

平成 21 年 5 月 29 日現在

研究種目：若手研究(A)
 研究期間：2006～2008
 課題番号：18680037
 研究課題名（和文） 磁気共鳴を用いた細胞の微視的構造と機能発現に関する研究
 研究課題名（英文） Measurements of cellular microstructure and function using magnetic resonance
 研究代表者
 関野 正樹（SEKINO MASAKI）
 東京大学・大学院新領域創成科学研究科・助教
 研究者番号：20401036

研究成果の概要：本研究では，生体に含まれる水の拡散の磁気共鳴イメージング(MRI)を通じて，細胞の大きさなどの微視的構造と，それに深く関わる生体組織の導電率や細胞膜透過率などを推定する手法を提案した．シミュレーションや動物の MRI 測定などを通じて，提案手法の有用性を示した．

交付額

(金額単位：円)

| | 直接経費 | 間接経費 | 合計 |
|--------|------------|-----------|------------|
| 2006年度 | 6,300,000 | 1,890,000 | 8,190,000 |
| 2007年度 | 4,700,000 | 1,410,000 | 6,110,000 |
| 2008年度 | 4,200,000 | 1,260,000 | 5,460,000 |
| 年度 | | | |
| 年度 | | | |
| 総計 | 15,200,000 | 4,560,000 | 19,760,000 |

研究分野：磁気共鳴イメージング

科研費の分科・細目：人間医工学・医用生体工学・生体材料学

キーワード：生物・生体工学，磁気共鳴，医用画像，イメージング，細胞膜

1. 研究開始当初の背景

磁気共鳴イメージング (magnetic resonance imaging: MRI) の空間分解能は，画像を構成する各画素 (ピクセル) の大きさで定義される．ヒト頭部の標準的な測定の場合は，例えばスライス面内に 860 μm ，スライスの厚さ方向に 5mm の分解能となる．画素を小さくすることは，信号対雑音比 (S/N 比) の低下や測定時間の延長を招き，特殊な測定試料と装置を用いるのではない限り，実用上の空間分解能の限界は 200 μm 程度である．これに対して，細胞の大きさは典型的には数十 μm であり，従来の MRI を用いて細胞の形状や内部構造を分解することはできない．

MRI の測定方法の一つとして，信号取得に同期させて一対のパルス傾斜磁場を加えると，磁気共鳴信号の強度が減少することが知られている．この効果は，測定対象粒子 (生体組織では主として水分子) の拡散係数が大きいほど顕著に現れるため，拡散係数が未知の液体等については，傾斜磁場の大きさと信号強度との関係を測定すれば，試料の拡散係数を決定することができる．ただし生体組織においては，細胞膜が水の拡散の障壁となるため，MRI 信号から決定される拡散係数，すなわち実効的な拡散係数は，真の拡散係数に比べて小さくなる．実効的な拡散係数は，細胞の大きさや細胞内・外空間の割合，細胞膜の

透過性に影響を受ける。さらに、神経軸索や筋肉のように、細胞が特定の方向に配向している場合には、実効的な拡散係数に異方性があらわれる。この実効的な拡散係数の画像を得る方法は拡散 MRI と呼ばれ、現在では脳の画像診断をはじめとして広く応用されている。しかしながら、従来の拡散 MRI から得られる情報は、単に水の実効的な拡散係数にとどまっており、その背後にある細胞の微視的構造については、定性的な解釈しか行われていなかった。

2. 研究の目的

本研究では、MRI を用いて、生体組織の微視的構造と機能発現に関する新たな測定手法を提案することを目的とした。特に、従来の MRI の持つ空間分解能の限界を超えるマイクロメートル・オーダの構造と深く関わる、次のような情報の可視化を行った。

- (1) 細胞膜透過率の様々な値に対して水の拡散シミュレーションを行い、拡散 MRI 測定値に最も近い透過率を探索するアプローチにより、生体組織中の細胞の膜透過率を推定する手法を提案した。ラットの脳を対象として、膜透過率の推定を行った。
- (2) 筋組織から測定した拡散 MRI 信号をもとに、組織の変形が実効的な拡散係数やその異方性に与える影響について検討した。さらに、細胞膜間距離と細胞内拡散係数が未知の試料について MRI の信号からモデル関数を用いてこれらを推定する方法を提案した。
- (3) 拡散 MRI の信号から、細胞外空間の拡散係数や体積比を算出し、生体組織の実効的な導電率を求める手法を提案した。ラットの脳の導電率やその異方性の分布を明らかにした。

