

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 2 年 6 月 18 日現在

機関番号：16401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K10246

研究課題名(和文) 全身性自己免疫疾患マウスを用いた強皮症発症メカニズムの解析

研究課題名(英文) Exploration of involvement of TLR7 signaling in development of systemic sclerosis using a mouse model for systemic autoimmune disease

研究代表者

山本 真有子 (Yamamoto, Mayuko)

高知大学・教育研究部医療学系臨床医学部門・助教

研究者番号：20423478

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：Toll-like receptor(TLR)7シグナル依存性に全身性自己免疫炎症を自然発症するUnc93b1D34Aマウス(D34Aマウス)は加齢とともに自己抗体の産生や脾腫を呈するが、全身性強皮症(SSc)様の皮膚硬化を自然発症することはなかった。また、ブレオマイシン皮下注射による強皮症様皮膚硬化の誘導実験では、D34Aマウスは野生型マウスと同等に皮膚硬化が誘導されたものの、野生型マウスとの間に真皮の厚さ、真皮コラーゲン合成のマーカーであるヒドロキシプロリン濃度に差を認めなかった。さらに、紫外線曝露による皮膚反応についても両群に有意な差は認められなかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

核酸認識系受容体のひとつであるTLR7の過剰応答は、全身性エリテマトーデスの病因と考えられている。東大医科研の三宅らの開発したUnc93homologue B1(Unc931B1)にD34A変異を加えることによりTLR7シグナル応答性が亢進するマウス(D34Aマウス)はループ様自己免疫疾患を自然発症する。このマウスにおいては、代表的な自己免疫疾患であるSScが誘導されやすいか検討した。また、D34Aマウスの紫外線曝露後の皮膚反応につき検討した。このように、強皮症の病態あるいは紫外線反応にTLR7シグナルが直接関与するか明らかにすることで、様々な自己免疫疾患の治療戦略のヒントを提供する。

研究成果の概要(英文)：Unc93b1D34A mice (D34A mice) spontaneously develop systemic autoimmune disease similar to systemic lupus erythematoses (SLE) such as splenomegaly and autoantibody production due to constitutive TLR7 signaling activation. However, in contrast to SLE-like phenotype, D34A mice did not exhibit SSc-like dermal fibrosis as age. In addition, our experimental setting of bleomycin-induced scleroderma model did not support that D34A mice was predisposed to SSc-like phenotype compared with wild-type mice. The hydroxyproline content in the bleomycin-injected dermis of D34A mice was comparable to wild type mice, indicating that no difference in collagenogenesis between the two groups. These results suggested that the pathomechanism of SSc was independent of TLR7 signaling.

研究分野：医歯薬学

キーワード：強皮症 トール様受容体7

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

近年全身性エリテマトーデスや全身性強皮症など多くの自己免疫性疾患において Toll 様受容体 (TLR) シグナルを介したインターフェロンによる自然免疫の活性化が病態形成に関与していることが明らかになってきた。我々は TLR7 アゴニストの外用により野生型マウスにループス様自己免疫疾患を誘導することを報告した。一方、全身性強皮症の病態における TLR7 シグナルの関与については明確でない。紫外線は SLE を始めとする自己免疫性皮膚疾患の発症因子、増悪因子であることはよく知られている。

2. 研究の目的

全身性強皮症の発症に TLR7 が促進的に作用するかを明らかにするために、TLR7 シグナル依存性に全身性自己免疫炎症を呈する Unc93b1D34A マウスを用いて、自然発症系およびプレオマイシンによる強皮症誘導について評価する。また、全身性エリテマトーデスの増悪因子として知られている紫外線曝露が真皮線維増生に影響を与えるかどうかを検討した。

