

令和 6 年 6 月 14 日現在

機関番号：11501

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2023

課題番号：18K15581

研究課題名（和文）膠原病モデルマウスの放射線に対する高感受性に薬剤が与える影響の検討

研究課題名（英文）Investigation of the effect of drugs on the high sensitivity to radiation in a mouse model of collagen disease.

研究代表者

赤松 妃呂子（須藤妃呂子）（Hiroko, Akamatsu）

山形大学・医学部・助教

研究者番号：10611981

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）：本研究では関節炎を高頻度に自然発症する系統の関節リウマチモデルマウス（Mch-lpr/lpr-RA1）の放射線照射による有害事象について定量的検討を行い、その修飾因子として抗マウスIL-6受容体抗体（MR16-1）が与える影響の検討を行った。MR16-1は同マウスの関節炎発症の抑制効果について報告がある。片肺照射後、実験群にMR16-1、対照群には同量のリン酸緩衝液を7週間腹腔内投与した。照射後のマウス肺組織標本では両群で病理組織学的に放射線肺障害の所見を指摘できなかったため、薬剤の影響について有意な検討を行えなかった。その理由として、標本採取のタイミングや検査方法の問題が考えられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

自己免疫疾患を背景に持つ担癌患者において、放射線療法は急性期および晩期の有害事象の増加や重篤化の可能性があると報告が散見されるものの、いずれも少数例の報告であり、放射線感受性および有害事象の発生率に有意差があるのか検討されたものはない。近年、難治性関節リウマチに対して生物学的製剤の有効性も示され、症状が寛解する患者が増えており、薬剤の投与が放射線障害の発生率や重症度にどのような影響をもたらすのかを検討することに重要な意義があると考えられる。本研究の動物実験ではマウス組織の採取や検討方法に改善の余地があったと考えられ、有意な結果を明らかにすることができなかった。

研究成果の概要（英文）： In this study, we quantitatively investigated the adverse events induced by irradiation in a mouse model of rheumatoid arthritis (Mch-lpr/lpr-RA1), a strain with a high incidence of spontaneous arthritis, and examined the effect of anti-mouse IL-6 receptor antibody (MR16-1) as a modifying factor. MR16-1 has been reported to inhibit the development of arthritis in the same mice. After 30 Gy of unilateral irradiation, MR16-1 was administered intraperitoneally to the experimental group and the same amount of phosphate buffer to the control group for 7 weeks. However, no histopathological findings of lung irradiation could be confirmed in the lung tissues of mice in both groups, possibly due to a problem with the experimental method. Therefore, the modifying effect of the drug to radiosensitivity could not be clarified.

研究分野：放射線腫瘍学

キーワード：放射線感受性 関節リウマチ 膠原病

## 1. 研究開始当初の背景

従来、膠原病患者 (CVD) に対する放射線療法は急性期、晩期共に有害事象が増加する可能性があると言われており、CVD に対する放射線療法において、急性粘膜反応の増強の報告や皮下組織の線維化や潰瘍を伴う皮膚壊死、脳神経麻痺、肺臓炎などの重篤な晩期有害事象の報告が散見される。しかし、急性期、晩期有害事象の増強が有意差を持ってあると言い切れるデータはなく、議論が続いている。また、照射線量や線量分割および部位によって有害事象の発生率に差があるか検討されたものはない。

当研究室の先行研究では膠原病モデルマウスへの放射線照射により皮膚の肉眼的所見と病理組織学的な炎症所見の増強を認めたものの、放射線有害事象の増強に関する病態の詳細や修飾因子についてはさらに検討の余地があると考えられた。そこで、本研究では膠原病モデルマウスへ慢性炎症を抑制する薬剤を投与し、放射線照射後の有害事象への修飾効果を認めるのか病理学的検討を行った。

## 2. 研究の目的

本研究では関節リウマチモデルマウス (McH-Ipr/Ipr-RA1) を用いて、放射線照射に対する有害事象の定量的な解析を行い、その修飾因子としてメトトレキサート (MTX) や生物学的製剤が及ぼす影響について病理組織学的に検討することが目的である。

## 3. 研究の方法

McH-Ipr/Ipr-RA1 マウスは生後 20 週齢までにおよそ 6 割程度が四肢関節に滑膜炎を自然発症する系統であり、病理組織学的に関節周囲の腱筋附着部症様の線維化や線維軟骨化をきたし、最終的には関節強直に至る。血液反応陰性の関節リウマチと共通の遺伝的スペクトラムを持つことから、これを関節リウマチモデルマウスとして用いた。また、自己免疫疾患の慢性的な炎症に対する有効性が期待できる薬剤としてメトトレキサート (MTX)、抗マウス IL-6 受容体抗体 (MR 16-1) を各実験で用いた。抗マウス IL-6 受容体抗体 (MR 16-1) は McH-Ipr/Ipr-RA1 が自然発症する関節炎の抑制効果について報告されている薬剤である。また、IL-6 は自己免疫疾患の慢性炎症において重要な役割をするといわれているサイトカインであるが、IL-6 は放射線照射時の急性期病態にも関与している。

