

分子血流トレーサによる心筋微小循環血流計測と 血流microheterogeneity

松本 健志* 立花 博之* 武本 麻美*
浅野 誉久* 小笠原康夫* 梶谷 文彦*,**

要 旨：局所心筋灌流分布は空間的な不均一性を示し、そのパターンは最小細動脈が灌流する心筋領域(冠循環単位)において決定される。デスメチルイミブラミンを利用したトレーサ・デジタルラジオグラフィは冠循環単位と同等の空間解像度での灌流分布イメージングを可能とし、心内膜側灌流分布の高い不均一性とクラスタリング様パターンが確認された。また、マイクロスフェア塞栓前後の分布パターン計測から、局所灌流不均一性の増大による微小心筋障害発生の可能性が示唆された。(J. Jpn. Coll. Angiol., 2003; 43: 245-249)

Key words: Molecular flow tracer, Myocardial flow heterogeneity, Microvascular unit

1. はじめに

心筋灌流では、液性・神経性因子やアデノシン、一酸化窒素、筋原性応答など多くの血管作動因子によって、局所心筋酸素消費に即した灌流調節が行われている¹⁾、形成される灌流分布は空間的に著しい不均一性を示す。したがって、心筋灌流分布の不均一性を計測、評価することは、冠循環血流調節メカニズムの理解および肥大、高血圧、糖尿病心にみられる冠微小循環障害の病態の解明と治療において極めて重要である²⁾。

冠循環調節の働きは、一本の前毛細管細動脈(直径10 μm以下)が灌流する(数百 μm²)の心筋サイズまで及ぶ。このレベルの局所灌流計測には、細動脈塞栓を伴うマイクロスフェア法を利用することはできない。灌流障害のない拡散性トレーサとしては、アンチピリンやタリウム、ルビジウムなどが挙げられるが、いずれも心筋保持率あるいは摂取率が低いことが定量性を低減させ、微小循環レベルの灌流分布計測には不適である^{3,4)}。このような難点を改善するため、高い心筋摂取/保持率および低い血流阻害性という特色を併せ持つトレーサとして、α₂レセプターのアンタゴニストであるデスメチルイミブラミン(DMI)が提案されている⁵⁾。本研究ではDMIを利用したトレーサ・デジタルラジオグラフィによる心筋灌流計測と灌流分布の不均一性に

ついて紹介する。

2. トレーサ・デジタルラジオグラフィ

心筋トレーサ保持率

DMIの血流トレーサとしての妥当性を検討するために、摘出心モデルを用いてウサギ・タイロッド溶液灌流時およびラット・血液灌流時のDMI心筋保持率を計測した。後者では交叉灌流モデルを利用した。

トリチウム標識DMI(HDMI)およびヨード125標識DMI(IDMI)を大動脈直上から投与し、肺動脈流出液を連続的にサンプリングした。サンプリング液中のトレーサ放射活性を計測し、心筋トレーサ保持率R(t) [%]を次式で求めた。

$$R(t) = \left[1 - \int_0^t \frac{F \cdot C(\lambda)}{C_0} d\lambda \right] \times 100$$

ここで、Fは灌流量、C(λ)はt=λ[sec]のときの流出血中トレーサ濃度、C₀はトレーサの全投与量である。

Fig. 1におのおののトレーサ心筋保持率を示す。トレーサ投与1分後の保持率はいずれも高く、ウサギ・タイロッド灌流に対するHDMIでは91%であったが、その他については95%以上の高い保持率が維持された。特に、ウサギ・タイロッド灌流心に対するIDMIの保持率は2分後にも95%近くあり、この灌流条件下におけるIDMIの有用性の高いことが認められた。

