

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2008～2009

課題番号：20790889

研究課題名（和文）薬剤性肺障害ウサギモデルを用いた病理組織とCT画像の対比

研究課題名（英文）drug-induced lung injury using Rabbit model: Assessment of correlation between histopathology and image finding of computed tomography

研究代表者

永谷 幸裕 （ NAGATANI YUKIHIRO ）

滋賀医科大学・医学部・助教

研究者番号：80402725

研究成果の概要：

進行した線維化に至る画像所見の推移には、大別して、二つのパターンが認められた。浸潤影や不均一なすりガラス影及びそのいずれかを経て線状・網状影を生じるパターンと均一なすりガラス陰影のみが、経過中に出現し、線状・網状影を生じるパターンである。不均一なすりガラス影の範囲は初期の線維化を示唆する可能性が示唆され、抗線維化薬の効果判定に応用できる可能性がある。

交付額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	2,300,000	690,000	2,990,000
年度			
総計	2,300,000	690,000	2,990,000

研究分野：胸部画像診断

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・放射線医学

キーワード：薬剤性肺炎、CT画像、気管内投与、経時的変化、不均一なすりガラス影、線維化

1. 研究開始当初の背景

- (1) 薬剤性肺障害は、異なる臨床像や組織学的所見を呈し、直接的障害や間接的障害に大別される機序で発症し、原因薬剤も抗癌剤や抗菌剤等多岐に渡っている。多種類の薬剤で生じた60例の薬剤性肺炎のCT画像を異常陰影の種類、局在や範囲を解析した研究では、原因薬剤の種類により、

ある程度の傾向があることが示唆されているが、薬理作用が全く異なる薬剤でも、浸潤影のように同様の陰影形態を示す場合がある一定の頻度で見られること、薬剤使用開始から診断に至るまでの期間や発症後の経過観察期間にばらつきがあることや、組織学的な裏づけが一部の症例にとどまっていることなどの未解決の問題点が挙げられており、薬剤性肺障

害に対して、画像診断が関与・貢献するためには、さらなる詳細な検討が必要である。他に、薬剤性肺障害に関する過去の論文を参照しても、そのほとんどが症例報告の段階にとどまっているのが現状である。

- (2) 従来の抗癌剤と異なり、癌細胞に特異的に発現している分子を標的とする数種類の分子標的薬が臨床利用されているが、分子標的薬が想定された分子以外の分子と相互作用することで、未知の作用を引き起こす可能性がある。肺野にも新たな障害のパターン・臨床経過を呈しうる可能性が十分にあり、それが画像所見に反映されることが予想される。
- (3) 薬剤性肺障害では、直接的障害に際し、あるいは一部の間接的障害で捕体に関与する抗原抗体反応に際して、血管の透過性亢進や血管内皮障害が生じていることが予測される。細胞接着分子であるE-セレクトインは血管内皮細胞に特異的に発現し、炎症等の刺激により合成され細胞表面に表出され、白血球遊走の標的となる。E-セレクトインは、なんらかの機序で細胞外領域が切断され、血中に可溶性として放出されるため、その計測により血管炎症マーカーとなりうると注目されている。他の血管炎症マーカーとしては、IL-1 や TNF の刺激で血管内皮細胞や血管平滑筋、動脈硬化と密接な関係を有するマクロファージから直接産生される Pentaxin3 が期待されている。

2. 研究の目的

前述の薬剤性肺炎に関する画像診断の問題点、新たな薬剤の臨床利用の拡大、血管内皮細胞障害を検出可能なマーカーの実用化に基づき、本研究では、白色日本白兔を用い、前述の薬剤の中からすでに動物実験モデルとして確立されたブレオマイシン及び分子標的薬により生じる肺野の障害に関して、CT 撮影装置による画像の経時的変化を評価し、同時期の病理組織と対応させることにより、CT 撮影画像がどの程度まで、組織障害の変化を、特に繊維化について、検出できるかを検討する。

3. 研究の方法

体重 2.5~3.0Kg の日本白色兔 23 羽に対し

て、体重当たり 10mg 塩酸ブレオマイシンを気管内投与したモデルを用いた。気管内投与は、皮下に塩酸ケタミン 30mg/kg、塩酸メドミジン 0.1mg/kg を注射、全身麻酔下に固定台にウサギを固定した後、径 2.5mm 或いは 3.0mm の乳児用気管内挿管用チューブを挿入、先端が気管内にあるよう調節。塩酸ブレオマイシンを生理食塩水 3ml に溶解、体軸周囲にゆっくり回転させながら腹臥位及び背臥位で数回に分割して溶液を注入。頭低位や頭上位の状態を、適宜追加した。投与直後、12 時間後 (n=3)、24 時間後 (n=3)、3 日後 (n=3)、7 日後 (n=3)、14 日後 (n=3)、21 日後 (n=3)、28 日後 (n=5) に 0.5mm×4 列、FOV100mm、helical pitch 1.5、管電流 200mA の撮影パラメーターで CT 撮影 (東芝社製) 及び組織摘出を行った。

