

分担研究者報告書

抗リン脂質抗体症候群における抗プロトロンビン抗体-B細胞エпитープと機能

分担研究者： 住田孝之
(筑波大学臨床医学系内科)

研究要旨

本研究では、抗リン脂質抗体症候群の病因として重要な自己抗体の一つである抗プロトロンビン抗体において、その産生の分子機構と機能を解明し、抗原特異的な治療の可能性を追究することを目的とした。その結果、以下を事を明らかにしてきた。1)抗プロトロンビン抗体の測定方法を確立した。2)プロトロンビンの二つのフラグメント (fragment-1 と prethrombin-1) を用いて抗プロトロンビン抗体が認識する抗原 (B 細胞エピトープ) を解析したところ、それぞれのフラグメントに B 細胞エピトープが存在していた。3)抗リン脂質抗体症候群患者では、fragment-1 あるいは prethrombin-1 のどちらかに対する抗体が存在していた。4) 妊娠中毒症と流産患者には、抗プロトロンビン抗体の陽性率が高く、さらに、妊娠中毒症と fragment-1 抗体、流産患者と prethrombin-1 抗体との関連が強く示唆された。5) 5種類のリコンビナント欠損蛋白を作成して B 細胞エピトープについて検討した結果、prethrombin-1 上の B 細胞エピトープは AA272-622 に存在している事が判明した。以上より、プロトロンビンの B 細胞エピトープの解析により抗体機能の予測、特異的制御の可能性が示された。

A. 研究目的

全身性エリテマトーデス (SLE) における難治性病態の一つとして、抗リン脂質抗体症候群が知られている。抗リン脂質抗体症候群 (APS) の発症には、抗カルジオリピン抗体の他に抗プロトロンビン抗体が関与していることが最近注目されてきた。そこで、抗プロトロンビン抗体による抗リン脂質抗体症候群の発症機構を明らかにするために、抗プロトロンビン抗体の測定方法を確立し、抗プロトロンビン抗体が認識している B 細胞エピトープをアミノ酸レベルで解析し、さらに、抗体の機能について解析することを目的とした。自己抗体が認識する抗原を分子レベルで明らかにすることができれば、自己抗体産

生の分子機構を解明することができるとともに、B 細胞エピトープを介した抗プロトロンビン抗体の特異的除去が期待される。さらに、抗体の B 細胞エピトープと抗体の機能が強く関連している場合、B 細胞エピトープ解析から病態の予測が可能になると考えられる。すなわち、この研究成果から、難病である自己免疫病の早期診断、新しい治療指針、予後予測が期待される。

B. 研究方法・結論・考察

(1)抗プロトロンビン抗体の測定方法の確立 (図 1)

溶液としては、Tween-20 の有無の PBS

あるいは TBS の 4 種類、プレートとしては、非照射あるいは g 線照射したプレートの 2 種類、合計 8 種類の条件で抗プロトロンビン抗体のプロトロンビンへの結合活性を ELISA 法で検定した。50 名の SLE 患者由来の血漿を対象として、条件検定をおこなった。その結果、g 線照射したプレートを用いて Tween-20 加溶液が抗プロトロンビン抗体測定に最も適していることが判明し、9 名の SLE 患者(18%)で抗プロトロンビン抗体が陽性であった。一方、正常人における陽性率は 3.3%であった。プレートにコートする至適抗原量については、容量依存曲線より 10mg/ml と設定した。抗原特異性については、プロトロンビンを含む PS/PC リポゾームによる抗体の吸収実験により検討した。その後の抗プロトロンビン抗体の測定にはこのシステムを使用した。

(2)抗 fragment-1 抗体と抗 prethrombin-1 抗体 (図 2)

精製したプロトロンビンをトロンビンで処理し、リン脂質と結合能をもつ N 末側の fragment-1 と触媒作用をもつ C 末側の prethrombin-1 とを分離精製した。抗プロトロンビン抗体陽性の 13 例の SLE あるいは APS 患者由来血漿を対象として、それぞれの抗原に対する抗体価を ELISA 法で測定した。その結果、8 例に抗 fragment-1 抗体が、5 例に抗 prethrombin-1 抗体が検出された。両方の抗原に反応する症例はみられないことから、抗プロトロンビン抗体には、抗 fragment-1 抗体と抗 prethrombin-1 抗体の 2 種類が存在する事が明らかとなった。特に、抗 prethrombin-1 抗体は抗カルジオリピン抗体が検出できない血栓症患者で認められ

る事から、血栓症との関連が示唆された (表 1)。

(3)妊娠中毒症、流産患者と抗プロトロンビン抗体 (図 3)

抗プロトロンビン抗体の機能を検討するために、28 名の妊娠中毒症、19 名の流産患者を対象として、抗プロトロンビン抗体の陽性率を検討した。その結果、妊娠中毒症では 36%(10/28)、流産では 58%(11/19)が陽性であり、正常妊娠者と比較して (8%, 3/36)優位に増加していた。さらに、抗プロトロンビン抗体陽性の妊娠中毒症では全例が抗 fragment-1 抗体であり、一方、抗プロトロンビン抗体陽性の流産では全例が抗 prethrombin-1 抗体陽性であった。以上の結果から、妊娠中毒症は抗 fragment-1 抗体と流産は抗 prethrombin-1 抗体と強い相関があることが判明した。

(4)抗プロトロンビン抗体の B 細胞エピソード解析

1) リコンビナント蛋白の作成：全長を含む 6 種類のリコンビナント蛋白 (全長、d317、d593、d942、d1059、d1458) (図 4) を作成するために、それぞれをコードした DNA を PCR で作成し、His/FLAG タグ付き発現ベクター(pcDNA3.1)に組み込み 293 細胞 (HEK)に遺伝子導入し安定なトランスフェクタントを作成した。全長のリコンビナントプロトロンビン蛋白は培養上清より His アフィニティーカラムで精製し、他のリコンビナント欠損蛋白は細胞溶出液から抗 FLAG 抗体カラムで精製した。精製蛋白は抗 His 抗体を用いた Western 法で検定した (図 5)。

2) リコンビナント欠損蛋白反応抗体の測定：上記のように作成した蛋白(10mg/ml)を

それぞれ g 線照射 96 穴ハードプレートに固相化し、患者血漿 (Tween-20 を含む TBS 試薬で 100 倍希釈) 中の結合抗体価を ELISA 法で測定した。それぞれの蛋白への結合活性から B 細胞エピトープを含む蛋白を推定した。その結果、prethrombin-1 上の B 細胞エピトープは AA272-622 に存在している事が判明した。

C. 結論

抗リン脂質抗体症候群の病因として重要である抗プロトロンビン抗体の測定方法を確立し、B 細胞エピトープと抗体機能について検討した。抗プロトロンビン抗体には抗 fragment-1 抗体と抗 prethrombin-1 抗体の 2 群が存在し、どちらかの抗体を優位に産生している。また、抗 fragment-1 抗体は妊娠中毒症と、抗 prethrombin-1 抗体は流産や血栓症と関連が強い事が判明した。このように、プロトロンビンの B 細胞エピトープと抗体機能の関係から、抗リン脂質抗体症候群の早期診断ばかりでなく、その病気の予後を予想することも可能であると考えられる。将来、プロトロンビンの B 細胞エピトープを応用した抗体除去による抗リン脂質抗体症候群の特異的治療が期待される。一方で、T 細胞が認識する抗原 (T 細胞エピトープ) がアミノ酸レベルで解析されれば、T 細胞エピトープのアナログペプチドを介した、抗プロトロンビン抗体産生の特異的制御も魅力的な治療戦略として期待されよう。

D. 参考文献

1. Akimoto, T., Akama, T., Kono, I., Yamane, K., and Sumida, T.: Detergent and antigen fragility affect the ELISA for measurement of anti-prothrombin autoantibodies. *J. Rheumatol.* 1999, 26: 580-587.

