

アレルギーモデルマウス

アトピー性皮膚炎モデル

- 自然発症アトピー性皮膚炎モデル (NC/Nga マウス)
- ハプテン誘発アトピー性皮膚炎モデル (NC/NgaSlc マウス)

その他アレルギーモデル

- イミキモド誘発性乾癬モデルマウス
- ダニ抗原誘発性喘息モデルマウス

バイオテクニカルセンター

受託試験サービス
アレルギー領域 カタログ



Contents

アトピー性皮膚炎モデルのご案内

自然発症アトピー性皮膚炎モデル (NC/Ngaマウス)
ハプテン誘発アトピー性皮膚炎モデル (NC/NgaSlcマウス)

アトピー性皮膚炎モデルマウス 1

NCマウスを用いた受託試験サービスのご案内※ 2-3

※専門家によるコンサルティングサービスが可能です。

その他アレルギーモデルのご案内

イミキモド誘発性乾癬モデルマウス 4

ダニ抗原誘発性喘息モデルマウス 5

Facility

所在地：静岡県浜松市

動物福祉認証：AAALAC International 完全認証



バイオテクニカルセンター（略称：BTセンター）

アトピー性皮膚炎モデルマウス

はじめに

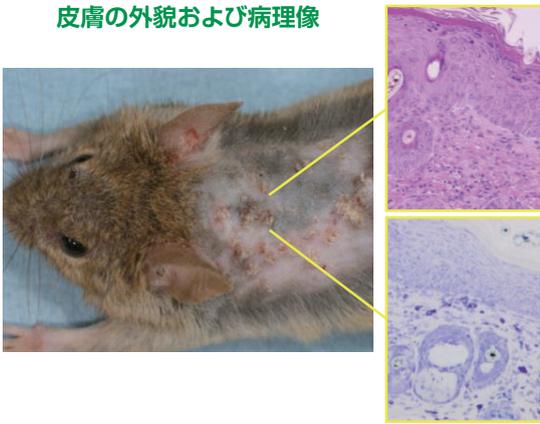
アトピー性皮膚炎は激しい痒みを伴う炎症性皮膚疾患で、増悪と寛解を繰り返す慢性疾患です。アトピー性皮膚炎患者の多くは、いわゆる「アトピー素因」を持っています。アトピー素因とは、家族歴、既往歴（気管支喘息、アレルギー性鼻炎、アレルギー性結膜炎、アトピー性皮膚炎のいずれか、あるいは複数をもつ）、IgE 抗体を産生しやすい体質といった特徴とされています。

アトピー性皮膚炎では、アトピー素因に加えて、皮膚のバリア機能異常、刺激物との物理的接触、アレルゲンの暴露、皮膚の感染、精神的ストレス、食物、飲酒などの要因が複雑に関わってその病態を形成します。このアトピー性皮膚炎の基礎研究および治療薬開発研究に使われるモデルマウスをご紹介します。

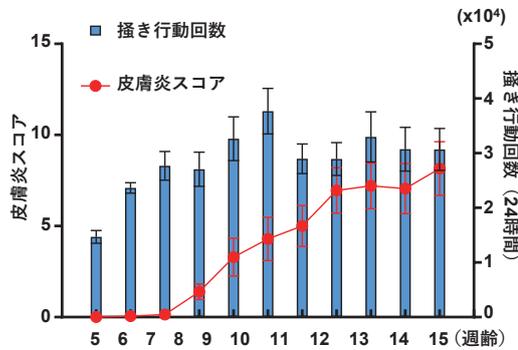
NC/Ngaマウスを用いた自然発症アトピー性皮膚炎モデル

愛玩ネズミであるニシキネズミを由来とする NC/Nga マウスは 1957 年に名古屋大学近藤らによって純系化され、1997 年に松田らによってヒトのアトピー性皮膚炎様症状を自然発症するモデルであると報告された。ハツカネズミクモチダニ (*Myobia musculi*) を寄生させて生産している NC/Nga マウス (弊社生産) は、6~7 週齢頃より耳介、顔面、背部を中心に痒みを伴う皮膚炎を発症する。皮膚炎の重症化に伴い、血清中総 IgE 抗体、掻き行動回数、皮膚の水分蒸散量が増加する。病変部皮膚では表皮肥厚、好酸球浸潤、肥満細胞の増加などの病理所見や、痒みを伝える神経の伸長に関わる NGF の増加も認められる。

