

《原 著》

¹¹¹In-標識抗ミオシンモノクローナル抗体-F ab

イメージングの臨床応用 (第2報)

——心筋梗塞・心筋炎の画像診断——

松森 昭* 山田 武彦* 玉木 長良** 岡田幾太郎*
 富永 真琴* 河合 忠一* 渡辺 祐司** 米倉 義晴**
 遠藤 啓吾** 小西 淳二** 吉田 章*** 田巻 俊一****

要旨 心筋細胞壊死巣描出を目的として、¹¹¹In-標識抗ミオシンモノクローナル抗体-F ab による心筋シンチグラフィの臨床応用を検討した。心筋梗塞 35 例では梗塞部位に一致して陽性像がみられ発症 16 日以内では、27 例中 26 例 (96%) で陽性像が得られたがそのうち大部分では血清酵素値はすでに正常化していた。発症 1～9 か月後にも陽性像が認められたが梗塞巣の大きいものや、左室壁運動異常のみられるものが陽性を呈する傾向にあった。心筋生検にて急性心筋炎と確定した 2 例では発症 2 週間後で血清酵素値は正常化し急性炎症反応の消退した時期にびまん性の取り込みを認めた。¹¹¹In-抗ミオシンモノクローナル抗体によるシンチグラフィは心筋梗塞、心筋炎の急性期のみならず亜急性期における非侵襲的診断法としてきわめて有望な検査法であると考えられる。

I. はじめに

正常の心筋細胞は、血中の抗ミオシン抗体と結合できないが心筋細胞が障害されると細胞膜が崩壊し、抗ミオシン抗体が心筋内ミオシンと結合できるようになる。そこで、抗ミオシン抗体を放射性同位元素で標識し心筋細胞の壊死の局在や定量化が試みられてきた^{1,2)}。

従来はウサギに免疫したポリクローナル抗体を用いて研究が行われてきたが、均質の抗体を大量に無菌的に得ることは困難であった。その後ハイブリドーマによる抗ミオシンモノクローナル抗体

が作製され³⁾、これらの問題点が解決した。近年、この抗ミオシンモノクローナル抗体を用いた画像診断の臨床応用が試みられ心筋梗塞^{4,5)}や心筋炎^{5,6)}の診断に有用であることが示唆されているが、発症後の経過との関連については検討されていない。本報告では、¹¹¹In-標識抗ミオシンモノクローナル抗体-F ab (以下¹¹¹In-抗ミオシン抗体と略す)を用い、急性心筋梗塞、急性心筋炎の画像診断とくに発症時期と陽性像の時間的關係について検討した。

II. 対象と方法

対象：心筋梗塞 35 例、心筋炎 5 例、狭心症 3 例を対象とした。

病院内治験委員会の定めたところに基づき、被験者にはあらかじめ検査の内容について口頭で説明をし、文書にて同意を得た。

急性心筋梗塞の診断は 30 分以上持続する前胸部痛、心電図上の ST 上昇、Q 波の出現およびその後の経過、クレアチンキナーゼ (CPK) の上昇な

* 京都大学医学部第三内科学教室

** 同 核医学教室

*** 三菱京都病院

**** 武田病院

受付：元年 2 月 8 日

最終稿受付：元年 4 月 24 日

別刷請求先：京都市左京区聖護院川原町 54 (☎ 606)

京都大学医学部附属病院第三内科

松 森 昭

どによって診断し、心臓カテーテル検査・心血管造影・冠動脈造影検査にて確認した。心筋梗塞の部位は、心電図所見に基づき、前壁、下壁および側壁に分類した。

狭心症 3 例ではいずれも血清酵素値の上昇を認めなかった。

心筋炎 5 例のうち 4 例では左・右心内膜心筋生検を実施し、2 例では病理組織学的に心筋細胞の壊死・小円形細胞浸潤を認め急性心筋炎の診断が確定した。2 例では、心筋生検にて心筋の線維化を認め心筋炎治癒期の所見と一致した。他の 1 例は、発熱を伴う感冒様症状を発症し CPK, GOT, LDH の上昇、心電図上非特異的 ST-T 変化を認めうっ血性心不全を呈したが、その発症および経過より急性心筋炎が強く疑われた。

標識モノクローナル抗体：抗ミオシンモノクローナル抗体は既報の抗体 R11D10 (Centocor 社) で、R11D10 をパパインで処理し、Fab 分画とした後、DTPA (diethylene triamine pentaacetic acid) とアミド結合させ、最後に ^{111}In とキレートさせ標識したものをを用いた (第一ラジオアイソトープ研究所提供)。