3. 研究の方法

- (1) ラット (12 週齢, 体重 280 ~ 330g) を測定対象として、実験前に麻酔を行った。MRI 装置は 4.7 T UNITY INOVA imaging spectrometer を、パルスシーケンスは STEAM (stimulated echo acquisition mode) を用いてデータ収集を行った。拡散を検出するためのパルス傾斜磁場 MPG (motion probing gradient) を 6 方向に加え、MPG 強度の指標である b 値は 0 ~ 3500 s/mm² としたシミュレーションにおいて細胞内:細胞外体積比は 4:1 とし、細胞内拡散係数 D_{int} 、細胞膜透過率 P を未知の値と考えた。シミュレーションにより求められた信号値 S_{sim} と実験値 S_{exp} の差を評価関数として、評価関数が最小となる細胞内拡散係数 D_{int} と細胞膜透過率 P を推定した。推定した値と先行研究とを比較し、提案手法の妥当性を検討した。
- (2) 試料の内部に拡散障壁が存在する場合、拡散 MRI から測定される実効的な拡散係数

は、真の拡散係数 D や拡散障壁の構造などから決まる。拡散障壁の形状が極めて単純な場合には解析が可能であり、例えば一对の平行平板の間に閉じ込められた水分子の信号強度は、次の式で与えられる。

$$E(q, a, D,) = \frac{S(q_t)}{S(q_0)} = \frac{2\{1 - \cos(2\pi qa)\}}{(2\pi qa)^2} + 4(2\pi qa)^2 \sum_{n=1}^{\infty} \exp\left(-\frac{n^2 \pi^2 D}{a^2}\right) \times \frac{1 - (-1)^n \cos(2\pi qa)}{\{(2\pi qa)^2 - (n\pi)^2\}^2}$$

a は平行平板の間隔であり、生体組織の場合には細胞膜間距離、すなわち細胞の大きさに相当する。拡散検出傾斜磁場の強さ q を段階的に変えて信号を取得し、上式を実験結果にフィッティングすることで、未知の量である a と D を推定した。

測定サンプルは鶏の胸筋の中で筋線維が均等に平行に構成されているところを 20 × 10 × 30 mm³ に切り取ったものを用いた。筋線維の方向がほぼ z 軸を向くように設置し、圧縮をかけないものと、圧縮をかけて変形させたものについて、信号を収集した。

(3) 4.7 T 動物用 MRI 装置にてラット脳断面を撮像した。 b 値を 0, 1200, 2400, 3600 s/mm² の 4 段階に設定し、各 b 値について MPG を 6 方向に加え、合計 19 枚の画像を得た。拡散の速い成分は細胞外空間に由来するというモデルに基づき、 b 値の増加による信号減衰から、細胞外空間の割合とその実効的な拡散係数を求めた。イオン伝導における静電気力と粘性抵抗の釣り合いの式および Stokes-Einstein の式を用いて、細胞外空間の導電率を求め、さらに細胞外空間の割合による補正を行って、組織の実効的な導電率を計算した。

4. 研究成果

- (1) 推定されたラット 3 例の細胞内拡散係数 D_{int} は $(1.3 \pm 0.1) \times 10^{-3}$ mm²/s、細胞膜透過率 P は 66 ± 24 μm/s であった。過去の研究では、ラットの肝細胞膜透過率: 18 μm/s (単シリコン層フィルタリング遠心分離システム, 4), カエルの卵母細胞膜透過率評価: 2.7 μm/s (diffusion MRI), ラットの上皮および内皮を混合した試料の細胞膜透過率: 75.7 μm/s (放射性同位元素: トリチウム, 37) と評価されている。生体組織内の細胞膜透過率は測定手法や対象とする細胞、温度などの測定環境に依存して大幅に変動するが、1 μm/s から 100 μm/s の範囲にあると考えられ、結果はおおよそ妥当性があると考えた。
- (2) 5 つの試料の平均の細胞内拡散係数 D_{int} 、長方形にモデル化した ϵ_2 方向の筋線維の断面の幅 a_2 、長方形にモデル化した ϵ_3 方向の筋線維の断面の幅 a_3 を表 1 に示した (ϵ_2 および