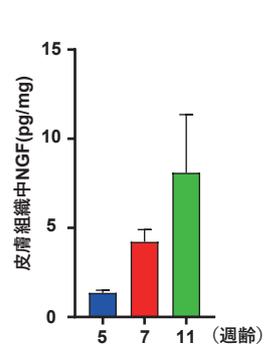
皮膚の外観および病理像



皮膚症状の経時変化



皮膚中のNGFの経時変化

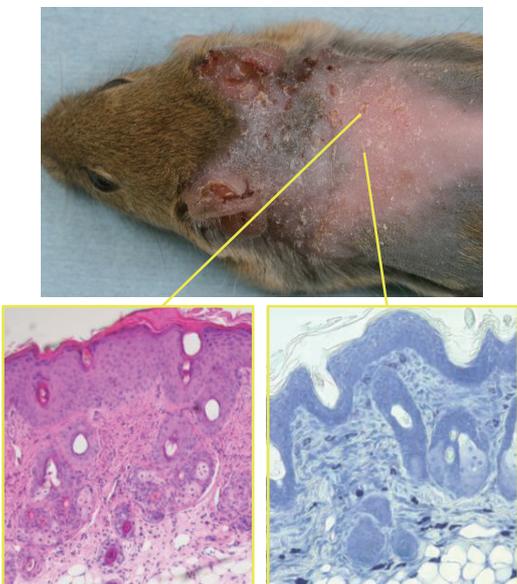


弊社では、本マウスを名古屋大学より導入し生産・供給しております。

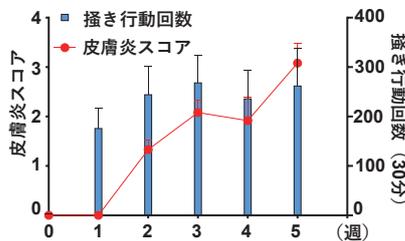
NC/NgaSlcマウスを用いたハプテン誘発アトピー性皮膚炎モデル

SPF グレードである NC/NgaSlc マウス (ダニ寄生なし) は皮膚症状を自然発症しないが、2,4-トリレンジイソシアネート (TDI) などのハプテンの経皮投与によって SPF 環境下でもアトピー性皮膚炎様症状を誘導できる。1 週に 1 回の TDI 塗布に伴い皮膚の肥厚、発赤、痂皮形成などの皮膚症状が観察されるようになり、皮膚炎スコア、掻き行動回数、経表皮水分蒸散量が増加する。病変部皮膚における表皮肥厚、好酸球浸潤、肥満細胞の増加などの病理所見、血清中総 IgE 増加 (データ省略)、リンパおよび皮膚の Th2 サイトカインおよびケモカイン産生亢進などヒトのアトピー性皮膚炎に類似する特徴が認められる。

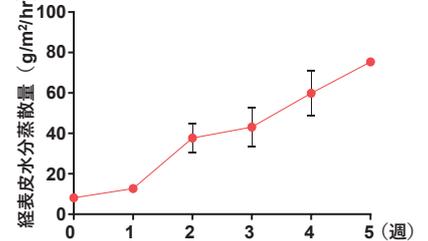
皮膚の外観および病理像



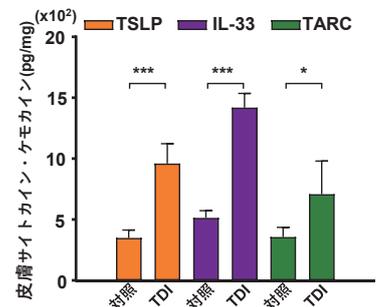
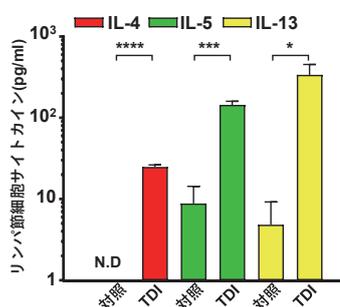
皮膚症状の経時変化



