

令和 5 年 5 月 30 日現在

機関番号：32661  
研究種目：基盤研究(C)（一般）  
研究期間：2017～2022  
課題番号：17K10454  
研究課題名（和文）動物モデルを用いたサルコイドーシスの病態解明と画期的な分子イメージングの開発

研究課題名（英文）Development of molecular imaging of sarcoidosis: From evaluation of the animal model to clinical use

研究代表者  
諸井 雅男（Moroi, Masao）  
東邦大学・医学部・教授

研究者番号：30256721  
交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,500,000円

研究成果の概要（和文）：マクロファージに存在するとされるソマトスタチン受容体サブタイプ2（SSR2）に親和性を有する標識化合物In-111 pentetretotideを用いた心臓炎症イメージングの可能性を検討した。ラット心筋梗塞モデルのオートラジオグラフィでは、梗塞周辺領域へのIn-111 pentetretotideの集積が確認された。この集積は、SSR2の抗体阻害薬を前投与しても抑制できなかった。心臓サルコイドーシス患者では心臓MRIでの遅延造影部位にIn-111 pentetretotideの集積を確認した。以上から、In-111 pentetretotideは心臓の炎症部位に集積するがその機序は非特異的と考えられた。

#### 研究成果の学術的意義や社会的意義

心臓サルコイドーシス（心サ症）の活動性炎症の有無および部位を知ることは免疫抑制療法を行うかどうかを決定する重要な情報である。F-18 fluorodeoxyglucose (F-18 FDG)は活動性炎症部位に集積するが、前処置をしても正常心筋細胞に集積することがある。このF-18 FDG PET検査の欠点を克服するために心筋細胞には存在せず、マクロファージに存在するとされるソマトスタチン受容体サブタイプ2（SSR2）を標的としたIn-111 pentetretotideによるイメージングの可能性を検討した。In-111 pentetretotideによる心サ症のイメージングの可能性が示された。

研究成果の概要（英文）：The possibility of cardiac inflammation imaging using In-111 pentetretotide, a labelled compound with an affinity for somatostatin receptor subtype 2 (SSR2), which is believed to be present in macrophages, was investigated. Autoradiography of a rat model of myocardial infarction showed an accumulation of In-111 pentetretotide in the peri-infarct region. This accumulation could not be suppressed by pre-treatment with an antibody inhibitor of SSR2. The presence of macrophages was confirmed as CD68-positive cells, but no positive findings of immunostaining for SSR2 were obtained. In patients with cardiac sarcoidosis, the accumulation of In-111 pentetretotide was confirmed in delayed contrast areas on cardiac MRI. In conclusion, In-111 pentetretotide accumulates at sites of cardiac inflammation, but the mechanism is non-specific.

