

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 20 日現在

機関番号：17301

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2012～2014

課題番号：24592134

研究課題名(和文) 新生血管の局在に着目した頸動脈プラークの症候化における因子の解析

研究課題名(英文) Inward Neovessels and Symptomatic Presentation in Carotid Stenosis

研究代表者

永田 泉(NAGATA, Izumi)

長崎大学・医歯薬学総合研究科(医学系)・客員研究員

研究者番号：10198327

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,100,000円

研究成果の概要(和文)：頸動脈狭窄症における新生血管はプラークの不安定性を示す因子の一つであるが、その血行動態やプラーク内出血のメカニズムは十分解明されていない。我々は頸動脈内膜剥離術CEAの際に施行するICG video angiography で得られる新生血管の描出パターンに着目し、プラーク内出血のメカニズムにつき検討した。その結果、連続57症例中、内膜側から描出される新生血管は脳梗塞への症候化、梗塞サイズと優位に相関した。病理学的検討でも、プラーク内出血、炎症の進展と相関を示した。炎症を介した内膜側への新生血管の進展と、内腔からNVeへの直接的な血流がプラーク内出血に関連している可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：Recent studies have demonstrated plaque morphology to determine high risk patients as well as degree of stenosis in carotid atherosclerosis. Neovascularization of carotid plaques is associated with plaque vulnerability. However, the mechanism of neovascularization for intraplaque hemorrhage (IPH) and its clinical contribution remain undetermined. This study aimed to clarify the characteristics of neovessel appearance focusing on inward neovessels, which has been reported to be important in plaque advancement. Each neovessel pattern was evaluated with respect to clinical, radiological, and pathological findings including IPH, neovascularization, hemosiderin spot and inflammation.

Inward neovessels communicating with lumen and inflammation synergistically contribute to IPH and symptomatic presentation in patients with carotid stenosis, which is more specific than vasa vasorum. This condition could be a new therapeutic target.

研究分野：脳神経外科学

キーワード：脳梗塞 頸動脈狭窄 プラーク 新生血管

1. 研究開始当初の背景

本邦では食生活の欧米化、高齢化社会により動脈硬化疾患や脳血管障害が増加している。動脈硬化の好発部位である頸動脈閉塞性病変も増加しており、現在年間 3000 件以上の頸動脈狭窄症に対する外科治療が行われている。外科的治療の適応については North American Symptomatic Carotid Endarterectomy Trial (NASCET) の報告に基づき、従来から狭窄率を判断材料とした内膜剥離術の適応が決定されていた (N. Engl. J. Med. 1991; 325: 445-453)。しかしながら近年の大規模 study では狭窄度は必ずしも狭窄率と相関しないことが報告されている (Stroke. 1999; 30: 841-850)。また、近年では様々な画像モダリティの進歩により頸動脈プラークの質的診断が可能となり、治療方針の決定に必須の検査となった。本邦においては欧米に比べると脂質成分に富む、いわゆる lipid rich plaque が多いことも報告されており、そういった意味では様々なモダリティを駆使して脂質、出血成分の多い不安定プラークを正確に検出することが本邦での課題であり、治療成績向上に結びつくものと考えられる。

2. 研究の目的

頸動脈狭窄症におけるプラークの性状を放射線学的及び組織学的に検討し、特に新生血管に着目してプラークの不安定性を解析することを目的とする。新生血管と症候の関連性、部位、炎症との関連、さらには新生血管の進展やプラーク内出血との相関につき解析する。

3. 研究の方法

下記の 2 点に絞り解析を行った。

- 頸動脈プラークの新生血管の局在 (外膜由来 vasa vasorum か、内膜 endothelium 由来か)
- 炎症細胞やケモカインと新生血管伸展との関連性

