

位相差 X 線 CT を用いた動脈硬化プラーク組成の評価 Evaluation of Atherosclerotic Plaque Contents using Phase-contrast X-ray Computed Tomography

篠原正和 武田匡史 佐々木直人 山下智也 百生敦* 横山光宏

Masakazu Shinohara, Masafumi Takeda, Naoto Sasaki, Tomoya Yamashita

Atsushi Momose*, Mitsuhiro Yokoyama

神戸大学大学院 医学系研究科 循環呼吸器病態学

*東京大学大学院新領域創成科学研究科 物質系専攻

Division of Cardiovascular and Respiratory Medicine, Department of Internal Medicine,
Kobe University Graduate School of Medicine

*Department of Advanced Materials Science, Graduate School of Frontier Science, The University of Tokyo

アブストラクト

急性冠症候群の原因となる不安定動脈硬化プラークを同定するため、プラーク組成を非侵襲的に評価する手法が必要とされている。CT を用いた解析が進められているが、吸収イメージングでは生体軟部組織を明瞭に描出できない。位相差 X 線イメージングはその感度の高さが生体軟部組織内の構造を評価する上で有用である。今回マウスの動脈硬化病変を位相差 X 線 CT を用いて評価し、病理学的評価と対比した。位相差 X 線 CT による動脈硬化プラーク組成評価の可能性が示唆された。

Abstract

To detect an unstable plaque that causes the acute coronary syndrome, a reliable method to assess the plaque configuration noninvasively is required. Although the multislice computed tomography has been recently developed, it is still difficult to discriminate the plaque composition due to the small difference in the absorption coefficient of biological objects. Phase-contrast x-ray imaging has great potential to investigate the structures inside soft tissues because of its high sensitivity to light elements. To investigate the compositions in atherosclerotic plaques of atherogenic-modified mice, phase-contrast x-ray CT was performed. The samples were also analyzed with the classical immunohistochemistry. The possibility that phase-contrast image can reveal the compositions of atherosclerotic plaques was suggested.

背景 生活の西欧化と長寿命に伴い動脈硬化に起因する血管疾患は増加傾向にあり、循環器領域においては急性心筋梗塞・狭心症といった冠動脈疾患が増加している。冠動脈疾患は急性冠症候群と慢性冠動脈疾患に二大別される。冠動脈での動脈硬化プラークには二つの異なる病態がある。一つは不安定プラークと呼ばれる病態で、血管内膜下への脂質の蓄積が主体で、蓄積した脂質コアの表面を薄い繊維性被膜が覆っているプラークである。もう一つは安定プラークと呼ばれる病態で、脂質沈着は少なく平滑筋細胞・膠原繊維成分が主体となるプラークである。急性冠症候群とは、不安定プラーク病変を基盤とし、血管局所における炎症反応の増悪に伴い繊維性皮膜が破れ、その結果急激に血管閉塞を生じ、

心臓突然死・急性心筋梗塞や不安定狭心症の病態を呈する疾患群である。

現在、急性冠症候群の発症を予知するため不安定プラークの存在を評価する研究が進められている。予知という立場から非侵襲的な検査手段を考えた場合、カテーテル検査以外の手段を検討しなければならない。現在臨床で用いられている CT は、空間分解能は十分に高いものの、動脈硬化プラーク軟部組織の X 線吸収率の差が非常に小さくその性状を十分に評価することはできない。

近年、百生らによって位相差 X 線を用いた CT システムが開発されてきた(1)。位相差 X 線による観察は、軟部組織に対する感度が通常の吸収 X 線による観察の約 1000 倍であり、空間分解能・時間分解能は従来の X 線による観察

と同等のものが期待される。本法を用いて動脈硬化プラークの組成評価を行い、将来的には位相差 X 線 CT を用いて非侵襲的に冠動脈の不安定プラークの存在を評価し、急性冠症候群の発症を予知することが可能となるのではないかと期待する。

