

令和元年6月17日現在

機関番号：34401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K08949

研究課題名(和文) 関節リウマチによる動脈硬化病変の形成促進メカニズムの解明と危険因子の網羅的探索

研究課題名(英文) Elucidation of mechanism and disease-specific biomarkers of atherosclerosis in rheumatoid arthritis

研究代表者

武内 徹 (TAKEUCHI, Tohru)

大阪医科大学・医学部・准教授

研究者番号：10330078

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：関節リウマチ(RA)および心血管疾患(CVD)などの合併症は平均で5~10年寿命を短くする。動脈硬化はCVDの主要な原因であり、RAの滑膜組織と類似するが、両病態の関連性は十分に分かっていない。本研究ではRAと動脈硬化との関連性について明らかにする。まずSKGマウスとAPO-E変異マウスとを戻し交配することによって慢性関節炎と動脈硬化を起こすモデルマウスを樹立した。このマウスを用い関節炎を誘導した場合、誘導しなかったマウスに比べて動脈硬化が進行した。幾らかの薬剤は関節炎が誘導する動脈硬化を遅らせることが分かった。これらから慢性関節炎が直接的に動脈硬化を進行させることが明らかになった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

RAは健常者に比べてCVDの合併が多く予後を規定する因子の一つであることが疫学的な研究で分かっているが、その関連性について基礎的な検討はほとんどない。今回の研究で慢性関節炎が直接的に動脈硬化を進行させることが明らかになり、RAの活動性を制御することが動脈硬化の進展をも抑制する可能性が示唆された。また、今回樹立した慢性関節炎と動脈硬化を起こすモデルマウスを用いた研究を行うことでRAおよび動脈硬化の病態解明と新たな治療戦略の糸口に繋がると考えられる。

研究成果の概要(英文)：Rheumatoid arthritis (RA) and its related diseases such as cardiovascular disease (CVD) reduce life span on average from 5 to 10 years. Atherosclerosis is the major cause of CVD and an inflammatory condition in the vascular wall resembles with that in the synovium of RA. However, the relationship of these diseases remains unclear. This study is to elucidate the relationship between RA and atherosclerosis. First, we established a model mouse developing chronic arthritis and atherosclerosis. This mouse is prepared by backcrossing a SKG mouse with an APO-E deficient mouse. Second, this mouse is immunized with laminarin, resulting in developing arthritis. Atherosclerosis in arthritis-induced mice progresses as compared with mice which did not induce arthritis. Third, some drugs reduce arthritis-induced atherosclerosis and inflammation in this model mouse. These data show that chronic arthritis directly progresses atherosclerosis and inflammation.

研究分野：膠原病学

キーワード：関節リウマチ 動脈硬化 心血管病変 モデルマウス

様式 F - 19 - 2

1. 研究開始当初の背景

(1) RA は多発関節炎を主徴とする自己免疫性炎症性疾患で、全身諸臓器を障害する。RA 患者では心血管系疾患の頻度が高く予後を規定する重要な因子で、主に動脈硬化が原因と考えられている(1,2)。RA 患者では高血圧や糖尿病、肥満などの従来から知られている動脈硬化の危険因子の頻度が高い。それだけでなく RA と心血管系疾患では、HLA、NFkB、IFR5 プロモーター遺伝子多型などの遺伝的因子や歯周病やリウマトイド因子などの疾患危険因子が共通していることも知られている(3)。さらに RA 病初期であっても動脈硬化の頻度は高いことから、RA 自体が独立した動脈硬化のリスク因子と考えられているが、知見は少ない(4)

(2) 動脈硬化は、近年、免疫系が関与する動脈の慢性炎症として認識されている(5,6)。また、臨床的な心血管イベントは動脈硬化プラークの破綻とそれに続いて起こる血栓症の結果として引き起こされる。プラークの不安定性にも炎症が重要な引き金になっている。動脈硬化の病態生理学的な多くの所見は RA の炎症の主座である滑膜組織に類似している。マクロファージ、Th1 細胞などの炎症性細胞の浸潤、コラーゲン分解、新生血管形成は両疾患に共通して認められる(7)。したがって、RA による慢性炎症が動脈における炎症に直接関与し、動脈硬化病変の形成を促進させる可能性が考えられているが十分な知見はない。

2. 研究の目的

(1) ヒト RA において動脈硬化とそれに起因する心血管系疾患についての研究は、コホート研究が中心である。しかし、RA および心血管危険因子に対する治療、合併症による影響なども考慮する必要があり、RA の滑膜炎が動脈硬化にどの程度影響しているかを検討することは難しい。本研究では、動脈硬化と慢性関節炎をともに引き起こすモデルマウスを新たに作成する。

(2) 本モデルマウスを用い、RA による慢性炎症が動脈における炎症に直接関与することを明らかにし、さらには動脈硬化病変を形成促進させるメカニズムを明らかにする。

