

平成 30 年 6 月 15 日現在

機関番号：24303

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15H04898

研究課題名(和文) PETによる心血管疾患の活動性の映像化と治療戦略への応用

研究課題名(英文) Vulnerability Assessment of Atherosclerosis by PET

研究代表者

玉木 長良 (Tamaki, Nagara)

京都府立医科大学・医学(系)研究科(研究院)・特任教授

研究者番号：30171888

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,500,000円

研究成果の概要(和文)：分子機能情報の映像化と定量的解析に優れたPETの特徴を活かして、心血管疾患の活動性を映像化した。

実験動物では、動脈硬化の活動性とマクロファージ活性を反映するFDGや低酸素マーカーのFMISOの集積とよく一致した。臨床例では150標識水PETで計測された心筋血流予備能とFFRとは、概ね相関を示した。また上腕動脈の血管弾力性との相関を明らかにした。さらには心サルコイドーシスの活動性病変検出にFDG-PETが役立った。PETは動脈硬化病変の重症度判定や心筋の活動性評価など、治療戦略にかかわる幅広い領域で活用されることが期待できる。

研究成果の概要(英文)：PET permits molecular imaging and quantitative assessment of vascular function. We performed quantitative assessment for experimental and clinical atherosclerosis by PET. FDG as a marker of macrophage and FMISO as a hypoxic marker showed altered glucose metabolism and hypoxic response in diabetic atherosclerosis in rabbits. The PET studies indicated reduced myocardial flow reserve (MFR) in relation to altered FFR in patients with coronary artery disease. In addition, impaired peripheral endothelial function was suggested by oscillometry which was correlated with coronary endothelial dysfunction in smokers. Furthermore, active cardiac sarcoidosis was identified by FDG-PET. Thus, PET permits identification of active atherosclerosis and quantitative assessment of vascular dysfunction. PET should play an important role for risk assessment and patient management in the near future.

研究分野：循環器画像診断

キーワード：PET 動脈硬化 治療戦略 画像診断

1. 研究開始当初の背景

PET は分子機能情報の映像化およびその定量的解析に優れる。この特徴を活かして、心血管疾患の病変の活動性を映像化し、その重症度を含む病態把握や治療効果判定に利用することで、同疾患の治療戦略に応用することが期待される。¹⁸F-fluorodeoxyglucose (FDG)を用いた PET が癌の診断評価に多用されている。最近では FDG がマクロファージの活性に集積し、活動性炎症病変を的確に反映することがわかり、FDG-PET の炎症性疾患への利用が始まっている。中でも動脈硬化の不安定プラークの描出に FDG の集積が役立つことが示され、申請者も動物モデルにおいてその有効性を報告してきた。他方病変の活動性には、炎症細胞浸潤だけでなく、カルシウム(Ca)動員や低酸素状態も有効な指標であることが明らかになっている。そこでこの研究では、炎症マーカーである FDG, Ca 動態マーカーである ¹⁸F-sodium fluoride (NaF)、低酸素マーカーの ¹⁸F-fluoromisonidazole (FMISO)の3つの病変活動性を反映する PET 薬剤の集積性を統合的に検討し、病態評価や治療効果判定に応用することを思い立った。

2. 研究の目的

この研究では、まず動脈硬化モデル動物を用いて PET 用の薬剤の集積機序について検討する。実際には活動性マーカーとなりうる FDG をはじめ、Ca 動態マーカーである NaF, 低酸素マーカーの FMISO など、いくつかの PET 薬剤の集積の程度と免疫・病理組織学的所見との対比からプラークの活動性病変の同定と治療効果判定について検討する。また臨床では、PET の優れた定量性を活かして、動脈硬化症例における血管の反応性から心筋血流予備能 (Myocardial flow reserve: MFR)を算出し、動脈硬化の病態把握を試みる。実際にはこれら基礎的・臨床的検討により、適切な PET の手法を利用して動脈硬化の活動性を把握し、治療戦略に繋げることを目指す。さらには、より簡便に微小循環障害を定量的に解析する方法として、上腕動脈の血管反応性を計測する新しい計測法も導入し、その意義についても検討を加える。

