

審査の結果の要旨

氏名 嵯峨 (加茂) 亜希子

本研究は、これまで全く明らかにされていなかった心不全の病態における腸上皮機能障害の分子機構を解明するために、心不全モデルマウスを用いて腸上皮機能の解析を行い、以下の結果を得ている。

1. 拡張型心筋症(以下、DCM)モデルマウス(n=2)および同腹子の野生型マウス(n=2)の腸上皮から採取した RNA で網羅的遺伝子発現解析を行った。DCM と野生型の同腹子同士をペアとして発現量を比較したところ、DCM モデルマウスの小腸上皮では、*Reg3a*、*Nts* の発現量が 2 ペアともに減少し、*Reg3b*、*Reg3g* は 1 ペアで減少していた。また、DCM マウスの大腸上皮では、*Reg3b*、*Reg3g*、*Nts*、*Tph 1* の発現量が 2 ペアともに減少し、*Saa1* の発現量が 2 ペアともに増加していた。
2. 腸上皮における *Reg3a*、*Reg3b*、*Reg3g*、*Tph 1*、*Nts*、*Saa1* の発現量を、DCM モデルマウスおよび同腹子の野生型マウスの各群を n=5~9 に増やして、定量 RT-PCR で比較したところ、*Tph1*、*Nts*、*Saa1* に関しては、小腸、大腸ともに両群間で差は認められなかった。一方、*Reg3* ファミリーの発現量は、小腸では DCM モデルマウスと野生型マウスで発現量に差は認められなかったものの、大腸では DCM モデルマウスにおいて *Reg3a*、*Reg3b*、*Reg3g* 発現量の減少傾向が見られた。しかし、DCM モデルマウスが心不全を発症するまで 40 週は必要であり、それと同腹子である高齢の野生型マウスでは個体差が大きく、有意差は認められなかった。
3. 個体差を小さくするべく、高用量イソプロテレノール負荷モデルマウス(以後、ISO 群マウス)を用いるとともに、経時的変化を確認する目的で、高用量イソプロテレノールを負荷して 3 日目のモデル(以後、ISO 群マウス day3)と 28 日目のモデル(以後、ISO 群マウス day28)を作成した。また対照群としては同量 PBS 投与マウス(以下、PBS 群マウス)を用意した。day3、day28 において各臓器重量(心体重比、肺体重比、肝体重比)、収縮期血圧、左室内径短縮率を確認したところ、ISO 群マウスは、day3 の時点で心体重比、肺体重比、肝体重比の増加と、収縮期血圧および左室内径短縮率の低下を認め、day28 においても肝体重比の増加、収縮期血圧および左室内径短縮率の低下は継続していた。これらの結果から、ISO 群マウスは心不全モデルマウスとして適していることが示された。
4. ISO 群マウス day3 における小腸、大腸の組織学的変化を調べたところ、小腸では、PBS 群マウスおよび ISO 群マウス day3 ともに線維化はほとんど認められず、粘膜筋層の厚さも両群ともに有意差は認められなかった。一方、ISO 群 day3 マウスの絨毛は密度がまばらで、長さも短く、杯細胞の数も少ない傾向があった。大腸では、PBS 群マウスおよび ISO

群マウス day3 とともに線維化はほとんど認められず、粘膜筋層の厚さ、杯細胞の数に関しても両群ともに差は認められなかった。一方、陰窩の深さは ISO 群 day3の方がより浅かった。

5. ISO 群マウス day3、day28 の小腸、大腸上皮での *Reg3a*、*Reg3b*、*Reg3g* の発現量を定量 RT-PCR で確認したところ、小腸では、*Reg3a*、*Reg3b*、*Reg3g* の発現量は day3、day28 いずれにおいても PBS 群マウスと ISO 群マウスで差は認められなかった。一方、大腸では、ISO 群マウスにおける *Reg3b*、*Reg3g* の発現量が PBS 群マウスと比較して day3 で有意に低下しており、day28 で低下傾向であった。
6. FISH法を用いて ISO 群マウス day3 の腸上皮付近の細菌量の確認を行ったところ、*Reg3b*、*Reg3g* 発現量が減少していた大腸では本来無菌であるはずの腸上皮付近への腸内細菌の部分的な付着が認められ、腸上皮バリアの破綻が示された。
7. FITCデキストランを用いて腸透過性を調べたところ、PBS 群マウス day3 と比較して ISO 群マウス day3 での腸透過性の亢進が認められた。
8. PBS 群マウス day3 と比較して ISO 群マウス day3 の血中エンドトキシン濃度の上昇が認められた。

以上、本論文は心不全モデルマウスを用いて腸上皮機能の解析を行い、心不全では抗菌ペプチドである *Reg3b*、*Reg3g* の発現量の減少が一因となって腸上皮に付着する細菌量の増加を来し、腸上皮透過性の亢進と合わせて、血中エンドトキシン濃度が上昇した可能性を示した。本研究は、これまで全く明らかにされていなかった心不全における腸上皮バリア破綻の分子機構の解明に重要な貢献をなすと考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。