

令和 3 年 6 月 16 日現在

機関番号：22701

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2020

課題番号：19K17889

研究課題名（和文）関節リウマチにおける組織に蓄積するナトリウムイオンの機能解明

研究課題名（英文）Elucidation of the pathophysiology of tissue Na⁺ accumulation in rheumatoid arthritis

研究代表者

峯岸 薫 (MINEGISHI, Kaoru)

横浜市立大学・附属病院・助教

研究者番号：40616877

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000円

研究成果の概要（和文）：RA患者を対象とした²³Na-MRIを用いた臨床研究では、皮膚のNa⁺量の高い症例でRAの疾患活動性が高く、RAにおける炎症には“Na⁺が関与している”可能性が示唆された。今後、動物モデルで組織に蓄積するNa⁺がRAを増悪させるメカニズムの解明を目指す。さらに、本研究を進める中で、²³Na-MRI技術の基本を習得し、国際共同研究としての協力体制を構築することができた。今後日本に²³Na-MRIを導入し、臨床研究を推進していく予定である。

研究成果の学術的意義や社会的意義

生体内のNa⁺量は腎臓によってほぼ一定に保たれていると考えられてきた学術的背景の中で、我々の国際共同研究グループが着目している「組織局所におけるNa⁺蓄積」は、当該研究領域においてブレイクスルーとなる発見であり、最先端の研究に位置付けられる。さらに、RAにおいて、Na⁺の恒常性維持機構の破綻およびそれに伴う組織Na⁺蓄積を証明することは、RAのみならず、その合併症である高血圧、脳・心血管疾患などに対する新しい予防・治療法の開発につながることから、本申請研究は、臨床医学や創薬の視点からも非常に重要な研究意義を持つ。

研究成果の概要（英文）：A clinical study using ²³Na-MRI in RA patients suggested that RA disease activity was high in patients with high levels of Na⁺ in the skin, suggesting that Na⁺ may be involved in inflammation in RA. Next, we aim to elucidate the mechanism of Na⁺ accumulation in tissues exacerbates RA using animal models. Furthermore, while proceeding with this research, we were able to learn the basics of ²³Na-MRI technology and build a cooperative system as an international joint research. We aim to introduce ²³Na-MRI in Japan.

研究分野：膠原病

キーワード：²³Na-MRI 関節リウマチ

1. 研究開始当初の背景

関節リウマチ(RA)の治療は『Treat to Target (T2T)』理論に従い、目標を定めて発症早期に積極的治療を開始し、臨床的寛解を達成することが求められている。実際に、生物学的製剤の登場や RA の診療ガイドライン作成などによって、RA 患者の関節予後は改善した。しかしながら、RA は全身の炎症性疾患の性質を持ち、血管炎の合併もみられることから、欧米における心血管イベント死亡率は非 RA 患者と比べ、依然として有意に高い。このため、現在は RA 患者の生命に直結する重篤な合併症である“心血管疾患の制御”を目指した治療法の開発が求められている (Peters MJ, et al. *Ann Rheum Dis.* 2010;69:325-31)。

インターロイキン(IL)-17 を産生するヘルパーCD4 T 細胞(Th17 細胞)は、RA などの様々な自己免疫疾患の発症に重要な役割を果たしており、RA モデルマウスを用いた研究などにより、IL-6 や IL-23 などの炎症性サイトカイン産生を介して Th17 細胞の分化誘導が促進し、関節炎を惹起するメカニズムが明らかとなってきた。Th17 細胞に直接影響する環境因子についてはほとんど知られていなかったが、Titze らは、皮膚局所において電解質・体液調節機構が存在し、“マクロファージが皮膚局所の Na⁺・体液量を制御している”という革新的なコンセプトを世界に先駆けて報告し (Machnik A, et al. *Nat Med.* 2009;15:545-52)、さらに、Na⁺の過剰摂取による皮膚を代表とする組織局所への Na⁺蓄積は、p38/MAP キナーゼ経路を介する病原性 Th17 細胞への T 細胞の分極による自己免疫疾患増加を導くこと (Kleinewietfeld M, et al. *Nature.* 2013;496:518-22)、皮膚や筋肉に蓄積された Na⁺は、心肥大、インスリン抵抗性、感染症などとも関連していることを示した (Jantsch J, et al. *Cell Metab.* 2015;21:493-501)。

2. 研究の目的

RA においても、食塩摂取量の増加が炎症を惹起して RA の発症や症状のみならず、心血管疾患リスクの上昇や生命予後を悪化させることが報告されているものの、その詳細なメカニズムは解明されていない。その解析手段として有力なのが molecular imaging である。実際に、これまでの申請者らの研究によっても、NaF をプローブとした PET を用いて、RA における炎症と骨変化が一連の病理変化であり、その変化には“Na⁺が関与している”可能性を報告しているが、その詳細なメカニズムや、治療応用などは不明のままである (Watanabe T, Takase-Minegishi K et al, *Mod Rheumatol.* 2016;26:180-7)。そこで、申請者とシンガポール Duke-NUS Medical School の Titze らによる国際共同研究によって、RA において何故食塩摂取量の増加がこれら有害事象をもたらすのか、²³Na-MRI による臨床研究および関節リウマチモデルマウスによって、組織に蓄積する Na⁺が RA を増悪させるメカニズムおよび心血管系へ与える影響を解明し、将来的に RA の生命予後の改善を目指すことを目的とした。

