

## 論文の内容の要旨

氏名：山 崎 文 恵

博士の専攻分野の名称：博士（歯学）

論文題名：**Structure and Size-selective Permeability of the Synovial Membrane of the Temporomandibular Joint of the Mouse Measured by MR Imaging at 7T**

(7 T MRI を用いたマウス顎関節構造と滑膜における分子量選択的な透過性の解析)

顎関節に発生する疾患として、顎関節内障 (internal derangement: ID) や変形性顎関節症 (osteoarthritis: OA) がある。ID や OA の関節には関節炎症状が認められるが、その発生メカニズムは十分に解明されていないのが現状である。現在 ID 患者の滑液解析や、患者から採取した滑膜細胞を用いた滑膜炎モデルにおける解析などの、分子生物学的な研究により、いくつか顎関節の病態関連因子が報告されている。また、実験動物を用いた形態学的研究においては、疾患モデルにおける顎関節の構造解析、ならびに免疫組織化学的研究が主流となっている。しかし、多くの形態学的研究は組織切片による解析が主であり、断片的に病態を評価するため、同一個体における経時的な変化を追跡し、観察することは困難である。顎関節疾患における組織の変性や進行程度が様々であることから、これらの病態解明には経時的な観察が必要であると考えられる。

顎関節疾患の臨床的な画像検査法として、MRI (magnetic resonance imaging) 検査が頻用されている。MRI は関節周囲の軟組織や関節円板の位置が比較的鮮明に描出されるため、病態評価に有用であるとされている。また、ID や OA 患者の MRI 所見として、比較的高頻度に認められる joint effusion は、顎関節の炎症病態と関連性があるとされ、また、関節痛を有する顎関節において、造影 MRI を撮像した場合、円板後部組織の著しい信号強度増加が認められることから、炎症との相関関係が示唆されている。そこで、実験動物を用いた顎関節の形態学的研究に MRI を応用することを検討した。動物の顎関節を生存下で観察することが可能となれば、同一個体での経時的な病態観察や、従来の組織切片と対応させた病態解析が可能となる。さらに、関節炎と相関関係が示唆されている造影 MRI を応用することで、より精密な検討が可能となると考えた。

本研究では、動物における MRI および造影 MRI 撮像を用いて、齧歯類の中でも遺伝子学的解析が最も進んでいるマウスにおける顎関節の構造観察と、造影剤の滑膜透過性を検討することを目的として実験を行った。過去の報告において、ウサギ顎関節炎モデルでは、関節炎により滑膜組織の透過性が亢進し、その結果、95 kDa 以上の比較的分子量の大きいタンパクが滑液内に増加したと報告されている。そこで本研究では、4種類の分子量の異なった造影剤を用いて顎関節造影 MRI をおこない、今後の炎症病態変化の基準となりうる正常マウス顎関節滑膜の透過性について解析した。

マウス顎関節に MRI を応用するにあたり、まずは撮像条件を検討した。実験動物は雄性の C57BL/6 マウス (5-36 週齢) を用い、7 T MRI (AVANCE III, Bruker BioSpin, Ettlingen, Germany) にて顎関節を撮像した。先行研究であるラット顎関節 MRI 撮像条件を参考に、約 1 mm のマウス顎関節をより鮮明に確認できる撮像設定を決定した。また、分子量の異なった 4種類の造影剤を用いてマウス顎関節造影 MRI を撮像し、各造影剤投与前後の顎関節における造影効果を比較した。その後、造影効果が認められた部位の信号強度変化を時間-信号強度曲線にて確認した。得られた曲線より造影剤の流入速度を算出した。造影剤は Gd-DTPA (0.5 kDa), CH<sub>3</sub>-DTPA-Gd (2.1 kDa), Gd-polylysine (10 kDa), Gd-albumin (74 kDa) の 4種類を使用した。造影剤はマウス大腿静脈より直接、血管内へ投与した。時間-信号強度曲線の作成にあたり関心領域 (ROI: region of interest) を顎関節、動静脈、筋肉、脳実質に設定し組織間における信号強度変化を解析した。

本研究により、以下の結果を得た。

1) 7 T 高磁場 MRI を用いてマウス顎関節を撮像した結果、T<sub>1</sub> 強調 MRI 画像より下顎頭、側頭骨は低信号で示された。下顎頭と側頭骨の間には関節円板が中信号で示され、それを囲むように滑液および軟骨と思われる高信号領域が認められた。矢状断像において関節円板の前方肥厚部、中央狭窄部、後方肥厚部はヒト同様にマウスにおいても確認できた。T<sub>2</sub> 強調像では水分を多く含む滑液、および軟骨が高信号で示された。今回は、これら MRI 画像所見をヘマトキシリン-エオジン染色を施したマウス顎関節組織切片と比較した。下顎頭の形態、関節円板の位置および形態は MRI においても確認できた。

2) 分子量の異なる4種類の造影剤を静脈内へ投与した結果, Gd-DTPA および CH3-DTPA-Gd において明らかな円板周囲の造影効果を認め, 円板の位置と形態が明瞭になった. しかし Gd-polylysine, Gd-albumin においては円板周囲に造影効果は認められなかった.

3) マウス顎関節 Dynamic 造影 MRI 撮像より得た時間-信号強度曲線において Gd-DTPA および CH3-DTPA-Gd 投与後, 動静脈では速やかに信号強度が上昇した. 顎関節においては緩やかな上昇を認め, 約5分でプラトーとなった. 筋肉においては顎関節よりも緩やかな上昇を認め, 脳においては信号強度変化は認められなかった. 時間-信号強度曲線より造影剤の流入速度を解析したところ, Gd-DTPA では  $0.76 \pm 0.22 \text{ min}^{-1}$  (n = 4) であり CH3-DTPA-Gd では  $0.63 \pm 0.09 \text{ min}^{-1}$  (n = 3) であり, 2群間に有意差は認められなかった. Gd-polylysine, Gd-albumin においては顎関節の信号強度変化は認められなかった.

以上の結果から, 7T 高磁場 MRI を用いることにより, マウス顎関節の詳細な構造観察が可能であった. また, 4種類の異なる分子量を有する造影剤を用いた造影 MRI の検討から, 滑膜透過性は分子量選択性を有することが明らかとなった.