

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 29 日現在

機関番号：82610

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2012～2016

課題番号：24591807

研究課題名(和文)急性心筋梗塞後：PETによる修復過程のモニタリング

研究課題名(英文)After acute myocardial infarction: monitoring the repairing process by PET

研究代表者

諸岡 都 (Morooka, Miyako)

国立研究開発法人国立国際医療研究センター・その他部局等・その他(移行)

研究者番号：90535775

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)：臨床的パイロットスタディで再還流後心筋梗塞領域に¹¹C-メチオニンやヘパリン負荷¹⁸F-FDGが集積することが示されていたが(Morooka et al. JNM2009)、基礎研究でもメチオニンが炎症細胞に集積すること、時間経過とともに減弱することが確認され(Taki et al. JNM2013)、ダメージ心筋の評価に役立つと思われる。臨床研究では、正常心筋への生理的集積抑制のための前処置について、我々はヘパリンよりも長時間絶食のほうが炎症描出には適当であることを報告し(Morooka et al. EJNMMI Res2014)、心臓の炎症描出FDG PETの手法確立に寄与した。

研究成果の概要(英文)：In the pilot study, we showed the increased uptake of both ¹¹C-methionine and ¹⁸F-FDG with heparin loading method, in the damage area after reperfusion of acute myocardial infarction(Morooka, et al. JNM2009). In the basic study, we showed the methionine increased uptake area corresponded well to the macrophage infiltrations demonstrated by positive CD68 staining(Taki, et al. JNM2013) and the methionine images might be useful for the assessment of the repairing process in the damage area. In the clinical, we showed the long fasting was better than the heparin loading method for inhibiting physiological myocardial ¹⁸F-FDG uptake (Morooka et al. EJNMMI Res2014). We contributed to the establishment of cardiac ¹⁸F-FDG PET inflammatory images method.

研究分野：核医学

キーワード：炎症 PET メチオニン FDG 心筋梗塞 心サルコイドーシス 再灌流後

1. 研究開始当初の背景

虚血性心疾患における形態画像の進歩は著しく、冠動脈描出、急性期心筋梗塞の左室壁障害などがCT、MRIで詳細に描出されるようになってきた。その結果、心臓核医学には、従来の血流、代謝および心機能の評価に加え、分子レベルでの詳細な治療評価判定が求められてきている。

心筋の分子イメージングとして、心筋の主要な代謝基質のトレーサーである¹²³I-BMIPP、¹⁸F-FDG、血流診断の^{99m}Tc-MIBI、²⁰¹Tlなどが従来用いられてきた。これらは心筋梗塞後の血流や心筋バイアピリティなどを反映するが、急性期からの炎症性細胞の浸潤や線維性組織の生成などの修復状態を反映しているとはいえない。障害心筋を描出する分子イメージングとしては、古くは^{99m}Tc-ピロリン酸や¹¹¹In 標識抗ミオシン抗体が検討されてきた。近年、¹¹¹In 標識抗テネシン C 抗体や¹⁸F-Garacto-RGD など細胞外基質糖タンパクを構成するインテグリンファミリーをターゲットとし、血管新生のモニタリングやアンジオテンシン などレセプターを狙った研究が動物実験(PET、SPECT)で行われている。これらは、ターゲット分子が明確なイメージング剤である反面、きわめて特殊な薬剤であり、開発者以外の施設での研究使用には多くの困難を伴う。また、種差の影響からかマウスからヒトへの応用が困難である。我々は、すでに临床上使用されている薬剤で、同様に障害心筋の状態を描出する薬剤として¹¹C-メチオニンとヘパリン負荷¹⁸F-FDGに着目し、パイロットスタディでその可能性を明らかにした(Morooka M, et al JNM2009, Morooka M, et al SNM2012)。