高分解能 MRI にて頸動脈狭窄症にて当院を受診した患者の頸動脈プラーク診断を行う。T1 強調像、T2 強調像、proton 像、time of flight (TOF) 像にて脂質成分やプラーク内出血といった性状診断を行う。CT でもプラーク撮影を行い、我々が確立したアルゴリズムで評価する。頸動脈内膜剥離術においてはインドシアニングリーンをプラーク剥離前に投与 (動脈内投与、静脈内投与) を行い、新生血管の局在を評価する。プラークを切除する際にはなるべく一塊として摘出し、摘出標本を用いて検討する。病理病本では H&E 染色、Azan 染色により、線維化、プラーク内出血、脂質成分を評価し、鉄染色を追加してマクロファージを同定する。

(1)放射線学的解析

- ・ MRI

頸動脈狭窄にて当院を受診した患者を対象に Signa 3.0-tesla MRI 装置 (GE 社製) を用いて、3-inch surface coil を使用し、心電図同期下に脂肪抑制をかけ black-blood 法にて撮影する。不安定プラークの構成要素である lipid rich necrotic core、プラーク内出血に着目して T1 強調画像、Time of flight 画像にて評価を行う。

・ CT angiography

従来の撮像法に加え、造影剤注入 2 分後の撮影 (delayed image) を行い subtraction 法にてプラーク内の造影剤取り込みを評価。新生血管やプラーク内炎症の検討を行う。

(2)組織学的解析・染色

頸動脈内膜剥離術を施行される症例については摘出標本を用いて性状 (繊維化、出血、脂質、石灰化) を評価する。ステント留置後はデブリスを回収し、H&E 染色を行い、その数や大きさを計測する。摘出標本をホルマリン固定し、H&E 染色、Azan 染色、EVG 染色を行い、プラーク内の性状評価 (脂質成分、線維成分、出血、石灰化)、形態的評価 (潰瘍など) を行う。それぞれの病変を AHA 分類する。

(3)術中評価

頸動脈露出後に ICG 12.5mg を静脈内投与、さらには 0.05mg を stump pressure 用ニードルから動脈内投与を行う。

4. 研究成果

1) 新生血管の局在

内膜剥離術におけるインドシアニンググリーンでの評価では (A) 動脈内投与で早期に描出されるもの (NVe)、(B) 静脈内投与で晚期に描出されるもの (NVv)、(C) 全く新生血管が描出されないもの、の 3 群に分類された (Figure 1)

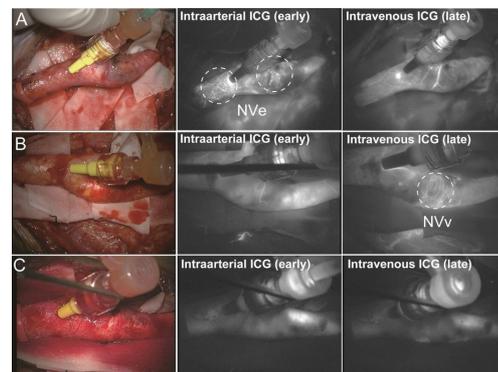


Figure 1

2) 症候、梗塞と新生血管との関連性 (表、Figure 2)

上記の結果を踏まえ、連続症例における新生血管の描出のパターンと症候化、梗塞との関連につき検討した。各群におけるリスクファクター、使用薬剤、脂質、放射線学的特徴に有意差は見られなかった。しかしながら、

Embolic infarction (塞栓症)はendothelium群(NVe)に61.5%, vasa vasorum群(NVv)に48.5%であり、さらには一過性脳虚血発作(transient ischemic attack)はそれぞれ23.1%、3%であった。すなわちNVe群において症候性となる割合が多いことが明らかとなった。発症時の梗塞サイズにおいては頭部MRI 拡散強調画像を用いて定量を行った。その結果、有意にNVe群が梗塞巣が大きい結果であり、症候化との関連性をサポートするものであった。

