

学位論文題名

Comparison of ^{99m}Tc -annexin A5 with ^{18}F -FDG for the detection of atherosclerosis in ApoE $^{-/-}$ mice

(ApoE $^{-/-}$ マウスを用いた動脈硬化症の診断における ^{99m}Tc -annexin A5及び ^{18}F -FDGの有用性の比較検討)

学位論文内容の要旨

【背景と目的】動脈硬化プラーク、特に破綻しやすい不安定プラークは、その破綻により血栓の形成、血管内腔の狭窄・閉塞など一連の病態を引き起こし、梗塞性疾患の原因となる。したがって、不安定なプラークを選択的に検出できれば、梗塞性疾患の予測及び適切な予防を行うことが可能である。アポトーシス及び炎症は、動脈硬化プラークの不安定性に関与する重要な因子である。核医学画像診断法では、PET や SPECT を用いて、プラーク局所の炎症細胞の活動性やアポトーシスの頻度などの動脈硬化病変における機能変化や分子の挙動を、放射性薬剤(トレーサー)の特異的な集積に基づいて、体外から画像として病態情報を得ることが可能である。これらの観点から、不安定プラーク検出における ^{99m}Tc -annexin A5 (アポトーシスマーカー)や ^{18}F -FDG (炎症細胞活動性マーカー)の有用性が検討されている。本実験では、 ^{99m}Tc -annexin A5と ^{18}F -FDGを用いて、動脈硬化症自然発症マウス(ApoE $^{-/-}$ マウス)の動脈硬化病変におけるアポトーシスおよび炎症反応の二つの病理プロセスを定量的に評価し、動脈硬化プラークの検出、診断におけるこれら2種のトレーサーの有用性を比較検証した。

【材料と方法】雄性 ApoE $^{-/-}$ マウス (n=12-14/群)及びコントロールマウス(C57BL/6j)(n=11-15/群)に、5週齢から高脂肪食を与えて飼育し、25週齢で以下の実験に用いた。これらの動物に実験前日から12時間の絶食処置を実施した後、尾静脈より ^{99m}Tc -annexin A5あるいは ^{18}F -FDGを投与した。トレーサーを投与した2時間後(^{99m}Tc -annexin A5)または1時間(^{18}F -FDG)後、pentobarbital麻酔下に動物を屠殺し、動脈組織を採取した。採取した動脈組織標本を用いてオートラジオグラフィ(ARG)を実施した。その後、標本をOil Red O染色して、病理学的評価を行った。ARG画像上に関心領域(ROI; 0.36mm²)を設定し、関心領域内の放射能集積(%ID x kg/m²)を測定すると同時に、Oil Red O染色した標本の対応する部位の染色スコア(病変進行度の半定量的パラメータ; 0~3)を判定し、両パラメータを比較検討した。

【結果】25週齢の時点では、ApoE $^{-/-}$ マウスはコントロールマウスと比べて高い体重を示し、重度な高脂血症を認めた。絶食処置後、ApoE $^{-/-}$ マウスはコントロールマウスに比べて低い血糖値を示

した。病理染色の結果として、ApoE^{-/-}マウスの動脈組織には早期病変から進行病変まで、種々な病変が観察されたが、コントロールマウスの動脈組織には動脈硬化病変は見られなかった。^{99m}Tc-annexin A5 と ¹⁸F-FDG は両者とも ApoE^{-/-}マウスの動脈組織に高い集積を示し、コントロールマウスのおよそ2倍であった。動脈硬化病変への集積量は、^{99m}Tc-annexin A5 (平均, 10.38 %ID x kg/m²)よりも ¹⁸F-FDG (平均, 56.07 %ID x kg/m²)の方が高かった。病変組織における各トレーサーの局所分布は、Oil Red O 染色スコアと正の相関を示した(^{99m}Tc-annexin A5:R=0.65, P<0.05。 ¹⁸F-FDG:R=0.56, P<0.05)。染色スコア 0.5 以上の病変への ^{99m}Tc-annexin A5 の局所集積は染色スコア 0~0.5 の病変への集積に比べて有意に高かったが、¹⁸F-FDG では有意差を認めなかった。

