

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 30 年 5 月 19 日現在

機関番号：17301

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K21230

研究課題名(和文) PET/SPECT/CTイメージングによる肺アスペルギルス症診断法の開発

研究課題名(英文) Detection of pulmonary aspergillosis using PET/SPECT/CT imaging techniques

研究代表者

田代 将人 (TASHIRO, Masato)

長崎大学・医歯薬学総合研究科(医学系)・助教

研究者番号：20713457

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：主要な深在性真菌症である肺アスペルギルス症は増加の一途にあり、病型によっては致死率が90%にも達する予後不良な疾患である。本研究により、放射性同位体である<sup>99m</sup>Tcで標識したMAAを利用した肺血流SPECTが、侵襲性肺アスペルギルス症マウスモデルの肺病変に対し優れた検出感度および鑑別能を有することを明らかにできた。本成果は肺血流SPECTが肺アスペルギルス症の早期診断に有用であることを示しており、種々の学会賞を受賞するなど、その成果は内外から高く評価されている。

研究成果の概要(英文)：There is an urgent need for development of better diagnostic strategies to improve outcomes in patients with invasive pulmonary aspergillosis (IPA). We hypothesized that an evaluation of lung perfusion may be more sensitive and specific than computed tomography of the chest for detection of IPA, given that IPA is an angioinvasive infection. We used single-photon emission computed tomography with injection of technetium-99m-labeled macroaggregated albumin to measure pulmonary perfusion in non-infected mice, mice with IPA, and mice with bacterial pneumonia. Histopathologic analysis in the IPA mouse model showed a clear match between areas with a perfusion defect and the presence of mold. Quantitative analysis confirmed that perfusion in the affected areas was significantly decreased in the IPA model but not in the bacterial pneumonia model. This imaging method may be preferable to the methods presently used to identify the presence of mold in a patient's lungs.

研究分野：感染症学

キーワード：アスペルギルス症 診断 肺血流SPECT 放射性同位体

### 1. 研究開始当初の背景

医療技術の高度化に伴い日和見感染症のリスク要因は増加の一途にあり、深在性真菌症の制圧は重要な課題となっている。その中でもアスペルギルス症は最も多く、高い致死率を示す。一方で未だに診断・治療の手段に限界があり、より感度・特異度に優れた新しい検査法の開発が求められている。

### 2. 研究の目的

我々は、侵襲性肺アスペルギルス症 (IPA: Invasive pulmonary aspergillosis) では血管への侵襲や菌の塞栓により病巣周囲に血流障害が起こる可能性があることに着目し、肺血流 SPECT (Single Photon Emission Computed Tomography) および CT イメージングによる肺血流評価の手法と IPA モデルマウスを用い、新たな診断方法の開発を試みた。

### 3. 研究の方法

(1) IPA モデルマウスの作成 6 週齢の正常雌性マウス (ICR、日本 SLC) にシクロホスファミド (150mg/kg、Day-3,0) を腹腔内投与することで好中球減少マウスを作成し、*Aspergillus fumigatus* の分生子を  $5.0 \times 10^6$  cell 気管内投与することで IPA モデルマウスを作成した。

(2) マウスにおける最適な肺血流 SPECT 撮像法の検討 6 週齢の正常雌性マウス (ICR、日本 SLC) に  $99\text{mTc}$  標識した大凝集ヒト血清アルブミン ( $99\text{mTc}$ -MAA) 50 MBq を尾静脈投与し、小動物用 PET/SPECT/CT 装置 FX3400 (TriFoil 社) で CT および SPECT 撮像 (step and shoot mode, 64 projection) を行った。このとき、1projection あたりの収集時間および被写体-検出器間距離 (ROR) を変えながら撮像を繰り返し、最適な組み合わせを視覚的評価によって選択した。得られたデータは、iteration 数を 10~100 の範囲で変化させながら MLEM 法で画像再構成し、画像上に置いた ROI 内の変動係数 (%CV) を算出した。さらに、肺門部の生理的欠損部位における Sharpness Index を算出し、これらを指標として最適な iteration 数を決定した。