2. Akimoto, T., Akama, T., Kono, I., and Sumida, T.: Relationship between clinical features and binding domains of anti-prothrombin autoantibodies in patients with systemic lupus

erythematosus and antiphospholipid syndrome. *Lupus* 1999, 8: 761-766.

3. Akimoto, T., Akama, T., Saitoh, M., Kono, I., and Sumida, T.: Pathogenic anti-prothrombin autoantibodies in severe pre-eclampsia and abortion. submitted.

☒ 1

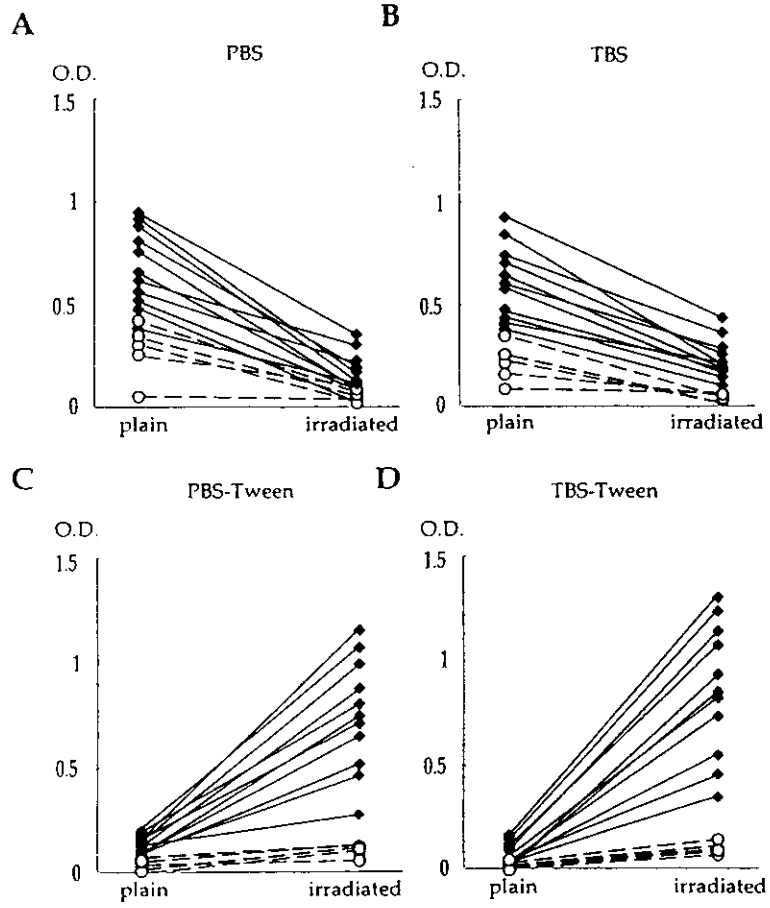
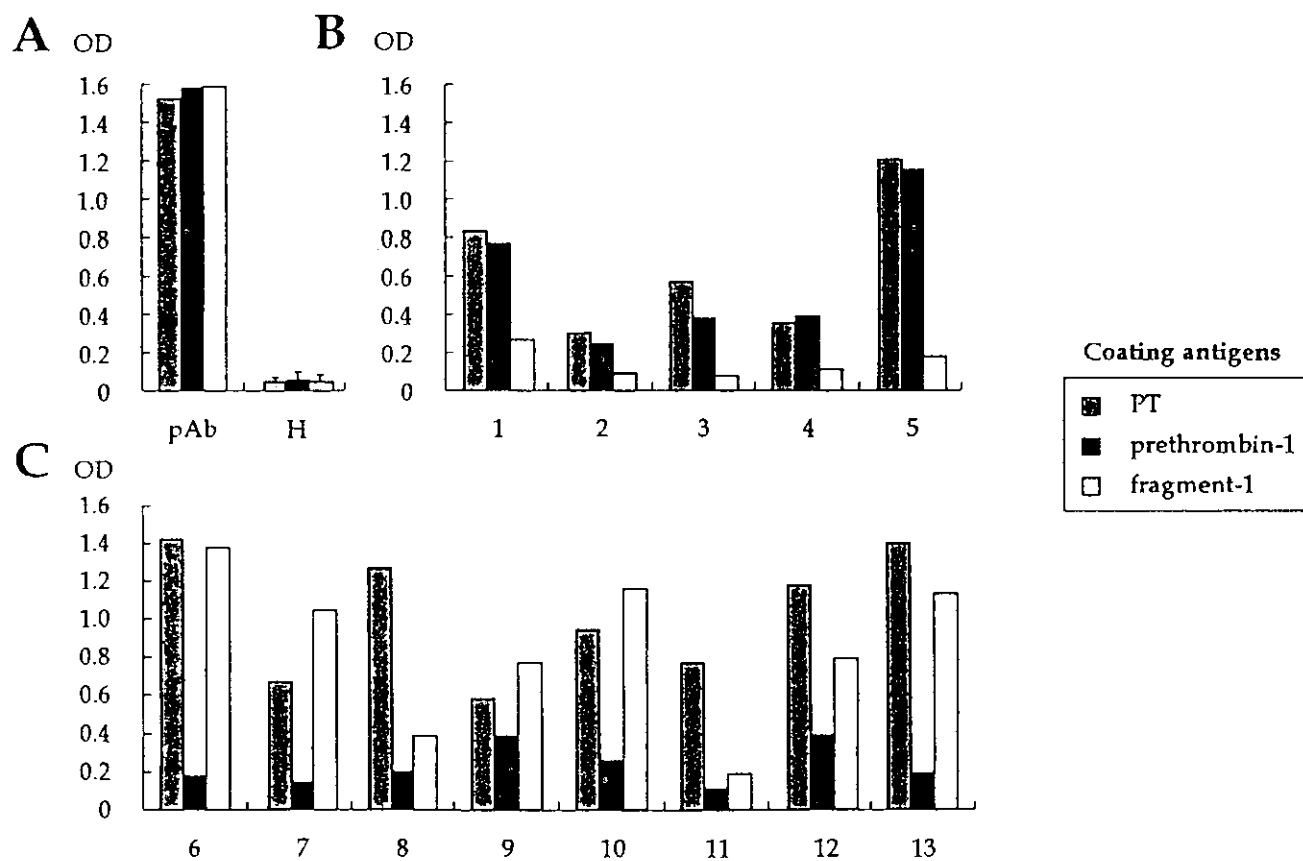
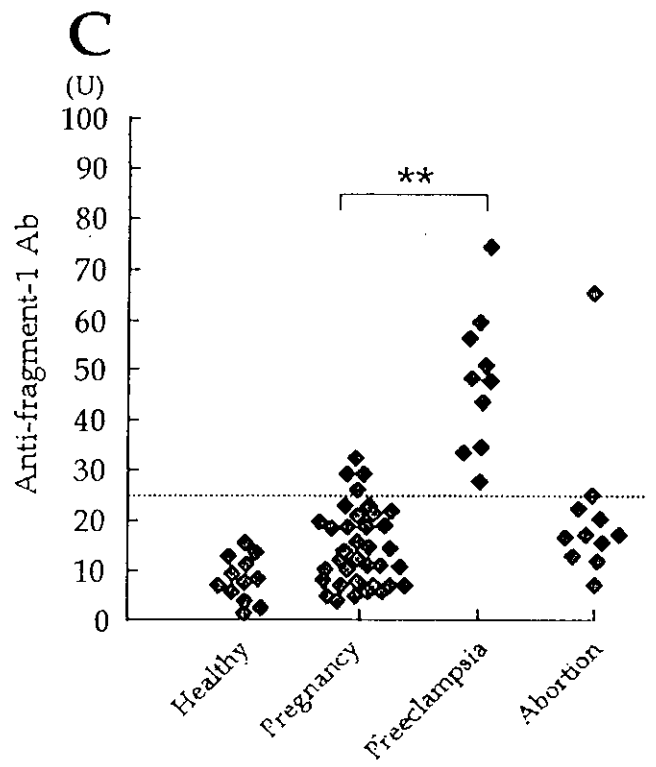
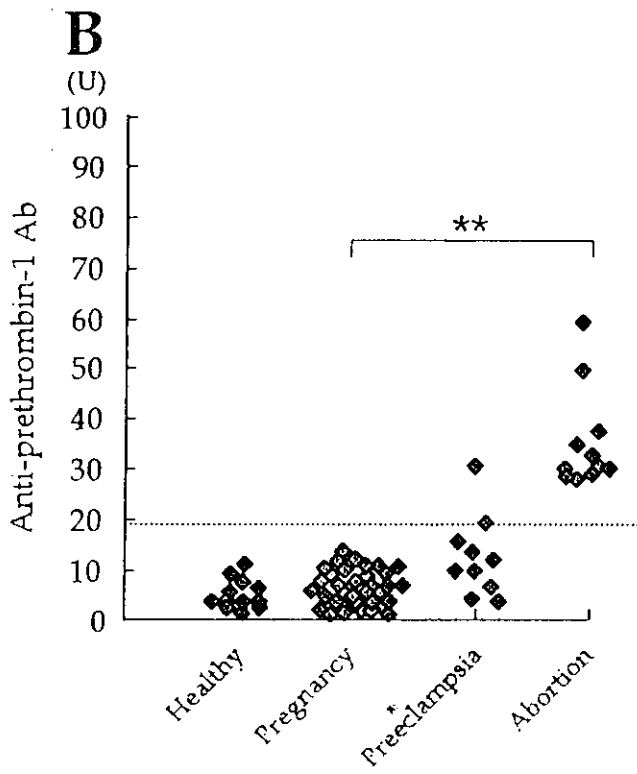
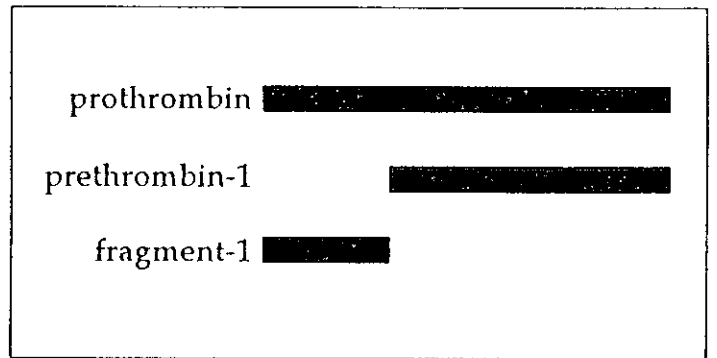
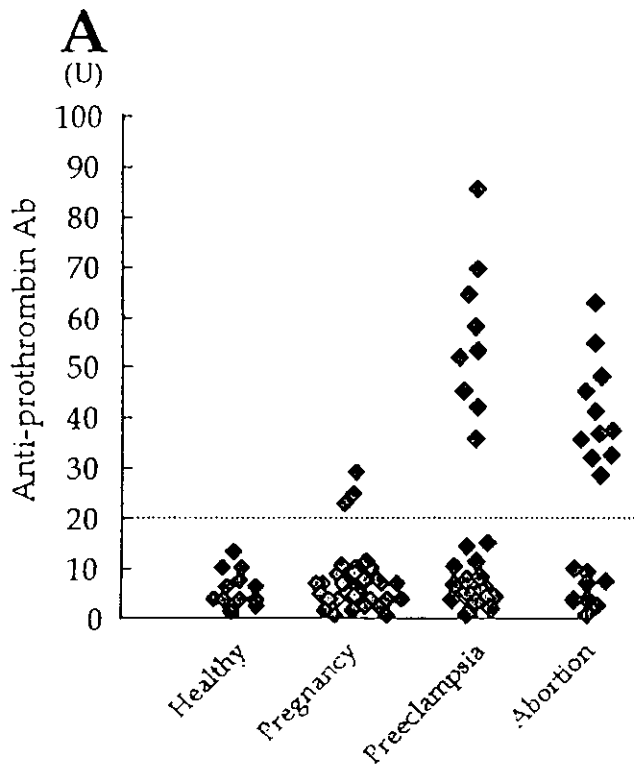
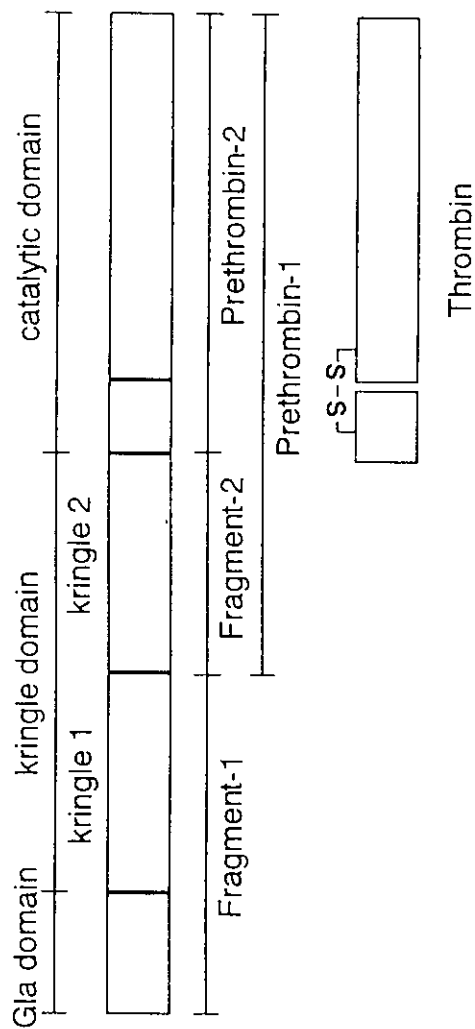