3. 研究の方法

(1) 動脈硬化マウスモデルや動脈硬化自然発症家兔を用いて、FDG をはじめ種々の放射性薬剤の集積度をインビトロおよびインビボで検討した。具体的には、マウス腹腔内マクロファージを摂取し、その分極化の程度と PET 用薬剤の集積性を比較検討した。また動脈硬化モデル動物 ApoE^{-/-}マウスを用いたインビボでの FMISO のとりこみ評価を行い、病理組織学的な対比を進めた。さらにはインスリン依存性糖尿病家兔を用いた動脈硬化

モデルでも PET 薬剤の集積性についての検討を加えた。

(2)臨床例での動脈硬化例として、¹⁵O 標識水を用いた心筋血流量(MBF)の定量化を PET の動態計測で行い、安静時 MBF と最大負荷 MBF との反応性から MFR)を求め、多くの臨床例で検討を行った。また臨床で最近よく用いられるようになった冠動脈造影の際に冠動脈狭窄前後で計測した圧格差 (Fractional flow reserve: FFR)と MFR とを対比検討した。他方、比較的アプローチの容易な末梢血管の血管反応性を見る方法として、ニトログリセリンによる血管反応性の両者を超音波オシロスコープで計測する方法を新しく導入した。これを用いて Flow Mediated Dilatation (FMD)を計測し、その方法を確立すると共に、MFR との対比検討を進めた。さらには心筋の活動性病変として、心臓サルコイドーシスを対象として、FDG-PET や造影 MRI 所見と対比し、心サルコイドーシスの診断やその病態評価の意義について検討を加えた。

4. 研究成果

(1) CO₂ インキュベータ内で 24 時間培養した (M0 マクロファージ) 群と極性化の進んだ二種類のマクロファージでの比較検討では、FDG の集積は極性化の進んだ二種類の群で集積は増加した。また低酸素の環境下では、FMISO の集積はどの群でも増加した。とりわけ IL-4 を添加して M2 マクロファージへ極性化した群では FMISO の集積が著明に更新していた (図 1) (文献 1)。

家兔を用いた動脈硬化モデルでは、動脈硬化病変への FDG の集積は病理組織で得られた動脈硬化病変の macrophage の活動性とよく相関した。また低酸素のマーカーである Pimonidazole 染色とも相関し、FDG の集積は macrophage 活性と共に低酸素を反映していることが示唆された (図 2)。ただ糖尿病性家兔では、低酸素が進むにもかかわらず HIF-1 は低下し、FDG の集積が低下することが示された (文献 2)。他方別の動脈硬化家兔モデルに、アンジオテンシン II 受容体拮抗薬の Irbesartan を投与の有無について検討したところ、動脈硬化の退縮と共に FDG の集積が抑制されることが確認できた (文献 3)。

このような基礎的検討は、PET 薬剤の集積機序を明確にすると共に、動脈硬化病変の進展や退縮などを理解することで、種々の治療戦略に応用できる可能性が示唆される。臨床では FDG が主に利用されているが、今後 NaF や FMISO も利用される可能性が高い。これらの基礎的成果を活用して、臨床の目的に応じた PET 薬剤の的確な使い分けが必要になることが予想される。