Variable (%)	ICG Neovessel endothelium (n=13)	ICG Neovessel vasa vasorum (n=33)	ICG Neovessel none (n=11)	p
Cardiovascular risk factor				
Age	70.5 ± 6.6	71.9 ± 7.8	67.5 ± 9.2	0.28
Male gender	13 (100)	27 (86.1)	11 (100)	0.09
BMI, kg/m ²	22.9 ± 2.2	23.7 ± 3.0	24.5 ± 2.4	0.38
Diabetes mellitus	4 (30.8)	12 (36.4)	4 (36.4)	0.93
Hypertension	10 (76.9)	27 (81.8)	11 (100)	0.26
Current or former smoker	9 (69.2)	19 (57.6)	10 (90.1)	0.13
Use of drugs				
Diabetes medication	2 (15.4)	9 (27.3)	2 (18.2)	0.64
Antihypertensives	8 (61.5)	26 (78.8)	10 (90.1)	0.23
Statins	10 (76.9)	23 (69.7)	4 (36.7)	0.08
Antithrombotics	13 (100)	33 (100)	11 (100)	1.00
Lipids				
LDL	100.5 ± 35.7	98.5 ± 31.6	100.4 ± 25.1	0.97
HDL	42.5 ± 14.8	49.7 ± 19.1	39.3 ± 7.5	0.47
Total cholesterol	168.1 ± 35.6	175.5 ± 45.1	180.2 ± 37.0	0.77
Triglycerides	131.9 ± 40.7	118.9 ± 63.7	145.2 ± 97.2	0.52
Radiological findings				
Degree of stenosis	83.0 ± 11.3	78.6 ± 14.3	82.7 ± 10.1	0.47
Ulceration	2 (15.4)	10 (30.3)	0 (0)	0.09
T1WI ratio	1.68 ± 0.5	1.56 ± 0.5	1.35 ± 0.5	0.21
TOF ratio	1.71 ± 0.6	1.46 ± 0.6	1.36 ± 0.6	0.29
Clinical Presentation				
Embolic infarction (A to Δ)	8 (61.5)	16 (48.5)	5 (45.5)	0.68
Transient ischemic attack	3 (23.1)	1 (3.0)	1 (9.1)	0.10
Asymptomatic	2 (18.2)	16 (48.5)	5 (45.5)	0.11

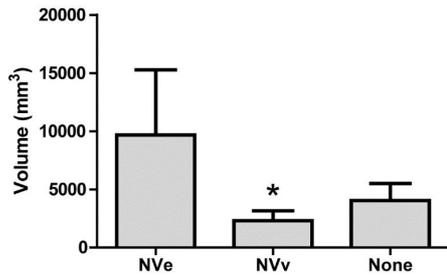


Figure 2

3) 新生血管の描出パターンにおける組織学的検討 (Figure 3)

新生血管描出パターンと特に関連性が高いと予測されるプラーク内出血 (intraplaque hemorrhage)、陈旧性微小出血 (hemosiderin spot)、組織学的新生血管、炎症細胞につきそれぞれの染色法を用いて定量を行った。その結果、プラーク内出血と陈旧性微小出血においては有意に endothelium群において発達していたが、組織学的新生血管と炎症細胞の発達においては有意差を見なかった。これらの結果から新生血管の描出パターンが必ずしも新生血管の進展と相関

していないことが示唆された。

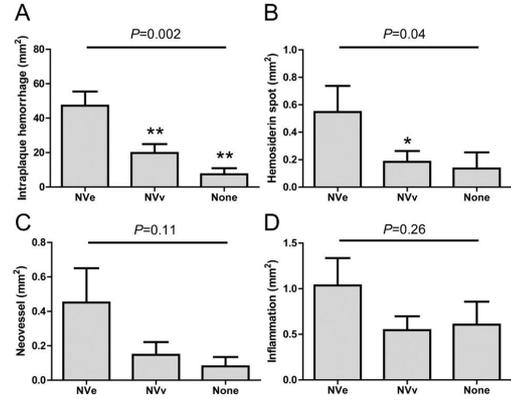


Figure 3

4) 炎症細胞との相関性

最後に炎症細胞に着目し、他のコンポーネントとの相関性につき検討した。その結果、炎症細胞は新生血管 (R=0.43)、陈旧性出血 (R=0.62)、プラーク内出血 (R=0.349) との相関性が強いことが明らかとなった。

