

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 24 日現在

機関番号：14301

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2012～2014

課題番号：24592123

研究課題名(和文)近赤外線を用いた頸動脈不安定プラークの画像化に関する研究

研究課題名(英文)Imaging of carotid vulnerable plaque using near infra red light

研究代表者

石井 暁(Ishii, Akira)

京都大学・医学(系)研究科(研究院)・助教

研究者番号：30467469

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,100,000円

研究成果の概要(和文)：本研究は、近赤外線のスเปクトルを用いた動脈硬化性プラークの画像化を目的としている。研究開始時、ウサギの頸部皮下組織に埋没させた脂肪組織を食道内からのプローベからの透過光を皮膚上で集光して画像化することを試みた。しかし、皮下脂肪による散乱が非常に強く、十分に識別可能な解像度が得られなかったため、反射光による画像化システムに変更した。WHHLウサギの大動脈を開腹して露出して直視下に、血管内のプラークを反射光で同定した。単純に1658nmや1714nmの吸収ピーク量(絶対値)で画像化すると、周囲の脂肪組織のノイズが大きい。2波長の比率を絶対値に乘じることでノイズの低減できることが示された。

研究成果の概要(英文)：The purpose of the present study is to visualize atherosclerotic plaque using near infrared spectrogram. First, we attempted to image lipid embedded in the subcutaneous tissue in rabbit. Due to remarkable diffusion noise, enough signal was not able to be obtained. Then, we switched from absorption to reflection light to minimize diffusion noise. Abdominal aorta in WHHL rabbit was exposed. Atherosclerotic plaque was clearly visualized using reflection infrared light spectrogram. Imaging using absolute absorption value at 1658 and 1714nm caused significant noise from adjacent tissue. We successfully minimized the noise using the ratio between absorption values at these two wave lengths.

研究分野：脳神経外科

キーワード：動脈硬化 プラーク 近赤外線

1. 研究開始当初の背景

頸動脈狭窄症に対する脳梗塞発症予防治療として、1) 抗血小板薬 2) 頸動脈内膜剥離術 (Carotid endarterectomy, CEA) 3) 頸動脈ステント留置術 (Carotid artery stenting, CAS) などがある。日本脳卒中学会ガイドラインによると、有症候性(すなわち、同側の脳梗塞または一過性脳虚血発作の既往がある)で狭窄率 50%以上の病変、または、無症候性で狭窄率 80%以上の病変に対しては、CEA または CAS の外科治療が勧められている。この狭窄率による治療方針決定には、欧米の幾つかの大規模前向きランダム化臨床試験に基づいたものではあるが、一方で、狭窄率だけでは脳梗塞の危険率を必ずしも予測できないとする報告も数多く見られる。不安定プラークとは、「プラークの破綻・破裂を来しやすく局所の血栓塞栓症を来す可能性の高い易破綻性プラーク」と定義される。組織学的には 1) 脂質コア 2) 菲薄化した線維性皮膜 3) 粥腫内出血などが特徴である。臨床的には、抗血小板薬などの内科治療に抵抗性で、脳梗塞を起こしやすい病変である。近年、このプラーク性状は、病変の狭窄率とは必ずしも関連しないことが分かってきた。たとえば、狭窄度 10%の病変でも不安定プラークの要素をもつ病変は、脳梗塞を起こすリスクが高い。このような不安定プラークの形態学的・生物学的特徴の早期診断が可能となれば、脳梗塞危険性の予測、及び予防的治療の適応決定など、臨床的に極めて有益である。現在、プラーク性状の診断法としては、頸部超音波検査、Magnetic Resonance Imaging (MRI)検査、Positron Emission Tomography (PET)検査、Computed Tomography (CT)検査などがある。理想的なプラーク性状診断法の条件とは、1) 高い空間分解能 2) 高い組織診断能力 3) 簡便で短時間で施行可能 4) 低侵襲で繰り返し施行可能、などである。現時点で、これらの条件を全て満たす診断法は存在しない。我々は、新たな診断方法の開発を目的として、近赤外線に着目した。近赤外線は波長 1400-2700nm の長波長光で、人体での透過性が高く、物質ごとに特定の波長領域でよく吸収される特徴(吸光スペクトル)がある。

