

クローン病に対する粘膜免疫分子ライブイメージングシステムの構築



大阪市立大学大学院医学研究科発達小児医学 講師 徳原 大介

【目的】

クローン病の診療システムでは、①臨床所見、②血液・便検査、③内視鏡や消化管造影などの画像検査をもとに診断・治療が行われているが、診断・治療のステップを進歩させるためには、従来の検査手法に加えて個々の罹患者の病態をダイナミックに迅速かつ詳細に把握できるシステム開発が必要であり、クローン病の病態形成に関わるTNF- α やIL-6、IL-12といった炎症性サイトカインやそれらの分子のリガンドの消化管粘膜組織内における動態を評価できるライブイメージング技術の開発が望まれる。本研究では、クローン病モデルマウスを用いて腸管粘膜組織中の炎症性分子ならびにそのリガンドの動態をMicro-PET技術を用いて解析するシステムの開発を目指す。

【結果】

①クローン病モデルマウスの作成

本研究ではイメージング解析の対象となるクローン病モデル動物が必要であり、トリニトロベンゼンスルホン酸（TNBS）投与により誘発した大腸炎モデルを作成した。具体的には、SJMマウスを8週齢から飼育し、10週齢からTNBSと50%エタノールの大腸内に投与し大腸炎を誘発した。対照群として50%エタノールのみを投与した。投与後4日目の時点で、対照群のマウスの死亡率は0%であり、全例で大腸炎の発症は肉眼的に認めず、体重は投与0日目より $5.2 \pm 2.1\%$ 増加した。一方、TNBS投与群のマウスの死亡率は65%であり、全例で大腸炎の発症を肉眼的および一部は組織学的に確認でき、体重は投与0日目より $13.4 \pm 4.6\%$ 減少した。

②血液および大腸粘膜組織中の炎症性サイトカインの評価

投与0、2、4日目の対照群とTNBS投与群の血液および大腸粘膜組織中の炎症性サイトカイン（IL-6、IL-12、TNF- α ）濃度の比較を行った。その結果、TNBS群における血液・大腸粘膜組織中の炎症性サイトカイン濃度は対照群よりも投与2日目で有意に高値であり、投与4日目では、大腸粘膜組織中の炎症性サイトカイン濃度がTNBS群で対照群よりも有意に高値であった。また、TNBS群の大腸において、肉眼的に発赤・腫脹の高度な粘膜組織と肉眼的に有意な所見のない粘膜組織とに分けて粘膜組織中の炎症性サイトカイン濃度を比較したところ、肉眼的に発赤・腫脹の高度な粘膜組織において炎症性サ

イトカイン濃度が有意に高値であった。

以上のことから、クローン病モデル動物において局所粘膜の炎症所見を評価するためには血液検査よりも粘膜組織中の評価が重要であり、局所粘膜の炎症性サイトカインを評価することが同粘膜部位の肉眼的な炎症所見を評価することに相当することがわかった。

③Micro-PET用抗TNF- α 抗体の選別

Micro-PETに使用するために最適な抗体の選別をおこなった。粘膜組織中でTNF- α を産生する樹状細胞をMicro-PETで捉える事が有用であると考えており、細胞表面に発現する膜型のTNF- α と結合する抗TNF- α 抗体の選別をフローサイトメトリーを用いて進めている。

【今後の展望】

クローン病モデル動物において、粘膜組織の肉眼的炎症部位を評価するためには、血液中ではなく粘膜局所の炎症性サイトカインを測定する事が必要であり、粘膜局所のサイトカインの動態をPETイメージングで捉えるというコンセプトは理にかなっていると考えられた。Micro-PET用に適した抗TNF- α 抗体の選別が終了すれば、同抗TNF- α 抗体にCuを標識し、クローン病モデルマウスを用いて粘膜組織中の集積を観察する研究をすすめていく。