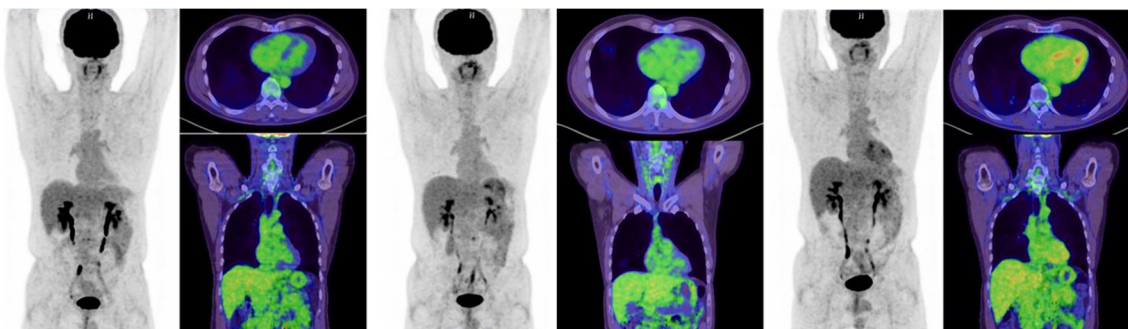
研究分野：循環器内科学

キーワード：心臓炎症イメージング 心臓マクロファージ ソマトスタチン受容体イメージング

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

心臓サルコイドーシス(心サ症)の活動性炎症の有無および部位を知ることは免疫抑制療法を行うかどうかを決定する重要な情報である。この活動性炎症を検出するために Ga-67citrate が用いられているが、画質がよくないことや検査の特異度が低いことが問題であった。F-18 fluorodeoxyglucose (F-18 FDG)は炎症細胞に集積し、これを用いた PET 検査は画質や感度特異度の点で Ga-67citrate シンチグラフィよりも優れていることが示されている。しかし、F-18 FDG PET 検査にも弱点があり、現在推奨されている 18 時間絶食 + 最終食事の低炭水化物食という前処置を行っても、正常心筋細胞や不全心筋細胞(非炎症性)に集積することがある。我々のデータでは、このプロトコルで健常人に F-18 FDG PET 検査を施行した場合にその 11.4% に心筋に集積を認めている。下図は、健常人の人間ドックでの F-18 FDG PET 検査の画像である。3 画像とも同一健常人であるが、左が検査前 24 時間の絶食、中央が 18 時間絶食 + 低炭水化物食摂取、右が 18 時間絶食のみの前処置で撮像したものである。F-18 FDG は健常人でも前処置によっては左室心筋に集積していることがわかる。



サルコイドーシスのマクロファージには、ソマトスタチン受容体(SSR)のサブタイプである SSR1 と SSR2 が現れていることが報告されている。一方、膵臓や消化管などの神経内分泌腫瘍の細胞膜には SSR2 と SSR5 が発現しており(Reisine T et al. *Endocr Rev* 1995;16:427-442, Reubi JC et al. *Eur J Nucl Med* 2000;27:273-282)、これを標的とした In-111 pentetretotide を用いたソマトスタチン受容体シンチグラフィが 2016 年から本邦でも臨床使用されていた。

2015 年には Kamphuis LS らによりサルコイドーシス患者の縦隔リンパ節に In-111 pentetretotide が集積することを報告している(Kamphuis LS et al. *Clin Nucl Med* 2015;40:925-929)。しかし、サルコイドーシス患者の心病変への In-111 pentetretotide の集積については、報告は皆無であった。

### 2. 研究の目的

長時間絶食や低炭水化物食摂取などによる前処置を行っても F-18 FDG は健常人の心筋細胞にも集積する事実はサルコイドーシスの心筋病変の検出のための F-18 FDG PET 検査の最大の欠点であり、これを克服するために心筋細胞には存在せず、肉芽腫の構成細胞であるマクロファージに存在するとされるソマトスタチン受容体サブタイプ 2(SSR2)を標的とした In-111 pentetretotide によるイメージングの可能性を検討することを本研究の目的とした。

### 3. 研究の方法

#### (1) ヒトにおける In-111 pentetretotide によるイメージング

心臓サルコイドーシス患者 4 名において F-18 FDG PET 検査をおこなった患者において、その 3 ヶ月以内に In-111 pentetretotide によるイメージングを施行し、F-18 FDG の左室心筋集積部位と In-111 pentetretotide の左室心筋集積部位を比較した。

#### (2) 動物実験モデルを用いた集積機序の検討

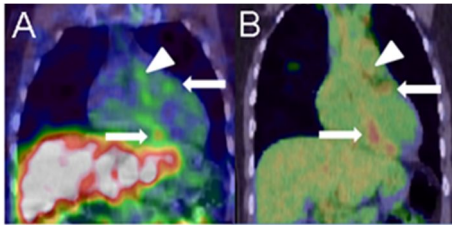
ラット心筋梗塞モデル作成し、梗塞領域およびその周辺領域にマクロファージが集積することを病理学的に検討した。このモデルに In-111 pentetretotide を静注し、オートラジオグラフィを施行し、In-111 pentetretotide が梗塞領域あるいは梗塞周辺領域に集積しているかを確認した。さらに In-111 pentetretotide の集積が SSR2 の阻害薬で抑制できかどうかを検討した。ラット心筋梗塞モデルにおいて梗塞領域およびその周辺領域に集積しているマクロファージが集積している病理切片において抗 SSR2 に対する免疫染色を施行した。Positive control として腎臓や脾臓の免疫染色と比較した。