ϵ_3 はそれぞれ拡散テンソルの第 2 および第 3 固有値を表し、筋線維に対して垂直方向を向く)。圧縮前の細胞内拡散係数 D_{int} は $1.32 \pm 0.005 \times 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{s}$ で、圧縮をかけると $1.26 \pm 0.002 \times 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{s}$ で $p < 0.05$ で有意な減少を示した。圧縮前の a_2 は $0.302 \pm 0.025 \text{ mm}$ で、圧縮を加えると $0.281 \pm 0.045 \text{ mm}$ と減少傾向を示した。圧縮前の a_3 は $0.103 \pm 0.003 \text{ mm}$ で、圧縮を加えると $0.103 \pm 0.005 \text{ mm}$ と変化は見られなかった。

表 1：生体組織の変形による、細胞膜間距離の変化

| | a_2 (mm) | a_3 (mm) |
|-----|-------------------|-------------------|
| 変形前 | 0.302 ± 0.025 | 0.103 ± 0.003 |
| 変形後 | 0.281 ± 0.045 | 0.103 ± 0.005 |

圧縮前後で ϵ_2 方向の筋線維の断面の幅を表す a_2 は減少傾向を示した。圧縮前後で ϵ_3 方向の筋線維の断面の幅を表す a_3 は変化が見られなかった。この原因として、 ϵ_2 方向と ϵ_3 方向にそれぞれ一致した方向に圧縮がかけられたわけではなく、もともと(理論上)楕円であった断面の斜め方向に力が加わったためと考えられる。また、圧縮率 50%程度では細胞にそれほど変形が起こらなかったと考えられる。細胞自体にそれほど歪みが生じず細胞の形状はほとんど保ったままで細胞膜と細胞膜をつなげている結合が解け細胞が圧縮方向に垂直な方向にシフトしたのではないかと考えられる。

(3) 白質組織は灰白質組織に比べて導電率の値が大きく、また導電率の異方性も大きかった。白質組織では、神経線維の配向している方向に MPG が印加された場合に、導電率が大きな値を示した。脳梁および脳室において、平均導電率(mean conductivity: MC)が高い値を示した。また脳梁、内包および三叉神経において、異方性指数(fractional anisotropy FA)が高い値を示した。大脳皮質および脳梁に設定された解析領域において、MC はそれぞれ $2.5 \times 10^{-2} \text{ S/m}$ および $2.9 \times 10^{-2} \text{ S/m}$ であり、FA はそれぞれ 0.46 および 0.50 であった。

脳内導電率の測定技術は、生体工学や脳機能研究に関連して高い重要性を持つ。提案手法では、高い b 値を用いた拡散強調画像から、脳内導電率を画像化した。組織中をイオンが移動するとき、細胞膜はイオンの移動に対して大きな障壁となるため、組織の導電率は細胞の形状に大きく依存する。しかし、電流を印加する方法を用いて、脳内導電率の分布や方向依存性を詳細に測定することは、困難であった。そこで従来行われてきたほとんどの脳内電流分布解析では、脳は一様で等方性の導体として扱われている。本研究の実験結果から、白質組織は灰白質組織に比べて導電率

が大きく、また異方性も大きいことが示された。これは、白質が神経線維を多く含み、その線維が特定の方向に配向していることに由来すると考えられる。本研究から得られた脳内導電率テンソル画像を応用すれば、脳内電流分布のより正確な解析が可能となる。

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)

[雑誌論文](計 18 件)

M. Sekino, H. Ohsaki, S. Yamaguchi Sekino, and S. Ueno, "Toward detection of transient changes in magnetic resonance signal intensity arising from neuronal electrical activities," IEEE Transactions on Magnetics, 掲載確定, 査読有.

M. Sekino, H. Ohsaki, S. Yamaguchi Sekino, N. Iriguchi, and S. Ueno, "Low-frequency conductivity tensor of rat brain tissues inferred from diffusion MRI," Bioelectromagnetics, 掲載確定, 査読有.

T. Imae, H. Shinohara, M. Sekino, S. Ueno, H. Ohsaki, K. Mima, and K. Ohtomo, "Estimation of cell membrane permeability and intracellular diffusion coefficient of the human gray matter," Magnetic Resonance in Medical Sciences, vol. 8, pp. 1-7, 2009, 査読有.

M. Sekino, S. Tataru, and H. Ohsaki, "Imaging of electric permittivity and conductivity using MRI," IEEE Transactions on Magnetics, vol. 44, pp. 4460-4463, 2008, 査読有.

