

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 30 日現在

機関番号：32425

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25460107

研究課題名(和文) Act1欠損マウスを用いた乾癬の病態解析と治療薬の薬効解析

研究課題名(英文) Elucidation of pathogenesis of psoriasis using TRAF3IP/2Act 1 deficient mice and development of new therapy

研究代表者

井上 俊夫 (Tishio, Inoue)

日本薬科大学・薬学部・准教授

研究者番号：70458610

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、Traf3ip2/Act1遺伝子欠損マウスを用いて、乾癬の発症機構を明らかにすることに挑んだ。本研究の結果、Traf3ip2/Act1は乾癬の発症に重要な役割を果たしているとともに、このマウスが乾癬の新たなモデルになり得ることが明らかになった。さらに、JAK/STAT経路の阻害薬が、乾癬の治療薬として奏功する可能性が高いことを示唆する結果も得ることが出来た。

研究成果の概要(英文)：The goal of this study was to explore the mechanisms involved in the pathogenesis of psoriasis using Traf3ip2/Act1 deficient mice. The result suggested that the Traf3ip2/Act1 protein plays an important role in pathogenesis of psoriasis, and were considered can be a new model mice for psoriasis. Moreover, JAK/STAT signaling could be considered as potential therapeutic targets in ameliorating psoriasis.

研究分野：薬理学

キーワード：乾癬 Traf3ip2/Act1 JAK/STAT

1. 研究開始当初の背景

日本人の乾癬患者数は10万から数10万人で、人口の0.1-0.2%と推測されている。その病態は、最も発症頻度の高い尋常性乾癬以外に、滴状乾癬、乾癬性紅皮症、関節症性乾癬、乾癬性紅皮症、膿疱性乾癬がある。現在のところ根治療法は無く、外用療法、光線療法、シクロスポリンなどの内服療法などが代表的な治療法である。しかし、最近になって、抗TNF抗体による治療などが我が国で承認され、成果を上げつつあるが、その評価は未だ定まっていないのが現状である。

松島らは(Matsushima et al. J. Immunol 2010)、日本産野生マウスから作出した近交系マウスKORの中に皮膚炎症状を自然発症する個体を発見し、本変異マウスがAct1/CIKSをコードするTraf3ip2/Act1遺伝子の欠損によるものであることを突き止めた。

当初は、ヒトのアトピー性皮膚炎の病態に類似すると考えられてきたが、この動物の皮膚炎症状は、顔面の皮疹には鱗屑を認め、経時的に肥厚が増大し、皮疹内部には膿瘍が認められる例もあった。また、foot padにも鱗屑が認められるとともに軽度の関節症状も観察され、アトピー性皮膚炎のモデルとは異なることが明らかになり、一方で乾癬の病態に非常に良く合致することが推定された。また近年、ゲノムワイド関連解析により、Traf3ip2/Act1遺伝子の欠損が乾癬患者で起こっていることが報告された(Ellinghaus et al. Nat Genet 2010)。

現在のところ、Traf3ip2/Act1遺伝子が乾癬における責任遺伝子であるかどうか不明であるが、このことは、本モデルマウスが乾癬のモデル動物として優れたツールになり得ることを示唆するものである。そこで、このモデルマウスを用いた病態発症機構の解析を進めることにより、新たな視点で乾癬の病態発症機構を突き止め、治療標的に有効な薬物の薬効評価を目指して本研究を着想した。

2. 研究の目的

Traf3ip2/Act1遺伝子欠損マウスが、乾癬のモデルマウスとしてどのような特徴を備えているかを明らかにし、乾癬の病態解明につながる基盤的な研究を行う。

Traf3ip2/Act1遺伝子欠損マウスの病変部位におけるサイトカイン類(TNF α , IL-23, IL-17, IL-6, IL-8等)を測定し、各サイトカインの発現量の差異を野生型マウスと比較することにより、病態の形成に寄与する重要なサイトカインを明らかにする。さらに、病変部位の組織切片を作成し、野生型マウスとの差異を解明すると同時に、病態発症に関わる治療標的に有効と考えられる阻害薬を用いて薬効評価を行うことにより、乾癬の治療における新たな治療薬の提案を行うことを本研究の目的とした。

