

平成 21 年 5 月 20 日現在

研究種目：基盤研究（B）

研究期間：2006～2008

課題番号：18360194

研究課題名（和文） 脳科学研究のための電子スピン共鳴イメージング法の研究

研究課題名（英文） Electron spin resonance imaging for brain/neuroscience studies

研究代表者

平田 拓 (HIRATA HIROSHI)

北海道大学・大学院情報科学研究科・教授

研究者番号：60250958

研究成果の概要：実験小動物として用いられるマウスを対象として、電子スピン共鳴(ESR)イメージング法の研究を行った。マウス頭部を計測する 650MHz のマイクロ波共振器を作製し、ESR 分光装置を改良した。また、スライス選択 ESR 画像を取得するイメージング法を開発した。さらに、データ取得を高速化することにより、マウス頭部において、半減時が短い六員環のナイトロキシルラジカルを可視化することに成功した。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2006 年度	4,200,000	1,260,000	5,460,000
2007 年度	6,700,000	2,010,000	8,710,000
2008 年度	3,600,000	1,080,000	4,680,000
年度			
年度			
総計	14,500,000	4,350,000	18,850,000

研究分野：計測工学

科研費の分科・細目：電気電子工学・計測工学

キーワード：電子スピン共鳴、イメージング、スライス選択、画像再構成

1. 研究開始当初の背景

脳科学研究は、ヒトゲノム解読に続く生命科学のフロンティアであり、脳の活動を理解する研究や、疾病のメカニズムを解明し、治療に役立てるための研究が盛んに行われている。脳科学研究では、脳の形態学的画像、機能的画像を得るために、磁気共鳴イメージング (MRI)、X 線 CT、ポジトロン CT (PET)、近赤外線イメージングなどの計測技術が用いられている。最先端の脳科学研究では、functional (機能的) MRI と呼ばれる手法により、視覚や言語などに加え、精神活動に関わる脳の活動部位を特定しそのメカニズム

を解明しようとする研究が行われている (例えば、B. King-Casas et al., Science 308, 78-83, 2005)。これらの最先端の研究は、非侵襲的に画像を得るイメージング技術の進展によるところが大きい。脳機能が失調する疾患の一つとして「てんかん」があるが、そのメカニズムは複雑で、十分に原因の解明が行われていない。世界的な「てんかん」患者数は 5,000 万人と推定されており、アルツハイマー病やパーキンソン病に比べても極めて患者数が多く、疾患の原因解明が待たれている。脳の機能的情報を可視化する新しい手段を開発することにより、「てんかん」の原因

解明が進むものと期待される。

研究開始当時、一酸化窒素(NO)がてんかん発作に関連していることが報告されていた。ESR 分光により検出された一酸化窒素を可視化するには、高感度で ESR スペクトルを検出することが必要であり、そのための技術開発が求められていた。また、脳内の酸化ストレスの状態を可視化することも有用な情報であると考えられており、ナイトロキシラジカルを用いた酸化ストレスの研究も報告されていた。

2. 研究の目的

本研究課題では、モデルマウスを用いた「てんかん」研究のための機能的電子スピン共鳴 (ESR) イメージング法の構築に挑戦するため、次の目標を設定した。

- (1) マウス頭部用高感度マイクロ波共振器の開発：マウスの頭部のサイズから、直径 20mm 程度の試料を挿入可能な 650MHz マイクロ波共振器を開発する。また、動物の動きを補償するための電子同調機能（周波数及びインピーダンス整合）を付加する。
- (2) 機能的 ESR イメージングを行う画像処理プログラムの開発：シグナル伝達に関わる分子の状態変化を可視化することにより、てんかん発作時の脳の機能的変化を可視化する計算コードを開発する。
- (3) 機能的 ESR イメージングによる「てんかん」モデルマウスの病巣部の特定：てんかんモデルマウスを用いて、NO や血流分布の変化から病巣部を特定する実験を行う。発作時のマウスの頭部 ESR 画像を短時間で得るために、高速 A/D 変換ボードを用いて 3 分以内に一枚の画像データが得られるイメージングシステムの実現を目指す。

