

令和元年6月9日現在

機関番号：33916

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K01441

研究課題名(和文) 金属元素特異的微小画像解析法によるGdキレート造影剤の脳内局所蓄積機序の解明

研究課題名(英文) Metal element specific identification of deposited gadolinium in rat brain structure using an electron probe micro analyzer

研究代表者

山田 雅之 (YAMADA, MASAYUKI)

藤田医科大学・保健学研究科・教授

研究者番号：40383773

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：近年、造影MRI検査を目的に直鎖型キレートGd造影剤(以下、LGBCA)を頻回投与された被検者の脳組織中にGdの残存沈着が指摘され、動物実験研究でも実証されている。一方、その詳細な機序や脳組織におけるGdの化合状態については未だ十分に解明されていない。本研究では、実験動物として広く利用されているWistarラットを対象にLGBCA頻回投与によるGd脳内残存蓄積モデルを作成し、対象ラット脳の経時的MRIとその脳組織について電子線マイクロアナライザ(EPMA)による元素特異的微小画像解析を行い、Gdの脳沈着を確認した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

Wistar/STラットに再現されたGd脳内残存沈着は、LGBCAの頻回投与との関連性が強く示唆された。また、EPMAによる元素特異的微小画像解析の結果から、GdはCaやPと何らかの化合状態にあると推測された。EPMAを利用した本研究結果は、Gdに固有の特性X線波長に基づく確度の高い金属元素特異的微小画像解析を可能とし、LGBCAの頻回投与後に生じる脳内残存蓄積のさらなる解明にも有用であることを明示した。

研究成果の概要(英文)：Recent reported studies showed that gadolinium (Gd) deposition in rodent brain caused after successive administration of a linear Gd based contrast agent over few weeks. Our study used magnetic resonance imaging(MRI) and electron probe micro analyzer(EPMA) to identify the deposited Gd in the regional brain of rats received the linear agent gadodiamide (Gd-DTPA-BMA) administration. The microstructure image analysis of the brain tissues by EPMA revealed more detail information of localization among Gd, Ca, and P in the brain tissue structure than MRI.

研究分野：実験動物神経画像解析

キーワード：MRI Gd LGBCA EPMA

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

GBCA の安定性は通常、熱力学的安定性と速度論的安定性の両方に依存している。いくつかの研究に続いて、腎性全身性線維症 (NSF) の原因物質としての GBCA の同定は、ガドジアミドが他の GBCA と比較して劣った速度論的安定性および最悪の熱力学的安定性の両方を有することを示した。ガドジアミドのこのような化学的特徴は、体内での Gd^{3+} の解離をもたらす。これまでに、確認された NSF を有する患者の大部分は、以前の MRI 検査においてガドジアミドの投与を受けていた。このことは、Kanda らによる最近の報告において、複数の GBCA 投与によって引き起こされる頭蓋内 Gd 沈着についても同じことが示され、ガドジアミド投与と脳構造における Gd 沈着の間の関連性が報告されている。しかし、現在使用されている金属元素分析法の特性から、解離した Gd^{3+} の蓄積メカニズムや Gd と他元素との化合状態は未だ不明瞭である。

2. 研究の目的

連続的なガドジアミド投与を受けたラット脳組織における Gd 沈着物を電子線マイクロアナライザー (EPMA) で高精度に同定し、他の金属元素との化合状態を推定することを目的とした。

3. 研究の方法

この動物実験は機関委員会により承認された。雄性ラット (slc : Wistar/ST) を使用し、一回量 2.5 mmol Gd/kg B.W. でガドジアミドを静脈内に 5 週間にわたって投与した。総投与回数は 20 回とし、週 4 日の連続投与を実施した。

1.5 T コンパクト MR 撮像装置 (MRT-A1508AC, DS ファーマバイオメディカル) に本研究を遂行するために作製したラット用ヘッドポジショナーを使用し、2D T1W-スピンエコーシーケンス (TR/TE = 400, 800/18ms) で経時的に大將動物の脳を繰り返し撮像した。

MRI にて淡蒼球および小脳歯状核に明瞭な信号増強が認められた動物の脳を灌流固定後に摘出し、EPMA 解析用試料を適切に作製した。EPMA は新潟大学共用基板センター設置の EPMA-1610 (Shimadzu) を使用し、研究協力者と共に計測条件の検討および計測を実施した。

全ての画像データは、MATLAB (R2018a, MathWorks) で自作したプログラムを用いて分析された。

4. 研究成果

(1) Gd-DTPA-BMA の繰り返し投与による脳内蓄積モデルラットの作出

直鎖型キレート造影剤ガドジアミドを 20 回投与したラットでは、経時的 MRI において淡蒼球および小脳歯状核に明瞭な信号増強を認め、Gd の脳内蓄積が示唆された。先行研究と同様に直鎖キレート型 Gd 造影剤の繰り返し投与が、投与された全てのラット脳において高信号化をもたらす、本事象について高い再現性が示された。

