

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 5 月 15 日現在

機関番号：84404

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2016

課題番号：25461867

研究課題名(和文)画像診断法を用いた動脈硬化モデルWHHLMUウサギの病態特性の解明

研究課題名(英文)Revealing the pathological condition of a rabbit model for spontaneous myocardial infarction (WHHLMU rabbit) using MRI

研究代表者

圓見 純一郎(Enmi, Jun-ichiro)

国立研究開発法人国立循環器病研究センター・研究所・上級研究員

研究者番号：80393205

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円

研究成果の概要(和文)：心疾患と脳血管疾患は日本人の死因の上位を占めており、その主な原因である動脈硬化の診断精度向上および治療法の改善は喫緊の課題である。動脈硬化、及びこれに起因する心筋梗塞を自然発症するWHHLMUウサギは、基礎研究や前臨床試験において有用な動脈硬化モデル動物だと考えられているが、その病態については不明な点が残されている。そこで、WHHLMUウサギの病態特性をより詳細に明らかにするために、ウサギの心機能を非侵襲的にin vivoで評価するためのMRI技術を確立してWHHLMUウサギを調べたところ、心臓の運動機能低下が示唆された。WHHLMUウサギは動脈硬化研究に大きく貢献すると期待される。

研究成果の概要(英文)：Heart and cerebrovascular diseases, which are attributed mainly to arteriosclerosis, are major causes of death in Japan. Improvement in the diagnosis and treatment of arteriosclerosis is a pressing issue. The WHHLMU rabbit is an animal model for spontaneous myocardial infarction due to arteriosclerosis and expected to be a useful model animal for preclinical research of arteriosclerosis. However, the pathological condition of WHHLMU rabbits is still not fully understood. We developed an MRI system for noninvasive in vivo evaluation of cardiac function in rabbits in order to reveal the pathological condition of myocardial infarction in WHHLMU rabbits. The results suggested the cardiac depression in WHHLMU rabbits. WHHLMU rabbits will be useful for preclinical research of arteriosclerosis.

研究分野：画像診断学

キーワード：動脈硬化 プラーク WHHLMU 画像診断 MRI

1. 研究開始当初の背景

心疾患および脳血管疾患は日本人の死因の上位を占めており、その主な原因である動脈硬化の診断法の確立は重要なテーマとなっている。動脈硬化により動脈内部に出来た隆起はプラークと呼ばれ、破綻し難い安定プラークと、破綻し易い不安定プラークがある。後者が破綻すると血栓が生じ、その血栓が剥がれ飛んで冠動脈や脳血管に詰まることによって心筋梗塞や脳梗塞が引き起こされる。従って、破綻前に不安定プラークを的確に検出する方法の確立が望まれている。血管の狭窄度はプラークの不安定度とは必ずしも相関しないので、単にプラークの形態だけでなく、組織性状を調べる方法が必要である。そこで、プラークの成長と破綻に關与する分子プロセスを系統的にイメージングする方法の確立が強く望まれている。

新規イメージング技術を開発する場合、人に応用する前に動物実験によって有効性や安全性を十分に検証しておく必要があり、上記のイメージング技術の開発には動脈硬化モデル動物を使った検証実験が必要不可欠である。

現在、系統が確立している動脈硬化モデル動物は、アポE欠損マウスに代表されるマウスモデル、Watanabe heritable hyperlipidemic (WHHL) ウサギ、及び WHHL ウサギを基に作製された心筋梗塞を高頻度で自然発症する myocardial infarction-prone WHHL (WHHLM1) ウサギである。マウスモデルの病態は人とは異なり、脂質代謝、動脈硬化、脂質低下剤への感受性も人と異なる。更に、マウスの心臓や血管のサイズは極端に小さいために、マウスを対象としたイメージングには人とは異なる技術が必要となる。一方で、ウサギの脂質代謝、動脈硬化、脂質低下剤への感受性は人に類似しており、更に、心臓や血管のサイズがマウスに比べて大きいのでより人に近い条件でイメージングを行うことが出来る。従って、マウスよりもウサギモデルの方がイメージング技術の評価系として適しており、WHHLM1 ウサギが最適と考えられる。

WHHLM1 ウサギをイメージング技術の評価系として利用するにあたり、WHHLM1 ウサギの病態を詳細に理解しておくことが必要である。WHHLM1 ウサギの心筋梗塞の病態については、血液検査、行動観察、心電図測定、死後の病理組織検査などにより調べられており、心筋梗塞の発症率、死亡時の冠動脈の狭窄率や心筋梗塞巣の状態が明らかにされている。しかし、心臓の運動機能評価のような *in vivo* の評価はほとんど行われておらず、まだ不明な点も多い。

