

令和元年6月12日現在

機関番号：11301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2018

課題番号：15K10232

研究課題名(和文) Dual Energy CTとMRIによる腹部大動脈瘤破裂リスク評価法の開発

研究課題名(英文) Useful Imaging to detect Macrophage Localization in the Media and Adventitia of the Abdominal Aortic Aneurysm Wall using Ex Vivo Superparamagnetic Iron Oxide-Enhanced Magnetic Resonance Imaging

研究代表者

清水 拓也 (Shimizu, Takuya)

東北大学・医学系研究科・大学院非常勤講師

研究者番号：70579755

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：腹部大動脈瘤内のマクロファージの局在を可視化するため、マクロファージに取り込まれる鉄を主成分とする造影剤(SPIO造影剤)を用いて、採取した腹部大動脈瘤壁に対し、MRIを撮影し、MRI画像と組織学的なマクロファージの局在の相関関係を明らかにした。組織学的にSPIO造影剤が確認できるベルリンブルー染色陽性部とマクロファージの局在に相関関係があることを示し、ベルリンブルー陽性部とMRIの低信号域に相関関係があることを明らかにした。これにより将来MRIで瘤壁マクロファージの局在診断が可能であると示した。in vivo MRIへ応用することで瘤拡大因子の解明や、新たな指標に繋がる可能性がある。

研究成果の学術的意義や社会的意義

腹部大動脈瘤が拡大する要因はいくつか報告されているものの、十分には解明されていない。瘤壁内のマクロファージが瘤形成に強く関わっているという組織学的な報告があるが、組織を取らずとも、瘤壁内のマクロファージの局在を示す方法=可視化ができれば、将来大きくなりやすい瘤なのか、破裂しやすい瘤なのか、新たな指標に繋がる可能性がある。その第一段階として、採取した瘤壁のMRIと組織標本のマクロファージの局在に相関関係があることを明らかにした。今後生体内へ応用することで、新たな指標に繋がる可能性がある。

研究成果の概要(英文)：Macrophages in the aneurysmal wall play an important role in the pathogenesis of abdominal aortic aneurysms (AAAs). superparamagnetic iron oxide (SPIO) is a macrophage-specific contrast agent that result in negative enhancement on T2*-weighted imaging. We attempted to evaluate macrophage localization in the media and adventitia of AAA wall using SPIO-enhanced MRI. Ex vivo MRI was performed for the specimens in SPIO group. There was significant positive correlation between berlin blue-stained macrophages and berlin blue positive area in SPIO group with macrophages. We divided the media and adventitia in each specimen and compared the ROI of T2*-weighted SPIO-enhanced MRI with berlin blue-stained area. We found significant correlations in 5 of 7 cases with macrophages. We detected that ex vivo T2*-weighted SPIO-enhanced MR findings visualize a macrophage localization in the media and adventitia. This imaging technique would also visualize the macrophage distribution in in-vivo MRI.

研究分野：血管外科

キーワード：SPIO MRI 腹部大動脈瘤 マクロファージの局在診断

様式 C-19、F-19-1、Z-19、CK-19（共通）

1. 研究開始当初の背景

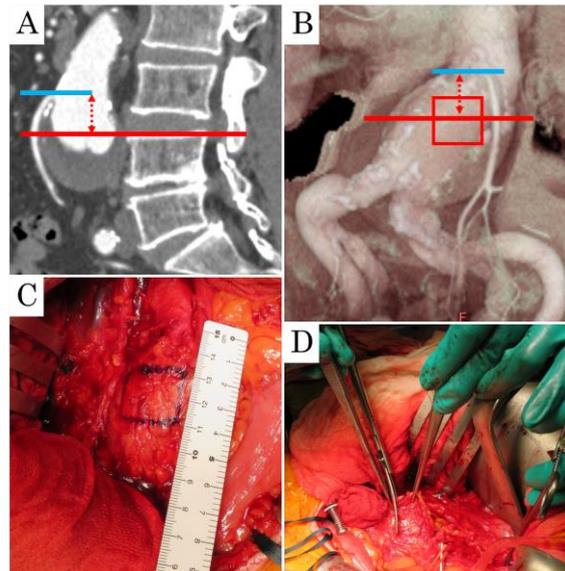
大動脈瘤を形成、拡大させる因子はいくつか報告されているが、まだ十分には解明されていない。その中で、大動脈瘤壁内のマクロファージは動脈瘤の形成に重要な役割を担っているといわれている。中膜、外膜レベルのマクロファージの局在を超常磁性酸化鉄（SPIO）造影剤を用いた核磁気共鳴画像法（MRI）で評価することを目的とした。

2. 研究の目的

本研究の目的は、腹部大動脈瘤壁の中膜、外膜レベルのマクロファージの局在を超常磁性酸化鉄（SPIO）造影剤を用いた核磁気共鳴画像法（MRI）で評価することである。

3. 研究の方法

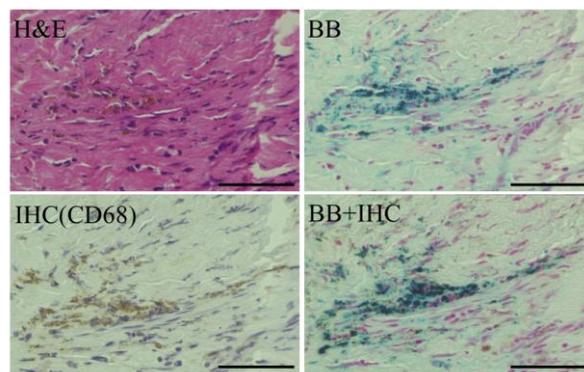
待機的に腹部大動脈瘤に対し開腹手術を行う症例を対象とした。手術予定日の2日前に SPIO 造影剤を投与し、その前後で MRI を撮影した（SPIO 群）。SPIO 造影剤を投与しない群（control 群）も登録した。手術中に大動脈瘤壁を採取し、SPIO 群では採取後 ex vivo MRI を施行した。採取した標本はホルマリンに固定した後、ヘマトキシリン・エオジン染色、ベルリンブルー染色、免疫組織化学（CD68）、そして、ベルリンブルー染色と免疫組織化学の二重染色で染色し、組織学的に評価した。SPIO 群は免疫組織化学（MMP-9）も染色した。



