

令和 6 年 6 月 14 日現在

機関番号：11301

研究種目：若手研究

研究期間：2021～2023

課題番号：21K16674

研究課題名（和文）脊椎関節炎モデルマウスを用いた体軸性関節炎および脊椎強直の病態解明と新規治療開発

研究課題名（英文）Elucidation of the pathogenesis of axial spondylitis and spinal ankylosis using mouse models of spondyloarthritis and development of new therapies.

研究代表者

泉山 拓也 (Izumiyama, Takuya)

東北大学・大学病院・助教

研究者番号：00844276

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,500,000円

研究成果の概要（和文）：脊椎関節炎と類似の病変を発現するSKGマウスに対してJAK阻害剤（Baricitinib）を投与することで治療を行い、コントロール群と比較し検討した。投与方法はAlzet浸透圧ポンプを使用して皮下に60mg/kg/週を持続投与とした。治療群（n=9）とコントロール（Ctl）群（n=11）で比較し、関節炎スコア（ $p=0.007$ ）、左右の足関節の病理学的スコア（ $p=0.02$, $p<0.001$ ）において有意差を認めた。脊椎周囲の付着部炎も改善効果があり、統計学的に検討中である。現在、血清中のサイトカインの測定の追加、組織学的には免疫染色を追加して検討を行い、雑誌への投稿の準備を進めている。

研究成果の学術的意義や社会的意義

脊椎関節炎は脊椎強直や破壊性末梢関節炎によりADLを著しく障害する進行性疾患である。早期からの治療介入が望まれるが、一方で疾患の成因や発症のメカニズムは未解明な部分が多い。Janus kinase (JAK) 阻害剤は関節破壊抑制に有用だが、脊椎関節炎の強直性病変、骨化病変抑制に対する効果は確定されていない。そこで脊椎関節炎のモデルマウスとされるSKGマウスを用いてJAK阻害剤の効果を解析し、体軸性脊椎炎の病変の抑制効果を示すことができた。これは脊椎関節炎に対する新規の薬剤適応や、骨化のメカニズムの解明につながる可能性を示唆する、重要な知見と考える。

研究成果の概要（英文）：SKG mice developing lesions spondyloarthritis-like were treated with a JAK inhibitor (Balicitinib) and compared to a control group. The dosing regimen was 60 mg/kg/week subcutaneously in a continuous dose using an Alzet osmotic pump. When comparing the treatment group (n=9) with the control group (n=11), significant differences were found in arthritis scores ($p=0.007$) and pathology scores of the right and left ankle joints ($p=0.02$, $p<0.001$). There was also an improvement in peri-spinal enthesitis, which is being statistically analyzed. Additional measurements of serum cytokines and immunostaining for histology are being investigated in preparation for submission to the journal.

研究分野：関節リウマチ、脊椎関節炎

キーワード：脊椎関節炎 体軸性関節炎 SKGマウス JAK阻害薬 バリシチニブ 付着部炎 脊椎強直

1. 研究開始当初の背景

強直性脊椎炎や乾癬性関節炎に代表される脊椎関節炎は、滑膜炎、骨びらん、骨新生、付着部炎、関節強直などの多彩な臨床像を示す自己免疫疾患群である。主として侵される病変により、脊椎や仙腸関節の病変が主体となる体軸性脊椎関節炎 (Ax-SpA)、末梢関節の病変が主体となる末梢性脊椎関節炎に分類される。脊椎関節炎の罹患患者は全国で約3万人で、関節リウマチに比して医療者側の認知度が低く、腰痛などの体軸性病変、末梢の付着部炎が存在しても適切な診断を受け早期治療介入するのが難しいとされている。強直が進行すると診断が容易となるが、その時点で治療介入しても強直の改善は困難である。近年、体軸性脊椎関節炎において抗 TNF- α 抗体製剤や抗 IL-17A 抗体製剤で末梢関節炎の疼痛改善効果、抑制効果に加え、体軸性脊椎炎の疼痛改善や骨化を伴う付着部炎や脊椎強直の抑制効果の報告がみられるようになった。しかし、それらを使用しても脊椎強直が進行する群があることが報告されており、強直の進行を抑制する決定的な治療法の確立には至っていない。関節リウマチの治療で導入開始され、近年脊椎関節炎の治療にも使用されるようになったヤヌスキナーゼ (JAK) 阻害剤は関節破壊抑制に有用であるが、し脊椎関節炎の強直病変、骨化病変抑制に対する効果は未だ不明である。骨化・強直のメカニズムを明らかにして椎体・関節炎の強直が生じる前に早期に診断し、有効な治療を開始することは、我々の喫緊の課題であるといえる。