* 川崎医科大学医工学

** 岡山大学大学院医歯学総合研究科システム循環生理学

2003年1月6日受付 2003年4月7日受理

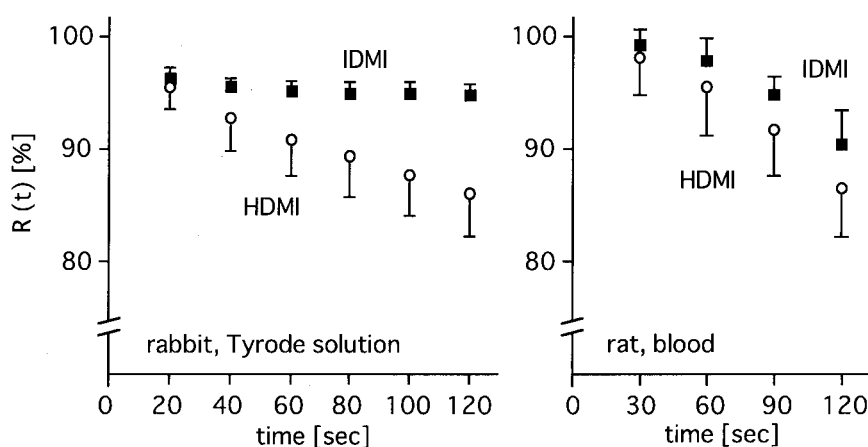


Figure 1 Myocardial retention $R(t)$ of IDMI and HDMI vs. time in Tyrode-perfused rabbit hearts (left, $n=6$) and blood-perfused rat hearts (right, $n=4$). Plots are means $\pm$ SD. Perfusion rates in rabbit and rat hearts were 8.1 ± 1.2 and 3.1 ± 0.7 ml/min/g, respectively. HDMI: tritium-labeled desmethylinipramine, IDMI: iodine-125-labeled desmethylinipramine.

デジタルラジオグラフィ

心筋に取り込まれたトレーサ分布の検出は定量デジタルラジオグラフィにて行った。トレーサを投与した心筋から作製した心筋切片をイメージングプレートに密着・露出を行い、放射活性強度に比例したデジタルラジオグラム密度分布、すなわち灌流分布を検出した⁶⁾。

HDMI, IDMIの放射飛程距離の違いを利用すれば、同一心筋内の灌流分布変化をとらえることができる(ダブルトレーサ・デジタルラジオグラフィ)。感度の高いトリチウム専用イメージングプレートではHDMI分布とIDMI分布の重畳分布が検出され、一般用イメージングプレートではIDMI分布が検出される。後者をおののイメージングプレートの感度直線を利用して線型変換し、前者から減算することによって、HDMI分布が求められる。この方法によって、冠微循環単位とほぼ等しい $1400\mu\text{m}$ の分解能でHDMI, IDMI分布計測が可能となった(Fig. 2)。

3. 心筋灌流不均一性

心内膜側 vs. 心外膜側

心筋内灌流分布は冠血管分岐形態、心拍動メカニカルストレス、および冠血管トーンスによって決定される⁸⁾。したがって、これら3因子が異なる心内膜側と心外膜側とは異なる灌流分布が形成されるものと予想される。Fig. 3上は麻酔開胸下のウサギ左房にHDMI

を投与して1分後に得られた心内膜側、心外膜側の心筋レイヤー内HDMI分布、すなわち血流分布である。心内膜側の血流分布は高い不均一性を示すと同時に、血流分布のクラスター化(高血流域と低血流域の形成)が認められる。これは心内膜側における血管の解剖学的構築のばらつきと強い拍動メカニカルストレスに基づく血流不均一化作用、および局所心筋酸素需要に応じた血管トーンスによる局所血流調節作用の結果であると推測される⁹⁾。

隣接する局所心筋内血流の類似性に着目し、隣接する関心領域(ROI)間の血流相関(CA)を以下の式より求めた。

$$CA = \left[\sqrt{2}C(d) + C(\sqrt{2}d)/(1 + \sqrt{2}) \right]$$

ただし、

$$C(d) = \left[\langle m_i \cdot m_j \rangle - \langle m_i \rangle \cdot \langle m_j \rangle \right] / \left[\langle m_i^2 \rangle - \langle m_i \rangle^2 \right]$$

ここで、 m_i は*i*番目のROIの β 線放射活性強度、 d は*i*番目と*j*番目のROI間の距離で、ここでは縦横に隣接するROI間の距離であり、ROIサイズに等しい。 $\langle \dots \rangle$ はアンサンブル平均を示す。また、 CA ($0 < CA < 1$)は血流分布の局所的な乱れ度(ランダム性, local flow randomness)の低さを示す指標であり、分布のランダム度が高いほど0に近づき、隣接するROI内血流の類似度が上昇するにつれて1に近づく。CAはROIサイズ $0.1(1 \times 1 \text{ピクセル})$