*** 実験の目的 *** 位相差 X 線 CT を用いて動脈硬化プラーク組成を画像として評価し、脂質コアの含まれる不安定型動脈硬化プラークの検出を試みる。

*** 実験の方法 *** 撮影装置は BL20B2 にて結晶干渉法による位相差 CT 装置を用いた。動脈硬化モデルマウス (ApoE ノックアウトマウス) の動脈硬化病変を含む血管 (大動脈基部・腕頭動脈・腹部動脈) をホルマリン固定標本として準備し、位相像の撮影を行った。また今回は平滑筋・膠原繊維が豊富な領域と、脂質が沈着した領域との位相差 CT 画像を評価することが目標となるため、正常型マウスならびに動脈硬化モデルマウス (ApoE ノックアウトマウス) に頸動脈結紮処置によりリモデリング病変を作成し撮影対象とした。これまでの検討よれば、正常型マウスでは平滑筋・膠原繊維にて占められる新生内膜が形成され、動脈硬化モデルマウスでは局所的に脂質沈着を生じた新生内膜が形成される。CT 撮影後、血管サンプルから薄切切片を作成し、連続切片に対してヘマトキシリン・エオジン染色、脂肪染色 (Sudan-III 染色)、マクロファージ染色 (F4/80 免疫染色)、平滑筋染色 (1A4 免疫染色)、膠原繊維染色 (マッソン染色) を行って組織学的な組成を評価し、位相 CT 像との比較を行った。また、染色標本と対比させながら平滑筋領域・脂質コア領域・膠原繊維領域・石灰化領域の X 線屈折率を測定した。

*** 実験の結果 *** 位相差 CT 装置の空間解像度は $10\text{-}20\ \mu\text{m}$ あり、組織学的評価と比較して示すようにマウスの動脈硬化病変の軟部組織組成において、脂質沈着領域 (Sudan-III 染色陽性領域) と平滑筋・膠原繊維領域 (1A4 免疫染色陽性領域・マッソン染色領域) との違いは明確に評価が可能であった (Figure. 1-2)。頸動脈リモデリング病変においても平滑筋・膠原繊維で占められる新生内膜 (Figure. 3) と、脂肪沈着を伴う新生内膜 (Figure. 4) では位相差 CT 画像上明瞭に差異を評価することが可能であった。不安定プラークの原因となる脂質沈着部位は、Sudan-III を用いた脂肪染色で染色される領域として同定したが $0.79\pm 0.13(\times 10^{-8})$ と低い X 線屈折率を示した (Figure. 5)。これに比べプラークの安定化に寄与する平滑筋領

域は $4.18\pm 0.10(\times 10^{-8})$ 、また膠原繊維領域は $5.93\pm 0.13(\times 10^{-8})$ と高い X 線屈折率を示し、X 線屈折率 $1.00(\times 10^{-8})$ を閾値として脂質コアの同定が可能であった。

*** 考察 *** 位相差 X 線を用いた動脈硬化プラークの観察により、脂質コア領域と平滑筋領域・膠原繊維領域とは明らかな鑑別が可能であった。

今回、動脈硬化病変のみならず、頸動脈結紮処置による血管リモデリング病変の観察も行ったが、脂質沈着領域と平滑筋・膠原繊維領域は明瞭な鑑別が可能であった。今後の診断的意義を考えると、脂質コアを決定するための X 線屈折率閾値を検討する必要がある。脂質コアを位相差 CT 上で同定する X 線屈折率閾値として $1.00(\times 10^{-8})$ を用いるのが適切であるか、今後統計学的に検討する必要がある。

今回撮影した動脈硬化病変は予想していたより動脈硬化プラーク中の脂質コアは小さく、これは通常食を負荷していた高齢の (約 1 歳) マウスであったため動脈硬化病変が平滑筋・膠原繊維領域の多い安定プラークに変化していたと考えられる。従ってより若年より高コレステロール食負荷を行ったようなマウスの動脈硬化病変の観察も必要であろう。

