

令和 4 年 6 月 16 日現在

機関番号：32620

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2021

課題番号：19K17614

研究課題名(和文) 超常磁性酸化鉄ナノ粒子を用いた冠動脈CTによる新しい不安定プラーク同定法の確立

研究課題名(英文) Dual Energy CT Imaging of Atherosclerotic Plaque using Novel Ultrasmall Superparamagnetic Iron Oxide in Hyperlipidemic Rabbits

研究代表者

岡野 裕子 (Okano, Yuko)

順天堂大学・医学部・非常勤助教

研究者番号：90835620

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)：Ultrasmall Superparamagnetic Iron Oxide (USPIO)は動脈硬化病変のマクロファージに貪食されることが報告されているが、USPIOより血中滞留時間の長いCarboxymethyl-diethylaminoethyl Dextran Magnetite USPIO (CMEADM-U) を動脈硬化モデルウサギに投与しDual Energy CT (DECT)による撮像することにより、動脈硬化部位におけるCMEADM-Uの集積を画像化することに成功し、動脈硬化病変の炎症を表すマクロファージ集積の定量評価も可能であることが示された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

急性冠症候群の前駆病変である不安定プラークを同定することは重要な課題の一つであるが現在確立した方法はない。動脈硬化病変のマクロファージに貪食されるCarboxymethyl-diethylaminoethyl Dextran Magnetite USPIO (CMEADM-U) を動脈硬化モデルウサギに投与しDual Energy CT (DECT)で撮像することにより、動脈硬化病変におけるCMEADM-Uの集積の画像化および炎症を表すマクロファージ集積の定量評価が可能であることが示された。臨床応用が可能になれば非侵襲的に、より精度の高い急性冠症候群のリスク層別化が可能になると考えられる。

研究成果の概要(英文)：Ultrasmall Superparamagnetic Iron Oxide (USPIO) has been reported to be phagocytosed by macrophages of arteriosclerotic lesions. Carboxymethyl-diethylaminoethyl dextran magnetite ultra-small superparamagnetic iron oxide (CMEADM-U), which has a longer blood retention time than USPIO, was administered to Watanabe hereditary atherosclerotic rabbits and New Zealand white rabbits, and dual energy CT (DECT) was performed to prepare virtual monochromatic images and iron-based map for visualization of CMEADM-U in atherosclerotic lesions. CMEADM-U accumulation consistent with an arteriosclerotic lesion was observed at 35 keV and the iron-based map. Further, there were significant differences in the iron-based map value at the site of accumulation among the grades of expression on berlin blue staining and RAM11 immunostaining. In addition, there was a good correlation at 35keV and iron-based map value.

研究分野：画像診断

キーワード：USPIO CMEADM-U Dual Energy CT 動脈硬化 マクロファージ集積

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

急性冠症候群はしばしば前駆症状なく突然発症しその後の生活に大きな影響を与えうる疾患であり、この前駆病変である不安定プラーク(vulnerable plaque)を同定することは重要な課題の一つであるが現在確立した方法はない。

MRI の造影剤として開発された超常磁性酸化鉄ナノ粒子造影剤(Ultrasmall Superparamagnetic Iron Oxide; USPIO)は、粒子径が50nm程度と非常に小さく、肝臓のクッパー細胞に取り込まれにくいいため血中滞留時間が長いという特徴を持つ造影剤である。これまでMRIを用いた動物実験やヒト研究において動脈硬化病巣のマクロファージへの集積が確認されているが、近年、従来のUSPIOよりも血中滞留時間が長い新しいUSPIOとしてCarboxymethyl-diethylaminoethyl Dextran Magnetite USPIO (CMEADM-U, The Nagoya Research Laboratory Meito Sangyo, Aichi, Japan)が開発されたことでさらに血管の動脈壁への集積を鋭敏に評価できると考えられた。しかしMRIは空間分解能や時間分解能がCTに比べて劣り、かつ陰性造影剤という特徴を有するため冠動脈への応用は難しい。

Dual Energy CT (DECT)はCT撮影時に二つのエネルギーで撮影を行うことで仮想単色X線等価画像(Virtual Monochromatic Imaging; VMI)や物質密度画像(Material Density Imaging; MDI)を作成でき、これにより今までのCTの約3倍のCT値増強効果や特定の物質の含有量を評価することが可能である。そこでDECTを用いてCMEADM-Uの主成分である鉄をベースとしたMDIを作成することで、冠動脈病変部に存在するマクロファージの画像化、さらに定量化を行い炎症活性を画像化することが可能と考えた。

2. 研究の目的

本研究では、vulnerable plaqueの主因であるマクロファージの活性といった動脈硬化における炎症過程をCMEADM-Uを用いたDECTで評価することを目的とし、はじめに模擬血管ファントムを用いてdual energy法によるCMEADM-Uの同定が可能であるかを評価した後、動脈硬化モデルの実験動物を用いてCMEADM-U投与におけるDECTによる撮像を行い動脈硬化病変の集積を検出できるか評価する。

