

図3 グレリンを心不全ラットへ3週間の慢性皮下投与したときの血行動態および体重の変化<sup>13)</sup>

CO: 心拍出量.

\*p<0.05 vs sham group, †p<0.05 vs placebo group.

容能は有意に改善させた。心機能の改善と下肢骨格筋量の増加が一部関与していると考えられた。これまでの動物実験と同様に、グレリンは食欲を増進させ、摂食量を増加させた。これらの効果はGHによる蛋白同化促進作用とともに

エネルギー代謝改善に働く可能性がある。このパイロット研究よりグレリンの繰り返し投与は慢性心不全患者の心機能、運動耐容能、エネルギー代謝を改善させる可能性が示唆された。今後は慢性心不全を対象にグレリン投与の無作為

化二重盲検試験を行い、グレリンの安全性と有効性を検証していく予定である。

#### おわりに

グレリンは強力な GH 分泌作用を介して、またグレリン独自の心血管作用、交感神経抑制作

用、摂食促進作用、エネルギー代謝改善作用を介して、心不全患者の心機能改善、およびそれに伴う低栄養状態の是正に重要な役割を担っている。グレリンは従来から存在する心不全治療薬とは全く異なった作用を有することから、重症慢性心不全の新たな治療薬として期待される。

#### 参考文献

- 1) Kojima M, et al: Ghrelin is a growth-hormone-releasing acylated peptide from stomach. *Nature* 402: 656-660, 1999.
- 2) Howard AD, et al: A receptor in pituitary and hypothalamus that functions in growth hormone release. *Science* 273: 974-977, 1996.
- 3) Nagaya N, et al: Hemodynamic and hormonal effects of human ghrelin in healthy volunteers. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 280: R1483-R1487, 2001.
- 4) Yang R, et al: Growth hormone improves cardiac performance in experimental heart failure. *Circulation* 92: 262-267, 1995.
- 5) Fazio S, et al: A preliminary study of growth hormone in the treatment of dilated cardiomyopathy. *N Engl J Med* 334: 809-814, 1996.
- 6) Anker SD, et al: Wasting as independent risk factor for mortality in chronic heart failure. *Lancet* 349: 1050-1053, 1997.
- 7) Anker SD, et al: Hormonal changes and catabolic/anabolic imbalance in chronic heart failure and their importance in cardiac cachexia. *Circulation* 96: 526-534, 1997.
- 8) Nagaya N, et al: Elevated circulating level of ghrelin in cachexia associated with chronic heart failure: relationships between ghrelin and anabolic/catabolic factors. *Circulation* 104: 2034-2038, 2001.
- 9) Nakazato M, et al: A role for ghrelin in the central regulation of feeding. *Nature* 409: 194-198, 2001.
- 10) Tschöp M, et al: Ghrelin induces adiposity in rodents. *Nature* 407: 908-913, 2000.
- 11) Nagaya N, et al: Hemodynamic, renal and hormonal effects of ghrelin infusion in patients with chronic heart failure. *J Clin Endocrinol Metab* 86: 5854-5859, 2001.
- 12) Okumura H, et al: Vasodilatory effect of ghrelin, an endogenous peptide from the stomach. *J Cardiovasc Pharmacol* 39: 779-783, 2002.
- 13) Nagaya N, et al: Chronic administration of ghrelin improves left ventricular dysfunction and attenuates development of cardiac cachexia in rats with heart failure. *Circulation* 104: 1430-1435, 2001.
- 14) Wiley KE, Davenport AP: Comparison of vasodilators in human internal mammary artery: ghrelin is a potent physiological antagonist of endothelin-1. *Br J Pharmacol* 136: 1146-1152, 2002.
- 15) Matsumura K, et al: Central ghrelin modulates sympathetic activity in conscious rabbits. *Hypertension* 40: 694-699, 2002.
- 16) Baldanzi G, et al: Ghrelin and des-acyl ghrelin inhibit cell death in cardiomyocytes and endothelial cells through ERK1/2 and PI 3-kinase/AKT. *J Cell Biol* 159: 1029-1037, 2002.



## 病院設置型微小血管造影装置の 開発と臨床応用の可能性

Kazuhiro Nishigami ◎ 西上和宏\*

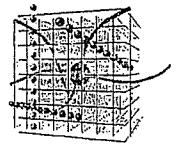
Toshiaki Kawai ◎ 河合敏昭§

Masaaki Chiku ◎ 知久正明\*

Eizo Mori ◎ 盛 英三†

Ryo Mochizuki ◎ 望月 亮#

\* 国立循環器病センター心臓血管内科 / † 同 心臓生理部  
§ 浜松ホトニクス隣 / # NHKエンジニアリングサービス



### Summary

骨髄単核球細胞移植や末梢血幹細胞移植による血管再生療法が末梢動脈閉塞症に対し臨床応用され、疼痛や皮膚潰瘍など臨床症状の改善が報告されている。しかし、血管造影などの臨床検査では十分に評価できていない現状である。これは、現在使用されている解像度の低い血管撮影装置では、約 100 $\mu$ m 前後の微小な新生血管の描出が困難なためである。一方、シンクロトン放射光は 100 $\mu$ m 以下の微小血管を評価することが可能であるが、臨床導入にはその莫大なコストが問題になる。そこで、血管再生療法後の新たな診断方法として、病院に設置可能な微小血管造影装置を開発した。

