

## 審査の結果の要旨

氏名 柴田 宗彦

本研究は心不全における慢性炎症の関連を明らかにするために、フローサイトメトリーを用いて心臓中の炎症細胞を解析したものである。心不全モデルとしてマウスに対する大動脈縮窄術(TAC)を用い、心臓中の炎症細胞に対する介入としてクロドロネート・リポソームを用いた。その結果として以下を得ている。

1. はじめに心臓には定常状態においても免疫細胞が存在し、とくにマクロファージは心臓全体の細胞数の 1%程度を占めていることが明らかとなった。そしてその数はアンジオテンシンII 負荷や心臓圧負荷により増えることが明らかとなった。
2. 心臓マクロファージ機能を検討するため、クロドロネート・リポソームを用い、マクロファージの除去を試みた。その結果、クロドロネート投与マウスでは著明な生存率の低下を認め、圧負荷後 48 時間以内にほぼすべて死亡した。圧負荷から 4-5 時間後の心機能を評価した結果、クロドロネート投与マウスでは著明な心機能低下を認めた。この結果は、マクロファージが心臓圧負荷に対して保護的な役割を果たしていることを強く示唆した。
3. マクロファージが心臓において保護的に作用している機序を探るため、メタボローム解析を行った。その結果、クロドロネート投与によって正常状態と比較して心臓中のアセチル CoA の量が低下傾向にあることが分かった。そして遺伝子発現変化もクロドロネート投与群では Pyruvate dehydrogenase kinase (PDK)発現は亢進、Pyruvate dehydrogenase phosphatase (PDP)発現は抑制され、いずれも Pyruvate dehydrogenase (PDH) が抑制され、アセチル CoA の産生が減少する方向に変化していた。
4. 心臓マクロファージのプロファイリングを行った結果、M2 マクロファージ様であることが確認されたため、次に遺伝的にその機能に介入することを試みた。M2 マクロファージの分化には STAT6 が必要であることが知られている。そこで、STAT6 についての検討を行った。骨髄移植により骨髄細胞のみで STAT6 を欠損するマウスを作製し、骨髄移植 8 週後に TAC を施行した。TAC 3 日後に心機能を評価したところ、コントロールと比較して左室駆出率の低下を認めた。また心臓での遺伝子発現を評価したところ、マクロファージ障害マウスでは *Atp2a2* (SERCA2a)の低下、*Coll1a1*(Collagen, type1, alpha1)の上昇を認めた。SERCA2a は細胞質中のカルシウムイオンを小胞体内に再取り込みするのに必須のタンパクであり、不全心ではその発現が低下すること

が知られている。このことは骨髄細胞の **STAT6** 下流の遺伝子が心不全に対して保護的に作用していることを意味する。

5. 新生仔ラット初代心筋細胞と腹腔マクロファージを共培養した結果、マクロファージと共培養した心筋細胞はコントロールと比較して心筋細胞の肥大を認めた。このことからマクロファージ由来の液性因子が心筋に対して肥大作用を生じると考えられた。

以上、本論文はフローサイトメトリーを用いた心臓中の免疫細胞の解析および大動脈縮窄術におけるマクロファージに対する介入からマクロファージは心臓圧負荷に対して保護的に作用することを明らかにした。

マクロファージ由来の液性因子は心不全における新たな治療薬剤となる可能性を秘めている。本研究は心不全における慢性炎症の役割の解明に重要な貢献を成す。よって、学位の授与に値するものであると考えられる。