图 2

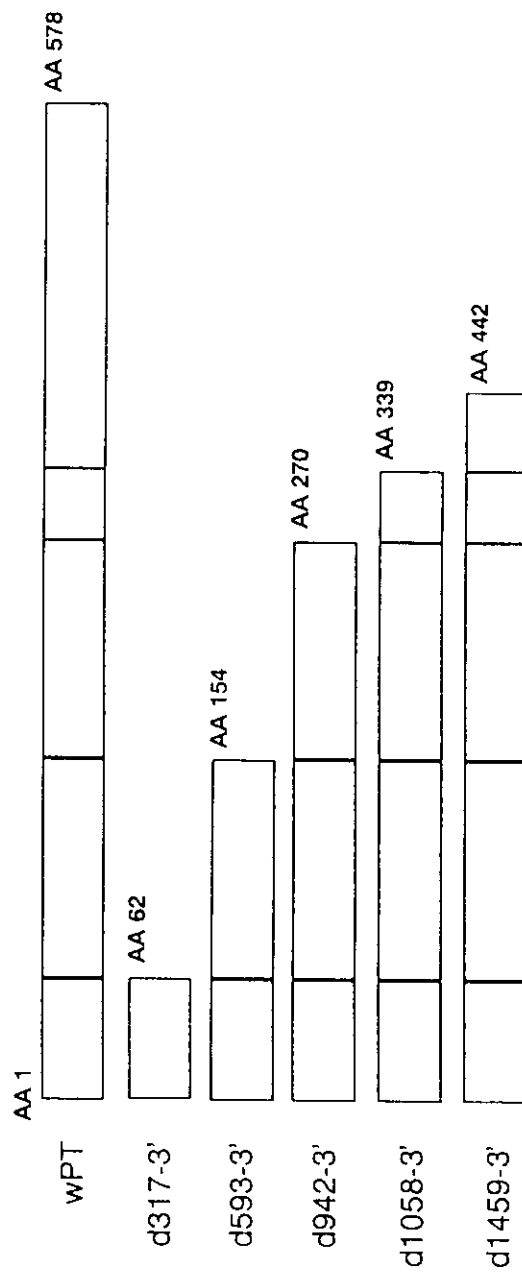


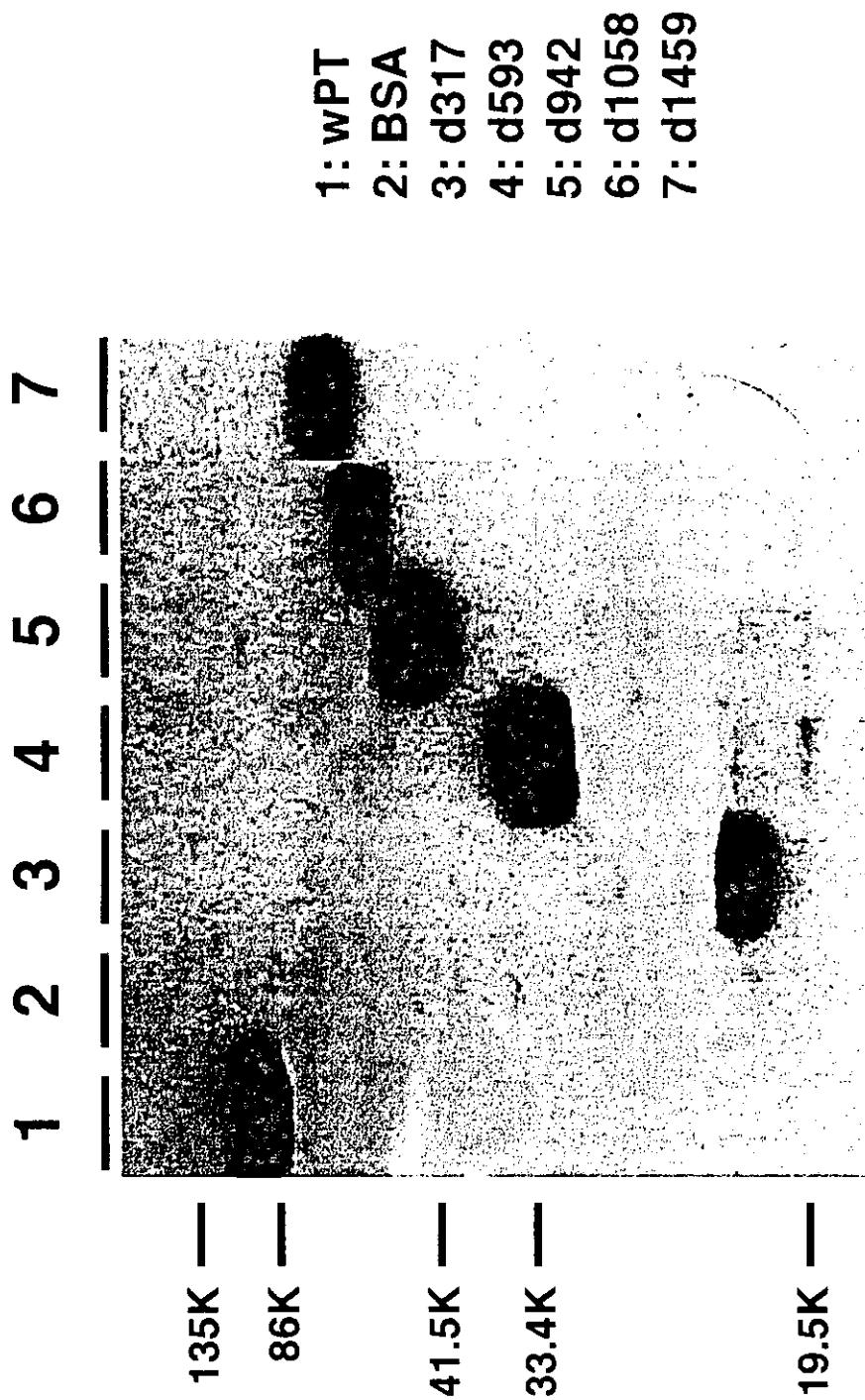


4 Structure of Human Prothrombin



Recombinant Human Prothrombin (Deletion Mutant)





5 Detected with anti-His6 mAb

<i>Patient No.</i>	<i>Sex</i>	<i>SLE</i>	<i>APS</i>	<i>LAC</i>	<i>aCL</i>	<i>Thrombosis</i>	<i>aPT</i>
1	M	-	+	+	-	+	aPre-I
2	M	-	+	ND	+	+	aPre-I
3	F	+	+	+	+	+	aPre-I
4	M	-	+	+	+	+	aPre-I
5	F	+	-	+	-	-	aPre-I
6	F	+	-	-	-	-	aF-I
7	M	+	+	-	+	+	aF-I
8	F	-	+	ND	+	+	aF-I
9	F	+	-	-	-	-	aF-I
10	F	+	-	+	-	-	aF-I
11	F	+	-	+	-	-	aF-I
12	F	+	-	ND	-	-	aF-I
13	F	+	-	ND	-	-	aF-I

表 1 SLE: systemic lupus erythematosus, APS: Antiphospholipid antibody syndrome, LAC: lupus anticoagulant, aCL: anti-cardiolipin- β_2 glycoprotein I antibody, aPT: anti-prothrombin antibodies, aPre-I: anti-prethrombin-1 antibody, aF-I: anti-fragment-1 antibody, M: male, F: female, ND: not determined.