(3) IPA モデルマウスにおける肺血流 SPECT 画像と病理所見の比較検討 (ex vivo study) 肺血流 SPECT 画像所見を病理学的に評価するために、ex vivo study を実施した。感染後 4 日目の IPA モデルマウスに  $99\text{mTc}$ -MAA (約 80MBq) を尾静脈投与し、10 分後に両肺を取り出し、病理切片作成用のカセットに留置した後 SPECT 画像を撮像した。撮像後のカセットから病理標本を作成し、HE 染色および Grocott 染色を行った。それらの病理画像と一致する部位を SPECT 画像から再構成し、両者の画像の対比および評価を行った。

(4) IPA モデルマウスにおける肺血流 SPECT/CT 画像の経時的評価 (in vivo study) 感染 3 日前、感染 1、5、8、15 日目に  $99\text{mTc}$ -MAA (約 50MBq) を尾静脈投与し SPECT/CT 画像の撮像を行った。CT における肺浸潤影の経時変化と、肺血流 SPECT 画像の経時変化の関係性について評価・検討を行った。

(5) 細菌性肺炎マウスモデルの肺血流 SPECT/CT 画像との比較検討 (in vivo study) 細菌性肺炎モデルには、再現性の高さからクレブシエラ肺炎モデルマウスを用いた。クレブシエラ肺炎モデルマウスは、マウス (ICR、6 週齢) に *Klebsiella pneumoniae* KEN11 (positive for SHV and CTX-M-9 type ESBLs and positive for the string test) を  $5.0 \times 10^4$  CFU/mouse の量で気管内投与することで作成し、感染 2 日目に肺血流 SPECT/CT を撮像した。CT における肺浸潤影と肺血流 SPECT 画像の関係性について評価・検討を行い、IPA モデルマウスにおける関係性との相違点について検討を行った。

(6) Dynamic Planar 撮影法の検討 (in vivo study) 肺血流低下の原因鑑別による診断精度の向上を目指し、IPA に特徴的な肺血流動態の有無を検証するため、Dynamic Planar を用い放射性薬剤が分布する過程を IPA モデルマウスとコントロールマウスで比較した。感染 7 日目に  $99\text{mTc}$ -MAA (約 100MBq) を尾静脈投与し Dynamic Planar 撮影を 7 分間行い、時間放射能曲線を作成し、コントロールと比較した。

### 4. 研究成果

(1) マウスにおける最適な肺血流 SPECT 撮像法の検討 得られた SPECT 画像の画質と、撮像時間によるマウスへの侵襲性の兼ね合いから、1projection あたりの収集時間を 20sec とし、ROR は検出器が最も被写体に近づく 40mm を採用した。また iteration 数 50 の時に画像の %CV が最小となり、Sharpness Index 曲線は iteration 数 50 と 60 の間で明らかな不連続性を示した。この結果から再構成に使用する iteration 数は 50 に決定した。

(2) IPA モデルマウスにおける肺血流 SPECT 画像と病理所見の比較検討 (ex vivo study) 肺病理 HE 染色画像ではアスペルギルスの血管侵襲および肺胞内出血が確認された (図 1 A 矢印, 図 D)。肺血流 SPECT 画像で認められた肺血流の欠損部位 (図 1 C 矢印) は、肺病理 Grocott 染色画像で確認できるアスペルギルスの肺内存在部位および血管侵襲部位と一致しており (図 1 B 矢印, 図 E)、肺血流 SPECT 画像における欠損部位が、肺内のアスペルギルスの存在および血管侵襲を示すことを明らかにすることができた。

