

氏 名	かわ 川 上 利 香
学位(専攻分野)	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	論 医 博 第 1889 号
学位授与の日付	平 成 17 年 9 月 26 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 4 条 第 2 項 該 当
学位論文題目	Overexpression of brain natriuretic peptide facilitates neutrophil infiltration and cardiac matrix metalloproteinase-9 expression after acute myocardial infarction. (脳性ナトリウム利尿ペプチドの過剰発現は急性心筋梗塞後の好中球浸潤および matrix metalloproteinase-9 発現を亢進させる)
論文調査委員	(主 査) 教 授 乾 賢 一 教 授 米 田 正 始 教 授 和 田 洋 巳

論 文 内 容 の 要 旨

脳性ナトリウム利尿ペプチド（以下 BNP）はヒトでは心臓から分泌される心臓ホルモンであり，利尿作用，ナトリウム利尿作用，血管拡張作用，レニン・アンジオテンシン・アルドステロン系や交感神経系に対する拮抗作用等を有する。心筋梗塞急性期においては，残存心筋細胞における BNP 産生が著しく増加することから，局所における BNP の意義が示唆されているが，急性心筋梗塞における BNP の病態修飾および治療的意義に関しては不明な点が多い。そこで本研究では，BNP 遺伝子過剰発現トランスジェニックマウス（BNP-Tg）に心筋梗塞を用いて，梗塞後急性期の心修復過程や左室リモデリングに關与する炎症細胞浸潤と metalloproteinase（MMP）について検討した。

肝臓で発現するヒト serum amyloid P component のプロモーターを繋いだマウス BNP 遺伝子を用いて作製し，血中 BNP 濃度が100倍以上に増加する BNP-Tg マウス（雄性，8-12週齢）および対照群（C57BL/6J）の左冠動脈を結紮し，心筋梗塞モデルを作製した。梗塞後3日目に摘出した心臓の組織像を解析したところ，両群において梗塞サイズには差を認めなかった。好中球 polymorphic 40-kD 抗原に対する抗体を用いた免疫組織化学染色で検討したところ，BNP-Tg マウスでは対照群に比べ陽性細胞数が約1.3倍増加していた（ $P<0.01$ ）。好中球に特異的に存在する myeloperoxidase の活性について検討した結果でも，BNP-Tg マウスで約2倍増加していた（ $P<0.01$ ）ことから，BNP-Tg マウスでは対照群に比べ浸潤好中球数がより増加することが確認された。次に，心筋梗塞急性期の組織修復過程における意義が注目されている細胞外マトリックスやその増生及び分解に關与する TGF- β や MMP, tissue inhibitor of metalloproteinases (TIMP)-1 の遺伝子発現について Northern blot 法を用いて検討した。I 型・III 型コラーゲン，フィブロネクチン，TGF- β_1 ， β_3 ，MMP-2，TIMP-1 の遺伝子発現については両群で差を認めなかったが，MMP-9 の遺伝子発現は BNP-Tg マウスで約1.5倍の増加を認めた（ $P<0.05$ ）。Gelatin zymography を用いて検討した MMP-9 活性も，BNP-Tg マウスで対照群と比較し約3倍の増加が認められた（ $P<0.05$ ）。この MMP-9 の組織中での局在について免疫蛍光抗体法を用いて検討したところ，MMP-9 は浸潤好中球に一致して染色された。非選択的 MMP 阻害薬 Doxycycline（60 mg/kg/日）を連日投与しても BNP-Tg マウスの心筋梗塞モデルでは，好中球浸潤は影響をうけないことから，BNP-Tg マウスでの好中球浸潤の増加は MMP-9 に依存しないと考えられた。以上により，過剰発現させた BNP が，心筋梗塞後急性期の好中球浸潤と，同細胞における MMP-9 発現を亢進し，細胞外マトリックス分解を促進すると考えられた。

本研究により，心筋梗塞急性期に BNP が細胞外マトリックスリモデリングを修飾して，梗塞巣修復に促進的に働く可能性が初めて明らかになった。この結果は急性心筋梗塞後の心筋リモデリングに対する BNP の治療応用の可能性を示唆するものであると考えられた。

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

脳性ナトリウム利尿ペプチド（以下 BNP）は，主に心室で産生・分泌される心臓ホルモンであるが，急性心筋梗塞における BNP の意義に関しては不明な点が多い。本研究では申請者は BNP 遺伝子過剰発現トランスジェニックマウス（BNP-

Tg) に心筋梗塞を作製し、急性期の組織像や matrix metalloproteinase (MMP) について検討した。

心筋梗塞 3 日目の BNP-Tg の梗塞巣では、好中球 polymorphic 40-kD 抗原陽性細胞数が対照群の約 1.3 倍に増加していた。好中球 myeloperoxidase 活性も、BNP-Tg で約 2 倍増加していた。心筋梗塞急性期の組織修復過程における意義が注目されている MMP についての検討では、MMP-9 の遺伝子発現及びその活性が BNP-Tg では対照群に比べて、それぞれ約 1.5 倍、約 3 倍に増加し、免疫蛍光抗体法では、MMP-9 は浸潤好中球に一致して染色された。非選択的 MMP 阻害薬 Doxycycline (60 mg/kg/日) の連日投与は BNP-Tg の心筋梗塞モデルにおける好中球浸潤数に影響せず、BNP による好中球浸潤の増加は MMP-9 に依存しないと考えられた。

以上の研究は、BNP の、心筋梗塞急性期の好中球浸潤と同細胞における MMP-9 発現を亢進し、細胞外マトリックス分解を促進するという梗塞巣修復における新しい役割を明らかにしたもので、ANP・BNP/GC-A 系の急性心筋梗塞における意義の解明に貢献し、臨床応用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 17 年 8 月 3 日実施の論文内容とそれに関連した研究分野並びに学識確認のための試問を受け、合格と認められたものである。