

令和 3 年 5 月 5 日現在

機関番号：13301

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2020

課題番号：19K17765

研究課題名（和文）多発性筋炎モデルマウスに対するSelectin阻害剤の治療効果の検討

研究課題名（英文）Consideration of the therapeutic effect of selectin inhibitor in a mouse model of polymyositis.

研究代表者

大石 京介（Oishi, Kyosuke）

金沢大学・医学系・協力研究員

研究者番号：60735398

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,600,000円

研究成果の概要（和文）：我々の以前の研究で多発性筋炎の重症化に接着分子の一つであるL-selectinが関与する可能性が示唆された。本研究は、多発性筋炎のモデルマウスであるCIMに対し、selectinの阻害剤であるBimosiamoseを投与することにより、同分子が多発性筋炎の治療の標的となり得るかどうか検討するものである。現在、Bimosiamoseの投与量、投与スケジュールなどを検討している段階である。投与量、スケジュール等が決定すればCIMに投与を行い、筋炎の重症度を比較する予定である。

研究成果の学術的意義や社会的意義

多発性筋炎は四肢の近位筋優位に筋炎を生じる自己免疫疾患であり、その病態の機序には不明な点が残っている。現在、本疾患の治療の中心は副腎皮質ステロイドや免疫抑制剤であるが、治療に難渋することも少なくない。そこで、多発性筋炎に対する新たな治療の標的が模索されている状況である。本研究では多発性筋炎モデルマウスにselectinの阻害剤を投与することにより、L-selectinが多発性筋炎の治療標的になりうるかどうか明らかになるものと思われる。

研究成果の概要（英文）：Our previous study revealed the possibility that L-selectin, one of the adhesion molecule, involve in severity of polymyositis. This study can reveal whether the L-selectin could be the therapeutic target for polymyositis by administration of bimosiamose, a one of the selectin inhibitor, to mouse model of polymyositis. We are considering about dosage, duration, and frequency of bimosiamose. When we make a decision about these points, we administrate bimosiamose to mouse model of polymyositis, and make a comparison of severity of myositis.

研究分野：皮膚科学

キーワード：多発性筋炎 L-selectin

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

多発性筋炎は自己免疫性の慢性炎症性疾患であり、四肢の近位筋を中心に筋炎を生じる疾患である。本疾患の病態は不明な点が多いが、CD8 陽性 T 細胞が重要な役割を果たすことが報告されている。近年、マウスの骨格筋の架橋蛋白である C protein を免疫することにより筋炎を惹起する C protein-induced myositis (CIM)モデルが開発された。このモデルでは主に CD8 陽性 T 細胞が筋に浸潤するため、従来の筋炎モデルマウスに比してより多発性筋炎に近いモデルと考えられている。申請者らの以前の研究で L-selectin が CIM の惹起に重要な役割を果たすことが証明され、多発性筋炎の治療の標的となる可能性が示唆された。

### 2. 研究の目的

本研究の目的は、実際に selectin の阻害剤を CIM マウスに投与し、同分子が多発性筋炎の治療の標的となり得るかどうかを検討する。

### 3. 研究の方法

今回、申請者らは野生型マウスを用いて CIM を惹起したのち、L-selectin の阻害剤である bimosiamose を投与し、コントロール群との筋炎の重症度の比較を行い、L-selectin が CIM の治療における標的となり得るかどうかについて検討する。方法は以下のとおりである。

#### (1) CIM の惹起

マウスは C57BL/6 をバックグラウンドに持つ、8~10 週齢のメスを用いる。マウスの骨格筋のミオシン架橋蛋白質である C protein および complete adjuvant をマウスの背部 2 か所・両下肢 1 か所ずつの皮内 (計 4 か所) に各々 50  $\mu$ l ずつ免疫し、さらに Phosphate buffered saline (PBS) に溶解した百日咳毒素を腹腔内投与することにより CIM を惹起する。筋炎は免疫後 7 日目頃から生じ、14 日目頃に最も重症化する。その後徐々に改善し、免疫後約 70 日目には筋炎はほぼ消失する。

#### (2) CIM の重症度の評価・比較 (組織学的評価)

C protein の免疫後 14 日目でマウスの両側大腿四頭筋・屈筋を採取し、組織学的な評価を行う。まず H-E 染色で筋組織内の炎症細胞浸潤の程度を評価し、筋炎のスコアリングを行う。筋炎のスコアは細胞浸潤のある線維の数や、筋膜への細胞浸潤の程度によって grade 1 から 4 まで分類される。大腿四頭筋と大腿屈筋のスコアの平均値がそのマウスの筋炎スコアとなる。さらに、面積計測ソフトを用いて、筋炎を起こし、壊死している部分の面積の測定・比較を行う。また、免疫染色によって CIM の筋組織内に浸潤している CD4 陽性 T リンパ球、CD8 陽性 T リンパ球、マクロファージ、好中球といった炎症細胞の計数を行い、比較する。bimosiamose の投与時期、期間、投与量等を組み合わせて複数のプロトコルを作成し、治療群とコントロール群での筋炎の重症度を比較する。筋炎の重症度で有意差がみられた場合には、どのプロトコルで最も有意な差が得られたかを検討する。

### (3) CIMの重症度の評価・比較（筋組織内のサイトカインの比較）

CIMの筋組織のReal-time reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR)により炎症性サイトカイン(IL-1、IL-6、IL-12、Interferon (IFN)-、TNF-、Monocyte chemoattractant protein (MCP)-1)、抗炎症性サイトカイン(IL-10)の測定・比較をする。こちらでもbimosiamoseの投与時期、期間、投与量等を組み合わせて複数のプロトコールを作成し、治療群とコントロール群でのサイトカインの量を比較する。サイトカインの量で有意差がみられた場合には、どのプロトコールで最も有意な差が得られたかを検討する。また、rotarod testといわれるマウスの運動機能を評価する実験も行い運動負荷への忍容性を評価する。

#### 4. 研究成果

現在はselectinの阻害剤であるbimosiamoseの投与量、投与スケジュールなどを検討している段階である。

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
--	---------------------------	-----------------------	----

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
---------	---------