

令和 2 年 7 月 7 日現在

機関番号：13101

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K10725

研究課題名(和文)位相差X線CTと数値流体解析による小児肺静脈狭窄病変の病態解明

研究課題名(英文)X-ray phase contrast tomography and computed fluid dynamics for pulmonary vein stenosis

研究代表者

白石 修一 (SHIRAIISHI, Shuichi)

新潟大学・医歯学系・准教授

研究者番号：00422600

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)：肺静脈狭窄病変(PVS)の病理組織学的変化の主体は肺静脈内膜の高度肥厚であり、平滑筋細胞及び筋線維芽細胞が肥厚内膜内での細胞増殖の主因であることが確認された。一部の症例では平滑筋細胞や膠原線維の増殖も認め、経時的な血管修復過程であることが推測された。位相差X線CTを用いて肺静脈 心房接合部の観察を行ったが、各種細胞増殖と相関する所見は得られなかった。肺静脈還流血解析として経食道心エコーを用いてVelocity Time Integral of Pulmonary Vein (PV-VTI)の測定を行い、先天性心疾患手術の術中肺血流変化によく相関し肺血流の指標として有用であることを報告した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

肺静脈狭窄病変(PVS)の病理組織学的変化の主体が肺静脈内膜における平滑筋細胞及び筋線維芽細胞、膠原線維であることが判明したため、今後はこれらの細胞増殖を抑える機序による新規の肺静脈狭窄症に対する治療法の開発が可能となる可能性がある。経食道心エコーを用いたVelocity Time Integral of Pulmonary Vein (PV-VTI)が肺血流の定量化に有用であることが判明したため、今後はこの指標を用いて術中に限らずスクリーニングなどでも肺血流量および血流パターンの評価を行うことにより、早期の肺静脈狭窄性病変の発見・治療の可能性がある。

研究成果の概要(英文)：1. Main pathological finding of the pulmonary vein stenosis was thickening of the intima of the pulmonary vein, mainly due to proliferation of myofibroblast, smooth muscle cell, and collagen fiber.  
2. X-ray phase contrast tomography revealed no significant finding compared with immunostaining specimens at the junction of the pulmonary vein and the left atrium.  
3. Velocity time integral of the pulmonary vein (PV-VTI) measured by intraoperative transesophageal echocardiography during palliative operation for congenital heart defect was useful for quantification of the pulmonary blood flow.

研究分野：心臓血管外科

キーワード：肺静脈狭窄 免疫染色 位相差X線CT 経食道心エコー

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

## 1. 研究開始当初の背景

小児の複雑心奇形は診断・外科技術の進歩に伴い治療成績は近年急激な改善を認めているが、その中でも肺静脈狭窄(pulmonary vein stenosis: PVS)は現在においても原因不明の病態であり、確実な治療法はなく一旦発症すれば外科治療後も再発を繰り返し致死的となる可能性の高い予後不良の進行性の疾患であり、発症のメカニズムは未だ不明である。

肺静脈狭窄の原因としては、動脈管組織の様な退縮傾向を有する組織が迷入している説(静的要因)や肺静脈・心房接合部における血液の乱流が刺激となり内膜肥厚を来している説(動的要因)の両方の関連が考えられているが確証には至っていない。その理由として、貴重な剖検標本の切片化(破壊)による検索が困難であること、小児であるため標本が小さく詳細な形態・血流評価が困難であること、静的解析(病理組織切片)と動的解析(血流パターン)を同時に評価することが困難であることが挙げられる。

肺静脈の動的評価として肺静脈の血流量の測定・形態評価及び手術などによるリアルタイムの測定は解剖学的特性からも評価が困難であり、これまでの報告は極めて少ない。

## 2. 研究の目的

(1)肺静脈狭窄の原因究明のため、肺静脈狭窄患児の狭窄部切除標本の免疫染色を行い狭窄(肥厚部位)の観察を行う。(2)大型放射光施設 Spring8 の大型加速器による放射光位相差 X 線 CT 法で狭窄標本及び非狭窄標本の左房 肺静脈接合部の観察を行い免疫染色との比較を行う。(3)血流解析として手術中の肺静脈血流様式の観察や数値流体解析による肺静脈狭窄部の観察を行う。