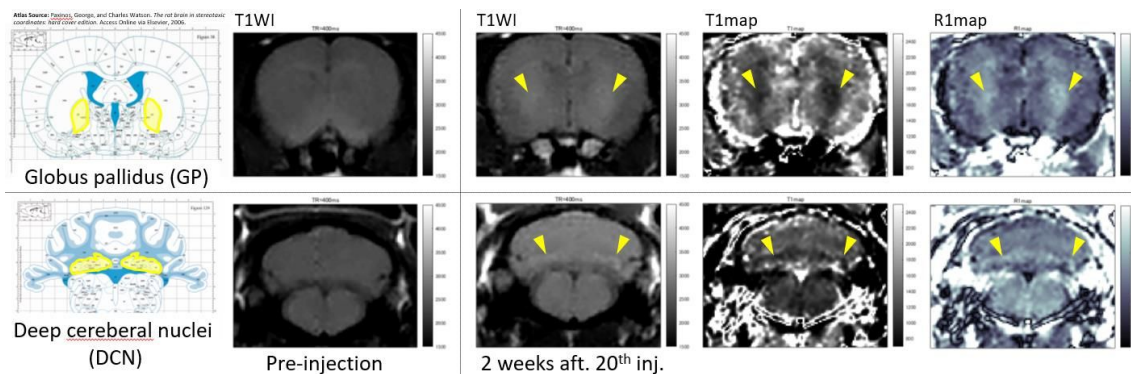


Figure 1: Representative T1 weighted MR images in coronal section including calculation maps of T1 and relaxation rate (R1) values of Wistar rats brain after repeated gadodiamide injections clearly showed contrast enhancement in the globus pallidus (GP) and the deep cerebral nuclei (DCN).

(2) EPMA によるラット脳組織の金属元素特異的の微視画像解析

灌流固定後に摘出された脳組織について、EPMA の生体組織計測を可能とする薄切カーボン試料の作製を実現した。また、微量な蓄積 Gd を計測するため、極めて特殊な EPMA 計測条件の設定も実現した。

これらの計測条件の最適化を行った後、ラット脳組織中に蓄積する Gd の検出を試みた。標準 Gd 試料の特性 X 線ピーク波長との比較により、検出された金属元素が Gd であることを高い精度で同定した。

(3) EPMA による多元素解析

EPMA で同定された脳組織中の Gd 沈着部位に、他の金属元素 (Ca, P) の局在を同時に計測した結果、それらの元素は高頻度に Ca との一致や P との隣接した局在が確認された。

このことは、沈着した Gd がリン酸化合物などの化合形態で不溶性沈着物として存在していることを示唆する重要な所見であると考えた。本研究において適用した EPMA の面内分解能は 0.2 μm であり、特性 X 線波長に基づいた高精度の元素特異的分析結果から、脳組織中において細胞外に沈着した Gd, Ca, P の関係性が明らかとなった。

(3) まとめ

本研究では、臨床において報告され、動物実験での再現性も報告された直鎖キレート型 Gd 造影剤の繰り返し投与による Gd の脳内沈着について、Wistar/ST ラットでのモデル作出に成功した。また、EPMA を用いた脳内沈着 Gd の検出とそれと共存する他の元素の解析も実現した。Gd と Ca との化学的類似性は、イオン半径の観点からも指摘されており、リン酸化合物としての沈着などが推測される。しかし、現時点では化合状態の解明は容易ではなく、本研究成果をさらに継続発展させ、EPMA 計測法をさらに検討する必要がある。

EPMA による脳内沈着 Gd の化合状態解明が今後の重要な課題である。

5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 1 件)

1) NARITA H and YAMADA M, A novel design of rat's head positioner for MRI and its feasibility. Advanced Mechanical Design, Systems, and Manufacturing, Vol.12, No.6 (2018)

〔学会発表〕(計 3 件)

1) Yamada M, Takano K, Yamamoto H, Harada S, Shirakawa S, Umezawa E. Visualization of Glymphatic Clearance in Rat Brain under Medetomidine Sedation after Intra-arterial Administration of Linear GBCA. 第 45 回日本磁気共鳴医学会大会. 2017.09.14-16. 栃木

2) Yamada M, Yamamoto H, Takano K, Kobayashi M, Harada S, Ikarashi A, Shirakawa S, Umezawa E. Metal element specific identification of deposited gadolinium in rat brain structure using an electron probe micro analyzer. 第 46 回日本磁気共鳴医学会大会. 2018.09.07-09. 金沢.

3) Yamada M, Takano K, Harada S, Yamamoto H, Shirakawa S, Umezawa E. Visualization of contrast-enhanced cerebrospinal fluid distribution on lymphatic wastes clearance pathways in rat brain utilizing repeated MRI following intraarterial administration of Gd-DTPA. 第 74 回日本放射線技術学会総会学術大会. 2018.04.12-15. 横浜.

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年：
国内外の別：

取得状況 (計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年：

国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6．研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名：

ローマ字氏名：

所属研究機関名：

部局名：

職名：

研究者番号（8桁）：

(2)研究協力者

研究協力者氏名：山本洋花

ローマ字氏名：Hiroka Yamamoto

研究協力者氏名：高野一輝

ローマ字氏名：Kazuki Takano

研究協力者氏名：小林正義

ローマ字氏名：Masayoshi Kobayashi

研究協力者氏名：五十嵐文子

ローマ字氏名：Ayako Ikarashi

研究協力者氏名：副島啓義

ローマ字氏名：Hiroyoshi Soejima

研究協力者氏名：渡邊孝一

ローマ字氏名：kouichi Watanabe

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。