

令和 6 年 6 月 4 日現在

機関番号：13701

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2021～2023

課題番号：21K09247

研究課題名（和文）脊椎関節炎における付着部炎と骨新生に関する新規シグナル探索と治療への応用

研究課題名（英文）Discovery of novel signals related to enthesitis and bone formation in spondyloarthritis and their therapeutic application.

研究代表者

田中 領（Tanaka, Ryo）

岐阜大学・大学院医学系研究科・招へい教員

研究者番号：70422722

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）：過去の文献に記載されたプロトコルを参考にしてプロテオグリカンを精製し、脊椎関節炎モデルマウスを作成するため、既報に準じてマウスに精製したプロテオグリカンを投与した。初回投与後、10週後にマウス後肢の組織標本を作製して組織学的解析を行ったが、既報のようなアキレス腱付着部炎、および関節炎は生じていなかった。繰り返し実験を行ったが、プロテオグリカン誘発性SpAモデルの作製が再現できず、研究を断念した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究で作成した脊椎関節炎モデルマウスでは付着部炎や関節炎の発生が認められなかったため、本モデルマウスでの付着部炎と骨新生の関連についての解析や、関連する分子または細胞内シグナルの解析は行えなかった。

研究成果の概要（英文）：We purified proteoglycan based on the protocol described in the previous paper, and administered the purified proteoglycan to mice in accordance with the previous report to create a mouse model of spondyloarthritis. Ten weeks after the first administration, tissue specimens were prepared from the mouse hind limbs and subjected to histological analysis, but no Achilles tendonitis or arthritis had occurred as previously reported. We repeated the experiment, but were unable to reproduce the creation of a proteoglycan-induced SpA model, and therefore abandoned the research.

研究分野：整形外科学

キーワード：脊椎関節炎 付着部炎 脊椎関節炎モデルマウス

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、研究者個人に帰属します。

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

脊椎関節炎(SpA)は、非対称性末梢関節炎、および体軸性炎症(仙腸骨炎および脊椎炎)を特徴とする慢性炎症性疾患であるが、他のリウマチ性疾患と異なり、靭帯や腱が骨に付着する部位での炎症、いわゆる付着部炎がSpAの特徴として挙がる¹⁾。これに加えて、骨新生も特徴として挙げられ、これにより強直や付着部の enthesophyte 形成が引き起こされる²⁾。これら炎症と骨新生による進行性の構造的破壊が、SpAにおける問題点となっている。

SpAモデルマウスを用いた既報では、臨床で抗リウマチ薬として使用されている Etanercept (抗 TNF- α 抗体製剤) 投与にて炎症所見と脊椎構造破壊を改善させたと報告されているが³⁾、臨床では、抗 TNF- α 抗体製剤投与により炎症所見は改善するものの、続発する強直の進行は抑制されなかったと報告されている⁴⁻⁶⁾。

これらのことから、付着部炎と骨新生の関連について解析し、関連する分子または細胞内シグナルを明らかにすることで、SpAにおける構造破壊を抑制する治療につながると考えた。

2. 研究の目的

本研究の目的は、SpAモデルマウスを作製し、アキレス腱付着部炎と骨新生に関与する分子制御機構を解析することで、新規治療標的分子を同定することである。

3. 研究の方法

プロテオグリカン誘発性 SpA モデルマウスの作製と付着部炎評価

- ・ proteoglycan-induced spondylitis (PGISp) マウスモデルの作成
- ・ 関節炎の評価
- ・ アキレス腱付着部の組織学的評価
- ・ アキレス腱付着部の免疫組織学的評価
- ・ アキレス腱付着部におけるサイトカイン mRNA transcripts レベルの確認
- ・ アキレス腱付着部における発現タンパクの確認