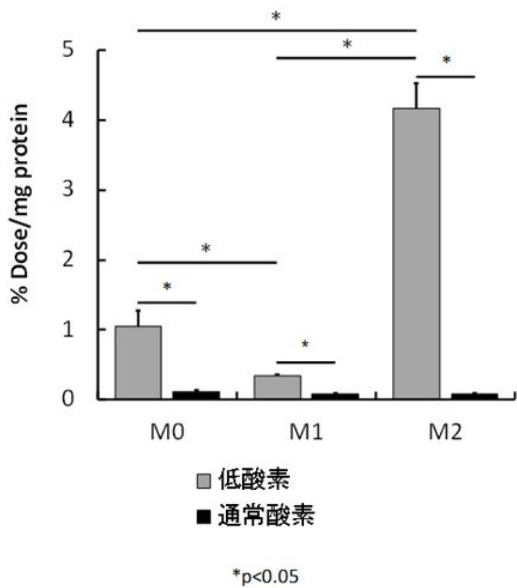


図1：極性化マクロファージへの FMISO の取り込み

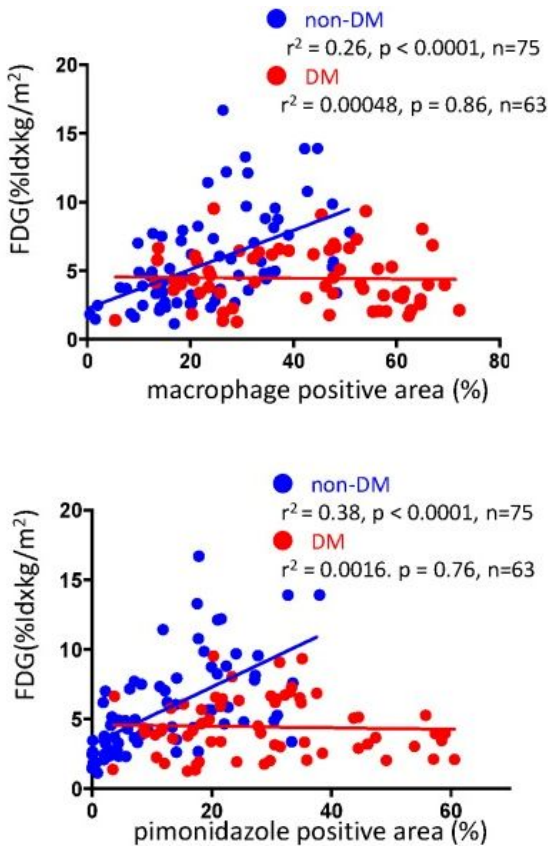


図2：動脈硬化家兎における FDG の集積と macrophage 活性(上段)および pimonidazole 染色(下段)との関係。

(2)臨床例では、種々の微小循環障害を有する症例での ¹⁵O 標識水 PET で計測された MFR と、FFR と対比した。両者は概ね相関はあるものの、微小循環障害を伴う例では、FFR は維持され、MFR の低下するような両者の乖離を示すことも証明できた(文献 4)。

他方、動脈硬化を外部から容易に計測する手段として、上腕動脈の内径を計測し、外部からの圧迫による内径の変化をオシロスコープで計測する血管弾力性の定量的計測法を開発し、その再現性を確認できた(文献 5,6)。冠動脈の反応性と末梢動脈の反応性は若干異なっているものの、冠動脈の反応性と末梢循環の微小循環機能を反映する FMD との関係は相関が得られた。他方、心筋血流予備能(CFR)と末梢血管のニトログリセリンの反応性との間には有意な関係は得られなかった(図 3)。慢性喫煙例などの微小循環障害の異常を検出できる点では、両者とも有効な測定法であることが確認できたが、中でも微小循環障害を判定する CPT の反応性や FMD が役立つことが示唆された。他方ニトログリセリンの血管反応性は喫煙による影響をあまり反映できなかった。

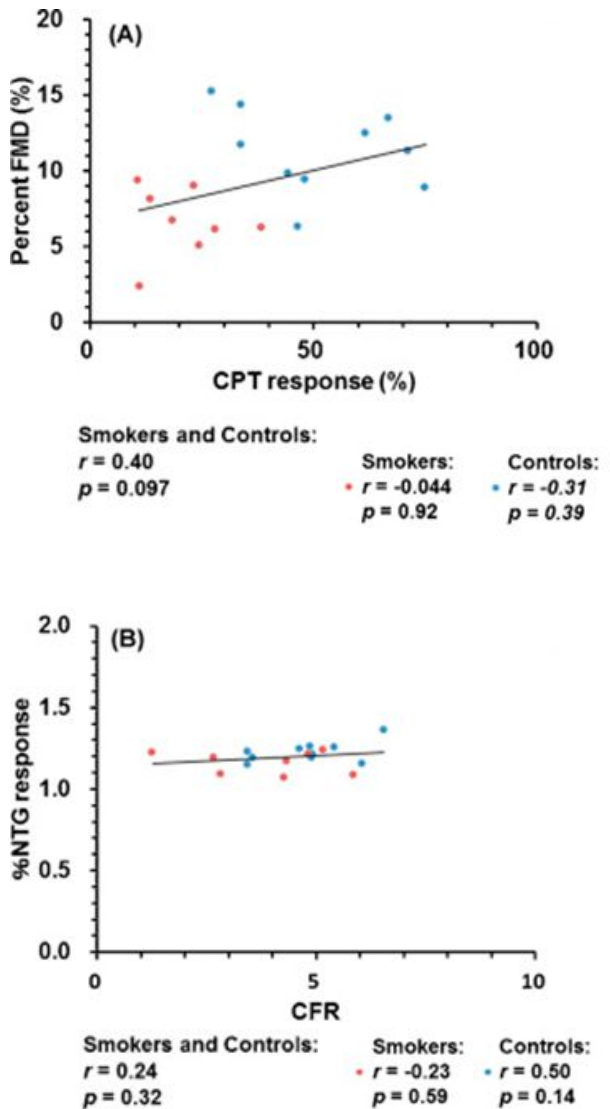


図3 喫煙例(赤)と非喫煙例(青)の冠動脈の反応性と末梢循環の反応性 FMD との関係(A)および心筋血流予備能(CFR)と末梢血管のニトログリセリンの反応性との関係(B)