皮内テストおよび ^{111}In -抗ミオシン抗体投与方法：未標識 DTPA-抗ミオシンモノクローナル抗体-Fab で皮内テストを行い、15 分後皮内テストの判定を行い陰性を確認した後、 ^{111}In -抗ミオシン抗体 2 mCi (2 ml) を約 30~60 秒かけ静注した。投与前後で自覚症状の有無を確認し、体温、血圧、脈拍、呼吸数を測定した。

シンチグラフィ： ^{111}In -抗ミオシン抗体静注後、48 時間後に心臓領域の前後像、左前斜位 45 度、70 度、左側面の 4 方向を 7 分ずつ撮像した。また一部の症例には投与 24 時間後 (4 例)、72 時間後 (2 例) にも撮像を行った。これらの二次元像で陽性または偽陽性の例には、すべて回転型ガンマカメラによるエミッション CT (SPECT) を施行した。

用いた装置は日立製 Gamma View 150DT で中エネルギー用コリメータを装着し、エネルギーは 173 keV と 247 keV それぞれ $\pm 10\%$ を弁別して

収集し、データ処理装置 Harp II に収納した。なお SPECT は同装置を用いて、30 秒ずつ 64 方向 360 度よりデータ収集した。SPECT 収集データより 8 mm/スライスの体軸横断層像を再構成

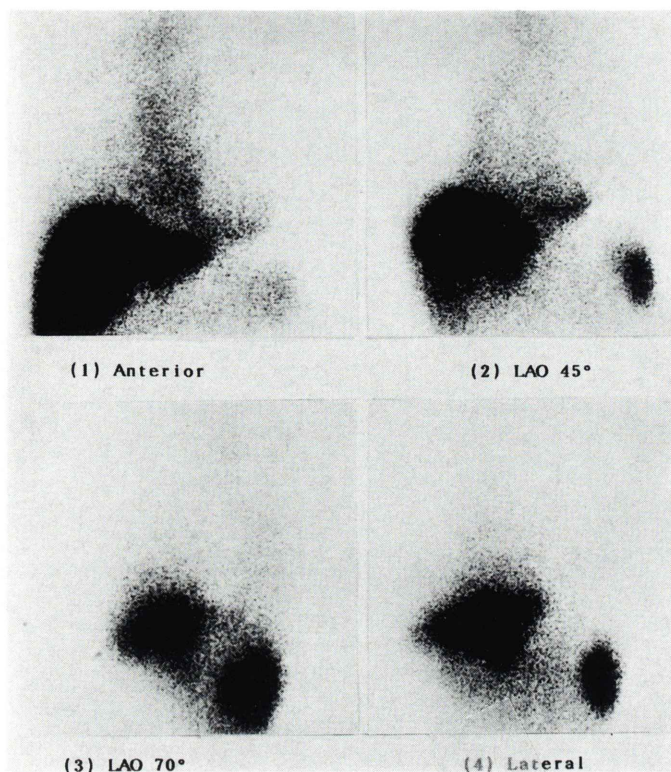
Table 1 Characteristics of 35 patients with myocardial infarction

Patient No.	Age (yr)	Sex	ECG location	Onset-iv	^{111}In -antimyosin
1	49	M	Lat	1 D	+
2	55	F	Ant	2 D	+
3	52	M	Inf	3 D	+
4	56	M	Ant	3 D	+
5	60	M	Ant	4 D	+
6	58	M	Inf	4 D	+
7	31	M	Ant	4 D	—
8	68	M	Ant	4 D	+
9	60	M	Inf	5 D	+
10	61	M	Inf	6 D	+
11	47	M	Inf	7 D	+
12	64	M	Ant	7 D	+
13*	71	F	Inf	7 D	+
			Ant	1.5 Y	—
14	67	M	Inf	7 D	+
15	56	M	Ant	7 D	+
16	80	F	Lat	7 D	+
17	36	M	Ant	8 D	+
18	62	M	Ant	8 D	+
19	71	M	Ant	9 D	+
20	55	M	Inf	9 D	+
21	59	M	Inf	10 D	+
22	63	M	Ant	10 D	+
23	63	M	Inf	11 D	+
24	65	M	Lat	11 D	+
25	70	M	Lat	12 D	+
26	72	M	Inf	12 D	+
27	74	M	Ant	16 D	+
28*	55	M	Inf	1 M	+
			Ant	8.5 Y	—
29	60	M	Ant	1 M	—
30	81	F	Ant	6 W	+
31	51	M	Ant	2 M	+
32	43	M	Ant	2 M	—
33*	51	M	Lat	4 M	+
			Ant	8 M	—
34	59	M	Ant	9 M	+
35	73	F	Inf	2.5 Y	—