<パイロットスタディの内容>

¹¹C-メチオニン:¹¹C-メチオニンはFDGに次ぐPET 薬剤として脳腫瘍の診断などにすでに多くの実績があり、国内でも20を超える施設で用いられているが、心疾患への応用は未知であった。ただ、約25年前にBarrio らが¹³Nおよび¹¹C-L型アミノ酸を用い、犬における梗塞後の再灌流部分に集積が見られたとする報告を行っている。¹¹C-メチオニンは、アミノ酸代謝のみならず、アミノ酸輸送やトランスメチレーションを反映することが知られている。また、近年、脳腫瘍の分野ではメチオニンの集積と血管新生との関連性が報告されている。そこで、先のBarrio らの報告をもとに、¹³N-および¹¹C-L型アミノ酸と同様に¹¹C-メチオニンが梗塞後心筋に集積し、血管新生を含めた一連の心筋リペア作用を反映する可能性があるのではないかと仮説をたて、早期再灌流に成功した心筋梗塞の患者にパイロットスタディとして¹¹C-メチオニンPETの撮像を行ったところ、梗塞領

域にメチオニンが集積することが明らかとなった。

ヘパリン負荷¹⁸F-FDG:正常心筋細胞におけるエネルギー代謝は約2/3が脂肪酸、1/3が糖によって賄われている。悪性腫瘍診断に用いられている¹⁸F-FDGは、心臓核医学分野では、その生理的集積が正常心筋細胞に見られることから、様々な前処置を行って¹⁸F-FDGを投与することが多い。虚血性心疾患においては、viabilityの判断を行うために糖負荷を前処置として行ってきた。心サルコイドーシスなど活動性炎症病変を評価する際は、ヘパリン負荷などを行う。(ヘパリン負荷¹⁸F-FDGのメカニズム:正常心筋は糖利用を行うので¹⁸F-FDGが生理的集積を伴ってしまい、たとえ活動性炎症病変があったとしてもコントラストが付きにくくわかりにくい。そこでヘパリンを前処置として投与する。ヘパリン作用は、血中脂肪酸を約3倍に上昇させ、正常心筋細胞において脂肪酸を利用しやすい状態にする。こうしたヘパリン負荷の状態では¹⁸F-FDGを投与すると、正常心筋細胞は遊離脂肪酸を利用し¹⁸F-FDGを利用しなくなり、正常心筋細胞へのFDGの生理的集積は抑制された状態となる。)

今回、我々は、心筋梗塞後は壊死層に炎症細胞が豊富に浸潤することから、ヘパリン負荷を前処置として行うと¹⁸F-FDGが梗塞領域の炎症に集積するのではないかと考え、再灌流後の患者にパイロットスタディを行った。結果、早期の心筋梗塞領域にヘパリン負荷¹⁸F-FDGが集積することが明らかとなり、また、集積の度合いはpeak CRPや白血球数と相関する傾向が見られた。心筋梗塞後のダメージ領域の炎症評価にヘパリン負荷¹⁸F-FDGが利用できるのではないかと思われた。急性期における炎症抑制が予後に関連し、CRP、WBC、IL-6、TNF α 、血清アミロイド A タンパク質(SAA)などが血中マーカーとして知られているが、これらは全身の炎症を反映し、必ずしも心筋だけの炎症を反映したわけではない。ヘパリン負荷¹⁸F-FDGはダイレクトに心臓の炎症描出が可能ではないかと考えられた。

2. 研究の目的

再灌流後の急性心筋梗塞の修復過程や炎症を¹¹C-メチオニンPETおよびヘパリン負荷¹⁸F-FDG PETでもモニタリングする。臨床研究が先行した¹¹C-メチオニンに関しては、心筋梗塞後再灌流モデルラットを用いた基礎実験においてもメチオニンが集積するかどうかを確認し、集積した場合はどのような細胞に集積するかを調べる。ヘパリン負荷¹⁸F-FDGに関しては、さらに症例検討を推