### Key words

- ◎血管再生療法
- ◎病院設置型微小血管造影装置
- ◎新生血管
- ◎シンクロトン
- ◎単色X線

### 循環器領域における微小血管造影

狭心症や心筋梗塞などの虚血性心疾患や閉塞性動脈硬化症に対する治療選択は、①薬物治療、②カテーテル治療、③外科的バイパス術が主な治療法である。しかし、血行再建が困難な重症例や、糖尿病を合併した微小血管病変を伴う症例が高頻度に見られるようになった。このような症例は既存の治療法では限界があり、新しい治療戦略として血管再生治療が期待されている。Asaharaらは成人末梢血中の単核球分画に、血管内皮細胞に分化し得る内皮前駆細胞の存在を報告した<sup>1)</sup>。単核球は主に骨髄に存在するため、骨髄単核球細胞移植をすることにより、血管新生や側副血行路が発達し、動物実験の虚血モデルで下肢血流量増加作用や心機能が改善することが確認された<sup>2)3)</sup>。これらの基礎および臨床結果に基づき、カテーテル治療や外科的バイパス術による血行再建が困難な重症末梢性動脈疾患に骨髄単核球細胞移植が臨床導入され、その有効性が報告された<sup>4)</sup>。当施設でも4例のバージャー病患者に骨髄細胞移植を施行し、全例とも安静時疼痛が改善し、皮膚潰瘍を呈する3症例も完全に回復した(図1)。しかし、骨髄細胞移植治療の評価に関しては、血管造影を

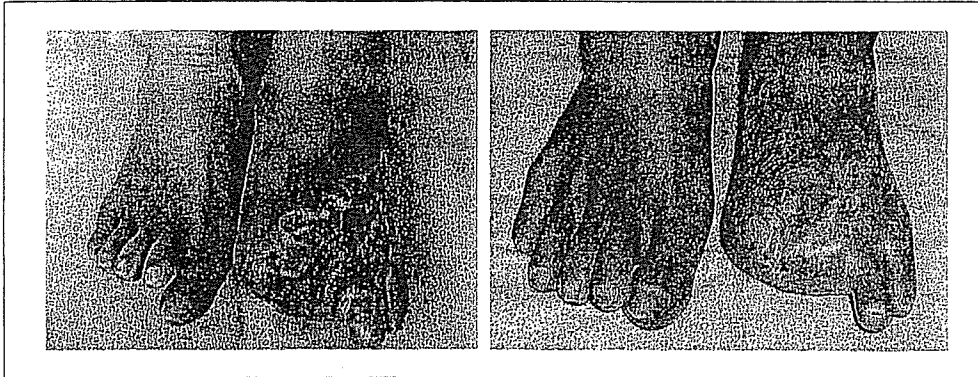


図1. バージェー病の  
下肢皮膚潰瘍  
移植治療前は左第1趾から第  
3趾まで広範な皮膚潰瘍を認  
めた(左), 移植治療3ヵ月  
後には完全に上皮化された  
(右).

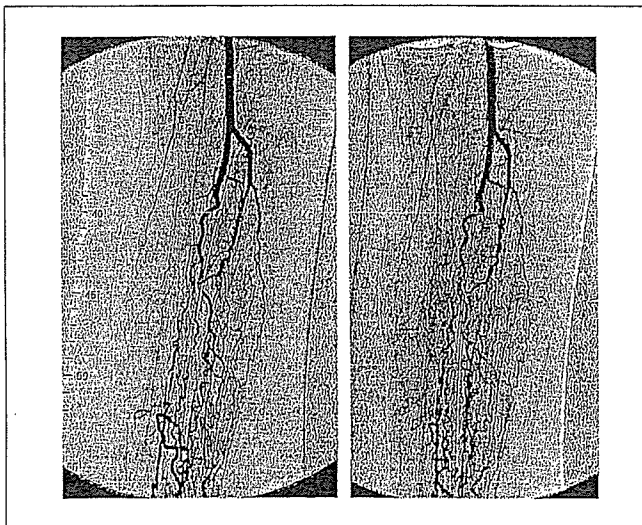


図2. 下肢血管造影  
移植治療前の血管造影と比較し(左), 移植治療1ヵ月後に血管周辺にもや  
もや像は認めるが, 新生血管の評価は困難である(右).