D: days M: months W: weeks

Ant: Anterior Inf: Inferior Lat: Lateral

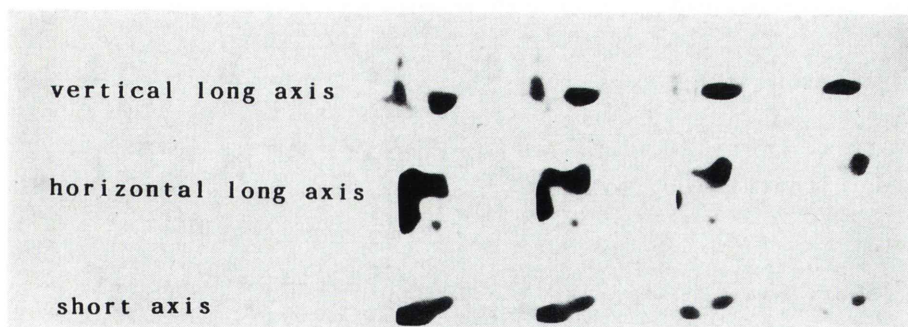
*Recurrent myocardial infarction



T.F. 61 M. AMI (Inf)

Fig. 1A Myocardial images in anterior, left anterior oblique (LAO), and lateral projections at 48 hours after injection of ^{111}In -Antimyosin in a patient with inferior wall myocardial infarction (Case No. 10). Positive image is seen in the inferior wall.

AM-SPECT



T.F. AMI (Inf)

Fig. 1B A series of vertical (top) and horizontal (middle) long-axis slices and short-axis slices (bottom) in the same patient as shown in Fig. 1A. Note discrete myocardial uptake in the inferior region in these tomographic images.

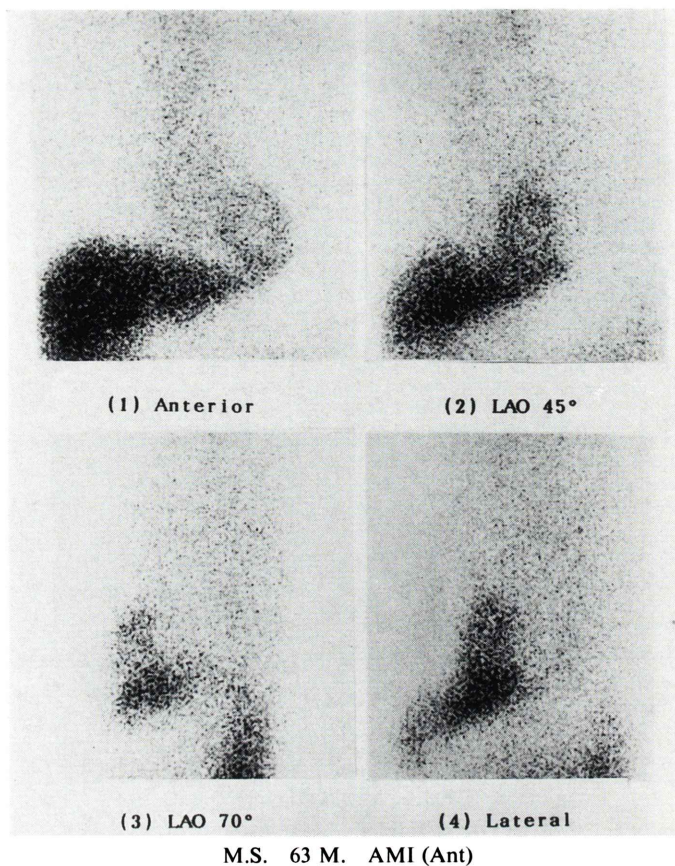


Fig. 2A Myocardial images in anterior and left anterior oblique (LAO) and lateral projections in a patient with anterior wall myocardial infarction (case No. 22). Positive image is seen in the anterior wall.

