

平成 30 年 6 月 19 日現在

機関番号：34318

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K10377

研究課題名(和文) 1H MRSI脳内酸化ストレス画像法による神経疾患の診断と予防法の確立

研究課題名(英文) Evaluation of Oxidative stress in the brain

研究代表者

樋口 敏宏 (Higuchi, Toshihiro)

明治国際医療大学・医学教育研究センター・教授

研究者番号：80218700

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：酸化ストレスが脳の加齢変化(エイジング)や認知症、多発性硬化症、パーキンソン病、統合失調症、躁鬱病、外傷性脳症などの多くの神経疾患の原因となっていることが明らかになっている。一方、抗酸化物質であるグルタチオンやビタミンCを非侵襲的に測定できる手法として1HMRSが注目されており、すでに脳内グルタチオン濃度が多くの神経疾患で低下していることが報告されてきている。本研究では臨床用MRI装置を用いて抗酸化物質の脳内分布画像測定法(Magnetic resonance spectroscopic imaging: MRSI)を開発することを目的とする。

研究成果の概要(英文)：Oxidative stress plays an important role in brain aging, neurodegenerative diseases, and other related adverse conditions, such as ischemia. On the other hand, antioxidants such as Glutathione (GSH) is critical for protecting the brain from oxidative stress. It is present in micromolar concentrations in bodily fluids and in millimolar concentrations in tissue. In this study, we will use magnetic resonance spectroscopic imaging to map antioxidants. Magnetic resonance spectroscopic imaging (MRSI) is a noninvasive imaging method and reveals a wealth of metabolic information.

研究分野：脳外科

キーワード：脳代謝 酸化ストレス

### 1. 研究開始当初の背景

神経疾患を対象とした脳内代謝物質の非侵襲的な測定法として1HMRSを用いた研究が行われ、すでに多くの知見が得られている。N-アセチルアスパラギン酸 (NAA) は神経細胞に特異的なアミノ酸であり脳梗塞や脳腫瘍などで神経細胞が脱落、減少する病態では低下する。また、脳腫瘍では膜リン脂質代謝の更新を反映してコリン (Cho) の増加や、解糖系が亢進するエネルギー代謝を反映して乳酸 (Lac) の増加が確認される。脳虚血急性期にはエネルギー代謝障害を反映して明瞭なLacの上昇が確認できる。臨床用に3テスラ高磁場MR装置が導入され、1HMRSの測定技術やデータ解析技術の進歩とともにさらに微量なグルタミン酸 (Glu)、グルタミン (Gln)、ミオイノシトール (mIns) についての解析も行われるようになり、さらに最近では複雑な測定法と解析法が必要となるGABAやグルタチオン (glutathione: GSH)、ビタミンC (Asc)、ドーパミンも測定可能となってきている。一方、生体内に発生する活性酸素による酸化ストレスはアテローム動脈硬化症、狭心症、心筋梗塞などの疾患や加齢変化(エイジング)の原因となる。特に酸化リン酸化による多くのエネルギー産生を必要とする脳は強い酸化ストレスにさらされる臓器であり、酸化ストレスが脳のエイジングや多くの神経疾患や精神疾患の原因となる。脳内にある酸化ストレスから細胞を守る働きをする物質としてビタミンE、グルタチオン (GSH)、ビタミンCなどが注目されている。

### 2. 研究の目的

酸化ストレスが脳の加齢変化(エイジング)や認知症、多発性硬化症、パーキンソン病、統合失調症、躁鬱病、外傷性脳症などの多くの神経疾患の原因となっていることが明らかになっている。一方、抗酸化物質であるグルタチオンとビタミンCを非侵襲的に測定できる手法として1HMRSが注目されており、すでに脳内グルタチオン濃度が多いの神経疾患で低下していることが報告されてきている。そこで本研究では臨床用MRI装置を用いた1HMRSによるグルタチオンとビタミンCの測定法を改良して脳内分布画像測定法(MRSI)を開発し、抗酸化物質のマッピングを可能にすることを目的とする。