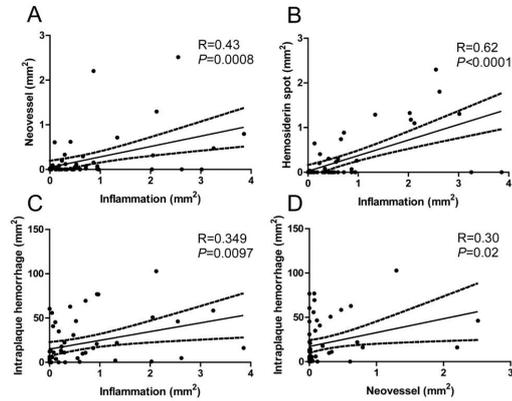
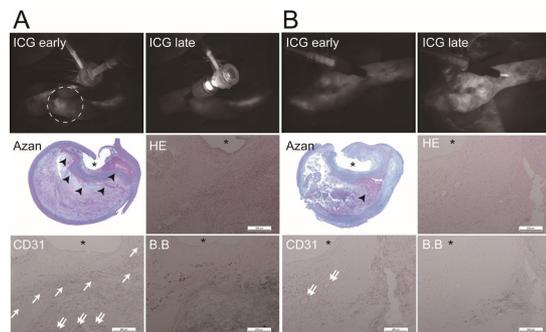


Figure 4

代表症例を提示する (Figure 4)。

Aはendothelium群、Bはvasa vasorum群である。組織学的検討ではプラーク内出血 (Azan 染色)、炎症細胞 (HE 染色)の領域がAにおいて多く、また新生血管 (CD31 染色)、ヘモジデリン (B.B 染色)の発達もAにおいて有意に亢進していた。



以上の結果より、頸動脈プラークにおける新生血管の進展については下記に示すようなメカニズムが推察された (Figure 5)。すなわち、初期は新生血管は外膜側の vasa vasorum から進展し (Stage 2)、血管内腔の炎症に呼

応するように内膜側へ進展する。その結果、内膜側と交通するようになり、機械的ストレスを介して破綻しやすい状態となり(Stage 3)、プラーク内出血あるいは内腔側への血栓の飛散が生じ症候化する。

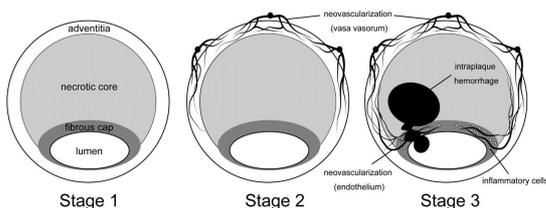


Figure 5

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)

〔雑誌論文〕(計 5 件)

Nobutaka Horie, Yoichi Morofuji, Minoru Morikawa, Yohei Tateishi, Tsuyoshi Izumo, Kentaro Hayashi, Akira Tsujino, Izumi Nagata. Communication of Inward Neovessels with Lumen Contributes to Symptomatic Intraplaque Hemorrhage in Carotid Stenosis. Journal of Neurosurgery in press (査読あり)

Nobutaka Horie, Yuhtaka Fukuda, Tsuyoshi Izumo, Kentaro Hayashi・Kazuhiko Suyama, Izumi Nagata. Indocyanine Green Videoangiography for Assessment of Postoperative Hyperperfusion in Moyamoya Disease. Acta Neurochir (Wien). 2014 May;156(5):919-26 (査読あり)

Nobutaka Horie, Minoru Morikawa, Yoichi Morofuji, Takeshi Hiu, Tsuyoshi Izumo, Kentaro Hayashi, Izumi Nagata. De Novo Ivy Sign Indicates Postoperative Hyperperfusion in Moyamoya Disease. Stroke. 2014 May;45(5):1488-91 (査読あり)