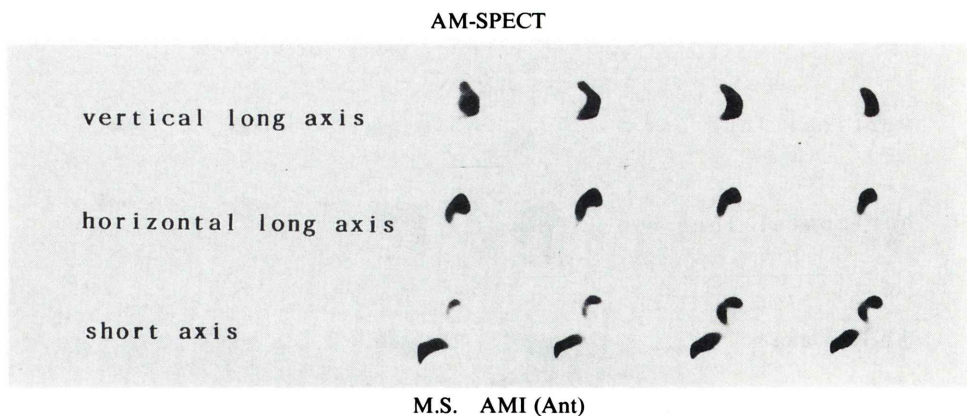


Fig. 2B A series of vertical (top) and horizontal (middle) long-axis slices and short-axis slices (bottom) in the same patient as shown in Fig. 2A. Note discrete myocardial uptake in the anterior region in these tomographic images.

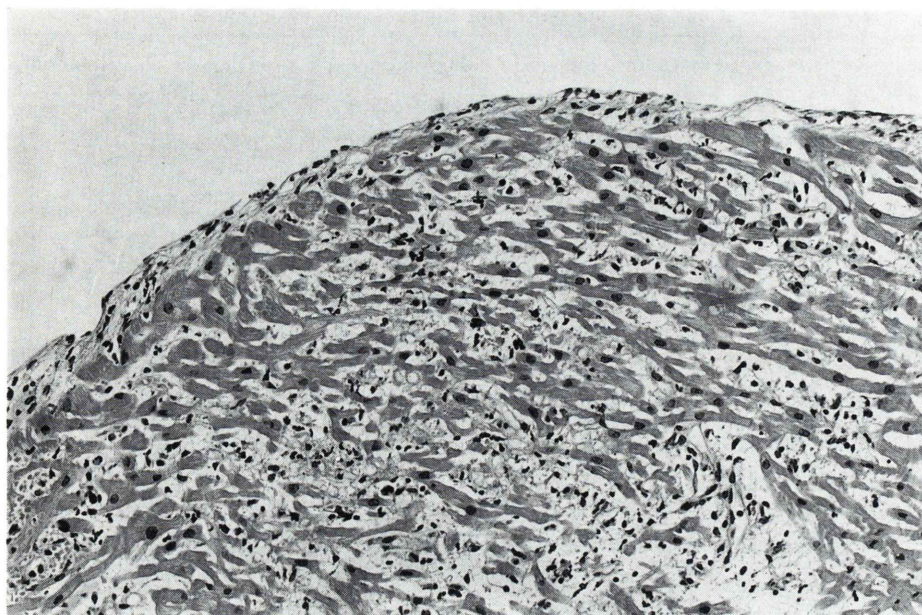


Fig. 3 Light microscopy of right ventricular endomyocardial biopsy specimen, taken four days after the onset of acute myocarditis in a 33-year-old male patient. Mononuclear cell infiltration and necrosis of myocytes are prominent. Hematoxylin and eosin stain $\times 180$.

した後、心臓の長軸に沿った短軸断層像、長軸断層像を作成した。

心臓の画像については、4方向の二次元像と SPECT 像を二人の医師が読影し、心筋に局限した集積のあるものを陽性とし、合議のうえで判定した。

III. 結 果

¹¹¹In-抗ミオシン抗体投与 24 時間後では心プール像のため心筋の取り込みは明らかでなく、48 時間後では心筋の取り込みが明らかとなった。一部の症例では 48 時間後でも心プール像がみられたため 72 時間後に撮影を行った。二次元像で偽陽性ないし陽性を呈した例については、SPECT 像を撮影した。

心筋梗塞における ¹¹¹In-抗ミオシン抗体によるシンチグラフィ：心筋梗塞による臨床所見、抗ミオシン抗体イメージングの結果を Table 1 に示す。前壁梗塞 17 例、下壁梗塞 11 例、側壁梗塞 4 例で

