

氏名	大西 信三		
学位の種類	博士 (医学)		
学位記番号	博甲第	7916	号
学位授与年月	平成 28 年 7 月 25 日		
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当		
審査研究科	人間総合科学研究科		
学位論文題目	関節リウマチモデルマウスにおけるインドシアニンググリーン内包 ナノ粒子(ICG ラクトソーム)を用いた近赤外蛍光イメージング		
主査	筑波大学教授	博士 (医学)	藤本 学
副査	筑波大学准教授	博士 (医学)	松本 功
副査	筑波大学講師	博士 (理学)	三輪 佳宏
副査	筑波大学講師	博士 (医学)	岡本 嘉一

論文の内容の要旨

大西信三氏の博士学位論文は、関節リウマチマウスモデルにおけるインドシアニンググリーン内包ナノ粒子を用いて他近赤外蛍光イメージングによる早期診断を検討したものである。その要旨は以下のとおりである。

(目的) Rheumatoid Arthritis (RA) は慢性・進行性の全身性自己免疫疾患で、関節滑膜組織の炎症が骨・軟骨の破壊、変形を引き起こす。RA の早期診断・早期治療開始は関節の破壊を防ぎ、Quality of Life を保つために重要である。RA の画像診断において、初期の関節炎を捉える簡易で安全な方法が開発されれば、診断が容易となり早期治療が可能となる。本研究は、近赤外線により蛍光波長を発する indocyanine green (ICG) と、ナノ粒子が増殖の速い未熟な組織の間質腔に漏出・滞留する EPR (enhanced permeability and retention) 効果に着目し、「ICG タクトソーム」を用いた近赤外蛍光イメージングによる RA 関節炎の早期診断が可能であるかを検討した。

(対象と方法) RA モデルマウスとして、ヒト関節リウマチと酷似した免疫性関節炎を発症する SKG / Jcl マウスを使用した。Specific Pathogen Free 環境下においては関節炎の発症が抑制され自然発症しにくい特徴を持つため、mannan を用いて関節炎を誘発した。また関節炎を誘発しないものを control とした。蛍光物質として新規乳酸系両親媒性ポリペプチド高分子ミセルである「ラクトソーム」に ICG を担持させた径 35nm の「ICG ラクトソーム」を用いた。ICG ラクトソームを投与後

に蛍光 in vivo イメージング装置 Xenogen IVIS Spectrum を励起波長 : 745 nm、蛍光波長 : 840 nm で使用し、関節炎誘発後 6 週で画像撮影を行った。画像撮影は尾静注直後・3・6・12・24・48 時間後で行い、関節炎スコア・足関節における関心領域の蛍光強度比を算出し、統計学的検討を行った。また早期関節炎を検出可能であるか関節炎誘発後 1 週・2 週早期のマウスで観察し、誘発後 2 年のマウスも加えて関節炎スコア・ICG ラクトソーム投与 24 時間後の足関節における関心領域の蛍光強度比・滑膜炎スコアを算出、統計学的検討を行った。

(結果) 関節炎誘発後 6 週マウスの ICG ラクトソームを用いた近赤外蛍光イメージング画像では、関節炎群では 3 時間後より足関節の蛍光強度上昇を認めたが、control 群では上昇を認めなかった。関節炎群の蛍光強度比は最大で 150 倍近くまで上昇したのに対し、control 群は 50 倍未満であった。また control 群に比し関節炎群の蛍光強度比が、各時間で統計学的に有意に大きくそのピークは ICG ラクトソーム投与後 24 時間であった。ICG ラクトソーム投与後 24 時間での近赤外蛍光イメージング画像は、control では蛍光輝度上昇がみられず、関節炎誘発後 1 週・2 週においては上昇がみられるものとみられないものが混在、誘発後 6 週ではすべて上昇、誘発後 2 年は上昇がみられなかった。関節炎スコアは全ての群間に有意差をみとめた。蛍光強度比は①control、関節炎誘発後 1 週、誘発後 2 年、②誘発後 2 週と誘発後 6 週の間には統計学的有意差はみられなかったが、誘発後 1 週と 2 週の間には有意差がみられた。病理組織学的滑膜炎スコアは誘発後 1 週と 2 週の間には有意差がみられ、誘発後 2 年の滑膜は消失していた。

(考察) RA モデルマウスの関節炎では血管新生、増殖滑膜における血流増加やマクロファージの活性化によるサイトカインにより毛細血管の透過性が亢進しており、腫瘍における EPR 効果と同様の機序で血管外に ICG ラクトソームが漏出していると考えられた。またナノ粒子は細網内皮系に認識されにくく血管内に長時間滞留する。これらにより ICG ラクトソームによる蛍光強度比は投与 24 時間後に最大となり、近赤外蛍光イメージングが可能となっており、ICG 単独のイメージングと比較してもより簡易で確実と考えられた。また病理組織学的に関節炎が判別可能となる 1 週間には蛍光強度比からも関節炎が判定可能であり、変形の強い末期関節炎では蛍光強度比が上昇しないことから、早期関節炎の検出や関節炎活動性評価にも有用である可能性がある。

以上より、RA モデルマウス ICG ラクトソームは関節炎を発症した足関節に集積し、近赤外蛍光イメージングが可能であることが明らかとなった。さらに、早期関節炎の検出や、関節炎の病勢を反映するのに有用であり、新たな早期診断の手法となる可能性が示唆された。

審査の結果の要旨

(批評) 本研究は、indocyanine green ラクトソームを光感受性物質として用いて関節リウマチ動物モデルにおける足関節炎の近赤外蛍光イメージングが可能であることを明らかにし、関節病変の非侵襲イメージングの領域における画期的な成果を示している。関節リウマチをはじめとする関節炎の領域では、初期の病変を非侵襲的に捉える簡易で安全な方法が求められており、本研究の臨床応用が進めば、早期関節炎の検出や、関節炎の病勢を反映するのに有用であり、新たな早期診断の手

審査様式 2 - 1

法となる可能性がある。また、光線力学療法と組み合わせることによって、本手法により診断と同時に加療が行える可能性も秘めており、今後の発展が期待できる。

平成 28 年 5 月 16 日、学位論文審査委員会において、審査委員全員出席のもと論文について説明を求め、関連事項について質疑応答を行い、最終試験を行った。その結果、審査委員全員が合格と判定した。

よって、著者は博士（医学）の学位を受けるのに十分な資格を有するものと認める。