2. 研究の目的

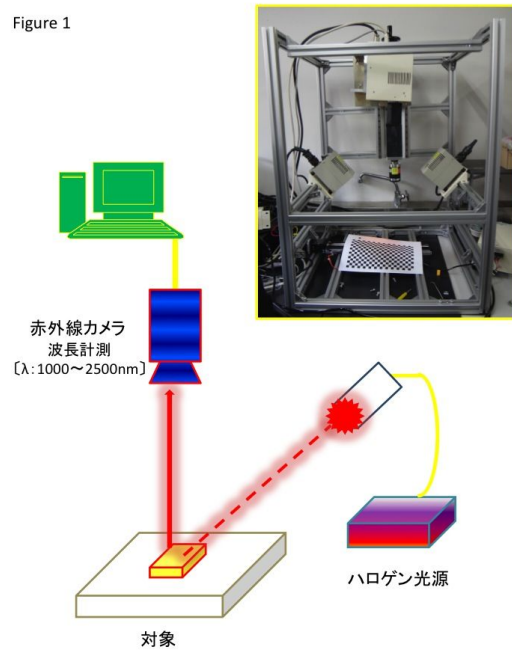
本研究の目的は、脳梗塞リスクの高い不安定プラークの新たな診断方法の確立のため、近赤外線の吸光スペクトル診断の可能性を検討することである。

3. 研究の方法

【測定装置】

ハロゲン光源を用いて、入射角 30°、距離約 20cm から対象へ光を照射し、対象の直上 30cm の位置に設置した近赤外線カメラで近赤外線光量を波長別に測定した。近赤外線カメラは 1000~2500nm 波長領域の全波長を網羅的

Figure 1



に測定可能なカメラ (Compovision, 住友電工社) を使用した (Figure 1)

Figure 1:

測定装置模式図及び実験装置 (右上)。ハロゲン光源から得た光を対象へ照射し、反射光を赤外線カメラで測定する。光源の光量・入射角・カメラの位置の設定は変更できる。

【生体外実験】

生体外の対象について反射光の血管壁での減退及び脂質の定量化について検討した。ラードとブタ頸動脈血管壁を用いて血管内部の脂質量と血管壁の厚みを管理できるモデルを作成し、前述した近赤外線反射光測定装置で測定を行った。この実験において、波長により減退に差はあるものの近赤外線が血管壁を透過し、血管内脂質に達し、その反射光が再び血管壁を通過してカメラで測定可能なことが証明された。

【動物実験】

臨床使用に向けての課題として、血管内血液(血流)や周囲組織、プラークの性状などの影響を含めた検討が必要であった。そこで生体モデルでの測定を行った。モデルは動脈硬化促進ウサギ (WHHL rabbit) の大動脈を用いた。動物実験は「京都大学 動物実験に関する規程」を「京都大学医学研究科・医学部 動物実験の実施規程」を遵守している。WHHL rabbit をペントバルビタール及びイソフルランで全身麻酔管理し、腹部を切開し、腹部大動脈(一部、胸部大動脈を含む)を露出させた。前述の近赤外線反射光測定装置を用いて、近赤外線反射光を測定した。光源の光量や入射角、カメラと対象の距離を変化させた条件で測定を行った。測定後、WHHL rabbit はペントバルビタール過量投与で安楽死させ、測定を行った範囲の大動脈を摘出した。摘出した大動脈は可及的に冷却し-80°で凍

結保存とした。摘出した大動脈から凍結切片を作成し、Oil red O 染色(脂肪染色)を行った。

この手順で得られた組織標本でのプラーク局在及び量(厚み)と近赤外線イメージングシステムで得られた画像でのプラーク分布を比較し近赤外線反射光イメージングシステムの相関を検討した。

【画像解析】

近赤外線カメラで得られた画像データを ENVI ver.4.6(住友電工)を用いて解析した。近赤外線カメラから得られた画像情報には位置情報と各部位における 1000-2500nm 波長光の光量が含まれている(Figure2)。近赤外線は各物質成分においての波長による吸収スペクトルを持つ、また反射においても同様にスペクトルを持つことが知られている。以前の研究で示された様に、脂質成分は概ね 1200nm 付近と 1700nm 付近に吸収スペクトルのピークを持ち、この特徴を利用し水成分と識別可能である。我々は当初、1658nm 及び 1796nm に対する 1714nm の吸収ピーク量(絶対値)を用いて画像化を行った。しかし、この手法で得られた画像では周囲脂肪組織のノイズが大きく、また、部位毎の反射光量の差が大きく組織標本から得られたプラークの分布と十分な整合性が得られなかった。そこで酸化ヘモグロビンの影響による 1109nm 及び 1286nm 波長での光量の比に着目し、1714nm の吸収ピーク量にこの比を乗じることで血管部位のみの脂質成分信号を強調したプラークイメージを作成した。