間質性肺炎：肺胞上皮細胞の増殖因子を用いた新しい治療戦略の試み

土 肥 眞

(東京大学医学部アレルギー・リウマチ内科 助手)

研究要旨

SLE を始めとする膠原病に合併した間質性肺炎の治療戦略のひとつとして、肺への障害の早期に、肺胞上皮細胞の修復を促すことが考えられる。本研究で我々は、肺胞上皮細胞に対する増殖因子である肝細胞増殖因子(HGF)の経気管支投与が、マウスの気管支・肺胞上皮細胞に対して *in vivo* で増殖活性を示す事を確認した。この結果にもとづき、マウスのブレオマイシン惹起性肺線維症モデルを用いて、HGF の肺線維化に対する抑制効果を検討したところ、肺内コラーゲン、病理学的なスコアリングの両者の指標で、抑制効果が認められた。さらにその機序として、上皮細胞に対する増殖効果に加えて、遊走能の亢進、細胞表面線溶系の活性化が判明した。昨年度の研究結果と合わせ考えると、HGF とインターフェロン・ガンマの両者を組み合わせることが、間質性肺炎の進展を抑制する新たな治療戦略の一つとなる可能性が示唆され、今後検討を続ける事が重要であると考えられた。

A. 研究目的

SLE を始めとする膠原病に合併した間質性肺炎では、肺障害の早期に肺胞上皮細胞が障害を受け、その結果、線維芽細胞が活性化されてコラーゲンを産生し、不可逆性の線維化へと至る事が知られている。逆に、障害の初期の段階で肺胞上皮細胞の増殖を促し、上皮層の再生・修復をはかることで、引き続く線維化への進展を抑えることができる可能性がある。SLE における肺の難治性肺病態として、肺胞出血とともに、急性進行性の間質性肺炎は、予後不良の病態であり、有効な決定的治療法も未だ確立されていない。この病態は、病理学的には *diffuse alveolar damage (DAD)* である事が認められている。DAD においては、肺局所における凝固／線溶系のバ

ランスが凝固系へと傾く結果、肺胞腔内におけるフィブリンその他の析出物を排除する過程に遅延が生じ、その結果、著しい換気不全を招来する事が、臨床例ならびに動物実験での検討によって明らかにされている。肝細胞増殖因子(*Hepatocyte growth factor:HGF*) は、初代肝細胞の培養上清より単離・精製され、構造が決定された増殖因子である。これまでの知見の集積により、HGF は、肝細胞のみならず、肺、腎臓などの組織の上皮細胞に対しても増殖促進作用を示す事が明らかになって来ている。さらに、HGF は構造上、*urokinase-type plasminogen activator (u-PA)* などの線溶系の分子に特徴的な、クリングル構造を4カ所有している。この事は、HGF が細胞周囲環境の凝固／線溶系のバランスの調節に重要な役割を演じ

ている可能性を示唆しており、逆に HGF によって、凝固系へと傾いたバランスを正常に修復しうる可能性も考えられる。以上の知見に立脚すると、SLE などの膠原病に合併した間質性肺炎・肺線維症において、HGF はその多彩な作用によって病態を抑制し得る可能性がある。

昨年度の本研究で、我々は HGF のレセプター(c-Met)が、IFN- γ により up-regulation を受けることを肺胞上皮細胞の培養系で見出した。本年度の研究では、マウスのブレオマイシン線維症の実験系で、HGF の *in vivo* における抑制効果を検討し、さらにその機序について、肺胞上皮細胞の cell line を用いた *in vitro* の系で解析した。

B. 研究方法

1) マウス気道・肺胞上皮細胞の増殖に対する HGF の効果の検討

6 週令の雄 C57Bl/6 マウスを用いた。recombinant human HGF(rhHGF) 100 μ g を、マウスの気道に投与した。2, 3, 5 日後に肺を摘出し、得られた切片に proliferating cell nucleolar antigen (PCNA) 染色を実施して、増殖している上皮細胞の割合を計測した。

2) ブレオマイシン(Bleomycin) 惹起性肺傷害・肺線維症モデルにおける検討。

ブレオマイシン 0.05625 単位を生理食塩水 40 μ l に溶解し、マウスの気管内に投与した。投与 3, 6 日後に、rhHGF100 μ g を経気管支的にマウス肺内に投与した。9 日後に肺を摘出し、左肺をコラーゲン産生の指標である肺内ヒドロキシプロリン (Hydroxyproline: Hyx.P) 量の定量に用いた。右肺はホルマリン固定した後に H-E 染色を

施し、肺の線維化の程度を、病理学的に Ashcroft の基準に則りスコアリングして評価した。

3) ヒト肺胞上皮細胞遊走能に及ぼす HGF の効果の検討

ヒト肺胞上皮細胞の cell line である A549 細胞を用い、Boyden chamber を用いて同細胞の chemotaxis に及ぼす HGF の効果を検討した。

4) ヒト肺胞上皮細胞プラスミノゲン活性に対する HGF の効果の検討

A549 細胞を用い、HGF(30ng/ml)の刺激下/非刺激下に 16 時間培養した後、plasminogen を plasmin に変換する活性(u-PA 活性)を測定した。

C. 研究結果

1) rhHGF の気管内投与は、気道上皮細胞ならびに肺胞上皮細胞に対して、増殖効果を示した。最大の効果は投与後 2 日目に見られ、約 8% (気道上皮) 4% (肺胞上皮) の細胞が増殖作用を示した。

2) ブレオマイシンの気管内投与は、肺内ヒドロキシプロリンの産生を有意に抑制した(Figure 1)。

3) ブレオマイシンの気管内投与は、病理学的な線維化の指標を有意に改善した(Table 1)。

4) rhHGF は、A549 細胞に対して遊走活性を示した。肺胞上皮細胞に対する他の増殖因子である keratinocyte growth factor (KGF) は、遊走活性を示さなかった(Figure 2)。

5) rhHGF は、A549 細胞の u-PA 活性を有意に亢進させた。これに対して、KGF はこの様な作用を示さなかった(Figure 3)。

D. 考察

今年度の検討により、HGF は肺胞上皮細胞に対する増殖促進活性のみでなく、遊走能の亢進、線溶系の活性化といった多様な機序によって、ブレオマイシンにより引き起こされる肺傷害・線維化に対して抑制効果を示す事が明らかとなった。ブレオマイシンを用いたマウスモデルでは、肺胞腔内の線維化からリモデリングへと至る過程が、人における実際の間質性肺炎・線維症のプロセスと似ており、その事がこのモデルが汎用されて来た大きな理由である。しかしながら、SLE で認められる急性進行性の肺傷害のモデルとしては、その発症に免疫学的な機序の関与が明らかではないため、このモデルは必ずしも完全ではない。今後は、免疫複合体による肺炎モデルや MRL/lpr マウスなど、他の実験モデルで HGF の効果を追試・確認する事も必要であろう。同時に、免疫学的な機序の関与した肺傷害モデルの開発も、SLE における急性進行性肺傷害の病態の解析の上で有益であろう。

HGF を臨床応用に向けて展開する場合の問題点として、増殖因子である故に、過剰投与により細胞の癌化を来す可能性が考えられる。現在、肝臓疾患や腎臓疾患などで HGF を臨床応用した例での発癌の報告は無いが、長期投与を視野に入れた場合には、細心の注意が必要であろう。

近年、HGF の免疫抑制作用も明らかにされつつある。機序としては、TGF- β の活性化を通じた間接作用と、直接作用の両者の可能性が考えられる。知見の集積に伴い、免疫学的機序の関与した肺病変に対する HGF の応用に対しての新しい理論的根拠が見いだされる事が期待される。

