様 式 Ｃ－１９、Ｆ－１９、Ｚ－１９ （共通）

科学研究費助成事業　研究成果報告書

平成 ２７ 年　６ 月 １５ 日現在

機関番号：１３４０１
研究種目：若手研究(B)
研究期間：2013～2014
課題番号：２５８６１２６４
研究課題名（和文）虚血性脳血管障害における新たな画像診断技術62Cu-ATSM PETに関する検討

研究課題名（英文）Feasibility of hypoxic imaging tracer 62Cu-ATSM for evaluation of brain ischemic regions in patients with cerebrovascular disease.

研究代表者
磯崎　誠（Isozaki, Makoto）

福井大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：６０４６４０５４

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費）　1,800,000円

研究成果の概要（和文）：虚血性脳血管障害患者に対して3T-MRIを用いた新しい脳血流測定法(ASL法)とPET検査で得られた脳血流データを比較検討した。13名の被験者に対して行い、得られた脳血流データで相関解析を行った。両側大脳半球の中大脳動脈領域に関心領域(ROI)をとった。すべてのROIでの比較や健側と病側との比での比較など行うと統計学的有意な相関関係を認めた。しかし、症例ごとに値のばらつきが大きく、まだ十分な信頼性がないことも分かった。この結果より、ASL法による脳血流評価は今後、PET検査に代わり得る有用な方法の可能性が示唆されたが、その信頼性に関してはまだ十分とは言えず、撮像方法の改良などが必要と思われた。

研究成果の概要（英文）：Between 2013 and 2014, 13 patients with internal carotid artery (ICA) stenosis (>50%) had been admitted to our hospital for carotid endarterectomy. All patients (all men, age 69±8 y), who had both eASL and 150 PET, were included in this study. Regional values for each parametric image of all patients were determined using multiple regions of interest (ROIs) placed on the cortical territories of the bilateral anterior circulation (anterior and middle cerebral artery lesions) and posterior circulation (posterior cerebral artery and cerebellar artery lesions) respectively. A post labeling delay time (PLD) during which the blood flows from the tagged region into the ROIs was set to 1.5 seconds. We had analyzed the correlation between eASL and 150 PET as quantitative CBF values.
The both quantitative CBF values measured with PCASL and 150 PET were significantly correlated in both all ROI plots (r=0.47, y=1.0x-2.4, P<0.0001).

研究分野：脳神経外科

キーワード：脳循環

１．研究開始当初の背景

(1) 虚血性脳血管障害患者における脳血流および酸素代謝の評価は、脳梗塞発症を予見するために重要である。最も信頼性の高い検査法は、^{15}O gas & water をトレーサーとしたポジトロン CT (PET)を用いて脳血流量(CBF)や酸素摂取率(OEF)を測定することで、救済可能な脳血流低灌流状態にある領域を検出することができる。我々はこれまで ^{15}O gas & water PET を用いて脳血管反応性は低下しているが、CBF の低下は認めないような軽度虚血性脳血管障害患者の前向き観察研究を行い、その予後は良好であることを報告した (Annals of Nuclear Medicine 2010 24:371-377)。この研究では脳血管拡張薬であるアセタゾラミドを用いて脳血管反応性を測定した。脳血管反応性の低下も脳梗塞再発の危険因子とされているが、CBF 低下がみられないこの研究対象群では OEF は上昇しておらず、そのため内科的治療による予後は良好であることが示された。また、我々はそれ以前に CBF と CVR の両方が低下していてもそのすべてが救済可能な領域ではないことを報告 (Eur J Nucl Med Mol Imaging 2007 Jan;34(1):121-9)しており、治療方針の決定やその予後を予見するには救済可能な脳血流低灌流状態にある領域の正確な検出が重要であることが再認識された。

(2) しかし、^{15}O gas & water PET による評価法は薬剤合成に高度な設備を要するため施行できる施設が限られており、検査時間も長く、動脈採血ラインを必要とするなど患者への侵襲も大きいという欠点がある。そのため、より短時間、低侵襲で汎用性の高く、かつ正確性も高い検査法の開発が必要であった。我々は国内で最も早く低酸素イメージング PET 薬剤の ^{62}Cu-ATSM に着目し、これの虚血性脳血管障害への応用研究に取り組んできた。この薬剤はトレーサーの酸化還元反応を利用してイメージングを行うもので、近年注目されている薬剤である。我々はこの ^{62}Cu-ATSM PET を用いて OEF 上昇を認める虚血性脳血管障害患者の救済可能な脳血流低灌流状態にある領域を画像化する研究をおこない、その有用性を報告した (Eur J Nucl Med Mol Imaging 2011 Jun;38(6):1075-82)。この研究の手法は早期像(^{62}Cu-ATSM 静脈注射後 3 分間)と後期像(注射後 10 分から 20 分の 10 分間)の平均集積画像を標準化集積値(SUV:Sutandardized Uptake Value)に変換して画像化するものである。SUV は ROI のカウント値を RI 投与濃度と体重で補正した半定量値であり、動脈採血不要で定量的画像を得るための手法である。また、^{15}O gas & water PET も同時期に行い、CBF、OEF や脳酸素代謝率($CMRO_2$)を測定して、^{62}Cu-ATSM 早期像と CBF、^{62}Cu-ATSM 後期像と $CMRO_2$ が有意な正の相関関係にあることを示した。そして、この早期像と後期像の比をとった画像が OEF と近似した画像となることを示した。