【考察】:本実験では、¹⁸F-FDG と ^{99m}Tc-annexin A5 を用いて、動脈硬化症自然発症マウスモデル ApoE^{-/-}マウスにおける動脈硬化症の進行を画像化し、定量的に評価することを試みた。高脂肪食で飼育した ApoE^{-/-}マウスは高脂血症の発生と共に、動脈組織に広範囲にわたって動脈硬化病変を発生した。¹⁸F-FDG と ^{99m}Tc-annexin A5 二種類のトレーサーとも、動脈組織への集積と動脈硬化症進行度との良い相関を示したことより、これら二つのトレーサーは、それぞれ動脈硬化病変における炎症反応やアポトーシスなど、病変の進行に伴う病理プロセスを定量的に反映し、動脈硬化症の診断に有用な情報を提供できると考えられる。¹⁸F-FDG は ^{99m}Tc-annexin A5 と比べて、動脈組織への集積量が高く、動脈硬化病変の探察において有利である。また、¹⁸F-FDG は PET 製剤であるため、プラークのような小さな病変の画像診断においては PET の高い空間分解能を利用した望ましいトレーサーであると考えられる。一方、^{99m}Tc-annexin A5 は ¹⁸F-FDG と比べて、動脈の局所集積と対応する部位の病変進行度とのより良い相関関係を示した。また、進行病変への ^{99m}Tc-annexin A5 集積は早期病変への集積に比べて有意に高く、進行した病変すなわち不安定性の高い病変の同定における ^{99m}Tc-annexin A5 の有用性が示唆された。

【結論】:動脈硬化症モデルマウスにおいて、¹⁸F-FDG と ^{99m}Tc-annexin A5 の両トレーサーは動脈硬化症の進行とともに、動脈組織への集積が増加し、動脈局所のトレーサー集積と対応する部位の病理所見にも良い相関を示した。¹⁸F-FDG は動脈組織への高い集積量は、動脈硬化病変の探察において有利である。一方、^{99m}Tc-annexin A5 は進行した病変への高い親和性を示し、不安定性の高い病変の同定における有用性が示唆された。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 白 土 博 樹
副 査 教 授 筒 井 裕 之
副 査 教 授 久 下 裕 司
副 査 教 授 玉 木 長 良

学 位 論 文 題 名

Comparison of ^{99m}Tc -annexin A5 with ^{18}F -FDG for the detection of atherosclerosis in ApoE $^{-/-}$ mice

(ApoE $^{-/-}$ マウスを用いた動脈硬化症の診断における
 ^{99m}Tc -annexin A5及び ^{18}F -FDGの有用性の比較検討)

