

病院設置型微小血管造影装置による微小血管の評価

知久 正明¹ 西上 和宏¹ 竹下 聡¹ 林 富貴雄¹ 野々木 宏¹
萩野 均² 中谷 武嗣² 田中 良一³ 内藤 博昭³ 盛 英三⁴
宮武 邦夫¹ 友池 仁暢¹ 北村惣一郎²

要 旨：末梢動脈閉塞症(PAD)に対する血管再生治療による再生血管は約100 μ m以下の微小血管が主体であるため、解像度が約200～300 μ mの既存の血管造影装置では微小血管を十分に評価できないのが現状である。そこで、病院に設置可能な微小血管造影装置を開発し、動物実験で微小血管の描出に成功した。安全性を確認後に臨床導入し、パーリパー病の症例において微小血管が明瞭に描出できた。微小血管造影法は血管再生治療の評価法として期待される。

(J Jpn Coll Angiol, 2005, 45: 965–971)

Key words: in-house micro-vascular angiographic system, therapeutic angiogenesis

はじめに

一般に血管造影検査をはじめ、血管再生治療後の微小血管を的確に判断する臨床検査法は確立されていない。これは、血管再生治療により再生される血管は約100 μ m以下の微小血管が主体であり、解像度が約200～300 μ mである通常の血管造影装置では微小血管を描出することが困難であるためと考えられる。放射光施設におけるシンクロトロンによる微小血管造影法は約20～50 μ mの微小血管の可視化が可能であるが¹⁾、臨床導入するには、経済的にも実用的にも困難である。そこで、病院に設置可能な微小血管造影装置を開発・臨床導入し、その有効性と安全性を検討した。

対象と方法

1999～2003年度にかけて新エネルギー・産業技術総合開発機構(NEDO)の支援を受けて、浜松ホトニクスとNHKエンジニアリングサービスの技術開発グループの協力のもと、次世代単色X線診断システムを開発し

た。この微小血管造影装置は高出力・大容量X線管とNHKエンジニアリングサービスの高精細・高感度ハイビジョンカメラで構成され、金属フィルターでX線を擬似単色化する(Fig. 1)。

テストチャートを用い、微小血管造影装置と既存の血管造影装置の空間解像度を比較し、さらに、イヌ冠動脈ファントムを用い、微小血管の描出について装置間の血管描出効果を比較検討した。ウサギ下肢大腿動脈結紮後、FGF4-GHG複合体にて治療した1カ月後の下肢再生血管モデルを用い既存の血管造影と微小血管造影を施行し、アデノシンの動脈内投与にて微小血管の反応性を投与前後で比較検討した^{2,3)}。本装置の吸収線量ならびに散乱線量を測定し、安全性を検討した。

今回開発された微小血管造影装置は、当院の倫理審査委員会にて臨床応用が承諾され、2004年3月に当院へ移設した。パーリパー病の症例で微小血管造影を施行し、既存の血管造影装置と比較検討した。臨床例においても、安全性の検討として吸収線量を測定した。

結 果

テストチャートによる解像度は、既存の血管造影装置は250 μ m、微小血管造影装置は50 μ mであった(Fig. 2)。

2004年11月29日受付 2005年2月24日受理

¹国立循環器病センター心臓血管内科

²国立循環器病センター心臓血管外科

³国立循環器病センター放射線科

⁴国立循環器病センター心臓生理部

微小血管造影装置の画像では、イヌ冠動脈の心筋貫通枝の分岐するたびに血管径が減る様子が観察できたが、既存の血管造影装置の画像では血管端がぼやけて、分岐に伴う血管径の減少を確認できなかった(**Fig. 3**)。ウサギ下肢大腿動脈の再生血管モデルに対し、既存の血管造影装置では血管の反応性が評価できなかったが、微小血管造影装置では、アデノシン投与後に $100\mu\text{m}$ 以下の微小血管が拡張の様子が観察できた(**Fig. 4**)。管電圧70kV、管電流500mAで20秒照射した場合、吸収線量は0.547Sv(62.7R)であった。散乱線量は0.0225mSv(2.58mR)であった。

63歳、男性、バジャー病の患者。左下肢に安静時疼痛ならびに左足第1趾に趾潰瘍を認めた。既存の血管造影装置による血管造影では微小血管は描出できなかったが、微小血管造影装置では高度虚血による側副血行路が観察できた(**Fig. 5**)。1回の検査における吸収線量は24mGyと臨床上も許容範囲であった。

