

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成25年 5月31日現在

機関番号：16401

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2010～2012

課題番号：22591243

研究課題名（和文） 関節症性乾癬モデルマウス作製とその解析

研究課題名（英文） Generation and analysis of model mouse for psoriatic arthritis

研究代表者

山本 真有子 (YAMAMOTO MAYUKO)

高知大学・教育研究部医療学系・助教

研究者番号：20423478

研究成果の概要（和文）：尋常性乾癬モデルマウスと自己免疫性関節炎モデルマウスを交配して得られたダブルトランスジェニックマウスにおいて、生後2-3週で臀部から後脚に乾癬様皮疹を自然発症し、75%に指炎に類似した足趾のソーセージ様腫脹を発症した。病理組織学的に皮膚全層の腫脹および腱附着部炎を呈し、ヒト関節症性乾癬に類似していた。病変部の遺伝子発現を検討した結果から、この病変形成にはTh17およびTh1サイトカインが重要であることが示唆された。

研究成果の概要（英文）：We crossed psoriasis model mice with autoimmune arthritis model mice, and found that the double transgenic mice spontaneously developed psoriatic skin lesion on the back, tail and legs. They also developed sausage-like swelling in the digits of hind feet from as early as 2 or 3 weeks of age at a high frequency up to 75%. Histologically, they demonstrated diffuse edema in the dermis as well as enthesitis, resembling human psoriatic arthritis. The digit lesions demonstrated increased transcriptional levels of Th17 and th1 cytokines.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	1,400,000	420,000	1,820,000
2011年度	1,000,000	300,000	1,300,000
2012年度	1,000,000	300,000	1,300,000
年度			
年度			
総計	3,400,000	1,020,000	4,420,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・皮膚科学

キーワード：関節症性乾癬

1. 研究開始当初の背景

関節症性乾癬は動物モデルが確立されておらず、病態に不明な点が多い。関節症性乾癬において、しばしば皮疹に近接する関節に関節症状を認めることを経験する。乾癬皮疹の発症には、表皮角化細胞のStat3活性化と、CD4T細胞の活性化が必要であることが明らか

かにされている。一方、自己免疫性関節炎のモデルマウスであるgp130F759ノックインマウスにおいて、関節炎の発症には、滑膜細胞を含む非造血細胞のStat3の活性化およびCD4T細胞の活性化が必要であることがわかっている。乾癬皮疹とそれに近接した関節炎が、表皮角化細胞および滑膜線維芽細胞の

Stat3 の活性化に基づく炎症により空間的に関連して生じている可能性がある。

2. 研究の目的

乾癬モデルマウス (K5.Stat3C) と関節炎モデルマウス (gp130^{F759} ノックインマウス) を交配したダブルトランスジェニックマウスにおいて、乾癬皮疹により関節症状が誘発されるか否かを検討し、関節症性乾癬のモデルマウスを確立する。

3. 研究の方法

(1) K5.Stat3C マウスはテープストリッピングやTPA 塗布により、乾癬様皮疹を発症する。一方 gp130^{F759} ノックインマウスは生後1年以内に自己免疫性関節炎を自然発症する。K5.Stat3C マウスと gp130^{F759} ノックインマウスを交配し、K5.Stat3C:gp130^{F759/F759} マウスを得る。このマウスの足関節部にテープストリッピングにより皮疹を誘発することにより、早期に皮疹直下の関節に関節炎が誘導されるか否かをコントロールマウスと比較し、臨床および組織学的に評価する。

(2) 関節病変部のサイトカイン発現を免疫染色により評価する。

(3) 指炎病変部から m-RNA を抽出し、定量的 rtPCR にてサイトカインの遺伝子発現を評価する。

(4) 指炎病変部に対する抗 TNF α 抗体および抗 p40 抗体の有効性を評価する。

4. 研究成果

(1) K5.Stat3C:gp130^{F759/F759} マウスは生後2〜3週で臀部、尾、後脚に乾癬様皮疹を自然発症し、同時期から後脚指にソーセージ様腫脹を伴った (図1)。

