

令和元年5月24日現在

機関番号：13901

研究種目：基盤研究(B)（一般）

研究期間：2016～2018

課題番号：16H05427

研究課題名（和文）重症心不全における心筋配向変化が心機能増悪をもたらす機序の解明

研究課題名（英文）Elucidation of the mechanism of change in cardiac fiber orientation under heart failure

研究代表者

秋田 利明（AKITA, TOSHIAKI）

名古屋大学・医学部附属病院・特任教授

研究者番号：30167837

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 11,600,000円

研究成果の概要（和文）：ビーグル犬の摘出心（正常心、不全心）を用い、ホルマリン固定、パラフィン包埋後にマイクロCT撮像を行い、構造テンソル解析による心筋配向角度および心筋シート傾きの評価を行った。本研究の結果、心筋配向は外層、中間層、外層の3層にはっきり分かれている訳ではなく、外層 -60° から内層 $+60^{\circ}$ に徐々に移行していた。不全心で心筋配向角度が内外層で水平化するわけではなく、中間層の水平化部分が増えている結果となった。心不全で起こる心筋シートの傾きの垂直化は、不全心で起こる心尖部の球状化を考慮すると正常心との差がなく、心筋繊維のミクロ的な変化というよりマクロ的な形状変化にともなうものと考えられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

従来は心臓全体の心筋配向評価には高磁場のMR装置を用いた長時間のdiffusion tensor法（DT-MRI）による撮像が必要だった。MicroCTはMRIに比べると装置は小さく解像度も高いが、DT-MRI法のように画像自体に心筋繊維方向の情報を持たないため、別途解析手法が必要だった。研究分担者とともにMicro CT画像に構造テンソル解析を応用し、心筋配向と心筋シートの解析手法を確立した。この手法により、より簡便に心筋配向の解析が可能となり、心臓リモデリングにおける心不全進行と心筋配向角度変化の関係が明らかになり、心不全悪化機序の解明や新しい心不全治療法の開発に繋がること期待される。

研究成果の概要（英文）：Cardiac fiber orientation and cardiac sheet angle were evaluated using structure tensor analysis from micro CT images of canine normal and heart failure hearts. The hearts were explanted, fixed with formaldehyde and embedded in paraffin for micro CT image. Cardiac fiber angle were gradually changed from -60° (outer layer side) to $+60^{\circ}$ (inner layer side) without definitive 3 layer compositions, which were different from previous reports. In heart failure hearts, cardiac fiber angles of outer and inner layers did not change, but portion of horizontal cardiac fiber angle increased.

研究分野：心臓外科

キーワード：心不全 心臓リモデリング 心筋配向 心筋シート角度 心臓サポートネット治療

様式 C-19、F-19-1、Z-19、CK-19（共通）

1. 研究開始当初の背景

心臓は長軸方向に対して心内膜側は約 $+60^\circ$ 、心外膜側は約 -60° の傾きをもった螺旋状の心筋配向構造と報告されている。重症心不全患者では、心拡大に伴い心臓が円錐形から球形に変化して、心筋配向角度が水平方向に傾き、収縮能が低下することが報告されている（=心臓リモデリング現象）。心不全治療による生命予後改善と心臓リモデリング進展防止効果は一致することが多く、心臓リモデリング防止が治療のターゲットとなっている。しかし本来収縮力低下の代償機転である心拡大が、さらなる進行性の心拡大を伴い心不全が悪化していく心臓リモデリング現象のメカニズムは十分解明されていない。

2. 研究の目的

本研究の目的は、実際の不全心における心筋配向変化(図 2a)や心筋繊維の乱れ、拡張能に影響を与える心筋シート傾き等の解剖学的変化と両心室収縮能と拡張能、局所壁運動の機能低下との関係を詳細に解析し、心臓リモデリング時の心不全悪化のメカニズムを明らかにすることにある。

