

ラマン分光イメージング法を用いた切迫大動脈瘤の時間的空間解析と破裂予測

柳沢裕美

筑波大学 生存ダイナミクス研究センター

【研究の背景】

大動脈瘤破裂は急速に進行し生命を著しく脅かす疾患である。発症前の自覚症状に乏しく、大動脈解離を含む破裂の病院死亡率は 10-20%に達する。ところが、大動脈瘤破裂・解離を正確に予測する技術や特異的血清マーカーは確立していない。従って、発症時期を的確に予測する技術を確立することが喫緊の課題である。

【目 的】

本研究では、ヒト応用への前段階として、上行大動脈瘤モデルマウスを用いて大動脈破裂を誘導する条件を確立し、切迫破裂の血管壁の性状を可視化・解析することを目的として、ラベルフリーラマン分光法による大動脈瘤破裂予測診断法の基盤を確立する。

【方 法】

①野生型マウスを用いて、OCT で迅速凍結した大動脈から 20 ミクロンの切片を作成した。レーザー光 (532 nm) を備えた共焦点ラマン顕微鏡を用いて、指紋領域 ($400\text{--}1800\text{ cm}^{-1}$) のスペクトルを測定し、ラマン分光法によるイメージングとスペクトル解析を行い、大動脈壁の各構成成分 (弾性線維、膠原線維、核酸と細胞、プロテオグリカンなど) を可視化した。

②胸部大動脈瘤マウスモデル (Fbln4SMKO) を用いて、①で決定した野生型マウスのレファレンススペクトルを用いて、大動脈瘤の可視化を行った。膠原線維に着目して多変量解析 (Multivariate Curve Resolution) を行い、大動脈瘤に特異的なスペクトルを同定した。次に、マルファン症候群のモデルマウス (Fbn1mgR/mgR, F. Ramirez 博士より供与) を用いて、生後 50 日からアンギオテンシン II (AngII) を持続投与して、急性大動脈破裂を誘導する条件を検討した。

【結 果】

図 1(a) に示すように、野生型マウスの大動脈壁からラマンイメージを作成した。次に、野生型と Fbln4SMKO で異なるスペクトル、すなわち、野生型と比べて瘤で特異的に増加を示す膠原線維に着目し、MCR によりスペクトル成分分解を行い、上行大動脈瘤に特異的な膠原線維のマーカースペクトル成分を決定した。図 1b には膠原線維の大動脈瘤特異的ラマンスペクトルを示す。Fbn1mgR/mgR を用いた急性大動脈破裂を誘導する条件として、AngII (300 ng/kgBW) 持続投与 7 日で 90% のマウスが大動脈破裂を起こすことを見出した。

【考 察】

ラマン分光法では、標本の固定や染色を必要としないため、広範囲および高解像のラベルフリーイメージングが可能である。今回は、野生型大動脈の凍結切片を用いて、弾性線維、膠原線維、脂肪、アグリカン、バーシカン、細胞成分の可視化を行うと同時に、野生型と大動脈瘤 (慢性型) のラマンイメージングにより、瘤に特異的なスペクトル成分を検出することができ

た (Sugiyama K. et al, *Cell Report Medicine* リビジョン中)。これは、大動脈壁の分子変化をとらえる糸口になることを意味している。今後、Fbn1mgR/mgR マウスを用いて急性大動脈破裂の直前状態、すなわち切迫破裂に特有なスペクトルを同定することで、破裂に対する普遍的な分子予測が可能になることが期待される。

【臨床的意義・臨床への貢献度】

我々の実験系では、大動脈の凍結切片を用いた解析法をとった。臨床診断としてラマン分光イメージングとスペクトル解析を実用化するためには、ラマン顕微鏡を搭載した経皮血管内診断法の開発につなげることが必要である。将来的にこの点を改善し、大動脈破裂を予測することが可能となると、予防医学的あるいは社会的意義が高まると考えられる。

【参考・引用文献】

K. Sugiyama†, J. Marzi†, E. M. Brauchle, M. Ando, Y. Yamashiro, B. Ramkhelawon, K. Schenke-Layland*, H. Yanagisawa*: Raman Microspectroscopy and Imaging Reveal Novel Biomarkers Specific for Thoracic Aortic Aneurysms, SSRN Sneak Preview.