含めた臨床検査では臨床症状の改善を十分には反映しなかった(図2)。一般に、治療効果の判定として血管造影法(DSA)が施行される。しかし、既存の血管造影装置の解像度は約200~300 $\mu\text{m}$ であり、再生される新生血管は約100 $\mu\text{m}$ 程度の微小血管であり、その評価は困難である。症例によっては血管数の増加がみられることがあるが、側副血行路の発達(arteriogenesis)と考えられており、再生した血管そのもの

が造影されているわけではない。そこで、再生された新生血管が臨床症状の改善に関与していることを証明するには、再生血管を描出することが重要である。これら、再生された微小血管を血管造影検査で評価するためには、微量の造影剤を検出できる装置が必要となる。その要素としてはX線が高輝度で、平行化、単色化の性質を持ち、検出系を高感度、高解像度化することが重要である。

現在のところ、これらの要素をすべて取り揃えているのが放射光施設内の微小血管造影装置であり、微小血管の検出を可能としている<sup>5)</sup>。放射光の詳細については他稿に委ねるが、簡単に列記する。放射光とは広域のスペクトルを持つ白色光であり、太陽光のように限りなく平行に近い性質がある。その白色光に対しシリコン結晶を用い、ヨード吸収端の直上に設定することにより単色化が可能となる。現在のところ、微小血管の描出を可能にしているのは放射光を用いた微小血管造影法だけである。しかし、放射光施設は多額のコストと広大な敷地を必要とし、臨床導入するには時間的・空間的にも問題がある。そこで微小血管造影法が臨床応用できるように、新エネルギー・産業技術開発機構(NEDO)の支援により、病院設置型の微小血管造影装置を浜松ホトニクス・NHKエンジニアリング

の協力を得て、共同開発した。

### 微小血管造影法に必要な要素

#### 1. 高輝度

輝度は単位面積あたりのX線の光子量であり、イメージングプレートに像を映し出す重要な要素である。X線は被写体を通過する時に散乱・吸収されるため、検出器に到達する前にその光子量は顕著に減衰する。こうした理由で既存の血管造影装置は、X線の光子量を維持するために白色光で撮影している。放射光のX線は、既存のX線装置より約10<sup>8</sup>倍も輝度が高く、被写体によりX線の減衰を受けても、十分な光子量を維持することが可能である。X線を単色化する行程で、著しく光子量を減少させたとしても、既存の白色X線と同等の光子量を検出器に確保することができる。この要素は、微小血管造影には必要不可欠である。

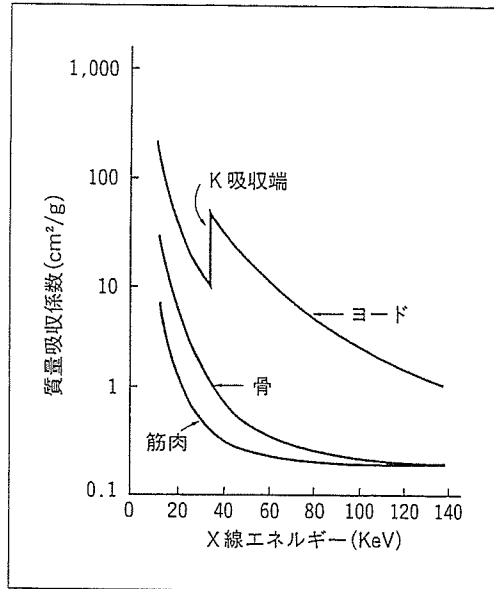


図3. X線エネルギーと質量吸収係数の関係  
33.3keV直上でヨードK吸収端が上昇し、組織との質量吸収係数を最大にする。

#### 2. 単色化

ヨードは33.3 keVのエネルギーレベルでK吸収端を持つ。これは質量吸収係数が不連続に上昇し、X線のエネルギーをヨードのK吸収端の直上のエネルギーに変換すると、ヨードと周囲組織との質量吸収係数の差が最大となる。組織とヨードとのコントラストが最良となるため、微量のヨードを検出できやすくする効果がある(図3)。放射光をシリコン結晶によるBragg反射を応用し、その角度により必要な単色エネルギーを得ることができる(図4)。