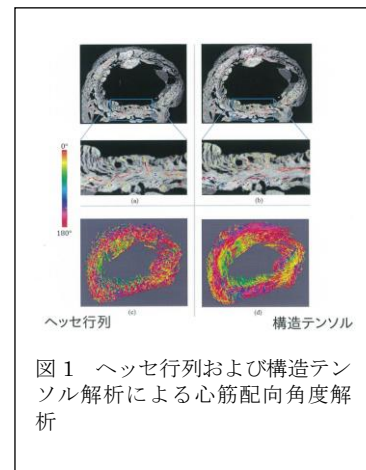
3. 研究の方法

(1)慢性心不全モデル作成と心機能評価

- ① 高頻度心房刺激（220bpm 8weeks）によりビーグル犬（N=5）に慢性心不全モデル（LVEF 60%→20%）を作成する。
- ② 高頻度刺激 8 週目に心超音波検査およびコンダクタンスカテーテルを用いて両心室心機能（圧容量曲線）を評価する。両心室局所壁運動は GE 社 ECHO-PAC および TOMTEC 社心エコー解析ソフトウェアを用いる。圧容量曲線は Sigma 5 (Leycom®) に記録し、同社解析ソフトコンダクト 2000 および LABO-Chart を用いる。対照群として高頻度刺激を行わない正常心（N=5）でも同様の評価を行う。
- ③ 心機能評価後に大動脈を遮断しホルマリンを大動脈基部に注入、心臓形状を保ったまま心筋を固定する。

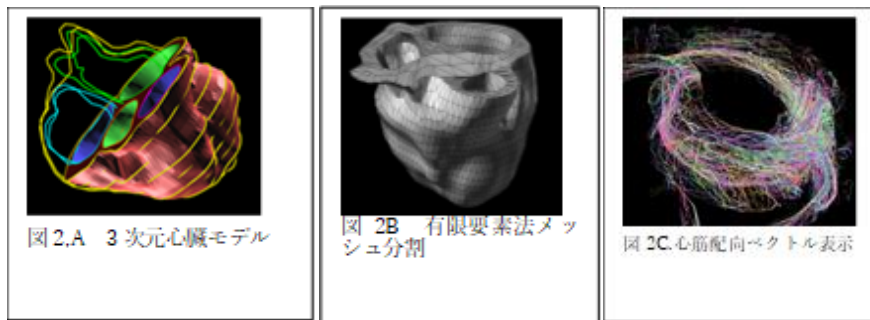
(2) マイクロ CT による心筋配向、心筋シート傾き評価

- ① ホルマリン固定された心臓を 2cm 毎に横切し、パラフィン包埋する。研究分担者である名古屋大学森研究室所有の卓上型マイクロ CT(島津製作所 SMX-90CTPlus)で撮像し、ヘッセ行列解析および構造テンソル解析を用いて心筋配向(図 1)と心筋シート傾きを評価し、正常心と不全心で比較評価する。ヘッセ行列および構造テンソル解析は森研究室にて解析プログラムを作成した。
- ② 同じ心臓の病理標本を作製し、正常心と不全心で心筋細胞形態の変化(心筋肥大)と心筋細胞配列変化、間質の繊維化率を組織学的にも比較評価する。



(3) 不全心における心筋配向、心筋シート傾きの変化を組み込んだ心機能シミュレーションの精度検証

- ① マイクロ CT で得られた心臓画像を基に 3 次元心臓モデル(図 2 A)を個別に作成する。この個別化 3 次元心臓モデルに有限要素法メッシュ分割(図 2B)を行う。さらに前述のヘッセ行列解析および構造テンソル解析を用いた心筋配向角度のベクトルデータ(図 2C)を UT-Heart 研究所に提供する。メッシュ分割された個別化心臓モデルにマイクロ CT で得られたそれぞれの心筋配向、心筋シート傾きを組み込み、心臓シミュレーション(UT-Heart)を行い、正常心と不全心の両心室収縮能、拡張能、心拍出量(Frank-Sterling 曲線)の実データと比較し検証する。



4. 研究成果

(1) 慢性心不全モデル作成と心機能評価

高頻度心房刺激 (220bpm 8weeks) によりビーグル犬に作成した心不全モデルを心エコー検査 (UCG) で評価した (図 3)。左室拡張末期容量 (LVEDV)、左室収縮末期容量 (ESV) は対照群 (CTL) で有意に増加した。通常ネット群でも LVEDV, LVESV 共に増加したが有意差がでたのは LVESV のみだった。右室穴あきネット群でも LVEDV, LVESV 共に増加したが、有意差はなかった。左室駆出率はすべての群で有意に低下した (CTL 25%, 通常ネット 33%, 右室穴あきネット 36%) CTL で少ない傾向にあったが各群間の有意差は無かった。一回拍出量は CTL 群で 10.6ml から 7.7ml に低下したが有意差はなかった (p=0.18)、ネット群はほとんど変化なかった。