2. 研究の目的

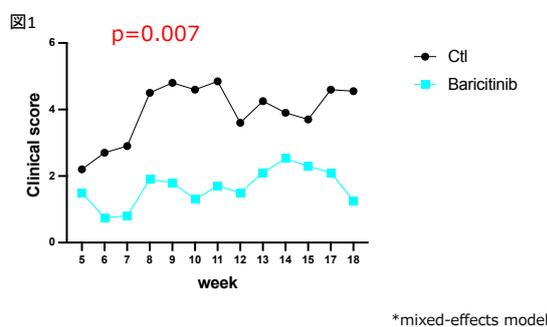
Bulb/c マウスに由来する独自の系統で、Curdlan の刺激により骨化を伴う付着部炎を発症し、脊椎関節炎のモデルマウスとして知られる SKG マウスに対して、ヤヌスキナーゼ (JAK) 阻害剤である Baricitinib を使用し、関節炎および脊椎炎および脊椎強直の抑制効果を検討することにより、IL-17A および IL-22、IL-23 などの筋腱付着部の骨化に関するシグナルの関連を明らかにし、それらのシグナル阻害効果の解析を通して、付着部炎や強直のメカニズムを解明し、強直を伴う付着部炎の新規治療の開発に寄与すること。

3. 研究の方法

- (1) 本研究ではメスの SKG マウスを使用し、8 週齢、10 週齢時に Curdlan を腹腔内に投与して関節炎、脊椎炎を誘発させ、治療群に対して 11 週齢から JAK 阻害剤 (Balicitinib) 60mg/kg/週をジメチルスルホキシド (DMSO) およびポリエチレングリコールに溶解して投与することで治療を行い、コントロール群と比較し検討した。コントロール群は DMSO+ポリエチレングリコールのみを投与した。
- (2) 関節炎・付着部炎の評価は下記の項目について行う。①足関節および足根骨の関節スコア (Ruutu, et al. Arthritis and Rheumatism, 2012.)、②25 週齢における 2 名の検者による足関節滑膜炎組織評価スコア (Krenn, et al. Histopathology, 2006) の計測、③25 週齢における 2 名の検者による脊椎組織評価スコアの計測、④免疫染色による IL-17A、IL-22 の発現の評価、⑤25 週齢における ELISA による血中 SAA と TNF- α 、IL-17A の測定、⑥CT による脊椎強直病変の画像的評価により評価を行う。

4. 研究成果

Curdlan を投与して脊椎関節炎を誘発させた SKG マウスに対して、Balicitinib を 11 週齢から 25 週齢まで投与して、関節炎および脊椎炎に対する効果を検討した。治療群には Balicitinib を持続皮下投与した。①足関節および足根骨の関節スコアの結果について図 1 に示す。介入直後よりコントロール群と比較して明らかな関節炎の抑制効果を得られ、mixed-effects model において有意な差が認められた ($p=0.007$)。②25 週齢のマウスの足関節の代表的な組織画像を図 2 に、滑膜炎組織評価スコアの解析結果を図 3 に示す。コントロール群ではリンパ球を中心とした炎症細胞の強い浸潤がみられ、骨びらんが生じているのに対して、コントロール群では炎症細胞の浸潤や骨破壊はみられなかった。統計学的にも左右それぞれ有意差が認められた。③25 週齢のマウスの代表的脊椎組織画像を図 4 に示す。コントロール群には前縦靭帯周囲に炎症細胞の浸潤が認められるが、治療群では炎症細胞の浸潤が認められず、付着部炎に対しても改善効果を示している。脊椎組織評価スコアは現在解析中である。④免疫染色の結果は現在解析中である。⑤ELISA の結果は現在解析中である。⑥コントロール群の脊椎 CT 像の一例を図 5 に示す。椎間関節および前縦靭帯、後縦靭帯の周囲に骨増殖が見られる。治療群では一例も同様の骨増殖は見られなかったが、コントロール群においても CT で骨増殖が見られたのはわずかであり、観察期間が足りなかった



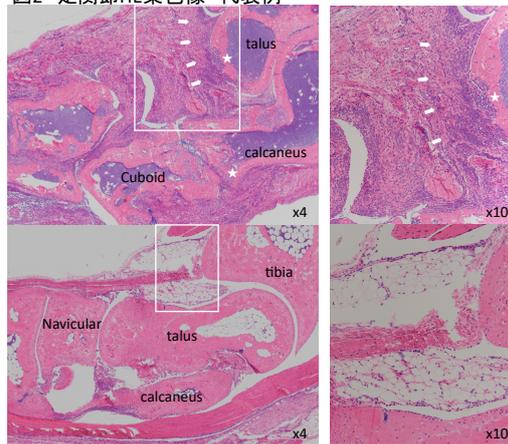
ものと推測される。

上記の実験結果より、脊椎関節炎に類似した症状を呈する SKG マウスに対する Balicitinib の効果が明らかになりつつある。末梢関節炎に対する改善報告は過去も報告にもみられるが、脊椎の付着部炎および骨化について病理学的に検討した研究はこれまでみられない。

