

氏名	原 正 剛
学位(専攻分野)	博士 (医学)
学位記番号	医博第2207号
学位授与の日付	平成12年3月23日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
研究科・専攻	医学研究科内科系専攻
学位論文題目	Mast cells cause apoptosis of cardiomyocytes and proliferation of other intramyocardial cells in vitro (肥満細胞は、心筋細胞のアポトーシスと非心筋細胞の増殖を誘導する)

論文調査委員 (主査) 教授 野間昭典 教授 中尾一和 教授 篠山重威

論文内容の要旨

機械的負荷などのストレスに対して心臓は肥大などで代償しようとするが、負荷が長期間にわたって続くと代償しきれずに心不全に移行する。このように代償不全へと至るメカニズムについて様々な検討がなされているが、いまだに不明な点が多い。心不全の発症機構にこれまでと異なる観点から迫るため、我々は肥満細胞に注目した。

心臓にも肥満細胞が存在していることは以前より知られていたが、その意義は不明であった。1990年代に入って、庄負荷による肥大心やヒト不全心において肥満細胞が増加しているとの報告が相次いでなされた。このことから心肥大や心不全といった病態において肥満細胞が何らかの役割を果たしていると予想される。肥満細胞は多機能な細胞であり、多くの生理活性物質を顆粒として蓄えている。これらは必要に応じて脱顆粒により細胞外に急速に放出され、周囲の細胞に paracrine 作用を及ぼす。心臓における肥満細胞の役割を知るには、肥満細胞の脱顆粒が心筋組織を構成する個々の細胞に対して及ぼす作用をまず明らかにする必要があるが、いまだ検討されていない。そこで我々は、単離肥満細胞を脱顆粒させて得た生理活性物質を心筋細胞/非心筋細胞それぞれに作用させ、その影響を検討した。

方法と結果: 新生児ラット心から酵素処理によって細胞を単離し、心筋細胞と非心筋細胞に分離した。またラット腹腔肥満細胞を単離・脱顆粒させ、生理活性物質を大量に含む肥満細胞脱顆粒液を得た。

まず最初に、心筋細胞と肥満細胞脱顆粒液をともに24時間培養し、心筋細胞がどのような影響を受けるか観察した。すると大量の心筋細胞死を認め、電子顕微鏡・DNAゲル電気泳動によりこれがアポトーシスであることが判明した。

次にアポトーシスを誘導する生理活性物質の特定を試みた。我々はまずプロテアーゼに注目した。肥満細胞には多量のプロテアーゼが含まれており多彩な作用を持っている。これらの関与を検討するために、十分量のプロテアーゼ阻害薬で肥満細胞脱顆粒液のプロテアーゼ活性を阻害したところ、肥満細胞のアポトーシス誘導効果はほぼ完全に抑制された。さらに代表的な肥満細胞プロテアーゼであるキマーゼを直接心筋細胞に作用させたところ、著明なアポトーシスが誘導された。また、抗キマーゼ中和抗体で処理すると、肥満細胞脱顆粒液による心筋細胞アポトーシスは完全に抑制された。以上から、肥満細胞キマーゼを介して肥満細胞が心筋細胞のアポトーシスを誘導することが明らかとなった。

非心筋細胞に対する肥満細胞の作用を検討するため、肥満細胞脱顆粒液と共に非心筋細胞を培養したところ、心筋細胞の場合とは反対に非心筋細胞は増殖した。肥満細胞キマーゼ自体も非心筋細胞増殖効果を示した。

考察: 以上より、心筋細胞アポトーシスと非心筋細胞増殖という相反する現象を肥満細胞が同時に誘導することが明らかとなった。心筋組織の中で肥満細胞が脱顆粒していることが報告されており、生体においても肥満細胞顆粒が周囲の細胞に paracrine 作用を及ぼしていると考えられる。その際、脱顆粒したキマーゼが周囲の心筋細胞にアポトーシスを誘導している可能性が我々の検討から示唆される。同時に肥満細胞の脱顆粒は非心筋細胞の増殖を誘導すると考えられる。成人の心筋細胞は増殖能を事実上持たないため、心筋細胞アポトーシスは心筋細胞の減少を意味し、心収縮能低下をもたらす。

また非心筋細胞の増殖は心筋組織の線維化を招き心拡張能を低下させる。結果として肥満細胞は収縮能・拡張能を同時に低下させ心機能代償の破綻を促進している可能性があると考えられている。

論文審査の結果の要旨

圧負荷による肥大心やヒト不全心において肥満細胞が増加していると報告されているが、その意義は不明である。そこで申請者らは、単離肥満細胞を脱顆粒させて得た生理活性物質を心筋細胞/非心筋細胞それぞれに作用させ、その影響を検討した。

心筋細胞と肥満細胞脱顆粒液をともに24時間培養し、心筋細胞がどのような影響を受けるかを観察した。すると大量の心筋細胞アポトーシスが誘導された。プロテアーゼ阻害薬で前処置したところ、肥満細胞のアポトーシス誘導効果はほぼ完全に抑制された。さらに代表的な肥満細胞プロテアーゼであるキマーゼによりアポトーシスが誘導され、抗キマーゼ中和抗体の前処置によって肥満細胞脱顆粒液による心筋細胞アポトーシスは完全に抑制されたことから、肥満細胞キマーゼを介して肥満細胞が心筋細胞のアポトーシスを誘導することが明らかとなった。

心筋細胞の場合とは反対に肥満細胞脱顆粒液によって非心筋細胞は増殖した。肥満細胞キマーゼ自体も非心筋細胞増殖効果を示した。

以上より、心筋細胞アポトーシスと非心筋細胞増殖という相反する現象を肥満細胞が同時に誘導することが明らかとなった。

以上の研究は心不全の病態に与える肥満細胞の役割の解明に貢献し、新たな心不全治療の開発に寄与するところが多い。したがって、本論文は博士（医学）の学位論文として価値あるものと認める。

なお、本学位授与申請者は、平成12年1月24日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。