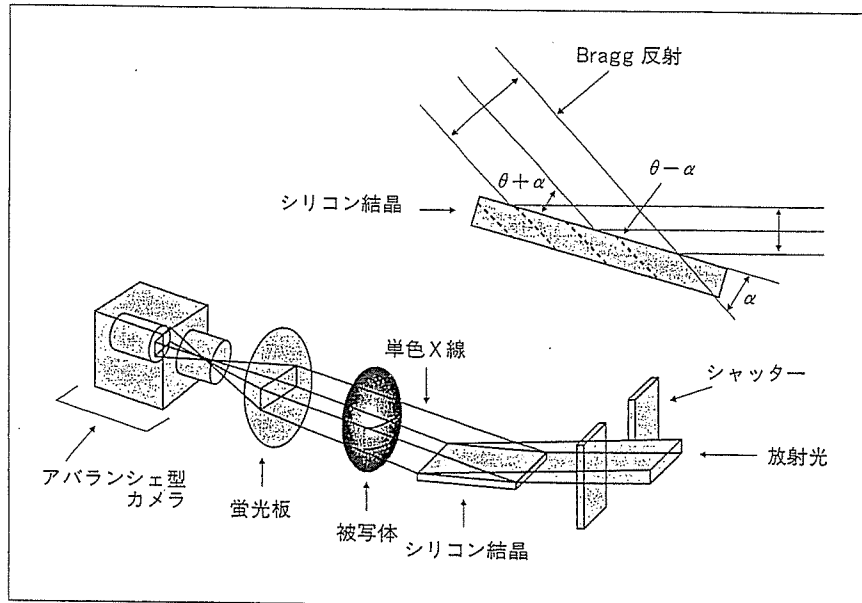


図4. 放射光施設の微小血管造影システム

放射光をシリコンを用いBragg反射させ、その角度を調節し、単色X線を得る。その像は高感度、高解像度のアバランシェ型カメラで撮影される。

### 3. 平行化

平行線により映し出された像は、理論的にいえば等大の大きさになる。非平行光線は被写体から像との距離が離れるほど像は拡大し、辺縁がぼやけてしまう(図5)。放射光のX線は限りなく平行な性質であり、これも微小血管造影に理想的である。一方、既存のX線は平行線ではなく、微小血管レベルの評価に影響するため、微小血管造影には不向きである。浜松ホ

トニクスが開発した微細な孔を多数有するキャピラリープレートを用いると、X線を平行化することが可能である。X線源と被写体の距離を近づけた場合、平行化すると像の拡大を防げるが、平行化しないと像が拡大してしまうことをコンピュータシミュレーションで証明した(図6)。

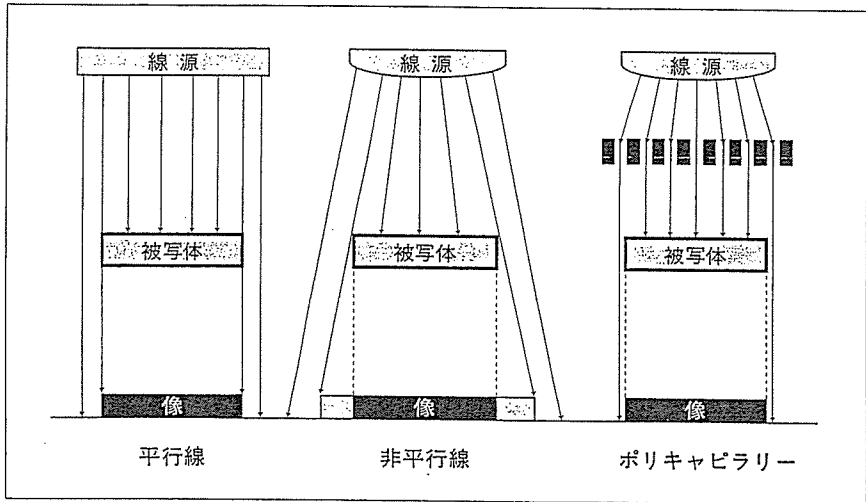


図5. 平行化  
平行線では被写体と像は同一の大きさであるが(左)、非平行線では像が拡大し、辺縁はぼやける(中)。ポリキャピラリーを用いて平行化させると、像は被写体の大きさに限りなく近づく(右)。