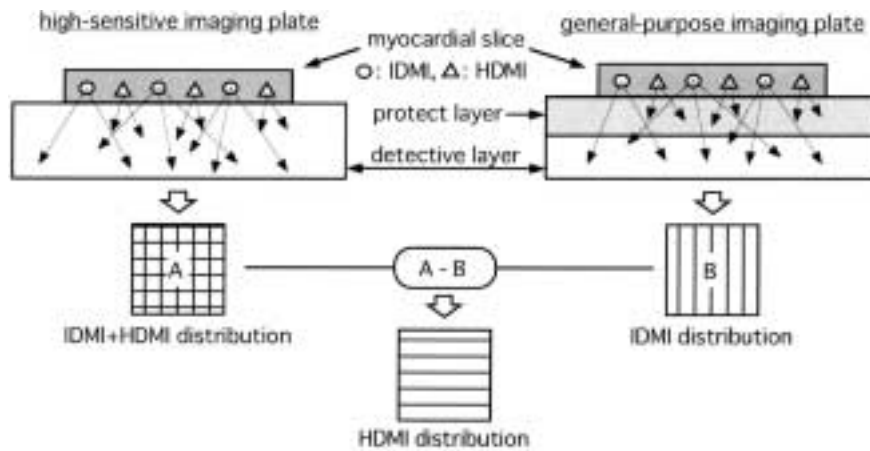


Figure 2 Schema of sample preparation and double-tracer digital radiography using two imaging plates. The highly sensitive imaging plate visualizes the double distribution of IDMI and HDMI, and the general-purpose imaging plate, the sole distribution of IDMI. HDMI distribution can be separated through subtraction processing.

ル), $0.2(2 \times 2 \text{ ピクセル})$, . . . , $1.0 \text{ mm}(10 \times 10 \text{ ピクセル})$ ごとに求め, 血流調節の階層的な評価を行った。

局所心筋の関心領域 (ROI) の大きさが 0.4 mm (設定ピクセルサイズ) 以上で近接する ROI 間血流相関値 (局所類似性) はプラトーに達し, 0.4 mm 以下の ROI では相関値は減少し局所ランダム性が強調される (Fig. 3 下)。冠微小循環機能を心筋への均等な血流分配として考えると, 最小の冠細動脈 (直径約 $9 \mu\text{m}$) が灌流する $0.2 \sim 0.5 \text{ mm}$ サイズの毛細血管床レベル (解剖学的ユニット) までこの機能が保持されており, 解剖学的ユニットが機能的ユニットとしても働いていることが示唆される。

微小循環障害

冠予備能もまた血流と同様に空間的に不均一であり, 必ずしも安静時に血流の低い領域が大きな冠予備能を保持しているわけではない⁹⁾。また, 血管内皮依存性の血管拡張物質

