

令和 6 年 6 月 17 日現在

機関番号：34401

研究種目：若手研究

研究期間：2021～2023

課題番号：21K16100

研究課題名（和文）新規動物モデルを用いた、炎症による動脈硬化進展の病態解明、新規治療法の検索

研究課題名（英文）Examination of the effect of arthritis on the progression of arteriosclerosis by using new model mice ApoE knockout SKG mice

研究代表者

鈴鹿 隆保（Takayasu, Suzuka）

大阪医科薬科大学・医学部・助教

研究者番号：50748225

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,100,000円

研究成果の概要（和文）：慢性関節炎モデルであるSKGマウスと動脈硬化モデルのApoEノックアウトマウスを交配させて両遺伝形質を併せ持つマウスを作製した。このマウスが関節炎と動脈硬化を同時に発症することを確認し、このモデルマウスを使用して関節炎による炎症が動脈硬化に及ぼす影響を検討した。関節炎誘発群は、誘発していない群に比較して、大動脈の動脈硬化面積、大動脈弁輪部の狭窄率、大動脈組織の炎症性サイトカイン遺伝子発現、血清TNF- α 、IL-6の濃度有意に上昇していた。一方、血清総コレステロール濃度は両群に差がなかった。以上から、関節炎による炎症が動脈硬化進展に直接影響を及ぼしていることが確認された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

スタチンによる血中コレステロール値管理により、動脈硬化に起因する心血管リスクは確かに低減された。しかし、スタチン投与後も心血管イベント発症リスクは依然75%残存しており、その残余リスクの一つとして炎症が注目されている。RA患者は、合併する心血管イベントによる死亡率が高い。RA自体が動脈硬化の独立したリスク因子であり、RAの慢性炎症が動脈硬化進展に寄与する可能性が考えられているが、その病態は明らかではない。関節炎が動脈硬化に及ぼす影響を検討することは、炎症による動脈硬化進展の病態解明、治療法確立につながり、RA患者のみならず多くの動脈硬化患者の生命予後改善に寄与する可能性がある。

研究成果の概要（英文）：SKG mice, a model of chronic arthritis, and ApoE knockout mice, a model of atherosclerosis, were crossed to produce mice with both genetic traits. We confirmed that these mice develop arthritis and atherosclerosis at the same time, and used these model mice to investigate the effects of inflammation caused by arthritis on atherosclerosis. Compared to the non-induced group, the arthritis-induced group showed significantly increased aortic atherosclerosis area, aortic valve ring stenosis rate, aortic tissue inflammatory cytokine gene expression, serum TNF- α and IL-6 concentrations. On the other hand, serum total cholesterol concentrations did not differ between the two groups. These results confirm that inflammation caused by arthritis has a direct influence on the development of atherosclerosis.

研究分野：関節リウマチ

キーワード：動脈硬化 関節リウマチ 動物モデル

様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

1. 研究開始当初の背景

スタチンによる血中コレステロール値管理により、動脈硬化に起因する心血管リスクは確かに低減された。しかし、スタチン投与後も心血管イベント発症リスクは依然 75 %残存している (Lancet 2002; 360: 7-22)。この残余リスクの一つとして炎症が注目されている。動脈硬化のバイオマーカーとしての炎症性サイトカイン、スタチンによる抗炎症作用や、抗 IL-1 抗体製剤の動脈硬化抑制効果などが報告されているが、炎症による動脈硬化進展の病態や治療法はまだ明らかになっていない。

RA は、自己免疫機序による多関節炎を中心とした慢性炎症性疾患である。RA 患者は、合併する心血管イベントによる死亡率が高い。RA 自体が動脈硬化の独立したリスク因子であり、RA の慢性炎症が動脈硬化進展に寄与する可能性が考えられている (Ann Rheum Dis. 65: 1608-12, 2006)が、その病態は明らかではない。関節炎が動脈硬化に及ぼす影響を検討することは、炎症による動脈硬化進展の病態解明、治療法確立につながり、RA 患者のみならず多くの動脈硬化患者の生命予後改善に寄与する可能性がある。