3. 研究の方法

- (1) マウス頭部用高感度マイクロ波共振器の開発：これまでに開発したパラレルコイル共振器（図 1 参照）を、共振周波数が 650MHz になるように作製した。共振器からの電磁波放射を抑圧するために円筒型のシールドケースを設置した。磁場変調コイルはサドルコイル型を採用した。小電力での駆動でも必要

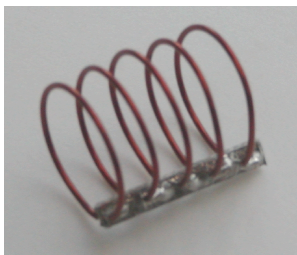


図 1 パラレルコイル共振器の構造

な変調磁場を得ることができるよう、シールドケースの内部に磁場変調コイルを設置した。また、パラレルコイル共振器を駆動する回路に、可変容量ダイオード（バラクタダイオード）を組み込んだ回路を作製し、電子同調機能を実現した。

- (2) 機能的 ESR イメージングを行う画像処理プログラムの開発：三次元 ESR イメージングのためのソフトウェアを開発した。具体的には、三次元画像を取得する計測ソフトウェアを LabVIEW 開発環境で作成した。プロジェクションデータを取得するための磁場勾配の向きを均一化する工夫を行い、計測するプロジェクション数を低減した。また、三次元画像を再構成するフィルタードバックプロジェクション法のソフトウェアを開発した。この画像再構成ソフトは、磁場勾配の向きを均一化した計測に対応したものであり、一段階で画像再構成を行う。図 2 に磁場勾配の方向を均一化した例を示す。

- (3) 機能的 ESR イメージングによる「てんかん」モデルマウスの病巣部の特定：一酸化窒

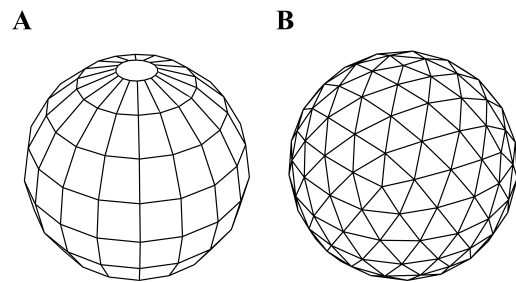


図 2 (A) 通常の磁場勾配の方向（格子の交点方向を示す）、(B) 正 20 面体から分割した磁場勾配の方向

素をトラップした鉄錯体の ESR イメージングを行う。十分高感度に画像化できる状態を実現し、その後、実験小動物により実験を試みる。また、ESR 画像を短時間で得るために、高速 A/D 変換ボードを用いて高速のイメージングシステムを実現する。さらに、磁場掃引を三角波信号により磁場を掃引した。磁場掃引とデータ取込みのシーケンスを図 3 に示す。

4. 研究成果

- (1) マウス頭部を測定する共振器を開発し、マウスの頭部のイメージングを行った実験では、ICR マウス (30g 程度) を使用した。図 4 に ICR マウスの頭部を示す。

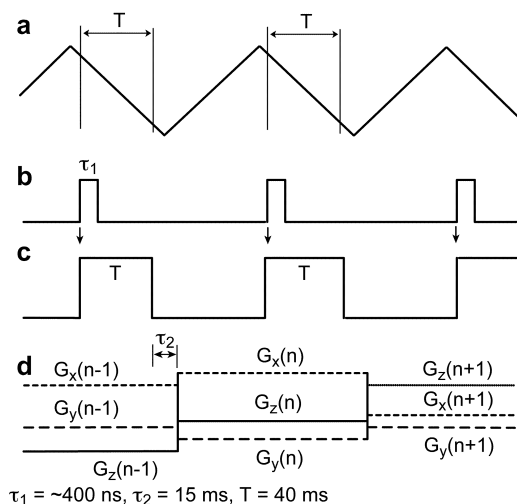
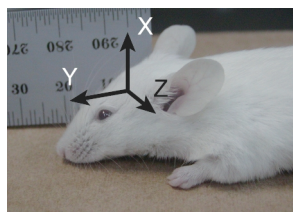