他方、心臓サルコイドーシスの疑われた症例に絶食下で FDG-PET を行い、心筋内の活動性の有無より心臓サルコイドーシスの診断を進めている。その際、18 時間以上の絶食状態で FDG を投与し、FDG の心筋への生理的集積を抑制することが大切である。特に投与時の血清遊離脂肪酸が十分高値であることを確認することが、病的集積と生理的集積とを鑑別する上で役立つことが明らかとなった(文献 7)。また低酸素のマーカーである FMISO を用いると、心筋への生理的集積がなく、心臓サルコイドーシスの診断精度を上げることに役立つことも分かった(文献 8)。多施設で豊富な症例で検討した結果、FDG は心臓サルコイドーシスの中でも新しく AV block などの所見を伴う活動性病変に集積するのに対し、造影 MRI は心筋線維化を含む慢性の心臓サルコイドーシスの病変の同定に役立つことが判明した(文献 9)。両者の検査は、現在世界中で心臓サルコイドーシスの診断評価に利用され始めているが、多くの臨床データから各々の検査の異なった角度からの病態評価ができることが示唆された。

今後動脈硬化をはじめ、心筋や血管の活動性炎症などの的確な評価が求められる。その際に測定した計測法の妥当性、定量的指標の再現性、計測法の簡便化を模索することが重要となる。PET は心血管病変の活動性を客観的、定量的に評価できるだけでなく、動脈硬化にかかわる血管反応性や微小循環障害を正確に計測できる。また治療前後に評価することで治療戦略に役立つ画像診断計測法が確立され、その応用が広がることが予想される。今回の基礎的な検討結果、FDG や FMISO の集積が心血管病変の活動性を反映することが示され、それを心サルコイドーシスに応用できることが明らかとなった。本研究で得られた成果に基づき、今後 PET を用いた血管の動脈硬化計測や、心筋の活動性病変に関する定量的評価が、動脈硬化病変や心筋炎症性疾患の診断はもちろん、重症度から治療戦略に至る幅広い領域で活用されることが期待できる。

< 引用文献 >

1. Shimizu Y, Hanzawa H, Zhao Y, Fukura S, Nishijima KI, Sakamoto T, Zhao S, Tamaki N, Ogawa M, Kuge Y. Immunoglobulin G (IgG)-based imaging probe accumulates in M1 macrophage-infiltrated atherosclerotic plaques independent of IgG target molecule expression. *Mol Imaging Biol.* 2017 Aug;19(4):531-539.
2. Matsuura Y, Yamashita A, Zhao Y, Iwakiri T, Yamasaki K, Sugita C, Koshimoto C, Kitamura K, Kawai K, Tamaki N, Zhao S, Kuge Y, Asada Y. Altered glucose metabolism and hypoxic response in alloxan-induced diabetic atherosclerosis in rabbits. *PLoS One.* 2017 Apr 14;12(4):e0175976.