3. 研究の方法

研究代表者は、2018 年から横浜市立大学医学部の客員研究員として、2 年間シンガポールの Duke-NUS Medical School に留学し、①ヒト組織のナトリウムイオン(Na⁺)量を可視化および測定できる ²³Na-MRI を用いた臨床研究と②マウス関節炎モデルを用いた解析を行うことで、組織に蓄積する Na⁺が RA を増悪させるメカニズムおよび心血管系に与える影響を解明した。

4. 研究成果

①²³Na-MRI を用いた臨床研究

まず、²³Na-MRI の臨床研究を開始するために、シンガポールの Clinical Imaging Research Centre に MRI 装置と撮影のセットアップを行った。医療用 MRI は生体をおもに構成する水素原子核(¹H)を画像化しており、それ以外の ¹³C、³¹P、²³Na などに関しては、研究レベルでは画像化が行われているが、臨床診断にはあまり用いられていない。その理由として、これらの核はプロトン画像では直視しない数多くの測定を複雑化させる要因を持っている。水素はほとんどの有機化合物に含まれ、核スピンのもつ同位体 ¹H の天然存在度がほぼ 100%であることから、測定感度が非常に高く撮影に適している。これに対して、炭素は天然同位体として ¹²C、¹³C、¹⁴C をもつが、天然存在比 98.9%と大部分を占める ¹²C および 1.2×10⁻⁸%の ¹⁴C は、スピン量子数が 0 であり磁氣的に不活性で MRI では検出できない。¹³C 同位体は検出可能であるが、天然存在比が 1.1%と微量である。²³Na-MRI は、²³Na 原子が Na 原子の中で唯一の安定同位体であること、および ²³Na の陽子数が奇数(11 個)、中性子数が偶数(12 個)であり、磁気モーメントが生じることを利用して組織 Na⁺濃度を可視化できるが、²³Na の相対感度は ¹H の 9.27%である。さらに、細胞外液中の Na⁺濃度は 135~145mmol/L に保たれているが、細胞内は 10~15mmol/L と低く、従来技術で解像度の高い画像を撮影することは困難であった。しかしながら、近年の高度先進技術開発によるシステムの進歩は、撮影の高速化と画質の向上をもたらした。MRI では静磁場強度が高いほど良好な信号対雑音比(signal to noise ratio: SNR)が得られ、空間および時間分解能が上昇する。日本でも臨床用の 3 テスラ MRI 装置が薬事許可され

既に臨床応用されているが、こうしたハードウェアの進歩により、形態情報だけでなく組織の性状や機能情報も得られるようなMRIを用いた多彩な撮影法の開発にもつながり、 ^{23}Na -MRIも実用的な時間で高品質の画像を取得できるようになった。 ^{23}Na -MRIは専用コイルを用いることで、造影剤を用いずに生体内の Na^+ を検出し、組織に蓄積している Na^+ の定量も可能であり、本研究に用いた方法では、 ^{23}Na -MRIの撮影時に、濃度の異なる NaCl 溶液を満たしたキャリブレーションチューブを同時に撮影することに成功しており、専用ソフトを用いて画像解析を行うことで、皮膚および筋肉に蓄積している Na^+ 量を定量的に評価することが可能である(図1)。

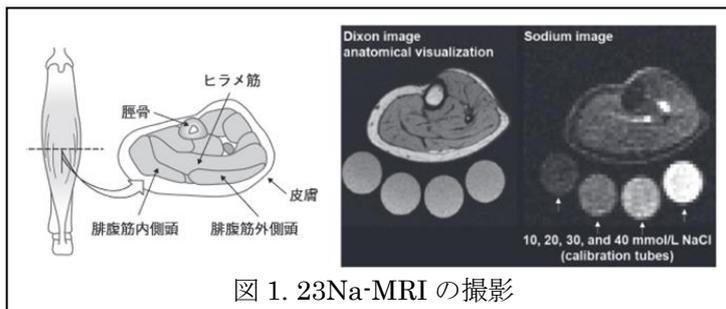


図1. ^{23}Na -MRIの撮影

これまでに行った ^{23}Na -MRIを用いた臨床研究により、皮膚および筋肉の Na^+ 量には、男女差があり、女性よりも男性の方が Na^+ 含有量が高いということが示されている。また、高齢になるほど皮膚および筋肉の Na^+ 量が高くなることも示されており、我々がシンガポールで約100例を対象として行った検討の中間報告(図2)においても、同様の結果が示された。さらに、RA患者における検討では、皮膚の Na^+ 量の高い症例でRAの疾患活動性が高く、RAにおける炎症には“ Na^+ が関与している”可能性が示唆された。