あり、再発例 3 例は下壁梗塞＋陳旧性前壁梗塞 2 例、側壁梗塞＋陳旧性前壁梗塞 1 例であった。

二次元像では、発症 16 日以内では 27 例中 26 例 (96%) で陽性像が得られ、陰性例は、PTCA にて早期に冠動脈再疎通をみたもの (症例 No. 7) であった。

発症後 16 日以内の前壁梗塞では 12 例中 11 例 (92%)、下壁梗塞では 11 例中 11 例 (100%)、側壁梗塞では 4 例中 4 例 (100%) で陽性であり抗ミオシンイメージの陽性像の部位は心電図、冠動脈造影所見と一致した。発症 16 日以内の陽性例のうち 14 例 (54%) では、CPK, GOT, LDH など血清酵素値はすでに正常化していた。1～2 か月後でも 5 例中 3 例 (60%) で陽性であり、陽性例では梗塞巣が大きい傾向にあり壁運動異常がみられた。また、発症 9 か月後にも陽性像を呈する例があった。

Figures 1 および 2 に、症例 No. 10 および 22 の二次元像および SPECT 像を示す。

Table 2 Characteristics of 5 patients with myocarditis

Patient	Age (yr)	Sex	Clinical presentation	Biopsy results	Onset-iv	¹¹¹ In-antimyosin
1	33	M	3° AV block	acute myocarditis	14 D	+
2	63	M	3° AV block	acute myocarditis	14 D	+
3	61	F	T wave inversion	not done	1 M	+
4	60	F	pacemaker, CHF	healed myocarditis	unknown	—
5	50	M	CHF	healed myocarditis	1.5 Y	—

CHF: congestive heart failure

急性心筋炎における ¹¹¹In-抗ミオシン抗体によるシンチグラフィ：急性心筋炎 2 例は心筋生検にて診断が確定した (Fig. 3).

Table 2 に臨床所見，シンチグラフィの結果を示す。発症後 1 か月以内の 3 例で ¹¹¹In-抗ミオシン抗体でびまん性の陽性像が得られた (Fig. 4) が，3 例ともシンチグラフィ実施時には，血清酵素値は正常化し，急性炎症反応は消退していた。心筋生検にて心筋の線維化を認め治癒期の心筋炎と考えられた 2 例では陰性であった。

