

わた なべりつ お

氏 名	渡 辺 律 雄
学 位	博 士 (医学)
学 位 記 番 号	新大院博(医)第35号
学位授与の日付	平成17年 3月23日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
博 士 論 文 名	ラット自己免疫性心筋炎の急性期において劇的な発現亢進を認めた Pancreatitis associated protein (PAP) の検討

論文審査委員	主査 教授 相 澤 義 房
	副査 教授 林 純 一
	副査 教授 安 保 徹

博士論文の要旨

劇症型心筋炎は重篤な炎症性心疾患である。急性期には著明な炎症細胞浸潤と心筋細胞の壊死・脱落を認め、高度な心機能障害のために血行動態の破綻を来し、時には致命的となる。慢性期に至ると炎症細胞浸潤は徐々に消退し、広範な線維化を認めるようになるが、心機能は時間とともに回復傾向を示すようになる。発症から回復にかけて心機能が劇的に変化する経過において、心筋組織中の心筋炎を構成する細胞（心筋細胞、非心筋細胞あるいは炎症細胞）のクロストークが心機能障害の進展抑制や、心筋炎の病態形成に大きく関与していると推測される。今回我々は、ヒトの劇症型巨細胞性心筋炎に類似するラット実験的自己免疫性心筋炎（以下 EAM）において、心筋細胞の遺伝子発現の変化を DNA マイクロアレイを用いて網羅的に比較検討した。その結果、DNA マイクロアレイに配置されている解析可能な 7793 種類遺伝子の中でいくつかの遺伝子発現が大きく変化していることが示唆され、その中でも pancreatitis associated protein (PAP I) は、EAM 心筋細胞で、正常心筋細胞と比べて非常に発現が亢進していることを見いだした。そこで、定量的 RT-PCR で詳細に検討すると、PAP I は組織学的に心筋炎をほとんど認めない発症のごく初期の第 6 日から第 9 日にかけて、急激に発現量が増加し、心筋炎極期の第 18 日ではピークとなり、正常心筋細胞の約 1800 倍に達していた。また、極期の EAM ラットの心筋組織から分離精製した細胞群での定量的 RT-PCR の解析では、PAP I の発現は非心筋細胞ではなく、ほとんどが心筋細胞に認められた。さらに PAP I のアイソフォームである PAP II、PAP III において同様な解析をしたところ、いずれも正常心筋細胞の比べ心筋炎極期の第 18 日目の心筋細胞で著明な発現の亢進を認めたが、PAP II は心筋細胞で非心筋細胞に比し約 5 倍の発現がみられ、PAP III は、心筋細胞、非心筋細胞とも同程度の発現が認められた。心不全時に心筋細胞での発現が増強する ANP、BNP と比較しても、PAP I の発現の亢進は急激で著しく、心筋炎の発症過程でより初期から認められた。また PAP の転写活性化因子の 1 つと考えられている p8 の発現を同様に調べたところ、正常心筋細胞に比し第 18 日目の心筋細胞で約 12 倍の亢進がみられた。さらに PAP 遺伝子のプロモーター領域に働き転写を活性化していると想定され、非心筋細胞で主に発現していると考えられる IL-6 も、正常の非心筋細胞に比し第 15 日目の非心筋細胞で約 109 倍に亢進していた。またこれら PAP アイソフォームの受容体の一つと考えられている regenerating gene (Reg) 受容体を有

する細胞を、EAM 心臓の心筋炎を構成する細胞を分離精製した細胞群で調べたところ、心筋細胞、 α β T 細胞、マクロファージなどの炎症細胞、線維芽細胞、血管内皮細胞、平滑筋細胞を含む非心筋非炎症細胞にも発現が認められた。これらのことから、PAP アイソフォームは心筋細胞で劇的に発現が亢進し、産生、分泌され、オートクリンとして心筋細胞に、あるいはパラクリンとして周囲の細胞に影響を与えていると考えられた。心筋炎における心筋細胞での PAP についての検討は全く報告されていないが、急性膵炎における PAP の最近の報告では、分泌型ストレス蛋白としての作用、抗アポトーシス作用、細胞の再生に関与する作用などを有するとされており、我々の結果を考えると、心筋炎の病態形成や心筋細胞障害の進展抑制などに大きく関与する可能性が考えられた。また今後、ANP, BNP と同様に、臨床的な心疾患のマーカーとなりうる可能性も考えられ、検討が望まれる。

審査結果の要旨

申請者は、ヒトの劇症型巨細胞性心筋炎に類似するラット実験的自己免疫性心筋炎（以下 EAM）において、心筋の遺伝子発現を DNA マイクロアレイを用いて検討した。

定量的 RT-PCR で、pancreatitis associated protein (PAP I) は心筋炎が殆ど認められないごく初期から第 9 日にかけて発現が増加し、心筋炎極期の第 18 日ではピークとなり、正常心筋細胞の約 1800 倍となった。極期に分離精製した細胞群でみると、PAP I は心筋細胞に発現していた。アイソフォームの PAP II, PAP III も心筋炎極期の第 18 日に著明に発現していた。PAP の転写活性化因子の 1 つの p8 は、心筋細胞で第 18 日目の正常に比し約 12 倍の発現亢進がみられ、転写を活性化していると想定される IL-6 は、非心筋細胞で正常の約 109 倍に発現が亢進していた。PAP の受容体である regenerating gene (Reg) は、心筋細胞、 α β T 細胞やマクロファージなどの炎症細胞、さらに線維芽細胞、血管内皮細胞、平滑筋細胞を含む非心筋非炎症細胞に広く発現していた。

PAP は EAM 心筋細胞で産生分泌され、オートクリンあるいはパラクリン的に周囲の細胞に作用し、心筋炎の病態形成に大きく関与する可能性を示すことができ、この点に学位論文としての価値を認める。