

インドシアニングリーン蛍光血管描出法による手指関節滑膜血流の評価

研究分担者 小池 隆夫 (NTT 東日本札幌病院院長、北海道大学名誉教授)

研究協力者 深江 淳 (北海道内科リウマチ科病院 医長)

研究要旨

インドシアニンググリーン (ICG)は肝機能検査に用いられてきた緑色色素である。同薬は人体投与後、血中アルブミンと結合し近赤外線領域の 800nm の励起光を吸収し、845nm の蛍光を発する。これを利用して眼科領域では蛍光眼底造影検査が施行されている。800-845nm 近赤外線は人体深部約 2cm を貫通するが組織障害はない。蛍光はデジタルビデオカメラで描出することが可能である。近年、この原理を利用して外科手術後の再開血流の評価や、リンパ管造影も行われている。我々は手指関節において、滑膜炎に伴う異常血流出現を同法(ICG 蛍光血管描出法)を利用して描出可能かを検討した。初年の報告で、活動性 RA 患者の、臨床的に腫脹を認めた右手に対して、ICG 蛍光血管描出法と関節超音波検査を施行し比較した。その結果、関節超音波検査にて滑膜異常血流陽性と判別された部位に、ICG 蛍光血管描出法にて異常蛍光スポットを描出した。更に我々は両手用撮像機器を開発した。今回、同機器を使用して両手の同時撮影を行い、炎症部位の定量法を検討した。

ICG 蛍光血管描出法は低コスト、低侵襲であり、機器に特別な施設を必要としない。関節超音波検査と同様に滑膜異常血流を描出することが可能であり、特に習熟したテクニックは必要としない。ICG 蛍光血管描出法は RA において有用な検査となる可能性が考えられた。

A.研究目的

関節リウマチ(RA)の関節画像評価法を確立し、診断、治療評価基準を確立する。RA は、早期診断方法、関節炎の正確な評価法が必要となっている。病理学、画像検査(MRI、超音波検査)による検討から関節滑膜内には炎症と関連し異常血流が生じることが明らかとなっている。この異常血流を簡便に捉え、評価可能な検査は関節炎評価に有用と考えられる。インドシアニンググリーン (ICG) は静脈内投与後に蛍光発光する。デジタルビデオカメラによって簡便に微小血管を画像化できる。関節滑膜異常血流は関節部位に集積する蛍光として捉えることができる。異常集積の定量法について検討した。

B.研究方法

1. 近赤外線カメラ(浜松ホトニクス)を用いて、両手撮像用機器を作成した。活動性 RA 患者の両手に対して、撮像を施行した。カメラ本体は手より 20cm に固定し、対側の肘静脈より ICG (0.25mg/body) を静脈内投与した。
2. 各濃度のインドシアニンググリーンをエタノールと混合し7穴ウエルにそれぞれ封入した。これを蛍光ファントムとして用いた。
3. 撮影動画より、方形の ROI を設定することで、time intensity curve を得ることが出来るソフトウェアを開発した。
4. Intensity curve を MCP2-3, PIP2-3 関節から得た。このグラフより Fluorescent intensity max (Imax) を算出した。

(倫理面への配慮)

本検討は病院倫理委員会を経て討議された後、了承された。患者には紙面同意を得た上で施行された。

患者には、検査、治療内容、研究成果の発表についてインフォームドコンセントを得ている。

C. 研究結果

1. 活動性 RA 患者四名の両手に対して撮像を施行した。左右の II MCP 関節の撮像画像を比較したところ、肉眼で蛍光差異が認められた。同部位に ROI を設定し、左右でそれぞれ得られた time intensity curve には最大蛍光強度に差が認められた。