3. 研究の方法

(1)ヨード造影剤(血管内腔)、リン酸カルシウム(石灰化病変)、生牛肉(血管壁プラーク病変)から構成される模擬血管ファントムを作成し、血管壁プラーク病変に見立てた肉部の一部にCMEADM-Uを混入し、DECTによる鉄原子のイメージングでCMEADM-Uを特異的かつ定量的同定することが可能か検討する。また、過去の臨床研究でヒトにおいて投与された濃度である0.046mmol/kgを基準に、濃度を変えることで同定可能な濃度についても検討する。また、鉄原子イメージングによるCMEADM-U同定における、ヨード造影剤、石灰化病変の影響についても検討する。

(2)LDL受容体が欠損した家族性高コレステロール血症モデルである渡辺遺伝性高脂血症ウサギ(WHHL)を動脈硬化モデル(N=4)、ニュージーランド白色家兔(NZW)をコントロールとして(N=2)、CMEADM-Uを0.5mmol Fe/kgで投与し、72時間後にDECTを撮影し、Virtual monochromatic image (35keV, 70keV) Iron based mapを作成した。大動脈を採取しWHHL:各6切片(計24片)、NZW:各3切片(計6片)に対しヘマトキシリン・エボジン染色、ベルリンブルー染色、

RAM11 免疫染色標本を作製し、Virtual monochromatic image や Iron based map と、CMEADM-U の集積の関連を評価した。

4. 研究成果

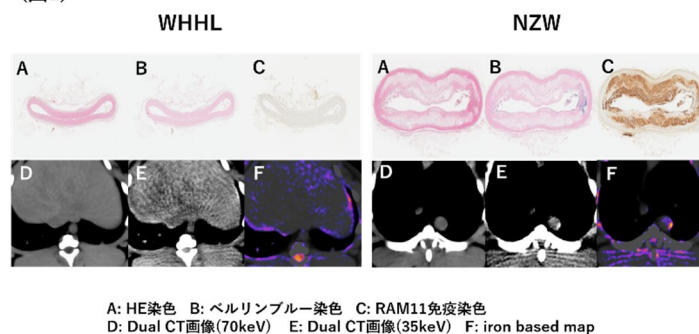
(1) 模擬血管ファントムを用いて、血管壁プラーク病変に見立てた肉部の一部に CMEADM-U を混入し Dual Energy CT (DECT) による鉄原子のイメージングで CMEADM-U を特異的かつ定量的同定することが可能か検討した。

過去の臨床研究でヒトにおいて投与された濃度である 0.046mmol/kg を基準に CMEADM-U と生牛肉を混ぜた箇所を ROI を置き鉄原子イメージングで鉄含有量を測定したところ、5mg/ml を添加したロットでは $0.2 \pm 1.3 \text{mgFe/cm}^3$ 、25mg/ml では $2.7 \pm 1.8 \text{mgFe/cm}^3$ 、50mg/ml では $12.4 \pm 3.3 \text{mgFe/cm}^3$ であった。鉄濃度が 0~20 mgFe/cm³ (2.5step) となるようにカラースケールマップを作成し、仮想単色 X 線等価画像の 70keV 画像にオーバーレイ表示すると CMEADM-U の集積が評価可能であった。また石灰化がプラークの近くに存在しても CMEADM-U の分布に大きな影響はなく、さらにヨード造影剤が近接していても鉄原子イメージングの画像への影響はなく、ヨード造影剤を用いた冠動脈 CT と CMEADM-U によるプラーク造影は同時に評価可能であると考えられた。

(2) LDL 受容体が欠損した家族性高コレステロール血症モデルである渡辺遺伝性高脂血症ウサギ (WHHL) 4 羽 (動脈硬化群) と、コントロールとなるニュージーランド白色家兎 (NZW) 2 羽 (コントロール群) に CMEADM-U を静脈内投与し、投与 72 時間後に Dual Energy CT (DECT) による撮像を施行した。撮像後に大動脈を摘出しヘマトキシリン・エオジン染色 (HE 染色)、鉄染色 (ベルリンブルー染色)、免疫組織化学染色 (RAM11 染色) を行い、DECT 画像との比較を行った。病理所見では、NZW では HE 染色における粥状硬化症所見を認めず、ベルリンブルー染色と RAM11 免疫染色においても陽性像を認めなかったが、WHHL では全てのスライスで HE 染色における粥状硬化症所見を認め、ベルリンブルー染色と RAM11 免疫染色においても陽性像が認められた。

病理切片と同部位における DECT 画像では NZW においていずれの画像においても集積を認めなかった。WHHL においては VMI の 70keV で CMEADM-U の集積を確認できなかったが、35keV の画像にすることで血管壁にコントラストを認め、iron based map においても同様の箇所に鉄の集積を確認することができた (図 1)。

(図1)