経表皮水分蒸散量の経時変化



リンパ節細胞・皮膚サイトカインおよびケモカイン産生

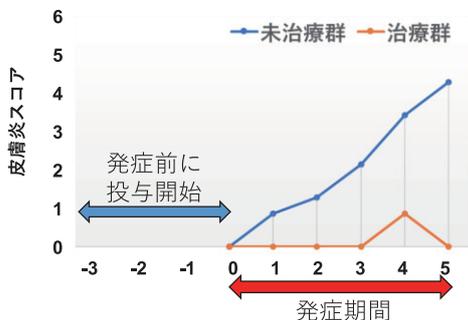


麻布大学 獣医薬理学研究室 福山先生よりご提供

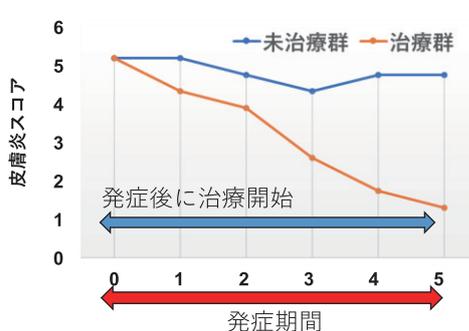
NCマウスを用いた受託試験サービスのご案内

弊社では、NC マウスを用いた薬効評価試験を承っております。アトピー性皮膚炎に対する効果が期待される薬剤や機能性食品素材（乳酸菌、植物由来成分など）などの予防あるいは治療効果、痒みに対する薬効を評価します。

予防効果の評価



治療効果の評価



評価項目

皮膚炎スコア、掻き行動回数、経表皮水分蒸散量、耳介・皮膚厚、血清中 IgE 抗体濃度、リンパ節細胞サイトカイン産生、病理組織学的検査など

その他の項目についてはお問い合わせ下さい。

試験委託のご相談など

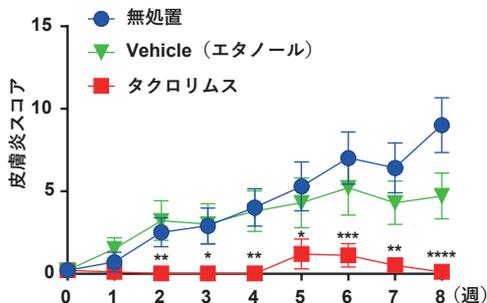
モデルマウスを用いた受託試験のご質問、ご相談を受け付けておりますので、お気軽にお問い合わせください。

お問い合わせ先 日本エスエルシー株式会社 バイオテクニカルセンター ☎053-437-5348 ✉info@jslc.co.jp

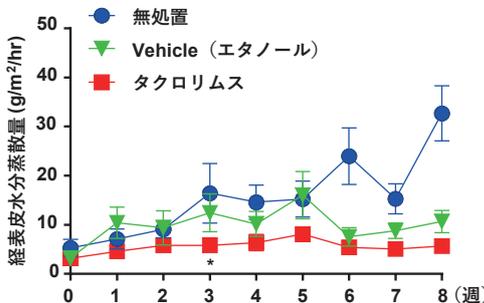
NC/Ngaマウス自然発症アトピー性皮膚炎モデルを用いた予防効果検討の実施例

ハツカネズミケモチダニを付着した NC/Nga マウスに対して 0.1% タクロリムス（1日1回）を塗布して、皮膚炎スコア、掻き行動回数、経表皮水分蒸散量を観察し皮膚症状発症に対する予防効果を評価した。