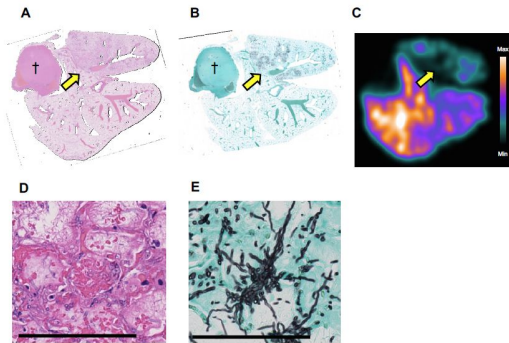


図1 IPA マウスモデルにおける肺病理所見と肺血流 SPECT 画像の対比

(3) IPA モデルマウスにおける肺血流 SPECT/CT 画像の経時的評価 (in vivo study) 肺の CT 像では、感染 5 日後より明瞭な浸潤影の出現を認めた (図 2 矢印)。肺血流 SPECT では同部位の集積の著しい低下を認め、肺血流の不均一性を確認した。肺浸潤影は Day5 をピークに Day15 には消失したが、同部位における肺血流 SPECT の集積低下は持続していた。

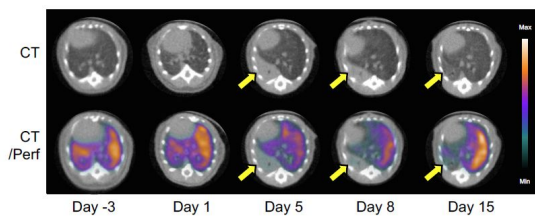


図2 IPA マウスモデルにおける肺血流 SPECT/CT の経時的評価

肺に浸潤影が出現するよりも前に、肺血流 SPECT では集積低下が先行している IPA マウスモデルの存在も確認できた (図 3)。

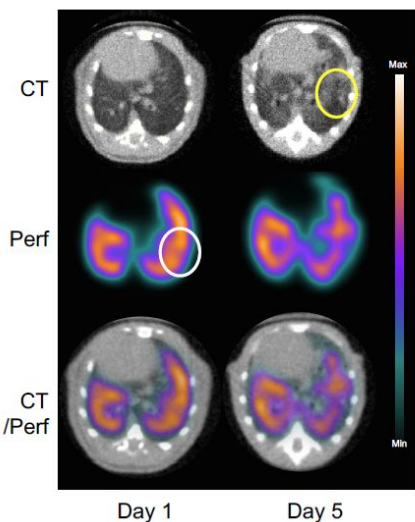


図3 肺血流 SPECT での IPA 肺病変の早期検出例 (白丸：集積低下部位、黄丸：浸潤影)

(4) 細菌性肺炎マウスモデルの肺血流 SPECT/CT 画像との比較検討 (in vivo study)

細菌性肺炎マウスモデルにおいて、感染後 4 日目の CT で肺に浸潤影の出現を確認できた (図 4 A)。浸潤影の性状は IPA マウスモデルにおける肺の浸潤影と差異を認めなかった。一方、肺血流 SPECT による評価では、浸潤影と同部位の集積低下は軽度にとどまっていた (図 4 A)。すなわち、細菌性肺炎では病巣の血流低下の程度が弱く、同じ浸潤影であっても肺血流 SPECT による鑑別が可能であることが明らかとなった。そこで同現象を定量的に証明するために、CT で浸潤影が見られている部分を病変部、CT で浸潤影が見られていない部分を性状部と定義し、病変部分と正常部分の  $^{99m}\text{Tc}$ -MAA の集積量の最大値の差をとり、細菌性肺炎マウスモデルと IPA マウスモデルと比較した。すると、肺血流 SPECT 画像による病変部と性状部の差は、IPA マウスモデルで細菌性肺炎マウスモデルよりも有意に大きかった (図 4 B、 $p < 0.01$ )。

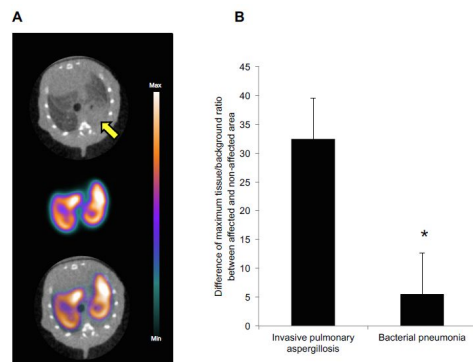


図4 A: 細菌性肺炎マウスモデルにおける肺血流 SPECT/CT 画像、B: IPA と細菌性肺炎における正常部と病変部間の肺血流量差の比較

(6) Dynamic Planar 撮影法の検討 (in vivo study)