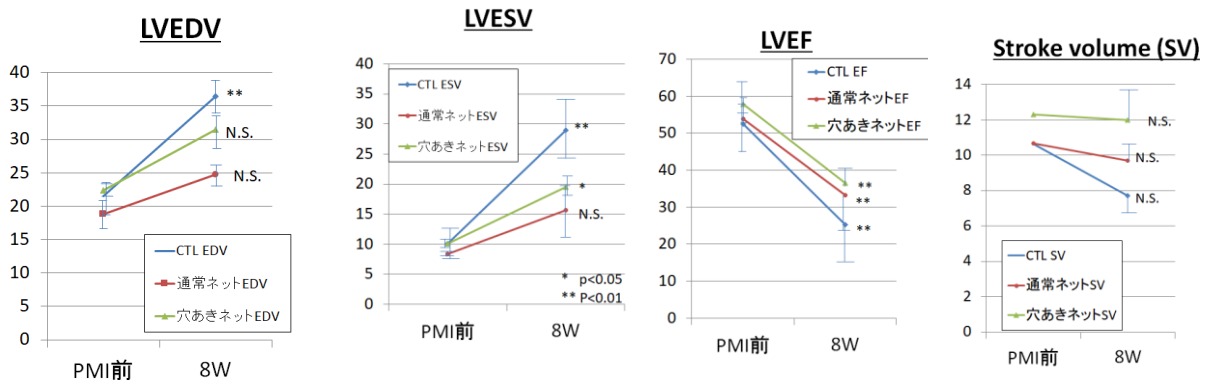


図 3a

図 3b

図 3c

図 3d

<コンダクタンスカテーテルによる両心室収縮能と拡張能の評価>

前述の慢性心不全ビーグル犬モデルを用い全身麻酔下に胸骨正中切開を行い、右心室と左心室にコンダクタンスカテーテルを挿入し、圧容積関係の評価した。右房に脱血管を挿入し、乳酸リンゲル液 500ml を満たした輸液バックと連結した。脱血と送血を繰り返し、バック内と循環血液を十分ミキシングの後急速輸血により拡張末期圧容積関係と収縮末期圧容積関係を算出した (図 4)。

前負荷・後負荷に依存しない収縮能の指標である収縮末期圧容積関係 (ESPVR= E_{max}) は右室左室共にネット群で CTL 群に比し優位に改善し、右室穴あきネット群は通常ネット群よりもさらに改善した。拡張能の指標である拡張末期圧容積関係 (EDPVR) を指数関数 ($EDP=A(e^{K(V-V_0)}-1)$) で近似し、その対

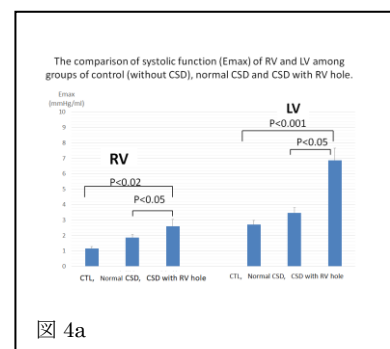


図 4a

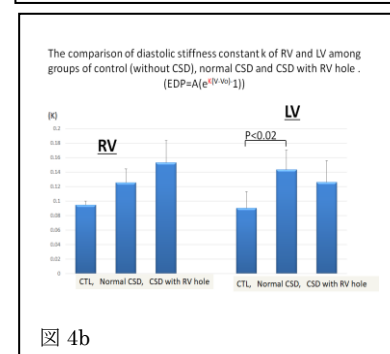


図 4b

数部分の係数K値 (diastolic stiffness constant) を比較すると左室で対照群に比し通常ネット群で有意に高かったが、それ以外には有意差を認めなかった。