し進め、集積の意義や予後との関係を見ていく。11C-メチオニン PET、ヘパリン負荷 18FDGPET とともに治療戦略に役立てることを最終目的とする。

3. 研究の方法

メチオニンの基礎研究：虚血再灌流モデルラットの 1, 7, 14, 28 日後、3, 6 か月後に 3 核種(14C-メチオニン, 201TI, 99mTc-MIBI)を投与しトリプルオートラジオグラフィーを施行する(まず、オートラジオグラフィーのための条件の検討を行い、その後、オートラジオグラフィーの解析を行う)。また、心筋組織標本による病理学的検討も行う。

ヘパリン負荷 18F-FDG PET, 11C-メチオニン PET による臨床研究：201TI, 123I-BMIPP、心エコー所見とともに再灌流後患者に投与し撮像、継時的変化を臨床経過とともに観察する。

4. 研究成果

基礎研究：研究分担者である金沢大放射線核医学科・滝淳一らにより行われた。

<トリプルオートラジオグラフィー>

再灌流モデルラット(雄のウイスターラット。8-12 週齢。左冠動脈を 30 分閉塞後再灌流したモデル。あとでトレーサー投与時に再度左冠動脈を閉塞し area at risk を描出するため糸を残して閉胸した)を作成し 1, 7, 14, 28 日後、3, 6 か月後(それぞれ 5-6 匹)に再開胸し、14C-メチオニン、201TI(心筋 viability を見るため)、99mTc-MIBI (area at risk を描出するため)を投与したのち、トリプルオートラジオグラフィーを施行した。14C-メチオニンの集積の程度を 201TI, 99mTc-MIBI と視覚的に評価すると、14C-メチオニンは 3 日以降に 99mTc-MIBI で血流欠損部の内部に認められ、201TI との比較ではおおむね 201TI の集積低下部に一致して 14C-メチオニンの集積を認めた。定量的解析では、正常部との集積比を算出したところ、201TI では正常部に対し集積比は $0.35 \pm 0.13 \sim 0.66 \pm 0.10$ 程度であった一方、14C-メチオニンの集積は再灌流後 3 日後で 1.79 ± 0.23 と正常部に対し増大していた。メチオニンの増加した集積は徐々に低下していくものの、14 日までは正常部に対し 1.31 ± 0.12 程度と明らかな集積増大といえた。3, 6 か月後ではほとんど正常部と同程度の集積となっていた。

<心筋組織標本における病理学的検討>

Hematoxylin-eosin(HE)染色では、再灌流 1 日後に心筋の凝固壊死を認め、心筋繊維間に好中球の浸潤を認めた。3 日後には梗塞部の変性した心筋細胞間にマクロファージの浸潤を認めた。壊死組織は炎症の活動性の変化とともに徐々に肉芽組織に置換され、2-4 週では線維性肉芽組織に置換されていた。マクロファージに特異的抗体である CD68 と

myofibroblast のマーカーである smooth muscle actin に対するモノクローナル抗体による免疫組織染色でその分布と 14C-メチオニン集積分布を比較検討した。3 日後では CD68 陽性部はメチオニン集積とよく一致し、さらに 7 日目でも両者の分布はよく一致していた。一方、fibroblast は 7 日目から優位に出現し、14, 28 日以降にも認められた。これにより、再灌流後 3~7 日の強いメチオニン集積はマクロファージの浸潤を反映し、14 日目以降の弱いメチオニンの集積は組織修復にあたる fibroblast を反映していると考えられた。

臨床研究：ヘパリン負荷 18F-FDG

本研究開始後、心臓における活動性炎症をよりたたく描出するための前処置の方法が、世界的に大きく変化することとなった。すなわち、ヘパリン負荷が主流であったが、18 時間以上の長時間絶食や高脂肪食を前処置とするほうが、心臓の正常細胞の 18F-FDG 生理的集積をより抑制できるのではないかと報告されてくるようになった。