2. 作成した蛍光ファントムの各穴の蛍光はそれぞれの蛍光強度で発光が認められたが、線形比例の関係にはなかった。

3. MCP, PIP 関節に対して、Imax は、異常滑膜血流陽性関節では、陰性関節と比較して有意に高値であった。更に MCP 関節において、定量異常滑膜血流値と、Imax は有意に相関した。PIP 関節においては、有意差は認めなかった。

D. 考察

ICG はアルブミン蛋白と結合し、800nm 波長の励起光により 845nm 波長の近赤外線蛍光を発する。同蛍光は深部 2cm の軟部組織を貫通しデジタルビデオカメラで画質化することが可能である。励起光、蛍光ともに暴露に際しての組織障害はない。ICG は、従来、肝臓機能評価や、眼底網膜造影に投与される。投与量においては、肝機能評価 (0.5mg/kg, 25mg/50kg body) に比較して、本検討は 0.25mg/body と低用量で画像が得られた。近赤外線カメラの構成ハードウェアとして、デジタルビデオカメラ、励起光 LED、画像解析用パソコンであるが、既存技術の集合であり、開発は比較的 low cost である。

得られた動画から、関節部位に region of interest (ROI) を置くことで同部位の蛍光 intensity curve が得られた。観察者が異常部位を判断し評価することに加えて、intensity

curve から、正常・異常の判別、また異常を定量する方法を確立することで、RA 診断、治療評価へ有用な可能性がある。今回の結果から、Imax は、炎症指標として有用な可能性が示された。PIP 関節において、異常滑膜血流陽性関節 vs 陰性関節の間には有意差が認められた。両者には有意な相関は認めなかったが、傾向が示された。これについては更に多数の症例検討が必要である。Intensity curve より、Imax 以外のパラメータも算出可能であり、今後検討が必要である。

欧州から同様原理の RA 専用機器が最近実用化された。同機器を使った報告では、画像評価には半定量 4 段階評価が使用され、MRI、超音波検査に遜色ない関節炎の診断能が示されている。

E. 結論

近赤外線カメラを使った ICG 蛍光血管描出法は、低浸襲、低コストであり、両手の手指関節滑膜異常血流を一機能的に評価することが可能であり、有用性が期待される。ICG 蛍光による滑膜血流は定量評価可能である。今後、同検査にて正常部位、異常部位の判定方法についても考えていく。実臨床での多施設検討も必要と考えられる。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. [Koike T.](#) The new era of autoimmune disease research. Arthritis Research&Therapy. 13:113, 2011.
2. Kato M, Atsumi T, Kurita T, Odani T, Fujieda Y, Otomo K, Horita T, Yasuda S, Koike T. Hapatitis B virus reactivation by immunosuppressive therapy in patients with autoimmune diseases: Risk analysis in