(2) マイクロCTによる心筋配向、心筋シート傾き評価上記研究成果1に示したビーグル犬の心機能評価後に心臓を摘出し、7.5%ホルマリン液を大動脈基部より注入し拡張期形状を維持したままホルマリン固定した。ホルマリン固定心臓は、エタノールにて脱水を行い、パラフィン包埋心臓標本を作成した。名古屋大学森健策教授(研究分担者)が所有するマイクロCT(島津製作所 inspeXio SMX-90CT Plus)を用いて撮像し、構造テンソル解析プログラムを用いて心筋配向および心筋シート角度を評価した。撮像開始後に、通常ホルマリン固定、エタノール脱水、パラフィン包埋法では十分な心筋繊維と間質の組織コントラストが得られず、心筋配向評価ができない例がでることが判明した。組織コントラストを上げるため、ヨード染色による心筋コントラスト向上をウサギ摘出心で試し、最終的にウサギの摘出心では7.5%ヨウ化ヨウドカリウムで1日の染色時間が最も良好な組織コントラストが得られた(図5a)。組織コントラストが染色なしで良好に得られる屈折CT(Refraction CT)で撮像する機会があり、エタノール固定したウサギの心臓を撮像した(図5b)。マイクロCT画像3例と屈折CT画像1例を用いてテンソル構造解析を行い、心筋配向及び心筋シート角度の評価(図7)を行った。このうち1例は同じウサギ摘出心をエタノール固定後屈折CT撮像し、その後にホルマリン固定、ヨウ化ヨウドカリウム染色を行い、マイクロCT撮像を行い、テンソル構造解析を行った。2つのモダリティによる心筋配向及び心筋シート角度の解析結果を図6に示した。心筋配向角度は心内膜面側+45°から連続的に心外膜側-25°まで変化した。マイクロCT画像による構造テンソル解析と屈折CTによる構造テンソル解析はよく一致し、マイクロCT画像を用いた構造テンソル解析による心筋配向角度解析手法の妥当性が示された。研究成果はJournal of Medical Imagingに投稿した。

マイクロCT画像による構造テンソル解析の妥当性が示されたとして、ビーグル犬の正常心と不全心の心筋配向角度と心筋シート角度の比較

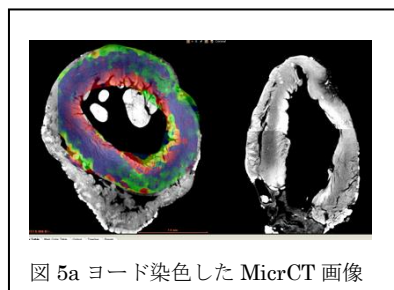


図 5a ヨード染色した MicrCT 画像

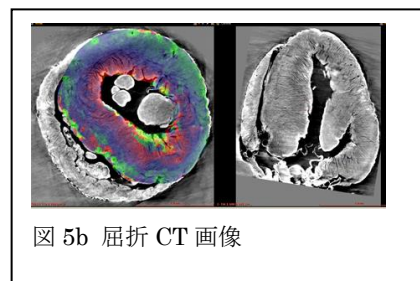


図 5b 屈折 CT 画像

検討を行った(図6)。心内膜側は正常心と不全心での心筋配向角度の差が明らかではなかったが、心外膜側は不全心において水平化傾向が示された。正常心と不全心では心筋配向角度の差は従来報告されているほど差がなかった。心筋配向角度の分散が不全心でより大きい傾向だった(図7)。

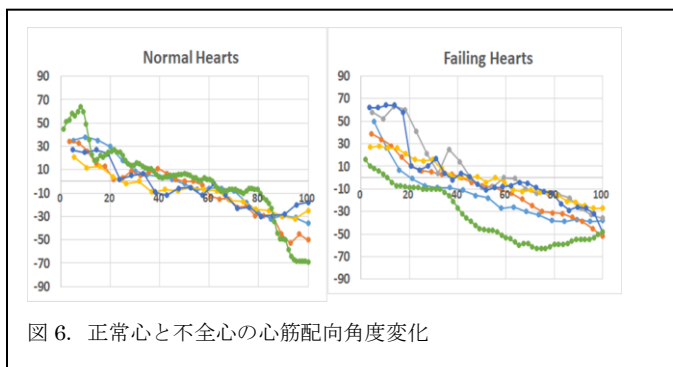


図 6. 正常心と不全心の心筋配向角度変化

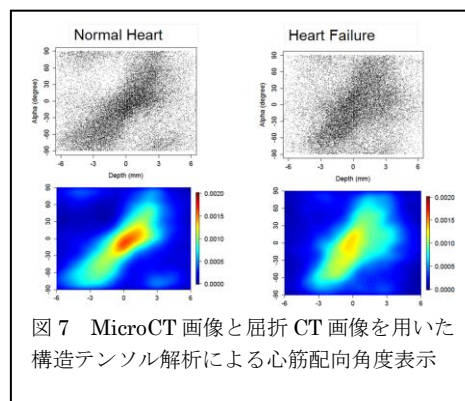


図 7 MicroCT 画像と屈折 CT 画像を用いた構造テンソル解析による心筋配向角度表示

心筋シート角度解析

マイクロCT画像を用いた構造テンソル構造解析による正常心2例と不全心の赤道面(心臓中央面)の心筋シート角度の度数分布を図8に示す。不全心では心筋シートはより立った角度となり、従来の報告と一致した。

