

審査の結果の要旨

氏名 前田 秀将

本研究は心臓突然死を誘発する睡眠時無呼吸症候群の重要な病因である間欠的低酸素のかかわりを明らかにするため、間欠的低酸素曝露条件下にラットにおいて、心エコーによる心機能評価、血液学的検査、組織学的検査、タンパク質解析を試みたものであり、下記の結果を得ている。

1. intermittent hypoxia (IH)によるオートファジーの誘導

IH によってラットの心筋はオートファゴソーム形成マーカーである LC3-II 量および LC3-II/LC3-I 比の増加を認めた。また、オートファジーの経路を阻害する薬剤のうち、3-MA は、オートファゴソームの形成開始を抑え、chloroquine (CQ)はオートファゴソームとリソソームの融合を阻害するが、LC3-II の増加を、3-MA が抑え、CQ が促した。この知見により、IH がオートファジーの流れ (Flux) を促進することを確認した。

同様に、電子顕微鏡検査で、IH はオートファゴソームとリソソームの数を増加させた。これらのデータは IH によってオートファジーが誘導されることを示唆する。そして、多くのオートファゴソームに、電子密度が低く、膨隆したミトコンドリアが含まれていたことから、傷害されたミトコンドリアがオートファジーにより処理されている (マイトファジー) が示唆された。

2. オートファジー阻害は IH 心臓の心収縮機能障害を誘導する

3 から 4 週の IH 曝露では心エコーにおいて、心機能に変化は示されなかったが、オートファジー経路を阻害する薬剤である CQ および 3-MA を投与すると、IH では次第に左室内径短縮率 (FS)が低下し左室収縮末期径 (LVDs)を増加させ、収縮機能障害が出現した。これらの知見はオートファジーの流れが IH によって増強され、収縮機能を維持する際に貢献していることを証明する。

3. オートファジーによるネクローシス抑制

収縮不全を示した心筋の形態変化を組織学的検査により調べた。エコーのデータと一致して、IH 群、IH+CQ 群ともに、左心肥大、右心肥大、心筋線維化、左右心室拡張等を認めなかった。次に、細胞死が心収縮不全を惹起した可能性について検討した。代表的な細

胞死として、従来から、ネクローシスとアポトーシスが知られている。4週 of IH+CQ 群ではトロポニン T 放出による心筋のネクローシスが誘導された。しかし、カスパーゼ 3 フラグメントのようなアポトーシスを立証する証拠は得られなかった。4週 of CQ 単独投与においてトロポニン T および収縮機能障害は起こらなかった。

#### 4. IH でのオートファジーのシグナルパスウェイ

オートファジーの全般的なレセプターである mTOR は Thr2446 において AMPK によって間接的にリン酸化され、抑制され、Ser2448/2481 において Akt によって間接的にリン酸化され、活性化される。本研究において、IH は Akt 側 (Ser2448/2481) において mTOR を脱リン酸化を誘導し、Akt-Ser473 の脱リン酸化と一致していることを確認した。このように Akt-mTOR パスウェイが抑えられることで IH においてオートファジーが誘導されることを確認した。一方、虚血、低酸素、飢餓、栄養制限等による情報伝達に重要な役割を果たす AMPK のリン酸化 (活性化) に、IH の影響を認めなかった。

以上、本論文は睡眠時無呼吸症候群の重要な病因である間欠的低酸素によって、正常ラットの心臓にオートファジーを Akt が mTOR を不活化することによって誘導し、心収縮機能を維持と心筋壊死を防いでいることを明らかにした。また、オートファジーの経路の阻害作用のある 2 つの作用部位の異なる薬剤を用いてオートファジー経路を阻害するとどちらの薬剤においても心収縮機能が低下することを確認した。このことよりオートファジーが心収縮機能の維持に関与していることを明らかにした。本研究の結果は間欠的低酸素が睡眠時無呼吸症候群の初期段階においてのオートファジーを誘導し、それが、心保護の役割をしていることを示したとともに睡眠時無呼吸症候群による突然死のメカニズムのきっかけとなることが示唆されることが考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。