図 3 (a)磁場掃引の三角波、(b)データ取り込みトリガパルス、(c)取込みステータス、(d)磁場勾配

図 4 ICR マウスの頭部と計測の座標軸



このマウスに、六員環のナイトロキシルラジカルを腹腔内投与し、頭部でのラジカル分布を画像化した。使用したナイトロキシルラジカルの半減期は2分程度であり、高速にイメージングが行われなければ、計測中に消失してしまう。図5にマウス頭部で取得された三次元画像を示す。

マウス頭部の測定では、三次元画像取得に30秒を費やし、二組の画像データをの積算した。その後、模擬試料のイメージングでは5.8秒で三次元画像を取得することに成功した。図6に模擬試料の三次元画像を示す。

この結果からは、プロジェクション数が多くなると、画像の歪みが少なくなることが分かる。しかし、46プロジェクションでも模擬試料の形状が十分に認識できることが示された。

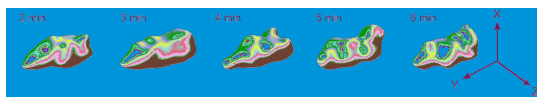


図 5 マウス頭部のナイトロキシルラジカル三次元画像 (1分間隔)

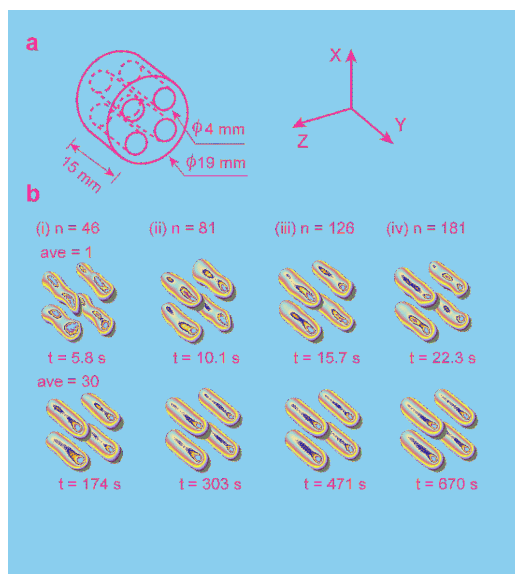


図 6 (a) 模擬試料の形状、(b) プロジェクション数とイメージング結果 (計測時間)

(2) NO ラジカルをトラップした鉄錯体のイメージングに挑戦した。しかし、印加する磁場勾配のハードウェアによる制限 (約 1 mT/cm) から、十分満足できる解像度の画像を取得することができなかった。そのため、模擬試料での NO のイメージング実験から動物の *in vivo* イメージングへと段階を進めることができなかった。より強い磁場勾配が必要であることが明らかとなり、今後の研究で解決すべき課題が明確となった。

(3) イメージングの高速化について、当初予定していなかったがスライス選択画像化法の着想を得て、アイデアを確認する実験を行った (図7)。スライス選択方向に時間的に変動する磁場勾配を印可し、スライス選択面内で二次元イメージングを行う手法である。これまで、連続波を用いた ESR イメージングではスライス選択は実現されておらず、三次元の画像を取得し、画像データからスライス画像を切り出す方法がとられていた。しかしながら、三次元画像は測定時間が長いことから、直接、スライス選択画像を取得する方法が求められていた。

(4) 本課題で構築した技術と知識を進展させ、マウスを対象とした機能的イメージングの実現を目指したい。また、ハードウェアの制限から実現できなかった一酸化窒素ラジカルのイメージングにも再度挑戦し、生きたマウスでのイメージングを実現したい。