もともとこれらの議論は、どこにあるかわからない心臓サルコイドーシスの活動性炎症病変をいかにきちんと描出するかということに関する前処置の論議であり、再灌流後の虚血性心疾患はダメージ領域が最初から明らかであるので、手法の再確認が本当に必要かどうかは明らかではなかった。しかし、心サルコイドーシスでヘパリン負荷と比較し、新しく提唱されてきた長時間絶食などによってどれほど正常心筋細胞への生理的集積の抑制具合が異なるかを確認することは、今後の我々の虚血性心疾患における研究に関しても主として定量的評価にかかわるのではないかと判断し、ヘパリン負荷と 18 時間以上の長期絶食とで生理的集積抑制について我々も調べることにした。

健常人 37 名(前処置：heparin 負荷 18 名、長時間絶食 19 名)、心サルコイドーシス疑い患者 165 名(heparin 負荷 96 名、長時間絶食 69 名)に対し 18F-FDG PET を撮像した。画像は、肝臓への生理的集積と比較した 4 段階で視覚的評価を行った(1 lower, 2 similar, 3 somewhat higher, 4 noticeably higher)。結果、健常人、患者ともに長時間絶食後のほうが有意に生理的集積は抑制されていた($p < 0.0001$)。また、logistic regression や regression tree 解析でも長時間絶食のほうがより生理的集積を抑制することが判明し、また、長時間絶食でも遊離脂肪酸(free fatty acid)が 0.76 以上であると有意に生理的集積が抑制されたことが判明した。健常人の画像からは、どの程度長時間絶食がヘパリン負荷と比べて生理的集積抑制に有利かということに加え、どうしても抑制できない心臓の生理的集積パターンも判明し提示した。

このように、18F-FDG PET のほうでは、炎症描出 FDG PET の前処置に対する方法論を確

立するのに貢献した。ヘパリン負荷にくらべ長時間絶食など新手法では正常心筋への集積がほとんどみられないくらい集積が抑制される場合が多いので、急性心筋梗塞後の炎症浸潤を視覚的評価に加え定量的評価を行う場合、重要な方法論であると考えられる。

当初の目的では、研究期間内に治療経過におけるその他の画像マーカー、採血結果、症状などとの相関関係などを調べることであった。今回、手法自体の見直しが必要となつてしまい目的に到達できなかったが、炎症評価における 18F-FDG の前処置について我々が研究考察したことは、炎症 FDG PET 自体が役立つということが立証された点、ゆくゆくは炎症評価における定量的評価、また、心サルコイドーシス、急性心筋梗塞後それぞれの炎症治療効果判定に役立つと考えられる。

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 6 件)

Taki J, Wakabayashi H, Inaki A, Imanaka-Yoshida K, Hiroe M, Ogawa K, Morooka M, Kubota K, Shiba K, Yoshida T, Kinuya S. 14C-Methionine uptake as a potential marker of inflammatory processes after myocardial ischemia. *Journal of Nuclear Medicine*:2013; 54: 431-6. doi: 10.2967/jnumed.112.112060. Epub 2013 Jan 15.

Ito K, Morooka M, Okazaki O, Minamoto R, Kubota K, Hiroe M. Efficacy of heparin loading during an 18F-FDG PET/CT examination to search for cardiac sarcoidosis. *Clinical Nuclear Medicine*: 2013; 38: 128-130. doi: 10.1097/RLU.0b013e318266cb25.

Morooka M, Moroi M, Uno K, Ito K, Wu J, Nakagawa T, Kubota K, Minamoto R, Miyata Y, Okasaki M, Okazaki O, Yamada Y, Yamaguchi T, Hiroe M. Long fasting is effective in inhibiting physiological myocardial 18F-FDG uptake and for evaluating active lesions of cardiac sarcoidosis. *European Journal of Nuclear Medicine Research* 2014. doi: 10.1186/2191-219X-4-1.

