

令和元年6月13日現在

機関番号：14202

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K10316

研究課題名(和文) 動脈硬化病変の治療効果のMR画像と病理像の対比：WHHLウサギを用いた研究

研究課題名(英文) Comparison between MR image and pathological finding in therapeutic effect of atherosclerotic lesion using WHHL rabbit

研究代表者

新田 哲久(Nitta, Norihisa)

滋賀医科大学・医学部・准教授

研究者番号：40324587

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：結果：プロブコール(+)食餌群の血管壁における膠原線維の割合は、プロブコール(-)食餌群と比較して有意に少なかった。弾性線維の割合に差は認めなかった。脂肪抑制T2強調像のSWRの値と血管壁内の膠原線維に対する弾性線維の割合(PEF/CF)との間の相関係数は0.48であった。脂肪抑制T1強調像のSWRの値とPEF/CFとの相関係数は、0.31、脂肪抑制Gd造影T1強調像のSWRの値とPEF/CFとの相関係数は-0.34であった。
結論：プロブコールには抗動脈硬化作用があり、動脈硬化の進展は脂肪抑制T2強調像のSWRの値で客観的に評価できる可能性がある。

研究成果の学術的意義や社会的意義

動脈硬化病変の治療効果判定は、血中の脂質の測定で行われることが一般的である。直接血管壁の評価を行っているわけではない。MRIを用いて治療効果の判定を行うことが出来れば、全身の血管の治療効果の過程を可視化することが出来、有用性が高い。我々は、治療効果の判定にMRIを使用できることを証明した。

研究成果の概要(英文)：Results: The proportion of collagen fiber in vascular walls of the ProbucoI diet (+) group of rabbits was significantly less compared to the ProbucoI diet (-) group. The correlation coefficient between FS-T2WI SWR and the proportion of elastic fiber to collagen fiber in the vascular wall (PEF/CF) was 0.48. The correlation coefficient between FS-T1WI SWR and (PEF/CF) was 0.31, Gd-enhanced T1WI SWR and (PEF/CF) was -0.34.
Conclusion: We think that ProbucoI reduces collagen fiber in the arterial wall, and these results correlate with arteriosclerosis and SWR of FS-T2WI.
It is deemed useful to evaluate arteriosclerosis objectively by using MRI, and T2-weighted images using radial scan (BLADE) is especially useful.