我々の昨年度と今年度の実験結果を合わせて考えると、IFN- γ と HGF とを組み合わせる事により、より強い抗線維化作用を得られる可能性が考えられる。対象数が少数ではあるが、ヒトの肺線維症に対する IFN- γ 単独の臨床応用の報告も昨年なされている。

最近我々は、気管支喘息モデルマウスにおいて、気道反応を覚醒下非拘束条件で連続的に観察・測定するシステムを開発・報告した。さらに、このシステムが喘息モデルだけでなく、ブレオマイシンによる実験的肺障害・線維症のモデルの解析にも有用である事を明らかにしている。こうした非侵襲的なシステムを応用する事により、肺傷害・線維症の実験モデルの研究がさらに発展して行く事が今後期待される。

E. 結論

肺胞上皮細胞に対する増殖因子である HGF は、多様な機序によって、肺傷害に引き続く線維化に抑制効果を発揮する事が明らかとなった。今後は、1) 他の肺傷害モデルでの追試や、免疫学的な機序の関与した新たな動物モデルの開発、2) HGF による発癌性の検討、3) 抗線維化サイトカインである IFN- γ との協調作用の検討、などが重要な課題であると考えられた。

F. 参考文献

1. Sempowski G.D., Derdak S., and Phipps R.P.. 1996. Interleukin-4 and interferon- γ discordantly regulate collagen biosynthesis by functionally distinct lung fibroblast subsets. *J. Cell Physiol.* 167:290-296, 1996.
2. Nagahori T., Dohi M., Matsumoto K, Saitoh K, Honda Z, Nakamura T, and Yamamoto K. Interferon-gamma upregulates the c-Met/HGF receptor expression in alveolar epithelial cell.

Am J Respir Cell Mol Biol. 21:490-497, 1999.

3. Dohi M., Tsukamoto S., Nagahori T., Shinagawa K., Saitoh K., Tanaka Y., Kobayashi S., Tanaka R., To Y., and Yamamoto K.: Noninvasive system for evaluating the allergen-specific airway response in a murine model of asthma. *Labo Invest* 1999 79:1559-71.

4. Dohi M., Hasegawa T., Yamamoto K., Marshall B.C.: Hepatocyte growth factor attenuates collagen accumulation in a murine model of pulmonary fibrosis." *Am J Respir Crit Care Med*: in revision.

