

SPIO を用いたループス腎炎の評価[大会長賞記録]

陳 挺^{1,2}, 森 勇樹^{1,2}, 程 振宇^{1,2}, Lee Soyoung¹,
Barry Ripley¹, 岸本忠三¹, 乾 千珠子^{1,2}, 多胡善幸³,
吉田 慎一³, 大野工司⁴, 吉岡芳親^{1,2}

¹大阪大学免疫学フロンティア研究センター (IFReC)

²情報通信研究機構・大阪大学脳情報通信融合研究センター (CiNet)

³カネカバイオテクノロジー開発研究所 ⁴京都大学化学研究所

背景と目的

全身性エリテマトーデス (systemic lupus erythematosus : SLE) は多臓器にわたる障害を起こし、多彩な症状を伴う難病の自己免疫疾患である。SLE に合併する腎炎のすべてをループス腎炎と呼び、アジア人・黒人において多発し、国内でも患者数は2万人～4万人程度と報告されている¹⁾。しかし、この疾患の発症機構については不明な点が多く、いまだに根治の方法がなく、対症療法しかできていない状況である。このような病気に対して、早期診断と適切な治療の開始は非常に重要な課題である²⁾。我々は新規 SPIO³⁾ が、正常モデル動物の腎臓において特異的な造影効果を示すことと、腎炎発症により造影効果が異なることを確認し、腎機能や腎疾患を評価できる可能性があることを報告した⁴⁾。そして、今回我々は SLE 疾患の早期に血中濃度が増加する特異的マーカーとされている抗 sm 抗体を結合させた新規 SPIO (ba-SPIO-ab) が、ループス腎炎での有効なプローブとなる可能性があることと予想し、ループス腎炎モデルマウスを用いて炎症の評価が可能か否かを検討した。

方 法

AhR-/- (Aryl Hydrocarbon Receptor) KO (I 型インターフェロン依存性抗体の過剰発現および重度の蛋白尿が観察された) マウスおよび wild type マウスに pristane を投与し、ループス腎炎モデルを作成した。対照群として、pristane を投与しないマウスも用いた。各群は、KO (Pristane), WT (Pristane), WT (Control) とした。腎炎の発症は血中抗 sm 抗体濃度および尿蛋白によって確認した。発症確認後、ba-SPIO-ab を各群の尾静脈に投与した。投与前後の腹部の MRI を撮像し、ba-SPIO-ab の腎臓における造影効果と滞留特性を経時的に観察した。MRI は、Bruker 社製の 11.7T 超高磁場装置を用いて 2D-FLASH で撮像した。in vivo 撮像後にはマウス臓器を灌流固定し、摘出した腎臓の高精細画像も撮像した。また、ba-SPIO-ab の特異性を確認するために、抗体の先行投与実験および抗体の結合していない新規 SPIO 投与群との比較実験も行った。新規 SPIO の腎臓内の局在は透過型電子顕微鏡観察によって確認した。

キーワード Lupus nephritis, brush-afforded super paramagnetic iron oxide particles (SPIO), Anti-sm, high-field magnetic resonance imaging (MRI)

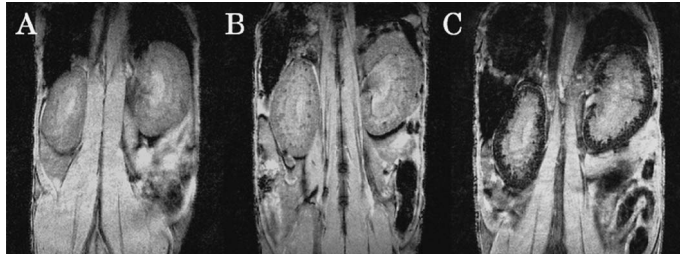


Fig. 1. Abdominal MRI post ba-SPIO-ab injection
(A) WT (control) group : The signal intensity decreased markedly in the liver and the spleen. The cortex of kidney showed a slight decrease of signal intensity. (B) WT (Pristane) showed a similar image to that of WT (control) group. (C) KO (Pristane) group showed the marked signal reduction in the cortex.

結果と考察

ba-SPIO-ab は WT (Pristane) 群および WT (Control) 群の腎皮質において、軽度な信号強度低下を示したのみであった (Fig. 1 A, B). 一方, ba-SPIO-ab は KO (Pristane) 群の投与後 1 日に腎皮質の腎小体において顕著な信号低下が認められ, 特異的な造影効果を示した (Fig. 1C). この結果は血清中の抗 sm 抗体濃度と対応しており, WT (Pristane) 群では, まだ結合能が上昇していないことが示唆された.