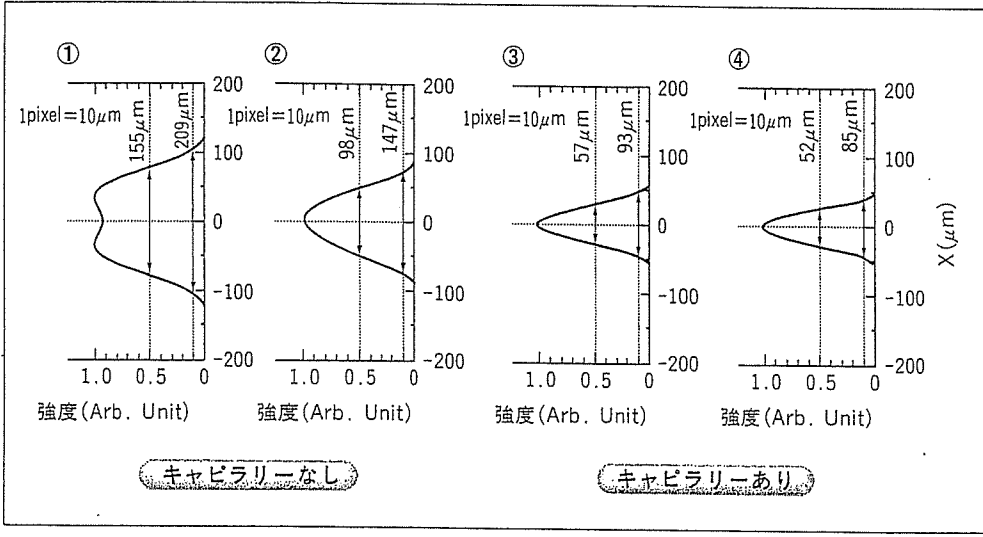


図6. ポリキャピラリーのコンピュータシミュレーション  
①②は線源とスリットとの距離がそれぞれ50cmと80cmで、キャピラリーによる平行化がない状態である。この時に検出器に入るX線幅は、それぞれ155 $\mu$ m、98 $\mu$ mに拡大される。③④も同じく距離を50cmと80cmとし、キャピラリーで平行化した状態である。平行化した場合は、52~57 $\mu$ m程度の誤差しかない。  
1 pixel = 10  $\mu$ m.

#### 4. 高解像度・高感度

検出器の解像度をチャート撮影から得ることができる。1mm幅に4本のライン(2ラインペア)を識別できれば、 $1,000\mu\text{m} \div 4$ で $250\mu\text{m}$ の解像度、同じく20本のライン(10ラインペア)識別できれば $50\mu\text{m}$ の解像度となる。既存の血管造影装置では約2ラインペアであり、空間分解能は $250\mu\text{m}$ といえる(図7)。感度を高くすると微量のX線を検出できるため、微小血管を造影するにはイメージングプレートとして高感度蛍光板の使用が好ましい。

K吸収端(33.3 keV)上にピークを持つ疑似単色X線を得ることができる。

#### 3. 平行化

焦点に起因するボケを低減する目的で、マルチファイバーからなるコーン型のコリメーターを開発した。チャンネルサイズと素子の厚みにより、出射角と透過効率が決定的なため、実用となる条件を求め試作した(図8)。これにより、被写体が検出器から離れる場合に生じる解像度の低下を防ぐことができる。

### 病院設置型微小血管造影装置

新エネルギー・産業技術開発機構(NEDO)の支援により、病院設置型微小血管造影装置を開発した。X線源は既存の大容量大出力を持つCT用のX線管を用い、検出系はNHKエンジニアリングの技術により超高感度ハイビジョンカメラシステムを導入した。

#### 1. X線管球

普及型微小血管造影装置のCT用のX線管は、最大陽極熱容量が5MHUと世界最大級の大きさである。X線高電圧装置も大出力化し、市販の装置では不可能な70kVp・800mAで高輝度のX線を得ることができる。連続20秒照射が可能であり、撮影は動画で観察できる。優れた冷却性能を持ち、480秒の休止で繰り返し照射が可能である。

#### 2. 疑似単色化

疑似単色化はランタノイド系の金属を複合したフィルターで、ヨードの

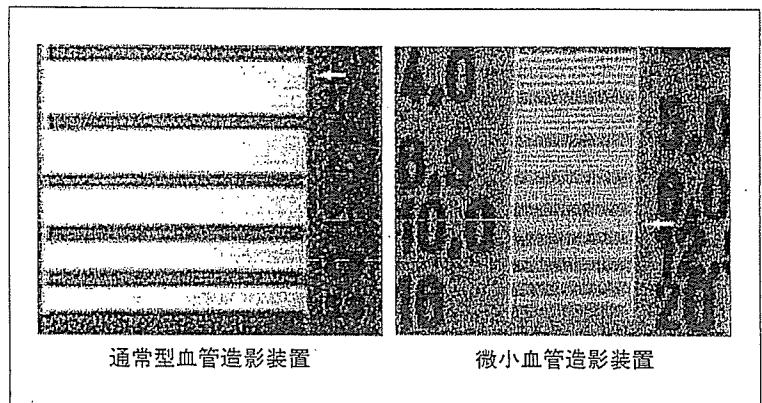


図7. チャートによる解像度の評価  
通常型血管造影装置(左)の解像度は $250\mu\text{m}$ ( $1\text{mm}/4=2$ ラインペア)、普及型微小血管造影装置(右)の解像度は $50\mu\text{m}$ ( $1\text{mm}/20=10$ ラインペア)を示す。