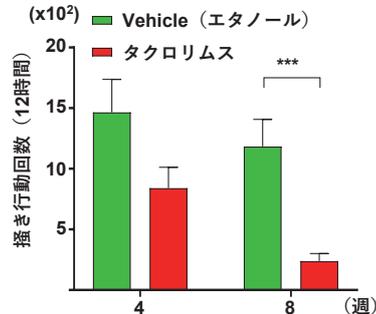
皮膚症状の経時変化



経表皮水分蒸散量の経時変化



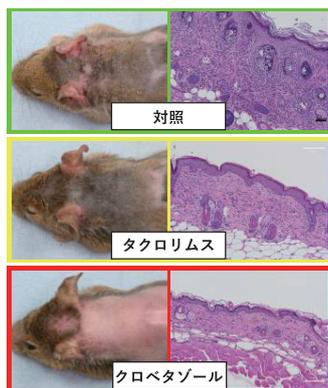
掻き行動の経時変化



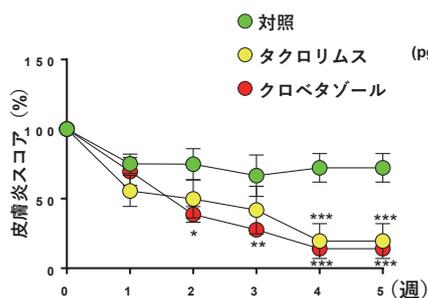
NC/NgaSlcマウスハプテン誘発アトピー性皮膚炎モデルを用いた治療効果検討の実施例

TDI 塗布によってアトピー性皮膚炎様症状を発症した NC/NgaSlc マウスをタクロリムス軟膏、クロベタゾール軟膏で治療（1日1回）し、1週間毎に皮膚炎スコアを評価した。5週目に病理組織学的検査およびリンパ節細胞と皮膚におけるサイトカイン産生測定を行った。

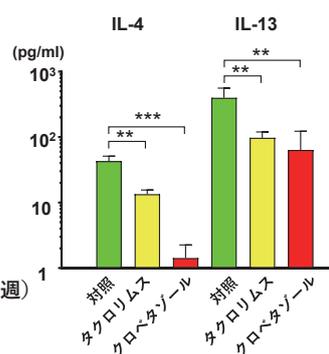
皮膚の外観および病理像



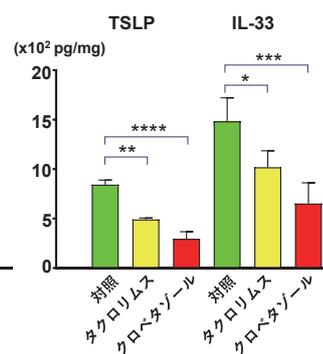
皮膚症状の経時変化



リンパ節細胞サイトカイン産生



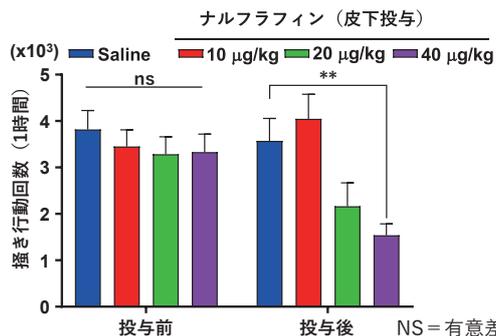
皮膚サイトカイン産生



痒みに対する薬効評価の実施例

アトピー性皮膚炎において、痒みに伴う掻き行動により症状が悪化することが知られており、痒みを抑えることはアトピー性皮膚炎治療において非常に重要となる。

痒みに対する薬効評価としてκ型オピオイド受容体作動薬であるナルフラフィンの単回皮下投与による掻き行動の抑制効果をNg/Nga マウス自然発症アトピー性皮膚炎モデルを用いて検討した。



掻き行動の評価方法

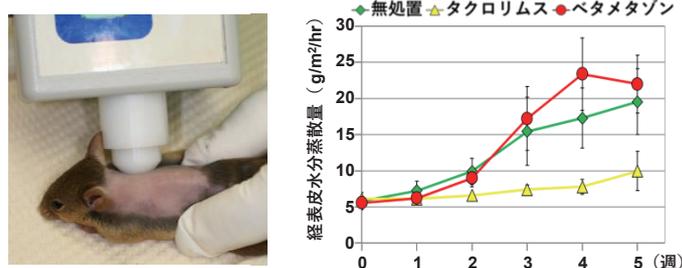
マウスの掻き行動は非常に速く肉眼で数えることは困難で、映像での評価も観察者の主観に依ってしまう問題があります。弊社では掻き行動回数の評価に掻痒測定システム (MicroAct、株式会社ニューロサイエンス) を用いております。後肢にマグネットを装着したマウスが掻き行動をすると後肢の動きに伴い磁場が変化します。掻き行動に特異的な磁場変化を計測することで掻き行動を客観的に定量化することが可能となります。最大で 16 匹の掻き行動回数を最大 24 時間モニタリングすることができます。