2. 研究の目的

本研究の目的は、病態を非侵襲的に *in vivo* で観察することが可能なMRIを用いてWHHLM1ウサギの病態を調べ、その特性をより明確にすることである。特に、WHHLM1ウサギの特徴

である自然発症の心筋梗塞の病態に注目し、臨床検査において心機能評価に広く使用されているシネMRIを使ってWHHLM1ウサギの心臓の運動機能の評価した。

3. 研究の方法

小動物用7T MRI装置を用いてウサギの心臓の撮像を行った。人用のMRI装置に限らず、小動物用のMRI装置であってもウサギの撮像は一般的ではなく、ウサギに最適化された市販のRFコイルは無い。本装置においても、ウサギ用のRFコイルとしては、広範囲を撮像できるが感度の低いボディコイルしか付属していなかった。そこで、局所撮像用の高感度RFコイルを製作した。

シネMRI撮像の際には、心拍同期、および息止め又は呼吸同期を行う必要があり、ECG電極や呼吸センサの取り付けが煩雑である。息止めを行う場合は、呼吸センサは不要であるが、被検体への負担が大きくなり過ぎることがある。また、静磁場や病態の影響でECG信号が乱れて心拍同期が正確に行えないことがある。そこで、最近、心拍同期も息止めや呼吸同期も一切行わずに撮像を行い、後処理でシネ画像を再構成する方法(IntraGate法)が提案された。しかし、本法の妥当性はまだ十分には確認されていないので、その妥当性評価を行った。

製作した高感度RFコイルを用いてIntraGate法によりWHHLM1ウサギのシネMRI撮像を行った。

4. 研究成果

局所撮像用の高感度RFコイルは、ボディコイルと同様の送受信兼用の円筒形のクアドラチャコイルとし、内径をボディコイルの154mmに比べて100mmと小さくすることでウサギの胸部に密着するようにし、さらに長さを短くすることで高感度化を目指した。製作したRFコイルを使用することにより、ボディコイルを使用した場合に比べて画像の信号対雑音比が約1.7倍に向上することがファントム実験によって確認された。

この高感度RFコイルを用いてウサギの心臓の撮像を行い、IntraGate法の妥当性評価を行った。その結果、IntraGate法を用いた場合でも、慎重にECG電極と呼吸センサを装着して心拍と呼吸に同期して撮像した従来のシネ画像と比べて遜色ない画像が得られることが確認された。

製作した高感度RFコイルを用いてIntraGate法により高齢のWHHLM1ウサギと正常ウサギ(日本白色種)を対象にシネMRI撮像を行ったところ、WHHLM1ウサギの心臓の運動機能低下が示唆された。今後、様々な月齢でWHHLM1ウサギと正常ウサギの心機能を比較することで、WHHLM1ウサギの心筋梗塞の病態進行の様子がさらに詳細に明らかになると期待される。

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)

[雑誌論文](計9件)

- Hattori Y, Enmi J, Iguchi S, Saito S, Yamamoto Y, Nagatsuka K, Iida H, Ihara M. Substantial Reduction of Parenchymal Cerebral Blood Flow in Mice with Bilateral Common Carotid Artery Stenosis. *Sci Rep*. 2016;6:32179. (査読有)
DOI: 10.1038/srep32179
- Ishii D, Enmi J, Moriwaki T, Ishibashi-Ueda H, Kobayashi M, Iwano S, Iida H, Satow T, Takahashi JC, Kurisu K, Nakayama Y. Development of in vivo tissue-engineered microvascular grafts with an ultra small diameter of 0.6 mm (MicroBiotubes): acute phase evaluation by optical coherence tomography and magnetic resonance angiography. *J Artif Organs*. 2016;19(3):262-9. (査読有)
DOI: 10.1007/s10047-016-0894-9
- Hattori Y, Enmi J, Iguchi S, Saito S, Yamamoto Y, Tsuji M, Nagatsuka K, Kalaria RN, Iida H, Ihara M. Gradual Carotid Artery Stenosis in Mice Closely Replicates Hypoperfusive Vascular Dementia in Humans. *J Am Heart Assoc*. 2016;5(2): e002757. (査読有)
DOI: 10.1161/JAHA.115.002757
- Hattori Y, Enmi J, Kitamura A, Yamamoto Y, Saito S, Takahashi Y, Iguchi S, Tsuji M, Yamahara K, Nagatsuka K, Iida H, Ihara M. A novel mouse model of subcortical infarcts with dementia. *J Neurosci*. 2015;35(9):3915-28. (査読有)
DOI: 10.1523/JNEUROSCI.3970-14.2015
- Kida I, Enmi J, Iida H, Yoshioka Y. Asymmetrical intersection between the middle cerebral artery and rhinal vein suggests asymmetrical gustatory cortex location in rodent hemispheres. *Neurosci Lett*. 2015;589:150-2. (査読有)
DOI: 10.1016/j.neulet.2015.01.017
- Temma T, Koshino K, Moriguchi T, Enmi J, Iida H. PET quantification of cerebral oxygen metabolism in small animals. *ScientificWorldJournal*. 2014;2014:159103. (査読有)
DOI: 10.1155/2014/159103
- Hori Y, Hirano Y, Koshino K, Moriguchi T, Iguchi S, Yamamoto A, Enmi J, Kawashima H, Zeniya T, Morita N,