Minamoto R, Morooka M, Miyata Y, Ito K, Okasaki M, Hara H, Okazaki O, Moroi M, Kubota K. Incidental focal FDG uptake in heart is lighthouse for considering cardiac screening. *Annals of Nuclear Medicine* 2013: 572-580. doi: 10.1007/s12149-013-0721-9. Epub 2013 Apr 2.

Ito K, Okazaki O, Morooka M, Kubota K, Minamoto R, Hiroe M. Visual findings of (18)F-fluorodeoxyglucose positron emission tomography/ computed tomography in patients with cardiac sarcoidosis. *Intern Med* 2014; 53: 2041-2049.

Tsujimoto T, Sugiyama T, Yamamoto-Honda R, Kishimoto M, Noto H, Morooka M, Kubota K, Kamimura M, Hara H, Kajio H, Kakei M, Noda M. Beneficial effects through aggressive coronary screening for type 2 diabetes patients with advanced vascular complications. *Medicine (Baltimore)* 2016; 95; e4307. doi: 10.1097/MD.0000000000004307

[学会発表](計 8 件)

諸岡都 EANM に参加して 第 15 回心世代核医学会(招待講演) 2012 年 12 月 5 日、東京

Morooka M, et al. 18F-FDG PET/CT with heparin loading method in the patients with acute myocardial infarction. SNM 59th annual meeting. 2012 年 6 月 9 日~13 日、フロリダ州マイアミ、USA

Morooka M, et al. Highly active anti-retrovirus therapy (HAART) effect on FDG uptake: a preliminary study. EANM annual meeting. 2012 年 10 月 27 日~31 日、ミラノ、イタリア

諸岡都 18F-FDG PET による急性心筋梗塞：糖負荷およびヘパリン負荷による画像評価。第 52 回日本核医学会総会。2012 年 10 月 11 日~13 日 札幌

諸岡都 ヘパリン vs 長時間絶食：どちらが心臓への FDG 生理的集積をより抑制する？第 53 回日本核医学会学術総会 2013 年 11 月 8 日~9 日、福岡

Morooka M, et al. Heparin v.s. Long fasting method; which inhibits the FDG myocardial physiological uptake more strongly? SNMMI 2013 2013 年 6 月 8 日~12 日 バンクーバー、カナダ

Morooka M, Ito K, Moroi M, Okasaki M, Kameyama M, Okazaki O, Miyata Y, Hiroe M, and Kubota K. Long fasting is effective and reproducible for inhibiting myocardial 18F-FDG physiological uptake in cardiac sarcoidosis. SNMMI2015 2015 年 6 月 6 日~10 日 バルチモア、USA

諸岡都 非腫瘍性疾患の FDG PET 第 55 回日本核医学会学術総会 2015 年 11 月 5 日~7

日 東京、日本

〔図書〕(計 4 件)

諸岡都 先端医療技術研究所 P E T ジャーナル 2012 summer

諸岡都 先端医療技術研究所 P E T ジャーナル 2013 年 autumn

諸岡都 先端医療技術研究所 P E T ジャーナル 2015 summer

諸岡都 インナービジョン Nuclear Medicine Today 2015, 非腫瘍性疾患における最新動向 2015 年 12 月号

〔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 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
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

諸岡 都 (Morooka Miyako)
国立国際医療研究センター 放射線核医学
科 医師
研究者番号：90535775

(2) 研究分担者

窪田 和雄 (Kubota Kazuo)
南東北総合病院 放射線科 医員
研究者番号：40161674

諸井 雅男 (Moroi Masao)
国立国際医療研究センター 循環器内科
医員
研究者番号：30256721

滝 淳一 (Taki Junichi)
金沢大学附属病院 講師
研究者番号：10251927

原 久男 (Hara Hisao)
国立国際医療研究センター 循環器内科
第二循環器内科医長
研究者番号：00349911

(3) 連携研究者

()
研究者番号：

(4) 研究協力者

廣江道昭 (Hiroe Michiaki)
J R 東京総合病院 循環器内科 医師