Nobutaka Horie, Mitsutoshi Iwaasa, Eiji Isotani, Shunsuke Ishizaka, Tooru Inoue, and Izumi Nagata. Impact of Clipping versus Coiling on Postoperative Hemodynamics and Pulmonary Edema after Subarachnoid Hemorrhage. Biomed Res Int. 2014;2014:807064. (査読あり)

Nobutaka Horie, Eiji Isotani, Sumihisa Honda, Hideyuki Oshige, and Izumi Nagata. Impact of Aneurysm Location on Cardiopulmonary Dysfunction after Subarachnoid Hemorrhage. J Stroke Cerebrovasc Dis. 2014 Aug;23(7):1795-804. (査読あり)

〔学会発表〕(計 6 件)

Luminal Neovascular Sprouting with Inflammation Contributes to Symptomatic Intraplaque Hemorrhage in Carotid Stenosis. Nobutaka Horie, Yoichi Morofuji, Minoru Morikawa, Yohei Tateishi, Tsuyoshi Izumo, Kentaro Hayashi, Akira Tsujino, Izumi Nagata. International Stroke Conference. 2015 年 2 月 11-13 日 Nashville (U.S.A)

頸動脈プラーク内出血は炎症を介した内膜側への新生血管 sprouting が関与する. 堀江信豊, 森川 実, 前田 肇, 山口 将, 立石洋平, 諸藤陽一, 出雲 剛, 林健太郎, 辻野 彰, 永田 泉, 松尾孝之. Stroke 2015. 2015 年 3 月 26-28 日, リーガロイヤルホテル広島、広島

頸動脈プラークイメージングによる vulnerability 評価 【 Young Investigator Award 受賞】【シンポジウム「脳血管障害(治療困難例)の診断と治療への貢献」】. 堀江信豊, 森川 実, 諸藤陽一, 日宇 健, 出雲 剛, 林健太郎, 永田 泉. 第 37 回日本 CI 学会 2014 年 2/28-3/1, 大宮ソニックシティ、大宮

頸動脈プラーク内出血は炎症を介した内膜側への新生血管 sprouting が関与する【シンポジウム：頸動脈狭窄症の治療戦略と成績】. 堀江信豊, 森川実, 山口将, 立石洋平, 諸藤陽一, 出雲剛, 林健太郎, 辻野彰, 永田泉. 日本脳神経外科学会第 73 回学術総会. 2014 年 10 月 8-10 日, グランドプリンスホテル新高輪、東京

頸動脈内膜剥離術における新生血管に着目した ICG 動注・静注の有用性. 堀江信豊, 森川 実, 福田雄高, 福田修二, 立石洋平, 出雲 剛, 林 健太郎, 辻野彰, 永田 泉. Stroke 2013. 2013 年 3 月 21-23 日, グランドプリンスホテル新高輪、東京

頸動脈内膜剥離術における ICG video-angiography を用いたプラークイメージング【シンポジウム 画像診断とプラークイメージ】. 堀江信豊, 福田雄高, 福田修二, 出雲 剛, 林 健太郎, 森川 実, 立石洋平, 辻野彰, 永田 泉. 第 12 回日本頸部脳血管治療学会 JASTNEC 2013 年 6 月 28-29 日, 京王プラザホテル、東京

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

名称 :

発明者 :

権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況（計0件）

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

永田 泉 (NAGATA, Izumi)
長崎大学・医歯薬学総合研究科(医学系)・客員研究員
研究者番号：10198327

(2) 研究分担者

陶山 一彦 (SUYAMA, Kazuhiko)
長崎大学・医歯薬学総合研究科(医学系)・客員研究員
研究者番号：60236057

林 健太郎 (HAYASHI, Kentaro)
長崎大学・病院(医学系)・講師
研究者番号：40404222

堀江 信貴 (HORIE, Nobutaka)
長崎大学・病院(医学系)・助教
研究者番号：70380912