

位相イメージングを用いた動脈硬化病変組成の評価：薬物加療による動脈硬化病変組成の変化の検討

**Evaluation of Atherosclerosis Plaque Components Using Phase-contrast X-ray Computed Tomography: detection of component changes induced by medical treatments**

篠原正和<sup>a</sup>, 武田匡史<sup>a</sup>, 武田佳彦<sup>b</sup>, 百生敦<sup>b</sup>

Masakazu Shinohara<sup>a</sup>, Tomofumi Takeda<sup>a</sup>, Yoshihiko Takeda<sup>b</sup>, Atsushi Momose<sup>b</sup>

<sup>a</sup>神戸大学大学院医学研究科 内科学講座 循環器内科学分野,

<sup>b</sup>東京大学大学院 新領域創成科学研究科 物質系専攻

<sup>a</sup> Division of Cardiovascular Medicine, Department of Internal Medicine

Kobe University Graduate School of Medicine

<sup>b</sup> Department of Advanced Materials Science, School of Frontier Science, The University of Tokyo

抗血小板療法は心血管疾患の二次予防のために広く用いられているが、動脈硬化病変の安定性に寄与しているかは明らかでない。我々は位相コントラストイメージングを用いて、組織の密度差を評価することで動脈硬化病変の組成評価を試みている。今回の研究では抗血小板療法が動脈硬化病変の組成にどのような影響を与えるか、位相コントラストCTでの評価を行った。

動脈硬化モデルマウスであるアポEノックアウトマウスに抗血小板薬であるシロスタゾール、またはクロピドグレルを10週間投与し、血管を取りだして組織学的評価ならびに位相コントラストCTを用いて動脈硬化病変の評価を行った。

両治療群において動脈硬化病変体積の縮小と、動脈硬化病変密度の上昇を認め、この密度上昇は組織学的な脂肪沈着領域の減少・コラーゲン沈着領域の増加を反映したものと考えられた。抗血小板療法が動脈硬化病変の組成に与えた影響を、位相コントラストCTによって評価することが可能であった。

**Backgrounds and Objectives:** Anti-platelet therapies are commonly used for secondly prevention of cardiovascular events, the effect of the drugs on atherosclerotic plaque stability and components remains uncertain. Recently, we developed a new imaging system, a phase-contrast X-ray CT, which could detect atherosclerotic plaque components by means of the differences of tissue mass densities. In this study, we investigated the effect of the anti-platelet therapies on plaque stability using the novel CT technique and addressed the beneficial effect of the drugs.

**Methods and Results:** Apolipoprotein E-deficient mice were fed on high-cholesterol diet alone and either with 0.1% cilostazol or clopidogrel for 10 weeks. Atherosclerosis was assessed by the phase-contrast X-ray CT system and histological analyses. Cilostazol and clopidogrel decreased atherosclerotic volumes at brachiocephalic artery more than 30% compared with controls. According to the mass densities calculated by the CT values, we revealed that these treatments increased collagen-rich plaque areas, and decreased unstable plaque component including lipid and macrophage. These findings were partially confirmed by histological analyses.

**Conclusion:** Anti-platelet therapies had a beneficial effect on plaque stability. Phase-contrast X-ray CT imaging could detect and qualify the plaque components affected by anti-platelets. This novel CT imaging system could be a plausible method to detect the unstable plaque or assess the effect of drugs on plaque component non-invasively in the future.

背景：

我が国では動脈硬化に起因する血管疾患が増加傾向にあり、心疾患・脳血管疾患は日本人の死因の3割を占めるまでに至った。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。動脈硬化性疾患は「病変の量」も重要であるが「病変の質」がさらに重要である。特に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り、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。不安定プラーク病変を基盤とし、心臓突然死・急性心筋梗塞といった重篤な心疾患(急性冠症候群)が発症する。

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、CTが有望な手段であるが、現在実用化されている吸収コントラストイメージングを基盤としたCTでは、生体軟部組織である動脈硬化プラーク軟部組織の性状を十分に評価することはできない。臨床の現場で危険な不安定プラークを安定化させる目的のもと、さまざまな薬物治療が比較検討されているが、治療効果を判定する良い検査手段に欠けている。

近年、百生らによって位相コントラストイメージングを応用したX線CTが開発され(1)、基礎的実験ではあるが本法を用いた動脈硬化プラークの組成評価が有用であることを我々は提示してきた(2)。今回、マウス動脈硬化モデ

ルを用いた基礎的実験ではあるが、薬物治療が動脈硬化プラーク軟部組織の性状をどのように変化させるのか検討を行った。

実験の目的：

動脈硬化治療薬として広く臨床に用いられている抗血小板薬(クロピドグレル並びにシロスタゾール)が動脈硬化病変に与える影響を位相コントラストX線CTにより評価する。

実験の方法：

撮影装置はBL20XU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)に高コレステロール食餌負荷を行い、治療群には抗血小板薬として臨床応用されているクロピドグレル治療群、シロスタゾール治療群を設定した。3群のマウスの腕頭動脈動脈硬化病変をホルマリン固定標本として準備し、位相イメージングの撮影を行った。CT撮影後、血管サンプルから凍結薄切切片を作成し、各種組織学的な評価を加えた。