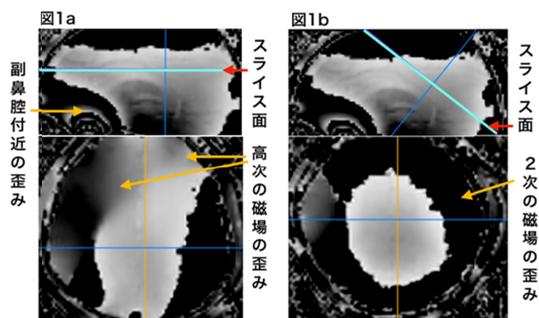
### 3. 研究の方法

測定には3T MRI装置(SIEMENS Trio: 明治国際医療大学)および7T MRI装置(SIEMENS: 自然科学研究機構生理学研究所)を用い、7cm single channel surface coil(7cm\_SC)および32ch matrix head coil(32ch)のコイルを使用した。

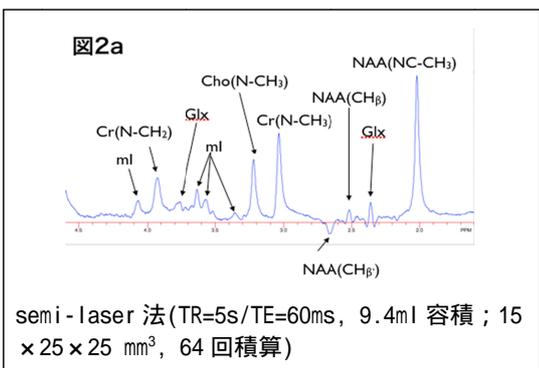
### 4. 研究成果

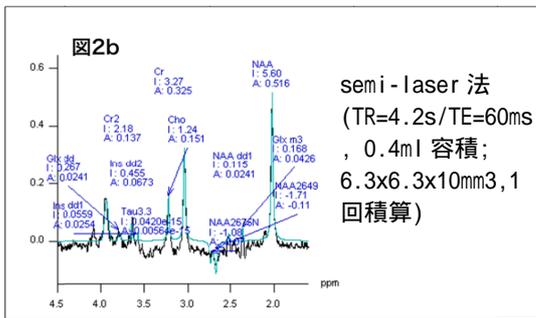
脳内酸化ストレスを抑制する抗酸化物質であるグルタチオンとアスコルビン酸の脳内計測について、これまでスペクトルの特定のピークを照射しエディティングすることで、他のピークから分離して計測する方法を用いてきた。物質の相対的な変化を知るため、ケミカルシフトイメージング(CSI)法へ拡張し、分布のマッピングを行った。ビタミンCなどは化学結合している原子団のケミカルシフトが近接しているため、3T-MRIを利用すると十分選択性のあるRFパルスを利用することができなかった。そこで本学に導入されている3T-MRIと比較すると高感度、高スペクトル分解能を持つ7T-MRI(生理学研究所)を利用してCSI法による信号の確認を行った。

7T-MRIは3T-MRIと比較すると生体内の上顎洞や副鼻腔の空気に含まれる酸素分子の持つ磁化の影響で脳内の磁場の歪みが大きい。脳内の磁場の歪みを調査するため、3D-MRIの周波数位相画像を計測した(図1a)。磁場の歪みが1次関数の断面であれば、室温シムを利用して磁場の傾斜を補正することができるが分かっており、頭頂葉から後頭葉にかけて傾斜面が主に1次の勾配を持つことが分かった(図1b)。