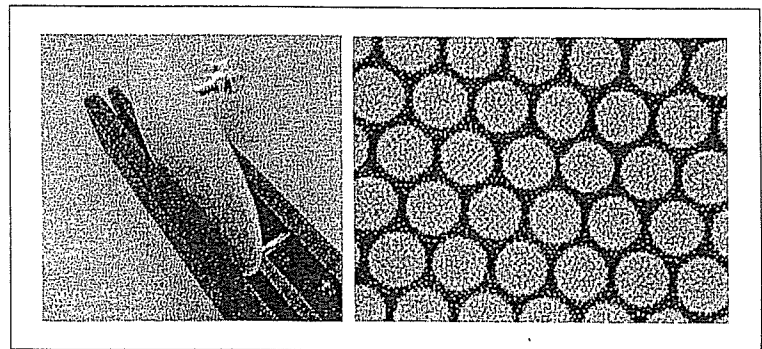


図8. ポリキャピラリー  
多数の孔を持ったポリキャピラリーが、X線を平行化する。

#### 4. 超高感度ハイビジョンカメラの開発

検出系は高解像度・高感度蛍光板で作成した蛍光像を、超高感度・高精細撮像管であるアバランシェ型ハイビジョンモノクロ新 Super-HARP カメラで撮影する。これらの検出器系から高解像度(50  $\mu\text{m}$ )が得られる。CCD を用いたハイビジョンカメラは、画素あたりの光子数が減少し感度が低下するため、高精細画像として微小血管を描出するには限界がある。アバランシェ型ハイビジョン用撮像管は高解像度で、高感度の撮影が可能である。非セレン膜で構成された光伝導電層は、高電圧操作下で電子なだれ現象を生じさせ、実効量子効率が数百倍の光電変換ができる。新 Super-HARP カメラは、空間分解能は25  $\mu\text{m}$  で、CCD カメラより100倍以上の感度があり、25  $\mu\text{m}$  の非セレン膜の構造をとっている<sup>6)-9)</sup>。

#### 5. トータルシステム

本装置は、既存の血管装置と同様にCアーム保持型を有しており、さまざまな角度からの撮影が可能である(図9)。今までのハイビジョン映像は、高画質

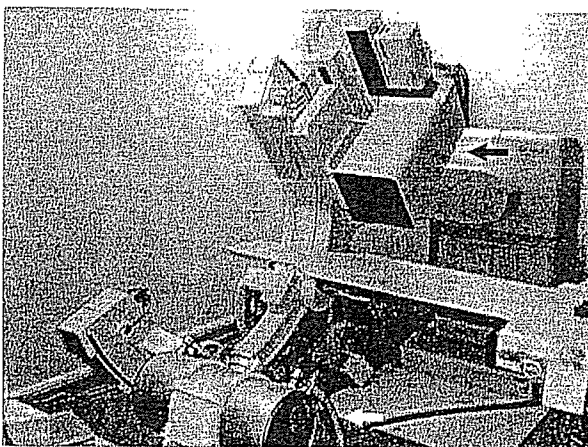


図9. トータルシステム

筒型のX線管は、現在臨床で使用されているCT用の高出力線源である(白矢印)。Cアーム上端には蛍光板を有した検出器とHARP管を有するカメラを搭載している(黒矢印)。

200万画素の動画映像1秒間30フレームを長時間記録する装置が必要であり、放送局用のVTRしかなかった。これは、専門家しか扱えなく、装置から得られた画像の分析も複雑であった。そこで、デジタル高精細画像処理・表示装置を導入した。ハードディスクへの直接記録方式をとり、数十分の長時間記録が可能となり、小型で安価な装置となった。性能は、10ビットデジタル画像データが記録できる大容量ハードディスク144GB(1,000 $\times$ 1,000画素 $\times$ 10ビットを30フレーム/秒を40分記録可能)を搭載しており、映像データは直ちに再生・逆再生・スチル再生が可能であり、マウスのみで機械操作ができる。

#### 6. 直接X線量と散乱線量

安全性の検討として、直接X線量と散乱X線量を計測した。X線発生装置から1mに検出器を設置し、管電圧70kV、管電流500mAで20秒照射した場合、0.547Sv(62.7R)であった(図10)。検査の撮影条件としては、最低でも一検査あたり100R以下(3R/sec)を目標としており、妥当な線量と考えられる。また、X線発生装置から1mの距離にファントムを置き、50cm側方で散乱X線を検出した場合の散乱X線量は0.0225mSv(2.58mR)であった(図11)。放射線医療従事者の年間被曝量の限度は50mSvであり、術者に対する影響は少ないと考えられた。

#### 7. 微小血管画像

イヌ冠動脈ファントムを用い、既存の血管造影装置と比較した。ファントムは冠動脈にヨードを含むマイクロスフィアを注入後に結紮し、作成した。微小血管造影装置では、イヌ冠動脈の中隔枝が末梢まで分岐するたびに血管径が細くなっていくのが観察できたが、既存のX線装置では観察できなかった(図12)。また、ウサギ下肢血管を結紮し、慢性期に形成された新生血管を微小血管造影装置で観察した。さらに、血管拡張剤であるアデノシンを動脈に投与したところ、微小血管が拡張する現象も確認できた(図13)。現在のとこ