CT画像を用いたプラーク不安定性の評価には、過去の報告(2)をもとに屈折率 $4.0 \times 10^{-8}$ 以下の領域を脂質・マクロファージ沈積領域として評価した。

実験の結果：

腕頭動脈に出現した動脈硬化病変の代表的な位相コントラストCT画像をFigure.1に提示する。抗血小板薬治療群(1A:シロスタゾール治療群 1B:クロピドグレル治療群)と無治療群(1C:コントロール群)と、それぞれ対応する病変の組織学的評価である。(HE:ヘマトキシリン・エオジン染色 MOMA2免疫染色:マ

クロファージ浸潤領域 Oil Red O染色:脂質  
沈着領域 Masson Trichrome染色:コラーゲン  
沈着領域) CT画像をもとに屈折率 $4.0 \times 10^{-8}$   
以下の領域の面積を求めたものがFigure.2で  
ある。高コレステロール食餌負荷(無治療群)  
に比べ、2種類の抗血小板薬を用いた治療はい  
ずれも動脈硬化プラーク内の屈折率の低い、  
物質密度の低い領域を減少させた。

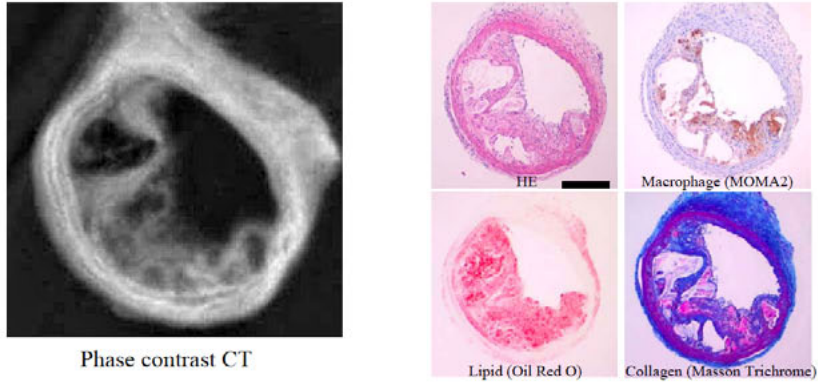
考察：

屈折率の低い、物質密度の低い領域は主に脂  
質の沈着・マクロファージ沈着領域から形成  
されており、動脈硬化病変の不安定性と関連  
がある。今回ex vivoという基礎的実験ではあ  
るが、薬物治療による動脈硬化病変組成の変  
化を位相コントラストイメージングにてとら  
えることが可能であった。

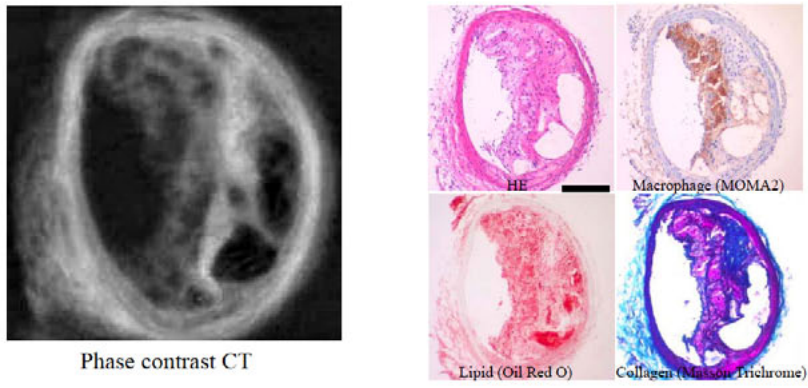
参考文献：

- (1) Momose A. et al. Phase-contrast X-ray  
computed tomography for observation biological  
soft tissues. Nature Medicine 2, 473-475(1996)
- (2) Shinohara M et al. Atherosclerotic plaque  
imaging using phase-contrast X-ray computed  
tomography. Am J Physiol Heart Circ Physiol  
294: H1094-1100(2008)

Figure 1 (A) シロスタゾール治療群



(B) クロピドグレル治療群



(C) 無治療コントロール群

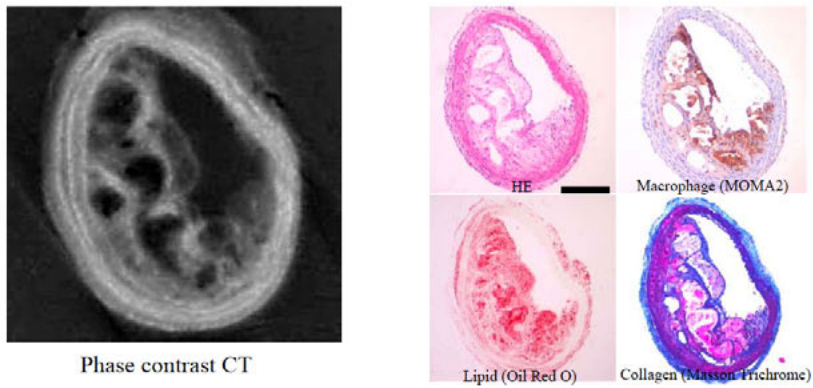


Figure 2