3. 研究の方法

(1) Traf3ip2/Act1 遺伝子欠損マウスの病

変部位におけるサイトカイン類の発現解析：

生後10週齢から20週齢の雌性Traf3ip2/Act1遺伝子欠損マウスの皮膚病変部位とその野生型マウスの対応する部位の皮膚を用いてサイトカイン量の変動をReal-time-PCRおよびELISAにて測定し、関与するサイトカインの役割を解析する。解析対象のサイトカイン類はアトピー性皮膚炎関連分子(IL-4, TARC)、Th17関連分子(IL-17, STAT3およびROR γ t)、IL-22およびIL-24とした。

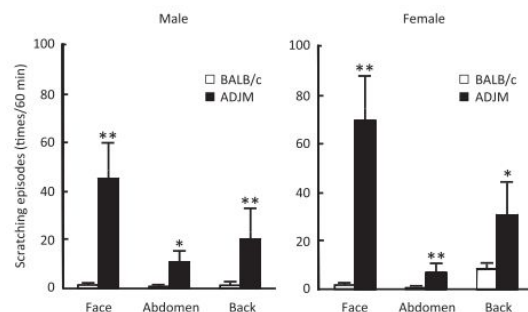
(2) Traf3ip2/Act1 遺伝子欠損マウスにおける JAK/STAT シグナル経路の阻害薬による乾癬様症状の薬効解析：

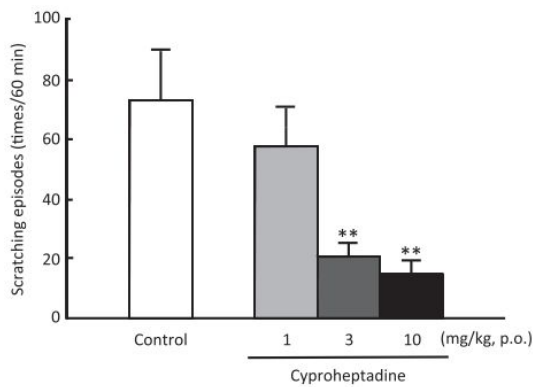
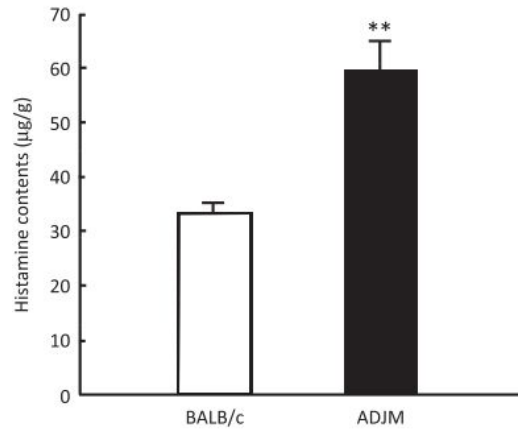
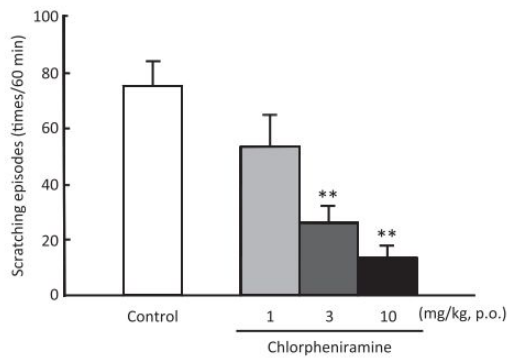
生後10週齢の雌性Traf3ip2/Act1遺伝子欠損マウスを用いて、Tofacitinib単回投与および1週間の連続投与を行い、それぞれについて搔痒行動を指標に薬効評価を行うとともに関連するサイトカイン類のmRNA変動を評価する。

