

京都大学	博士（医学）	氏名	松村佳代子
論文題目	Establishment of a novel mouse model of ulcerative colitis with concomitant cytomegalovirus infection - in vivo identification of cytomegalovirus persistent infected cells - (サイトメガロウイルス感染合併潰瘍性大腸炎のマウスモデルの確立—生体におけるサイトメガロウイルス持続感染細胞の同定—)		
<p>(論文内容の要旨)</p> <p>炎症性腸疾患 (IBD) は未だ根本的原因が特定されない慢性腸管炎症をきたす難治性疾患である。近年、IBD のうち特に潰瘍性大腸炎 (UC) の難治化の要因の1つとしてヒトサイトメガロウイルス (HCMV) 感染の関与が注目されている。HCMV は乳幼児期に広く感染したのち長く潜伏感染するが、免疫抑制や炎症刺激に伴い再活性化する。HCMV 感染合併 UC では、重症化して最終的に手術に至る症例が少なからず存在する。従って、HCMV 感染に伴う UC 増悪の病態の解明およびそれに基づく治療開発は重要な臨床的課題である。しかし、この問題を解決するために適切な動物モデルは未だ確立されていない。本研究は CMV 感染合併 IBD の動物モデルの確立とその病態解析を目的とした。</p> <p>まず、自然発症腸炎マウスである TCRα KO マウス (UC モデル) と野生型 C57BL/6 マウスの新生児にマウスサイトメガロウイルス (MCMV) を腹腔内接種した後、ウイルス感染動態を評価し、潜伏感染の樹立を試みた。ウイルス量を調節することにより、いずれのマウスとも腸管、脾臓、肝臓において、感染 1 週間にはウイルス力価、ゲノムコピー数は高値だったが、4 週間には感度以下となった。加えて、感染 1 週間には各臓器にウイルス抗原陽性細胞を認めたが、4 週間には消失した。このことから、各マウスにおける MCMV 潜伏感染の樹立が可能となった。</p> <p>次に、長期経過後の成年マウスでのウイルス感染動態を、TCRα KO マウスと C57BL/6 マウスの各臓器について検討した。感染 TCRα KO マウスでは、一度潜伏期に消失したウイルス抗原陽性細胞がまず炎症腸管部位に再度出現していた。また感染 TCRα KO マウスの腸管組織中のウイルスゲノム増幅は他臓器に比し高度であった。一方感染 C57BL/6 マウスでは腸炎は発症せず、ウイルス抗原陽性細胞も認めなかった。感染 TCRα KO マウスで認めた腸炎は非感染 TCRα KO マウスに比し増悪していた。このことから TCRα KO マウスにおける腸管炎症が MCMV 再活性化を促進し、腸炎増悪につながるものと考えられた。</p> <p>MCMV が腸管炎症に及ぼす影響を調べるために、TCRα KO マウス腸管における炎症担当細胞の数やフェノタイプ、サイトカインの遺伝子発現を解析した。感染 TCRα KO マウス腸管では非感染 TCRα KO マウスに比べて、(1)好中球や M1 型マクロファージが増加すること、(2)Th2 型に加えて Th1/Th17 型免疫応答も誘導されていることが示された。更に、MCMV 感染細胞の同定を試</p>			

みた結果、MCMV 感染細胞は内皮細胞近傍に存在し PDGFR- β 、CXCL12 を発現する perivascular 細胞で、一部周皮細胞であることが明らかとなった。また、CXCL12 を ligand とする CXCR4 の陽性細胞数は感染 TCR α KO マウス腸管で増加していることが示された。MCMV 感染細胞で発現が増強していた PDGFR β や CXCL12 は共に炎症細胞の遊走に関与する。これらの発現上昇は腸管炎症部位への更なる炎症細胞浸潤に寄与し、中でも CXCL12 の発現上昇は CXCR4 陽性免疫担当細胞の腸管炎症部位への遊走を促進するものと考えられた。

本研究では HCMV 感染によって増悪する UC の動物モデルが初めて確立された。今後この新しいモデルマウスの使用により、HCMV 感染を合併した IBD の更なる病態解明や治療法確立の可能性が示唆された。

(論文審査の結果の要旨)

炎症性腸疾患の増悪因子の一つとして CMV 感染が考えられてきたが、その詳細な増悪機序は不明である。申請者らはヒト潰瘍性大腸炎モデルである TCR α KO マウスと MCMV を用いて CMV 感染合併 IBD 動物モデルを初めて作成し、その病態解析を行った。

まず幼少期マウスに MCMV を接種し潜伏感染を誘導した後、腸炎発症期の TCR α KO マウスにおける MCMV 感染動態ならびに腸炎に及ぼす影響を評価した。TCR α KO マウスでは炎症腸管優位にウイルス抗原陽性細胞が再検出された。また腸管でのウイルスゲノムの増幅は他臓器に比し高度であった。以上より、TCR α KO マウスでは腸管の炎症に伴い、腸管での MCMV 増殖レベルが上昇したことが示された。さらに、TCR α KO 感染マウスでは非感染マウスに比し、腸炎は組織学的に増悪しており、炎症性サイトカイン遺伝子発現の亢進も認められた。免疫組織学的染色法にて同定された主な MCMV 感染細胞は PDGFR- β 、CXCL12 陽性の血管周囲細胞であった。TCR α KO 感染マウス腸管では、CXCL12 の受容体である CXCR4 陽性細胞が増加しており、MCMV 感染による腸管局所 CXCL12 の発現増強が炎症増悪に関与する可能性が示唆された。

以上の研究は、CMV 感染が潰瘍性大腸炎の病態に与える影響の解明に貢献し、CMV 感染合併の炎症性腸疾患の更なる病態解明及び新たな治療法確立に寄与するところが大きい。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 25 年 5 月 16 日実施の論文内容及びそれに関連する諮問を受け、合格と認められたものである。

要旨公開可能日： 年 月 日以降