

# 論文内容の要旨

## Candesartan Attenuates Vasculitis in a Mouse Model of Kawasaki Disease Induced by the *Candida albicans* Water-Soluble Fraction

カンデサルタンは、カンジタアルビカンス由来水溶性分画を用いた川崎病モデルマウスの血管炎を減衰させる

日本医科大学大学院医学研究科 小児・思春期医学 分野

大学院生 松井亮介

# 論文内容の要旨

## 導入：

川崎病は幼少期に発症する血管炎であり、冠動脈瘤などの冠動脈病変を合併する。川崎病の治療として知られる大量ガンマグロブリン療法が確立されて以降、冠動脈病変の合併率は低下したが、ガンマグロブリン抵抗例では合併率は依然として高い。発症から約10日で冠動脈瘤が形成されるため、急性期の治療法を改善することには重要な意義がある。また、川崎病モデルマウスの慢性期において、アンジオテンシン受容体拮抗薬（ARB）は血管リモデリングを抑制する効果をもつことが知られており、本研究は川崎病モデルマウスの急性期において、ARBの1つであるカンデサルタンを内服させ、血管炎を抑制できるか調べた。

## 方法：

週齢5、オスのDBA/2マウスを用意した。コントロール群、カンジタアルピカンス由来水溶性分画（以下、CAWS）のみ投与群、CAWS+カンデサルタン投与群に分け、そのうちカンデサルタン投与群は投与量別に、0.125mg/kg群、0.25mg/kg群、0.50mg/kg群、1.0mg/kg群とし、全ての群を5匹ずつに振り分けた。川崎病モデルマウスは、CAWS 0.5mgをCAWSのみ投与群とCAWS+カンデサルタン投与群のマウスに5日間連続で腹腔内注射することで作成した。コントロール群には生理食塩水を5日間連続で腹腔内注射した。次に、各カンデサルタン投与群にはそれぞれの濃度のカンデサルタンを28日間連続で経口内服させた。さらにCAWSまたは生理食塩水の注射後から28日後にマウスを全て屠殺し、心臓の摘出と血清を採取した。摘出した心臓はホルマリン固定とパラフィン包埋を行い、大動脈基部の薄切切片を作成してHE染色と免疫組織化学染色を行った。作成したスライドの炎症細胞浸潤面積比を算出することで、各群の炎症の程度を比較した。また、得られたマウスの血清は炎症性サイトカインのサイトカインプロファイリングを行った。統計解析はクラスカル・ウォリス検定を用い、有意であれば各2群間のウィルコクソン検定を行った。p<0.05を統計学的有意差があると判定した。

## 結果：

病理組織学的評価として、まずはHE染色を行った。CAWS群はコントロール群と比較して有意に炎症細胞面積比が上昇しており（p=0.0122）、全てのCAWS+カンデサルタン内服群はCAWS群よりも有意に炎症を減衰させた（0.125mg/kg群、p=0.0200；0.25mg/kg群、p=0.0122；0.5mg/kg群、p=0.0122；1.0mg/kg群、p=0.0200；それぞれCAWS群と比較）。また、マクロファージに着目して免疫組織化学染色を行った。本研究で用いた全ての免疫組織化学染色で、CAWS群はコントロール群よりも有意にマクロファージが浸潤していた。CAWS群とCAWS+カンデサルタン内服群の比較を以下に示す。非特異的にマクロファージを染色するMAC2染色では、CAWS+カンデサルタン内服群はCAWS群よりも有意に炎症を減衰させた（0.125mg/kg群、p=0.0200；0.25mg/kg群、p=0.0200）。M1マクロファージを特異的に染色するCD80染色では、CAWS+カンデサルタン内服群はCAWS群よりも有意に炎症を減衰させた（0.125mg/kg群、p=0.0373；0.25mg/kg群、p=0.0200）。M2マクロファージを特異的に染色する抗マンノース受容体（CD206）染色では、CAWS+カンデサルタン内服群では0.25群のみ有意に炎症を減衰させ、0.125群では有意差がみられなかった（0.25mg/kg群、p=0.0200；0.125mg/kg群、p=0.1779）。M1、M2マクロファージをともに表すTGFβ染色で

## 論文内容の要旨

は、CAWS+カンデサルタン内服群は CAWS 群よりも有意に炎症を減衰させた(0.125mg/kg 群,  $p=0.0200$ : 0.25mg/kg 群,  $p=0.0200$ )。また、血清学的評価としてサイトカインプロファイリングを行った。IL-1 $\beta$ 、IL-6、TNF- $\alpha$ のうち、IL-6 と TNF- $\alpha$ で CAWS 群と CAWS+カンデサルタン内服群に有意差を認めた (IL-6,  $p=0.0200$  vs. 0.25mg/kg 群: TNF- $\alpha$ ,  $p=0.0200$  vs. 0.125mg/kg 群,  $p=0.0200$  vs. 0.25mg/kg 群)。

考察・結論：

今研究ではカンデサルタンが臨床的低用量で CAWS 血管炎を抑制することを、組織学的・血清学的に確認することができた。

マクロファージには M1 と M2 の 2 種類の分画がある。M1 は炎症性サイトカインを誘導し組織傷害をもたらし、M2 は抗炎症性サイトカインを誘導し組織修復に働く。今回 M2 は一部有意差が得られなかったが、この研究は CAWS 投与後 4 週間の急性期の評価であり、血管リモデリングに関わる M2 にはカンデサルタンの効果が弱かったかもしれない。TGF $\beta$  はマクロファージが組織線維化と血管リモデリングを促すサイトカインであり、TGF $\beta$  経路は川崎病とも密接な関わりがあると知られているため、TGF $\beta$  を抑制できたことは血管炎や冠動脈瘤の抑制につながると期待できる。

川崎病の治療は免疫グロブリン療法が第一選択であり、治療抵抗例を含め ARB を追加することで、よりよい治療成績をもたらすだろう。実際に使用している小児薬用量相当の濃度で血管炎が抑制されたため、将来的に川崎病治療の選択肢となるよう、今後も研究をすすめていく。