考 察

20世紀後半から高齢化ならびにライフスタイルの欧米化により、生活習慣病である動脈硬化性疾患と糖尿病の増加に伴う微小循環障害を合併した末梢動脈閉塞性疾患が問題となりつつある。微小血管障害に対しては、既存のカテーテルやバイパス術による治療では解決できないことが多く、新しい治療戦略としてTACT studyをはじめ⁴⁾、遺伝子やサイトカインを用いた、さまざまな血管再生治療が期待されている。しかし、いまだ血管再生治療後の新生血管を評価できる臨床検査法は確立されていない。当施設でも難治性のバジャー病8症例に骨髄細胞移植を施行し、全例とも安



Figure 1 In-house micro-angiographic system. In-house micro-angiographic system consists of a high-voltage power X-ray source (black arrow) and a detecting system with high levels of spatial resolution and sensitivity (white arrow).

静時疼痛が改善し、皮膚潰瘍を呈する7症例も完全に回復したが、既存の臨床検査法では臨床症状の改善を反映する所見は得られなかった⁵⁾。

一般に、血管再生治療前後の臨床検査として、血管造影法(digital subtraction angiography: DSA)が施行される。既存の血管造影装置の解像度は最高 $200\mu\text{m}$ 程度であり、新生血管は $100\mu\text{m}$ 以下の微小血管が主体であることより、既存の血管造影法で微小血管を描出することは困難であると考えられている。また、血管数が増加しているように見える症例もあるが、その多くはarteriogenesisによる側副血行路が描出されるようになっ



A | B

Figure 2 Resolution of the conventional and in-house micro-angiographic systems. Spatial resolution with the conventional angiographic system is $250\mu\text{m}$ (A), with the micro-angiographic system is $50\mu\text{m}$ (B).

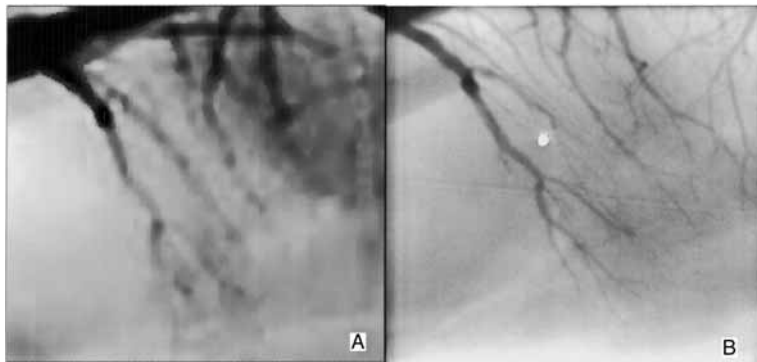


Figure 3 Evaluation of micro-coronary vessels in canine heart with the conventional and in-house micro-angiographic system. The in-house micro-angiographic system revealed coronary artery reduction by branching off (B), while the conventional angiographic system failed to visualize coronary artery reduction (A).

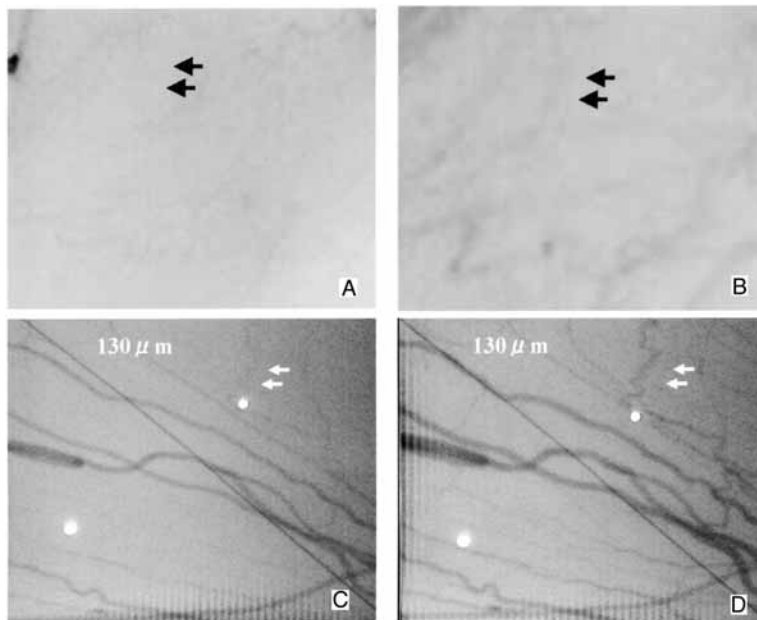


Figure 4 Angiography of rabbit femoral artery. Limb ischemia models were made by the ligation of femoral artery and treated by fibroblast growth factor 4 (FGF-4) genes incorporated to gelatin hydro gel (GHG), and significant changes were observed in size of micro vessels baseline (C) and in hyperemia by administering adenosine (D) with the in-house micro-angiographic system at one month, no significant changes were evident with the conventional angiography (A, B).

