

科学研究費助成事業 研究成果報告書



令和 3 年 6 月 15 日現在

機関番号： 3 2 6 2 0
 研究種目： 奨励研究
 研究期間： 2020 ~ 2020
 課題番号： 2 0 H 0 1 0 7 9
 研究課題名 ループス腸間膜血管炎の病態及び発症機序の解明

研究代表者

藤城 真樹 (FUJISHIRO, Maki)

順天堂大学・医学(系)研究科(研究院)・技術補助員

交付決定額(研究期間全体):(直接経費) 480,000 円

研究成果の概要： ループス腸間膜血管炎(LMV)は、全身性エリテマトーデス(SLE)に稀に合併する病態であるが、血管炎を伴う腸管出血が見られる場合は予後が悪い。これまでに、当研究グループでは、SLE自然発症モデルマウスにTLR7アゴニストを塗布した独自の誘導モデルにおいて、血管炎を伴う腸管出血を呈することを発見していた。本研究では、このモデルの詳細な病態解析を行い、病理学的、血清学的な解析結果から、これを新規LMV誘導マウスモデルとして確立した。次に、LMVの発症機序を解明するために、腸内細菌量を減少させたところ、血管炎が抑制される傾向が見られた。今後、腸内環境の変化とLMV様病態の関連について追及していく。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究成果で新規LMV誘導マウスモデルを確立したことにより、LMVの詳細な病態や発症機序の解析が可能となった。さらに、腸内環境の変化がLMV様の病態に寄与するため、シンバイオティクスなどによって腸内環境を整えることで、LMVの病態改善につながる可能性がある。したがって、当マウスモデルを用いてLMVの病態及び発症機序の解析を行うことで、発症の予防や早期診断法や新規治療薬の開発などに期待できる。

研究分野： 免疫学、病理学

キーワード： ループス腸間膜血管炎 (LMV) TOLL様受容体7 (TLR7) 全身性エリテマトーデス (SLE) 腸内細菌叢

1. 研究の目的

ループス腸間膜血管炎 (以下、LMV) は、全身性エリテマトーデス (以下、SLE) に稀に合併する病態である。しかし、血管炎を伴う腸管出血が見られる場合は予後が非常に悪い。我々は、SLE 自然発症モデルマウス (B/WF1 マウス) に、Toll 様受容体 7 (TLR7) アゴニストを塗布した独自の誘導 SLE モデルを作製し解析を行った過程で、これらのマウスでは特異的に血便が出ることを突き止め、さらに血管炎を伴う腸管出血が一因であることを明らかにした。また、TLR7 アゴニスト刺激により腸内細菌叢の顕著な変動も確認しており、腸内環境の変化が LMV の発症や病態に寄与する可能性がある。

そこで第一の目的として、当モデルの病理学的な解析を行い LMV 誘導マウスモデルとして確立する。第二に、この LMV 様の腸管出血の機序を解明する。特に、TLR7 アゴニストの刺激により腸内細菌叢が顕著に変動するため、LMV の発症や病態に関与するかを検証した。

2. 研究成果

初めに、自己抗体である抗 dsDNA 抗体の上昇が見られない若週齢の B/WF1 マウスに TLR7 アゴニスト (R848) を週 3 回 6 週間継続的に耳介に塗布し、抗 dsDNA 抗体などの自己抗体の増加やループス腎炎などの SLE 症状及び、小腸で腸管壁肥厚、粘膜下浮腫、血管炎などがみられる LMV 様の病態を病理組織学、血清学的に検証した。次に、同モデルに抗生剤を投与し腸内細菌叢を減少させ LMV 様の病態を病理学的に解析した。

- (1) R848 を B/WF1 マウスに塗布したところ、R848 塗布群全てのマウスで便潜血定性試験陽性を示した (Figure 1A)。さらに、解剖所見より肉眼的な出血を認め、免疫染色で赤血球を染めたところ、腸上皮より流出した赤血球の存在を明らかにし (Figure 1B)、腸管出血を病理学的に証明した。次に、腸管出血の機序を明らかにするため病理学的解析を行った。ヘマトキシリンエオジン (HE) 染色及び、弾性線維染色であるエラスチカワンギーソン (EVG) 染色を行ったところ R848 塗布群で腸粘膜下層や血管周辺部への細胞浸潤を認め、血管炎を示唆する結果が得られた (Figure 1C)。さらに血管内皮細胞の炎症を検証するため、VCAM1 の発現を血管内皮細胞マーカーである CD31 と共に染色したところ、R848 塗布群では VCAM1 が発現していた (Figure 1D)。また、これら症状が SLE 病態下で起こるかを検証するため、血清中の抗 dsDNA 抗体価とループス腎炎の増悪を確認した。R848 塗布群では、抗 dsDNA 抗体価が有意に増加し (Figure 1E)、ループス腎炎の増悪 (Data not shown) も認めた。したがって、本手法は、LMV 病態を安定して誘導できることから、新規 LMV 誘導マウスモデルとして確立した。