研究分野：画像診断

キーワード：動脈硬化 高脂血症剤 MRI 病理

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

スタチンをはじめとする抗高脂血症剤の効果判定は通常、血中コレステロールやトリグリセライドで行われている。様々な病変、特に腫瘍性病変や炎症性病変などを評価する際に CT や MRI 装置による画像評価は、非侵襲的に行えるため有用である。動脈硬化病変もこれらのモダリティを使用して画像評価が行えれば有用な評価手段となる。我々は、超音波造影剤を使用した動脈硬化病変の画像評価を病理組織像と対比することにより行った。その結果、正常の血管壁にはほとんど見えない造影剤が、動脈硬化病変では造影剤が存在し超音波で輝度の上昇として捉えられた。恐らく動脈硬化病変では細血管の増生が有り造影剤で輝度の上昇として見えると考えた。そして、この事実を電子顕微鏡像で明らかにした。また、動脈硬化病変のマクロファージの存在を MR で画像化することを試みた。マクロファージの膜表面にはマンナンレセプターが存在する。これを認識させるためナノ鉄表面にマンナンをコートし動脈硬化病変への集積を MR 画像と組織学的検討で対比した。MR 画像で信号低下部にはマクロファージが存在しそのマクロファージはナノ鉄を多数貪食していることを証明した。動脈硬化病変の抗高脂血症剤投与時の経時的変化を画像で検討した報告は少なく、FDG-PET を用いた動物実験による報告が見られる程度である。動脈硬化病変の画像と組織学的な対比を臨床で行うことは事実上不可能であることが大きな理由と考えられる。高脂血症のみならず多くの成人病を解明するための実験材料として、実験的に作出されたモデル動物は重要である。しかしながらモデル動物ではヒトのそれらの疾患に対応しきれなくなった現在、遺伝的素因に起因し、かつヒトの病像に類似した自然発症のモデル動物が実験医学面で必要欠くべからざるものとなった。そこで、多くの研究者によって疾患モデル動物の発見あるいは開発のための努力が続けられている。WHHL ウサギ (Watanabe Heritable Hyperlipidemic rabbit) はこのような状況の中で発見され、渡邊らが開発に成功した疾患モデル動物の 1 つであって、ヒトの家族性高コレステロール血症のモデル動物としては最初のものであり、また現在唯一のものである。WHHL ウサギの特徴をあげると、次のように大きく 3 つに分けることができる。(1) 高脂血症が生下時より発症し、コレステロール、トリグリセライド、リン脂質が正常ウサギの約 10 倍の高い値を示す。とくに血中コレステロールは 300 ~ 1,000mg/dl の値を示す。これは、ヒトの家族性高コレステロール血症の患者の値と類似している。(2) 成熟齢に達する以前に大動脈に粥腫(アテローム)が必発し、また冠状動脈のアテローム性肥厚による狭窄と黄色腫の発生がみられ、ヒトの所見と類似する。(3) コレステロールの代謝に重要な役割をもつ細胞表面の LDL (low density lipoprotein) レセプターが欠損している。この LDL レセプターの欠損は、ヒトの家族性高コレステロール血症の患者と同じ所見である。今回の実験では WHHL を使用するが、昨今の抗高脂血症剤の主役であるスタチンはこの WHHL には効果が少なく、文献 4 によりプロブコールを高脂血症剤として使用することとした。今回の実験の目的は効果の判定を MRI 画像で行いその病理像と正確に対比することにあるためプロブコールを高脂血症剤として使用することで特に問

2. 研究の目的

スタチンをはじめとする抗高脂血症剤の効果判定は、通常血中コレステロール値(トリグリセライド値も参照)を参考にして行われている。動脈硬化病変の治療効果の画像による評価を MRI 装置を用いて行うことが出来れば、非侵襲的ですぐれた方法となる。画像と組織の正確な対比が行えてこそ画像評価の意義が深まる。しかしながら、臨床では組織学的評価が困難なために正確に画像と組織の対比を経時的に行うことが出来ないのが現状である。今回、遺伝性高脂血症ウサギ(WHHL)を用いて、抗高脂血症剤の投与時の動脈硬化病変の画像評価(MR 画像)と病理像との対比を経時的に行い、抗高脂血症剤の効果判定を行う。一般臨床で普及している装置を用いて動脈硬化病変の治療効果判定を行うことが出来るのは非常に有用な知見となる。まず最初に WHHL ウサギの月齢による動脈硬化病変の MRI 画像による評価を行い、組織学的所見と対比する。次に抗高脂血症剤(プロブコール)投与後の経時的な動脈硬化病変の評価を MRI 画像により行い組織学的所見と対比する。MRI 画像は、通常臨床で血管内腔の描出により動脈硬化病変の評価として使用されている撮像法(Double IR T1, Black-blood double presaturation T2, 3D TOF-MRA, Gated 2D FSE T1 と T2, Triple IR) およびナノ鉄(USPIO)を静注後に T2 強調像を撮影することによる評価を行う。(2) 組織学的評価は、HE 染色、EVG 染色、ウサギのマクロファージの抗体である RAM11 と鉄染色を行う。MRI 画像と病理像の正確な対比のために腹腔動脈と上腸間膜動脈間を指標とする。現在、抗高脂血症剤の評価は、画像では行われていないのが現状である。しかしながら非侵襲的に一般臨床で使用されているモダリティを用いて簡単に行うことが出来れば、有用である。このためには、画像と病理の対比を厳密に行う必要がある。しかしながら、このデータを臨床で獲得することは容易ではない。本研究の特色と独創的な点は、1. WHHL ウサギというヒトの動脈硬化モデルとして数多く使用され多くの論文が出版されているモデル動物を使用したこと、2. 抗高脂血症剤の投与後、経時的に MRI 画像を撮影し、同時に組織標本を作成し画像と病理の対比を行ったこと、3. 先に我々が研究した MRI 造影剤を通常の撮像法に加えて画像評価を行ったこと。これらの結果を元に、臨床で抗高脂血症剤の効果判定を画像評価で行うことができる可能性があること、最適な画像評価が MR あるいは超音波画像のどの撮像法であるかを決定することが可能であること。これらが可能となれば臨床できわめて意義のある結果と考えられる。