3. Zhao Y, Fukao K, Zhao S, Watanabe A, Hamada T, Yamasaki K, Shimizu Y, Kubo N, Ukon N, Nakano T, Tamaki N, Kuge Y. Irbesartan attenuates atherosclerosis in Watanabe heritable hyperlipidemic rabbits: noninvasive imaging of inflammation by ¹⁸F-fluorodeoxyglucose positron emission tomography. *Mol Imaging.* 2015;14. doi: 10.2310/7290.2015.00004.
4. Manabe O, Naya M, Tamaki N. Feasibility of PET for the management of coronary artery disease: Comparison between CFR and FFR. *J Cardiol.* 2017 Aug;70(2):135-140
5. Ochi N, Yoshinaga K, Ito YM, Tomiyama Y, Inoue M, Nishida M, Manabe O, Shibuya H, Shimizu C, Suzuki E, Fujii S, Katoh C, Tamaki N. Comprehensive assessment of impaired peripheral and coronary artery endothelial functions in smokers using brachial artery ultrasound and oxygen-15-labeled water PET. *J Cardiol.* 2016 Oct;68(4):316-23.
6. Yoshinaga K, Fujii S, Tomiyama Y, Takeuchi K, Tamaki N. Anatomical and functional estimations of brachial artery diameter and elasticity using oscillometric measurements with a quantitative approach. *Pulse (Basel).* 2016 Jul;4(1):1-10.
7. Manabe O, Yoshinaga K, Ohira H, Masuda A, Sato T, Tsujino I, Yamada A, Oyama-Manabe N, Hirata K, Nishimura M, Tamaki N. The effects of 18-h fasting with low-carbohydrate diet preparation on suppressed physiological myocardial (18)F-fluorodeoxyglucose (FDG) uptake and possible minimal effects of unfractionated heparin use in patients with suspected cardiac involvement sarcoidosis. *J Nucl Cardiol.* 2016 Apr;23(2):244-52.
8. Manabe O, Hirata K, Shozo O, Shiga T, Uchiyama Y, Kobayashi K, Watanabe S, Toyonaga T, Kikuchi H, Oyama-Manabe N, Tamaki N. ¹⁸F-fluoromisonidazole (FMISO) PET may have the potential to detect cardiac sarcoidosis. *J Nucl Cardiol.* 2017 Feb;24(1):329-331.
9. Ohira H, Birnie DH, Pena E, Bernick J, Mc Ardle B, Leung E, Wells GA, Yoshinaga K, Tsujino I, Sato T, Manabe O, Oyama-Manabe N, Nishimura M, Tamaki N, Dick A, Dennie C, Klein R, Renaud J, deKemp RA, Ruddy TD, Chow BJ, Davies R, Hessien R, Liu P, Beanlands RS, Nery PB. Comparison of (18)F-fluorodeoxyglucose positron emission tomography (FDG PET) and cardiac magnetic resonance (CMR) in corticosteroid-naive patients with conduction system disease due to cardiac sarcoidosis. *Eur J Nucl Med Mol Imaging.* 2016 Feb;43(2):259-69.

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 9 件)