### 4. 研究成果

#### (1) ヒトにおける In-111 pentetretotide によるイメージングの可能性について

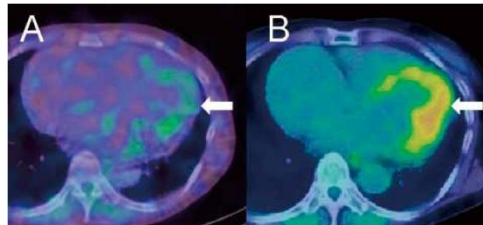
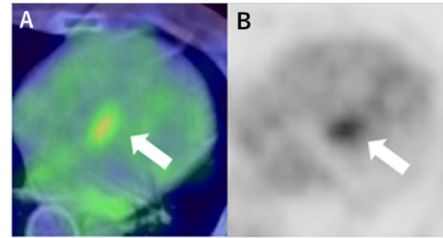
4 名のサルコイドーシス患者の F-18 FDG PET における左室心筋集積部位と In-111 pentetretotide シンチグラムの左室心筋集積部位を比較した結果を示す。





症例 1 (35 歳の男性) を左図に示す。A. は In-111 pentetretotide によるシンチグラムで矢状断の MIP 像で、B. は F-18 FDG PET の矢状断の MIP 像である。A. では肝臓や腸管集積は生理的で、左室心筋の白矢印の部分の集積 (左室中隔基部と下壁基部) および縦隔リンパ節 (白矢頭) は異常集積と判定できる。B. では同部位に F-18 FDG の集積を認める。

症例 2 (78 歳女性) の画像を右図に示す。A. は In-111 pentetretotide によるシンチグラムの axial 像で、B. は F-18 FDG PET の axial 像である。白矢印に示した左室中隔基部に In-111 pentetretotide および F-18 FDG の集積を認める。

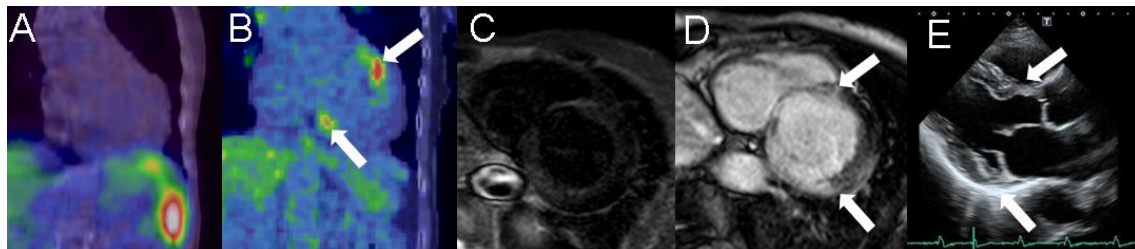


症例 3 (63 歳女性) の画像を左図に示す。

A. は In-111 pentetretotide によるシンチグラムで axial 像で、B. は F-18 FDG PET の axial 像である。A および B ともに白矢印で示した左室後側壁から心尖部 ~ 中隔心尖部側に In-111 pentetretotide と F-18

FDG の集積を認める。

症例 4 (76 歳女性) の画像を下図示す。A. は In-111 pentetretotide によるシンチグラムで矢状断の MIP 像で、B. は F-18 FDG PET の矢状断の MIP 像である。F-18 FDG PET では左室前壁と下

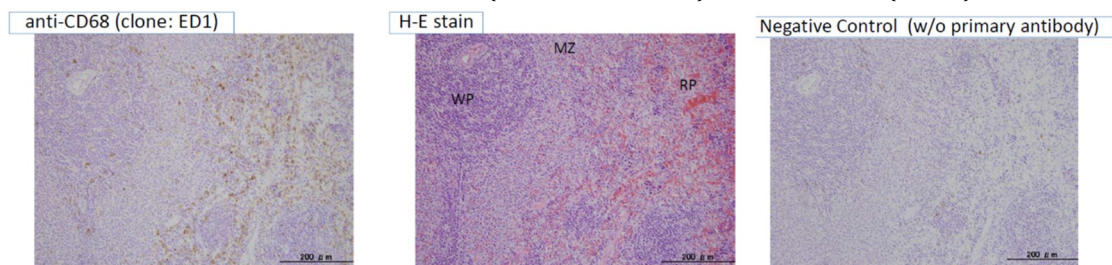


壁の基部に集積を認めるが In-111 pentetretotide によるシンチグラムでは集積を認めない。C. は black blood の T2 強調画像の左室基部の短軸像であるが、高信号は認めなかったことから、F-18 FDG PET で示された活動性炎症は何ら可能原因で (例えば炎症が軽度であったなど) In-111 pentetretotide によるシンチグラムでは検出できなかったと思われる。心臓 MRI の遅延造影像では前壁と下壁の基部に遅延造影陽性像 (D に示された白矢印) を認め、心エコーでも前壁基部と下壁基部に菲薄化を認める (E の白矢印) ことから、サルコイドーシスの病変が存在するがすでに活動性炎症は軽度で線維・瘢痕化が生じていると推定できる。