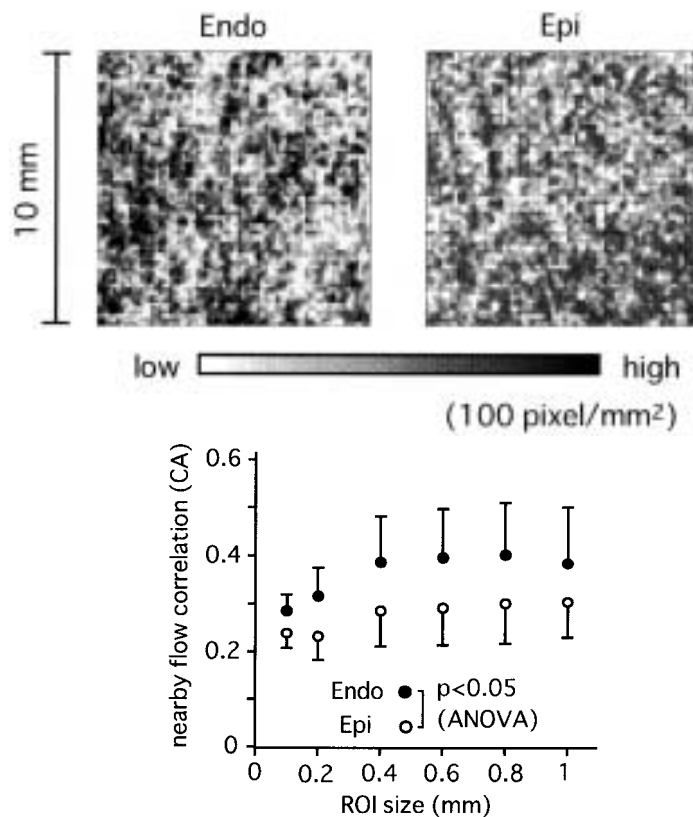


Figure 3 Top: Perfusion images of subendo (endo) and subepicardium (epi). Regional flows in subendocardium show a clustering pattern with high heterogeneity. Bottom: Nearby flow correlation vs. pixel size ($n=6$). Plots are means $\pm$ SD. Overall difference between layers is significant. Based on Matsumoto et al.⁶⁾

放出の障害が想定される微小血管狭心症では、冠予備能の空間不均一性が增大している可能性がある¹⁰⁾。したがって、微小血管狭心症において心筋酸素需要が増大あるいは酸素供給が減少すると、冠予備能の小さな領域から大きな領域への血流steal現象が生じ、散在性の虚血が発生すると予想される。

散在性の冠微循環障害を模して、ウサギ・タイロッド灌流心に15 μ mマイクロスフェアを投与して(9 ± 2 spheres/mg), 細動脈塞栓を生ぜしめ、塞栓前後における心筋灌流分布をダブルトレーサ法でイメージングした(Fig. 4上)。マイクロスフェア投与前後で灌流パターンはある程度維持されているが、局所灌流量のばらつきは増大し、局所灌流量の大小がより強調されている(Fig. 4下)。すなわち、微小塞栓によって灌流不均一性は増大し、一部の領域が重度な酸素不足にさらされる可能性がうかがわれる⁷⁾。

4. 最後に

冠抵抗血管の各部位は、心拍動によるメカニカルストレスを受けながらも心筋エネルギー代謝と密接にカップリングし、400 μ mサイズを前後とする心筋単位で局所血流を調節している。したがって、メカニカルストレスや仕事量を異にする心内膜側、心外膜側では局所血流分布に違いがみられる。心内膜側血流の高い不均一性と局所類似性は、血流調節破綻による微循環障害の心内膜側好発性に関連が深いと考えられる。

心筋血流分布を微循環レベルの分解能で計測・評価することは、微循環障害の発生メカニズムを理解し、その疾患・病態の解明と治療にとって重要である。トレーサ・デジタルラジオグラフィはマイクロスフェア法を上回る空間分解能を有し、比較的広領域の心筋血流分布を、冠血流調節が及ぶ100 μ mオーダーの局所領域を単位として記述できる精度の高い方法である。本研究では2核種トレーサについて触れたが、さらなるマルチトレーサの利用による心筋血流計測が実

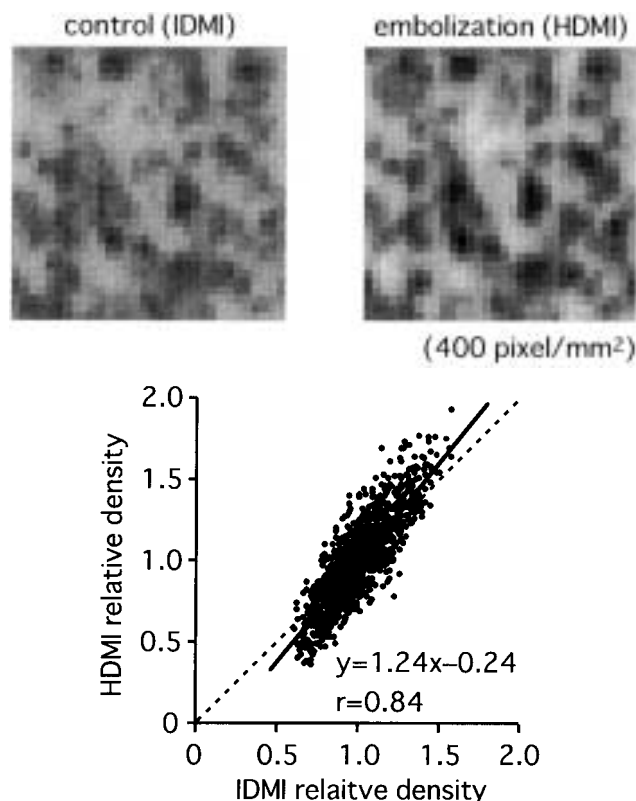


Figure 4 Top: Myocardial flow images before and after 15 μ m microsphere injection. Bottom: Cross-correlation between regional flows before and after microembolization. The two flow distributions showed a similar pattern, whereas slow heterogeneity increased after microembolization. Based on Matsumoto et al.⁷⁾