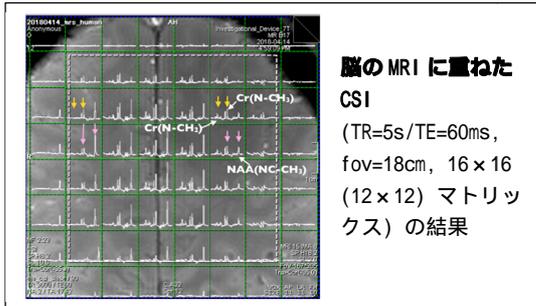


1次の勾配を持つ断面に関心領域を設定して計測を試みた。その結果、ROI内の各ボクセル内から分解能の良いMRSが得られた。計測には共同研究を行っているミネソタ大学が開発した測定シーケンスを用いた。同じシーケンスを用いて容積9.4mlで64回積算して得られたMRS(図2a)と、今回のCSIで得られたMRS(図2b; 0.4mlで1回積算)を比較しても同等のピークが検出されていることが分かった。また、グルタチオンやアスコルビン酸の分離検出にはLCModelなどの専用解析ソフトウェアを用いることが必要であった。





semi-laser 法  
(TR=4.2s/TE=60ms  
, 0.4ml 容積;  
6.3x6.3x10mm<sup>3</sup>, 1  
回積算)



脳の MRI に重ねた  
CSI  
(TR=5s/TE=60ms,  
fov=18cm, 16 x 16  
(12 x 12) マトリック  
ス) の結果

単一領域の選択によるスピン結合を用いたエディティング法を利用することで、グルタチオンやアスコルビン酸の計測が実現できることがわかった。7T では MRS で計測される N-アセチルアスパラギン酸 (2.0ppm) やコリン化合物 (3.2ppm)、グルタチオン (2.95ppm) やアスコルビン酸 (3.73ppm) などのケミカルシフトの周波数差が広がり、例えば N-アセチルアスパラギン酸とアスコルビン酸の周波数差は 520Hz 程度となる。このため単一選択法ではこの周波数差に関連して計測領域にずれが生じる。そこで、ケミカルシフトの領域ずれが小さいケミカルシフト画像 (chemical shift imaging) 法を利用した計測を試みた。3T では静磁場に垂直な断面のケミカルシフト画像を得ることができたが、7T は同様のスライスを選択したところ、副鼻腔などの空気の影響で磁場の均一性が調整できず、信号を得ることができたのは、わずか 20mm 四方の領域からのみであった。このため、3D の位相画像を計測して磁場の勾配を表す位相変化が一次関数に近い領域を探し、頭頂葉から後頭葉にかけて斜めの断面で磁場調整が可能であることを見いだした。この断面の 50mm 四方平面のケミカルシフト画像を計測したところ、面内の良好なスペクトルを得ることができた。

3T や 7T などの高磁場の場合、ケミカルシフトが多くなり、磁場勾配をかけて ROI を選択する場合に ROI を規定する傾斜磁場とケミカルシフトが重なり、ピークにより位置ずれが生じることが分かっている。この領域ずれを小さくするために開発されたシーケンスが laser 法であるが、それでも 7T では NAA (2ppm) とコリン化合物のピーク (3.2ppm) の間に 6mm 程度の空間の位置ずれが生じていた。従って単一領域を選択する方法で狭い領域を選択することは解析上のエラーを含む

ことになる。CSI 法では X-Y 平面についてこのスペクトル方向の位置ずれが生じないことが分かっている。CSI 法を利用した代謝マップを計測した MRS からグルタチオンやアスコルビン酸などの化合物を分離計測することで酸化ストレスに対する代謝物の消費・予備能などを検討することが可能となる。

## 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[学会発表](計 12 件)

T. Murase, M. Umeda, T. Higuchi: Study on antioxidant measurement in human brain using MRS. The Society for Neuroscience, 米国, 2017 年 11 月.