3. 研究の方法

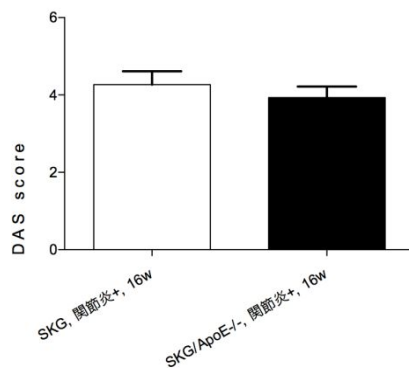
(1) 慢性関節炎モデル SKG マウスと動脈硬化モデルマウス APO-E 変異マウスは B6.KOR/StmSlc- Apoeshl(B6-shl)マウスを Specific Pathogen Free 環境下に飼育し、両モデルマウスを 6 回以上戻し交配をして APO-E 変異 SKG マウスを作製する。SKG マウスは T 細胞レセプターシグナルの下流にある ZAP-70 分子に変異がある。PCR-RFLP 法を用いて APO-E 遺伝子および ZAP-70 遺伝子の変異を確認する。

(2) APO-E 変異 SKG マウスを Specific Pathogen Free 環境下に飼育する。関節炎は生後 8 週目に laminarin 20mg を腹腔内投与することで誘導し、16 週目に関節炎および動脈硬化を評価する。関節炎非発症群を対照として、関節炎発症群の関節炎発症前および発症後に関節炎を評価する。また、足関節・大動脈を摘出し、HE 染色および Sudan IV 染色を行い、炎症細胞浸潤、内膜肥厚、関節破壊などの関節炎および動脈硬化による変化を組織学的に評価する。生物学的製剤、分子標的 low molecular weight 化合物などによる治療的介入を行い、治療による関節炎および動脈硬化への影響を調べる。

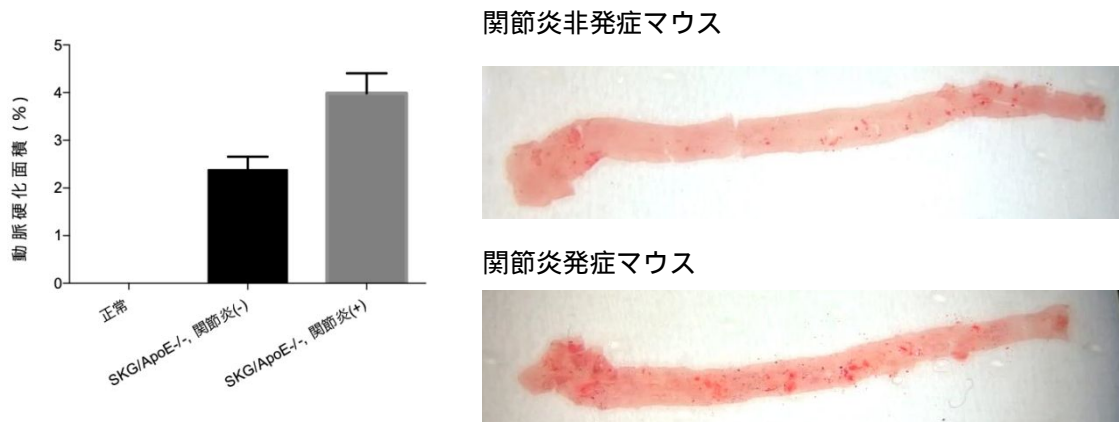
4. 研究成果

(1) SKG マウスと APO-E 変異マウスを戻し交配をして APO-E 変異 SKG マウスを作製し

た。APO-E 変異 SKG マウスは安定して継代でき、laminarin 20mg を腹腔内投与により SKG マウスと同様に関節炎を誘導できた（下図）。また、APO-E 変異マウスと同様に動脈硬化病変が観察できた。



（２）関節炎非発症群を対照として、関節炎発症群について関節炎及び動脈硬化病変の評価を行ったところ、関節炎発症群において動脈硬化面積が有意に広いことが明らかになった（下図）。腕頭動脈起始部の狭窄率に関しては関節炎発症群において狭窄が強い傾向があった。以上から、関節炎が動脈硬化を直接進展させることが明らかになった。



（３）生物学的製剤、分子標的low分子化合物などによる治療的介入を行った結果、幾つかは関節炎もしくは動脈硬化病変を抑制できることが明らかになった。

< 引用文献 >

- (1) Arthritis Rheum 52: 402, 2005
- (2) Ann Rheum Dis 65: 1608, 2006
- (3) Nat Rev Rheumatol 11:390, 2015
- (4) Arthritis Rheum 44:2737, 2001
- (5) New Engl J Med 340:115,1999
- (6) Nature 420:868,2002
- (7) Arthritis Res Therapy 11:217,2009

5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 0 件)

〔学会発表〕(計 0 件)

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況（計 0 件）

取得状況（計 0 件）

〔その他〕該当なし

6. 研究組織

（1）研究分担者

研究分担者氏名：小谷 卓矢

ローマ字氏名：（KOTANI, takuya）

所属研究機関：大阪医科大学

部局名：医学部

職名：講師

研究者番号：80411362

研究分担者氏名：吉田 周造

ローマ字氏名：（YOSHIDA, shuzo）

所属研究機関：大阪医科大学

部局名：医学部

職名：助教

研究者番号：40530697

研究分担者氏名：永井 孝治

ローマ字氏名：（NAGAI, koji）

所属研究機関：大阪医科大学

部局名：医学部

職名：助教

研究者番号：30572458

（2）研究協力者

研究協力者氏名：石田 貴昭

ローマ字氏名：（ISHIDA, takaaki）

研究協力者氏名：鈴木 隆保

ローマ字氏名：（SUZUKA, takayasu）

研究協力者氏名：小田 勝大

ローマ字氏名：（ODA, katsuhiko）

研究協力者氏名：金万 淳一

ローマ字氏名：（KONMA, junichi）

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。