(1) MTX は McH-Ipr/Ipr-RA1 マウスの関節炎発症に対して抑制効果を示すか。

生後 20 週齢の McH-Ipr/Ipr-RA1 マウスへ 7 週間、週 2 回 MTX 1.5 mg/kg、コントロール群には同容量のリン酸塩緩衝液 (PBS) を腹腔内投与した。マウス四肢の足関節について以下の関節炎重症度 Grade (0; 関節炎なし、1; 1 肢以上の軽度の発赤と腫脹、2; 2 肢以上の軽度の発赤と腫脹、3; 手または足全体に広がる重度の発赤と腫脹、4; 関節の強直) を使用して、MTX 投与開始日から投与終了まで週 2 回肉眼的な関節炎の重症度をスコアリングした。また、両後脚の足蹠厚を計測した。MTX 投与開始後、7 週間後に両後脚、皮膚、肺の組織標本を採取して、病理組織学的な所見を解析した。

(2) 抗マウス IL-6 受容体抗体 (MR 16-1) の投与は放射線肺障害の修飾因子となるか。

生後 8-10 週の McH-Ipr/Ipr-RA1 マウスの右片肺へ 30Gy 単回照射を行い、放射線照射日を 0 日目として同日より抗マウス IL-6 受容体抗体 (MR 16-1) を腹腔内投与した。抗マウス IL-6 受容体抗体 (MR 16-1) は初回 2 mg、2 回目以降は 0.5 mg を照射開始日から週 1 回ずつ 10 週間投与を継続し、コントロール群には同容量の PBS を腹腔内投与した。放射線照射後の皮膚反応について

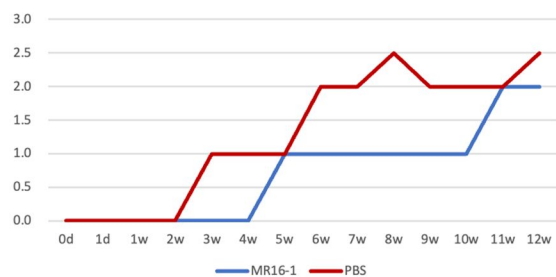
照射開始日から終了後 70 日間、週 2 回ずつ重症度のスコアリング (0;変化なし、0.5;わずかな変化、1;発赤出現、1.5;小範囲の皮膚乾燥、2.0;広範囲の皮膚乾燥、2.5;一部の浸出を伴う皮膚乾燥の欠損、3.0;浸出を伴った皮膚乾燥の欠損、3.5;皮膚壊死)を行った。照射後の肺の変化は軟 X 線写真を撮影し、網状影や胸水の有無について確認した。照射後 1 日、2 週、4 週、10 週目に部分採血によりマウス血清を採取し、血清中の IL-1 alpha/IL-1F1, IL-6, IL-6 alpha, IL-17/IL-17A, TNF-alpha を測定した。照射後 2 週、4 週、26 週目に各群より両肺、皮膚の組織を採取した。採取した組織はまず HE 染色で形態的な所見を評価後、さらに免疫染色 (TNF-、IL-6) でサイトカインを発現する細胞の割合について解析することとした。

#### 4. 研究成果

実験(1)は McH-Ipr/Ipr-RA1 マウスの四肢の関節を 7 週間の観察期間中に肉眼的な変化に乏しく、実験群・コントロール群とも関節炎重症度スケールのスコア 0-1 で経過していた。また、両群とも後脚の足関節の足蹠厚は平均 3mm で経過しており変化せず、左右差や 2 群間の差を捉えることができなかった。さらに両後脚関節の HE 染色では、両群とも滑膜や関節腔内へのリンパ球などの炎症細胞の浸潤所見はなく、皮膚・肺組織においても膠原繊維や線維芽細胞の増加を含め、形態学的な変化を認めなかった。McH-Ipr/Ipr-RA1 マウスの四肢の関節炎の存在を示唆される所見を肉眼的および病理組織学的に確認できなかったため、MTX の関節炎に対する有効性や発症抑制効果を検討することができなかった。この結果の原因として、McH-Ipr/Ipr-RA1 マウスの関節炎発症の時期や程度に個体差があることや組織採取のタイミングに問題があると考えられた。

実験(2)では右側胸部への放射線照射後の皮膚反応は右側胸部の放射線照射部位に一致して確認できた。放射線照射後の皮膚反応の重症度スコア (Fig.1) は抗マウス

放射線皮膚反応重症度スコア (Fig.1)



ス IL-6 受容体抗体 (MR 16-1) 投与群で低い傾向がみられたが、コントロール群との有意差はなかった。放射線照射後のマウス皮膚標本では表皮層が肥厚と毛包数の減少を認めたものの、抗マウス IL-6 受容体抗体 (MR 16-1) 投与群とコントロール群で有意差を認めなかった。照射後の観察期間に撮影したマウス胸部軟 X 線写真では明らかな網状影や供水貯留の所見がなく、マウス肺組織標本の HE 染色では形態学的な変化に乏しく、炎症所見を認めなかった。マウス血清の解析では各項目が検量範囲外の測定値であったため、有意義な解析を行うことができなかった。実験(2)では放射線肺障害への影響の解析が主な目的であったが、両群でマウス肺に放射線照射後の変化を確認することができなかったため、抗マウス IL-6 受容体抗体 (MR 16-1) 投与による修飾効果については検討することが困難であった。照射方法や組織標本の採取方法などに改善の余地があると思われた。

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
--	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------