WHHL の 24 片におけるベルリンブルー染色における内膜内ヘモデジリン沈着判定は grade 0 が 0 切片、grade 1 が 20 切片、grade 2 が 4 切片、grade 3 が 0 切片 grade 4 が 0 切片 (表 1) でありベルリンブルー染色の陽性エリア分類と DECT の結果を比べると、70keV の grade 1 が $37.9 \pm 18.3 \text{HU}$ 、grade 2 が $40.0 \pm 12.8 \text{HU}$ ($P=0.82$)、35keV においても grade 1 が $41.9 \pm 55.3 \text{HU}$ 、grade 2 が $89.2 \pm 43.1 \text{HU}$ ($P=0.11$) とともに有意差を認めなかったが、iron based map を用いることで grade 1 が 9.5 ± 9.4 で、grade 2 が 19.6 ± 3.9 ($P<0.05$) と有意差を認めた (図 2-A)。

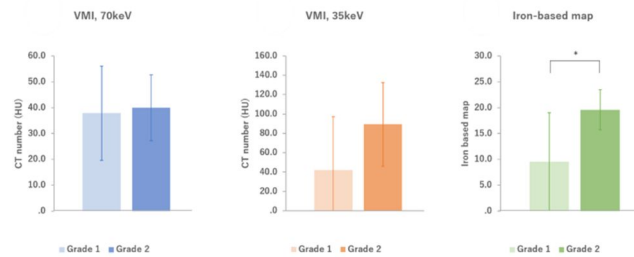
(表1)

	grade 0	grade 1	grade 2	grade 3	grade 4
Berlin blue	0	20	4	0	0
RAM11	0	0	5	8	11

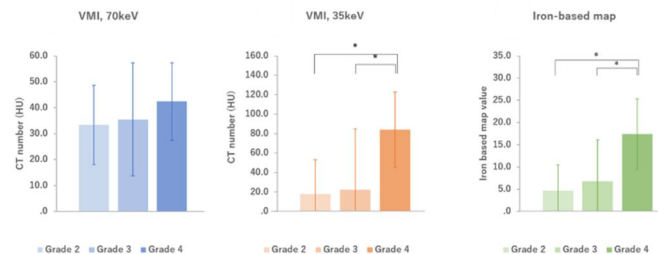
RAM11 における陽性エリア判定は grade 0 が 0 切片、grade 1 が 0 切片、grade 2 が 5 切片、grade 3 が 8 切片、grade 4 が 11 切片であった(表 1)。RAM11 免疫染色の陽性エリア分類では 70keV で grade 2 が 33.3 ± 15.3 HU であり、grade 3 が 35.5 ± 21.8 HU、grade 4 は 42.4 ± 14.9 HU ($P=0.56$) で有意差を認めなかった。DECT における 35keV では grade 2 が 17.8 ± 35.3 HU、grade 3 が 22.5 ± 62.2 HU、grade 4 は 84.1 ± 38.9 HU ($P<0.05$) と有意差を認め、群間比較では grade 2 と grade 4 ($P<0.05$)、grade 3 と grade 4 ($P<0.05$) 間で有意差を認めた。

iron based map では grade 2 が 4.7 ± 5.8 、grade 3 が 6.8 ± 9.3 、grade 4 は 17.4 ± 7.4 ($P<0.05$) と有意差を認め、群間比較においても 35keV と同様に grade 2 と grade 4 ($P<0.05$)、grade 3 と grade 4 ($P<0.05$) 間で有意差を認めた(図 2-B)。

(図2) A

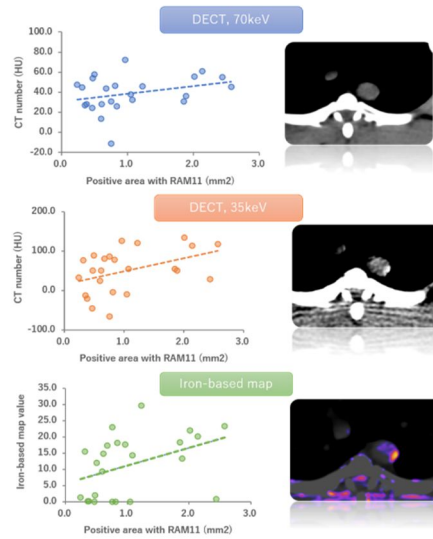


B



RAM11 陽性面積と DECT の結果を比較すると、従来の CT 画像に相当する 70keV では相関関係 ($r=0.19$) を認めなかったが、35keV ($r=0.42$, $P<0.05$) と iron based map ($r=0.42$, $P<0.05$) にて有意な相関関係を認めた(図 3)。

(図3)



今回 DECT で撮影することによりベルリンブルー染色による内膜内ヘモデジリン沈着と RAM11 によるマクロファージ陽性に一致した動脈硬化部位で CMEADM-U の集積を画像化することに成功した。さらに 3-material decomposition 法を活用し CMEADM-U の主成分である iron based map 画像を作成することで動脈硬化病変の炎症を表すマクロファージ集積の定量評価も可能であることが示された。冠動脈評価が可能な DECT で動脈硬化病変を評価できたことで冠動脈炎症に対する noninvasive 分子イメージングとして臨床応用が期待される。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔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
---------	---------