Table 1

NUMERIC FIBROTIC SCALE OF THE LUNG

Bleomycin/Buffer group	2.31±0.07
Bleomycin/HGF group	1.95±0.15*

線維化の強さは、Ashcroft のスコアにより評価した。

* p < 0.037

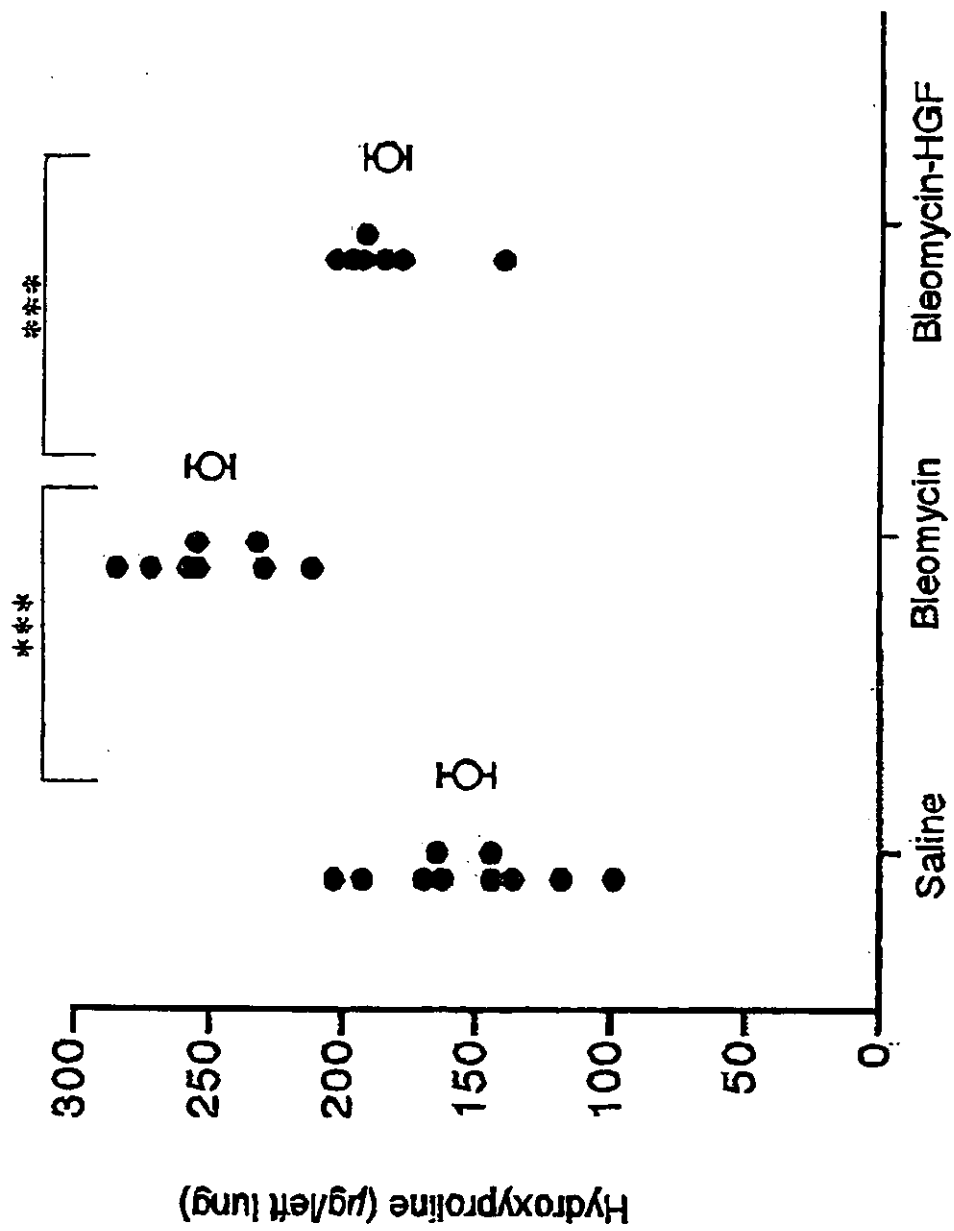


Figure 1: 肺内 hydroxyproline 量

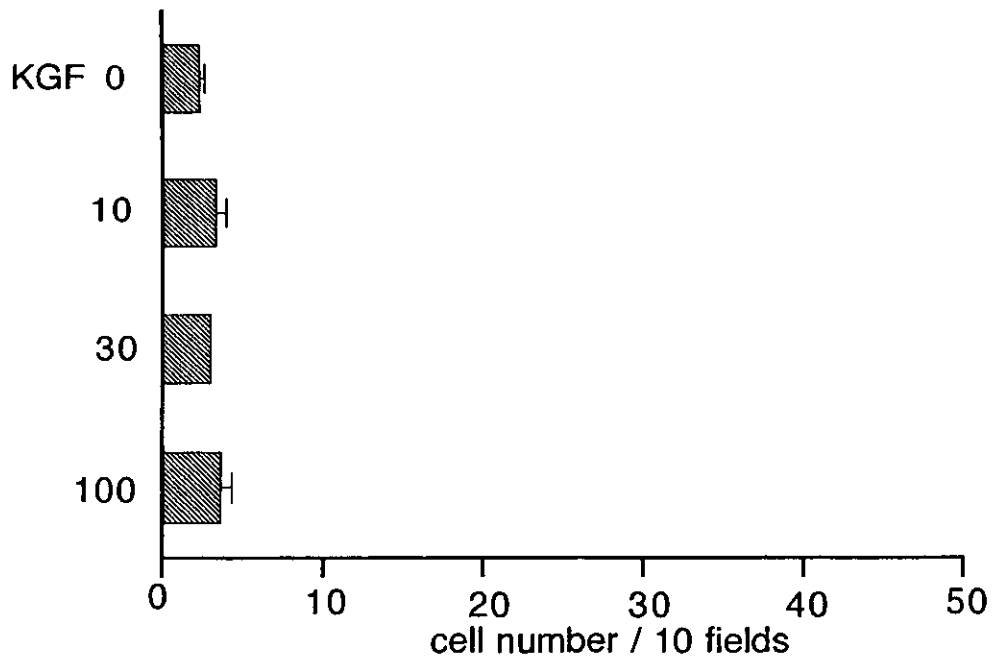
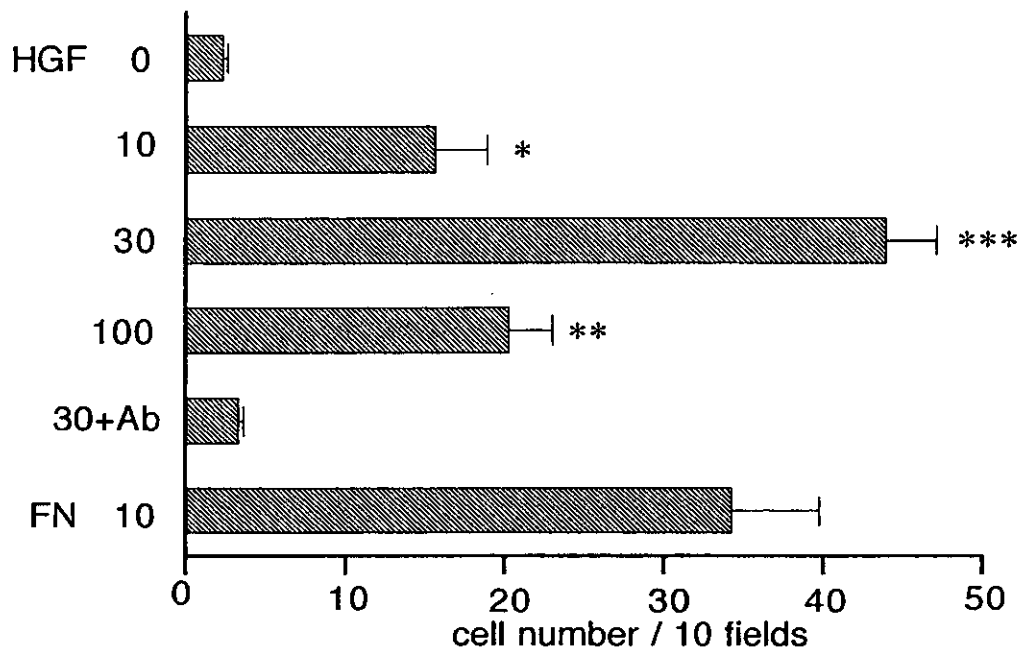


Figure 2: A549 細胞に対する HGF, KGF の効果

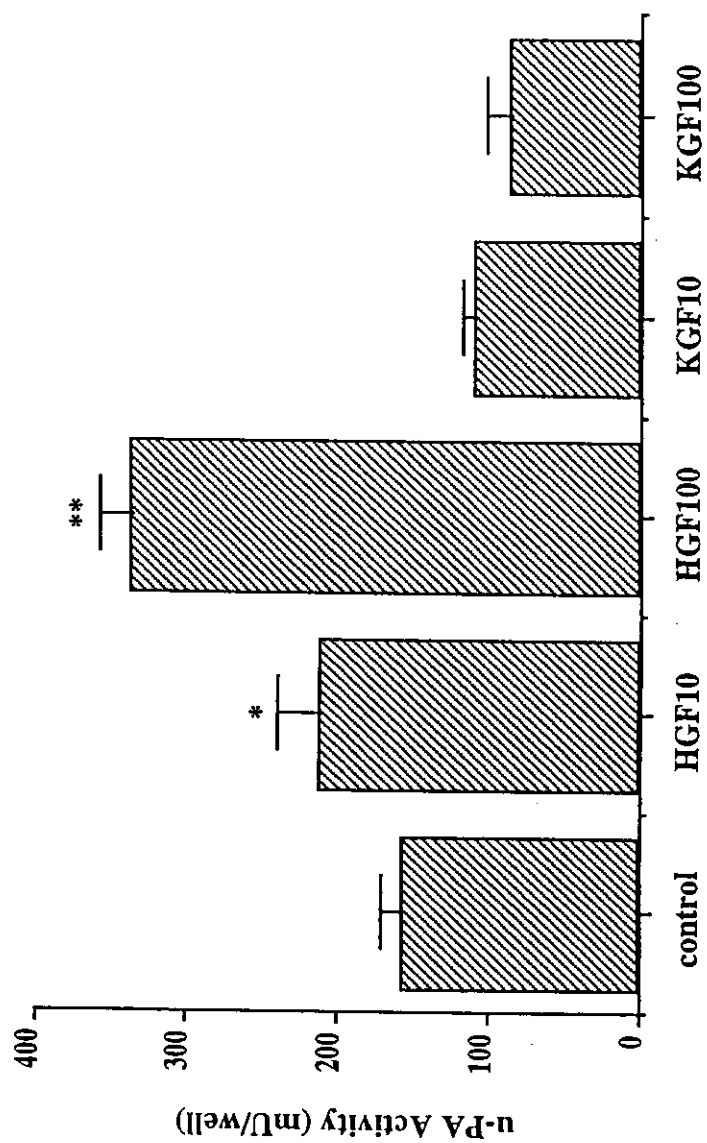


Figure 3: A549 細胞の u-PA 活性に対する HGF, KGF の効果

難治性腎炎：ループス腎炎の画像診断

研究協力者：江口 勝美
(長崎大学医学部内科学第一講座)

研究要旨

SLE における難治性病態の一つであるループス腎炎を早期に診断するため、非侵襲的検査法である MRI(核磁気共鳴映像)を使用した。設定条件を決定する目的でループス腎炎のモデルマウスである MRL/lpr マウスを使用、MRI 撮影(9T)を行った。麻酔下生存マウスにおける腎臓 MRI では、呼吸性移動、心拍のアーチファクトの影響で腎皮質病変の描出は困難であったが、腎皮質・髓質の区別はついた。マウス腎摘出後のフロリナート液中の腎臓 MRI 撮影では、組織染色のスライスに匹敵する解像度が得られた。ループス腎炎患者の腎臓 MRI 撮影(1T)においても、腎皮質・髓質の区別はついたが、腎皮質病変の詳細な描出は困難であった。その原因として、MRI 自体の解像度の問題が大きかった。T2 強調像および脂肪抑制画像において腎皮質・髓質のコントラストが良好となった。また、横断像より矢状断像や冠状断像の方が良好な画像が得られた。今後、MRI 機器の解像度の向上によりループス腎炎患者の腎病変の描出が可能となると考えられた。