経表皮水分蒸散量の評価方法

正常な皮膚では角層のバリア機能によって外部からの刺激、抗原の侵入、皮膚からの水分蒸散を防いでいます。皮膚の炎症でバリア機能が低下すると、皮膚からの水分蒸散が増加します。

弊社では経表皮水分蒸散測定器 (VAPO SCAN AS-VT100RS、日本アッシュ株式会社) を用いてマウスの経表皮水分蒸散量を測定しております。経表皮水分蒸散量測定を指標にドライスキンや皮膚バリア機能に対する薬効を評価することができます。



専門家によるコンサルティングサービス

弊社のアトピー性皮膚炎モデルを用いた受託試験に付随して専門家 (福山朋季准教授、麻布大学獣医学部薬理学研究室) によるコンサルティングサービスをご提供しております。

福山先生は薬理毒性学および関連検査をご専門とされ、アレルギー領域の研究に取り組まれています。

研究開発のご相談、セールスプロモーション用データ取得、学会や論文発表など、ご要望に応じたコンサルティングをご提供いたします。

所属 麻布大学獣医学部 薬理学研究室、准教授
 経歴 東京農工大学農学部獣医学科卒業
 一般財団法人残留農薬研究所勤務
 米国ノースカロライナ州立大学獣医学部研究員
 麻布大学赴任(2018年10月～)

研究テーマ

- ①環境中物質が免疫機能に及ぼす影響評価
- ②化学物質の *in vivo* および *in vitro* 吸入毒性評価
- ③ヒトや伴侶動物のアレルギー病態解明
- ④伴侶動物の歯周病機序解明
- ⑤産学連携による共同研究および開発の推進



福山 朋季先生

弊社取り扱いのアレルギー研究に関連するマウス

疾患モデル	系統	特徴
自然発症アトピー性皮膚炎モデルマウス	NC/Nga (クリーン)	ハツカネズミケモチダニ定着済みの状態で出荷 皮膚炎を自然発症
アトピー性皮膚炎モデルマウス	NC/NgaSlc (SPF)	SPF環境下では皮膚炎を自然発症しないが、ダニ抗原やハプテン塗布で皮膚炎を誘導可能
肥満細胞欠損マウス	WBB6F1/Kit-Kit ^W /Kit ^{W-v} /Slc	c-kit遺伝子の変異により肥満細胞が欠損
ヘアレスマウス	Hos:HR-1	ヘアレス、HR-AD用精製飼料の摂食によりアトピー様皮膚炎を発症

イミキモド誘発性乾癬モデルマウス

麻布大学 獣医薬理学研究室 福山先生よりご提供

はじめに

乾癬は紅斑・鱗屑及び表皮の肥厚を主徴とし、増悪と寛解を繰り返す慢性難治性皮膚疾患です。乾癬はその病態から、尋常性乾癬、乾癬性関節炎、滴状乾癬、膿疱性乾癬、乾癬性紅皮症に分類されます。欧米では人口の約2~4%の罹患率を示すのに対し、日本では罹患率は約0.1%であります。近年食事の西洋化と共に増加傾向にあります。

治療にはステロイド、ビタミンD₃外用療法、光線療法が代表的な治療法であるものの、効果が十分ではない症例が多く存在することが問題となっています。近年、IL-17 や IL-23 を標的とした生物学的製剤の投与により乾癬の皮膚症状が顕著に改善することから、乾癬病態形成におけるサイトカインネットワークの重要性が明らかとなりつつあります。

以上のことから、今回イミキモド誘発性マウス乾癬モデルについて検討しました。

最終塗布の翌日(6日目)に解剖を行い、耳介リンパ節および皮膚組織を採材し、免疫担当細胞数、サイトカイン産生量(IL-17、IL-22)および病理組織学的検査を実施しました。