3. 研究の方法

- (1) D34A マウスが強皮症様皮膚硬化を自然発症するか週齢を追って背部皮膚の真皮の厚さを測定した。
- (2) 10 週齢の D34A マウスおよび野生型マウスに PBS で溶解したプレオマイシン 100 μ g/day (コントロール群には PBS 100 μ l) を週 5 日、4 週間背部に皮下注射し、真皮肥厚および肺組織の線維化につき組織学的評価およびコラーゲン量の指標としてハイドロキシプロリン濃度測定を行った。プレオマイシン投与群 30 匹 (D34A マウス雄 11 匹、雌 9 匹、野生型雄 5 匹、雌 5 匹)、コントロール群 26 匹 (D34A マウス雄 8 匹、雌 8 匹、野生型雄 5 匹、雌 5 匹) を使用した。
- (3) UVB を週 3 回 8 週間全身照射あるいは週 3 回右耳のみに照射し、背部の真皮厚の変化を観察した。

4. 研究成果

- (1) 12 週齢から 40 週齢の D34A マウスの背部皮膚の病理組織において真皮厚を測定した。全週齢を通じて雄が雌に比較して有意に真皮が厚かったため雌雄別に評価した。雄において、12 週齢から 17 週齢で $284.3 \pm 52.1 \mu\text{m}$ $n=3$ 、20 週齢で $257.8 \pm 42.1 \mu\text{m}$ $n=5$ 、40 週齢で $314.5 \pm 99.7 \mu\text{m}$ $n=2$ 。雌において、12 週齢から 17 週齢で $147.8 \pm 17.7 \mu\text{m}$ $n=5$ 、30 週齢で $186 \pm 31.4 \mu\text{m}$ $n=3$ 。雌雄とも加齢による真皮厚の増加は認めなかった。
- (2) コントロール群において D34A マウス雄の真皮厚は $258.4 \pm 42.5 \mu\text{m}$ に対し雌は $151.6 \pm 30.9 \mu\text{m}$ と薄く、野生型マウスでも雄 $321.7 \pm 60.7 \mu\text{m}$ 、雌 $177 \pm 16.3 \mu\text{m}$ と同様に雌が薄い傾向であった。D34A マウスの雄において、コントロール群 $258.4 \pm 42.5 \mu\text{m}$ に対し、プレオマイシン投与群は $462.1 \pm 82.5 \mu\text{m}$ と有意な真皮肥厚を認めた。野生型マウスの雄においてもコントロール群 $321.7 \pm 60.7 \mu\text{m}$ 、プレオマイシン投与群 $472.2 \pm 99.7 \mu\text{m}$ と、有意な真皮肥厚を認めたが、D34A マウスと野生型マウスの間でプレオマイシンによる真皮肥厚の程度に差はなかった。雌において D34A マウスのコントロール群で $151.6 \pm 30.9 \mu\text{m}$ に対し、プレオマイシン投与群で $298.5 \pm 74.4 \mu\text{m}$ と肥厚し、野生型でもコントロール群 $177 \pm 16.3 \mu\text{m}$ に対し、プレオマイシン投与群で $351.3 \pm 87.7 \mu\text{m}$ と肥厚した。D34A マウスは野生型マウスと同等にプレオマイシンによる真皮肥厚を示した (図 1)。真皮から抽出したハイドロキシプロリン濃度は、真皮厚と相関し、プレオマイシン投与により野生型でも D34A マウスでも同程度増加していた (図 2)。肺組織のハイドロキシプロリン濃度はプレオマイシン投与前後で変

