

氏名・(本籍)	奥野昌彦(滋賀県)
学位の種類	博士(医学)
学位記番号	博士(論)第265号
学位授与の要件	学位規則第4条第2項該当
学位授与年月日	平成12年3月27日
学位論文題目	Expressional patterns of cytokines in a murine model of acute myocarditis : early expression of cardiotrophin-1 (急性心筋炎モデルマウスにおけるサイトカインの発現:カルディオトロピン-1の早期発現)

審査委員	主査 教授	木之下 正彦
	副査 教授	松浦 博
	副査 教授	島田 司巳

## 論文内容の要旨

### 【目的】

最近、Interleukin (IL) -6の前処置が Encephalomyocarditis virus 心筋炎における心筋障害を軽減し予後を改善することや、IL-6 関連サイトカインで心筋細胞肥大因子である Cardiotrophin (CT) -1 がリポ多糖 (LPS) 処置マウスの血中 tumor necrosis factor (TNF)  $\alpha$  の上昇を抑制することが報告され、IL-6 関連サイトカインの心筋保護作用が注目されている。そこで、心筋炎モデルマウスを用いて TNF $\alpha$ 、IL-1 $\alpha$ 、及び CT-1、TNF $\alpha$ 、IL-1 $\alpha$  の mRNA の発現を明らかにし、心筋炎における CT-1 の役割について検討した。

### 【方法】

日齢10日の JCL-ICR 系マウスにコクサッキーウイルス (CVB3) を腹腔内接種し、接種当日を day 0 として day 1、2、3、4、5、7、10、14 に心臓の病理所見を検索するとともに、各々の心臓の組織切片上で TNF $\alpha$  と IL-1 $\alpha$  の発現を免疫組織学的に検索した。CT-1、TNF $\alpha$ 、IL-1 $\alpha$  の mRNA の発現は day 0、1、2、3、4、5 に reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR) および RNase protection 法により検索した。また、day 3、5、7、10 のマウス屠殺1時間前に BrdU を腹腔内投与し、各々の心臓における心筋細胞の DNA 合成についても検索した。さらに CT-1 の働きを阻害する目的で、day 1 に抗 glycoprotein (gp) 130 抗体を CVB3 感染マウスに投与しコントロールと比較した。これらの実験のコントロールには同日令の非感染マウスを用いた。

### 【結果】

心筋炎モデルマウスの心臓において、炎症細胞浸潤等の組織学的変化は day 4 から観察され、day 7 に心筋細胞の脱落を含め最も著しい変化を認めた。TNF $\alpha$  および IL-1 $\alpha$  の発現は、心筋細胞においてすでに day 3 に認められ、day 4 でその範囲は拡がり day 7 に最大となった。TNF $\alpha$ 、IL-1 $\alpha$  の mRNA の発現も day 3 の心筋から認められ day 5 まで増加したが、CT-1 mRNA の発現は、day 2 の心筋において一過性に著しく増加して認められた。また、BrdU 陽性の心筋細胞 (DNA 合成を行っている心筋細胞) は、対照と比べ day 3 においてすでに増加し、day 5 以降で顕著であった。抗 gp130 抗体を接種した CVB3 感染マウスはすべて day 6 以内に死亡した。

### 【考察】

本研究において、心筋炎急性期の炎症細胞浸潤に先行して TNF $\alpha$  や IL-1 $\alpha$  の炎症性サイトカインおよびその mRNA が心筋細胞に発現することが明らかになった。これより、CVB3 に感染した心筋細胞は自ら炎症性サイトカインを放出することで炎症細胞の浸潤を惹起し、結果的に心筋の変性をきたすことが示唆された。また、心筋炎で CT-1 mRNA が発現することを初めて証明したが、その発現は炎症性サイトカインおよびその mRNA の発現や DNA 合成の活性化より先行することが明らかとなった。in vitro の実験で CT-1 は mitogen-activated protein kinase を活性化することで細胞の

アポトーシスを阻害することが知られているが、CT-1 のこの作用は gp130 依存性のシグナル伝達経路を介している。したがって、抗 gp130 抗体を接種した CVB3 感染マウスが早期に死亡したことは、心筋炎において CT-1 は心筋細胞を早期の炎症反応から保護し、心筋細胞の増殖を促す働きをしている可能性が示唆された。

#### 【結 論】

急性心筋炎において、CT-1 は心筋炎後の代償性肥大よりもウイルス感染直後に心筋細胞の肥大や増殖に関与し、傷害を予防している可能性が示唆された。

### 論文審査の結果の要旨

本研究では、コクサッキーウイルス B3 による心筋炎マウスを用いて、TNF $\alpha$ 、IL-1 $\alpha$  及び CT-1、TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\alpha$  の mRNA の発現、及び心臓の病理所見と心筋細胞の DNA 合成を検索し、心筋炎における CT-1 の役割について検討した。炎症細胞浸潤に先行して TNF $\alpha$  や IL-1 $\alpha$  の炎症性サイトカイン、及びその mRNA が心筋細胞に発現すること、さらに、これらの発現や DNA 合成の活性化より先行して CT-1 mRNA が発現することが明らかになった。CT-1 の働きを阻害する目的で、抗 glycoprotein 130 抗体を感染マウスに投与したところ、すべて早期に死亡した。このことから CT-1 はウイルス感染直後の心筋細胞の傷害を予防している可能性が示唆された。

本論文は心筋炎の治癒機転と CT-1 の関与を明らかにしたものであり、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2月1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。