3. 研究の方法

1. WHHL の動脈硬化病変の月齢による評価を行う。3, 6, 12 および 24 月齢の WHHL ウサギを MRI 装置 (SIEMENS MAGNETOM Verio A Tim+Dot System (3T)) を用いて撮影した。撮像方法は、一般臨床で使用されている撮像法 (Double IR T1, Black-blood double presaturation T2, 3D TOF-MRA, Gated 2D FSE T1 と T2, Triple IR) の他に、我々が検討している造影剤を使用した撮影を追加した。病理像と対比を行う際は、2 名の放射線科医と 1 名の病理医が、合議で MR 画像の動脈硬化病変の描出のための最も優れた撮像法を決定する。また、どの月齢の WHHL を次に記載した実験 2 に用いるべきかを決定した。2. 1 で決定された撮像法を用いて、1 で決定された月齢の WHHL ウサギに抗高脂血症剤を投与し投与後の動脈硬化病変の経時変化を MRI 装置で撮影し、組織像との対比を行った。どのような動脈硬化病変が、MR 画像ではどのように見えるのか、また、1 であらかじめ結果を得た月齢による動脈硬化病変の変化と抗高脂血症剤を使用した場合の変化がどのように異なるのかを検討した。

4. 研究成果

結果：プロブコール (+) 食餌群の血管壁における膠原線維の割合は、プロブコール (-) 食餌群と比較して有意に少なかった。弾性線維の割合に差は認めなかった。脂肪抑制 T2 強調像の SWR の値と血管壁内の膠原線維に対する弾性線維の割合 (PEF / CF) との間の相関係数は 0.48 であった。脂肪抑制 T1 強調像の SWR の値と PEF / CF との相関係数は、0.31、脂肪抑制 Gd 造影 T1 強調像の SWR の値と PEF / CF との相関係数は -0.34 であった。

考察：動脈硬化が進展すると、血管中膜内の膠原線維の割合が増加することが知られている。今回の研究では、プロブコールを投与した群の膠原線維の割合が有意に少なく、抗動脈硬化作用が認められた。また、脂肪抑制 T2 強調像の SWR の値と血管壁内の膠原線維に対する弾性線維の割合 (PEF / CF) との間の相関を認めており、動脈硬化を MRI で客観的に評価する可能性が示された。

結論：プロブコールには抗動脈硬化作用があり、動脈硬化の進展は脂肪抑制 T2 強調像の SWR の値で客観的に評価できる可能性がある。

今後の課題：今回の研究では、弾性型動脈である下行大動脈の動脈硬化について画像評価を行なったが、心電図同期下に撮影を行えば冠動脈などの筋性動脈の加齢に伴う変化を評価することが可能となり、冠動脈造影 CT を撮影しなくとも、冠動脈の性状評価ができる可能性があると考えられる。

5. 主な発表論文等

現在作製中

〔雑誌論文〕(計 件)

〔学会発表〕(計 件)

〔図書〕(計 件)

〔産業財産権〕
出願状況 (計 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年：
国内外の別：

取得状況 (計 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名：渡邊尚武

ローマ字氏名：Shobu Watanabe

所属研究機関名：滋賀医科大学

部局名：医学部

職名：客員助教

研究者番号(8桁): 60570364

(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。