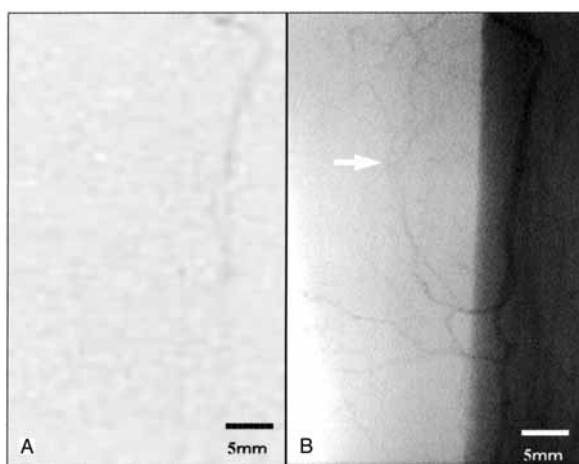


Figure 5 Angiography of a Buerger's disease case. The in-house micro-angiographic system revealed micro vessels (B), where the conventional angiographic system shows as an avascular area by (A).

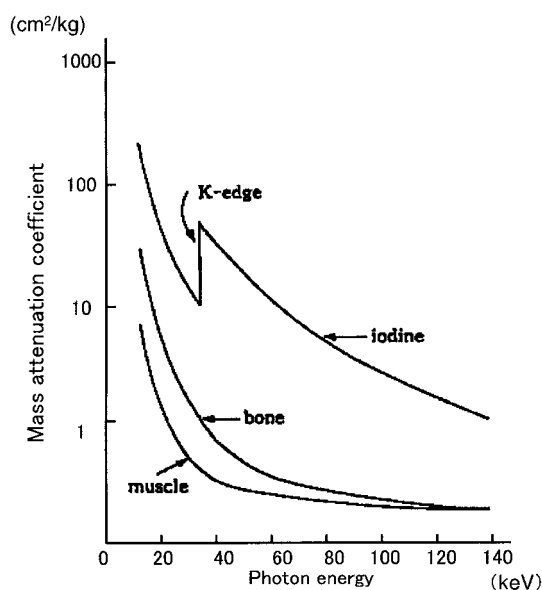


Figure 6 Mass attenuation coefficient.
Iodine has K-edge in 33.3 keV with mass attenuation coefficient curve.

たためと考えられており、新生血管が造影されているわけではない。血管再生治療による臨床効果を評価するには、限りなく微小な血管床を描出する必要がある。微小血管に含まれる微量の造影剤を検出するには以下の4つの条件が重要である。まず、X線の性質が高輝度で、平行性かつ単色性であり、検出系は高感度、高解像度にすることが重要である。

血管造影法の概念として、人体内部構造物と造影剤の吸収係数の差を用いて写真用フィルム面に投影された画像が血管像であり、これを吸収コントラスト法という。しかし、X線はある程度は人体組織に吸収・減衰され、検出系前面での単位面積あたりのX線光子量が減少すると、撮影像を劣化させるため、十分なコントラストを得るためには、高輝度のX線が必要である。放射光施設のX線は一般撮影のX線発生装置の約 10^8 倍も輝度が高いため、被写体に吸収されても、検出系に十分な光子数を残すことができるが、このエネルギー量をもつX線を作製することは、一般の施設では不可能である。このため、病院設置型微小血管造影装置のX線源として、可能な限り大容量・大出力をもつCT用のX線管を改変して用いた。

単色化については、一般的に血管造影にはヨード含有造影剤が使用されるが、ヨードは33.3keVのエネル

ギーレベルでK吸収端と呼ばれる質量吸収係数が不連続に上昇する性質がある。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の付近にて単色化すると、ヨードと周囲組織との質量吸収係数の差が最大となるため、コントラストの高い画像を得ることができる(**Fig. 6**)。実際には金属フィルターを用いて擬似単色化し、33.3 keV(ヨードのK吸収端)前後におおの10 keV程度のバンド幅をもつ擬似単色X線を得ることができた。