関節炎が動脈硬化に及ぼす影響を検討する方法として、動物モデルを用いる方法が考えられる。しかし、関節炎と動脈硬化を 1 つの個体で同時に発症する動物モデルは存在しなかった。そのため申請者は、関節炎と動脈硬化を同時に発症するモデルマウスの作製に取り組んだ。慢性関節炎モデルである SKG マウスは、 α -D グルカンを経口投与することによって全身関節炎を発症する。その遺伝形質は、T 細胞受容体のシグナル伝達に関わるチロシンキナーゼの ZAP-70 点突然変異である。動脈硬化モデルの ApoE ノックアウトマウスは、週齢とともに動脈硬化を自然発症する。その遺伝形質は、細胞内へのリポ蛋白輸送に関わる ApoE の遺伝子ノックアウトである。両者を 4 世代以上交配させて両遺伝形質を併せ持つマウスを作製することにより、関節炎による炎症が動脈硬化に及ぼす影響を検討できると考えられた。

2. 研究の目的

関節炎による炎症が動脈硬化に及ぼす影響とその病態を明らかにすること、さらに動脈硬化進展抑制に有効な治療法の候補を検討することが本研究の狙いである。

3. 研究の方法

慢性関節炎モデルである SKG マウスと動脈硬化モデルの ApoE ノックアウトマウスを 4 世代以上交配させて両遺伝形質を併せ持つマウスを作製する。そして、このマウスが関節炎と動脈硬化を同時に発症することを確認する。このモデルマウスを ApoE ノックアウト SKG マウスと呼称する。

関節炎を誘導する群と誘導しないコントロール群を設定し、各群の関節炎、動脈硬化の程度を評価することにより、関節炎と動脈硬化の関連を検討する。

- ・関節炎の誘導：8 週齢の ApoE ノックアウト SKG メスマウスにラミナリン 40 mg/ml 溶液を 500 μ l 腹腔内に投与する。10 週齢頃から RA 様の持続性関節炎を呈する。

- ・関節炎の評価：既に確立されている半定量的な関節炎スコアを用い、8 週齢から 16 週齢まで経時的に関節炎を評価する。また、16 週齢のマウスから足関節を採取し、H.E. 染色、炎症細胞の免疫染色を行い、滑膜炎の程度を評価する。

- ・動脈硬化の評価：16 週齢のマウスから、大動脈 (大動脈起始部から総腸骨動脈分岐部)、大動脈弁輪部、腕頭動脈起始部の組織を採取する。大動脈の内膜面を展開してオイルレッド染色を行い、プラーク形成面積を評価する。また、大動脈弁輪部、腕頭動脈起始部の冠状切片に対して H.E. 染色、オイルレッド染色、エラスチカワンギーソン染色、炎症細胞の免疫染色を行い、その狭窄率や内膜肥厚、炎症細胞浸潤を評価する。

4. 研究成果

慢性関節炎モデルである SKG マウスと動脈硬化モデルの ApoE ノックアウトマウスを 4 世代以上交配させて両遺伝形質を併せ持つマウスを作製した。そして、このマウスが関節炎と動脈硬化を同時に発症することを確認した。

その上で、上記の方法に沿って関節炎による炎症が動脈硬化に及ぼす影響を検討した。

関節炎誘発群は、誘発していない群に比較して、大動脈の動脈硬化面積が有意に増加していた。

また、関節炎誘発群は、誘発していない群に比較して、大動脈弁輪部の狭窄率が有意に増加していた。

さらに、大動脈組織全体における遺伝子発現を RT-PCR 法で測定したところ、関節炎誘発群は、誘発していない群に比較して、IL-1b、IL-6、IL-17、TNF- α 、INF- γ などの炎症性サイトカインと、MMP-3、MMP-9 の発現が有意に増加していた。

また、血清中の TNF- α 、IL-6 の濃度を ELISA 法で測定したところ、関節炎誘発群は、誘発していない群に比較して有意に高い結果であった。

一方で、血清総コレステロールを測定したところ、両群に有意差は認めなかった。

以上から、関節炎による炎症が動脈硬化進展に直接影響を及ぼしていることが確認された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 木坊子貴生, 鈴鹿隆保, 松田翔悟, 小谷卓矢, 武内徹
2. 発表標題 動脈硬化を合併する関節炎の新規モデル作製と、その病態の検討
3. 学会等名 第31回日本リウマチ学会近畿支部学術集会
4. 発表年 2022年

〔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
---------	---------