

氏名	かき お ただ し 垣 尾 匡 史
学位(専攻分野)	博 士 (医 学)
学位記番号	医 博 第 2291 号
学位授与の日付	平 成 13 年 1 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	Roles and Relationship of Macrophages and Monocyte chemotactic and activating factor/Monocyte Chemoattractant Protein - 1 in the ischemic and reperfused rat heart (虚血再灌流ラット心におけるマクロファージと単球走化性活性化因子の役割および関係についての研究)
論文調査委員	(主 査) 教 授 米 田 正 始    教 授 淀 井 淳 司    教 授 篠 山 重 威

### 論 文 内 容 の 要 旨

1977年 Gruentzig による経皮的冠動脈形成術の臨床導入以来、急性心筋梗塞患者の救命率は飛躍的に向上した。しかし、再灌流傷害という新たな問題が生じ、20年以上経過した現在でも解決されていない。本研究では、心筋虚血および再灌流傷害におけるマクロファージならびに単球走化性活性化因子(MCP-1)の役割と関係を検討した。

[材料と方法] 10週令の Wistar ラットの左前下行枝を結紮し、1時間後に弛緩することによって虚血・再灌流モデルを作製した。再灌流をせずに、あるいは再灌流後1, 3, 6時間目にラットを屠殺し、心臓を速やかに摘出しOCT包埋し凍結した。凍結心組織を6 $\mu$ mの切片とし、(1)ラットMCP-1のメッセンジャーRNA(mRNA)に対するアンチセンスRNAプローブを用いたin-situハイブリダイゼーション、(2)ラットの活性化マクロファージに対するモノクローナル抗体を用いた免疫組織染色、および(3)上記(1)(2)を用いた二重染色を行い、組織学的検討を行った。

[結果] (1)MCP-1 mRNA 陽性細胞は、再灌流前の心臓には少数しか認められなかったが、再灌流後有意に増加し、再灌流後3時間で最多となった。(2)活性化マクロファージは、再灌流前に既に多数認められ、再灌流自体はその細胞数に有意な影響を及ぼさなかった。また、MCP-1 mRNA 陽性細胞、活性化マクロファージともに、時間の経過につれて虚血部と非虚血部の境界領域に多く認めるようになった。(3)二重染色の結果、MCP-1 mRNA 陽性細胞の68.7%は活性化マクロファージであった。

[考察] 心臓の虚血・再灌流傷害において、マクロファージが重要な役割を果たしていることが示唆されていた。また、MCP-1は血液中の単球を組織中へ誘導し、活性化マクロファージに変化させる作用があり、各種炎症においてMCP-1が多量に産生されることが知られている。虚血・再灌流傷害においても、MCP-1が多量に産生されることは以前より報告されており、MCP-1によって血液中の単球が心組織内に誘導され、活性化マクロファージに変化し、虚血・再灌流傷害に関与すると考えられていたが、MCP-1を産生する細胞が同定されていなかった。本研究では、活性化マクロファージの組織浸潤は、MCP-1産生の前に既に始まっており、虚血・再灌流傷害初期においては、単球の誘導、マクロファージ活性化は、MCP-1以外の因子によることが示唆された。さらに、虚血・再灌流傷害初期の単球誘導、マクロファージの活性化は、虚血自体が刺激であり再灌流は最初の刺激ではないことも判明した。一方、MCP-1の産生は再灌流によって明らかに増加しており、MCP-1が再灌流傷害の重要な因子である可能性が高い。また、MCP-1産生細胞の多くは活性化マクロファージであり、MCP-1は従来言われてきた単球の誘導、マクロファージの活性化だけでなく、再灌流傷害においては、最近報告されている細胞外マトリックス分解酵素やリンパ球に対する作用などが重要な役割を果たしているとも考えられる。以上より、心臓の虚血・再灌流傷害の治療において、このMCP-1の作用を制御することが新たな治療法に結び付く可能性があることが示唆される。しかも、MCP-1蛋白は、MCP-1 mRNAの発現より後に産生されることから、再灌流の時点あるいはそれ以降でも治療を行うことが可能であり、臨床的にも十分に適用可能と考えられる。実際、今回と同じ虚血・再灌流ラッ

トに対して、再灌流時に抗 MCP-1 抗体を投与することで、生存率の上昇と、梗塞サイズの縮小が認められている。

#### 論文審査の結果の要旨

経皮的冠動脈形成術により急性心筋梗塞患者の救命率は向上したが虚血・再灌流傷害という問題が残った。本研究では虚血・再灌流後のマクロファージ (M $\phi$ ) と単球走化性活性化因子 (MCP-1) の役割と関係を検討した。[方法] ラット冠動脈を結紮し、再灌流前或いは後に心臓を摘出した。MCP-1 messengerRNA (mRNA) に対するアンチセンスプローブによる in-situ ハイブリダイゼーション、抗 M $\phi$  抗体による免疫組織染色、及び両者による二重染色を行い、組織学的に検討した。「結果」MCP-1 mRNA 陽性細胞は再灌流前の心臓には少数であったが、再灌流後有意に増加した。M $\phi$  は虚血後、再灌流前に既に多数存在し、再灌流後有意な増加はなかった。MCP-1 mRNA 陽性細胞の68.7%は M $\phi$  であった。[考察] 心筋虚血・再灌流傷害への M $\phi$  と MCP-1 の関与は示唆されていたが、機序は不明であった。本研究では M $\phi$  浸潤は虚血後、再灌流前かつ MCP-1 産生前に始まっていた。一方、MCP-1 産生は再灌流後著明に増加し、MCP-1 が再灌流傷害に重要である可能性が示唆された。MCP-1 産生細胞の多くは M $\phi$  であった。MCP-1 は最近報告されているリンパ球活性化や線維芽細胞及び細胞外マトリックス分解酵素に対する作用により心筋傷害に関与することも考えられる。なお、同モデルにおいて再灌流時の抗 MCP-1 抗体投与により、ラットの生存率、梗塞範囲に改善を認めている。

以上の研究は、心筋虚血・再灌流傷害での M $\phi$  と MCP-1 の役割と関係の解明に貢献し、新たな治療法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10月13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。