

Title	Pathological changes of myocardial cytoskeleton in cardiomyopathic hamster
Author(s)	河口, 直正
Citation	大阪大学, 1999, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/43065
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"〉 大阪大学の博士論文について <a>〉 をご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

氏 名	かわ ぐち なお まさ 河 口 直 正
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	第 1 4 8 2 7 号
学 位 授 与 年 月 日	平 成 11 年 5 月 28 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	Pathological changes of myocardial cytoskeleton in cardio-myopathic hamster (心筋症ハムスターの心筋における細胞骨格の病理学的変化)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 北村 幸彦 (副査) 教 授 的場 梁次 教 授 荻原 俊男

論 文 内 容 の 要 旨

〔目 的〕

心筋症ハムスター UM-X7.1系は、ヒト特発性心筋症のモデル動物として種々の研究に用いられている。このハムスターの平均寿命は約190日(健常ハムスターは約700日)で全て心不全により死亡する。近年、ヒト拡張型心筋症の不全心筋細胞で細胞組織の形態や運動を制御している細胞骨格の形態学的変化についての報告がある。しかし、モデル動物を用いた検討は行われていない。そこで本研究では、心不全期の心筋症ハムスター心筋を用いて細胞骨格の形態学的変化を免疫組織化学的に検討を行い、さらに心筋組織の組織学および形態計測的検討も行った。

〔方 法〕

心不全期の180日齢の心筋症ハムスター UM-X7.1 (UM、♂、n=8) と対照として日齢を一致させた健常ハムスター BIO-RB (CT、♂、n=8) を用いた。摘出した心臓の一部を OCT compound に包埋後、ドライアイス・アセトンで急速凍結した。残りの心臓は10%緩衝ホルマリンで固定しパラフィン包埋した。加えて心尖部の一部の心筋は2%グルタルアルデヒドと1%オスミウムで二重固定しエポンに包埋した。

1. 組織学および形態計測的検討

パラフィン切片を作製しヘマトキシリン・エオジン染色 (HE)、マッソン染色、シリウスレッド染色 (SR) を行った。エポン包埋切片はトルイジンブルー染色 (TB) を施した。

1) HE 染色切片を用いて左室壁厚と左室腔直径をスケール・ルーペで計測し、TB 染色切片を用いて心筋細胞横径をマイクロメータで測定した。

2) SR 染色切片を用いて写真撮影し最終倍率360倍に引き伸ばし221ポイントの形態計測用格子を用いて膠原線維の体積密度を求めた。

2. 免疫組織化学的検討

細胞骨格のデスミンおよび細胞骨格関連タンパクである α -アクチニン、タイチン、ビンキュリンの局在をそれぞれ特異抗体を用いて検討した。4 μ m の凍結切片を作製し、ABC法(蛍光抗体法)を用いて免疫染色を行い蛍光顕微鏡で

観察を行った。

〔成績〕

1. 組織学および形態計測的検討

心重量と心体重比については、いずれも CT 群に比較して UM 群で有意 ($p < 0.01$) に高値であった。UM 群では CT 群に比して左室壁の著明な菲薄化と左室腔の拡張が認められ、左室壁厚・左室腔比は UM 群： 0.16 ± 0.01 、CT 群： 0.30 ± 0.03 と UM 群で有意 ($p < 0.001$) に低値であった。光学顕微鏡による観察では、UM 群の心筋組織で心筋細胞の肥大と萎縮、高度の線維化が認められたが、心筋細胞の融解および肉芽組織の形成は見られなかった。心筋細胞横径 (UM 群： $23.4 \pm 3.9 \mu\text{m}$ 、CT 群： $18.5 \pm 2.3 \mu\text{m}$) と膠原線維の体積 (UM 群： $14.7 \pm 5.2\%$ 、CT 群： $3.6 \pm 1.0\%$) は、いずれも CT 群に比して UM 群で有意 ($p < 0.01$) に高値であった。

2. 免疫組織化学的検討

1) デスミン

CT 群の心筋細胞ではデスミンの特異的蛍光が Z 帯と介在板に認められ、規則正しい横紋構造を呈した。一方、UM 群では CT と同様のデスミンの特異的蛍光が観察されたが、横紋構造は不規則でデスミンの特異的蛍光の増加を示す心筋細胞も認められた。これらの変化は UM の左室および右室心筋に巣状に見られた。

2) α -アクチニンとタイチン

CT 群の心筋細胞において α -アクチニンとタイチンの特異的蛍光は、横紋構造として認められた。これに反して、UM 群の α -アクチニンとタイチンでは横紋構造の破壊または特異的蛍光の消失した心筋細胞が散見され、これらの所見は結合組織に隣接している心筋細胞によく認められた。

3) ビンキュリン

CT 群の心筋細胞では、ビンキュリンの特異的蛍光は介在板と筋鞘に見られた。さらに、心筋細胞内に湾入した T 細管による点状の特異的蛍光を心筋細胞内に認めた。UM 群の心筋細胞でのビンキュリンの特異的蛍光は CT 群と同様に見られたが、肥大した心筋細胞の介在板におけるビンキュリンの増加を認めた。

〔総括〕

心不全期の心筋症ハムスター心筋における心筋組織の組織学および形態計測的検討と細胞骨格蛋白の免疫組織学的変化の検討を行い以下の結果を得た。

1. 肉眼的変化としては心肥大および高度の左室壁の菲薄化と左室腔の拡張が見られ、組織学的には心筋細胞の肥大と心筋線維化が顕著に認められた。

2. デスミンの変化については、規則正しい横紋構造の消失とデスミン線維の増加を認めた。 α -アクチニンとタイチンの変化は横紋構造の破壊または特異的蛍光の消失が見られた。

3. ビンキュリンについては、正常心筋細胞と比して形態学的変化は見られなかったが、肥大した心筋細胞の介在板でビンキュリンの増加を認めた。

これらの結果より、心不全期の心筋症ハムスターの心機能低下に心筋細胞肥大と心筋線維化に加えて細胞骨格の変化も関与している可能性が示唆された。

論文審査の結果の要旨

ヒト特発性心筋症のモデル動物である遺伝性心筋症ハムスターの心不全期の心筋細胞を用いて、細胞の形態維持、運動の制御およびサルコメアを安定化させる細胞骨格とその関連タンパク質であるデスミン、 α -アクチニン、タイチンおよびビンキュリンの変化と心不全期の心筋症との関わりについて免疫組織学的手法を用いて検討した。さらに、心筋組織の形態学および形態計測的手法を用いた検討についても行った。その結果、心筋症ハムスターの心臓において肉眼的には心肥大と高度の左室腔の拡張、組織学的には著明な心筋細胞の肥大と心筋線維化を認めた。細胞骨格

とその関連タンパク質の変化については、正常心筋細胞では、デスミン、 α -アクチニン、タイチンの特異的蛍光は規則正しい横紋構造として見られたが、心筋症ハムスターの心筋細胞では、デスミンについては規則正しい横紋構造の消失とデスミン線維の増加を認め、 α -アクチニンとタイチンの変化は横紋構造の破壊または特異的蛍光の消失が見られた。ピンキュリンについては、肥大した心筋細胞の介在板で増加を認めた。これらの結果により、モデル動物を用いた研究において、うっ血心不全期における心臓の心機能低下に心筋肥大と心筋線維化に加えて細胞骨格とその関連タンパク質も関与していることが示唆された。本研究は、心筋症ハムスターを用いて心不全期の心筋症と細胞骨格の変化との関連について初めて明らかにしたもので、学位の授与に値すると考える。