抗体なしの新規 SPIO を投与した KO (Pristane) 群の腎皮質においては, 信号強度の低下は観察できず, 抗体の有効性が確認できた (Fig. 2A). また, KO (Pristane) 群に抗 sm 抗体を先行投与した場合には, ba-SPIO-ab の腎皮質における信号低下が顕著に抑えられることが確認でき, こちらでも ba-SPIO-ab に結合させた抗体が有効に機能することが分かった (Fig. 2D). ba-SPIO-ab を投与した KO (Pristane) 群では, 腎小体において信号低下が顕著であることが *in vivo* ならびに *ex vivo* での MRI で推測できたが, さらに透過型電子顕

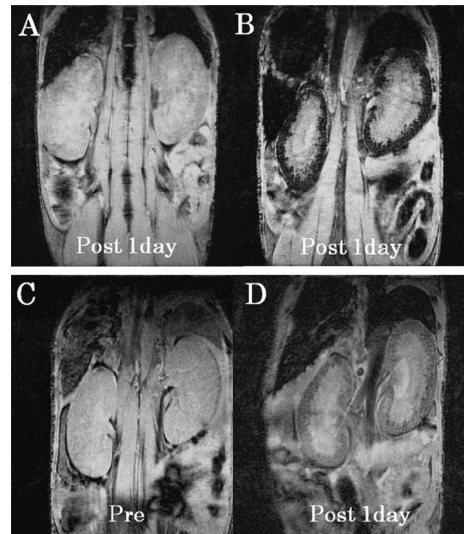


Fig. 2. Abdominal MRI of KO (Pristane) mouse
(A) Mouse injected with ba-SPIO (with no antibody) showed no decrease of signal intensity in the kidney cortex. (B) Mouse injected with ba-SPIO-ab showed the marked signal reduction in the cortex. (C) The abdominal MRI of mouse only with pre administration of anti-Sm-antibody. (D) The signal reduction in the kidney cortex was significantly affected by prior injection of anti-sm-antibody.

微鏡を用いることで、SPIO が糸球体のメサンギウム細胞内の食胞に大量に存在していることが分かった。SPIO を含む食胞は、免疫複合体のような組織と共在していることも確認できた。

結 論

ba-SPIO-ab はループス腎炎モデルマウスの腎臓の皮質において、血中抗 sm 抗体の量と対応する特異的な MRI の造影効果を示すことが確認でき、ループス腎炎の炎症評価および診断用の新たな造影剤になると考えられた。

文 献

- 1) 下条文武. メディカルノート腎臓がわかる一腎・尿路疾患/水・電解質代謝異常. 日本：西村書店, 2008
- 2) Yoo CW, Kim MK, Lee HS : Predictors of renal outcome in diffuse proliferative lupus nephropathy : data from repeat renal biopsy. Nephrol Dial Transplant 2000 ; 15 : 1604-1608
- 3) Ohno K, Akashi T, Tsujii Y, Yamamoto M, Tabata Y : Blood clearance and biodistribution of polymer brush-aforded silica particles prepared by surface-initiated living radical polymerization. Biomacromolecules 2012 ; 13 : 927-936
- 4) Chen T, Mori Y, Cheng Z, et al. New magnetic nano particle for kidney function. ISMRM 2013 ; 2210

Visualization of Lupus Nephritis using SPIO [Presidential Award Proceedings]

Ting CHEN^{1,2}, Yuki MORI^{1,2}, Zhenyu CHENG^{1,2},
Soyoung LEE¹, Barry RIPLEY¹, Tadamitsu KISHIMOTO¹,
Cizuko Y. INUI^{1,2}, Yoshiyuki TAGO³, Shinichi YOSHIDA³,
Kohji OHNO⁴, Yoshichika YOSHIOKA^{1,2}

¹*Immunology Frontier Research Center (IFReC), Osaka University
3-1 Yamadaoka, Suita, Osaka 565-0871*

²*Center for Information and Neural Networks (CiNet), National Institute of Information and
Communications Technology (NICT) and Osaka University*

³*Frontier Biochemical and Medical Research Laboratories, Kaneka Corporation*

⁴*Institute for Chemical Research, Kyoto University*

Systemic lupus erythematosus (SLE) is an autoimmune disease with several clinical manifestations such as arthritis, Central Nervous System (CNS) lupus, and lupus nephritis. More than five million people are affected by lupus nephritis worldwide; however, no cure is available. Therefore, early diagnosis of lupus is important for treatment. However, noninvasive assessment of lupus nephritis is not easy. Previous studies have revealed that anti-Smith (anti-Sm) antibody is a specific marker for SLE. Moreover, our previous MRI studies with mice have shown that the brush-aforded superparamagnetic iron oxide particles (ba-SPIO) have a unique distribution pattern in the kidney. The distribution pattern might reflect the specific tissue functions, inflammations, and diseases. Therefore, we speculated that ba-SPIO containing anti-Sm antibody (ba-SPIO-ab) could be used for the assessment of lupus nephritis *in vivo*. In this study, we introduced ba-SPIO-ab into lupus nephritis mouse models to confirm whether the particles show the specific distribution and retention properties in the kidneys. The MRI images revealed that ba-SPIO-ab shows a specific distribution and long retention time in the cortex of the kidney in lupus nephritis mouse model, but not in wild type (WT) mice. This result suggests that the distribution pattern of ba-SPIO-ab in the renal corpuscle may reflect the symptoms of kidney disease in lupus nephritis mouse models, and it also shows the possibility of diagnosing SLE by this new particle.