

令和 5 年 6 月 2 日現在

機関番号：14301

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2022

課題番号：20K17115

研究課題名（和文）CCR2特異的新規PETトレーサーを用いた動脈硬化の病態解明およびその臨床応用

研究課題名（英文）Elucidating pathology of atherosclerosis by a novel CCR2-specific PET tracer and its clinical application

研究代表者

馬場 理（Baba, Osamu）

京都大学・医学研究科・特定講師

研究者番号：30758446

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：動脈硬化は血管の老化ともいわれており、動脈硬化性疾患は本邦での死因の約20%を占めると言われています。動脈硬化プラークの状態を評価する手法として、PET検査は有望と考えられています。我々は、ケモカイン受容体CCR2に結合するPETトレーサーを新たに開発し、マウスの動脈硬化に集積することを確認しました。このトレーサーのシグナルは動脈硬化の大きさとは関係がなく、内部の単球や炎症性マクロファージといった細胞の量を反映していると考えられました。

研究成果の学術的意義や社会的意義

動脈硬化プラーク内における炎症性マクロファージのマーカーとしてCCR2が使用できることが明らかとなり、今後の、動脈硬化形成の病態解明に役立つと考えられた。また、我々の開発したCCR2特異的PETトレーサーは、単純に動脈硬化の大きさを反映するのではなく、動脈硬化プラーク内の単球や炎症性マクロファージを非侵襲的に検出することができることが判明し、今後の臨床応用に期待が持てる結果となった。

研究成果の概要（英文）：Atherosclerosis, also known as vascular aging, is thought to account for approximately 20% of the causes of death in Japan. PET imaging is considered a promising imaging modality for evaluating the state of atherosclerotic plaques. We have newly developed a PET tracer that binds to the chemokine receptor CCR2 and confirmed its accumulation in mouse atherosclerosis. The signal of this tracer reflects the amount of CCR2 positive cells inside, such as monocytes and inflammatory macrophages, rather than the size of atherosclerotic plaques.

研究分野：循環器内科学

キーワード：動脈硬化 PET CCR2 マクロファージ

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、研究者個人に帰属します。

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

動脈硬化性疾患において、不安定プラークの同定を可能とする診断方法、および動脈硬化巣における分子動態を非侵襲的に評価する方法の開発が求められているが、PET 検査は潜在的にそれらを可能とする。ケモカイン受容体の一つである CCR2 は、主に白血球表面に発現し、動脈硬化性疾患において重要な役割を果たす。これらを鑑みて、我々のグループでは CCR2 に特異的に結合する PET トレーサー(^{64}Cu -DOTA-ECL1i)を開発した。

2. 研究の目的

本研究における目的は、この CCR2 特異的 PET トレーサーの動脈硬化巣におけるシグナルの病的意義および標的となる CCR2 陽性細胞を、マウス動脈硬化モデルを用いて解析・解明することである。

3. 研究の方法

(1) 動脈硬化巣中の CCR2 陽性細胞分画の解析

動脈硬化モデルマウスであるアポ E 欠損マウスもしくは LDL 受容体欠損マウスに高脂肪食を負荷し、動脈硬化を形成する。その後、動脈硬化含有大動脈を採取して、Single RNA-seq 解析およびフローサイトメトリーを用いて、マウス動脈硬化巣中の CCR2 陽性細胞がどのような細胞群であるかを確認する。

(2) 蛍光標識された CCR2 特異的トレーサーを用いた、生体内でのトレーサーの分布解析

蛍光色素にて標識した CCR2 特異的トレーサー(CF640R-ECL1i)を高脂肪食を負荷したアポ E 欠損マウスに投与する。その後、末梢血および大動脈を採取して、CF640R 陽性細胞をフローサイトメトリーで解析することによってトレーサーの分布を確認する。