結果

無処置群(Untreated)と比較し、乾癬モデル(Psoriasis)では、肉眼的に激しい皮膚炎が認められ、耳介厚ならびに搔把回数は有意に高い値を示しました(Fig. 1)。耳介リンパ節中のヘルパーT細胞数は、乾癬モデルでは無処置群と比較し有意に高値を示し、サイトカイン産生量(IL-17, IL-22)も有意に上昇しました(Fig. 2)。病理組織学的検査において、乾癬モデルでは表皮の肥厚、表皮ならびに真皮への炎症細胞浸潤が認められました(Fig. 3)。

イミキモド誘発性乾癬モデルの作出および評価系

尖形コンジローマに対する外用薬として使用されるイミキモドを用いて乾癬モデルを作製しました。8週齢の雌性BALB/cCrSlcマウスを用いて、5%イミキモドクリーム(持田製薬)の背部および耳介部へ感作および惹起させました(5日間連続塗布)。炎症反応は惹起前と惹起24時間後の耳介の厚さを比較することにより評価しました。さらに乾癬には強い痒みが伴うため、最終惹起直後の搔把行動を1時間測定しました。

おわりに

BALB/cCrSlcマウスを用いて乾癬モデルを作製した結果、ヒト乾癬患者と類似した病態形成を呈することが示されました。本モデルは試薬を入手しやすく、実験系が比較的簡便であることから、乾癬の病態解明ならびに治療薬の開発に広く利用されることが期待されます。

参考文献 Iwano *et al. J Appl Toxl.* 2020. doi:10.1002/jat.3988.

Fig. 1 臨床症状

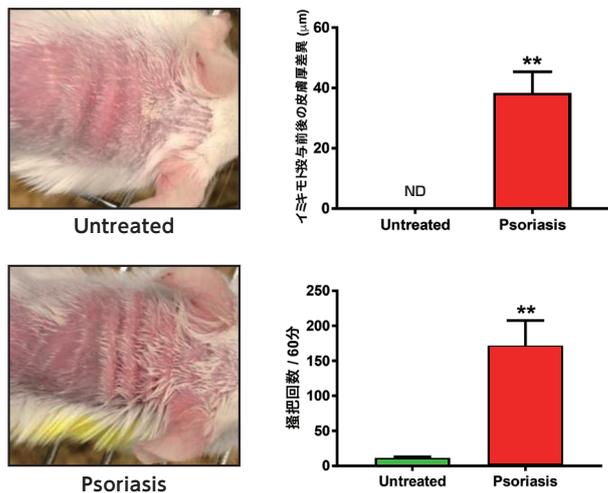


Fig. 2 ヘルパーT細胞数とサイトカイン産生量(耳介リンパ節)

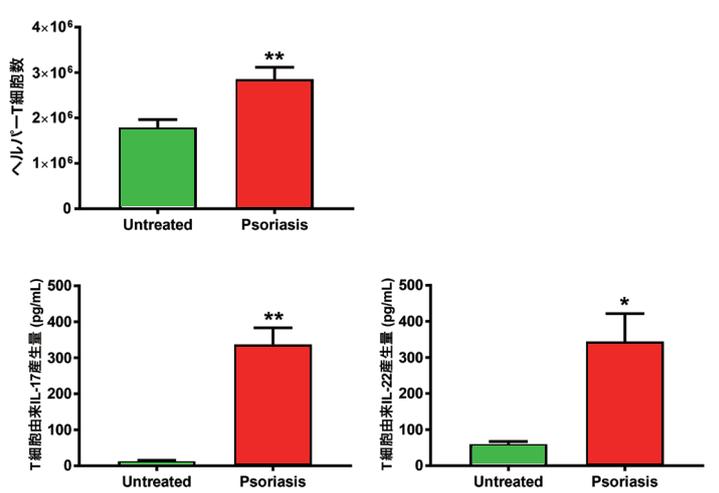
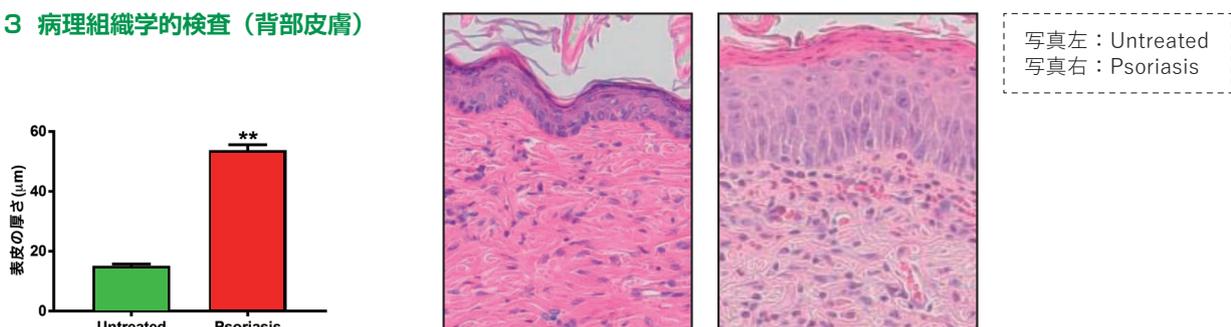