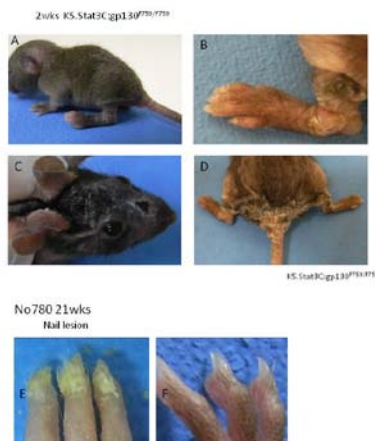


図1

K5.Stat3C マウスが生後数ヶ月で乾癬様皮疹を自然発症するのに比較して、K5.Stat3C:gp130^{F759/F759} マウスは非常に早期に発症した。指炎は持続性であり、一部は生後6週頃に指関節拘縮や爪甲の混濁、肥厚を生じた。爪甲病変を伴う指炎はヒトの関節症性乾癬に酷似していた。指炎の発症率は75%であり、他の genotype (K5.Stat3C、K5.Stat3C:gp130^{F759/Wt}、gp130^{F759/F759} マウス) では指炎および爪甲病変は発症しなかった (図2)。

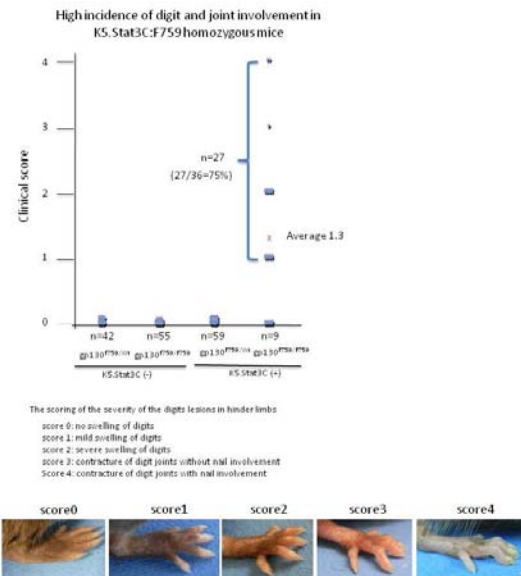


図2

指炎病変部では組織学的に乾癬様の表皮変化と真皮全層の浮腫、指骨の腱付着部炎を認めた (図3)。

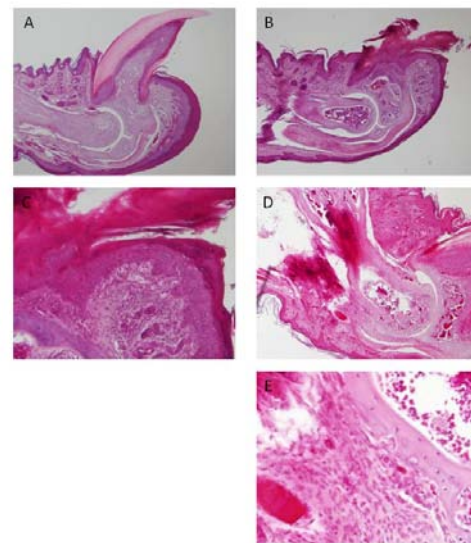


図3

K5.Stat3C:gp130^{F759/F759} マウスの足関節部にテープストリッピングを行い、乾癬様皮疹

が誘導されたが、同関節の腫脹は認められず、組織学的にも関節炎は認めなかった。

(2) K5.Stat3C:gp130^{F759/F759} マウスの指炎病変組織において、免疫組織学的に検討し、指骨周囲に浸潤している細胞は、IL-6 陽性細胞、TNF α 陽性細胞や、IL-17 陽性 CD4T 細胞であった (図4)。