S. Yamaguchi Sekino, H. Tatsuoka, M. Sekino, H. Ohsaki, Y. Abe, and S. Ueno, "Discriminative detection of extracellular and intracellular sodiums in nerve fibers by magnetic resonance spectroscopy," IEEE Transactions on Magnetics, vol. 44, pp. 4500-4502, 2008, 査読有.

T. Imae, H. Shinohara, M. Sekino, H. Ohsaki, S. Ueno, K. Mima, and K. Ootomo, "Minimization of Computational Errors in Diffusion Simulation of Nuclear Magnetization," IEEE Transactions on Magnetics, vol. 44, pp. 4496-4499, 2008, 査読有.

M. Sekino, D. Kim, and H. Ohsaki, "FDTD simulations of RF electromagnetic

fields and signal inhomogeneities in ultrahigh-field MRI systems," *Journal of Applied Physics*, vol. 103, pp. 07A318, 2008, 査読有.

T. Imae, H. Shinohara, M. Sekino, S. Ueno, H. Ohsaki, K. Mima, and K. Ootomo, "Estimation of cell membrane permeability of the rat brain using diffusion magnetic resonance imaging," *Journal of Applied Physics*, vol. 103, pp. 07A311, 2008, 査読有.

M. Kumagai, Y. Imai, T. Nakamura, Y. Yamasaki, M. Sekino, S. Ueno, K. Hanaoka, K. Kikuchi, T. Nagano, E. Kaneko, K. Shimokado, and K. Kataoka, "Iron hydroxide nanoparticles coated with poly(ethylene glycol)-poly(aspartic acid) block copolymer as novel magnetic resonance contrast agents for in vivo cancer imaging," *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, vol. 56, pp. 174-181, 2007, 査読有.

M. Sekino, and S. Ueno, "Magnetic resonance imaging of electric properties in living bodies," *Biocybernetics and Biomedical Engineering*, vol. 27, pp. 175-182, 2007, 査読有.

M. Kawata, M. Sekino, S. Takamoto, S. Ueno, S. Yamaguchi, K. Kitahori, H. Tsukihara, Y. Suematsu, M. Ono, N. Motomura, T. Morota, and A. Murakami, "Retrograde cerebral perfusion with intermittent pressure augmentation provides adequate neuroprotection: diffusion- and perfusion-weighted magnetic resonance imaging study in an experimental canine model," *The Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery*, vol. 132, pp. 933-940, 2006, 査読有.

今江禄一, 篠原広行, 関野正樹, 上野照剛, 大崎博之, 美馬和男, 大友邦: 拡散MRIを用いたラットの細胞膜透過率評価. *Journal of the Magnetics Society of Japan*, vol. 32, pp. 491-494, 2008, 査読有.

多田羅智史, 関野正樹, 栗林秀人, 大崎博之: MRIを用いた誘電率と導電率のイメージング. *日本AEM学会誌*, vol. 16, pp. 20-26, 2008, 査読有.

上野照剛, 関野正樹, 大崎博之: 最新MRI技術. *映像情報メディア学会誌*, vol. 62, pp. 494-499, 2008, 査読有.

宮田昌悟, 関野正樹, 大崎博之, 牛田多加志: q-space MRIによる再生軟骨お

よび関節軟骨の組織評価法. *日本磁気共鳴医学会雑誌*, vol. 28, pp. 92-94, 2008, 査読有.

関野正樹, 上野照剛, 大崎博之: MRIにおける画素サイズより小さい試料の計測と定量化誤差. *日本AEM学会誌*, vol. 15, pp. 76-82, 2007, 査読有.

田中堅一郎, 関野正樹, 今江禄一, 上野照剛, 大崎博之, 美馬和男: 生体組織の機械的変形が組織内水分子の拡散に与える効果. *日本応用磁気学会誌*, vol. 31, pp. 283-287, 2007, 査読有.

今江禄一, 篠原廣行, 関野正樹, 上野照剛, 大崎博之, 美馬和男, 大友邦: 生体内水分子の磁化拡散シミュレーションにおける離散化誤差を最小とする条件. *日本応用磁気学会誌*, vol. 31, pp. 279-282, 2007, 査読有.

[学会発表](計17件)

M. Sekino, H. Ohsaki, S. Yamaguchi-Sekino, and S. Ueno, "Detection of transient changes in magnetic resonance signal intensity arising from neuronal electrical activities," *IEEE International Magnetics Conference*, Sacramento, USA, 2009年5月6日.