SPIO のマクロファージへの取り込みを確認するため、マクロファージ陽性の症例において、総マクロファージ数とベルリンブルー陽性マクロファージ数をカウントし、その割合を分析した。また、MRI との比較する際にマクロファージの面積が重要になるため、ベルリンブルー染色陽性面積とベルリンブルー染色陽性マクロファージ数の相関を分析した。さらに、MRI を組織像の関係を明らかにするため、中膜、外膜レベルのベルリンブルー染色陽性面積と MRI の関心領域の相関を分析した。

4. 研究成果

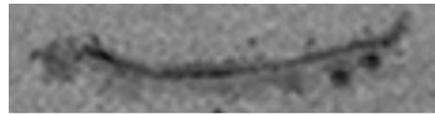
SPIO 造影 MRI を完遂したのは 15 例であった。control 群は 6 例であった。マクロファージを平均 1 個／視野以上認めたものは SPIO 群に 7 例、control 群は全例であり、それぞれ、SPIO(M+)群、control(M+)群とした。総マクロファージ数は両群に差はなかったが、ベルリンが、ベルリンブルー



ー染色陽性マクロファージ数は SPIO(M+)群で中央値 2 個／視野 (range: 0-25)、control(M+)群で 0 個／視野 (range: 0-7) と SPIO(M+)群で有意に多かった ($p < 0.0001$)。総マクロファージ数に対するベルリンブルー染色陽性マクロファージの割合は、SPIO(M+)群で 0.93 (IQR: 0.83-0.95)、control(M+)群で 0.03 (IQR: 0.026-0.11) と SPIO(M+)群で有意に大きく ($p =$

0.0034)、これにより、SPIO がマクロファージ内への確実に取り込まれていることが確認できた。また、SPIO(M+)群のベルリンブルー染色陽性面積とベルリンブルー染色陽性マクロファージ数を分析する

SPIO(M+)

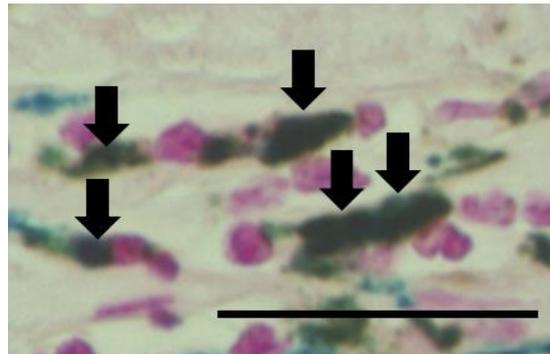


SPIO(M-)



と、ケンドール順位相関係数 (τ) = 0.58、 $p < 0.0001$ と有意な正の相関を認めた。さらに、ベルリンブルー染色陽性面積と MRI の関心領域を分析した。SPIO 群それぞれの症例で相関を見ると、マクロファージの存在する瘤壁ではマクロファージの分布と MRI の T2*強調像の低信号域の分布間に相関がみられた。

これらの結果により、SPIO が中膜および外膜のマクロファージに取り込まれることを確認した。これを利用して、中膜および外膜に存在するマクロファージの分布と *ex vivo* MRI シグナルの有意な相関関係を明らかにした。これにより、将来 MRI で瘤壁マクロファージの局在診断が可能であること示した。今後は *in vivo* MRI へ応用すること



で、マクロファージの局在と瘤径の関係や拡大速度との関連が調査可能となり、新たな瘤径拡大因子の解明につながる可能性がある。また、現在動物実験でマクロファージをターゲットとした治療の有効性が検討されており、将来応用される際の効果判定や、適応基準にも応用できる可能性がある。

5. 主な発表論文等

[学会発表] (計2件)

①Michihisa Umetsu, Useful Imaging to detect Macrophage Localization in the Media and Adventitia of the Abdominal Aortic Aneurysm Wall using Ex Vivo Superparamagnetic Iron Oxide-Enhanced Magnetic Resonance Imaging. 25 September 2019, ESVS 33rd Annual Meeting.

②梅津道久、超常磁性酸化鉄造影剤を用いた核磁気共鳴画像法による腹部大動脈瘤の中膜および外膜内の組織マクロファージの局在評価、日本外科学会学術集会、2019年4月18日

6. 研究組織

(1) 研究分担者

研究分担者氏名：後藤 均

ローマ字氏名：GOTO Hitoshi

所属研究機関名：東北大学

部局名：医学系研究科

職名：准教授

研究者番号 (8桁)：00400333

研究分担者氏名：大田 英揮

ローマ字氏名：OTA Hideki

所属研究機関名：東北大学

部局名：医学系研究科

職名：准教授

研究者番号（8桁）：40586905

研究分担者氏名：中村 保宏

ローマ字氏名：NAKAMURA Yasuhiro

所属研究機関名：東北大学

部局名：医学系研究科

職名：大学院非常勤講師

研究者番号（8桁）：80396499

(2) 研究協力者

研究協力者氏名：梅津 道久

ローマ字氏名：UMETSU Michihisa

※科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。