狭心症における ¹¹¹In-抗ミオシン抗体におけるシンチグラフィ：狭心症 3 例では陽性所見を呈するものはなかった。

皮内テスト：皮内テストは全例で陰性で ¹¹¹In-抗ミオシン抗体投与によると考えられる副作用はみられなかった。

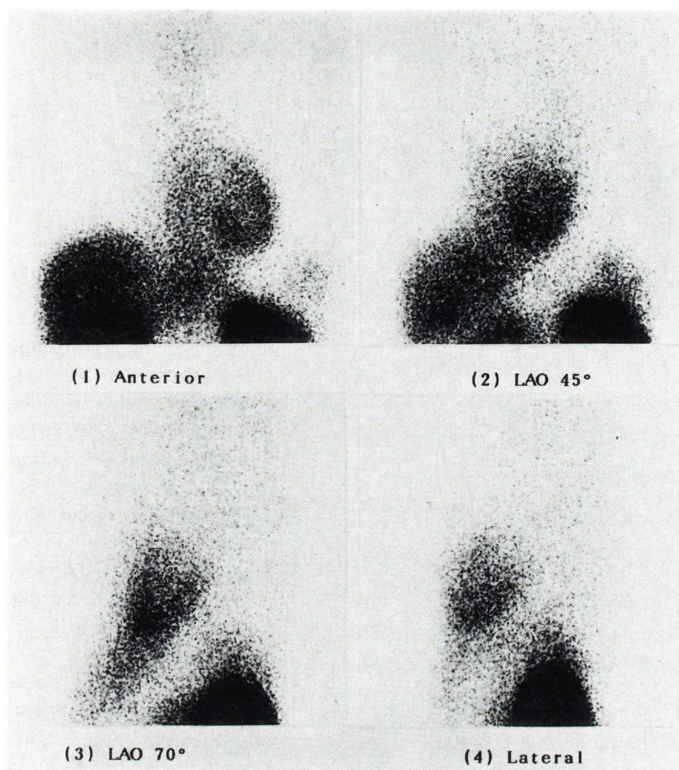
IV. 考 察

Willerson ら^{8,9)} は，心筋梗塞壊死巣に ^{99m}Tc-ピロリン酸の集積することを報告したが，その後，ピロリン酸は壊死巣以外の可逆的变化を受けた心筋にも取り込まれることが明らかとなり，心筋梗塞巣が過大に評価されることが解った¹⁰⁻¹²⁾。一方，Khaw らは抗ミオシン抗体は壊死心筋に特異的に結合することを報告した^{13,14)}。¹¹¹In-抗ミオシン抗体と ^{99m}Tc-ピロリン酸との同時投与によるイヌにおける心筋梗塞の実験的研究では¹⁵⁾，抗ミオシン抗体による梗塞サイズでは病理所見とよく一致したのに対し，ピロリン酸による評価では約 1.4 倍の大きさを呈した。最近，同研究グループにより ^{99m}Tc で標識したポリクローナルおよびモノクロ

ーナル抗体 (F ab) を用いて急性心筋梗塞の画像診断が試みられている。発症 16-24 時間以内の心筋梗塞において 30 例中 27 例 (90%) が陽性であり，左室造影における収縮異常範囲とよく相関した⁴⁾。^{99m}Tc-ピロリン酸も同様の相関を示したが，SPECT では ^{99m}Tc-ピロリン酸の梗塞サイズは抗ミオシン抗体の 1.7 倍を示し，ピロリン酸は壊死巣以外の可逆性変化の部位でも取り込まれていることが示唆された¹⁵⁾。また，タリウム心筋シンチグラフィでは心筋壊死部のみならず，心筋虚血部も欠損像を呈するが，抗ミオシン抗体では壊死心筋に特異的に集積する点に特徴がある。

本研究では，急性心筋梗塞の経過とイメージとの関連について検討した結果，¹¹¹In-抗ミオシン抗体イメージングは急性心筋梗塞発症 16 日以内では，27 例中 26 例 (96%) で陽性を呈し，このうち 14 例 (54%) では CPK, GOT, LDH などの酵素値は正常化した後でも陽性であり，心筋梗塞の急性期のみならず亜急性期の診断にも有用であることが示唆された。心筋梗塞の再発例や，非貫壁性梗塞では，心電図所見は非定型的で心電図診断の困難なことがしばしばあるが，¹¹¹In-抗ミオシン抗体イメージングは，このような症例において有用であると考えられる。

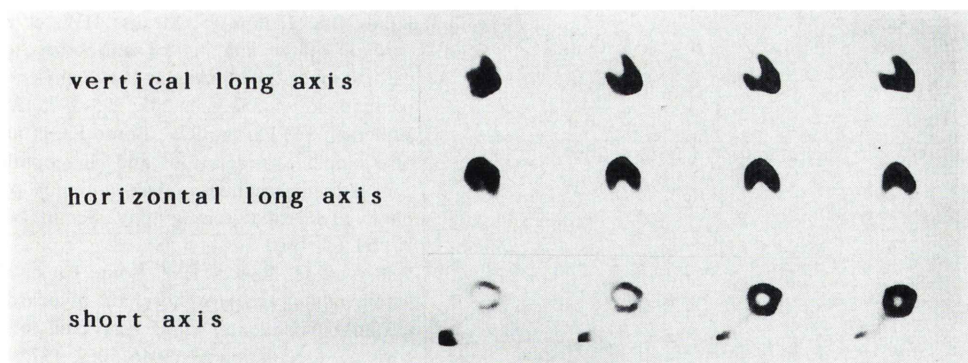
陽性像は 9 か月後までみられ，心室瘤を示した例など左室壁運動の異常のみられた例でみられる傾向にあった。亜急性～慢性期における取り込みの機構については今後検討する必要がある。¹¹¹In-抗ミオシン抗体は肝臓・腎臓での取り込みが高く¹⁶⁾，とくに肝臓での取り込みは下壁梗塞の診断上問題となることがある。



H.T. 33 M. Myocarditis

Fig. 4A Myocardial images in anterior and left anterior oblique (LAO) and lateral projections in a patient with acute myocarditis. Diffuse positive image is seen in the left ventricle.

AM-SPECT



H.T. Myocarditis

Fig. 4B A series of vertical (top) and horizontal (middle) long-axis slices and short-axis slices (bottom) in the same patient as shown in Fig. 4A. Note diffuse myocardial uptake in the left ventricle in these tomographic images.

