

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 2 日現在

機関番号：32660

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23500489

研究課題名(和文) DCIR 遺伝子欠損マウスを利用した脊椎関節炎の新規動物モデルの開発

研究課題名(英文) Establishing a new animal model for ankylosing spondylolysis using DCIR deficient mice

研究代表者

海部 知則 (KAIFU, Tomonori)

東京理科大学・生命医科学研究所・助教

研究者番号：90343037

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,100,000 円、(間接経費) 1,230,000 円

研究成果の概要(和文)：強直性脊椎炎は代表的な脊椎関節症で脊椎や仙腸関節などの関節部位の強直を引き起こす。強直性脊椎炎を含む脊椎関節症では腱附着部炎が見られるが、疾患発症に至るメカニズムは未だ不明で根本的な治療法も開発されていない。我々が独自に開発したC型レクチン受容体DCIR欠損マウスが腱附着部炎と強直を自然発症することから、脊椎関節炎の新規動物モデルを作出し、疾患発症メカニズムの理解を目指した。その結果、DCIR欠損マウスで発症する強直には炎症性サイトカインが重要であること、このサイトカインは骨新生を促すことが明らかになった。従って、DCIR欠損マウスは脊椎関節炎理解の有用な疾患モデルであることが示された。

研究成果の概要(英文)：Ankylosing spondylolysis (AS) is one of typical diseases in spondyloarthritis, which develops ankylosis in joints, such as the spines and the sacroiliacs. Although enthesitis, an inflammation of the entheses, is known as a primitive symptom of ankylosing spondylitis, the pathogenesis remains unclear and the curative treatment isn't yet determined. Since DCIR deficient mice spontaneously develop enthesitis and ankylosing in ankles, we exploited the DCIR deficient mice to understand the pathogenesis of an inflammation in the entheses and a subsequent ankylosis as well as to generate a new animal model for analyzing AS. We found that a pro-inflammatory cytokine was implicated in the development of ankylosis, which had the ability to facilitate bone formation. Therefore, this study demonstrates that the DCIR deficient mice are a useful animal model of AS to analyze the pathogenesis and to assess a potential reagent to cure the disease.

研究分野：実験動物学

科研費の分科・細目：実験動物学

キーワード：C型レクチン受容体 サイトカイン 骨代謝

1. 研究開始当初の背景

脊椎関節炎は体幹骨格で発症する進行性の炎症を伴う一群の関節疾患で、免疫系細胞の浸潤と骨・軟骨破壊が観察される関節リウマチと異なり、異所的な骨形成とそれに伴う関節部位の癒着が特徴である。ほとんどが10~20歳代で発症し男性の発症率が高いことが知られている。脊椎関節炎の一つである強直性脊椎炎の患者においてHLA-B27対立遺伝子が高頻度に出現することから免疫系との関連が疑われているが詳細は不明である。近年発達した非侵襲型画像診断装置による解析から強直性脊椎炎を含む脊椎関節症の初期症状として腱や靭帯の付着部に炎症が認められることが見出された。この付着部炎では付着部周囲の異常な細胞増殖、軟骨や骨の異所的な形成が慢性的に進行する。このように画像診断技術の進歩により強直性脊椎炎などの脊椎関節症の病理像的理解は進みつつあるが、疾患発症に至るメカニズムは未だ不明で根本的な治療法も開発されていない。創薬および治療法の開発には個体レベルでの疾患病態理解が必須であり新規の動物疾患モデルの開発が望まれている。

2. 研究の目的

C型レクチン受容体であるDendritic Cell ImmunoReceptor (DCIR)は免疫恒常性維持に関与する重要な受容体である。DCIR遺伝子欠損マウスは加齢に伴い腱付着部炎を端緒とする骨異常を自然発症する。この腱付着部炎を伴った病態はヒトの脊椎関節症に類似していることから、DCIR遺伝子欠損マウスにおける腱付着部炎の発症機序と病態形成の進行過程を明らかにし、ヒトにおける脊椎関節症の病態解明および新規治療法の開発に有用な動物モデルを樹立することを目的とした。本研究により、独自に開発した動物モデルの骨代謝疾患を評価し、病態発症・形成の包括的理解と