付着部炎の発生起源の同定と SpA モデルマウスの作製

- ・ タモキシフェン誘導性 Cre 組換えシステムを用いたコンディショナルマウス作製

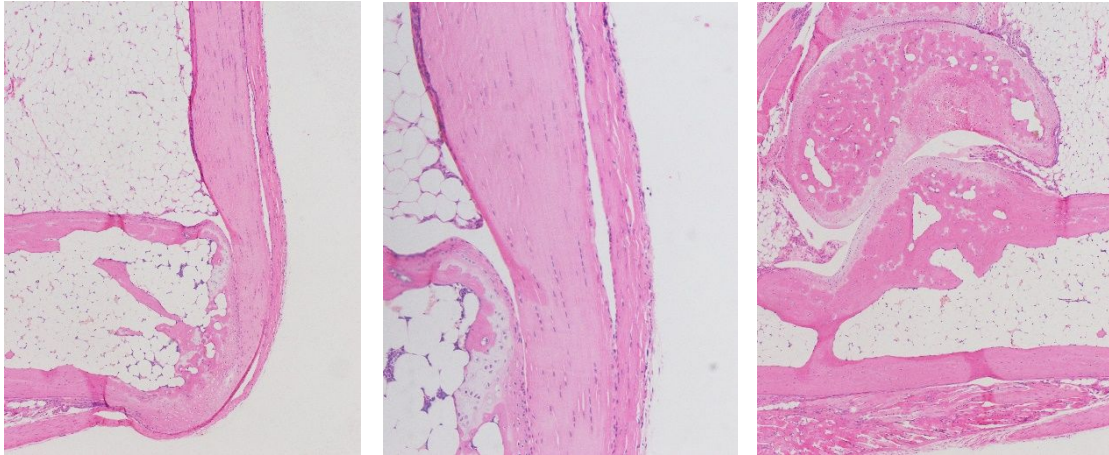
同定した標的シグナル分子に作用するシード化合物の探索およびシード化合物投与による付着部炎抑制効果の検証

4. 研究成果

プロテオグリカン誘発性 SpA モデルマウスの作製と付着部炎評価

脊椎関節炎モデルマウスを作成するにあたり、ヒト関節軟骨より得られるプロテオグリカンを抗原とするため、変形性膝関節症に対して人工膝関節全置換術を施行された際に切除された関節軟骨を採取した。過去の文献に記載されたプロトコルを参考にして、塩化セシウム平衡密度勾配遠心法(10度 48時間 37,000rpm)、透析(Slide-A-Lyzer G3透析カセット)、薬剤処理を行い、プロテオグリカンを精製した。

精製したプロテオグリカンを24-26週齢のメス BALB/c マウスに complete Freund's adjuvant (CFA) とともに腹腔内投与(プロテオグリカン 100 μ g + CFA 100 μ l)し、初回投与後3週と6週に PG を incomplete Freund's adjuvant (IFA) とともに腹腔内投与(プロテオグリカン 100 μ g + CFA 100 μ l)した。初回投与後、10週後にマウス後肢の組織標本作製して組織学的解析を行った。しかし、既報のようなアキレス腱付着部炎、および関節炎は生じていなかった(下図)。繰り返し実験を行ったが、プロテオグリカン誘発性 SpA モデルの作製が再現できず、研究を断念した。



左図：マウスアキレス腱附着部 H&E 染色

中図：左図の拡大図 腱附着部および周囲組織には炎症細胞浸潤を認めず、腱内細胞密度や腱滑膜にも変化を認めない

右図：マウス足関節 H&E 染色 関節滑膜の増生所見は認めない

参考文献

1. McGonagle D, et al. Classification of inflammatory arthritis by enthesitis. *Lancet* 1998;352:1137-40.
2. Benjamin M, et al. The anatomical basis for disease localisation in seronegative spondyloarthritis at entheses and related sites. *J Anat* 2001;199 (Pt 5):503-26.
3. Tseng HW, et al. Early anti-inflammatory intervention ameliorates axial disease in the proteoglycan-induced spondylitis mouse model of ankylosing spondylitis. *BMC Musculoskeletal Disorders* 2017;18:228
4. van der Heijde D, et al. Assessment of radiographic progression in the spines of patients with ankylosing spondylitis treated with adalimumab for up to 2 years. *Arthritis Res Ther* 2009;11:R127.
5. van der Heijde D, et al. Radiographic findings following two years of infliximab therapy in patients with ankylosing spondylitis. *Arthritis Rheum* 2008;58:3063-70.
6. van der Heijde D, et al. Radiographic progression of ankylosing spondylitis after up to two years of treatment with etanercept. *Arthritis Rheum* 2008;58:1324-31.

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	河村 真吾 (Komura Shingo) (30456511)	岐阜大学・医学部附属病院・助教 (13701)	
研究分担者	秋山 治彦 (Akiyama Haruhiko) (60402830)	岐阜大学・大学院医学系研究科・教授 (13701)	

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