

Banyu Foundation Research Grant 2012—女性研究者支援—

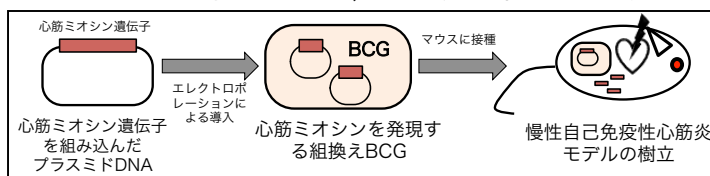
研究成果報告書(最終) <概要>

所属	筑波大学医学医療系循環器内科
氏名	田尻 和子
研究テーマ	遺伝子組換えBCGを用いた新規慢性心筋炎/心不全モデルの確立

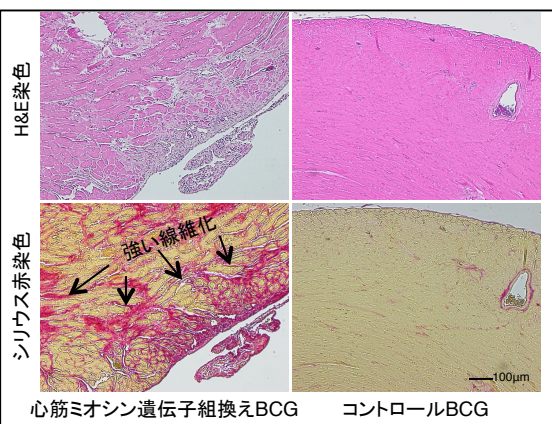
- ・ 研究助成報告として広報資料に掲載される点を留意すること。
- ・ 概要の構成は自由とするが、研究目的、手法、成果など、一般の方にもわかりやすくすること。
- ・ 枚数は1ページにまとめること。(図表、写真などの添付を含む)

心不全は多様な心疾患の終末像であり、その発症と進展における慢性炎症の役割が注目されているが、心臓組織における慢性炎症の制御機構の詳細は未だ不明である。その原因の一つに慢性心筋炎病態を呈するモデル動物が欠如していることがあげられる。既存の心筋炎モデルは急性炎症モデルであり、炎症が持続しないため心不全への慢性炎症の関与を調べるには不向きである。そこで新たな慢性心筋炎モデル動物が心不全と慢性炎症との関わりの解明のために必要とされている。

BCGは生体内で抗原提示細胞に持続感染する細胞内寄生細菌であり、長期間免疫反応が持続する。またBCGは免疫反応を高める強いアジュバント活性を持つことが知られている。そのため、自己抗原遺伝子を組み込んだ組換えBCGをマウスに投与すると、長期間にわたり自己抗原を生体内で産生し、またそれ自身のアジュバント効果によって、自己免疫性炎症の誘導が可能と考えられた。そこで本研究では、結核ワクチンであるBCGに**心筋ミオシン遺伝子を組み込んだ組換えBCG**を作製し、**慢性自己免疫性心筋炎/心不全モデルマウスの作製を試みた。**



心筋ミオシン遺伝子組換えBCGを作製しマウスに投与したところ、単独投与では心筋炎の程度が弱く心不全を呈しなかった。そこでより強い慢性心筋炎を誘導するために、心筋ミオシンペプチドと完全フロイントアジュバントの混和物の事前投与でプライミングを行った後に組換えBCGを投与したところ、空ベクターを組み込んだBCGを投与したマウスと比較し心体重比



が徐々に増加し、心筋組織中に持続性の炎症細胞浸潤と線維化を認めた(左図)。心エコー図検査を用いて心機能を評価すると、左室拡張期/収縮期径は拡大し、左室短縮率も低下しており心不全を呈していた。心臓に浸潤してきたCD4陽性T細胞はCD44<sup>high</sup>CD62L<sup>low</sup>のエフェクターT細胞が多数を占めており、それらはIFN- $\gamma$ やIL-17を多く産生していた。このCD4陽性T細胞を免疫不全マウスに adoptive transfer するとSCIDマウスに心筋炎を生じさせたことから、組換えBCG投与による心筋炎/心不全マウスは心筋炎惹起性エフェクターT細胞を効果的に生み出していたことがわかった。

組換えBCGの樹状細胞への影響を観察するために *in vitro* で樹状細胞に感染させたところ、IL-6やTNF- $\alpha$ を多量に分泌した。さらにその培養上清をナイーブT細胞に添加するとIFN- $\gamma$ やIL-6、IL-17を分泌する事がわかった。さらに、*ex vivo* で樹状細胞に組換えBCGを感染させてから体内に細胞を戻しても持続的な心筋炎を誘導できることから、樹状細胞に感染した組換えBCGは持続炎症を引き起こしている事が明らかとなった。

今後はこのモデルを活用し、心不全における慢性炎症の関与のメカニズムを探り、新たな治療法や予防法の開発に繋げていくことが課題である。



2. 学会発表実績		
<ul style="list-style-type: none"> <li>・ 発表年順(新しいものから)に記入すること。ただし、本研究助成金交付後のものに限る。</li> <li>・ 発表学会名、発表者名、演題を記入する。</li> <li>・ 国内外を問わない。</li> <li>・ 欄が足りない場合は、増やして記入すること。</li> </ul>		
	発表時期	発表学会名、発表者名、演題
1	2015年7月	第1回日本心筋症研究会. 田尻和子、松尾和浩、廣江道昭、保富康宏、青沼和隆、今中恭子. 遺伝子組み換え BCG システムを用いた新たな慢性心筋炎マウスモデルの確立.
2	2015年5月	第104回日本病理学会総会. 田尻和子. 慢性炎症性疾患としての拡張型心筋症。遺伝子組み換え BCG システムを用いた新たなマウスモデルの確立
3. 投稿、発表予定		
	投稿/発表時期	雑誌名、学会名等
1	今年中投稿	Mice immunized with recombinant BCG expressing cardiac myosin epitope develop sustained myocardial inflammation: a new model of inflammatory cardiomyopathy
2	2016年3月	第80回日本循環器学会学術集会. K. Tajiri, Y. Yasutomi, K. Imanaka-Yoshida, K. Matsuo, Y. Tsujimura, M. Hiroe, K. Aonuma. Role of Effector Memory CD4 <sup>+</sup> T cells in Inflammatory Dilated Cardiomyopathy: Insights from Animal Studies.