新規治療法への開発につなげることで実験動物学の発展に貢献することを期待している。

3. 研究の方法

DCIR遺伝子欠損マウスと各種遺伝子欠損マウスと、病変部位の病理学的組織解析、免疫学的解析を組み合わせ、病態発症・形成のメカニズムを生体内評価する。

- (1)DCIR遺伝子欠損マウスで自然発症する腱付着部炎の病態を組織学的に解析する。
- (2)免疫担当細胞と疾患発症との関係を検証する。
- (3)疾患発症に関与する誘導候補因子の同定を進める。
- (4)発症誘導候補因子の遺伝子欠損マウスを用いて、脊椎関節炎発症メカニズムを解析する。

4. 研究成果

DCIR遺伝子欠損マウスにおいて加齢に従って自然発症する腱付着部炎に免疫系細胞が関与していることが明らかとなり、ヒトの脊椎関節症の一つである強直性脊椎炎の発症メカニズムの一端を解明した。また、DCIR遺伝子欠損マウスの病変部位がヒトの強直性脊椎炎に類似していたことから、DCIR遺伝子欠損マウスは強直性脊椎炎の疾患モデルとして今後、疾患病態解明に役立つと期待される。

- (1)DCIR遺伝子欠損マウスの関節病変部位の病理組織解析により、骨の異形成と異常な細胞増殖を関節局所に認めた。
- (2)DCIR遺伝子欠損マウスからリンパ球系細胞を欠失させると関節部位の強直発症が喪失した。
- (3)qPCR法により関節部位のサイトカイン産生を検出したところ発現亢進するサイトカインを見出した。
- (4)発現亢進したサイトカインの遺伝子欠損をDCIR遺伝子欠損マウスに導入すると

関節病変が抑制されたことから、疾患発症因子の同定に成功した。

(5) DCIR 遺伝子欠損マウスでは疾患発症因子と考えられるサイトカイン産生が恒常的に増加していることが示された。

これらのことから、DCIR を介した制御機構の破綻により生じた免疫システムの機能異常が、関節部位における骨異形成につながることを示され、免疫システムと骨代謝系の密接な関連が示唆された。また、DCIR を人工的に制御することの出来る化合物や生物製剤を開発することができれば、DCIR を標的とした治療の開発が可能になると考えられる。

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. Kaifu T, Escalière B, Gastinel LN, Vivier E, Baratin M. B7-H6/NKp30 interaction: a mechanism of alerting NK cells against tumors. **Cell. Mol. Life. Sci.** 2011 Nov;68(21):3531-9.

[学会発表](計 13 件)

1. Tomonori Kaifu, Takumi Maruhashi, Guangyu Ma, Rikio Yabe, Akimasa Seno, Yoichiro Iwakura. Dendritic Cell ImmunoReceptor (DCIR) is a negative regulator in balancing bone metabolism. International Immunology Society, Italy, 2013.8-22-27 (poster presentation)

2. 海部知則、丸橋拓海、馬光宇、矢部力朗、妹尾彬正、岩倉洋一郎. DCIR 欠損マウスを用いた C 型レクチン受容体による骨代謝制御機構の解明. 第 60 回日本実験動物学会総会、筑波、2013 年 5 月 15-17 日(口頭発表)

3. 久保幸子、海部知則、立石麻理子、

角田 茂、岩倉洋一郎. 東京理科大学生命医科学研究所実験動物学研究部門における遺伝子改変マウスの供給について. 第 60 回日本実験動物学会総会、筑波、2013 年 5 月 15-17 日 (ポスター発表)