1. Shimizu Y, Hanzawa H, Zhao Y, Fukura S, Nishijima KI, Sakamoto T, Zhao S, Tamaki N, Ogawa M, Kuge Y. Immunoglobulin G

- (IgG)-Based Imaging Probe Accumulates in M1 Macrophage-Infiltrated Atherosclerotic Plaques Independent of IgG Target Molecule Expression. *Mol Imaging Biol.* 2017 Aug;19(4):531-539. doi: 10.1007/s11307-016-1036-8.
2. Matsuura Y, Yamashita A, Zhao Y, Iwakiri T, Yamasaki K, Sugita C, Koshimoto C, Kitamura K, Kawai K, Tamaki N, Zhao S, Kuge Y, Asada Y. Altered glucose metabolism and hypoxic response in alloxan-induced diabetic atherosclerosis in rabbits. *PLoS One.* 2017 Apr 14;12(4):e0175976. doi: 10.1371/journal.pone.0175976. eCollection 2017.
 3. Zhao Y, Fukao K, Zhao S, Watanabe A, Hamada T, Yamasaki K, Shimizu Y, Kubo N, Ukon N, Nakano T, Tamaki N, Kuge Y. Irbesartan attenuates atherosclerosis in Watanabe heritable hyperlipidemic rabbits: noninvasive imaging of inflammation by 18F-fluorodeoxyglucose positron emission tomography. *Mol Imaging.* 2015;14. doi: 10.2310/7290.2015.00004.
 4. Manabe O, Naya M, Tamaki N. Feasibility of PET for the management of coronary artery disease: Comparison between CFR and FFR. *J Cardiol.* 2017 Aug;70(2):135-140. doi: 10.1016/j.jjcc.2017.03.002. Epub 2017 Mar 17.
 5. Ochi N, Yoshinaga K, Ito YM, Tomiyama Y, Inoue M, Nishida M, Manabe O, Shibuya H, Shimizu C, Suzuki E, Fujii S, Katoh C, Tamaki N. Comprehensive assessment of impaired peripheral and coronary artery endothelial functions in smokers using brachial artery ultrasound and oxygen-15-labeled water PET. *J Cardiol.* 2016 Oct;68(4):316-23. doi: 10.1016/j.jjcc.2015.10.006.
 6. Yoshinaga K, Fujii S, Tomiyama Y, Takeuchi K, Tamaki N. Anatomical and Functional Estimations of Brachial Artery Diameter and Elasticity Using Oscillometric Measurements with a Quantitative Approach. *Pulse (Basel).* 2016 Jul;4(1):1-10. doi: 10.1159/000444368.
 7. Manabe O, Yoshinaga K, Ohira H, Masuda A, Sato T, Tsujino I, Yamada A, Oyama-Manabe N, Hirata K, Nishimura M, Tamaki N. The effects of 18-h fasting with low-carbohydrate diet preparation on suppressed physiological myocardial (18F)-fluorodeoxyglucose (FDG) uptake and possible minimal effects of unfractionated heparin use in patients with suspected cardiac involvement sarcoidosis. *J Nucl Cardiol.* 2016 Apr;23(2):244-52. doi: 10.1007/s12350-015-0226-0. Epub 2015 Aug 5.
 8. Manabe O, Hirata K, Shozo O, Shiga T, Uchiyama Y, Kobayashi K, Watanabe S, Toyonaga T, Kikuchi H, Oyama-Manabe N, Tamaki N. 18F-fluoromisonidazole (FMISO) PET may have the potential to detect cardiac sarcoidosis. *J Nucl Cardiol.* 2017 Feb;24(1):329-331. doi: 10.1007/s12350-016-0495-2. Epub 2016 Apr 12.
 9. Ohira H, Birnie DH, Pena E, Bernick J, Mc Ardle B, Leung E, Wells GA, Yoshinaga K, Tsujino I, Sato T, Manabe O, Oyama-Manabe N, Nishimura M, Tamaki N, Dick A, Dennie C, Klein R, Renaud J, deKemp RA, Ruddy TD, Chow BJ, Davies R, Hessian R, Liu P, Beanlands RS, Nery PB. Comparison of (18)F-fluorodeoxyglucose positron emission tomography (FDG PET) and cardiac magnetic resonance (CMR) in corticosteroid-naïve patients with conduction system disease due to cardiac sarcoidosis. *Eur J Nucl Med Mol Imaging.* 2016 Feb;43(2):259-69. doi: 10.1007/s00259-015-3181-8. Epub 2015 Sep 11.
- 〔学会発表〕(計 6 件)
1. Tamaki N: Molecular imaging for cardiovascular medicine. (Keynote lecture) 2016 Northeastern Asian Conference on Molecular Imaging-based Precision. Nov 10-13, 2016 (Hangzhou, China)
 2. Tamaki N: Radionuclide molecular imaging of heart failure and myocarditis. (Symposium) International Society of Cardiomyopathy and Heart Failure (ISCHF) Congress 2016. Dec 2-4, 2016 (Kyoto)
 3. Tamaki N: How to optimize myocardial glucose metabolism for assessing inflammation /injection. International Conference on Nuclear Cradiology and Cardiac CT. May 7-9, 2017 (Vienna)
 4. Tamaki N: Emerging role of cardiac perfusion PET and CFR. In Multimodal Imaging for Myocardial Perfusion Evaluation. The 61st Annual Scientific Meeting of the Korean Society of Cardiology. (Educational Seminar). October 12-14, 2017 (Seoul)
 5. 玉木長良：Future Direction of Nuclear Cardiology (特別講演) 第 27 回日本心臓核医学会総会，東京，2017.6. 16-17
 6. 玉木長良：循環器画像診断の進歩：PET/CT. (教育講演) 第 65 回日本心臓病学会学術集会、大阪 2017.9. 29-10.1
- 〔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

玉木 長良 (TAMAKI, Nagara)
京都府立医科大学・医学(系)研究科(研
究院)・特任教授
研究者番号：30171888

(2) 研究分担者

久下 裕司 (KUGE, Yuji)
北海道大学・アイソトープ総合センター
(医学研究院)・教授
研究者番号：70321958

吉永恵一郎 (YOSHINAGA, Keiichirou)
北海道大学・医学研究科(研究院)・客
員研究員
研究者番号：30435961

中山 若樹 (NAKAYAMA, Wakaki)
北海道大学・医学研究科(研究院)・講
師
研究者番号：40421961

納谷 昌直 (NAYA, Masanao)
北海道大学・大学病院・講師
研究者番号：20455637

真鍋 徳子 (Manabe, Noriko)
北海道大学・大学病院・講師
研究者番号：70463742

小川 美香子 (OAGAWA, Mikako)
北海道大学・薬学研究院・教授
研究者番号：20344351