化しなかった。

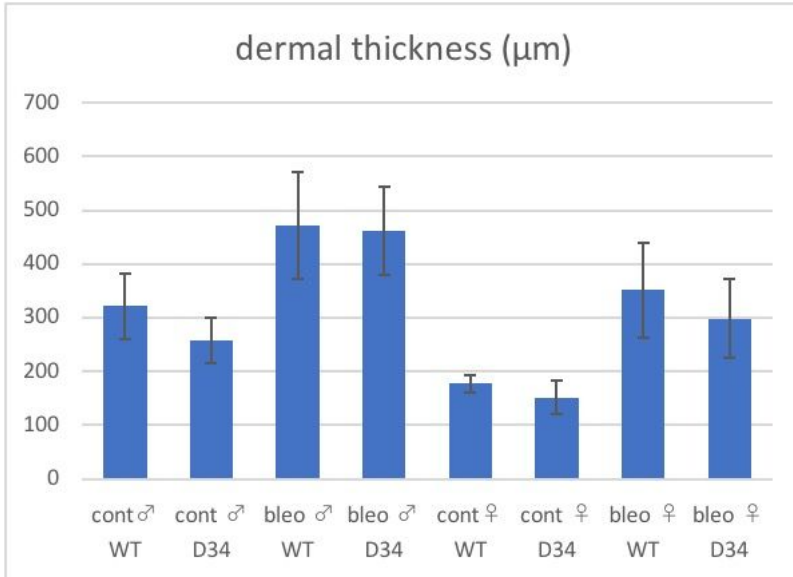


図 1

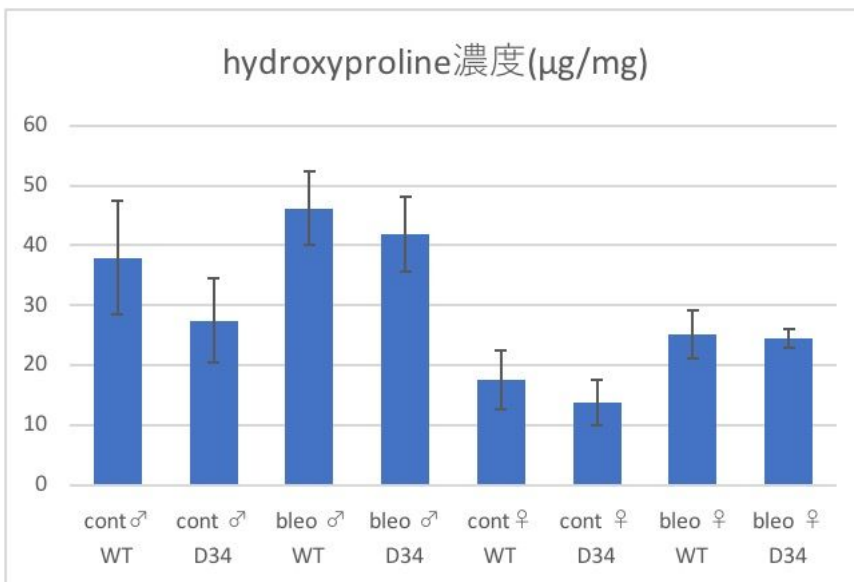


図 2

(3) 週 3 回、8 週間 UVB を全身照射した群および週 3 回 3 週間右耳に UVB 照射した群とも照射による背部皮膚の真皮肥厚はみとめなかった。

まとめ

- 1) TLR7 シグナル応答性が亢進するマウス (D34A マウス) はループス様自己免疫疾患を自然発症するが、強皮症様の真皮肥厚は自然発症しなかった。
- 2) プレオマイシン誘導性強皮症モデル系においても D34A マウスは野生型に比べて真皮肥厚、コラーゲン増生の有意な上昇は認められなかった。
- 3) 紫外線曝露後における皮膚反応 (真皮増生効果) についても D34A マウスと野生型マウスに差異は認められなかった。

結語

SLE とは異なり、強皮症などの真皮増生を伴う反応に TLR7 シグナルが直接関与する証拠は得られなかった。

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〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	高石 樹朗 (Takaishi Mikiro) (10303223)	高知大学・教育研究部医療学系臨床医学部門・助教 (16401)	
研究分担者	中島 喜美子 (Nakajima Kimiko) (20403892)	高知大学・教育研究部医療学系臨床医学部門・准教授 (16401)	
研究分担者	石元 達士 (Ishimoto Tatsushi) (40750039)	高知大学・医学部附属病院・医員 (16401)	
研究分担者	佐野 栄紀 (Sano Shigetoshi) (80273621)	高知大学・教育研究部医療学系臨床医学部門・教授 (16401)	