今後解決すべき課題としては、CT 撮影時に得られる画像とその後の病理組織で得られる画像の差異が上げられる。論文発表に際しては画像を中心とした構成となるため説得力を持つ「同一の」スライスを示す必要がある。病理組織が完成した後に三次元の CT data 上から同一のスライスを見つけるよう試みているが全く同一のスライスを得ることは難しく、病理組織作成の過程で変形を生じていると予想される。

現在の実験は血管サンプルを ex-vivo で撮影する条件である。臨床への応用を前提に考えた場合、(1) in-vivo での撮影 (2) 結晶干渉法以外での位相差撮影 を検討していく必要がある。今後もまず小動物を用いた動脈硬化モデルを用いながら、上記の撮影条件の検討を進めていく予定である。

*** 参考文献 *** (1) Momose A. et al. *Nature Medicine* 2, 473-475(1996)

*** 論文発表状況 *** 第 71 回日本循環器学会総会にて発表予定

*** キーワード ***

急性冠症候群 不安定プラーク

動脈硬化モデルマウス (ApoE ノックアウトマウス) 大動脈基部病変

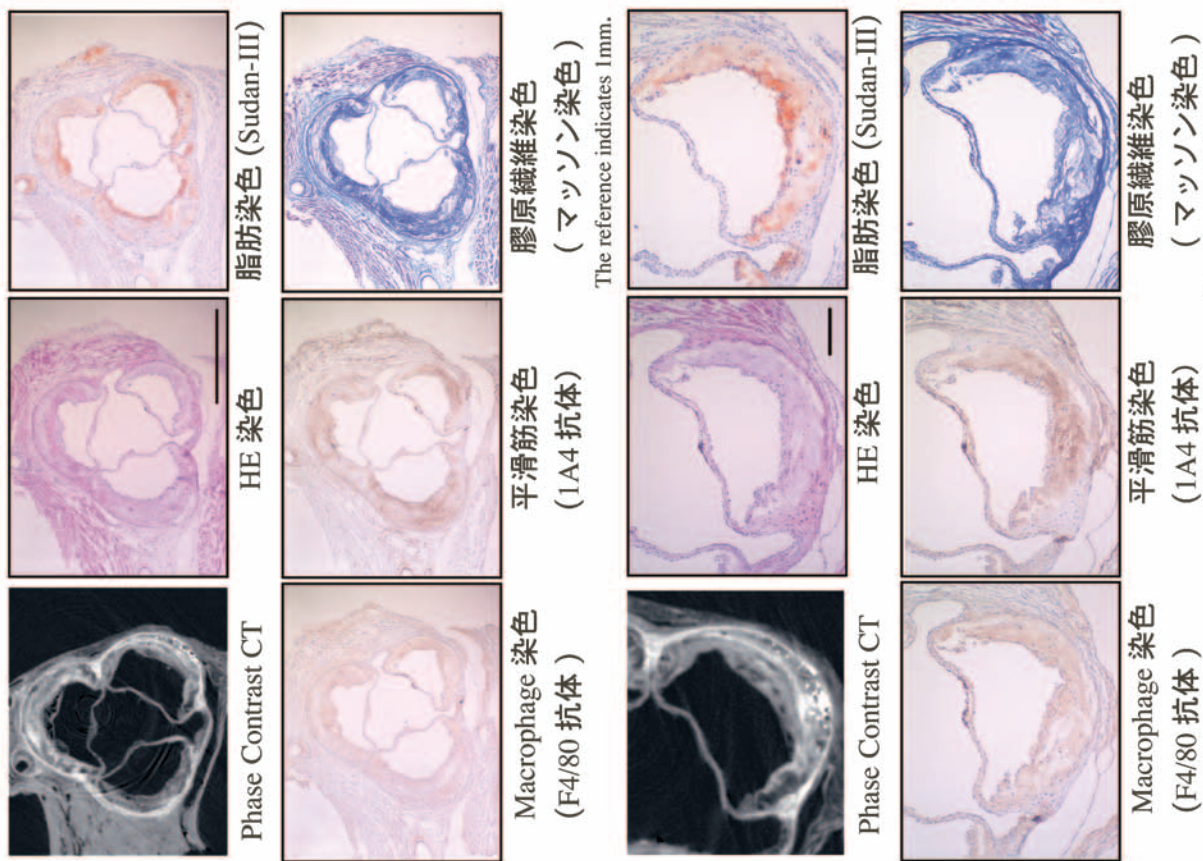


Figure.1

動脈硬化モデルマウス (ApoE ノックアウトマウス) 腕頭動脈病変

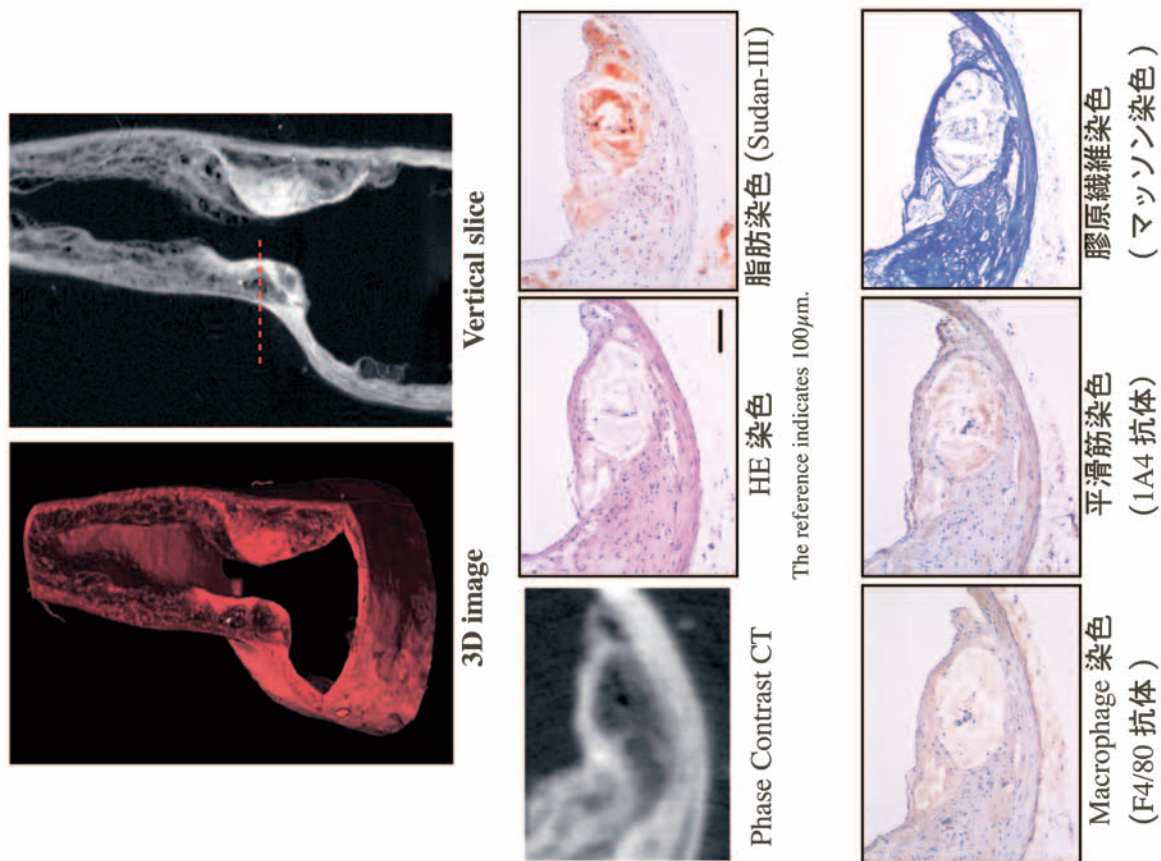


Figure.2

動脈硬化モデルマウス (ApoEノックアウトマウス)