4. 研究成果

本研究では、Traf3ip2/Act1遺伝子欠損マウスは、Thサブセット関連分子の解析から、Th17関連分子(IL-17, STAT3およびROR γ t)のmRNA発現量がいずれも有意に亢進していることを突き止めた。さらに乾癬との関連が指摘されているIL-22およびIL-24 mRNAの発現も有意に亢進していることを明らかにした。これらの実験成績は、Traf3ip2/Act1遺伝子欠損マウスで認められる搔痒や皮膚の肥厚、表皮角化細胞の過増殖が、アトピー性皮膚炎ではなく、乾癬の病態に類似することを極めて強く示唆するものであった。

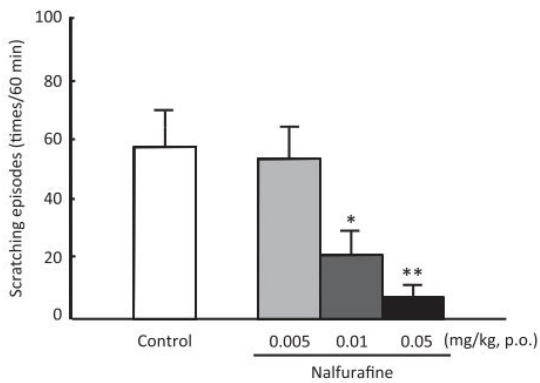
また、Traf3ip2/Act1遺伝子欠損マウスを用いた搔痒に対する薬効薬理試験の結果からは、搔痒行動にはH1受容体、オピオイド μ ならびに κ 受容体が関与していることが判明した。さらに、Traf3ip2/Act1遺伝子欠損マウスでは皮膚組織中のヒスタミン含量が野生型マウスと比較して有意に増加するとともに、病理組織学的検討からは組織中の肥満細胞数も有意に増加していることも明らかにした。





次に、*Traf3ip2/Act1* 遺伝子欠損マウスの掻痒行動を指標として、JAK/STAT 経路の阻害薬である Tofacitinib の効果について検討した。その結果、Tofacitinib は *Traf3ip2/Act1* 遺伝子欠損マウスの掻痒行動を用量依存的かつ有意に抑制することが明らかとなった。

以上の成績から、*Traf3ip2/Act1* 遺伝子欠損マウスは乾癬様の病態モデルマウスとして有用であると考えられた。また、近年になって関節リウマチの治療薬として開発された JAK/STAT 経路の阻害薬である Tofacitinib が、乾癬の治療薬として奏功する可能性が高いことを示唆する結果も得ることが出来た。



5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

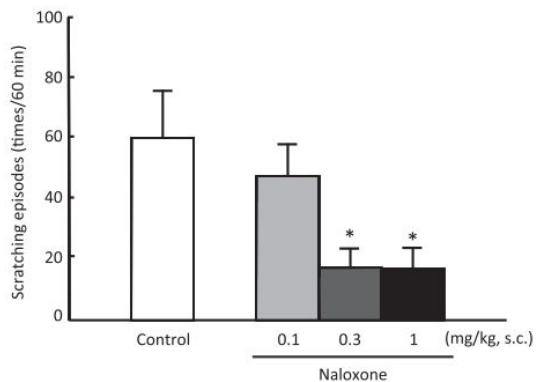
〔雑誌論文〕(計1件)

Nakasone T., Sato T., Matsushima Y., Inoue T., Kamei C. Characteristics of scratching behavior in ADJM mice (atopic dermatitis from Japanese mice). *Immunopharmacol Immunotoxicol.*(査読有) 37, 202-206 (2015)

〔学会発表〕(計1件)

仲宗根佑, 佐藤卓美, 井上俊夫, 松島芳文, 亀井千晃. 自然発症アトピー性皮膚炎マウス (ADJM マウス, TRAF3IP2/Act1 欠損マウス) の掻痒行動の特徴. 第 53 回日本薬学会・日本薬剤師会・日本病院薬剤師会中国四国支部学術大会, 2014.11.8, 広島国際会議場 (広島県)

〔図書〕(計0件)



6. 研究組織

(1)研究代表者

井上 俊夫 (INOUE, Toshio)
日本薬科大学・薬学部・准教授

研究者番号：70458610

(2)研究分担者

浦丸 直人 (Uramaru, Naoto)

日本薬科大学・薬学部・講師

研究者番号：90424069