(3) 動脈硬化退縮モデルにおける CCR2 特異的 PET シグナルの解析

アポ E 欠損マウスに高脂肪食を負荷して動脈硬化を形成する。その後、アポ E をコードしたアデノ随伴ウイルスを投与することによって、肝臓でのアポ E の発現を回復させる。これにより末梢血中のコレステロールが劇的に減少して、動脈硬化の退縮が起きる。このモデルを用いて、経時的に動脈硬化のサイズおよび動脈硬化巣中の白血球分画と CCR2 特異的 PET シグナルを比較していき、PET シグナルがどの項目と相関するのかを確認する。

4. 研究成果

(1) フローサイトメトリー解析において、動脈硬化巣中の CCR2 発現細胞は、一部 T 細胞に認められるものの、大部分は単球およびマクロファージであることが判明した。さらに動脈硬化含有大動脈の Single RNA-seq 解析によって、CCR2 陽性マクロファージは炎症性マクロファージに高発現していることが判明した (図 1)。

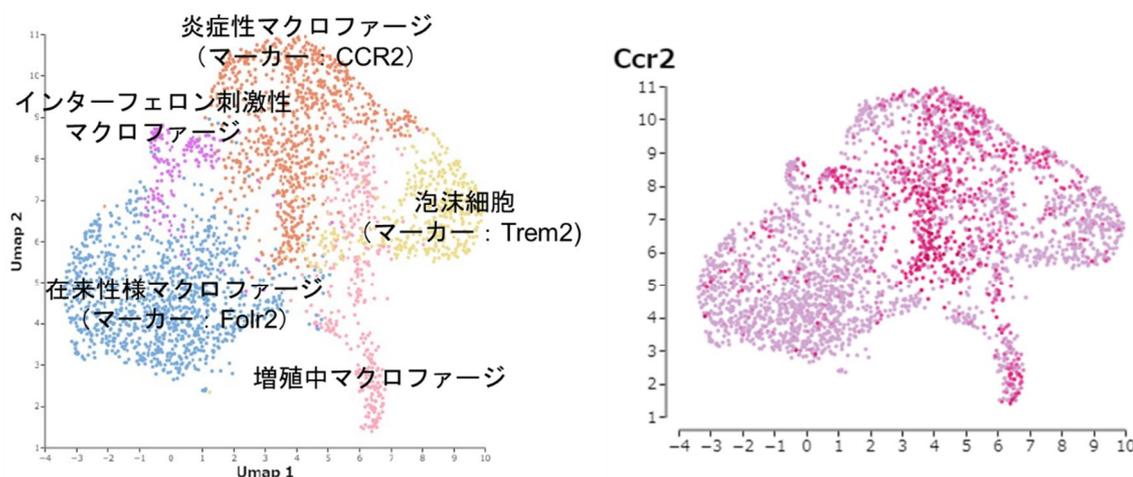


図1. CCR2は炎症性マクロファージに高発現している

(2) 蛍光標識したトレーサー (CF640R-ECL1i) の末梢血での分布をフローサイトメトリーを用いて解析したところ、予想通り、炎症性単球に主に結合することが判明した(図2)。さらに動脈硬化巣中の分布についてフローサイトメトリーで解析したところ、単球および炎症性マクロファージに主に結合することが示された(図2)。