S. Takemoto, M. Migita, N. Mizuuchi, K. Maruyama, T. Moroi, T. Sueyoshi, M. Sekino, and N. Iriguchi, "Multidirectional RF coils for MRI," *2009 IEEE/ICME International Conference on Complex Medical Engineering*, Tempe, USA, 2009年4月9日.

M. Sekino, S. Yamaguchi-Sekino, H. Ohsaki, and S. Ueno, "Detection of neuronal electrical activities using MRI," *International Conference on Biomagnetism*, Sapporo, 2008年8月27日.

S. Ueno, and M. Sekino, "Recent advances in impedance MRI," *URSI General Assembly*, Chicago, USA, 2008年8月14日.

M. Sekino, S. Yamaguchi-Sekino, H. Ohsaki, and S. Ueno, "Recent advances in electric current MRI," *URSI General Assembly*, Chicago, USA, 2008年8月14日.

M. Sekino, S. Yamaguchi-Sekino, S. Ueno, and H. Ohsaki, "RF and imaging technology for high field MRI," *NeuroSpin/CEA University of Tokyo Workshop*, Saclay, France, 2008年5月21日.

S. Yamaguchi -Sekino, H. Tatsuoka, M. Sekino, H. Ohsaki, Y. Abe, and S. Ueno, "Discriminative detection of extracellular and intracellular sodiums in nerve fibers by magnetic resonance spectroscopy," IEEE International Magnetics Conference, Madrid, Spain, 2008年5月8日.

T. Imae, H. Shinohara, M. Sekino, H. Ohsaki, S. Ueno, K. Mima, and K. Ootomo, "Minimization of computational errors in diffusion simulation of nuclear magnetization," IEEE International Magnetics Conference, Madrid, Spain, 2008年5月8日.

M. Sekino, S. Tatara, and H. Ohsaki, "Imaging of electric permittivity and conductivity using MRI," IEEE International Magnetics Conference, Madrid, Spain, 2008年5月6日.

M. Sekino, S. Ueno, and H. Ohsaki, "Magnetic resonance imaging of neuronal electrical activities in the rat brain," 52nd Magnetism and Magnetic Materials Conference, Tampa, USA, 2007年11月8日.

M. Sekino, D. Kim, and H. Ohsaki, "FDTD simulations of RF magnetic fields and signal inhomogeneities in high-field MRI systems," 52nd Magnetism and Magnetic Materials Conference, Tampa, USA, 2007年11月8日.

T. Imae, H. Shinohara, M. Sekino, S. Ueno, H. Ohsaki, K. Mima, and K. Ootomo, "Estimation of cell membrane permeability of the rat brain using diffusion magnetic resonance imaging," 52nd Magnetism and Magnetic Materials Conference, Tampa, USA, 2007年11月8日.

M. Sekino, D. Kim, S. Ueno, and H. Ohsaki, "RF absorption in the human head in ultrahigh-field magnetic resonance imaging systems of up to 11.7 T," 29th Annual Meeting of the Bioelectromagnetics Society, Kanazawa, Japan, 2007年6月12日.

T. Imae, H. Shinohara, M. Sekino, S. Ueno, H. Ohsaki, K. Mima, and K. Ootomo, "Optimal computational errors in diffusion simulation of nuclear magnetization in water molecules," 29th Annual Meeting of the Bioelectromagnetics Society, Kanazawa, Japan, 2007年6月11日.

K. Tanaka, T. Imae, M. Sekino, S. Ueno, H. Ohsaki, and K. Mima, "Changes in

diffusion properties of biological tissues associated with mechanical strain," 29th Annual Meeting of the Bioelectromagnetics Society, Kanazawa, Japan, 2007年6月11日.

M. Sekino, S. Ueno, and H. Ohsaki, "FDTD simulations of RF inhomogeneities in ultrahigh-field MRI systems of up to 11.7 T," ISMRM-ESMRMB Joint Annual Meeting, Berlin, Germany, 2007年5月21日.

M. Sekino, S. Ueno, and H. Ohsaki, "Magnetic resonance imaging of water diffusion and cell microstructures in biological tissues," Seoul National University -University of Tokyo Joint Seminar on Electrical Engineering, Seoul, South Korea, 2007年2月28日.

6. 研究組織

(1) 研究代表者

関野 正樹 (SEKINO MASAKI)
東京大学・大学院新領域創成科学研究科・
助教
研究者番号：20401036

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし