 活性に節内モザイクの所見は乏しく），一本の筋線維に由来しても二つの部位ははっきり区別できた。また，CCO 活性陰性部で染色性を有さないミトコンドリアの多くは形態的には正常で，CPEO における（少なくても CCO 活性を指標とした）ミトコンドリアの機能異常がその形態異常に先行することが示唆された。CPEO 患者骨格筋では，欠失をもつ mtDNA が局所的に集積していることが in situ hybridization 法で証明されている。今後は CCO 活性の分布と欠失をもつ mtDNA の分布の対応を電顕レベルで検討する必要があると考えられた。

論文審査の結果の要旨

本論文では，ミトコンドリア脳筋症の三大病型のひとつである慢性進行性外眼筋麻痺の患者の生検骨格筋を電顕細胞化学的に検討している。従来は末梢神経で行われていた“とくほぐし法”を初めて骨格筋に応用し，まず光顕的に，慢性進行性外眼筋麻痺の骨格筋では一本の筋線維上にチトクローム *c* 酸化酵素の活性陽性部と陰性部とが節状に分布することを見出した。次に電顕的に，活性陽性部と陰性部では，それぞれのミトコンドリアは全て酵素活性陽性あるいは陰性に染まり，酵素活性に節内モザイクの所見は乏しいことを示した。これは，これに先立ち，細胞融合の手法を用いて *in vitro* の系で証明されていたいわゆる“閾値説”に矛盾しない所見が，*in vivo* においても存在することを初めて示したものである。“ときほぐし法”の骨格筋への応用など，本研究は手法的に独創的で，得られた電顕所見も鮮明で説得力に富む。よって本論文を学位授与に値するものと認める。