以上から、In-111 pentetretotide によるシンチグラフィが心臓サルコイドーシスの活動性炎症を検出できる可能性を世界で初めて提示した。本内容は、第 38 回日本サルコイドーシス / 肉芽腫性疾患学会総会シンポジウム (2018 年 11 月 2 日, 東京) にて発表し、日サ会誌 2019; 39: 55 - 58 に掲載された。

## (2) 動物実験モデルを用いた集積機序について

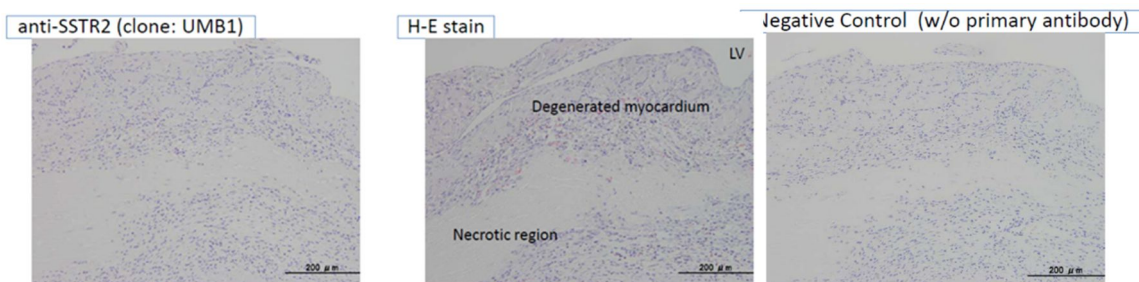
心臓サルコイドーシスの活動性炎症が In-111 pentetretotide によるシンチグラフィにより検出できる可能性が示されたために、その集積機序を検討した。当初仮説として推定されたマクロファージに発現していると思われる SSR2 を介したものであるのかどうかを動物モデルを用いて病理学的検討をおこなった。ラットの脾臓にはマクロファージが存在することが確認されており、本実験でもラット脾臓に CD68 陽性細胞 (マクロファージ) が確認された (下図)。脾の構造は、



赤血球が詰まった脾洞と網内系細胞で覆われた脾索からなる赤脾髄 (red pulp; RP) と、脾柱動脈から分かれた中心動脈のまわりを取り囲む T リンパ球からなる動脈周囲リンパ球鞘と B リンパ球の集団で構成される胚中心でできている白脾髄 (white pulp; WP)、および白脾髄の辺縁に存在し、赤脾髄との境界に位置する辺縁帯 (marginal zone; MZ) からなる。抗 CD68 による免疫