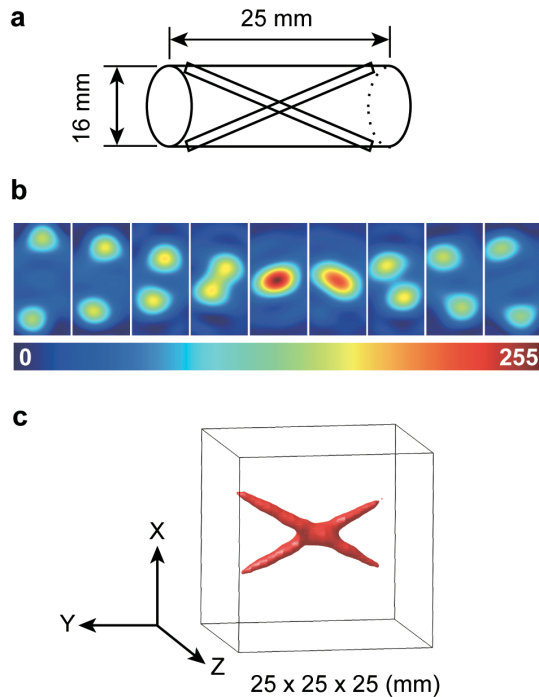


図7 スライス選択 ESR イメージングの検証実験 (a) TAM ラジカルを入れたキャピラリー管の配置、(b)スライス選択画像、(c)スライス画像から構成した三次元画像

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)

[雑誌論文] (計5件)

(1) H. Sato-Akaba, H. Fujii, and H. Hirata, Improvement of temporal resolution for three-dimensional continuous-wave electron paramagnetic resonance imaging, *Review of Scientific Instruments*, Vol. 79, No. 12, article no. 123701 (2008) (7 pages).

(2) H. Sato-Akaba, H. Fujii, and H. Hirata, Development and testing of a CW-EPR apparatus for imaging of short-lifetime nitroxyl radicals in mouse head, *Journal of Magnetic Resonance*, Vol. 193, No. 2, pp. 191-198 (2008).

(3) H. Sato-Akaba, H. Abe, H. Fujii, and H. Hirata, Slice-selective images of free radicals in mice with modulated field gradient electron paramagnetic resonance (EPR) imaging, *Magnetic Resonance in Medicine*, Vol. 59, No. 4, pp. 885-890 (2008).

(4) H. Hirata, G. He, Y. Deng, I. Salikhov, S. Petryakov, and J. L. Zweier, A loop resonator for slice-selective in vivo EPR imaging in rats, *Journal of Magnetic Resonance*, Vol. 190, No. 1, pp. 124-134 (2008).

(5) R. Ahmad, B. Clymer, D. S. Vikram, Y. Deng, H. Hirata, J. L. Zweier, and P. Kuppusamy, Enhanced resolution for EPR imaging by two-step deblurring, *Journal of Magnetic Resonance*, Vol. 184, No. 2, pp. 246-257 (2007).

[学会発表] (計12件)

(1) Y. Ikebata, H. Sato-Akaba, T. Aoyama, H. Fujii, K. Itoh, and H. Hirata, Superresolution EPR Imaging: Phantom and Animal experiments, 6th Asia-Pacific EPR symposium, Cairns, Australia, p. 74 (2008年7月17日) (Invited).

(2) Y. Ikebata, H. Sato-Akaba, H. Fujii, and H. Hirata, 3D superresolution EPR imaging of nitroxyl radicals in mice, Proceedings of International Society for Magnetic Resonance in Medicine (ISMRM) 16th Scientific Meeting and Exhibition, Toronto, Canada, p. 1726 (2008年5月7日).

(3) H. Sato-Akaba, H. Fujii, and H. Hirata, EPR imaging of short-lifetime nitroxyl radicals in mouse head, Proceedings of International Society for Magnetic Resonance in Medicine (ISMRM) 16th Scientific Meeting and Exhibition, Toronto, Canada, p. 1727 (2008年5月7日).