## 3. 研究の方法

### (1)肺静脈狭窄標本の病理学的検討

肺静脈狭窄部の術中切除標本(総肺静脈還流異常修復術後 10 例、非総肺静脈還流異常術後 8 例)を Hematoxylin & Eosin 染色と Masson Trichrome 染色を行い最狭窄部位において内膜肥厚部位の内膜厚を測定した。

内膜肥厚高度の症例においてはアクチンフィラメントを有する筋線維芽細胞に対し Smooth Muscle Actin (SMA)、分化した平滑筋・横紋筋に対し Collagen I,III、線維化した膠原繊維に対し Desmin の各抗体を用いた免疫染色を行い観察を行った。

### (2)位相差 X 線 CT による肺静脈左房接合部の観察

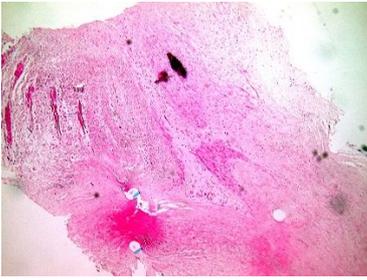
兵庫県佐用郡にある超大型サイクロトロン(Spring-8)内の中尺ビームライン実験施設の20B2ビームラインから得られる放射光の先端に位相差X線CT装置を設置し、放射光を利用した位相差画像を撮像し三次元構築を行った。(10%ホルマリン固定、標本サイズ: 38mm x 38mm x 45mm.; X線出力25 keV)。

### (3)肺静脈還流血の血流解析

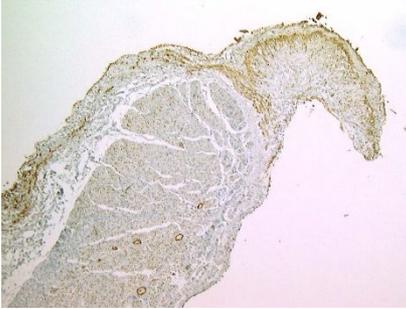
リアルタイムの肺静脈還流血の血流様式を観察するために、小児心臓手術の特に肺血流変化が顕著となる非開心姑息術(肺動脈絞扼術・体肺動脈短絡術)の術中に経食道心エコーにて上下左右の計4か所の肺静脈還流血を観察し、PV-VTI (Velocity Time Integral of Pulmonary Vein)を計測した。肺静脈狭窄部の位相差X線CT画像をDrishti v2.0を用いて三次元構築した後にSTL化し、汎用流体解析ソフトウェアANSYS Academic Research CFD(ANSYS Inc, Tokyo, Japan)を用いて数値流体解析(computed fluid dynamics: CFD)を行い、肺静脈の血流を可視化するとともに壁すり応力分布(WSS)とstream lineを作成した。

#### 4. 研究成果

##### (1) 肺静脈狭窄標本の病理学的検討

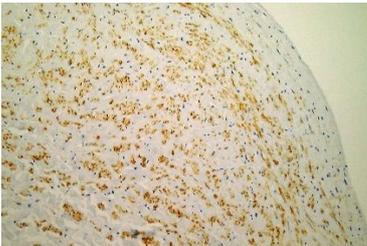


Hematoxylin & Eosin x100



-Actin x400

TAPVC術後10例中7例で内膜内にSMA陽性細胞の増殖を認め、非TAPVC例8例中4例に内膜内にSMA陽性細胞の増殖を認めた



Desmin x400

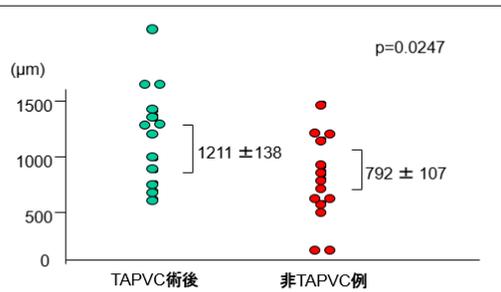
5検体(TAPVC術後3例、非TAPVC2例)の内膜内にDesmin陽性の成熟した平滑筋細胞の増殖