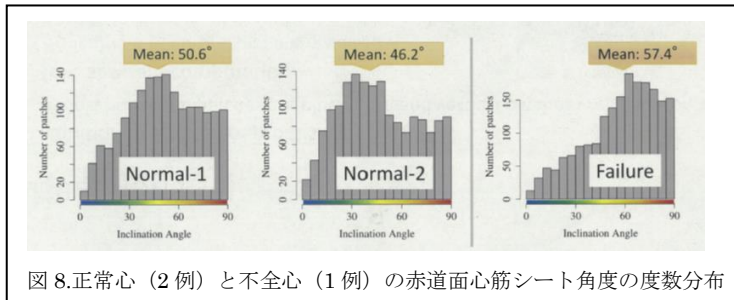


図8.正常心(2例)と不全心(1例)の赤道面心筋シート角度の度数分布

5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計2件)

- ① 秋田利明、佐々木敏哉、佐々木哲也、重症心不全患者に対するテイラーメイド方式心臓サポートネット開発. バイオマテリアル 37 : 2019 : 96-101、査読なし
- ② Hirohisa Oda; Holger R. Roth; Takaaki Sugino; Naoki Sunaguchi; Noriko Usami; Masahiro Oda; Daisuke Shimao; Shu Ichihara.; Tetsuya Yuasa; Masami Ando; Toshiaki Akita M.D.; Yuji Narita, Kensaku Mori. Scanning, registration, and fiber estimation of rabbit hearts using micro-focus and refraction-contrast x-ray CT. Medical Imaging 2019: Biomedical Applications in Molecular, Structural, and Functional Imaging; SPIE Medical Imaging, 2019, 109531I, 査読なし
<https://doi.org/10.1117/12.2512145>

[学会発表] (計12件)

- ① Toshiaki Akita, Hirohisa Oda, Noriko Usami, Kensaku Mori. Multidisciplinary Computational Anatomical Analysis for the Change in the Cardiac Fiber Orientation at Congestive Heart Failure. The 5th International Symposium on Multidisciplinary Computational Anatomy (国際学会). 2019. 3
- ② Hirohisa Oda, Holger R. Roth, Takaaki Sugino, Naoki Sunaguchi, Noriko Usami, Masahiro Oda, Daisuke Shimao, Shu Ichihara, Tetsuya Yuasa, Masami Ando, Toshiaki Akita, Yuji Narita, Kensaku Mori. Scanning, registration, and fiber estimation of rabbit hearts using micro-focus and refraction-contrast x-ray CT, Proc. SPIE 10953, Medical Imaging 2019: Biomedical Applications in Molecular, Structural, and Functional Imaging, 109531I-1-12, Town and Country Resort & Convention Center San Diego, California, USA (2019/02/21, Conference: 2019/02/16-21) doi: 10.1117/12.2512145 (国際学会)
- ③ Hirohisa Oda, Holger R. Roth, Naoki Sunaguchi, Tetsuya Yuasa, Toshiaki Akita, Kensaku Mori, Daisuke Shimao, Shu Ichihara, Masami Ando, Noriko Usami, Masahiro Oda, Yuji Narita, 3D High-Resolution Microstructure Imaging of the Heart, CA001-EC-X, RSNA2018, November 25-30, McCormick?? Place, Chicago (2018/11) (国際学会)
- ④ Toshiaki Akita. The Patient-Specific Cardiac Supporting Device without Right Ventricular Constraint Improves the Energy Efficiency and Cardiac Function of Left ventricle in Dilated Heart Failure Patients. European Association of CardioThoracic Surgery. 2018. 10 (国際学会)
- ⑤ 秋田利明¹⁾、碓氷章彦¹⁾、小田紘久³⁾、森健策³⁾ マイクロCT、屈折CTを用いた心筋配向解析—MR 拡散テンソル法との比較検討. 日本胸部外科学会 2018年10月
- ⑥ Hirohisa Oda, Holger R. Roth, Naoki Sunaguchi, Daisuke Shimao, Takaaki Sugino, Masahiro Oda, Toshiaki Akita, Yuji Narita, Shu Ichihara, Tetsuya Yuasa, Masami Ando, Kensaku Mori. Micro-focus X-ray CT of the heart: A comparison with X-ray refraction-contrast CT, International Journal of Computer Assisted Radiology and Surgery, Vol. 13, Sup. 1 pp. s140-142, (Computer Assisted Radiology and Surgery (CARS) 2018), June 20-23, 2018, Hotel NH Collection Berlin, Germany (2018/06/22) (国際学会)
- ⑦ Hirohisa Oda, Holger R. Roth, Takaaki Sugino, Naoki Sunaguchi, Noriko Usami, Toshiaki Akita, Kensaku Mori. Scanning, registration, and fiber estimation of rabbit hearts using micro-focus and refraction-contrast X-ray CT. SPIE (国際学会) 2018
- ⑧ Toshiaki Akita^{*1)}, Akihiko Usui^{*1)}, Takumi Washio^{*2)}, Seiryu Sugiura^{*2)}, Toshiaki Hisada^{*2)}, Hirohisa Oda^{*3)}, Kensaku Mori Reconsidering Cardiac Support Device Treatment for Dilated Cardiomyopathy. 日本胸部外科学会 2017年10月