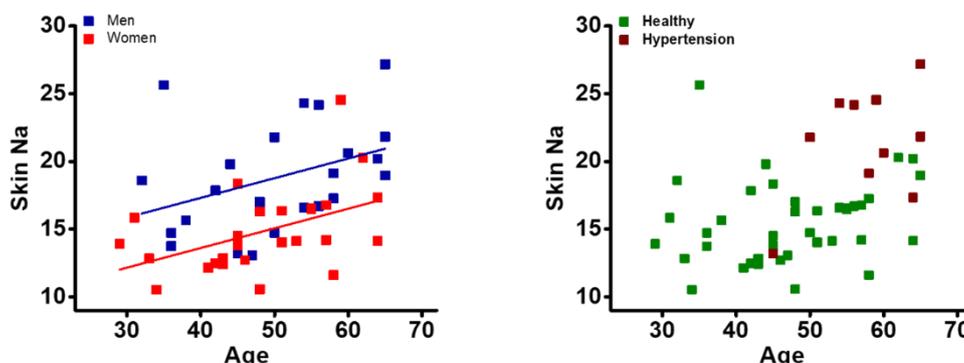


図2. 皮膚における Na^+ 含有量

②マウス関節炎モデルを用いた解析

まず、動物モデルでの解析を行うために、組織の Na^+ ・水分を正確に測定可能な灰化-原子吸光光度法を実施する設備を整える必要があった。原子吸光分析法は、光源から励起された光をあてると、特定の元素のみが特定の波長の光を吸収する性質を利用し、濃度既知の標準液の吸光度を測定し、作成した検量線を用いて検体の濃度を求める。原子化のためのエネルギーとして、化学炎を使用する必要があるが、アセチレンと空気の混合ガスを使用し、得られる温度は約 2300°C であるため、通常の実験室には設置できず、シンガポール郊外の大規模実験動物施設に、灰化-原子吸光光度計を設置した。動物モデルとしては、コラーゲン誘導関節炎(CIA)を用いて、組織 Na^+ 含量と関節炎の関係を解析する準備を行った。今後、全身炎症マーカー(IL-17, IL-6, TNF- α , VEGF-C)とのパラメータの関連性を検討するとともに、食塩摂取量の変化が組織 Na^+ 含量、関節炎、全身炎症に与える影響も解明していく予定としている。

③ ^{23}Na -MRIの日本への導入

^{23}Na -MRIの導入には高度な技術と専門知識が必要であり、世界でも実施できる施設が限られている。研究代表者は、本研究を通じて ^{23}Na -MRI技術の基本を学び、日本への初導入と今後の臨床研究継続のための研究協力体制の構築を行った。また、画像の解析方法に関しても他の研究者との一致率に相違なく、独自の定量方法を取得することができた(図3)。

^{23}Na -MRIの導入には、Multinuclear Optionを搭載した高磁場MRI装置が必須である。日本国内ではこのオプションを搭載したMRI装置は限定されているが、国立スポーツ科学センター(東京都)は ^{23}Na -MRIの基礎となるシーメンス社の高磁場MRI装置を保有している。研究代表者は、国立スポーツ科学センターおよ

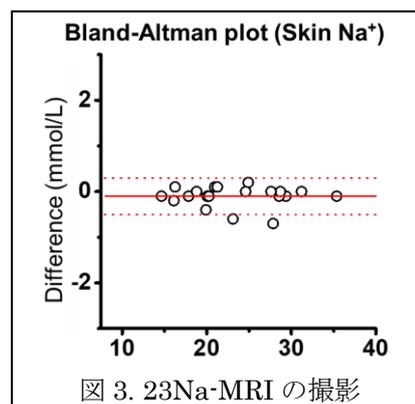


図3. ^{23}Na -MRIの撮影

びシーメンス社との研究協力体制を確立し、専用コイルの発注を行った。今後は、 1H 以外の多核種(^{13}C , ^{31}P など)を用いた **MR** 測定に成功している国立スポーツ科学センターに ^{23}Na -MRI を国内初導入し、新規臨床研究を実施していく予定である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Kovarik Johannes J., Morisawa Norihiko, Wild Johannes, Marton Adriana, Takase Minegishi Kaoru, Minegishi Shintaro, Daub Steffen, Sands Jeff M., Klein Janet D., Bailey James L., Kovalik Jean Paul, Rauh Manfred, Karbach Susanne, Hilgers Karl F., Luft Friedrich, Nishiyama Akira, Nakano Daisuke, Kitada Kento, Titze Jens	4. 巻 232
2. 論文標題 Adaptive physiological water conservation explains hypertension and muscle catabolism in experimental chronic renal failure	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Acta Physiologica	6. 最初と最後の頁 e13629
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/apha.13629	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計1件

1. 著者名 峯岸薫、峯岸慎太郎、北田研人	4. 発行年 2020年
2. 出版社 科学評論社	5. 総ページ数 6
3. 書名 元素イメージング2 Na-MRI	

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関		
シンガポール	Cardiovascular and Metabolic Disorders	Duke-NUS Medical School	Singapore