Collagen-III x400

3検体(TAPVC術後2例、非TAPVC1例)で内膜内に膠原線維の豊富な古い線維化を認めた

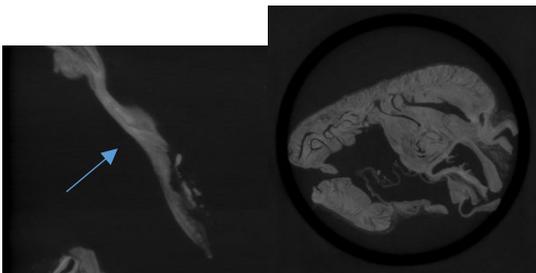
## 内膜壁厚



手術時年齢・初回術後経過期間・心房相同の

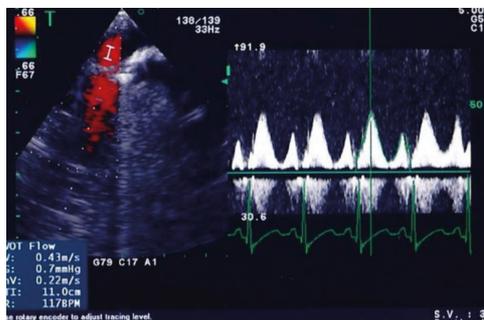
有無と内膜壁厚の間には有意な関連は認めなかった。免疫組織染色では平滑筋細胞及び線維芽細胞への分化能を有する SMA陽性の筋線維芽細胞が肥厚内膜内での細胞増殖の主因であることが確認された。また一部の症例ではDesmin陽性の成熟した平滑筋細胞や、Collagen-III 陽性の膠原線維の増殖も認め、経時的な血管修復過程であることが推測された。

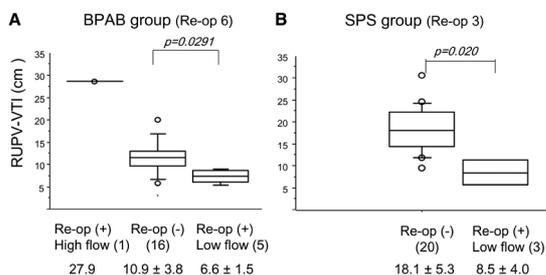
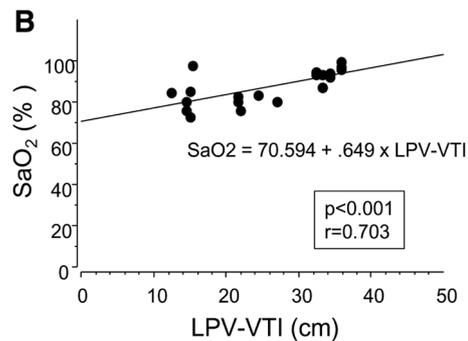
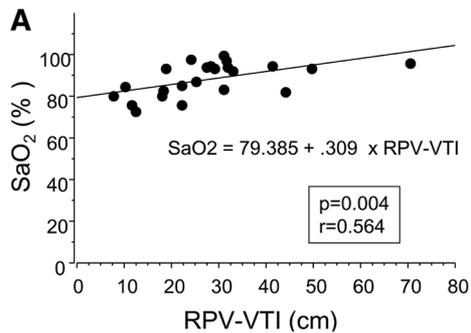
### (2) 位相差X線CTによる肺静脈左房接合部の観察