- Nakagawara J, Casey ME, Iida H. Validity of using a 3-dimensional PET scanner during inhalation of 150-labeled oxygen for quantitative assessment of regional metabolic rate of oxygen in man. *Phys Med Biol*. 2014;59(18):5593-609. (査読有)
DOI: 10.1088/0031-9155/59/18/5593
- Iida H, Iguchi S, Teramoto N, Koshino K, Zeniya T, Yamamoto A, Kudomi N, Moriguchi T, Hori Y, Enmi J, Kawashima H, Joni Shah N, Nakagawara J. Adequacy of a compartment model for CMRO₂ quantitation using ¹⁵O-labeled oxygen and PET: a clearance measurement of ¹⁵O-radioactivity following intracarotid bolus injection of ¹⁵O-labeled oxyhemoglobin on Macaca fascicularis. *J Cereb Blood Flow Metab*. 2014;34(9):1434-9. (査読有)
DOI: 10.1038/jcbfm.2014.118
- Tachibana Y, Enmi J, Agudelo CA, Iida H, Yamaoka T. Long-term/bioinert labeling of rat mesenchymal stem cells with PVA-Gd conjugates and MRI monitoring of the labeled cell survival after intramuscular transplantation. *Bioconjug Chem*. 2014;25(7):1243-51. (査読有)
DOI: 10.1021/bc400463t

[学会発表](計7件)

- 圓見純一郎、塞栓系を用いたラット脳梗塞モデルの長期生存率向上、第26回日本脳循環代謝学会総会、2014年11月21日-22日、岡山
- Enmi J, In vivo imaging-supported development of an intraluminal suture-based technique for acute-to-chronic cerebral infarction model in rat, World Molecular Imaging Congress 2014, 2014年9月17日-20日, Seoul(Korea)
- 圓見純一郎、Gadofluorine Mによるマウスの動脈硬化プラークイメージング、第9回日本分子イメージング学会学術集会、2014年5月22日-23日、大阪
- Enmi J, The Value of Hybrid PET and MR Imaging with Sequential Inhalation of O-15-Labeled Gaseous Tracers on Rat Model of Cerebrovascular Diseases, The 6th Korea-Japan Joint Stroke Conference, 2013年10月5日-6日, Osaka(Japan)
- 圓見純一郎、Carbogen吸入を併用した2D TOF-MRAによる脳静脈イメージング方法の検討、第41回日本磁気共鳴医学会大会、2013年9月19日-21日、徳島
- 圓見純一郎、MRIによる小動物イメージング、PETサマーセミナー 2013 in 加賀

百万石、2013年8月23日-25日、石川
圓見純一郎、ハイブリッド高磁場MRI・
150標識ガスPETによる急性期脳梗塞ラ
ットの多角的イメージング解析、第8回
日本分子イメージング学会学術集会、
2013年5月30日-31日、神奈川

6. 研究組織

(1) 研究代表者

圓見 純一郎 (ENMI, Jun-ichiro)
国立研究開発法人国立循環器病研究センタ
ー・画像診断医学部・上級研究員
研究者番号： 80393205

(2) 研究分担者

(3) 連携研究者

(4) 研究協力者

塩見 雅志 (SHIOMI, Masashi)
佐藤 博司 (SATO, Hiroshi)
中尾 一泰 (NAKAO, Kazuhiro)