

オートファジーへの拡張型心筋症への関与解明

大阪大学大学院医学系研究科 循環器内科 助教 山口 修

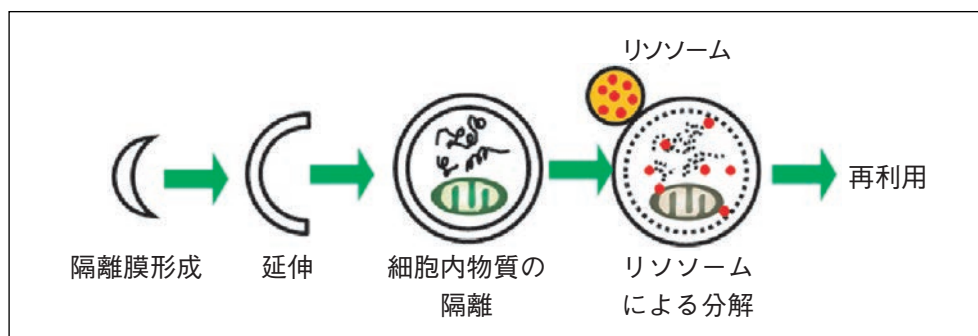


図1 オートファジー概略図

1. 研究開始当初の背景

慢性心不全の生命予後は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。オートファジーとは細胞内分解系の一つであり、細胞内のタンパク質やミトコンドリアなどの細胞内構造を膜で取り囲むことで非選択的に分解し、再合成やエネルギー源として再利用する系である。私たちはこれまで、オートファジー必須分子であるAtg5の心筋細胞特異的欠損マウスを作製解析することで、オートファジーが圧負荷や β 刺激による血行動態ストレスにおいて、心保護的に機能していることを明らかにしてきた。また、心不全患者数は高齢化に伴い増加の一途を辿っている。オートファジー活性が加齢に伴い低下していることが知られており、オートファジー制御を心不全の新規治療に応用することが期待される。

2. 研究の目的

本研究では①心不全患者における重症度とオートファジー活性の相関関係を評価すること、②心不全患者は特に高齢者に多く、加齢に伴いオートファジー活性が低下することが知られている点から、加齢ストレスがオートファジーを介して心不全に及ぼす影響について検討を行い、それらの下流に存在する分子機構を明らかにすること、を目的とした。

3. 研究の方法

(1) 拡張型心筋症患者における心筋生検試料を電子顕微鏡で観察し、オートファゴソーム形成を定量的に評価し、心不全バイオマーカーとして知られるヒト脳性利尿ペプチド (BNP) 血中濃度と比較し、心不全の重症度との相関関係を検討する。

(2) 野生型マウス心臓を用いて、加齢に伴う心臓オートファジー活性変化の検討を行った。次に心筋細胞特異的Atg5ノックアウト (KO) マウスの作製ならびに生存期間の観察を行った。Atg5はオートファジー必須遺伝子の一つであるが、その全身性欠損マウスは生直後に死亡するため、心筋特異的Atg5 KOマウスを作製した。本マウスを12ヶ月齢まで観察し生存曲線を作成した。心機能を検討するため、3ヶ月齢、6ヶ月齢、12ヶ月齢と経時的に本マウスの心エコーを行った。Atg5 KO

マウスのミトコンドリア機能や酸化ストレス、アポトーシス性心筋細胞死の評価を行った。また透過型電子顕微鏡による細胞内微細構造の観察も施行した。

4. 研究の結果

(1) 心筋症患者におけるオートファジー活性はBNPと逆相関にあり、図2に示すような結果となった。すなわち重症心筋症では、心筋保護作用たり得るオートファジーが抑制されており、これが心筋症の悪化原因の一つになっていることが示唆された。

(2) 野生型マウス心における検討により、心臓におけるオートファジー活性は若年マウスと比し6ヶ月齢頃より低下することが明らかとなった。Atg 5 KOマウスは対照群に比し、6ヶ月齢頃より死亡し始め、1年後の生存率は約40%と対照群に比し有意に早期に死亡することが明らかとなった。心臓超音波法による経時的な心機能観察を行った。その結果本マウスは、3ヶ月齢では心機能は正常であったが、6ヶ月齢で左室収縮能低下と左室拡大を来とし、6ヶ月齢以降心不全死に陥ることを見いだした。本マウスで示される左室拡大並びに左室収縮力の低下は経時的に進行することが明らかとなった。すなわちオートファジーは老化に対して心臓保護的機構であることが明らかとなった。電子顕微鏡による細胞内微細構造の検討により、心機能低下出現前の3ヶ月齢から、既に異常ミトコンドリアの蓄積が認められた。更にミトコンドリア呼吸鎖酵素機能低下、酸化ストレスの蓄積、アポトーシス性心筋細胞死の増加を呈していることを見いだした。すなわちオートファジーによる障害ミトコンドリアの除去が加齢に伴う心機能維持に重要であることが示唆された。

図2 BNPとオートファジー

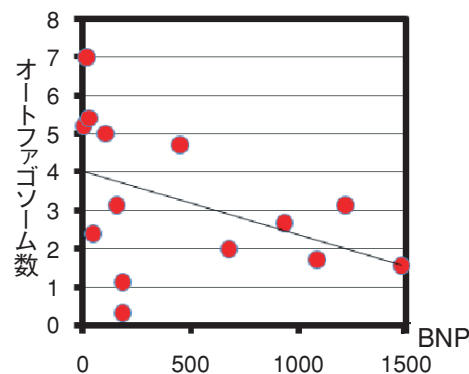
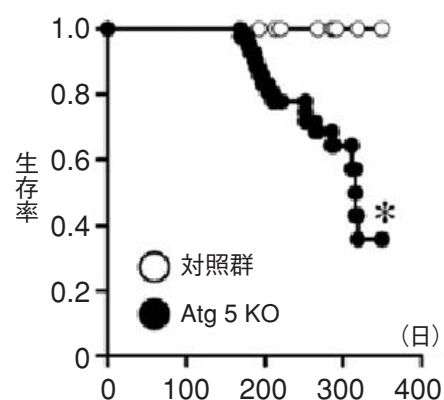


図3 Atg 5 欠損マウスの生存曲線



5. まとめ

以上の結果より、心筋細胞の恒常性維持におけるオートファジーの主要な役割はミトコンドリアの品質管理にあると考えられる。オートファジー活性が加齢と共に低下した結果、細胞内に異常が蓄積し疾患発症に結びつくものと推察される。心不全が高齢者に多く認められていることもこの点に関与する可能性が示唆された。心筋細胞はエネルギー代謝が極めて活発な臓器であり、ミトコンドリア含有量が多い。また心不全病態では異常ミトコンドリアの蓄積が頻りに観察されることから、異常ミトコンドリア除去が心不全期に誘導されるオートファジーの主たる役割であると推察される。ミトコンドリアの品質管理機構の破綻が拡張型心筋症発症の原因の一つであることが示唆される。

今後は異常ミトコンドリアがオートファジーに認識される分子機構を明らかにすることが、心不全治療に結びつく可能性が高いと考えられる。ミトコンドリア異常は、心疾患のみならず神経変性疾患や筋疾患などに強い関連を有する。オートファジーは全細胞で認められる普遍的な細胞内機構であることから、その応用範囲は広いものと期待される。