A. 研究目的

私達はこれまで、シェーグレン症候群の耳下腺や涙腺の MRI 撮影において、その MRI 像が診断に有用であることを報告してきた(1,2)。シェーグレン症候群の耳下腺の MRI 像では、健常者や耳下腺炎患者に比べて、T1 強調画像において信号が不均一であり、信号強度の standard deviation(SD)値を検討すると、シェーグレン症候群患者では健常者や耳下腺炎患者に比べて、有意に高い SD 値を示した。このように、耳下腺の MRI 像のみで臨床診断が可能と考えられた。ところで、ループス腎炎の診断は、腎生検という侵襲的な方法で行われている。腎生検では、腎出血

などの副作用も少なくなく、頻回に経過をみるために施行できる検査ではない。また、腎生検を行う時期についても経験的なものにゆだねられており、SLE を発症していつすべきなのか、蛋白尿が出現したらすぐすべきなのか、判断に苦慮することが多い。実際に私達も発症間もない SLE 患者で蛋白尿も少ない時期における腎生検で、かなり進行したループス腎炎が完成、もう少し早く積極的な治療をすべきであったと反省させられた症例を経験した。この研究では、ループス腎炎の早期診断がシェーグレン症候群の耳下腺の場合と同様に MRI 撮影という非侵襲的な方法で可能か検討することを目的とした。腎臓の MRI 像は呼吸性移動があるため、現在ま

で腎腫瘍の撮影が中心であり、腎皮質病変の詳細な検討はなされていなかった。今回、ループス腎炎患者の腎臓 MRI を撮影、正常人の腎皮質と比較検討した。また、設定条件を決定する目的でループス腎炎のモデルマウスである MRL/lpr マウスを使用、MRI 撮影を行い、腎皮質部位に画像信号変化が現れるか検討した。

B. 研究方法

1) 長崎大学熱帯医学研究所施設内マウス専用 MRI 装置 (SPECTROSPIN 400, 9T, Bruker 社, 図 1) を使用して、ループス腎炎のモデルマウスである MRL/lpr マウスの腎臓 MRI 撮影を行った。マウスは、nembutal 麻酔 (60mg/kg) 後、胸郭の動きが低下した後に撮影を開始した。撮影後、腎臓を取り出し、フロリナート液に浸した状態で、もう一度 MRI 撮影を行った。MRI 撮影後、組織染色 (HE 染色) を行い、病変を確認した。

2) 腎生検直前のループス腎炎患者の腎臓 MRI を撮影した (1T, GE Yokogawa 社)。その場合、T1・T2 画像に加え脂肪抑制撮像法も行った。撮影条件として、輪状断、矢状断、および腎皮質部が最も広く入るスライスも検討した。腎生検後、組織染色 (HE 染色) を行い、病変を確認した。

C. 研究結果

1) 麻酔下生存マウスにおける腎臓 MRI では、腎皮質・髄質の区別はついたが、腎皮質病変の描出は困難であった。その原因として、呼吸性移動、心拍のアーチファクトの影響が大きかった。

2) グラディエントエコー法よりスピネコー法の方が腎の形態はわかりやすく、アーチ

ファクトは少なかったが、腎皮質内のコントラストはグラディエントエコー法の方がすぐれていた (図 2; 12 週令 MRL/lpr マウスの MRI 像)。

3) マウス腎摘出後のフロリナート中の腎臓 MRI 撮影では、MRL/lpr マウス、Balb/c マウスともに、組織染色のスライスに匹敵する解像度が得られた (図 3; フロリナート液中のマウス腎 MRI 像と組織所見)。

4) 28 週令 MRL/lpr マウスにおける組織像 (弱拡) において、腎皮質部に糸球体を確認できた。

5) ループス腎炎患者の腎臓 MRI においても、腎皮質と腎髄質の区別はついたが、腎皮質病変の描出は困難であった (図 4, 5)。その原因として、MRI 自体の解像度の問題が大きかった。

6) T2 強調像および脂肪抑制画像において腎皮質と腎髄質のコントラストが良好となった。また、横断像より矢状断像や冠状断像の方が良好な画像が得られた。

7) ループス腎炎患者の腎臓 MRI において、健常者に比べて腎皮質が薄い傾向がみられた (図 4~6)。

D. 考察

MRL/lpr マウスの腎臓 MRI 撮影においては今後設定条件のさらなる検討が必要と考えられた。長時間撮影で解像度は向上するが、マウスは死亡する可能性高く、短時間で解像度が向上する設定条件が必要である。マウス腎摘出後のフロリナート中の腎臓 MRI 撮影では、MRL/lpr マウス、Balb/c マウスともに、組織染色のスライスに匹敵する解像度が得られたこと、28 週令 MRL/lpr マウスにおける組織像 (弱拡) において、腎皮質部に糸球

体が確認できたことから、設定条件しただいでは、糸球体病変の描出も可能であると考えられる。さらに、GdDTPA 造影、腎動脈の MR Angiography (血管造影)を使用することによって、糸球体内での血管と細胞とのコントラストが付き、糸球体病変が描出できる可能性がある。また、血管自体の病変の描出も検討できる。さらに、マウス専用の表面コイルを作製することにより、さらに鮮明な画像が得られる。以上から、今後マウス専用 MRI 装置(SPECTROSPIN 400, 9T)を使用した MRL/lpr マウスの腎臓 MRI 撮影はループス腎炎患者の腎臓 MRI 撮影の設定条件を決定する目的で有用と考えられた。

ループス腎炎患者の腎臓 MRI 撮影においても、解像度を向上させる条件の検討が必要と考えられた。被験者側の検討としては、空腹時撮影、抗コリン剤投与、MRI 側の検討としては、より正確な呼吸同期、グラディエントエコー法、高速スピンエコー法を用いることにより、より鮮明でアーチファクトの少ない画像が得られると思われる。さらに、GdDTPA 造影も検討が必要であろう。今後開発され、臨床応用される高解像度の MRI 機器の使用も検討したい。

E. 結論

現在臨床で使用中の MRI は磁場強度 1T であるため、ループス腎炎患者における腎皮質病変の詳細な解析は困難であったが、MRL/lpr マウスの腎臓 MRI 撮影の検討から、今後、MRI 機器の解像度の向上によりループス腎炎患者の腎病変の描出が可能となると考えられた。

F. 参考文献

1. Izumi, M., Eguchi, K., Ohki, M., Uetani, M., Hayashi, K., Kita, M., Nagataki, S., Nakamura, T. MR Imaging of the parotid gland in sjogren's syndrome: a proposal for new diagnostic criteria. Am. J. Roentgenol. 1996, 166:1483-1487.
2. Izumi, M., Eguchi, K., Uetani, M., Nakamura, H., Takagi, Y., Hayashi, K., Nakamura, T. MR features of the lacrimal gland in Sjogren's syndrome. Am. J. Roentgenol. 1998, 170:1661-1666.