２．研究の目的

(1) 今回の研究目的の一つは ^{62}Cu-ATSM PET 画像と実際の脳組織の病理学的変化について動物モデル(ラット)を用いて検討をおこなうことである。^{62}Cu-ATSM PET がラット脳虚血モデルにおいて ischemic core に分布するのか、ischemic penumbra に分布するのか、既に梗塞に陥った後の細胞に分布するのか、またアポトーシス、ネクローシス、炎症などどのような molecular factor と分布が相関するのか、病理組織学的検討を行う。

(2) もう一つの目的は虚血性脳血管障害患者に対する血行再建術などの手術前後に ^{62}Cu-ATSM PET を施行し、その治療効果判定に有用かどうかを検証することである。重度脳虚血患者に対する外科的治療症例に対して ^{15}O gas PET、^{62}Cu-ATSM PET の両方を術前後に行い、症例を集積させる。

３．研究の方法

(1) 脳主幹動脈病変に起因する虚血性脳血管障害患者の中で MRI や脳血管撮影などの画像検査にて頚部内頚動脈 70%以上または頭蓋内主幹動脈 50%以上の狭窄病変あるいは閉塞病変を有する患者を抽出し、^{15}O gas & water PET を行い、脳循環障害の評価をする。その中で Powers 分類の stage2 以上の症例を対象とする (Ann Neurol 1984 16:546-552)。^{15}O gas & water PET 施行後 2 週間以内に

^{62}Cu-ATSM PET を行う(Eur J Nucl Med Mol Imaging 2011 Jun;38(6):1075-82)。脳血管バイパス術、頚動脈内膜剥離や頚動脈ステント留置術などの血行再建術適応患者はそれぞれの手術施行後、約 3 か月目に再び ^{15}O gas & water PET と ^{62}Cu-ATSM PET の両方を行う。脳循環代謝評価以外の治療効果判定として、当院リハビリテーション部においてMMSE（記憶）、Trail Making Test（視覚探索と注意転換）、言語流暢性課題 (Verbal fluency task 前頭葉機能検査)、Motor Impersistence Test（劣位半球症状）Rey 複雑図形テスト（視覚的記名力）、注意検査（視空間無視）の 6 項目の高次脳機能検査を行う。各テストにおける手術前後の変化率、^{15}O gas & water PET、^{62}Cu-ATSM PET について相関解析を行い、^{62}Cu-ATSM が脳血行再建術の効果判定に有用であるかを判定する。予定症例数は約 15 症例とする。

(2) 神経細胞障害と ^{62}Cu-ATSM PET 画像の関係を検討するために、同時に in vivo の動物実験を行う。既に小動物用 PET は福井大学高エネルギー医学研究センターにおいて稼働しており、これまでに健常ラットを用いた酢酸 PET や脳腫瘍モデルを用いた ^{62}Cu-ATSM PET は撮像実績がある。方法は、150-200g の 10 週齢 Sprague-Daulie ラットを用いて、ハロセン吸入麻酔のもと、外科的に頚動脈を露出する。外頚動脈を切断し、ここから内頚動脈内に先端をシリコンコーティングした 4-0 ナイロン糸を挿入し、内頚動脈先端部を閉塞することにより中大脳動脈閉塞を行う。閉塞が確実に生じていることをレーザードップラー血流計により確認することでほぼ 100%に脳梗塞モデルを作成することができる。本モデルを作成後、Day 1、Day3、Day14 の 3 群に分けて ^{62}Cu-ATSM PET を行い同時に sacrifice し、脳切片を作成する。脳切片において ^{62}Cu-ATSM の集積に対応する部位の同定は SICON imager などの三次元計算ソフトを用いて、集積部位、非集積部位の病理組織標本を作成する。これらの切片を HE 染色（壊死、炎症）、アポトーシス関連抗原（Apotac、NO synthase, Caspase など）、低酸素関連抗原（HIF-1alpha、VEGF など）により免疫染色を行い、さらに電子顕微鏡標本作製も行うことで、集積部の病理組織学的特徴を明らかにする。ラットを用いた基礎実験は 5 例を予定している。