平行化については、X線が平行線であると境界が強調された輪郭強調画像を得ることが可能となる(**Fig. 7A**)。これを屈折コントラスト法という。通常のX線撮影は非平行線であり、辺縁が散乱線などで半影を形成するため、画像が劣化してしまう(**Fig. 7B**)。非平行線はmm単位の撮影ならば問題ないが、微小血管造影にとってはかなりの影響がある。放射光は指向性がよく、さらに被写体と検出器との距離を長くすることにより、限りなく平行性のよいX線が得られるため、屈折コントラスト法が可能となる。浜松ホトニクスが開発したポリキャピラリーは安価で、効果的にX線を平行化させることのできるデバイスである(**Fig. 8**)。しかし、現在の病院設置型微小血管造影装置のX線エネルギーでは光子量が十分でないため、今回の検討では使用しなかった。さらに大出力・大容量をもつX線

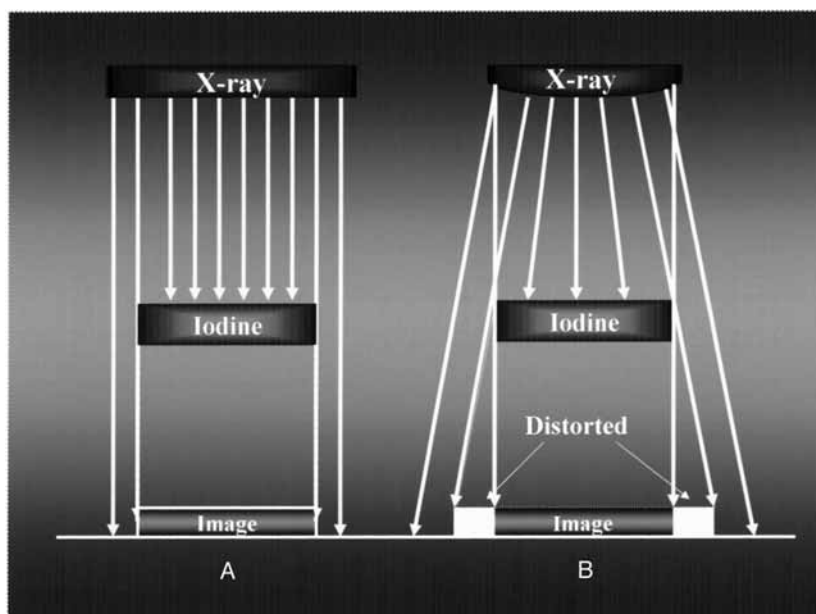


Figure 7 Relationship between parallel beam and non-parallel beam. Parallel beam made a sharp image (A), whereas non-parallel beam made distorted areas around the image (B).

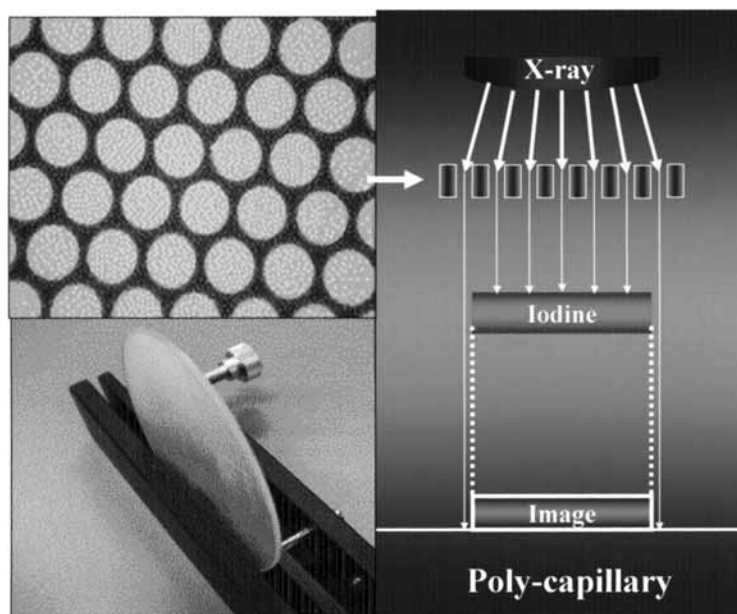


Figure 8 Effect of poly-capillary. Poly-capillary easily transforms non-parallel beam to parallel beam. But this manipulation reduced great amount of X-ray photon energy.