現すれば、心筋血流パターンの形成・調節メカニズムの解明にさらに大きく寄与することが期待できる。

文 献

- 1) Lausmann T, Janosi RA, Fingas CD et al: Myocardial proteome analysis reveals reduced NOS inhibition and enhanced glycolytic capacity in areas of low local blood flow. *FASEB J*, 2002, **16**: 628-630.
- 2) Balaban RS and Arai A: Function, metabolic, and flow heterogeneity of the heart: the view is getting better. *Circ Res*, 2001, **88**: 265-267.
- 3) Bergmann SR, Herrero P, Markham J et al: Noninvasive quantitation of myocardial blood flow in human subjects with oxygen-15-labeled water and positron emission tomography. *J Am Coll Cardiol*, 1989, **14**: 639-652.

- 4 Budinger TF, Yano Y, Huesman RH et al: Positron emission tomography of the heart. *Physiologist*, 1983, **26**: 31-34.
- 5 Little SE and Bassingthwaite JB: Plasma-soluble marker for intraorgan regional flows. *Am J Physiol*, 1983, **245**: H707-H712.
- 6 Matsumoto T, Ebata J, Tachibana H et al: Transmural microcirculatory blood flow distribution in right and left ventricular free walls of rabbits. *Am J Physiol*, 1999, **277**: H183-H191.
- 7 Matsumoto T, Tachibana H, Ogasawara Y et al: New double-tracer digital radiography for analysis of spatial and temporal myocardial flow heterogeneity. *Am J Physiol*, 2001, **280**: H465-H474.
- 8 Austin RE Jr, Smedira NG, Squiers TM et al: Influence of cardiac contraction and coronary vasomotor tone on regional myocardial blood flow. *Am J Physiol*, 1994, **266**: H2542-H2553.
- 9 Austin RE Jr, Aldea GS, Coggins DL et al: Profound spatial heterogeneity of coronary reserve. Discordance between patterns of resting and maximal myocardial blood flow. *Circ Res*, 1990, **67**: 319-331.
- 10 Egashira K, Inou T, Hirooka Y et al: Evidence of impaired endothelium-dependent coronary vasodilatation in patients with angina pectoris and normal coronary angiograms. *N Engl J Med*, 1993, **328**: 1659-1664.

Microheterogeneity of Regional Myocardial Flows Evaluated by Tracer Digital Radiography

Takeshi Matsumoto*, Hiroyuki Tachibana*, Mami Takemoto*,
Takahisa Asano*, Yasuo Ogasawara*, and Fumihiko Kajiya**

*Department of Medical Engineering and Systems Cardiology, Kawasaki Medical School

**Department of Cardiovascular Physiology, Okayama University Graduate School of Medicine and Dentistry

Key words: Molecular flow tracer, Myocardial flow heterogeneity, Microvascular unit

Myocardial flows exhibit the most marked heterogeneity when resolved into flows in regions perfused by single arterioles. The within-layer flow heterogeneity at this microvascular level was described with 100 μ m resolution by digital radiography based on the technique of desmethylinipramine deposition. In subendocardium, flow heterogeneity was the highest, whereas nearby regional flows resembled each other, showing the clustered pattern of high- or low-flow regions. The extended technique of the tracer method, i.e., the double-tracer technique, showed the flow patterns before and after 15 μ m microsphere embolization. Microsphere embolization enhanced flow heterogeneity, with increasing flow differences between original high- and low-flow regions, but tended to maintain the pattern of flow distribution. Tracer digital radiography will be a powerful method for the analysis of spatial and temporal myocardial flow at microvascular levels under pathophysiological conditions. (J. Jpn. Coll. Angiol., 2003; **43**: 245-249)