- ⑨ Hirohisa Oda, Holger R. Roth, Kanwal K. Bhatia, Masahiro Oda, Takayuki Kitasaka, Toshiaki Akita, Julia A. Schnabel, Kensaku Mori, ``TBS: Tensor-Based Supervoxels for Unfolding the Heart,`` MICCAI 2017, LNCS 10433, pp.681-689, September 11-13 2017, 20th International Conference, Quebec, Canada (2017/09)
- ⑩ Hirohisa Oda, Masahiro Oda, Takayuki Kitasaka, Toshiaki Akita, Kensaku Mori, ``Extracellular matrix directions estimation of the heart on microfocus X-ray CT volumes,`` Proceedings of SPIE, Vol.10137, pp.101370M-1-101370M-9, doi:10.1117/12.2254949, SPIE Medical Imaging 2017: Biomedical Applications in Molecular, Structural, and Functional Imaging, Renaissance Orland at SeaWorld? Orland, Florida, USA (2017/02/13, Conference: 2017/02/11-16) (国際学会)
- ⑪ Hirohisa Oda, Masahiro Oda, Takayuki Kitasaka, Toshiaki Akita, Kensaku Mori ``Myofiber Visualization System for Micro CT Volumes of Left Ventricle,`` RSNA 2016 Scientific Assembly and Annual Meeting PROGRAM IN BRIEF, November 27-December 2, 2016, , Chicago, CA007-EC-X, p.183 (2016/12) (国際学会)
- ⑫ Hirohisa Oda, Masahiro Oda, Takayuki Kitasaka, Toshiaki Akita, Kensaku Mori, ``Visualization Method of Myofiber Structure of the Left Ventricle Apex from Micro CT Volumes,`` RSNA 2016 (国際学会) (Radiological Society of North America) Scientific Assembly and Annual Meeting PROGRAM IN BRIEF, November 27-December 2, 2016, McCormick? Place, Chicago, SSA03-08, p.94 (2016/11/27)
- [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

1. 秋田利明心不全を治療するー 最新技術と現状「重症心不全患者に対するテイラーメイド方式心臓サポートネット開発」 あいちサイエンスフェスティバル 2018. 2018/11/14

6. 研究組織

(1) 研究分担者

研究分担者氏名：森 健策

ローマ字氏名：MORI, kensaku

所属研究機関名：名古屋大学

部局名：情報学研究科

職名：教授

研究者番号 (8 桁)：10293664

研究分担者氏名：久田 俊明

ローマ字氏名：HISADA, toshiaki

所属研究機関名：東京大学

部局名：大学院新領域創成科学研究科

職名：名誉教授

研究者番号 (8 桁)：40126149

(2) 研究協力者

研究協力者氏名：

ローマ字氏名：

※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、研究者個人に帰属されます。