- hepatitis B surface antigen-negative cases. *J Rheumatol.*38:10, 2209-14, 2011.
3. Fukae J, Isoe M, Kitano A, Henmi M, Sakamoto F, Narita A, Ito T, Mitsuzaki A, Shimizu M, Tanimura K, Matsuhashi M, Kamishima T, Atsumi T, Koike T. Radiographic prognosis of finger joint damage predicted by early alteration in synovial vascularity in patients with rheumatoid arthritis: Potential utility of power doppler sonography in clinical practice. *Arthritis Care Res.*63(9):1247-53,2011.
 4. Koike T. IFN independent suppression of Th-17 differentiation by T-bet expression in autoimmune arthritis mice. *Arthritis Rheum.* 64(1):40-41,2012.
 5. Takeuchi T, Miyasaka N, Tatsuki Y, Yano T, Yoshinari T, Abe T, Koike T. Inhibition of plasma IL-6 in addition to maintenance of an efficacious trough level of infliximab associated with clinical remission in patients with rheumatoid arthritis: analysis of the RISING Study. *Ann Rheum Dis.* 71(9):1583-5,2012.
 6. Sakai R, Tanaka M, Nanki T, Watanabe K, Yamazaki H, Koike R, Nagasawa H, Amano K, Saito K, Tanaka Y, Ito S, Sumida T, Ihata A, Ishigatsubo Y, Atsumi T, Koike T, Nakajima A, Tamura N, Fujii T, Dobashi H, Tohma S, Sugihara T, Ueki Y, Hashiramoto A, Kawakami A, Hagino N, Miyasaka N, Harigai M; REAL Study Group. Drug retention rates and relevant risk factors for drug discontinuation due to adverse events in rheumatoid arthritis patients receiving anticytokine therapy with different target molecules. *Ann Rheum Dis;* 71(11):1820-6, 2012.
 7. Sakai R, Komano Y, Tanaka M, Nanki T, Koike R, Nagasawa H, Amano K, Nakajima A, Atsumi T, Koike T, Ihata A, Ishigatsubo Y, Saito K, Tanaka Y, Ito S, Sumida T, Tohma S, Tamura N, Fujii T, Sugihara T, Kawakami A, Hagino N, Ueki Y, Hashiramoto A, Nagasawa K, Miyasaka N, Harigai M; REAL Study Group. Time-dependent increased risk for serious infection from continuous use of tumor necrosis factor antagonists over three years in patients with rheumatoid arthritis. *Arthritis Care Res;*64(8): 1125-34, 2012.
 8. Koike T, Harigai M, Inokuma S, Ishiguro N, Ryu J, Takeuchi T, Tanaka Y, Yamanaka H, Fujii K, Yoshinaga T, Freundlich B, Suzukawa M. Safety and effectiveness of switching from infliximab to etanercept in patients with rheumatoid arthritis: results from a large Japanese postmarketing surveillance study. *Rheumatol Int.* 32(6):1617-24, 2012.
 9. Koike T, Harigai M, Inokuma S, Ishiguro N, Ryu J, Takeuchi T, Tanaka Y, Yamanaka H, Fujii K, Yoshinaga T, Freundlich B, Suzukawa M. Safety and effectiveness responses to etanercept for rheumatoid arthritis in Japan: a sub-analysis of a post-marketing surveillance study focusing on the duration of rheumatoid arthritis. *Rheumatol Int.* 32(6):1511-9,2012.
 10. Tanaka Y, Harigai M, Takeuchi T, Yamanaka H, Ishiguro N, Yamamoto K, Miyasaka N, Koike T, Kanazawa M, Oba T, Yoshinari T, Baker D; the GO-FORTH Study Group. Golimumab in combination with methotrexate in Japanese patients with active rheumatoid arthritis: results of the GO-FORTH study. *Ann Rheum Dis.* 71(6):817-24, 2012.
 11. Koike T, Harigai M, Ishiguro N, Inokuma S, Takei S, Takeuchi T, Yamanaka H, Tanaka Y. Safety and effectiveness of adalimumab in Japanese rheumatoid arthritis patients: postmarketing surveillance report of the first 3,000 patients. *Mod Rheumatol.*22(4) :498-508,2012.

