The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Inhibition of autophagy in the heart induces age-related cardiomyopathy
Author(s)	種池, 学
Citation	大阪大学, 2011, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/58147
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

【56】

氏　　名	種（たね）　池（いけ）　学（まなぶ）
博士の専攻分野の名称	博　士（医　学）
学　位　記　番　号	第　２４３７８　号
学位授与年月日	平成23年3月25日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 医学系研究科内科系臨床医学専攻
学　位　論　文　名	Inhibition of autophagy in the heart induces age-related cardiomyopathy （加齢心におけるオートファジーの重要性）
論文審査委員	（主査） 教　授　小室　一成 （副査） 教　授　岩井　一宏　　教　授　吉森　　保

論文内容の要旨

〔　目　　的　〕

現在、慢性心不全において著効する治療法は未だ開発されておらず、その生命予後は5年生存率50％以下と他の慢性疾患と比しても極めて悪く、主要先進国において最も頻度の高い死因の１つである。また心不全は加齢に伴って発症率が増加する疾患であり、日本では高齢化社会の進行により、慢性心不全の発症が年々増加の一途を辿っている。加齢臓器では変性タンパク質や傷害を受けたミトコンドリア等の細胞内小器官が蓄積しており、これらが加齢による臓器機能の低下に関与している。またタンパク質や細胞内小器官の細胞内蓄積には、分解が低下することが関与していると考えられている。細胞内分解系の一つがオートファジーであり、飢餓時のエネルギー供給のみならず、タンパク質や細胞内小器官の品質維持に寄与している。オートファジーは加齢によって活性が低下することが報告されているとともに、線虫やショウジョウバエでは寿命との関連性が報告されている。オートファジー必須遺伝子であるAtg5の心筋特異的欠損マウスは10週齢において明らかな心機能異常を示さないが圧負荷に対して心機能不全を呈した。従って心臓においてオートファジーは圧負荷に対する防御機構と考えられた。本研究ではこのAtg5欠損マウスを長期に観察することにより心臓老化におけるオートファジーの意義を検討した。

〔　方法ならびに成績　〕

まず、野生型マウス心においてオートファジー活性の分子マーカーであるLC-3の発現をウエスタンブロット法にて評価したところ、加齢に伴いオートファジー活性が低下していた。次に、心筋特異的Atg5欠損マウス(KO)を長期的に観察したところ、10週齢までは明らかな異常を認めなかったが、KOは6ヶ月齢頃から死亡する個体がみられ、平均生存期間は46週であり、対照群と比し有意に短縮していた。10ヶ月齢において組織重量を評価したところ、心重量／脛骨長比、肺重量／脛骨長比がKOで有意に増加していた。また、10ヶ月齢における心臓超音波法による検討ではKOは対照群と比較して有意に心拡大（左室拡張末期径 KO 4.21±0.17 mm、対照群 3.13±0.07 mm、左室収縮末期径 KO 3.24±0.22 mm、対照群 1.56±0.05 mm、$p<0.05$）および心収縮力低下（左室短縮率 KO 23.7±2.20%、対照群 50.2±0.86%、$p<0.05$）をきたしていた。さらに10ヶ月齢の心臓で、組織学的評価において心筋細胞断面積と線維化の増加、および生化学的評価において心筋リモデリングのマーカーであるmRNA（ANP, BNP, skeletal α-actin）の有意な上昇を認めた。これらの結果より、10ヶ月齢のKOでは心機能低下および心不全を発症していることが示された。また、電子顕微鏡による観察では、KOの心臓ではミトコンドリアの配列、大小不同やクリスタの崩壊などの形態異常が認められた。KOの10ヶ月齢で観察される心臓リモデリングの原因を明らかにするため、心機能や構造が正常に保たれている3ヶ月齢の心臓について電子顕微鏡による観察を行ったところ、既に10ヶ月齢と同様のミトコンドリア形態異常を認めた。この形態異常がミトコンドリア機能に影響を及ぼしているのかどうかを調べるため、ミトコンドリア呼吸鎖機能を評価したところ、3ヶ月齢のKO心で有意に低下していた。ミトコンドリアは細胞内における主たる活性酸素種の産生源であることから、酸化ストレスマーカーであるheme oxygenase-1のmRNAやミトコンドリア分画における4-hydroxy-2-nonenalを3ヶ月齢の心臓において評価したところ、KOにて増加していた。また、心不全の原因の一つとして心筋細胞死があげられるため、心筋細胞アポトーシスを評価したところ、KO心にて増加を認めた。この結果から、心臓におけるオートファジー欠損により、ミトコンドリアの形態異常やミトコンドリア呼吸鎖機能の低下、酸化ストレスの増加、心筋細胞死の増加が引き起こされ、心機能低下や心不全を呈した可能性が示唆された。

〔　総　　括　〕

加齢心における構造および機能維持にオートファジーが重要な役割を果たしていることが示された。オートファジーを正に制御することは、加齢に伴う心機能不全を予防する新たな治療対象となる可能性がある。

論文審査の結果の要旨

細胞内分解機構の一つであるオートファジーは、細胞内小器官および蛋白質の品質管理に関与しており、近年、老化との関連性も指摘されてきた。しかし、心臓における加齢とオートファジーの関連は不明であった。

本研究は加齢心におけるオートファジーの役割を検討したものである。発表者は心臓特異的Atg5欠損マウスの長期的な観察を行った。その結果本マウスが加齢に伴い早期に心機能低下および心不全を発症することを見出し、オートファジーが加齢心における心機能維持に保護的作用を有することが示された。またオートファジー抑制によりミトコンドリアの形態異常、ミトコンドリア呼吸鎖酵素活性の低下、酸化ストレスの増加、心筋細胞死の増加が認められ、これらが心機能低下に寄与していることが示唆された。本研究は加齢におけるオートファジーの役割をin vivoで初めて報告したものである。これらの知見は今後の新たな心不全治療開発につながる可能性があると思われる。

以上より、本研究は学位の授与に値すると考えられる。