

機関番号：32612

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2009～2010

課題番号：21790750

研究課題名(和文)

拡張型心筋症の病態生理の解明 - CD45 シグナリングの心室リモデリングへの関与

研究課題名(英文)

The Pathophysiology of Dilated Cardiomyopathy -the association between CD45 signaling and left ventricular remodeling

研究代表者

前川 裕一郎 (MAEKAWA YUICHIRO)

慶應義塾大学・医学部・助教

研究者番号：90296575

## 研究成果の概要(和文):

自己免疫性心筋炎モデルにおいて CD45 遺伝子欠損マウス群(以下ノックアウト群)はコントロール群に比べて生存率については高い傾向にはあるものの、統計学的有意差は認めなかった。また心筋炎発症の有無に関する評価については、ノックアウト群において心筋炎の発症が有意に抑制された事が観察された。心筋梗塞モデルにおいては、心筋炎モデルと同様、ノックアウト群において生存率は高い傾向にあるものの、統計学的有意差は認めなかった。CD45 遺伝子欠損が自己免疫性心筋炎発症の抑制および心筋炎発症後の心臓リモデリングを抑制する事を確認するとともに、心筋梗塞モデルにおいても同様の結果が得られる事を確認した。

## 研究成果の概要(英文):

CD45 signaling was closely associated with left ventricular remodeling after autoimmune myocarditis and myocardial infarction in mice.

## 交付決定額

(金額単位:円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,800,000	540,000	2,340,000
2010年度	1,500,000	450,000	1,950,000
総計	3,300,000	990,000	4,290,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・循環器内科学

キーワード：心筋症、炎症、リモデリング

## 1. 研究開始当初の背景

心血管疾患に対する治療技術の進歩した現代にあっても、心筋炎の治療においてははまだ保存的治療法が主体となっており、自己免疫抑制という観点からかつてステロイドを初めとした免疫抑制療法が試されたが有効性は見出されず(Parrillo JE et al. N Engl J Med. 1989 ;321:1061-8., Mason JW et al.

N Engl J Med. 1995 ;333:269-75.), 病態に直結した有効な治療法が存在しないというのが現実である。拡張型心筋症は若年者の心不全の原因の1つとして最も重要な疾患であり、しばしば先行するウイルス性心筋炎によって引き起こされた自己免疫反応の結果発症する。CD45 は造血細胞のマーカとして広く知られており、それ自体はチロシン酸化酵素活性を有するタイプ I 膜貫通型蛋白で

Tリンパ球シグナリングの1つである Srcファミリー蛋白チロシンリン酸化酵素(SFK)を調節する因子として知られている(Thomas ML et al. Immunol Today. 1999;20:406-11.)。CD45 欠損の T-リンパ球を用いた研究では Tリンパ球シグナリングの活性化が抑制されている事が観察され(Desai DM et al. EMBO J. 1994;13:4002-10.)、CD45 の遺伝子が欠損している症例では重症免疫不全に進行する事が報告されている(Kung C et al. Nat. Med. 2000;6:343-45.)。他にも CD45 がヤヌスキナーゼ(JAK)を抑制してサイトカイン受容体シグナリングを抑制しているあるいは機序は不明だがアポトーシスを惹起するといった報告もあり、CD45 は多様な機能を有する事が明らかとなっている。しかし、CD45 シグナリングの具体的な関与については過去に具体的報告は少なく、詳細は不明である。また、心筋梗塞後左室リモデリングにおいても炎症の関与が以前より示唆されているが、CD45 シグナリングの関与の有無については不明である。

## 2. 研究の目的

我々は、蛋白チロシンリン酸化酵素の1つであり、最近の研究から特に Tリンパ球の分化に重要な役割を果たしている事が明らかになった CD45 に着目し、様々なモデルを用いて免疫学的側面より拡張型心筋症に至る病態生理をより詳細に明らかにする事を目的とした。

## 3. 研究の方法

CD45 の遺伝子欠損マウス(ノックアウト群)および欠損マウスの遺伝子背景である Balb/c マウスをコントロール(コントロール群)として用い、自己免疫性心筋炎モデルおよび心筋梗塞モデルを作成した。CD45 遺伝子欠損による心筋炎後あるいは心筋梗塞後の生存率に及ぼす影響を検討した。マノメーターカテーテルおよび心臓超音波を用いて、CD45 遺伝子欠損による心筋炎後および心筋梗塞後左室リモデリングの差異について両群間で比較検討した。また、心筋線維化の程度あるいは炎症細胞浸潤の程度などを評価するとともに分子生物学的機序につき考察を加えた。