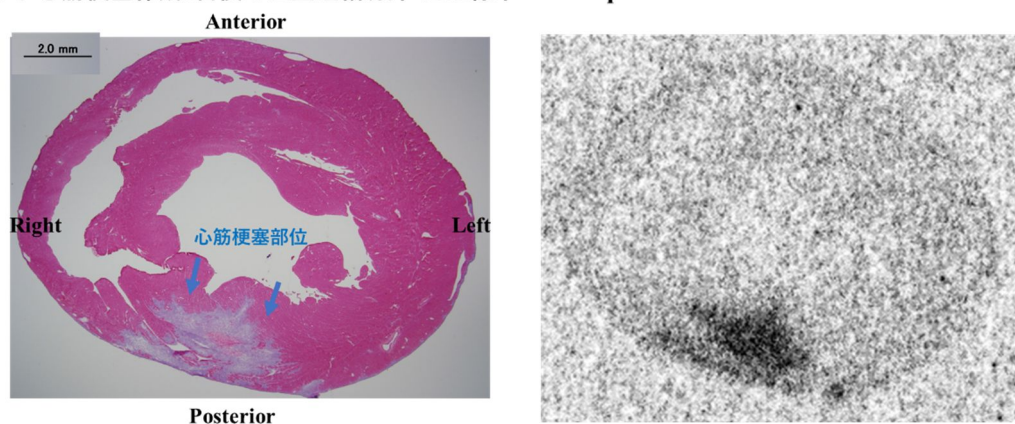


染色では陽性細胞は、RP に主として認められた。抗 CD68 (clone:ED1) による免疫染色によりマクロファージが検出できていると考えられる。さらにラット腎臓でも同抗体を用いた免疫染色で SSR2 が確認された。腎臓が SSR2 の positive control 組織として妥当であることは、the online database of The Human Protein Atlas (<https://www.proteinatlas.org/ENSG00000180616-SSTR2/tissue>) で示されている。SSR2 陽性細胞は遠位尿細管の基底膜に主として存在していた。これらの抗体を同条件で用いて、ラット心筋梗塞部位のマクロファージに SSR2 が存在するかを検討した。まず、心筋梗塞部位に CD68 陽性細胞 (マクロファージ) が存在することが確認された。CD68 陽性細胞は変性心筋部位および壊死周辺領域に認められた。ラット心筋梗塞モデルでは変性心筋部位および壊死周辺領域にマクロファージの集積が認められることが報告されているが、本実験でも再確認できた。抗 SSR2 抗体による免疫染色の結果を下図に示す。抗 SSR2 抗体 (clone:UMB1) による免疫染色ではラット心筋梗塞部位に陽性所見は得られなかった。



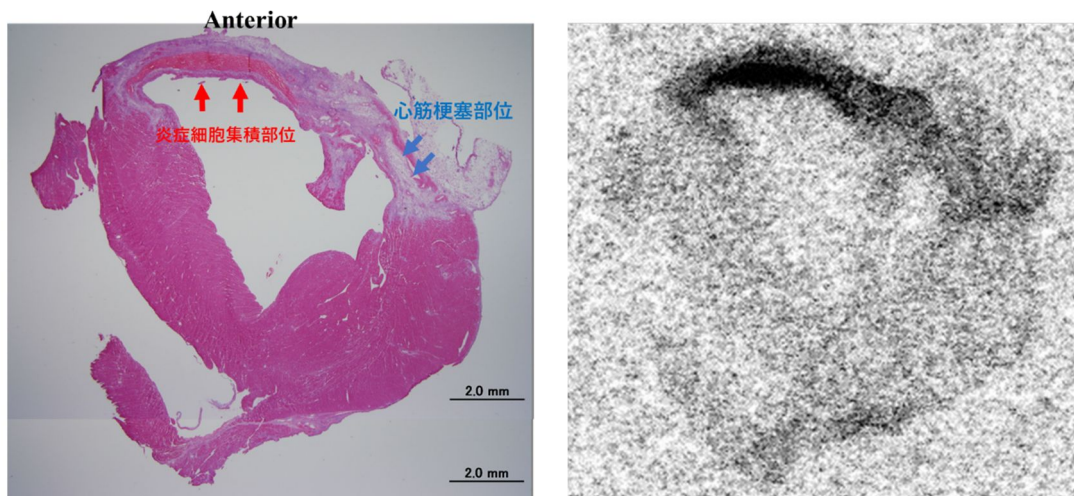
心筋梗塞作成 3 日後に In-111 pentetretotide を投与後のオートラジオグラムとヘマトキシリンエオジン染色標本を下図に示す。左室の下壁の梗塞部位に In-111 pentetretotide が集積していることが確認できる。

ラット心筋梗塞作成3日後の左室短軸切片のHE標本 <sup>111</sup>In-pentetretotideのオートラジオグラム



さらに心筋梗塞作成 1 週間後に SSR の阻害薬である Octreotide を充分量投与後に In-111 pentetretotide を投与したオートラジオグラムとヘマトキシリンエオジン染色標本を下図に示す。左室梗塞部位への In-111 pentetretotide の集積は抑制できなかった。N=3 で阻害薬である

ラット心筋梗塞作成1週後の左室短軸切片のHE標本 <sup>111</sup>In-pentetretotideのオートラジオグラム



Octreotide を前投与し、In-111 pentetreotide のオートラジオグラフィを施行したが、いずれも In-111 pentetreotide の梗塞部位への集積を抑制できなかった。一方、脾臓への放射能はこの阻害薬で抑制された。