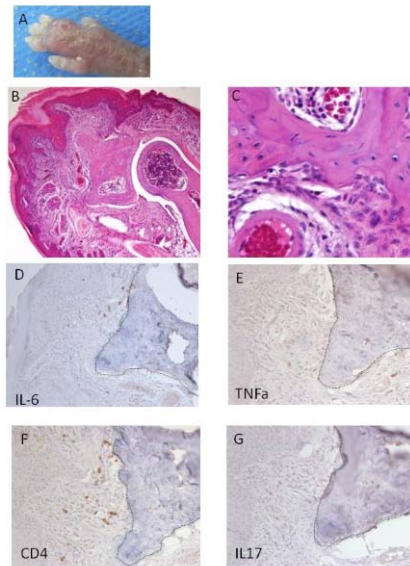


図4

(3) K5.Stat3C:gp130^{F759/F759} マウス指炎病変部の爪囲および爪床より抽出した m-RNA を評価した。gp130^{F759/F759} マウスと比較して、IL-1 β 、TNF α 、Th17 サイトカインである IL-23p19、IL-12p40、IL17a、IL-22 および IFN γ の遺伝子発現増強を認めた (図5)。

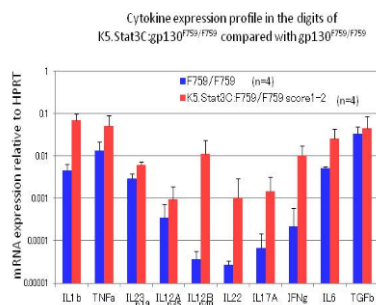


図5

(4) ヒトの関節炎において、炎症部位の同定に PET/CT による評価が有用であることが知られている。指炎を発症したマウスの PET/CT による評価を浜松医科大学間賀田泰寛教授の協力により行った。指の腫脹部位に一致した FDG の異常集積を認めた。指炎を発症していないコントロールマウスでは指炎マウスの集積部位よりも近位に集積を認めた。

(5) 指炎を発症している 5 週齢から 19 週齢の K5.Stat3C:gp130^{F759/F759} マウスに抗 TNF α 抗体を週 1 回、3 回腹腔内投与したが、明らかな効果は認められなかった。9 週齢の K5.Stat3C:gp130^{F759/F759} マウスに抗 p40 抗体を 4 週毎 2 回投与でも明らかな効果はみられなかった。今後、抗体治療に関して、より早期の投与による評価が必要である。

(6) K5.Stat3C:gp130^{F759/F759} マウスはヒト関節症性乾癬の指炎に酷似した病変を自然発症し、その病態形成には表皮角化細胞および付着部線維芽細胞の Stat3 活性化に基づく Th17 サイトカインが重要であることが示唆された。関節症性乾癬のモデルマウスとしての有用性が期待される。

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)

- ① Toshitake Hirai, Takashi Kanda, Kenji Sato, Mikiro Takaishi, Kimiko Nakajima, Mayuko Yamamoto, Reiko Kamijima, John DiGiovanni, Shigetoshi Sano, Cathepsin K is involved in development of psoriasis-like skin lesions through TLR-dependent Th17 activation, J Immunol, 査読有, 2013, 10. 4049/jimmunol. 1200901

[学会発表] (計 3 件)

- ① 山本真有子, Cytokine aberrations in a mouse model of psoriatic arthritis, 72th annual meeting of SID, Phoenix 2011 年 5 月 4 日-7 日 (USA)
- ② 山本真有子, 関節症性乾癬モデルマウスの作製と解析, 第 25 回日本乾癬学会, 2010 年 9 月 3 日-4 日, (山口)
- ③ 山本真有子, 関節症性乾癬モデルマウスの作製と解析, 第 35 回日本研究皮膚科学会, 2010 年 12 月 3 日-5 日 (和歌山)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

山本 真有子 (YAMAMOTO MAYUKO)
高知大学・教育研究部医療学系・助教
研究者番号：20423478

(2) 研究分担者

中島 喜美子 (NAKAJIMA KIMIKO)
高知大学・教育研究部医療学系・講師
研究者番号：20403892
高石 樹朗 (TAKAISHI MIKIRO)
高知大学・教育研究部医療学系・助教

研究者番号：10303223
佐野 栄紀 (SANO SHIGETOSHI)
高知大学・教育研究部医療学系・教授
研究者番号：80273621

(3) 研究協力者

間賀田 泰寛 (MAGATA YASUHIRO)
浜松医科大学・医学部・教授