

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |                                                                                                                |     |         |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|---------|
| 京都大学                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       | 博士（ 医 学）                                                                                                       | 氏 名 | 樋 口 博 一 |
| 論文題目                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       | Mast cells play a critical role in the pathogenesis of viral myocarditis<br>（肥満細胞はウイルス性心筋炎の病態において重要な役割を果たしている） |     |         |
| （論文内容の要旨）                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |                                                                                                                |     |         |
| <p>ウイルス性心筋炎は、拡張型心筋症の重要な原因疾患の一つであり、慢性心不全を引き起こし、劇症化すれば致死率も高い疾患である。しかしその病態に関しては未だ十分に解明されていない。</p> <p>近年、心血管系疾患において肥満細胞(MC)がその病態に関与しているという多数の報告がなされている。MC は、細胞内顆粒に多種多様な化学伝達物質、プロテアーゼ、サイトカインを含んでおり、さまざまなアレルギー、炎症性疾患で大きな役割を果たすことが知られている。以前より心臓にMCが存在し、肥大型や不全心においてMCが増加しているとの報告はなされていたが、その意義は明らかにされていない。そこで、ウイルス性心筋炎における不全心において、その病態形成にMCが関与しているのではないかという仮説を立て、研究を行った。</p> <p>まず、4週齢 DBA/2 マウスに対し、脳心筋炎ウイルス(EMCV)10pfu 腹膜接種することにより心筋炎モデルを作製し心筋内での MC 密度を検討した。結果、day7において MC 増殖因子(SCF)は有意に上昇し、MC 密度も上昇していることが分かった。</p> <p>次いで、2系統のMC欠損マウス(①W/W<sup>V</sup>: c-kit receptor 欠損 ②Sl/Sl<sup>d</sup>:SCF 欠損)とそのWTを用いてEMCVによる心筋炎モデルを作成し、7日後の心臓の組織学的所見、14日後の生存率を検討した。</p> <p>W/W<sup>V</sup>、Sl/Sl<sup>d</sup>群は、それぞれの WT 群に対して、生存率は良好(W/W<sup>V</sup> P=0.03)であった。また組織学的評価では、炎症細胞浸潤、壊死ともに有意に軽度であった(W/W<sup>V</sup> p=0.02、Sl/Sl<sup>d</sup> P=0.002)。</p> <p>さらにこれら2系統のMC欠損マウスに対し、それぞれの方法でMCを再構築させて、同様に心筋炎モデルを作成し、心筋炎組織の評価と、マウスMC由来キマーゼ(mMCP-4、-5)、IL-6、MMP-9の遺伝子の発現を検討した。MC再構築の方法は、W/W<sup>V</sup>に対しては、そのWTの骨髄細胞をSCF,IL-3存在下に4週間培養し、経静脈的に移植する方法を、Sl/Sl<sup>d</sup>に対してはmouse recombinant SCF(30μg/kg/day)を21日間連日皮下投与する方法を利用した。</p> <p>MCを再構築させたW/W<sup>V</sup>、Sl/Sl<sup>d</sup>群では、その対照群(normal W/W<sup>V</sup>、normal Sl/Sl<sup>d</sup>)に対して、炎症細胞浸潤(W/W<sup>V</sup> P=0.002、Sl/Sl<sup>d</sup>P=0.02)、壊死(W/W<sup>V</sup> P=0.04、Sl/Sl<sup>d</sup> P=0.03)ともに悪化を認めた。さらに、mMCP-4、-5、IL-6、MMP-9の遺伝子発現は、MCを再構築させたW/W<sup>V</sup>群では、その対照群(normal W/W<sup>V</sup>)に対して、有意に上昇(mMCP-4 P&lt;0.01、mMCP-5 P&lt;0.05、IL-6 P&lt;0.05、MMP-9 P&lt;0.01)しており、mMCP-4とMMP-9、mMCP-5とMMP-9で有意な相関関係(mMCP-4/MMP-9 r<sup>2</sup>=0.9027 P&lt;0.0001、mMCP-5/MMP-9 r<sup>2</sup>=0.8665 P&lt;0.0001)も認められた。</p> <p>次いで、第2世代抗ヒスタミン薬であるBepotastineを、DBA/2マウス心筋炎モデルにday1より経口投与開始しその薬効を検討した。結果、day14までの生存率、ならびに心筋組織評価ともに有意に改善を見せた。このことは、ヒスタミン阻害作用のみにとどまらず、炎症性サイトカインの遊離抑制、MC脱顆粒抑制などによる効果も考えられた。</p> <p>以上のことから、マウスウイルス性心筋炎において、MCキマーゼがMMPsを活性化させ、急性期から心筋炎の病態形成に関与していることが示唆され、MCを標的とした治療が、ウイルス性心筋炎による慢性心不全への病勢悪化を減弱させる可能性が示唆された。</p> |                                                                                                                |     |         |

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |  |  |  |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--|--|--|
| <p>（論文審査の結果の要旨）</p> <p>ウイルス性心筋炎は、拡張型心筋症の重要な原因疾患の一つであり、慢性心不全を引き起こし、劇症化すれば致死率も高い疾患である。一方以前より心臓に肥満細胞が存在し、肥大型や不全心においてその細胞密度が増加しているとの報告はなされていたが、その意義は明らかにされていない。そこで、マウスウイルス性心筋炎における不全心において、その病態形成に肥満細胞が関与しているのではないかという仮説を立て、研究を行った。</p> <p>マウス脳心筋炎ウイルス(EMCV)心筋炎モデルにおいて、心筋内での肥満細胞密度を検討したところ、発症7日目に肥満細胞増殖因子(SCF)は有意に上昇し、肥満細胞密度も上昇していることが分かった。次いで、2系統の肥満細胞欠損マウス(SCF欠損、c-kit欠損)を用いてEMCV心筋炎モデルを作成したところ、心臓の組織学的所見は軽度で生存率も良好であった。さらにこれら2系統の肥満細胞欠損マウスに対し、それぞれの方法で肥満細胞を再構築させて、同様にEMCV心筋炎モデルを作成したところ、心筋炎組織の悪化と、マウス肥満細胞由来キマーゼ、IL-6、MMP-9の遺伝子の発現亢進を確認した。</p> <p>以上のことから、マウスウイルス性心筋炎において、肥満細胞プロテアーゼが組織リモデリングを活性化させ、急性期から心筋炎の病態形成に関与していることが示唆され、肥満細胞を標的とした治療が、ウイルス性心筋炎による慢性心不全への病勢悪化を減弱させる可能性が示唆された。</p> <p>以上の研究はマウスウイルス性心筋炎モデルにおける病態の解明に貢献し、ウイルス性心筋炎の治療戦略に寄与するところが多い。</p> <p>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。</p> <p>なお、本学位授与申請者は、平成22年2月15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。</p> |  |  |  |
| 要旨公開可能日：                      年              月              日以降                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |  |  |  |