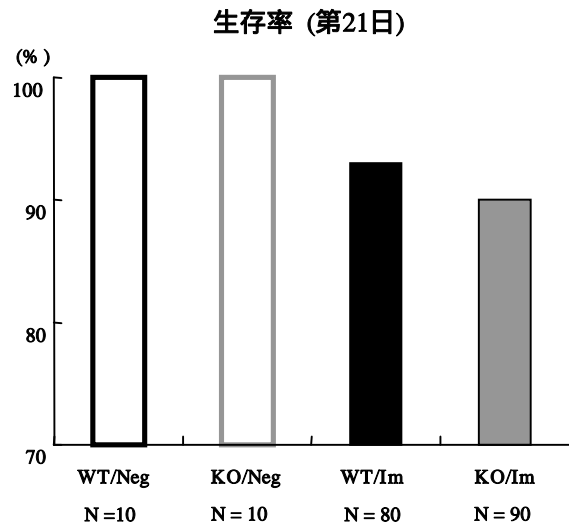
## 4. 研究成果

### (1) 生存率の比較検討

自己免疫性心筋炎モデルにおいて第 21 日の時点での生存率はノックアウト群(KO/Im)とコントロール群(WT/Im)の間に統計学的に有意差を認めなかった(図 1)。

#### 自己免疫性心筋炎モデル

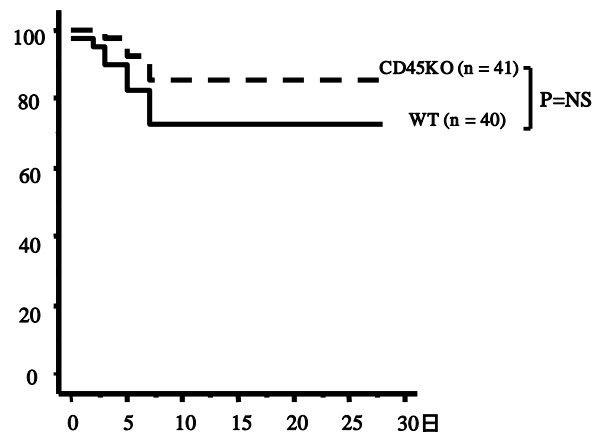
図 1



心筋梗塞モデルにおいてはノックアウト群(CD45KO)はコントロール群(WT)に比べ生存率が良好な傾向にはあったが、統計学的には有意差を認めなかった(図 2)。

#### 心筋梗塞モデル

図 2



## (2) 血行動態の比較検討

自己免疫性心筋炎および心筋梗塞モデルとも心臓超音波にて計測された左室拡張末期径、左室収縮末期径はノックアウト群において有意に小さく、左室内径短縮率は、ノックアウト群において有意に高値であった。マンメーターカテーテルにより計測された左室拡張末期圧はノックアウト群において高値であった。

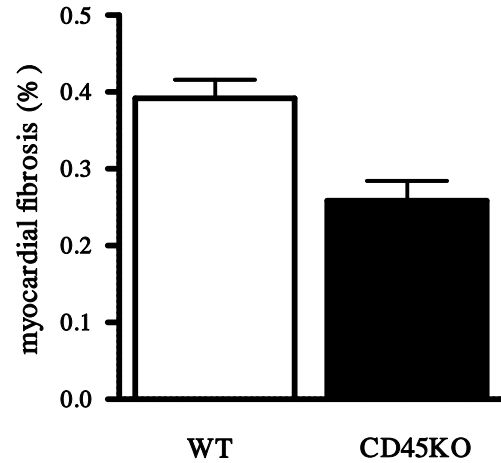
心筋梗塞モデルでの心臓超音波の結果を以下に示す。

心臓超音波	WT Sham	KO Sham	WT MI	KO MI
n	6	6	11	10
左室拡張末期径, mm	2.74 ± 0.02	2.75 ± 0.07	4.81 ± 0.06	4.46 ± 0.05
左室収縮末期径, mm	1.30 ± 0.03	1.29 ± 0.03	3.73 ± 0.06	3.20 ± 0.05
左室内径短縮率 %	52.5 ± 0.7	53.2 ± 0.4	22.5 ± 0.5	28.2 ± 0.5