(4) N. Watanabe, H. Sato-Akaba, K. Nakagawa, and H. Hirata, Feasibility of spectral-spatial EPR imaging on diffusion of spin probes in biological tissues, A Joint Conference of the International Symposium on Electron Spin Science and the 46th Annual Meeting of the Society of Electron Spin Science and Technology, Shizuoka, Japan, P55 (2007年11月8日).

(5) H. Sato-Akaba, H. Fujii, and H. Hirata, Fast 3D CW-EPR imaging with uniform distribution of projections, A Joint Conference of the International Symposium on Electron Spin Science and the 46th Annual Meeting of the Society of Electron

Spin Science and Technology, Shizuoka, Japan, P53 (2007年11月8日).

(6) H. Hirata, H. Sato-Akaba, and H. Fujii, New approaches to advanced CW-EPR imaging, A Joint Conference of the International Symposium on Electron Spin Science and the 46th Annual Meeting of the Society of Electron Spin Science and Technology, Shizuoka, Japan, 2A11 (2007年11月7日).

(7) Y. Suzuki and H. Hirata, Development of tuning circuit for 650-MHz multi-coil parallel-gap resonator, A Joint Conference of the International Symposium on Electron Spin Science and the 46th Annual Meeting of the Society of Electron Spin Science and Technology, Shizuoka, Japan, 1A07 (2007年11月6日).

(8) H. Abe, H. Sato-Akaba, and H. Hirata, Development of highly sensitive loop-gap resonator, A Joint Conference of the International Symposium on Electron Spin Science and the 46th Annual Meeting of the Society of Electron Spin Science and Technology, Shizuoka, Japan, 1A06 (2007年11月6日).

(9) Y. Ikebata, H. Sato-Akaba, and H. Hirata, Three-dimensional superresolution EPR imaging, A Joint Conference of the International Symposium on Electron Spin Science and the 46th Annual Meeting of the Society of Electron Spin Science and Technology, Shizuoka, Japan, 1A05 (2007年11月6日).

(10) H. Sato-Akaba, H. Abe, H. Fujii, and H. Hirata, Slice-selective images of free radicals in mice with modulated field gradient EPR imaging, A Joint Conference of the International Symposium on Electron Spin Science and the 46th Annual Meeting of the Society of Electron Spin Science and Technology, Shizuoka, Japan, 1A04 (2007年11月6日).

(11) H. Sato-Akaba, H. Abe, H. Fujii, and H. Hirata, Slice-selective images of free radicals in mice with modulated field gradient EPR imaging, The 4th JSPS Core-to-Core Program Seminar: International In Vivo Redox Symposium, Shizuoka, Japan, P-1 (2007年11月4日).

(12) H. Hirata, Tunable resonators and

automatic control techniques in biomedical EPR spectroscopy, EPR2007 A Joint Conference of 12th In Vivo EPR Spectroscopy and Imaging and 9th International EPR Spin Trapping, Chicago, IL, USA, 0-18 (2007年5月1日) (Invited).

〔図書〕 (計0件)

〔産業財産権〕
出願状況 (計0件)

取得状況 (計0件)

〔その他〕
ホームページ等
<http://www.bme.ist.hokudai.ac.jp/BPE/index-j.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

平田 拓 (HIRATA HIROSHI)
北海道大学・大学院情報科学研究科・教授
研究者番号: 60250958

(2) 研究分担者 (なし)

(3) 連携研究者

藤井 博匡 (FUJII HIROTADA)
札幌医科大学・保健医療学部・教授
研究者番号: 70209013

伊藤 康一 (ITOH KOUICHI)
徳島文理大学・薬学部・教授
研究者番号: 30291149

(4) 研究協力者

赤羽 英夫 (AKABA HIDEO)
北海道大学・大学院情報科学研究科・
博士研究員