4. Tomonori Kaifu, Takumi Maruhashi, Guangyu Ma, Rikio Yabe, Akimasa Seno, Noriyuki Fujikado, Yoichiro Iwakura. Dendritic Cell ImmunoReceptor (DCIR) negatively regulates osteoclastogenesis. 第 41 回日本免疫学会総会・学術集会、神戸、2012 年 12 月 5-7 日 (口頭発表)

5. Tomonori Kaifu, Takumi Maruhashi, Guangyu Ma, Rikio Yabe, Akimasa Seno, Noriyuki Fujikado, Yoichiro Iwakura. DCIR is a negative regulator in osteoclastogenesis. The 15th Congress of Asia Pacific League of Association for Rheumatology. Dead Sea, Jordan. Sep. 10-14, 2012. (poster presentation)

6. 丸橋拓海、海部知則、藤門範行、岩倉洋一郎. 新たな強直性脊椎炎モデル: DCIR 欠損マウスの解析. 第 59 回日本実験動物学会総会、大分、2012 年 5 月 24-26 日 (口頭発表)

7. Tomonori Kaifu, Takumi Maruhashi, Guangyu Ma, Rikio Yabe, Akimasa Seno, Noriyuki Fujikado, Yoichiro Iwakura. DCIR, a C-type lectin receptor, is a new negative regulator in osteoclastogenesis. 9th Joint Meeting of the ICS and ISICR. Florence, Italy. Oct. 9-12, 2011. (poster presentation)

8. Takumi Maruhashi, Noriyuki Fujikado, Tomonori Kaifu, Yoichiro Iwakura. DCIR deficient mice develop ankylosing spondylitis-like pathology in humans. 9th Joint Meeting of the ICS

and ISICR. Florence, Italy. Oct. 9-12, 2011. (oral presentation)

9. 矢部力朗、丸橋拓海、妹尾彬正、馬光宇、海部知則、舘野浩章、平林淳、岩倉洋一郎。DCIR リガンドの探索。第 84 回日本生化学会大会、京都、2011 年 9 月 21-24 日 (ポスター発表)

10. Maruhashi Takumi, Kaifu Tomonori, Ma Guangyu, Seno Akimasa, Fujikado Noriyuki, Iwakura Yoichiro。DCIR 欠損マウスは強直性脊椎炎様の病態を示す。第 40 回日本免疫学会総会・学術集会、幕張、2011 年 11 月 27-29 日 (口頭発表)

11. Tomonori Kaifu, Takumi Maruhashi, Guangyu Ma, Rikio Yabe, Akimasa Seno, Noriyuki Fujikado, Yoichiro Iwakura。DCIR, a C-type lectin receptor, is a new negative regulator in osteoclastogenesis. 第 40 回日本免疫学会総会・学術集会、幕張、2011 年 11 月 27-29 日 (口頭発表)

12. 妹尾彬正, 海部知則, 藤門範行, 岩倉洋一郎。Experimental autoimmune encephalomyelitis is aggravated in DCIR knockout mice. 第 40 回日本免疫学会総会・学術集会、幕張、2011 年 11 月 27-29 日 (ポスター発表)

13. Rikio Yabe, Guangyu Ma, Noriyuki Fujikado, Tomonori Kaifu, Takumi Maruhashi, Akimasa Seno and Yoichiro Iwakura。DCIR: A new therapeutic target for autoimmune disorders. 第 40 回日本免疫学会総会・学術集会、幕張、2011 年 11 月 27-29 日 (ポスター発表)

〔図書〕(計 1 件)

1. 炎症性サイトカインと骨破壊。
海部知則、岩倉洋一郎。医学のあゆみ、242(9):679-684,2012

〔産業財産権〕
該当なし

〔その他〕
<http://www.rs.tus.ac.jp/iwakuralab/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

海部 知則 (KAIFU Tomonori)
東京理科大学・生命医科学研究所・助教
研究者番号：90343037

(2) 研究分担者

岩倉 洋一郎 (IWAKURA Yoichiro)
東京理科大学・生命医科学研究所・教授
研究者番号：10089120