以上をまとめると、ラット心筋梗塞モデルのオートラジオグラフィにおいて、心筋障害領域の放射能集積は阻害薬で阻害されなかった。一方、脾臓（ソマトスタチン受容体(SSR)陽性臓器)の放射能集積は、阻害薬でほぼ完全に阻害された。ラット心筋梗塞モデルの病理学的検討において心筋障害部位に CD68 陽性のマクロファージは存在するが、抗 SSR2 抗体を用いた免疫染色では陽性所見は得られなかった。以上から、ラット心筋梗塞モデルに In-111 pentetreotide を投与したときの心筋障害領域の放射能集積は、SSR を介したものではないことが示された。In-111 pentetreotide の心筋炎症部位への集積は SSR を介したものではない可能性が示唆された。この内容は、2023年2月17日～18日にステーションコンファレンス東京で開催された第24回日本画像医学会にて発表された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 諸井雅男	4. 巻 39
2. 論文標題 サルコイドーシスの心病変による不整脈や心不全に対する最新治療	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 日本サルコイドーシス / 肉芽腫性疾患学会雑誌	6. 最初と最後の頁 39-43
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 粟屋徹, 南本亮吾, 窪田和雄, 久保田修司, 岡崎徹, 岡崎修, 原久男, 廣井秀雄, 廣江道昭, 諸井雅男	4. 巻 39
2. 論文標題 ソマトスタチン受容体シンチグラフィーによる心臓サルコイドーシスの活動性炎症評価	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 日本サルコイドーシス / 肉芽腫性疾患学会雑誌	6. 最初と最後の頁 55-64
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計8件（うち招待講演 2件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 諸井雅男
2. 発表標題 心臓における新しいマクロファージイメージング法の開発
3. 学会等名 第154回東邦医学会例会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 諸井雅男
2. 発表標題 心病変による不整脈や心不全に対する最新治療
3. 学会等名 第38回サルコイドーシス / 日本肉芽腫性疾患学会総会（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 粟屋徹, 廣江道昭, 山口哲生, 山田嘉仁, 岡崎修, 原久男, 廣井透雄, 諸井雅男
2. 発表標題 心臓サルコイドーシスにおける活動性炎症評価としてのソマトスタチン受容体シンチグラフィーの可能性
3. 学会等名 第66回日本心臓病学会学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Awaya T, Minamimoto R, Hiroe M, Okazaki O, Hara H, Hiroi T, Yamaguchi T, Yamada Y, Moroi M
2. 発表標題 Active inflammation imaging with In-111pentetreotide in patients with cardiac sarcoidosis : comparition with other imaging modalities
3. 学会等名 ESC Congress 2018 (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 粟屋徹、諸井雅男、岡崎修、原久男、廣井透雄
2. 発表標題 Detection of Cardiac Sarcoidosis Using Somatostatin Receptor Scintigraphy.
3. 学会等名 第82回日本循環器学会学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 粟屋徹、諸井雅男
2. 発表標題 心臓サルコイドーシスに対するソマトスタチン受容体シンチグラフィーの有用性
3. 学会等名 第20回心世代核医学研究会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 粟屋徹、南本亮吾、諸井雅男、岡崎修、原久男、廣井透雄
2. 発表標題 ソマトスタチン受容体シンチグラフィにて心臓集積を認めた全身性サルコイドーシスの一例
3. 学会等名 第27回日本心臓核医学学会総会・学術集会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 諸井雅男、今中恭子、窪田哲也、瀧 淳一、廣江道昭
2. 発表標題 In-111 pentetreotideの心筋炎症部位への集積機序の検討
3. 学会等名 第42回日本画像医学会 学術集会
4. 発表年 2023年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	窪田 哲也  (Kubota Tetsuya)  (60385698)	公益財団法人朝日生命成人病研究所・その他部局等・教授 (移行)  (82654)	
研究分担者	吉田 恭子(今中恭子)  (Yoshida Kyoko)  (00242967)	三重大学・医学系研究科・教授  (14101)	
研究分担者	廣江 道昭  (Hiroe Michiaki)  (80101872)	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・医師  (82610)	



6. 研究組織（つづき）

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	瀧 淳一  (Taki Junichi)  (10251927)	金沢大学・医学系・協力研究員    (13301)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関