肺静脈狭窄患者の全心臓標本は入手が研究期間内では困難であったため、非狭窄患者の心臓標本の左房 肺静脈接合部を位相差X線CTにより観察を行ったが、上記の免疫染色で得られた特徴的な所見はCT値として有意な濃度差としては検出されなかった。

### (3) 肺静脈還流血の血流解析





小児心臓手術の特に肺血流変化の顕著である姑息手術(肺動脈絞扼術・体肺動脈短絡術)術中に、経食道心臓超音波検査を用いて肺静脈血流をドップラーモードで計測し、PV-VTI (Velocity Time Integral of Pulmoanry Vein)を算出した。PV-VTIが肺静脈血流量の重要な指標であることを報告した。(Eur J Cardiothorac Surg. 2019 May 1;55(5):823-828)

今後は本指標を肺静脈狭窄患児において測定を行い、非狭窄患者との比較を行うことにより本疾患の早期発見につなげる可能性があると考えている。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 4件）

1. 著者名 Shuichi Shiraishi, Keiko Bamba, Ai Sugimoto, Masashi Takahashi, Masanori Tsuchida	4. 巻 55
2. 論文標題 A novel parameter for pulmonary blood flow during palliative procedures: velocity time integral of the pulmonary vein.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Eur J Cardiothorac Surg	6. 最初と最後の頁 823-828
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/ejcts/ezy465	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Shuichi Shiraishi, Toshide Nakano, Shinichiro Oda, Hideaki Kado.	4. 巻 28
2. 論文標題 Impact of age at bidirectional cavopulmonary anastomosis on haemodynamics after Fontan operation.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Cardiol Young	6. 最初と最後の頁 1436-1443
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1017/S1047951118001543	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Kaneko Yukihiro, Shinohara Gen, Hoshino Masato, Morishita Hiroyuki, Morita Kiyozo, Oshima Yoshihiro, Takahashi Masashi, Yagi Naoto, Okita Yutaka, Tsukube Takuro	4. 巻 38
2. 論文標題 Intact Imaging of Human Heart Structure Using X-ray Phase-Contrast Tomography	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Pediatric Cardiology	6. 最初と最後の頁 390 ~ 393
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00246-016-1527-z	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Shuichi Shiraishi, Masashi Takahashi, Ai Sugimoto, Masanori Tsuchida	4. 巻 9
2. 論文標題 Predictors of ventricular tachyarrhythmia occurring late after intracardiac repair of tetralogy of Fallot: combination of QRS duration change rate and tricuspid regurgitation pressure gradient.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 J Thorac Dis	6. 最初と最後の頁 5112-5119
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.21037/jtd.2017.11.53.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 2件）

1. 発表者名 Shiraishi Shuichi, Ai Sugimoto, Masashi Takahashi, Masanori Tsuchida
2. 発表標題 Assessment of pulmonary blood flow with intra-operative transesophageal echocardiography during palliative procedure - Velocity Time Integral of pulmonary vein-
3. 学会等名 32nd Annual Meeting of European Association of Cardio-Thoracic Surgery (EACTS) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 白石修一、Keti Vitanova, Benedikt Mayr, Julie Cleuziou, Elisabeth Beran, Rudiger Lange, Masamichi Ono
2. 発表標題 両方向性グレン手術時条件がFontan術後成績と運動耐容能に与える影響：体心室形態による比較
3. 学会等名 第71回日本胸部外科学会定期学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Shiraishi Shuichi, Ai Sugimoto, Ziyong Moon, Masashi Takahashi, Masanori Tsuchida
2. 発表標題 Assessment of pulmonary venous blood flow by intra-operative transesophageal echocardiography at bilateral pulmonary artery banding -Velocity Time Integral of pulmonary vein (PV-VTI)-
3. 学会等名 31st Annual Meeting of European Association of Cardio-Thoracic Surgery (EACTS) (国際学会)
4. 発表年 2017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
---------------------------	-----------------------	----