12. Otomo K, Atsumi T, Amengual O, Fujieda Y, Kato M, Oku K, Horita T, Yasuda S, Koike T. The efficacy of antiphospholipid score for the diagnosis of antiphospholipid syndrome and its predictive value for thrombotic events. *Arthritis Rheum*. 64(2):504-12, 2012.
 13. Kamishima T, Kato M, Atsumi T, Koike T, Onodera Y, Terae S. Contrast-enhanced whole body joint MR Imaging in rheumatoid patients on tumour necrosis factor-alpha agents: a pilot study to evaluate novel scoring system for MR synovitis. *Clin Exp Rheumatol*. 31(1):154,2013.
 14. Fukae J, Isobe M, Kitano A, Henmi M, Sakamoto F, Narita A, Ito T, Mitsuzaki A, Shimizu M, Tanimura K, Matsuhashi M, Kamishima T, Atsumi T, Koike T. Positive synovial vascularity in patients with low disease activity indicates smouldering inflammation leading to joint damage in rheumatoid arthritis: time-integrated joint inflammation estimated by synovial vascularity in each finger joint. *Rheumatology*. 52(3):523-8, 2013.
 15. Takamura A, Hirata S, Nagasawa H, Kameda H, Seto Y, Atsumi T, Dohi M, Koike T, Miyasaka N, Harigai M. A retrospective study of serum KL-6 levels during treatment with biological disease-modifying antirheumatic drugs in rheumatoid arthritis patients: a report from the Ad Hoc Committee for Safety of Biological DMARDs of the Japan College of Rheumatology. *Mod Rheumatol*. 23(2): 297-303, 2013.
 16. Harigai M, Takamura A, Atsumi T, Dohi M, Hirata S, Kameda H, Nagasawa H, Seto Y, Koike T, Miyasaka N. Elevation of KL-6 serum levels in clinical trials of tumor necrosis factor inhibitors in patients with rheumatoid arthritis: a report from the Japan College of Rheumatology Ad Hoc Committee for Safety of Biological DMARDs. *Mod Rheumatol*. 23(2): 284-96, 2013.
 17. Ikeda K, Seto Y, Narita A, Kawakami A, Kawahito Y, Ito H, Matsushita I, Ohno S, Nishida K, Suzuki T, Kaneko A, Ogasawara M, Fukae J, Henmi M, Sumida T, Kamishima T, Koike T. Ultrasound assessment of synovial pathologic features in rheumatoid arthritis using comprehensive multi-plane images of the 2nd metacarpophalangeal joint - Identification of the components which are reliable and influential on the global assessment of the whole joint. *Arthritis Rheum*, Nov 18, 2013, in press.
 18. Koike T. IgG4-related disease: why high IgG4 and fibrosis. *Arthritis Res Ther*. 15(1):103, 2013.
 19. Fukae J, Tanimura K, Atsumi T, Koike T. Sonographic synovial vascularity of synovitis in rheumatoid arthritis. *Rheumatology* Sep 13, 2013 (epub ahead of print)
- 2. 学会発表**
1. Koike T: "Antiphospholipid syndrome:pathogenesis", *Anti-Phospholipid Antibodies in Medicine, Pilsen(Czech Republic)*, 2011/6/24.
 2. Koike T: "Antiphospholipid Syndrome,2011", 5th Breton Workshop on Autoimmunity, Brest(France), 2011/10/14.
 3. Koike,T: "Catastrophic Antiphospholipid Syndrome;CAPS", *Asian Lupus Summit 2012, Manila,Filipin*, 2012/11/29.
 4. Koike T: "New concepts in antiphospholipid syndrome", *Asian Lupus Summit 2012, Manila,Filipin*, 2012/11/30.
 5. Koike T: "My contribution, my dream: 1983-2013", 14th International Congress on Antiphospholipid Antibodies & 4th Latin American Congress on Autoimmunity, Rio de Janeiro, Brazil, 2013/9/17-23.

6. Koike T: "Antiphospholipid syndrome: 30 years", 6th Autoimmunity Congress Asia, Hong Kong
2013/11/19-23.
7. 深江 淳、成田明宏、遠見美穂子、坂本文彦、北野明美、青木悠子、磯部将人、清水昌人、松橋めぐみ、伊藤武哉、光崎明生、神島 保、谷村一秀:生物学的製剤による手指関節腔内異常血流の反応近赤外線カメラによる関節腔内異常血流の描出、第55回日本リウマチ学会総会 2011/7/17-20、神戸
8. 深江 淳、成田明宏、遠見美穂子、坂本文彦、北野明美、青木悠子、高松尚徳、磯部将人、清水昌人、松橋めぐみ、伊藤武哉、光崎明生、谷村一秀:関節滑膜血流累積値と関節破壊の関係近赤外線カメラによる関節滑膜血流測定、第56回日本リウマチ学会総会 2012/4/26-29、東京
9. 深江 淳、成田明宏、遠見美穂子、坂本文彦、北野明美、青木悠子、高松尚徳、磯部将人、清水昌人、松橋めぐみ、伊藤武哉、光崎明生、谷村一秀:関節リウマチにおける滑膜肥厚の定量測定インドシアニンググリーン蛍光血流画像は手指異常滑膜血流をとらえ評価することが可能である低疾患活動性を得た関節リウマチ患者の手指関節炎の変化。第57回日本リウマチ学会総会 2013/4/18-20、京都

H.知的財産権の出願・登録状況(予定も含む)

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし