

氏名・(本籍)	よし <sup>かね</sup> 吉 兼 <sup>ゆかこ</sup> 由佳子 (福岡県)		
学位の種類	博士 (医学)		
報告番号	乙第1574号		
学位授与の日付	平成27年3月24日		
学位授与の要件	学位規則第4条第2項該当 (論文博士)		
学位論文題目	JNK Is Critical for the Development of <i>Candida albicans</i> -induced Vascular Lesions in a Mouse Model of Kawasaki Disease (JNKはカンジダ誘発川崎病類似汎血管炎マウスモデルにおいて血管炎発生に重大な役割を持つ)		
論文審査委員	(主査) 福岡大学	教授	廣瀬 伸一
	(副査) 福岡大学	教授	中島 衡
	福岡大学	教授	廣松 賢治
	福岡大学	教授	小川 厚

## 内容の要旨

【背景】川崎病は依然として約10～20%に不応例が存在する上、約3%で後遺症として冠動脈拡大ないしは瘤病変を残している。川崎病患児の予後向上のためには、川崎病冠動脈瘤形成の病態を解明し、その進行防止を目指した画期的な薬物治療の開発が急務である。そこで我々は川崎病冠動脈瘤と同様に血管炎症が主病態である大動脈瘤組織内において異常に亢進している細胞内シグナル伝達分子のひとつである c-Jun N-terminal kinase (JNK) 活性に着目した。

【目的】川崎病類似汎血管炎モデルマウスを用い、川崎病の血管炎病態において JNK 阻害薬が冠動脈瘤形成を予防することを証明する。

【方法】カンジダ・アルビカンス標準株の菌体抽出物質 4mg を、マウス C57BL/6 雄の腹腔内に5日間連続投与を1週目と5週目の2クール行い、川崎病類似汎血管炎モデルマウスを作成した。またカンジダ投与開始前日に JNK 阻害薬タブレットをマウス後頸部皮下に留置した。モデルマウス作成1ヶ月後に犠牲死させ、血管病変を解析した。以上を JNK 投与群 (J群) とし、J群 10匹とプラセボ群 (プ群) 20匹とで比較検討した。

【結果】J群では10匹中に1匹 (10%)、プ群では20匹中に13例 (65%) で血管病変を認めた ( $p < 0.01$ )

【考察】JNK は川崎病冠動脈瘤形成に関与し、JNK 阻害薬が瘤形成予防薬となりうる事が示唆された。

## 審査の結果の要旨

本論文は、カンジダアルビカンスアルカリ抽出液で誘発した川崎病汎血管炎類似モデルマウスを作成し、細胞内シグナル伝達分子のひとつである c-Jun N-terminal kinase (JNK) 阻害薬が血管瘤形成を予防しうることを証明したものである。

### 1. 斬新さ

川崎病冠動脈瘤形成は初期治療不応例に多く、不応例を作らないための急性期治療がいくつか報告され、治療ガイドラインにも反映されたが、瘤形成防止をターゲットとした研究は極めて少ない。本研究は、腹部大動脈瘤の病態解析から同定された JNK の知見を応用して、川崎病冠動脈瘤形成予防薬開発を目指す他に類を見ない研究である。さらに腹部大動脈瘤に対しては瘤退縮治療も成功しており、将来的に川崎病冠動脈瘤に対しても退縮治療にも発展しうる画期的な薬剤開発として斬新と言える。また、今回のモデルマウスにおいて瘤の病勢や治療効果を判定する新規バイオマーカーとして、腹部大動脈瘤でも予備的結果を得ているテネイシン C (TN-C) を用い、その有用性を検証することも川崎病関連研究至上初の試みである。

### 2. 重要性

川崎病は発見されて以来 40 年余り経つが、未だに原因は解明されていない。依然として約 10～20% に不応例が存在する上、約 3% で後遺症として冠動脈拡大ないしは瘤病変を残し、心筋梗塞のリスクとなっている。川崎病患児の予後向上のためには、冠動脈瘤形成の病態を解明し、その進行防止を目指した画期的な薬物治療の開発が急務である。このため薬物治療開発のための本論文のような基礎研究は重要である。

### 3. 実験方法の正確性

カンジダアルビカンス菌体抽出物質を用いた川崎病モデルマウス作成は、実績のある東邦大学（高橋啓博士ら）の方法を詳細に入手している。JNK 阻害薬として使用した SP600125 は JNK タンパクを選択的に阻害する試薬として知られ、多くの研究室で使用されている米国フィラデルフィア州サラソタより輸入されたものを使用しており信頼性は十分である。冠動脈の肉眼的解析においては、内腔拡大評価の正確性を増すため、ラットの網膜微小血管を詳細に観察し得たインク-ゼラチン法（2008 Jianbin et.al）を採用している。またマウス屠殺後速やかに凍結した新鮮な組織を、回転式マイクロームを用いて連続切片で切り出しており、組織解析においても正確性は十分である。

### 4. 表現の明確さ

本論文は、川崎病患児の最大の問題点である冠動脈瘤合併に対する斬新で画期的な新規薬物治療の開発で予後改善を目指すという臨床に即した目的を明確に表現している。また論文構成においても、必要十分な実験方法と明確に導き出された結果により、目的に即した考察展開ができており、表現は明確である。

### 5. 主な質疑応答

Q1 「カンジダが入るとどのようなシグナルが出て、炎症が惹起されるのか。またどこに JNK 阻害薬は効くのか」

- A 「TLR に作用して自然免疫が惹起され血管炎が起こる。JNK 阻害薬は TLR から MMP9,細胞外マトリックスにまで幅広く作用する。」
- Q2 「カンジダが入るとなぜ血管炎が起こるのか。なぜ炎症部位が血管なのか。」
- A 「元々モデルマウスが作成できたきっかけが、たまたま患児の糞便から抽出したカンジダを投与してできた経緯があり、原因不明な部分はまだある。なぜ炎症部位が血管なのかはわかりかねる。」
- Q3 「JNK 阻害薬は川崎病冠動脈瘤の退縮治療にもなるのか。」
- A 「次の段階で実験予定である。」
- Q4 「どのように臨床応用できるか。治療の対象は？」
- A 「ひとつは瘤を作りやすい遺伝子が見つかったが、それだけでは治療の対象にならず、臨床的に免疫グロブリン不応例が予測される中で、さらに瘤形成の勢いが強い患児に治療薬として応用されることを期待している。」
- Q5 「JNK 阻害薬はどんな疾患に効くのか。」
- A 「アポトーシスが促進されて起こる疾患、癌やアレルギー疾患、神経変性疾患、糖尿病などに臨床応用されつつある。」
- Q6 「JNK 阻害薬の副作用は？機序は？」
- A 「肝不全など、副作用は問題である。機序は脱リン酸化である。」
- Q7 「なぜ大動脈に多く瘤が形成されたか。」
- A 「おそらく、炎症が強かったか、もしくは血行力学的にマウスの大動脈はサイズが小さく、中小動脈として瘤ができやすかったのではないか。」
- Q8 「免疫グロブリンの作用機序は？」
- A 「FC 部分のシアル酸が強い抗炎症作用を持つということが新しく報告され、現在当研究室でも、同モデルマウスでシアル酸リッチ FC の効果を見る実験を計画中である。」
- Q9 「免疫グロブリンにアルブミンは入っているか。」
- A 「入っていないと思われる。」

本論文は、臨床応用が十分に期待される基礎実験であり、結果も明確に出されており、既に Cardiovascular Pathology, 2014 に掲載されている。

以上より、本論文は学位論文に値すると評価された。