

令和 5 年 6 月 6 日現在

機関番号：34417

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2022

課題番号：19K17379

研究課題名（和文）強力に複数の炎症性サイトカインを抑制する新薬・DHMEQのSLEに対する治療開発

研究課題名（英文）Development of DHMEQ, a new drug that potently suppresses multiple inflammatory cytokines, for the treatment of SLE.

研究代表者

山内 壮作（YAMANOUCHI, Sohsaku）

関西医科大学・医学部・講師

研究者番号：00593500

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000円

研究成果の概要（和文）：全身性エリテマトーデス(systemic lupus erythematosus：SLE)モデルマウスにおいて、dehydroxymethylepoxyquinomicin(DHMEQ)投与群は、非投与群よりも生存率が改善している事が予測されたが、有意差を認めなかった。DHMEQ投与群が、非投与群よりもタンパク尿が少ない傾向にあったが、有意差を認めなかった。投与量や投与間隔を調整したが、同様の結果であった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

SLEモデルマウスにおいて、DHMEQ投与群が非投与群と比較して、生存率やタンパク尿等で有意差を認めなかった。DHMEQ以外にもNF- κ B阻害剤は多数あり、今回の研究結果でNF- κ B阻害剤のSLEモデルマウスに対する効果が否定されたわけではない。SLEの病態を考慮すると、サイトカインを抑制する治療に関する研究は、今後も検討していく必要があると考えられた。

研究成果の概要（英文）：In a mouse model of systemic lupus erythematosus (SLE), dehydroxymethylepoxyquinomicin (DHMEQ) treatment predicted better survival than non-treated mice. The DHMEQ-treated group tended to have less proteinuria than the non-treated group, but this difference was not significant. Similar results were obtained despite adjustments in dosage and dosing interval.

研究分野：自己免疫性疾患

キーワード：SLE サイトカイン DHMEQ

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

SLE の病態に IL-6、TNF- α 、IFN- γ などの炎症性サイトカインの関与が報告されている。近年、SLE の重症患者に対して、IL-6 等の単一の炎症性サイトカインの活性をおさえる生物学的製剤が投与されているが、根治させることはむずかしい。しかも、これらの製剤には、致死的な感染症、アナフィラキシー、間質性肺炎などの重篤な副作用の問題がある。また、寛解をえられた症例でも、多くはステロイドや免疫抑制剤の永続的な投与を余儀なくされ、完全に治癒しえない。

一方、近年開発された DHMEQ は、複数の炎症性サイトカインの産生をおさえることで、強力な抗炎症・抗免疫作用を示す。DHMEQ は、低毒性の物質をもとに作られ、重篤な副作用は少ない。報告者らは、DHMEQ に注目し、敗血症、微小変化型ネフローゼ症候群(NS)、移植片対宿主病(GVHD)の難治疾患のモデルマウスで、有効性を証明した。具体的には、DHMEQ が副作用を認めず、NF- κ B の核内への移行を阻止することで、IL-6・TNF- α ・IFN- γ などのさまざまな炎症性サイトカインの産生をおさえることを明示した。

近年、SLE の治療はめざましい進歩を遂げている。しかし、小児の SLE 患者は、成人の SLE 患者とくらべてより急性で重篤な経過をたどり、いまだに死亡例は存在する(10 年死亡率 2%)。また、生存例でも完治はきわめて困難である。恒久的な機能障害や後遺症のない 10 年生存率(event-free10 年生存率)は 66%にすぎず、34%の患者は生涯にわたって、肺高血圧・腎不全・視力障害・不整脈・脳血管障害などの不可逆な障害で生活の質を著しく低下させている。

さらに、66%の event-free な患者においても、ステロイドの内服を、成長期・思春期をとおして継続せざるをえない。ステロイドの副作用による満月様顔貌(元来の顔貌と著しくことなる顔面全体の腫れ)・多毛・ざ瘡(にきび)・中心性肥満(四肢がほそく、著明な腹部膨隆)・皮膚線条(妊娠した時に出現するような赤い線)・低身長などの容姿の劇的な変化は必発であり、患者の服薬アドヒアランスや自尊心の低下、対人関係の不安が大きな問題となる。したがって、すべての SLE 患者に治療効果の高い新規の薬剤を提供することは、急務である。