一方、 ^{111}In -抗ミオシン抗体による心筋炎のイメージングが試みられている⁶⁾。Yasuda らは、右室生検で心筋炎の確定した9例全例で陽性を呈し、一方心筋生検で心筋炎の所見のみられなかった11例全例で陰性であったと報告している。8例では抗ミオシンイメージングで陽性であったが、心筋生検では心筋炎の所見はみられなかった。以上のように生検診断からみれば、有病正診率は100%であった。

しかしながら、心筋炎発症の時期との関係については検討されていない。われわれは抗ミオシンモノクローナル抗体 R11D10 を用い、マウスにおけるウイルス性心筋炎実験モデル¹⁷⁾において、 ^{125}I および ^{131}I -標識抗ミオシン抗体の心臓への取り込みを検討した。ウイルス性心筋炎マウスにおいて ^{125}I -標識抗ミオシン抗体は、組織学的に心筋の変性がみられ始める早期から有意な取り込みがみられ、心筋壊死、細胞浸潤が最も著明となる時期に一致して最高値に達し、細胞浸潤が減少し、線維化の明らかとなる亜急性期に至るまで取り込みがみられた。また急性期において、 ^{131}I -標識抗ミオシン抗体による心筋への取り込みの画像化に成功した¹⁸⁾。本研究での ^{111}In -抗ミオシン抗体によるイメージングでは心筋生検にて明らかな急性心筋炎においてびまん性の著明な取り込みがみられ、血清酵素値が正常化し、炎症反応の消退した2ないし4週後において陽性を呈したが、1年後の慢性期の症例では陰性であった。急性心筋炎の臨床像は非特異的でその診断はしばしば困難であるが、 ^{111}In -抗ミオシン抗体によるシンチグラフィは急性期を過ぎた時期においても陽性を呈することは心筋炎の診断にきわめて有用であると考えられる。

以上のごとく、 ^{111}In -抗ミオシン抗体によるシンチグラフィは、心筋梗塞、心筋炎の急性期のみならず亜急性期における非侵襲的診断法としてきわめて有望な検査法であると考えられる。

本抗体は、マウス由来の細胞から作られたマウスの免疫グロブリン(IgG)であり、免疫原性の少ないと考えられている Fab ではあるが、ヒトに

おいて抗マウス抗体産生をきたす可能性は否定できない。したがって、繰り返し投与に関しては血清中の抗マウス抗体の出現の有無を検討することが必要である。今後、ヒト由来の細胞によるハイブリドーマ作製が成功すればこの問題は解決するであろう。

文 献

- 1) Khaw BA, Beller GA, Haber E: Experimental myocardial infarct imaging following intravenous administration of iodine-131 labeled antibody (Fab')₂ fragments specific for cardiac myosin. *Circulation* **57**: 743-750, 1978
- 2) Khaw BA, Scott J, Fallon JT, et al: Myocardial injury: quantitation by cell sorting initiated with antimyosin fluorescent spheres. *Science* **217**: 1050-1053, 1982
- 3) Khaw BA, Mattis JA, Melincoff G, et al: Monoclonal antibody to cardiac myosin: Imaging of experimental myocardial infarction. *Hybridoma* **3**: 11-23, 1984
- 4) Khaw BA, Gold HK, Yasuda T, et al: Scintigraphic quantification of myocardial necrosis in patients after intravenous injection of myosin-specific antibody. *Circulation* **74**: 501-508, 1986
- 5) 松森 昭, 山田武彦, 岡田幾太郎, 他: ^{111}In -標識抗ミオシンモノクローナル抗体による心筋シンチグラフィの臨床応用. *医学のあゆみ* **148**: 277-278, 1989
- 6) Yasuda T, Palacios IF, Dec GW, et al: Indium 111-monoclonal antimyosin antibody imaging in the diagnosis of acute myocarditis. *Circulation* **76**: 306-311, 1987
- 7) Khaw BA, Fallon JT, Strauss HW, et al: Myocardial infarct imaging of antibodies to canine cardiac myosin with indium-111-diethylenetriamine pentaacetic acid. *Science* **209**: 295-297, 1980
- 8) Willerson JT, Parkey RW, Bonte FJ, et al: Pathophysiologic considerations and clinicopathological correlates of technetium-99m stannous pyrophosphate myocardial scintigraphy. *Semin Nucl Med* **10**: 54-69, 1980
- 9) Willerson JT, Parkey RW, Bonte FJ, et al: Technetium stannous pyrophosphate myocardial scintigrams in patients with chest pain of varying etiology. *Circulation* **51**: 1046-1052, 1975
- 10) Bianco JA, Kemper AJ, Taylor A, et al: Technetium-99m (Sn²⁺) pyrophosphate in ischemic and infarcted dog myocardium in the early stages of acute coronary occlusion: histochemical and tissue-counting comparisons. *J Nucl Med* **24**: 485-491, 1983