頸動脈結紮リモデリング病変

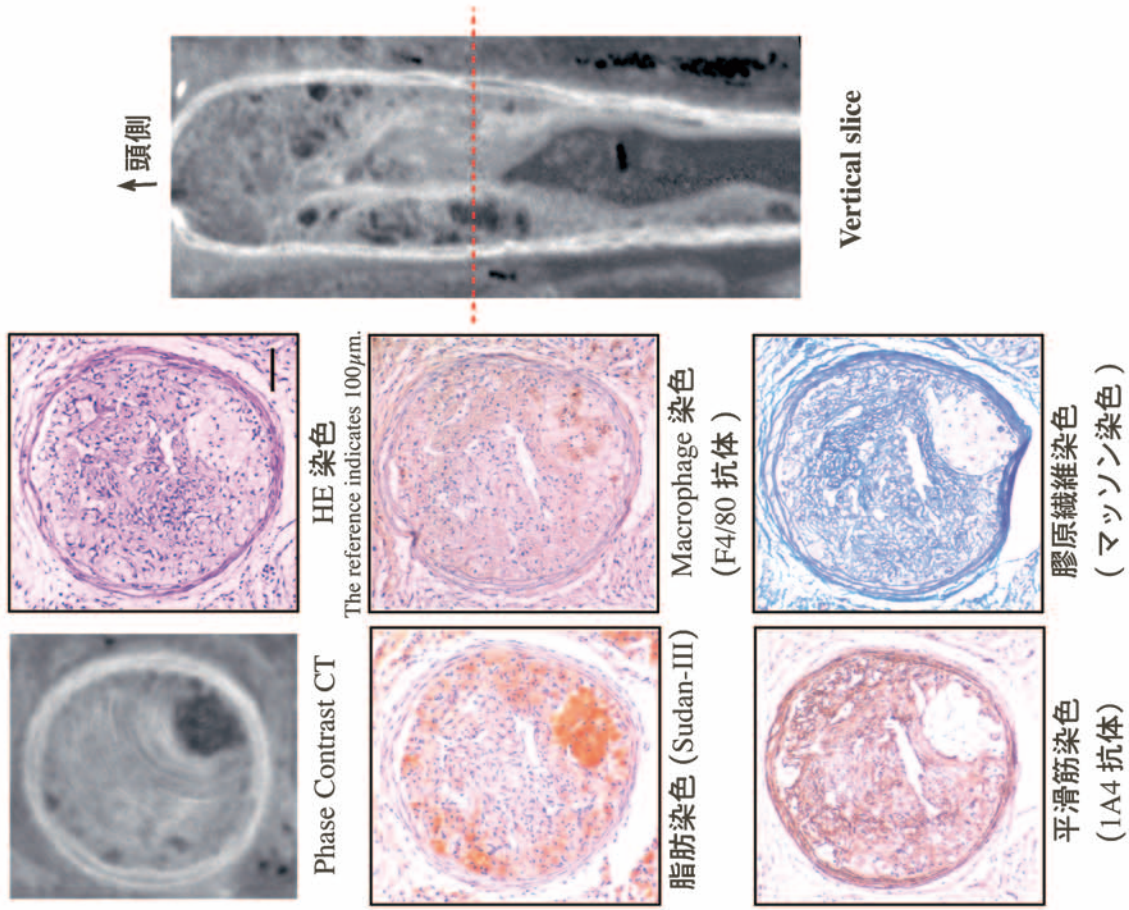


Figure.4

正常型マウス頸動脈結紮リモデリング病変

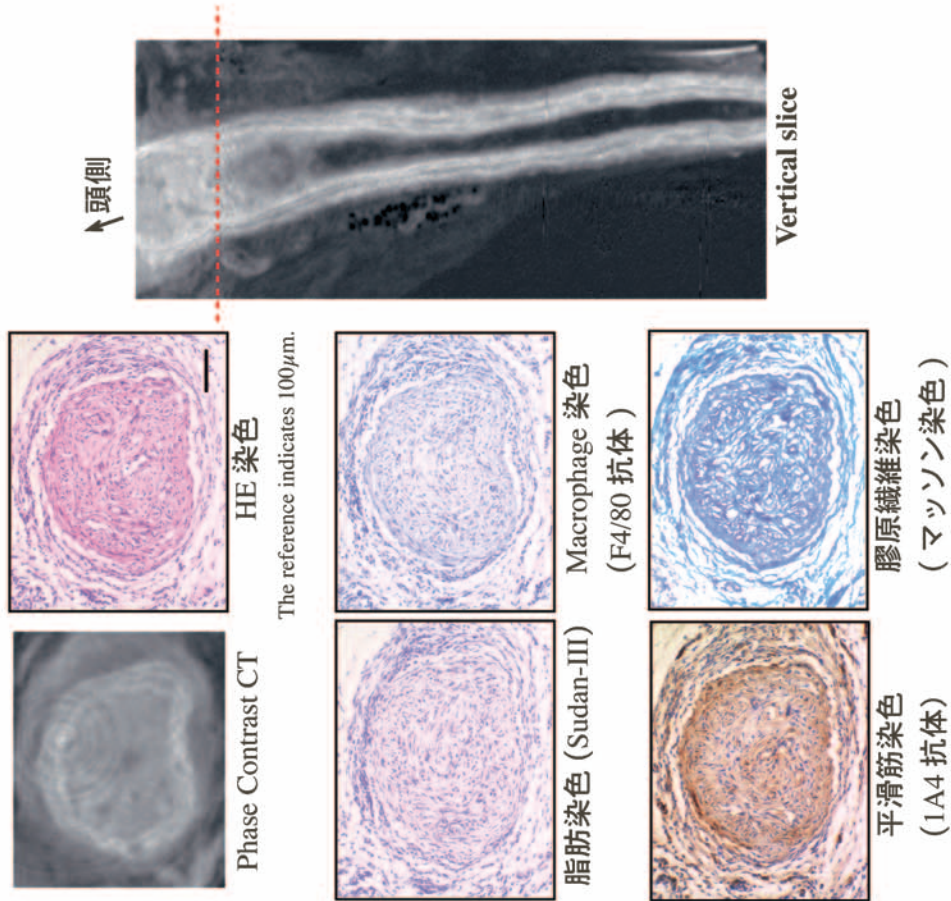


Figure.3

動脈硬化 細胞組成に対応する屈折率

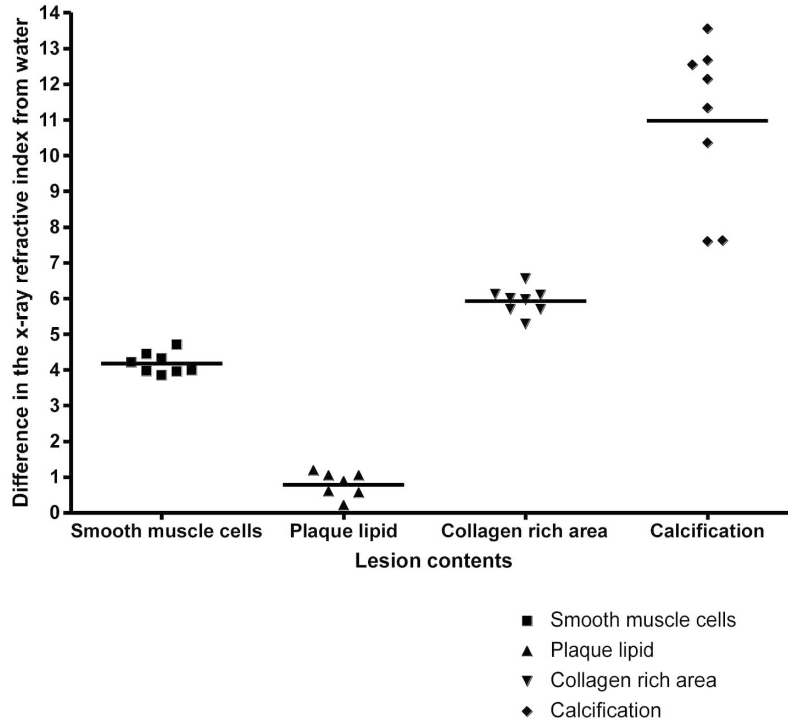


Figure.5