## (3) 心筋線維化に関する評価

自己免疫性心筋炎モデルにおいてマッソントリクローム染色による線維化の評価を行った結果、ノックアウト群はコントロール群に比べ有意に線維化が抑制されている事を確認した。

心筋梗塞モデルにおいて非梗塞部の線維化につきマッソントリクローム染色による評価を行った結果、ノックアウト群はコントロール群に比べ非梗塞部の線維化が抑制される傾向にあった。結果は以下に示す。

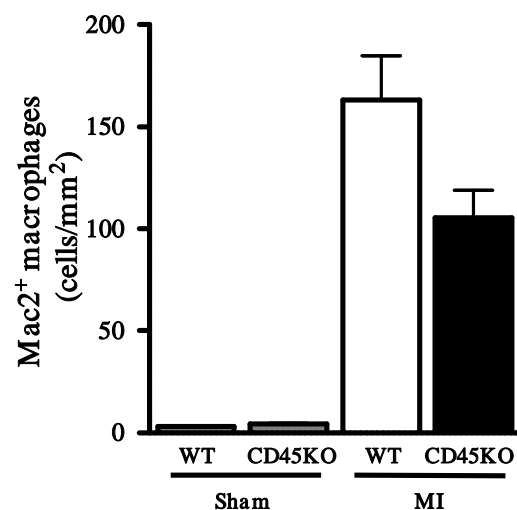


また、ピクロシリウスレッド染色を施行し、線維化の程度を確認したが、マッソントリクローム染色にて確認された所見と同様の所見が確認された。

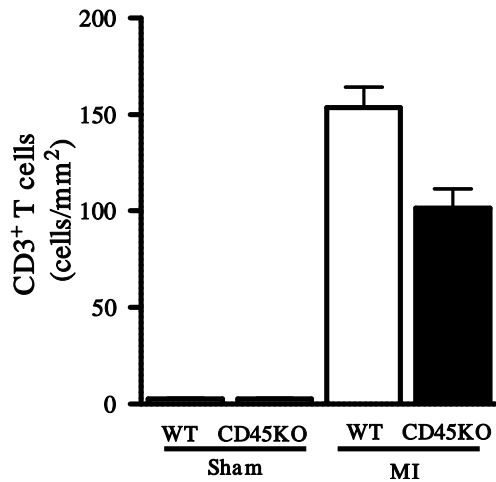
## (4) 炎症細胞浸潤に関する評価

自己免疫性心筋炎モデルにおいてマクロファージおよび CD3 陽性 T リンパ球の浸潤はコントロール群に比べ少ない傾向にあった。

心筋梗塞モデルにおいて梗塞部心筋に浸潤したマクロファージ数は、ノックアウト群においてコントロール群に比べ有意に少なかった。結果は下記参照。



同様に梗塞部心筋に浸潤した CD3 陽性 T リンパ球数は、ノックアウト群においてコントロール群に比べ有意に少なかった。結果を以下に示す。



樹状細胞の心筋局所への浸潤の程度について、自己免疫性心筋炎モデルおよび心筋梗塞モデルにおいて免疫組織染色にて評価を行った。心筋炎モデルにおいて、ノックアウト群においてはコントロール群に比べ浸潤した樹状細胞の数は有意に少なかった。また、心筋梗塞モデルにおいて、梗塞部心筋で観察された樹状細胞の数はノックアウト群ではコントロール群に比べ有意に少なかった。

#### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計1件)

Yuichiro Maekawa, Toshiyuki Nagai, Atsushi Anzai. Pentraxins: CRP and PTX3 and Cardiovascular disease. *Inflammation & allergy drug targets*. 2011 May 4. Epub ahead of print. 査読有

[学会発表](計0件)

[図書](計0件)

[産業財産権]

出願状況(計0件)

取得状況(計0件)

[その他]

なし

#### 6. 研究組織

##### (1)研究代表者

前川 裕一郎 (MAEKAWA YUICHIRO)

慶應義塾大学・医学部・助教

研究者番号：90296575

##### (2)研究分担者

なし

##### (3)連携研究者

なし