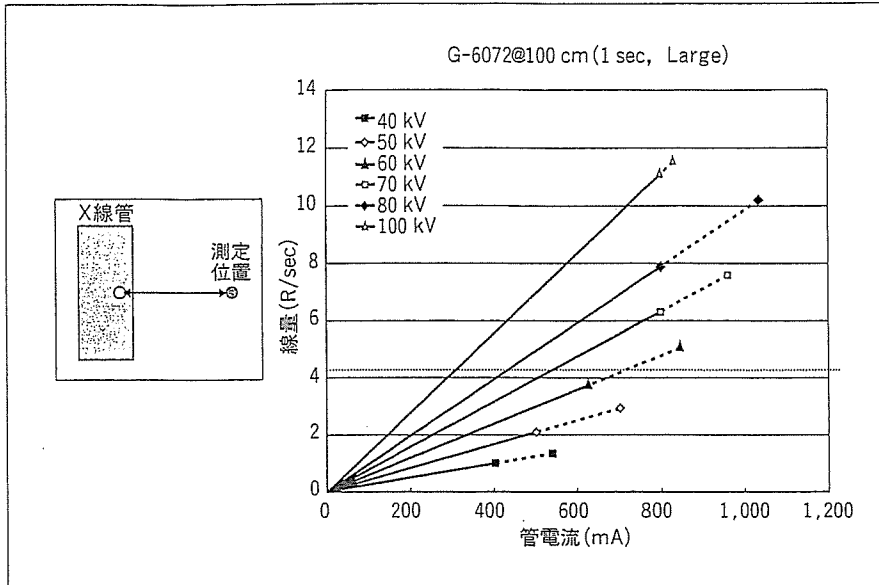


図 10. X 線強度  
微小血管造影装置の X 線強度は管電圧 70V, 管電流 500mA の 20 秒照射で 0.547 Sv (62.7 R) であった。

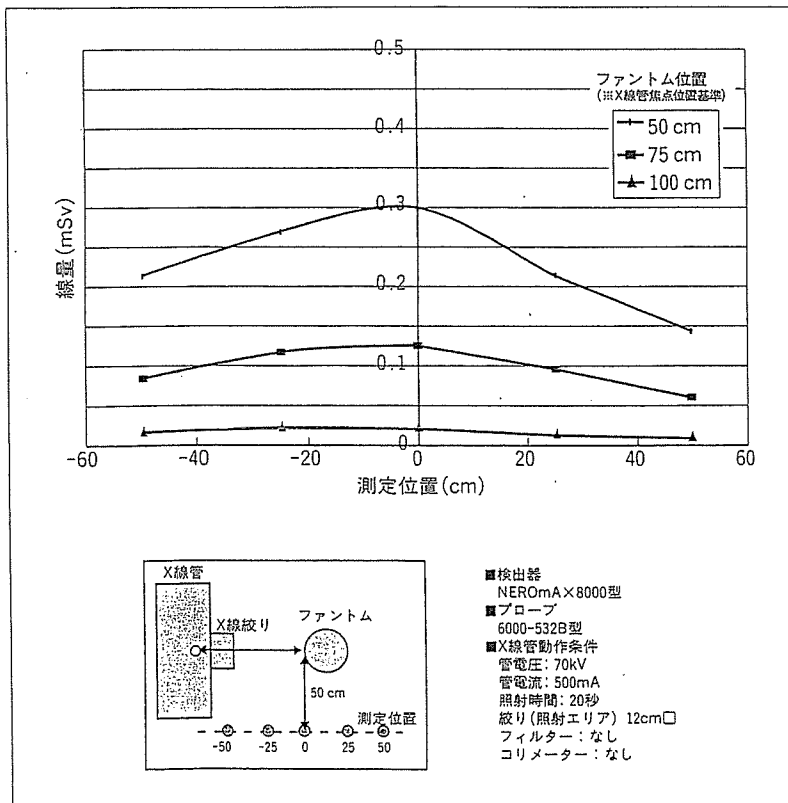


図 11. 散乱 X 線  
X 線発生装置から 1 m の距離にファントムを置き、50 cm 側方での散乱 X 線量は 0.0225 mSv (2.58 mR) であった。