本研究によって、DHMEQ の SLE に対する治療効果を証明できれば、SLE 患者の生存率・event-free10 年生存率の向上および上記ステロイドの副作用の軽減・消失に大きく貢献できると考えた。

2. 研究の目的

上記の背景と、報告者らのこれまでの研究成果をふまえ、DHMEQ が SLE の生存率や疾患活動性を改善できることを明らかにし、副作用が少なく、安全かつ新しい効果的な治療法を開発することを目的とした。

3. 研究の方法

SLE モデルマウス(MRL/lpr マウス)をもちいて以下のことを検討した。

生存率の向上

以下の項目の疾患活動性の抑制

- 1) 糸球体腎炎、2)関節炎、3)自己抗体価、4)炎症性サイトカイン、5)異常な T 細胞(aberrant T 細胞； CD4⁺CD8⁻B220⁺)

* 10 週齢の MRL/lpr マウスにおいて DHMEQ 投与群(D+群)と、非投与群(D-群)を作成した。

* 既報を参考に、DHMEQ を 10-20mg/kg/dose/day で腹腔内に投与し、治療効果を検討した。

生存率の向上

MRL/lpr マウスは、SLE 発症後約 2~3 ヶ月で死亡しはじめるので、DHMEQ は実験開始から 2~3 ヶ月間、連日投与した。

疾患活動性の抑制

投与 2~3 ヶ月目の時点で、マウスを吸入麻酔下で屠殺し、以下の項目について検討した。

1) 糸球体腎炎

タンパク尿

DHMEQ 投与日を Day0 とし、Day-1 から 1 週間毎に代謝ケージに収納し、尿の回収を行う。

尿は ELISA キットをもちいて、マイクロプレートリーダーで尿タンパクを測定。

ループス腎炎(腎の組織学的変化を検討)

光学顕微鏡をもちいて、炎症性の細胞浸潤を伴ったメサンギウムの増生、ワイヤーループや半月体の形成などを評価。免疫染色をおこない、NF- κ B の細胞質から核内への移行を評価。蛍光抗体法を用いて、糸球体における IgG, IgA, IgM, 補体(C3, C4, C5b)の沈着を検討。

2) 関節炎(関節での組織学的変化)

光学顕微鏡をもちいて、滑膜細胞の増生、線維芽細胞・形質細胞・白血球の浸潤を検討。

3) 自己抗体価

血液中の抗 dsDNA 抗体価、リウマチ因子は ELISA キットを使用し、マイクロプレートリーダーで測定。

4) 炎症性サイトカイン

血清サイトカイン(IL-6、TNF- α 、IFN- γ 、IL-13、IL-17)は、Luminex200 をもちいて測定。

脾臓における上記のサイトカインの mRNA の発現をリアルタイム PCR をもちいて測定。

5) aberrant T 細胞(CD4⁻CD8⁻B220⁺T 細胞)の活性

MRL/lpr マウスでは、異常な T 細胞である CD4⁻CD8⁻B220⁺T 細胞が脾臓やリンパ節へ集積する。

脾臓とリンパ節の重量の経時的変化

脾臓、リンパ節(顎下、腋窩、鼠径、腸間膜)の重量を測定。

aberrant T 細胞

フローサイトメーターを用いて、脾臓における CD4⁻CD8⁻B220⁺T 細胞の割合を評価。

脾臓および腎臓において、免疫染色をおこない、NF- κ B の細胞質から核内への移行を評価し、DHMEQ が実際に NF- κ B の核内移行を阻害していることを検証。

4. 研究成果

DHMEQ 投与群は、非投与群よりも生存率が改善している事が予測されたが、有意差を認めなかった。

DHMEQ 投与群が、非投与群よりもタンパク尿が少ない傾向にあったが、有意差を認めなかった。その他、上記の方法に記載している、腎組織、関節炎、脾臓、リンパ節の組織学的変化、自己抗体価、炎症性サイトカイン、aberrant T 細胞(CD4⁻CD8⁻B220⁺T 細胞)の活性等についても一部で差がある傾向を認めたものの、有意差を認めなかった。

投与量、投与開始日、投与間隔等を調整したが、同様の結果であった。

今後、単独投与ではなく、ステロイド等の他の薬剤との併用で治療効果があるか、検討しても良いものと思われた。

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