

学 位 論 文 要 旨

研究題目

Cathepsin B and D deficiency in the mouse pancreas induces impaired autophagy and chronic pancreatitis
(マウス膵腺房細胞におけるカテプシン B および D の二重欠損はオートファジー不全を誘導し、慢性膵炎を発症する)

兵庫医科大学大学院医学研究科

医科学専攻 器官・代謝制御系

肝胆膵外科学 (指導教授 波多野悦朗)

氏 名 岩間 英明

オートファジーはリソソーム酵素を介する非選択的で大規模な細胞内分解系である。急性膵炎は消化酵素の膵内活性化による自己消化であり、慢性膵炎はその発作を繰り返すことで発症する。膵炎の発症にはオートファジー-リソソーム系の破綻が深く関わっている。

カテプシン B・D・L (CTSB・CTSD・CTSL) は生体内での主要なリソソーム酵素である。カテプシンは急性膵炎発症に関わっているとされるが詳細は不明であり、また各カテプシンの役割は臓器により異なるが膵臓における役割は分かっていない。

今回我々は、Ctsb、Ctsd、Cts1 が膵腺房細胞内のオートファジーにおいて担う役割を明らかにするため、膵臓特異的に Ctsb、Ctsd、Cts1 の欠損したマウスを樹立した。さらに単独欠損マウスを交配させることで二重欠損マウスを樹立した。

Ctsb、Ctsd、Cts1 が膵特異的に単独欠損したマウスは出産・成長に関して野生型と差を認めず、2 ヶ月齢の膵臓における病理組織像にも異常はなく、生理条件下における 1 ヶ月齢の膵臓のウエスタンブロットでもオートファジーに選択的な基質である p62 やオートファゴソームのマーカーである LC3 の異常集積は認めなかった。

続いて、膵特異的に Ctsb;Ctsd、Ctsb;Cts1、Ctsd;Cts1 が二重欠損したマウスを調べると、Ctsb;Cts1 および Ctsd;Cts1 の二重欠損マウスでは出産・成長に異常を認めなかったが、Ctsb;Ctsd の二重欠損マウスでは有意な成長抑制を認めた。膵臓の病理組織像を調べると、Ctsb;Ctsd の二重欠損マウスにのみ膵腺房細胞内に巨大な空胞を認めており、これは膵特異的 Atg5 欠損 (オートファジー欠損) マウスの膵臓と同様の所見であった。膵特異的 Ctsb;Ctsd 二重欠損マウスの膵臓の免疫蛍光染色およびウエスタンブロットを行うと p62 と LC3 が蓄積していることが確認され、オートファジー不全が誘導されていると判明した。電子顕微鏡検査にて評価すると、膵腺房細胞にはオートリソソームの蓄積を認めており、リソソーム酵素であるカテプシンの欠損によりオートファジー不全が誘導されたものと考えられた。また、4 ヶ月齢の膵特異的 Ctsb;Ctsd 二重欠損マウスの膵臓では線維化が進行し、マクロファージ、単球、形質細胞の浸潤も認めることからヒトと類似した慢性膵炎を発症していることが分かった。

本研究により、膵腺房細胞のオートファジーでは Ctsb と Ctsd が協調して機能しており、またカテプシンと膵炎の発症メカニズムにはオートファジーが関与している可能性が示唆された。