- 11) Zaret BL, Dicola VC, Donabedian RK, et al: Dual radionuclide study of myocardial infarction. Relationships between myocardial uptake of potassium-43, technetium-99m stannous pyrophosphate, regional myocardial blood flow and creatine phosphokinase depletion. *Circulation* **53**: 422-428, 1976
- 12) Siemers PT, Higgins CB, Schmidt W, et al: Detection, quantitation and contrast enhancement of myocardial infarction utilizing computerized axial tomography: comparison with histochemical staining and Tc-99m pyrophosphate imaging. *Invest Radiology* **13**: 103-109, 1978
- 13) Khaw BA, Gold HK, Leinbach RC, et al: Early imaging of experimental myocardial infarction by intracoronary administration of ¹³¹I-labeled anti-cardiac myosin (F ab')₂ fragments. *Circulation* **58**: 1137-1142, 1978
- 14) Khaw BA, Fallon JT, Beller GA, et al: Specificity of localization of myosin-specific antibody fragments in experimental myocardial infarction: histologic, histochemical, autoradiographs and scintigraphic studies. *Circulation* **60**: 1527-1531, 1979
- 15) Khaw BA, Strauss W, Moore R, et al: Myocardial damage delineated by indium-111 antimyosin F ab and technetium-99m pyrophosphate. *J Nucl Med* **28**: 76-82, 1987
- 16) 玉木長良, 山田武彦, 松森 昭, 他: ¹¹¹In-標識抗ミオシンモノクローナル抗体-F ab イメージングの臨床応用 (第1報)——体内挙動と撮像時期の検討——. *核医学* **26**: 715-722, 1989
- 17) Matsumori A, Kawai C: An experimental model for congestive heart failure after encephalomyocarditis virus myocarditis in mice. *Circulation* **65**: 1230-1235, 1982
- 18) Matsumori A, Ohkusa T, Matoba Y, et al: Myocardial uptake of antimyosin monoclonal antibody in a murine model of viral myocarditis. *Circulation* **79**: 400-405, 1989

Summary

Clinical Trial of ¹¹¹In-Antimyosin Antibody Imaging: (2) Imaging of Myocardial Infarction and Myocarditis

Akira MATSUMORI*, Takehiko YAMADA*, Nagara TAMAKI**,
Ikutaro OKADA*, Makoto TOMINAGA*, Chuichi KAWAI*,
Yuji WATANABE**, Yoshiharu YONEKURA**, Keigo ENDO**,
Junji KONISHI**, Akira YOSHIDA*** and Shunichi TAMAKI****

*The Third Division, Department of Internal Medicine, **Department of Nuclear Medicine,
Faculty of Medicine, Kyoto University

***Mitsubishi Kyoto Hospital

****Takeda Hospital

A new scintigraphic method to detect myocardial necrosis has been developed using antimyosin monoclonal antibody F ab labeled with indium-111 (¹¹¹In-antimyosin). We investigated ¹¹¹In-antimyosin scintigraphy in 35 patients with myocardial infarction, 5 patients with myocarditis and 3 patients with angina pectoris.

¹¹¹In-antimyosin F ab was administered iv and antimyosin images were recorded by planar and single photon emission computed tomography (SPECT) 48-72 hrs after injection. Planar images showed discrete localization of ¹¹¹In-antimyosin in 26 of 27 patients within 16 days after the onset of acute myocardial infarction in 14 of whom creatine kinase, glutamic oxaloacetic transaminase and

lactic dehydrogenase had already normalized. In addition, positive scans were also obtained in 4 of 8 patients 1 to 9 months after the onset of the disease. Three patients with acute myocarditis (two of whom were biopsy-proven) had positive scans 2 and 4 weeks after the onset of the disease.

Although mechanism of persistent positive antimyosin images in the chronic stage remains to be clarified, ¹¹¹In-antimyosin scintigraphy holds potential promise as a noninvasive method for the detection of myocardial injury.

Key words: Antimyosin, Monoclonal antibody, Imaging, Myocarditis, Myocardial infarction,