管が開発された場合に導入する予定である。

本装置の撮影系は高解像度・高感度蛍光板(浜松ホトニクス社製)を用い、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カメラ(NHKエンジニアリングサービス製)で撮影する方式である。蛍光体はX線透亮像を可視光線に変換しグリーン光を発するが、蛍光体のみを堆積しているため膜厚を薄くでき、光の拡散を小さくすることができる。これにより、一般の蛍光膜より高解像度化が可能となる。また、不純物を含まない高密度で微細な柱状結晶構造は、光ファイバーに似た微細かつ緻密な構造が減光を大幅に削減し、高感度を保てる。

レンズは高透過率高解像度で歪度が低く、リモート操作による大中小の3視野が可変できる。ハイビジョン新Super-HARPカメラは1インチ径撮像管を内蔵し、超高感度・高精細を実現する⁶⁻⁹⁾。撮像管の光伝導膜はアバランシェ効果により、信号を定常状態の600倍まで増倍できる。さらに、増倍に伴う雑音が付加されないという特徴を有している。

動物実験ならびに実際の臨床例で微小血管装置を用い、既存の血管造影装置では描出できない微小血管を描出することが可能であった。今後は、血管再生治療前後で評価することにより、血管再生治療の臨床効果を詳細に評価できる可能性があると考えられた。

結 論

今回開発された病院設置型微小血管造影装置は、100 μ m以下の微小血管を描出することが可能であり、放射線量は临床上の許容範囲であった。微小血管造影装置は、血管再生治療を適切に評価できる可能性があると考えられた。また、微小血管造影法による画像評価は、今後の詳細な検討により、新たな知見が得られる可能性もある。

文 献

- 1) Mori H, Hyodo K, Tobita K et al: Visualization of penetrating transmural arteries *in situ* by monochromatic synchrotron radiation. *Circulation*, 1994, **89**: 863-871.
- 2) Takeshita S, Isshiki T, Mori H et al: Use of synchrotron radiation microangiography to assess development of small collateral arteries in a rat model of hindlimb ischemia. *Circulation*, 1997, **95**: 805-808.
- 3) Takeshita S, Isshiki T, Ochiai M et al: Endothelium-dependent relaxation of collateral microvessels after intramuscular gene transfer of vascular endothelial growth factor in a rat model of hindlimb ischemia. *Circulation*, 1998, **98**: 1261-1263.
- 4) Tateishi-Yuyama E, Matsubara H, Murohara T et al: Therapeutic angiogenesis for patients with limb ischaemia by autologous transplantation of bone-marrow cells: a pilot study and a randomised controlled trial. *Lancet*, 2002, **360**: 427-435.
- 5) Chiku M, Nishigami K, Hayashi T et al: Effects of therapeutic angiogenesis using autologous bone marrow mononuclear cell implantation to the incurable skin ulcer with buerger disease. *J Jpn Coll Angiol*, 2004, **44**: 191-197.
- 6) Tanioka K: A highly sensitive camera tube using avalanche multiplication in an amorphous selenium photoconductive target. *Proc SPIE Int Soc Opt Eng*, 1992, **1656**: 1-12.
- 7) Kubota M, Kato T, Suzuki S et al: Ultrahigh-sensitivity new super HARP camera. *IEEE Trans Broadcasting*, 1996, **42**: 251-258.
- 8) Umetani K, Ueki H, Takada T et al: High-spatial-resolution and real-time medical imaging using a high-sensitivity HARPICON camera. *J Synchrotron Radiat*, 1998, **5**: 1130-1132.
- 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.

Visualization of Microvessels with In-house Micro-angiography

Masaaki Chiku,¹ Kazuhiro Nishigami,¹ Satoshi Takeshita,¹ Tokio Hayashi,¹ Hiroshi Nonogi,¹
Hitoshi Ogino,² Takeshi Nakatani,² Ryouichi Tanaka,³ Hiroaki Naito,³ Hidezo Mori,⁴
Kunio Miyatake,¹ Hitonobu Tomoike,¹ and Souichiro Kitamura²

¹Divisions of Cardiovascular Medicine, ²Cardiovascular Surgery, ³Radiology, and ⁴Cardiac Physiology,
National Cardiovascular Center, Osaka, Japan.

Key words: in-house micro-vascular angiographic system, therapeutic angiogenesis

Although therapeutic angiogenesis improved critical limb ischemia in humans, microvessels promoted by therapeutic angiogenesis needed further improvement to be visualized well by conventional angiographic system, because of its limited spatial resolution of 200 μm . We have developed an in-house micro-angiographic system consisting of a high-voltage power X-ray source and a detecting system with high levels of spatial resolution and sensitivity. The in-house microvessel angiographic system demonstrated its ability to evaluate the function of microvessels *in vivo*, as well as to visualize them with higher precision than the conventional angiographic system. The findings of our study suggest that a novel micro-angiographic system may be useful in evaluating the efficacy of therapeutic angiogenesis in clinical settings.

(J Jpn Coll Angiol, 2005, **45**: 965–971)