一方、CT 画像における椎体周囲の骨増殖・強直については、コントロール群においても多くはみられず、有意差のつかない結果になった。椎体周囲の靭帯付着部に明らかな炎症は生じており、今後骨増殖が起こるものと推測されるが、SKG マウスにおいても炎症が骨増殖・強直に至るまでにはさらに長い観察期間が必要になる可能性が示唆される。

本研究においては、脊椎関節炎のモデルマウスといわれる Curdlan で免疫反応をブーストさせた SKG モデルに対する Balicitinib の関節炎および体軸性関節炎における炎症の抑制効果が認められた。骨化・骨増殖の抑制効果についても期待されるが、今回の実験では画像的に証明することはできなかった。しかし、脊椎関節炎のモデルマウスの脊椎病変に対する JAK 阻害薬の効果については、これまでに報告がほとんどなく新しい知見と考えられる。現在免疫染色や ELISA において局所のサイトカインシグナルとの関連を調査しており、解析を行なったのち論文作成の準備に入る予定である。

図2 足関節HE染色像 代表例



左上:コントロール群足関節HE染色組織弱拡大像、矢状断。著明な炎症性細胞の浸潤(矢印)がみられ、骨びらん(星)が形成されている。
 右上:コントロール群足関節HE染色組織強拡大像、矢状断。著明な炎症性細胞の浸潤(矢印)がみられ、骨びらん(星)が形成されている。
 左下:治療群足関節HE染色組織弱拡大像、矢状断。炎症性細胞の浸潤は少なく、骨びらんもみられない。
 右下:治療群足関節HE染色組織強拡大像、矢状断。炎症性細胞の浸潤は少なく、骨びらんもみられない。

図3 足関節滑膜炎スコア

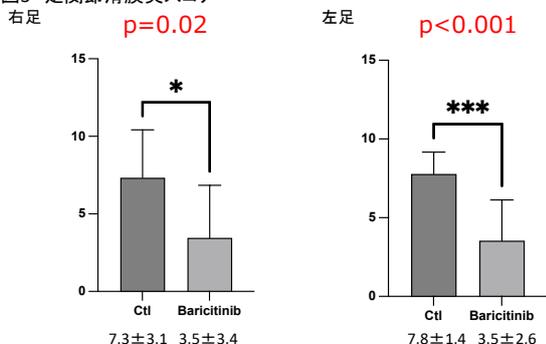
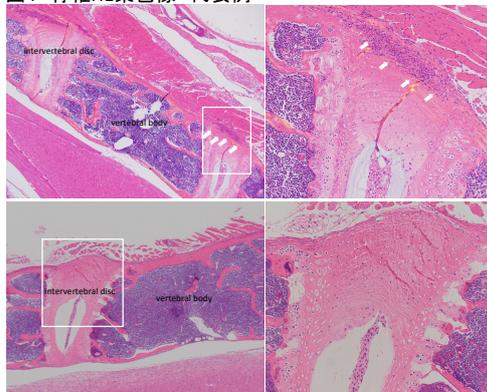
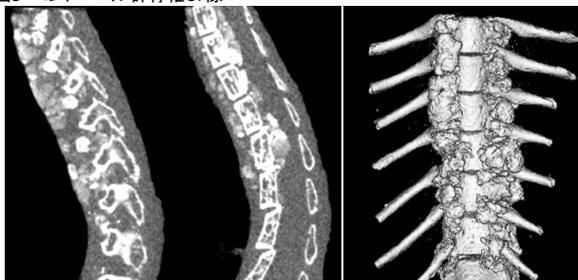


図4 脊椎HE染色像 代表例



左上:コントロール群脊椎HE染色組織弱拡大像、矢状断。前縦靭帯に炎症性細胞の浸潤(矢印)がみられている。
 右上:コントロール群足関節HE染色組織強拡大像、矢状断。前縦靭帯に炎症性細胞の浸潤(矢印)がみられている。
 左下:治療群脊椎HE染色組織弱拡大像、矢状断。炎症性細胞の浸潤はない。
 右下:治療群脊椎HE染色組織強拡大像、矢状断。炎症性細胞の浸潤はない。

図5 コントロール群脊椎CT像



(左) コントロール群脊椎単純CT、矢状断椎間関節レベル。椎間関節周囲に骨化がみられる。
 (中央) コントロール群脊椎単純CT、矢状断椎体中央レベル。前縦靭帯および後縦靭帯周囲に骨化がみられる。
 (右) コントロール群脊椎単純CT、3D画像。椎体周囲に骨化がみられる。

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
研究協力者	森 優 (Mori Yu)	東北大学 (11301)	
研究協力者	古山 和樹 (Koyama Tomoki)	東北大学 (11301)	

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