

氏名(本籍)	田尻和子(茨城県)			
学位の種類	博士(医学)			
学位記番号	博甲第6231号			
学位授与年月日	平成24年3月23日			
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当			
審査研究科	人間総合科学研究科			
学位論文題目	Gene delivery of <i>Socs1</i> inhibits inflammatory and pathogenic responses in autoimmune myocarditis in mice (<i>Socs1</i> 遺伝子治療はマウス自己免疫性心筋炎を抑制する)			
主査	筑波大学教授	医学博士	鯨坂隆一	
副査	筑波大学教授	医学博士	住田孝之	
副査	筑波大学准教授	博士(医学)	鶴嶋英夫	
副査	筑波大学講師	博士(医学)	佐藤藤夫	

論文の内容の要旨

(目的)

拡張型心筋症 (dilated cardiomyopathy, DCM) は左室内腔の拡大と壁運動低下をきたす原因不明の疾患群である。DCM 症例の約 8 割には抗心筋自己抗体が検出されることなどから自己免疫異常が発症要因の一つと考えられており、実験的自己免疫性心筋炎 (experimental autoimmune myocarditis, EAM) はその動物モデルとして頻用されている。Suppressor of cytokine signaling 1 (SOCS1) はサイトカイン受容体や Toll 様受容体 (TLR) を介した免疫シグナルによって細胞内に発現し、そのシグナルを負に制御するネガティブフィードバック調整因子であり CD4⁺ T 細胞や樹状細胞といった免疫担当細胞の活性化を抑制する働きがある。本研究の目的は、SOCS1 分子の免疫抑制効果に着目し、免疫異常を基盤とする DCM に対する新規治療法に展開するための基礎研究を、EAM マウスを用いて行う事である。

(対象と方法)

1. EAM に対する SOCS1 遺伝子治療の効果の検討。心筋ミオシンペプチドを完全フロイントアジュバントとよく混和し、マウスに皮下接種する事により EAM マウスを作製した。pcDNA3.1 ベクターに SOCS1 遺伝子を組み込み SOCS1 発現ベクター (pSOCS1) を作製した。pSOCS1 を EAM 作製 0、5、10 日後の 3 回投与し、14 日目にその効果を組織学的検査、flow cytometry 解析、心エコー図検査等で評価した。2. 個々の免疫細胞に対する pSOCS1 の効果の検討。pSOCS1 を投与したマウスから、EAM の主要な免疫担当細胞である CD4⁺ T 細胞や樹状細胞を採材し、*in vitro* で様々な刺激を加え、それらに対する反応を比較した。また、pSOCS1 を投与したマウスの樹状細胞と心筋特異的 CD4⁺ T 細胞との共培養実験を行い、樹状細胞による CD4⁺ T 細胞の活性化作用を評価した。

(結果)

pSOCS1 投与群ではコントロール群と比較して心体重比は著しく減少し、flow cytometry 解析では心筋への炎症細胞 (CD45⁺ 細胞) の浸潤がコントロール群と比べて pSOCS1 群で顕著に減少していた。心エコー図検査において pSOCS1 群では心収縮能の改善を認めた。pSOCS1 投与マウスの CD4⁺ T 細胞は心筋ミオシンペプ

チドに対する増殖能やサイトカイン産生能が低下しており、このような自己反応性 CD4⁺ T 細胞の活性化の抑制が心筋炎の改善に関わっている事が示唆された。次に個々の免疫細胞に対する pSOCS1 投与の効果の検討を行った。pSOCS1 投与マウスから採取した CD4⁺ T 細胞それ自身は、*in vitro* での種々の刺激に対して正常に反応したため、pSOCS1 生体内投与は直接的には CD4⁺ T 細胞に影響を与えないことが示唆された。一方、pSOCS1 投与マウスから採取した樹状細胞はサイトカインレセプターや TLR を介する様々な刺激に対する炎症性サイトカイン産生能の低下や STAT のリン酸化の抑制を認めた。さらに、樹状細胞の CD4⁺ T 細胞への活性化作用に対する pSOCS1 の効果を以下の手順で検討した。EAM マウスから心筋ミオシン特異的 CD4⁺ T 細胞を分離し、pSOCS1 投与マウスから採取した樹状細胞と共培養し、³H]-チミジンの取り込みで CD4⁺ T 細胞の増殖能を評価した。その結果、pSOCS1 投与マウスの樹状細胞は共培養した自己反応性 CD4⁺ T 細胞の増殖能を抑制することが示された。

(考察)

EAM は CD4⁺ T 細胞の活性化によって引き起こされる病態であり、その CD4⁺ T 細胞の活性化には TLR 刺激を介した樹状細胞の活性化が重要である。今回の検討によって pSOCS1 投与による樹状細胞の抑制作用により CD4⁺ T 細胞への活性化が抑制され、心筋炎が制御されたことが示唆された。

審 査 の 結 果 の 要 旨

本論文は、根本的な治療法が確立されていない拡張型心筋症の新たな治療法に発展しうる基礎研究として有意義な研究と評価できる。すなわち、拡張型心筋症の病因の1つと考えられる自己免疫性心筋炎モデルを対象に免疫担当細胞の活性化を抑制する SOCS1 が組織学的にも機能的にも心筋炎を改善することを明らかにし、その機序についても知見を得た。審査委員会では、投与した plasmid DNA が樹状細胞に発現したことを示す直接的根拠がない等の方法上の問題点が今後解決すべき課題として指摘されたが、全体としては有意義な研究であると高く評価された。

平成 24 年 1 月 5 日、学位論文審査委員会において、審査委員全員出席のもと論文について説明を求め、関連事項について質疑応答を行い、最終試験を行った。その結果、審査委員全員が合格と判定した。

よって、著者は博士（医学）の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。