村瀬智一, 梅田雅宏, 樋口敏宏: 触れることの客観化 - 触れることの脳科学 - . 全日本鍼灸学会 シンポジウム, 東京, 2017 年 6 月

Kanaya S, Yamamoto H, Yamashiro H, Murase T, Umeda M, Higuchi T, Saiki J: Neural substrate of the correspondence between abstract auditory and visual information: an investigation through cross-modal multivariate pattern analysis Neuroscience, San Diego, USA, 2016.11

Sayaka Kanbayashi, Yasuharu Watanabe, Toshihiro Higuchi: fMRI を用いた小児鍼刺激による脳活動の変化の検討. International Conference of World Federation of Acupuncture-Moxibustion Societies Tokyo/Tsukuba 2016, Tsukuba, 2016.11

村瀬智一, 梅田雅宏, 河合裕子, 萬代綾子, 樋口敏宏: Examination of the glutathione measurement in the human brain (ヒト脳内におけるグルタチオン測定)の検討). 第44回日本磁気共鳴医学会大会, 大宮, 2016.9

上林紗也果, 梅田雅宏, 渡邊康晴, 河合裕子, 村瀬智一, 萬代綾子, 樋口敏

宏: fMRI study of clinical "shonishin" stimulation (小児鍼刺激による脳活動の変化の検討). 第44回日本磁気共鳴医学会大会, 大宮, 2016.9

村瀬 智一、山城 博幸、山本 洋紀、梅田 雅宏、河合 裕子、萬代 綾子、樋口 敏

宏: MEGA-PRESS 法による GABA+ を指標とした fMRS 測定の検討. 日本磁気共鳴医学会大会, 東京, 平成 27 年 9 月

梅田 雅宏、村瀬 智一、安田 幸二、渡邊 康晴、河合 裕子、萬代 綾子、樋口 敏

宏: 1H-CSI における LCModel 解析データを用いた代謝画像表示ソフトの試作. 日本磁気共鳴医学会大会, 東京, 平成 27 年 9 月

村瀬 智一、梅田 雅宏、河合 裕子、渡邊 康晴、萬代 綾子、田中 忠蔵、樋口 敏

宏: 手掌部・手背部への擦過刺激に伴う脳活動の検討. 日本磁気共鳴医学会大会, 東京, 平成 27 年 9 月

梅田 雅宏、村瀬 智一、丸山 克也、川口 浩和、樋口 敏宏: ヒト脳内の GABA 測定条件の最適化. 日本医学物理学会, 北海道, 平成 27 年 9 月

Murase T, Umeda M, Fukunaga M, Maruyama K, Kawai Y, Watanabe Y, Tanaka C, Highchi T: Validation of the Temporal Signal Change Caused by Acupuncture Stimulation with Multi-Band Acquisition. International Society for Magnetic Resonance in Medicine, 3034. 平成 26 年 5 月.

村瀬智一、梅田雅宏、渡邊康晴、樋口敏  
宏: ヒト脳内のGABA測定条件に関する検討. 臨床MR脳機能研究会, 東京, 平成27年3月

## 6. 研究組織

### (1)研究代表者

樋口 敏宏 (HIGUCHI Toshihiro)  
明治国際医療大学・医学教育研究センタ

### 一・教授

研究者番号: 80218700

### (2)研究分担者

梅田 雅宏 (UMEDA Masahiro)  
明治国際医療大学・医学教育研究センタ  
一・教授

研究者番号: 60223608

田中 忠蔵 (TANAKA Chuzo)  
明治国際医療大学・医学教育研究センタ  
一・名誉教授

研究者番号: 80163541

渡邊 康晴 (WATANABE Yasuharu)  
明治国際医療大学・医学教育研究センタ  
一・講師

研究者番号: 90454537

河合 裕子 (KAWAI Yuko)  
明治国際医療大学・医学教育研究センタ  
一・助教

研究者番号: 90555616

村瀬 智一 (MURASE Tomokazu)  
明治国際医療大学・医学教育研究センタ  
一・客員助教

研究者番号: 00708943

### (3)研究協力者

福永 雅喜 (FUKUNAGA Masaki)