Fig. 3 病理組織学的検査(背部皮膚)



各群6匹、ND=検出感度以下

ダニ抗原誘発性喘息モデルマウス

麻布大学 獣医薬理学研究室 福山先生よりご提供

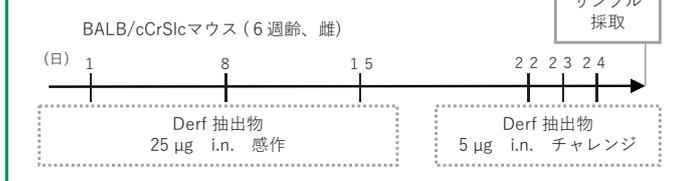
はじめに

気管支喘息の基本病態は、気道の慢性アレルギー性炎症であり、炎症細胞の浸潤、粘液の過剰産生ならびに気道の過敏性の亢進を特徴とします。吸入ステロイド薬を主体とした抗炎症療法は、喘息症状のコントロールを可能にするものの、副作用などの課題や限界も明らかになりつつあります。一方、分子レベルでの病態が解明されることで、より安全で効果的な治療薬の研究開発が行われています。喘息モデルの中でも抗原誘発性喘息モデルは、外来抗原の吸入により好酸球浸潤を伴う気道炎症が誘導され、ヒト気管支喘息と多くの特徴が類似しています。ダニ抗原はアトピー性喘息の主な原因因子として広く認知されていることから、今回ダニ抗原誘発の喘息モデルマウスについて検討しました。

抗原誘発性喘息モデルの作出および評価系

マウスは Th2 型の免疫応答を誘導しやすい BALB/cCrSlc マウス (6 週齢、雌) を使用し、ダニ抗原としてダニ (Derf, *Dermatophagoides farinae* 抽出物 (免疫用) (コード: 10108, ITEA 株式会社) を用いて喘息モデルを作製しました。ダニ抗原を総タンパク量として 25 μ g を 1 週毎 (1, 8 および 15 日目) に 3 回経鼻投与した後、22 ~ 24 日に総タンパク量として 5 μ g を経鼻投与しました。最後の経鼻投与から 24 時間後に、気管支肺胞洗浄液 (BALF)、肺門リンパ節の免疫担当細胞数およびサイトカイン産生ならびに肺の病理組織を評価しました。

Fig. 1 実験スケジュール



結果

Derf 投与群では、BALF 中の好中球、好酸球、マクロファージは有意な増多を示しました (Fig. 2)。肺門リンパ節における免疫担当細胞数 (樹状細胞、ヘルパー T 細胞、IgE 陽性 B 細胞) ならびにサイトカイン産生量 (IL-4、IL-5、IL-13) は、Derf 投与群では有意な増加がみられました (Fig. 3)。病理組織学的解析において、Derf 群では気管支周囲の炎症細胞浸潤 (矢頭) と気管支粘膜の杯細胞の過形成を認めました (Fig. 4)。