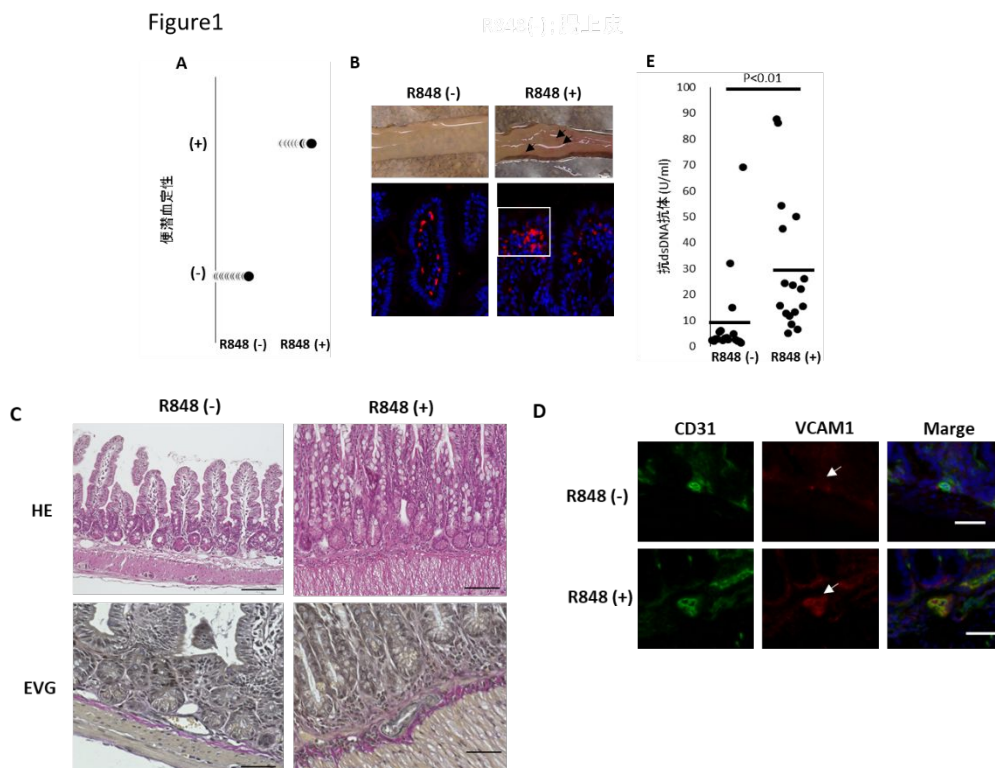


Figure1

TLR7アゴニスト (R848) 刺激はLMV様病態を誘導する

B/Wf1 マウス (8週齢、雌) にTLR7アゴニスト (R848) を週3回6週間連続塗布した

(A) 便潜血定性

(B) 小腸の解剖写真 (写真上、黒矢印; 出血)、小腸免疫染色 (赤; 赤血球、白枠; 赤血球の流出)

(C) 小腸のHE染色 (写真上; スケールバー 100μm) 及び、

EVG染色 (写真下; スケールバー50μm)

(D) 小腸の免疫染色 (緑: CD31, 赤: VCAM1, 青: 核, スケールバー50μm, 白矢印; 血管)

(E) 血清中抗dsDNA抗体価

- (2) 次に、以前TLR7アゴニスト刺激により腸内細菌叢の顕著な変動を確認していることから、このような腸内環境の変化がLMV様病態へもたらす影響を検証するため、新規LMVマウスモデルを利用して抗生剤投与群と非投与群でLMV様病態を比較した。抗生剤を投与したLMV誘導マウス群では、抗生剤非投与LMV誘導マウス群に比べ便潜血陽性の頻度が減少し (Figure 2A)、さらに腸粘膜下層及び血管周囲の炎症細胞浸潤の減少がみられ (Figure 2B, C)、血管炎が抑制される傾向が見られた。

Figure2

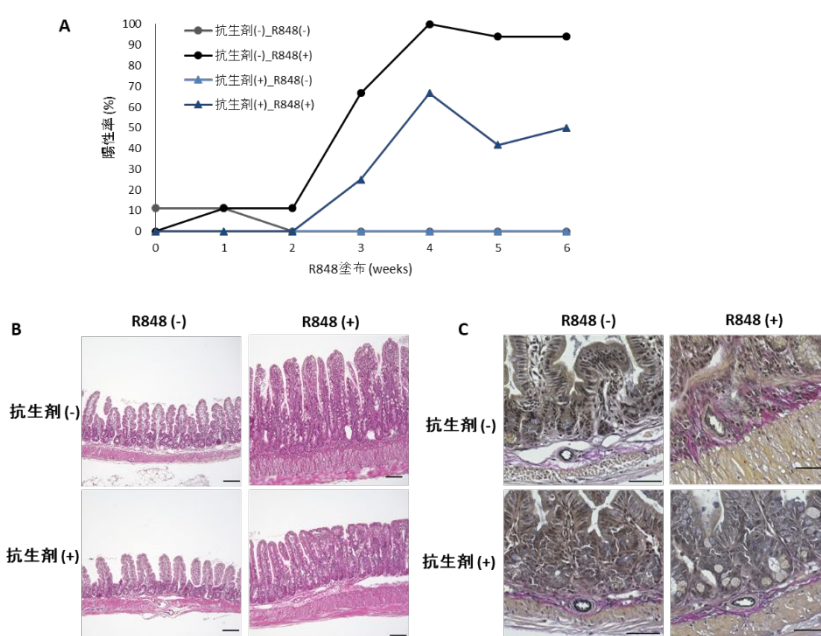


Figure2

腸内細菌叢変化はLMV様病態に関与する

B/Wf1 Mouse (8週齢、雌) に抗生剤投与を行いさらに、

TLR7アゴニスト (R848) を6週間連続塗布した

(A) 便潜血定性

(B) 小腸のHE染色 (スケールバー 100μm)

(C) 小腸のEVG染色 (スケールバー50μm)

本研究で新規LMV誘導マウスモデルを確立したことによりLMVの詳細な解析が可能となった。今後は、本モデルを利用し、LMV様病態の発症機序の解析などを行っていく。特に、抗生剤投与による腸内環境変化は、様々なLMV様病態を病理学的に抑制する傾向が見られ、さらに血便の頻度を減少させることから、腸内環境の変化と血管炎及び腸管出血の関連性を明らかにしていく。

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〕

-

研究組織（研究協力者）

氏名	ローマ字氏名
----	--------