

Title	Involvement of Sema4A in the progression of experimental autoimmune myocarditis
Author(s)	牧野, 信彦
Citation	大阪大学, 2009, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/49841">https://hdl.handle.net/11094/49841</a>
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉</a> 大阪大学の博士論文について <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈/a〉</a> をご参照ください。

***Osaka University Knowledge Archive : OUKA***

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

## 【40】

氏名	まきののぶひこ 牧野 信彦
博士の専攻分野の名称	博士 (医学)
学位記番号	第 22749 号
学位授与年月日	平成 21 年 3 月 24 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当 医学系研究科内科系臨床医学専攻
学位論文名	Involvement of Sema4A in the progression of experimental autoimmune myocarditis (自己免疫性心筋炎における Sema4A の役割)
論文審査委員	(主査) 教授 熊ノ郷 淳 (副査) 教授 荒瀬 尚 教授 竹田 潔

## 論文内容の要旨

## 〔 目 的 〕

急性心筋炎はウイルスなどの病原体の感染に引き続き生じることが多く、その過程には心筋への自己免疫反応の関与が明らかになってきている。更に、この自己免疫反応の拡張型心筋症進展への関わりを示唆する報告もある。自己免疫性心筋炎の動物モデルである実験的自己免疫性心筋炎 (EAM) の検討では、CD4+T細胞がその発症に関与することが明らかとなっている。従来より我々は神経軸索の伸張に関わるセマフォリン分子が免疫反応の制御に関わることを報告する中で、クラス4型に属する

Sema4AがCD4+T細胞による免疫反応を制御することを見出ししてきた。そこで、本研究では自己免疫性心筋炎発症におけるSema4Aの役割をEAMモデルを用いて解析した。

## 〔 方法ならびに成績 〕

本研究ではBALB/cマウスを使用した。野生型マウスの骨髄より樹状細胞を誘導し、心筋合成ペプチドであるmyosin heavy chain  $\alpha$  (MyHC- $\alpha$ )と共培養し、更にLPSと抗CD40抗体にて活性化させた後に $1 \times 10^5$ 個/マウスずつ、1日おきに3回腹腔内投与した。最初の投与から10日目に心臓を取り出し、HE染色による組織診断を行った。重症度はクリニカルスコアを用いて評価した。(0、炎症性細胞の浸潤を認めない； 1、心筋細胞間へごく少量の炎症細胞浸潤を認める； 2、100個以上の炎症性細胞浸潤を認める； 3、心臓切片の10%以上に炎症細胞の浸潤を認める； 4、心臓切片の30%以上に炎症細胞浸潤を認める) 野生型マウスは心筋への炎症性細胞浸潤を伴う重度の心筋炎を生じるのに対して、Sema4A欠損マウスは心筋炎発症抵抗性を示した。(平均クリニカルスコア：野生型マウス v. s. Sema4A欠損マウス：3.48 v. s. 1.29) EAMを誘導した心筋より、浸潤細胞を単離し、Flow cytometryにて解析を行ったところ、野生型マウスに比しSema4A欠損マウスでは炎症性細胞は著しく減少していた。

Sema4AはCD4+ T細胞の分化において重要な役割を果たしている。そこで、EAMにおいてのT細胞活性化への関与を明らかにするために、MyHC- $\alpha$ による心筋炎発症マウスのCD4+T細胞再刺激実験を行った。Sema4A欠損マウスのMyHC- $\alpha$ 反応性CD4+T細胞は野生型マウスに比しIL-4、IL-10の産生亢進が認められた。次に制御性T細胞(Treg)の関与について検討したが、野生型マウス、Sema4A欠損マウスの間で脾臓におけるCD4+CD25+Foxp3+となるTregの比率に差は認めなかった。Tregの機能を評価するためにin vitroでのTreg assayを行った。野生型マウスまたはSema4A欠損マウスよりsortingしたCD25+CD4+のTregとCD25-CD4+のエフェクターT細胞を放射線照射した抗原提示細胞と共培養し、エフェクターT細胞の増殖能を測定した。その結果、野生型マウスとSema4A欠損マウスとの間で増殖抑制能に差は認めなかった。以上よりIL-4、IL-10などのTh2サイトカインの産生亢進がSema4A欠損マウスのEAM発症抵抗性に関与する可能性が示唆された。

次に、ヘルパーT細胞の分化異常がSema4A欠損マウスの心筋炎発症抵抗性に関与する可能性を検討するためにEAM誘導マウスより採取したCD4+T細胞のSCIDマウスへの移入実験を施行した。EAMを誘導したマウスの脾細胞をMyHC- $\alpha$ と抗CD28抗体で再刺激した後、CD4+T細胞をAuto MACSにて精製した。得られたCD4+T細胞をSCIDマウスの腹腔内に投与し、10日目に心筋炎の評価を行った。野生型マウスのヘルパーT細胞の移入ではEAM発症を認めたが、Sema4A欠損マウスのヘルパーT細胞ではEAMの発症を認めなかった。(平均クリニカルスコア：野生型マウス v. s. Sema4A欠損マウス：3.40 v. s. 0.60)

## 〔 総 括 〕

本研究によりSema4A欠損マウスはEAM発症に抵抗性であることが明らかとなった。Sema4A欠損マウスのEAM発症抵抗性はヘルパーT細胞の異常に起因し、ヘルパーT細胞による

Th2サイトカインの産生亢進が関与する可能性が示唆された。以上より、Sema4AがヘルパーT細胞の分化制御を介して、自己免疫性心筋炎発症に重要な役割を果たしていることを示した。

#### 論文審査の結果の要旨

拡張型心筋症は重篤な心不全を引き起こし、心臓移植の適応となりうる疾患であるが、自己免疫性心筋炎がその原因のひとつとして注目されている。自己免疫性心筋炎の動物モデルである実験的自己免疫性心筋炎の発症にはCD4<sup>+</sup>T細胞が関わっていることが知られている。本研究ではCD4<sup>+</sup>T細胞分化制御に関与している免疫セマフォリン分子Sema4Aに着目し、自己免疫性心筋炎におけるSema4Aの病的意義の解析を行い、Sema4A欠損マウスが自己免疫性心筋炎発症に抵抗性を示すことを見出した。さらに、その原因がSema4A欠損T細胞のTh1/Th2バランスの破綻によることを明らかにするとともに、Sema4Aが自己免疫性心筋炎の治療標的となりうる可能性も示した。よって本論文は博士（医学）の学位授与に値する。