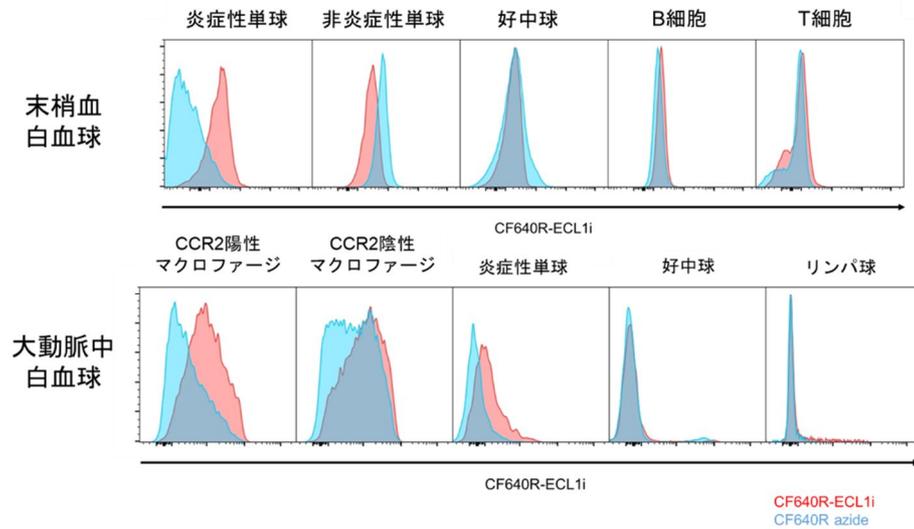


図2. CCR2特異的トレーサーの末梢血および大動脈中の白血球への結合能

(3) アデノ随伴ウイルス投与後、4週間では動脈硬化巣の減少は認められなかったが、PET シグナルは著明に低下した(図3)。この結果から、このPET シグナルは動脈硬化のサイズとは挿管しないことが判明した。また、白血球分画の解析においては、単球の著明な減少および CCR2 陽性マクロファージの減少が認められ、この2つの白血球分画に相関することが示唆された。

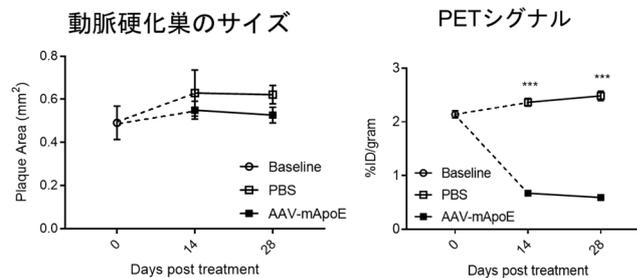


図3. 動脈硬化退縮モデルにおける動脈硬化巣のサイズおよびPETシグナルの推移

これらの結果より、CCR2 特異的 PET トレーサーは動脈硬化巣中の単球や炎症性マクロファージを非侵襲的に評価できると考えられた。今後は、動脈硬化巣中における CCR2 陽性マクロファージの詳細な機能の解明や、ヒトにおける PET シグナルの解析をしていく必要があると考えられる。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 1件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 Osamu Baba, Deborah Sultan, Gyu Seong Heo, Xiaohui Zhang, Hannah Luehmann, Lisa Detering, Yongjian Liu, Gwendalyn J. Randolph
2. 発表標題 The CCR2 targeting peptide-based PET tracer, 64Cu-DOTA-ECL1i can non-invasively visualize monocytes and inflammatory macrophages in atherosclerotic plaque
3. 学会等名 第84回日本循環器学会学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Osamu Baba, Andrew Elvington, Deborah Sultan, Gyu Seong Heo, Xiaohui Zhang, Hannah Luehmann, Lisa Detering, Yongjian Liu, Gwendalyn J. Randolph
2. 発表標題 The CCR2 targeting peptide-based PET tracer, 64Cu-DOTA-ECL1i can non-invasively visualize monocytes and inflammatory macrophages in atherosclerotic plaque
3. 学会等名 The 19th International Symposium on Atherosclerosis (ISA2021) (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Osamu Baba, Andrew Elvington, Deborah Sultan, Gyu Seong Heo, Xiaohui Zhang, Hannah Luehmann, Lisa Detering, Yongjian Liu, Gwendalyn J. Randolph
2. 発表標題 The CCR2 targeting peptide-based PET tracer, 64Cu-DOTA-ECL1i can non-invasively visualize monocytes and inflammatory macrophages in atherosclerotic plaque
3. 学会等名 Cardiovascular And Metabolic Week 2021 (CVMW2021) (招待講演)
4. 発表年 2021年

〔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
---------	---------