Fig. 2 BALF中の細胞数

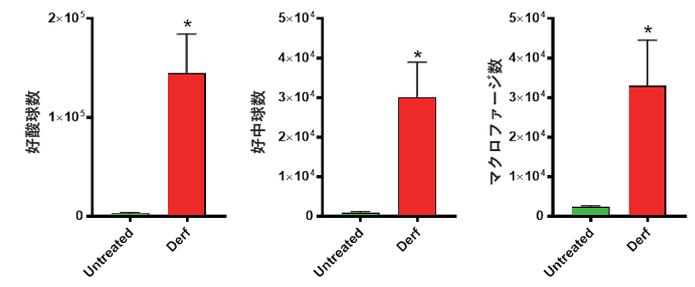
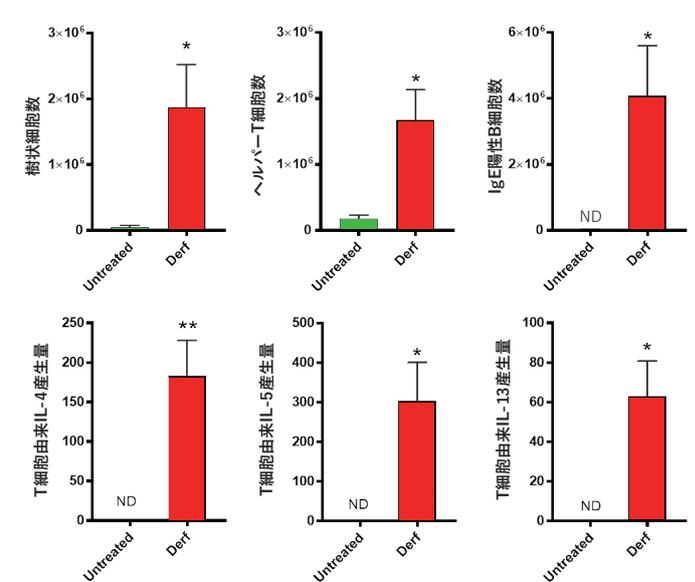
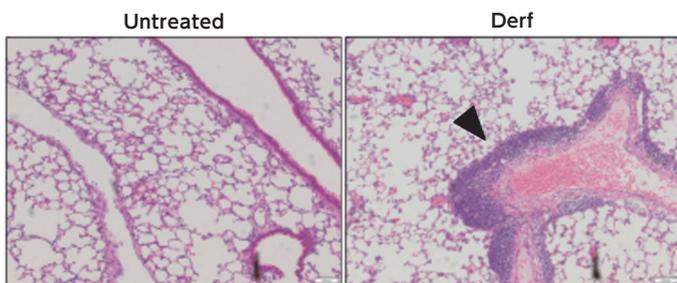


Fig. 3 肺門リンパ節中の免疫担当細胞数とサイトカイン産生量



各群 6 匹、ND=検出感度以下

Fig. 4 病理所見 (肺)



		Untreated (n=4)	Derf (n=4)
気管	粘性	0/4	4/4
	上皮の肥厚	0/4	4/4
	気管支周囲の炎症	0/4	4/4
肺胞	炎症	0/4	4/4
血管周囲	炎症	0/4	4/4
被膜下	炎症	0/4	4/4

おわりに

BALB/cCrSlc マウスを用いてダニ誘発性喘息モデルを作製した結果、Th2細胞の活性化を介した炎症細胞浸潤、粘液の過剰産生など、気管支喘息に類似した病態が誘導されました。本モデルはばらつきの少ない均一な病態を示しており、気管支喘息の病態解明ならびに治療薬の開発に広く利用されることが期待されます。



日本エスエルシー株式会社
Japan **SLC**, Inc.

<http://www.jslc.co.jp>

■ バイオテクニカルセンター (略称: BTセンター)
〒433-8114 静岡県浜松市中区葵東三丁目5番1号
TEL : 053-437-5348 FAX : 053-436-4320
E-mail : info@jslc.co.jp

■ 本社
〒431-1103 静岡県浜松市西区湖東町3371番地の8
TEL : 053-486-3178 FAX : 053-486-3156