動脈硬化プラークの破綻により血栓が形成し、血管内腔の狭窄・閉塞など一連の病態を引き起こして、梗塞性疾患の原因となる。不安定なプラークを選択的に検出できれば、梗塞性疾患の予測及び適切な予防を行うことが可能となる。アポトーシス及び炎症は、プラークの不安定性に関与する重要な因子である。核医学画像診断法では、放射性薬剤(トレーサー)の特異的な集積に基づいて、病変における炎症細胞の活動性やアポトーシスの頻度などの病態情報を得ることが可能である。これらの観点から、不安定プラーク検出における ^{99m}Tc -annexin A5(アポトーシスマーカー)や ^{18}F -FDG(炎症細胞活動性マーカー)の有用性が検討されている。本研究では動脈硬化症自然発症マウス(ApoE $^{-/-}$ マウス)を用いて、動脈硬化プラークの検出、診断における ^{99m}Tc -annexin A5と ^{18}F -FDGの有用性を比較検証した。実験に5週齢の雄性ApoE $^{-/-}$ マウスとC57BL/6マウスを使用した。25週齢まで高脂肪食飼育することより、動脈硬化モデルと対照動物を作成した。12時間の絶食処置を実施した後、動物に尾静脈より ^{99m}Tc -annexin A5あるいは ^{18}F -FDGを投与した。動物を屠殺した後、動脈組織を採取し、オートラジオグラフィーを実施した。その後、標本をOil Red O染色し、病理学的評価を行った。ARG画像上に関心領域(ROI; 0.36mm²)を設定し、関心領域内の放射能集積(%ID x kg/m²)を測定すると同時に、Oil Red O染色した標本の対応する部位の染色スコア(病変進行度の半定量的パラメータ; 0~3)を判定し、両パラメータを比較検討した。25週齢の時点では、ApoE $^{-/-}$ マウスは対照動物と比べて高い体重を示し、重度な高脂血症を認めた。ApoE $^{-/-}$ マウスの動脈組織に広範囲にわたって種々な病変が観察されたが、対照動物の動脈組織には動脈硬化病変は観察されなかった。 ^{99m}Tc -annexin A5と ^{18}F -FDGは両者ともApoE $^{-/-}$ マウスの動脈組織に高い集積を示し、対照動物のおよそ2倍であった。動脈硬化病変への集積量は、 ^{99m}Tc -annexin A5(平均, 10.38 %ID x kg/m²)よりも ^{18}F -FDG(平均, 56.07 %ID x kg/m²)の方が高かった。病変組織における各トレーサーの局所分布は、Oil Red O染色スコアと正の相関を示した(^{99m}Tc -annexin A5: R=0.65, P<0.05。 ^{18}F -FDG: R=0.56, P<0.05)。染色スコア0.5以上の病変への ^{99m}Tc -annexin A5の局所集積は染色スコア0~0.5の病変への集積に比べて有意に高かったが、 ^{18}F -FDGでは有意差を認めなかった。本研究の結果は、 ^{99m}Tc -annexin A5と ^{18}F -FDGの不安定プラークイメージングにおける有用性を示すと同時に、動脈硬化症の核医学診断法を確立するための基礎的データを提供するものである。

口頭発表の後に白土教授から ^{99m}Tc -annexin A5の集積がアポトーシス以外の病理学的所見を

反映する可能性について、種々の病理学的所見の反映が本研究の結果に及ぼす影響について、筒井教授から動脈硬化プラークの不安定性を判断するため実行した具体的な組織学検討について、 ^{99m}Tc -annexin A5 と ^{18}F -FDG の集積が病変の進行にともなって増加する程度の違いとその理由について、動脈硬化病変においてアポトーシスを起こす細胞の種類と ^{99m}Tc -annexin A5 集積の主な原因となる細胞の種類について、久下教授から ^{18}F -FDG を用いたプラークイメージングの臨床報告例と本研究結果の一致性について、 ^{99m}Tc -annexin A5 の動脈組織への集積量が比較的低いことから臨床に用いられた場合のプラークイメージングに対する実用性について、玉木教授から動脈硬化病変の発生部位による病変進行程度の違いについて、上記違いによる部位ごとの ^{99m}Tc -annexin A5 と ^{18}F -FDG の集積程度の相違について、動脈硬化病変の更なる進行によって病変が安定化する段階で炎症細胞の減少によってトレーサー集積が減少する可能性についての質問があった。いずれの質問に対しても、申請者は実験例、臨床例や文献を引用し、概ね妥当な回答を行った。

この論文は、動脈硬化症の診断における ^{99m}Tc -annexin A5 及び ^{18}F -FDG の有用性について実験動物モデルにおいて検討したもので、今後動脈硬化病変の病態評価や治療効果判定への応用が期待される。

審査員一同は、これらの成果を高く評価し、大学院課程における研鑽や取得単位なども併せ申請者が博士(医学)の学位を受けるのに十分な資格を有するものと判定した。