Figure 2

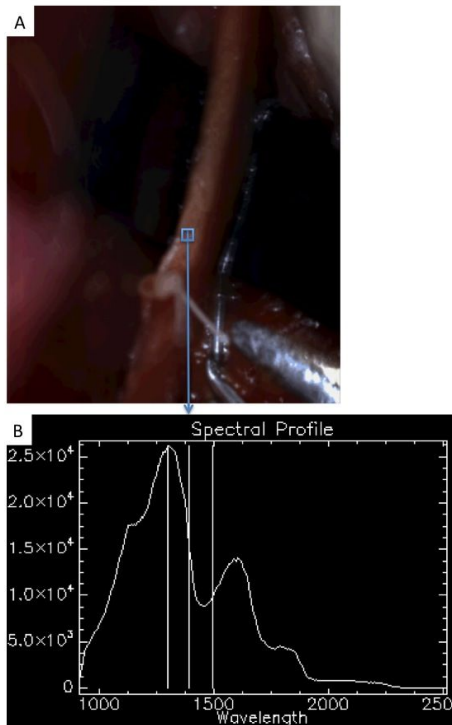


Figure2:

A: WHHL 大動脈可視光画像。

B: 画像情報。各ピクセルに 1000-2500nm の

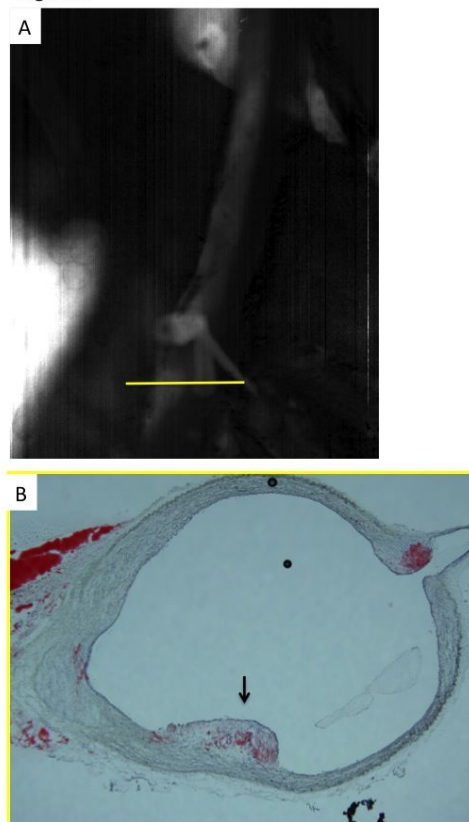
波長での光量情報が含まれる。

4. 研究成果

露出した大動脈に血管外より光を照射し、反射光を近赤外線イメージングシステム Compovision(住友電工)で測定・画像化した。脂質において特徴的な吸収波長を示す 1700nm 付近のピーク等を利用して解析を行うことで血管内プラークが存在する座標ピクセルでの信号強度を強調され、プラークが存在しない部位や周囲組織と識別することが可能となった。Oil red O 染色(脂肪染色)を行った組織標本におけるプラークの局在、同部位の血管壁の厚みを観察し、近赤外線イメージングシステムで得られた画像と比較することで画像の整合性を確認した。結果、前述の 1714nm 波長における吸収ピーク量を用いたプラークイメージにおいて、0.5mm 以下の血管壁に 0.5mm 以上の厚みのプラークが存在する部位を識別できることが確認された(Figure3)。

Figure3:

Figure 3



A: 1714nm 波長付近を利用した近赤外線プラークイメージ。可視光画像(Figure2A)では判別困難であった部位でもプラーク信号(白色)を呈している。

B: Oil red O 染色切片

近赤外線プラークイメージにおける黄線部の組織切片。血管腹側壁に脂肪成分を含む、プラークを認める()。

なお、現在は近赤外線イメージングシステム

で得られた 1000-2500nm 波長の連続スペクトルの画像情報を機械学習の手法を用いて解析し、より精度の高いプラーク同定方法を検討している。

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 1 件)

1. 千原英夫、石井暁、宮本享
「顕微鏡下手術における近赤外線反射光を用いたプラーク局在の同定法」
第 39 回日本脳卒中学会総会 Stroke2014
2014 年 3 月 13 日発表
〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況(計 2 件)

名称：血管内壁分析装置
発明者：岡田一範、菅沼寛、石井暁、宗光俊博
権利者：住友電気工業、京都大学
種類：
番号：特許第 5658146 号
取得年月日：平成 26 年 12 月 5 日
国内外の別：

名称：血管内壁分析装置
発明者：岡田一範、菅沼寛、齊藤達彦、田中正人、石井暁、宗光俊博、岡田英史
権利者：住友電気工業、京都大学
種類：
番号：特許第 5647604 号
取得年月日：平成 26 年 11 月 14 日
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1)研究代表者

石井暁
(京都大学大学院医学研究科脳神経外科)

研究者番号：30467469

(2)研究分担者

岡田英史(慶應義塾大学理工学部)

研究者番号：40221840

(3)連携研究者

()

研究者番号：