IPA モデルマウスとコントロールマウスの分布速度は、プラトーに達する時間には差はなかった。しかし、IPA では肺血流速度が正常よりも速いが、プラトーに達する前に減速するという特徴的な肺血流動態を特定することができた。

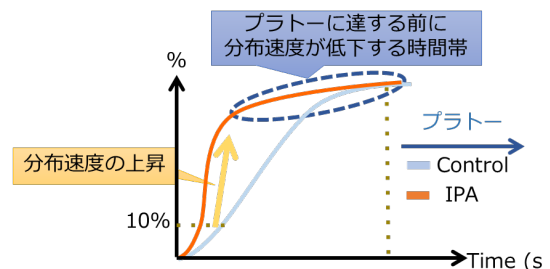


図5 IPA マウスモデルとコントロールマウスの  $^{99m}\text{Tc}$ -MAA の分布速度の比較

5. 主な発表論文等  
(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計 0 件)

〔学会発表〕(計 10 件)

Masato Tashiro, et.al. Detection of Invasive Pulmonary Aspergillosis in Mice Using Lung Perfusion Single-Photon Emission Computed Tomography with 99mTc-MAA. 20th Congress of the International Society for Human and Animal Mycology (国際学会, 招待シンポジウム), 2018.

Masato Tashiro, et.al. Detection of Invasive Pulmonary Aspergillosis in Mice Using Lung Perfusion Single-Photon Emission Computed Tomography with 99mTc-MAA. 8th Advances Against Aspergillosis (国際学会, Selected oral presentation), 2018.

三嶋麻揮、田代将人、他. 肺血流 SPECT による肺アスペルギルス症の新規診断法の開発. 真菌症フォーラム第 23 回学術集会(最優秀賞 受賞), 2017.

田代将人. アスペルギルス症の最新の話題 ~基礎から臨床まで~. 第 29 回水戸呼吸器真菌症談話会, 2017

河野圭、田代将人、他. 肺血流 SPECT による侵襲性肺アスペルギルス症と細菌性肺炎の鑑別の試み. 第 86 回日本感染症学会西日本地方会学術集会, 2016

三嶋麻揮、田代将人、他. Dynamic Imaging による IPA モデルマウスにおける肺血流動態解析. 第 56 回日本核医学会学術総会, 2016

三嶋麻揮、田代将人、他. 肺血流 SPECT による肺アスペルギルス症の新規診断法の開発. 第 10 回アスペルギルス症研究会, 2016

西 弘大、田代将人、他. 浸潤性肺アスペルギルス症に対する肺血流 SPECT の有用性の検討. 第 55 回日本核医学会学術総会, 2015

吉田将孝、田代将人、他. アイソトープを用いた肺アスペルギルス症の病態解析. 第 59 回日本医真菌学会総会・学術集会(優秀ポスター賞 受賞), 2015

西 弘大、田代将人、他. 肺血流 SPECT によるアスペルギルス感染マウスの経過観察. 第 10 回 学会総会・学術集会 - 日本分子イメージング学会, 2015

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

取得状況(計 0 件)

〔その他〕  
ホームページ等

6. 研究組織

(1)研究代表者

田代 将人(TASHIRO, Masato)  
長崎大学・医歯薬学総合研究科(医学系)・  
助教

研究者番号: 20713457

(2)研究分担者

なし

(3)連携研究者

なし

(4)研究協力者

西 弘大(NISHI, Kodai)

三嶋 麻揮(MISHIMA, Maki)

吉田 将孝(YOSHIDA, Masataka)

河野 圭(KAWANO, Kei)

泉川 公一(IZUMIKAWA, Koichi)