(3) しかし、^{62}Cu-ATSM PET に関しては現在、ひと月に一日(2〜4 症例)しか撮影できず、当初の予定通りに研究が進まない可能性も考えられる。その時のバックアップとして同時に 3T-MRI による Continuous Arterial Spin Labeling(CASL)法を用いた脳血流評価を全例に行う(Cerebral Cortex 2011 21 : 233-244)。CASL 法はガドリニウム造影剤を使用せずに CBF を定量的に評価できる MRI の新しい撮像法であり、近年注目されている(Nihon Igaku Hoshasen Gakkai Zasshi. 2003 May;63(5 Suppl):13-7)。通常の保険診療内で行われる 3T-MRI 検査のシーケンスに加えて CASL 法を施行する。約 20 分程度の追加撮影時間で行うことが可能であり、侵襲はほとんどない。しかし、この技術も CBF 定量値について撮像条件で値が大きく変わるなど、その正確性にはまだまだ検討の余地がある。^{62}Cu-ATSM PET も 3T-MRI による CASL 法も次世代を担う革新的脳血流定量法と考えられるが、その正確性や周術期脳血流評価の有用性についての検討が不十分である点で共通している。

４．研究成果

当初は ^{62}Cu-ATSM という低酸素領域を検出できる PET 用薬剤を用いて行う予定であったが、実際には ^{62}Cu-ATSM の供給が安定せず、データ解析するための十分な症例数は得られなかった。そこで、当初よりバックアップとして収集していた、3T-MRI による enhanced Arterial Spin Labeling(eASL)法を用いた脳血流データと ^{15}O gas & water PET 検査で得られた脳血流データとを比較検討した。
2014 年 1 月〜9 月に ^{123}I-IMP SPECT にて stage2 相当の脳循環障害と診断された内頚動脈狭窄症患者連続 13 症例を対象とした。平均年齢 52 歳、全例症候性の片側性病変、平均狭窄率（NASCET 法）は 83%であった。3T-MRI (Signa Excite HD, GE Medical Systems)を用いて、ラベル時間 2 秒、post labeling delay (PLD)を 0.7、1.3、2.0、2.5、3.0 秒の 5 点で測定。低解像度で transit time

(TT) mapping を行った。次にラベル時間 4 秒、PLD0.7 秒で ASL を撮像、TT mapping より得られた TT でこれを補正し、CBF の定量評価を行った。同時期に ^{15}O PET を行い、CBF 等を測定した。中大脳動脈領域に関心領域(ROI)を 1 スライス 1 半球に 5 個、これを 2 スライス設定し、CBF 値の比較や相関性について検討を行った。PET 画像と ASL 画像は Dr. View を用いて fusion させた。260 個すべての ROI にて相関解析をおこなったところ、$r=0.47$, $y=1.0x-2.4$, $P<0.0001$ と統計学的有意な相関関係を認めた(図 1)。

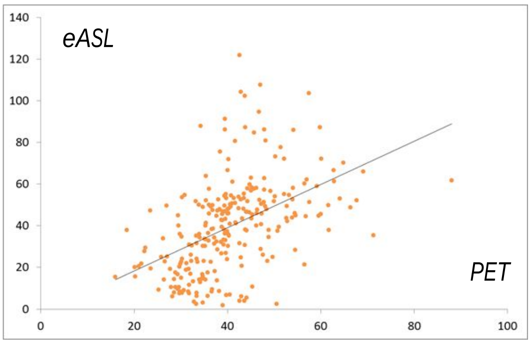

図 1 脳血流量における eASL と PET の相関関係

しかし、個々に検討すると ASL の値は非常に低くなったり、逆に高くなったりするものが散見された。患者個々での脳血管の解剖学的特徴の違いや、脳循環障害の程度によって labeling 効率が変化したり、脳血流の補正が十分行えなかったりすることが一因と考えられた。eASL による CBF 定量法は今後、^{15}O PET 検査に代わり得る有用な検査法の可能性が示唆されたが、その信頼性に関してはまだ十分とは言えず、撮像方法の改良などが必要と思われた。

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　3　件）

1.磯崎誠
内頚動脈狭窄症患者における arterial spin labeling (ASL)による脳血流量の定量的評価に関する検討
第 73 回日本脳神経外科学会学術総会
2014 年 10 月 9 日〜11 日
グランドプリンスホテル新高輪（東京、品川）

2. Isozaki Makoto
Quantitative evaluation of cerebral blood flow using pulsed continuous arterial spin labeling (pCASL): Comparison with quantitative SPECT
International Workshop on Molecular Functional Imaging
2014 年 3 月 3 日〜4 日
ユアーズホテルフクイ（福井）

3. Isozaki Makoto
Feasibility of using pulsed continuous arterial spin labeling technique for quantitative evaluation of cerebral blood flow
XXVIth International Symposium on Cerebral Blood Flow, Metabolism and Function
May 20 to 23, 2013
Shanghai (China)

〔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〕
なし

６．研究組織

(1)研究代表者
磯﨑　誠（Isozaki, Makoto）
福井大学・医学部附属病院・助教
研究者番号：60464054

(2)研究分担者
なし

(3)連携研究者
なし