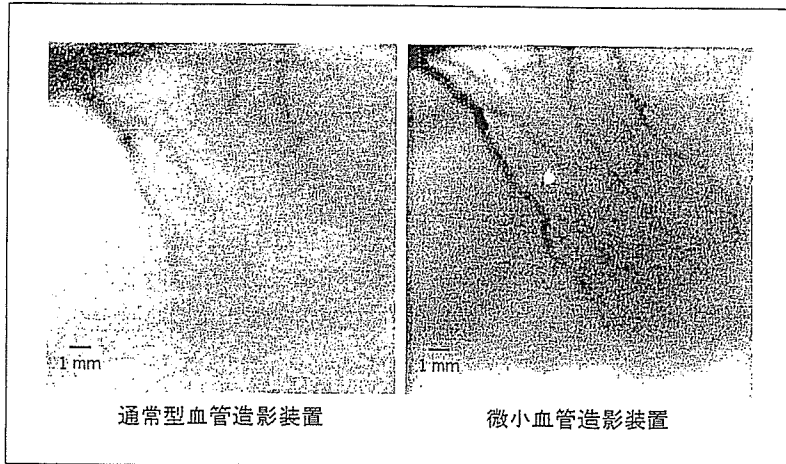


図 12. イヌ冠動脈  
通常型血管造影装置ではイヌ冠動脈の末梢側はぼやけてしまっているが(左), 微小血管造影装置では末梢側までイヌ冠動脈末梢を観察することができる(右).

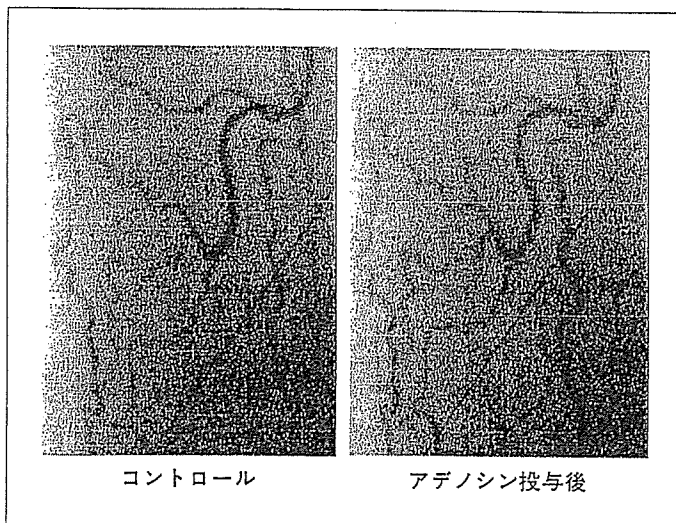


図 13. ウサギ下肢血管  
新生血管を微小血管造影装置で観察した(左). 血管拡張剤であるアデノシンを動脈に投与し, 微小血管が拡張する現象が観察できた(右).

る, 体厚が約 10 cm 程度の被写体しか通過できないため, 心血管系など厚い被写体を撮影することはできない. このため, 下肢血管病変に対する血管再生療法の効果判定を目的としている.

### まとめ

骨髄単核球移植または末梢血幹細胞による血管再生療法の評価に関しては, 一般の検査では臨床症状の改

善を十分に評価できておらず, 適切に再生血管の臨床評価をする方法は確立されていない. 今回開発された病院設置型の微小血管造影装置は, 高輝度の X 線源と高解像度・高感度の検出器を持ち合わせており, 微小血管を鮮明に描出することが可能である. 再生治療の前後で微小血管の変化を検討し, 血管新生が臨床症状の改善に関与していることを証明できると考えられる.

◎文 献

- 1) Asahara T, Murohara T, Sullivan A, et al : Isolation of putative progenitor endothelial cells for angiogenesis. *Science* 275 : 964-966, 1997
- 2) Shintani S, Murohara T, Ikeda H, et al : Augmentation of postnatal neovascularization with autologous bone marrow transplantation. *Circulation* 103 : 897-903, 2001
- 3) Tomita S, Ren-Ke Li, Richard D, et al : Autologous transplantation of bone marrow cells improves damaged heart function. *Circulation* 100 : II-247-II 256, 1999
- 4) Tateishi-Yuyama E, Matsubara H, Murohara T, et al : Therapeutic angiogenesis for patients with limb ischemia by autologous transplantation of bone-marrow cells : a pilot study and a randomised controlled trial. *Lancet* 360 : 427-435, 2002
- 5) Mori H, Hyodo K, Tobita K, et al : Visualization of penetrating transmural arteries in situ by monochromatic synchrotron radiation. *Circulation* 89 : 863-871, 1994
- 6) Tanioka K : A highly sensitive camera tube using avalanche multiplication in an amorphous selenium photoconductive target. *Proc SPIE Int Soc Opt Eng* 1656 : 1-12, 1992
- 7) Kubota M, Kato T, Suzuki S, et al : Ultrahigh-sensitivity new super HARP camera. *IEEE Trans Broadcast-ing* 42 : 251-258, 1996
- 8) Umetani K, Ueki H, Takeda T, et al : High-spatial-resolution and real-time medical imaging using a high-sensitivity HARPICON camera. *J Synchrotron Rad* 5 : 1130-1132, 1998
- 9) Tanioka K, Ohkawa Y, Miyakawa K, et al : Ultra-high-sensitivity New Super-HARP Pickup Tube. *IEEE Workshop on CCD and Advanced Image Sensors 2001*