(n は摘出数) 組織摘出は前述の方法で全身麻酔後、心腔内穿刺にて瀉血後、前述の挿管チューブを気管内に挿入。挿管チューブより、10%ホルマリン溶液を挿入しつつ、ペントバルビタールナトリウムを心腔内に過剰投与 (350mg) し安楽死後、胸腔より肺を摘出。摘出標本を 10%ホルマリン溶液にて 2 日間固定液に浸透させた後、ウサギの各葉のサイズを考慮し、等しい厚みで標本を切断、パラフィン包埋を行った。

解剖学的に、薬剤投与が不十分となりやすい右副葉/右前葉を除く、右中葉、右後葉、左前葉、左後葉のあらかじめ決定された中心域内の断面にて、HE 及び EVG 染色した病理組織切片 (5µm 厚) 及び左右肺別々に FOV70mm にて再構成し、ウサギ体軸に垂直な MPR-CT 画像 (0.5mm 厚) にて画像解析を施行。MPR-CT 画像の解析は、2.5mm 四方のグリッドを j-peg data に重ねて、浸潤影、均一なすりガラス陰影、不均一なすりガラス陰影、線状網状影、気管支拡張、血管陰影及び拡張のない気管支影の各所見が、各肺葉断面に占める割合 (0-1) を 2 名の放射線科医が合議で評価、スコア化した。病理組織切片に関しては、100 倍視野で切片全体を評価後、最も所見の強い 100 倍視野領域において、肺胞壁炎症細胞浸潤/肺胞腔内無構造物質の程度や範囲、間質線維化、蜂巣肺形成、肺胞上皮化生や間質平滑筋増生に関してスコア化を行った。

(炎症スコア 0-20 点) (繊維化スコア 0-14 点)

ブレオマイシン投与後の経過観察時間別の病理組織スコア、MPR-CT 画像所見スコアと病理組織スコアの相関及び線維化病変の局所領域における MPR-CT 画像の経時的変化を評価した。

4. 研究成果

MPR-CT 画像での前述の各所見の断面に占め

る割合が、どの程度局所の最も強い病理組織的変化を反映するかに関しては、浸潤影の範囲及び線状網状影の範囲は、それぞれ、病理組織での炎症スコア及び線維化スコアと軽度の相関を呈した。不均一なすりガラス影の範囲は、病理組織での線維化スコアと良好な相関を、又炎症スコアと軽度の相関を呈した。線維化スコアはプレオマイシン気管内投与後7日後及び14日後においてピークとなり、21日後及び28日後よりも、ともに有意に高値となった。

病理組織の評価により、最も線維化が強いと考えられる領域に相当するCT画像の経時的変化の解析では、進行した線維化に至る画像所見の推移には、大別して、二つのパターンが認められた。プレオマイシン気管内投与直後のCT画像で、均一なすりガラス影を認めた領域で、浸潤影⇒不均一なすりガラス影或いは、そのいずれかを経て線状・網状影が生じるパターンとプレオマイシン気管内投与直後のHRCT画像で、均一なガラス影を認めない領域で、浸潤影や不均一な浸潤影を認めることなく、線状・網状影が生じるパターンである。

線維化スコアがピークとなった時期が、過去の報告より1,2週間早く出現していること、不均一なすりガラス影の範囲が線維化スコア及び炎症スコアのいずれとも相関していることより、不均一なすりガラス影の範囲は初期の線維化を示唆する可能性が示唆され、抗線維化薬の効果判定に応用できる可能性がある。

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)

[学会発表] (計 1件)

1. 日本医学放射線学会総会 2009

発表者(代表)名: 永谷 幸裕

発表課題名: 薬剤性肺障害ウサギモデルを用いた病理組織と高分解CT画像の経時的変化の対比

学会等名: 第68回日本医学放射線学会総会

発表年月日: 平成21年4月17日

発表場所: パシフィコ横浜

6. 研究組織

(1) 研究代表者

永谷 幸裕 (NAGATANI YUKIHIRO)

滋賀医科大学・医学部・助教

研究者番号: 80402725

(2) 研究分担者

()

研究者番号:

(3) 連携研究者

()

研究者番号: