

令和 4 年 6 月 13 日現在

機関番号：82502

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2019～2021

課題番号：19K07797

研究課題名（和文）マウスの組織データベースを活用した安静時機能MRI法の神経回路推定モデルの開発

研究課題名（英文）Understanding the neural basis of resting-state functional MRI signal using Allen Brain database

研究代表者

住吉 晃（Sumiyoshi, Akira）

国立研究開発法人量子科学技術研究開発機構・量子医科学研究所 分子イメージング診断治療研究部・主任研究員

研究者番号：80612530

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000円

研究成果の概要（和文）：従来の機能MRI法に代わる計測法として、高用量ガドリニウム造影剤を用いた血管造影法を提案した。沖縄科学技術大学院大学に設置されている高磁場MRI装置を利用して、50ミクロンの空間解像度での血管造影法を確立し、血管径の大きな動脈や静脈の信号を排除する事で、エネルギー代謝が活発な微小血管領域のイメージングに成功した。組織データベースと比較する事で、神経回路特異的な脳機能計測法の提案に繋げる予定である。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究の狙いは、ガドリニウム造影剤のドラッグリポジショニング（既存薬再開発）とも言える。ガドリニウム造影剤は、すでにヒトでの安全性や薬物動態の試験が行われているため、動物での有効性が確認出来れば、ヒトへの検証実験へと移行しやすい。本研究を通して、脳機能評価にガドリニウム造影剤がどの程度寄与出来るのか、今後の指針となるような有益な基礎データを蓄積出来た。本研究を更に発展させて将来的な臨床応用が期待される。

研究成果の概要（英文）：We report here in vivo 50-micron cerebral blood volume (CBV) mapping of the mouse brain using intraperitoneal injection protocol of gadolinium-based contrast agent. Based on k-means clustering we identified different vascular clusters that separately range from macro- to micro-vasculature. The CBV map demonstrated layer-dependent macro- and micro-vascular densities in the cortex where different cortical regions exhibited different vascular patterns. The CBV map also identified different vascular densities and patterns in the hippocampus. These results suggest that CBV map would be a useful and alternative tool that assesses brain function and metabolism at extremely high spatial resolution.

研究分野：脳機能イメージング

キーワード：安静時機能MRI法 コネクトーム アレン脳科学研究所 血管造影法 神経回路モデル

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、研究者個人に帰属します。

## 1. 研究開始当初の背景

安静時機能 MRI 法は 1995 年に提案された脳機能計測法の一つであり、世界各地で展開されるコネクトームプロジェクトの基軸となる手法である。本法では、安静時の脳機能画像を経時的に 10 分程度計測し、興味のある脳領域間の相関係数を算出する事で、脳領域間の結合性（コネクティビティ）を評価する。本法を用いる事で、脳内の機能的結合ネットワークを、全脳網羅的に評価する事が可能になる。本法が広く使用されるようになった理由として、①解析の手順が比較的単純である事、②算出されるネットワークが既知のものとは一致する事、③安静時の撮像データを用いるのでガントリー内でタスクが困難な患者にも適用できる事、などが挙げられる。

しかし、安静時機能 MRI 法でしばしば問題となるのは、安静時の脳領域間の相関係数の値が、神経科学的に何を意味するのか、という根本的な「問い」である。ヒトにおいて脳波と機能 MRI の同時計測を行った過去の研究では、安静時の各脳機能ネットワークは、異なる脳波の周波数領域と相関する事が明らかにされているが、その脳波との相関係数の値を良く見ると、どれも 0.3 を下回っている。安静時機能 MRI 法に代わる新たな計測法の開発が求められている。

コロンビア大学の Small 教授らのグループは、ガドリニウム造影剤を使用した高解像度の機能 MRI 法を報告した (Small et al., Nat Rev Neurosci, 2011)。従来の機能 MRI 法は、一過性の血流上昇に伴う酸化ヘモグロビンの相対変化を利用しており、秒単位の撮像が基本である。一方、ガドリニウム造影剤を使用した血管造影法では、造影剤投与前後の画像の強度比から、局所の脳血管体積を推定するため、必ずしも高速撮像を必要とせず、高解像度の形態画像の取得が可能である。日・月・年のような比較的緩徐な時間軸で神経活動が賦活化すると、局所代謝要求の上昇に伴い、血管新生が亢進するため、造影剤を使用する血管造影法は、機能 MRI 法であると解釈できる。実際にグルコース代謝画像に酷似している。

## 2. 研究の目的

ガドリニウム造影剤を用いた血管造影法（高分解能の機能 MRI 法）をマウスに適用する事を目的とする。高用量のガドリニウム剤 (10mmol/kg) をマウス腹腔内に投与するモデルを使用する事で以下の利点が期待できる。1) 腹腔内投与により、薬剤の分布・代謝が緩徐となるため、積算に必要なスキャン時間を確保できる。2) 血中濃度 1mM 以上では、T2 陰性の効果が期待でき、歪みの少ない T2 強調画像が使用できる。3) スピンエコー法を用いる事で、5 $\mu$ m 径前後の微小血管からの信号変化が有意な画像が期待できる。

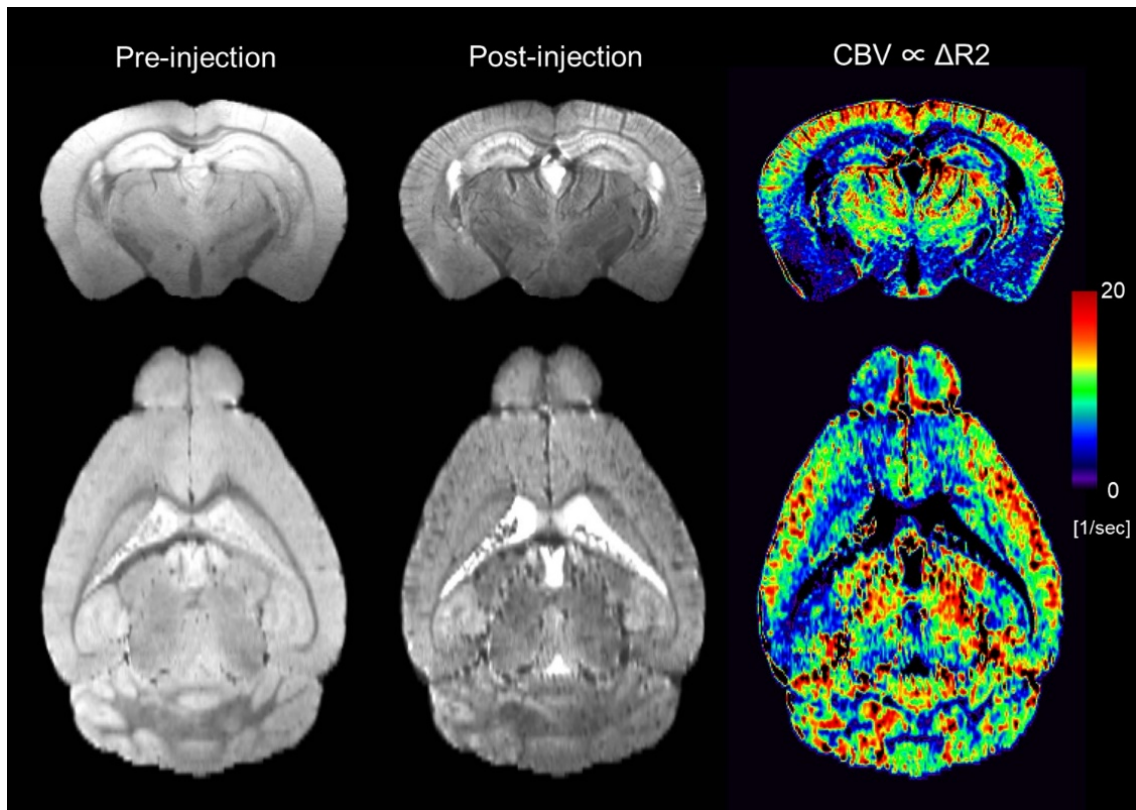
## 3. 研究の方法

15 匹のオス C57BL/6J マウス (22-28g) を用いた。MRI 撮像は 1.0-1.5%のイソフルレン麻酔下で行い、マウスの呼吸・体温をモニタリングした。MRI 画像は 11.7T のマウス用 MRI 装置にて、クライオプローブを用いてマウス全脳を測定した。T2 強調画像を取得し (2D-RARE)、シークエンスパラメータは以下の通りである。TR=9000ms、TE=30ms、平面解像度=50 $\mu$ mX50 $\mu$ m、スライス厚=150 $\mu$ m。ガドリニウム造影剤オムニスキャン (10mmol/kg) を腹腔内に投与した。1 回 6 分の測定を投与前に 10 回繰り返し、投与 30 分後に 1 回 6 分の測定を 20 回繰り返した。合計でマウス 1 匹から 3 時間 30 分の測定を行った。血管密度マップは以下の式により計算した。CBV  $\propto$   $\Delta R2 = \ln(\text{Spre}/\text{Spost})/\text{TE}$ 。Spre は投与前、Spost は投与後の信号値である。

## 4. 研究成果

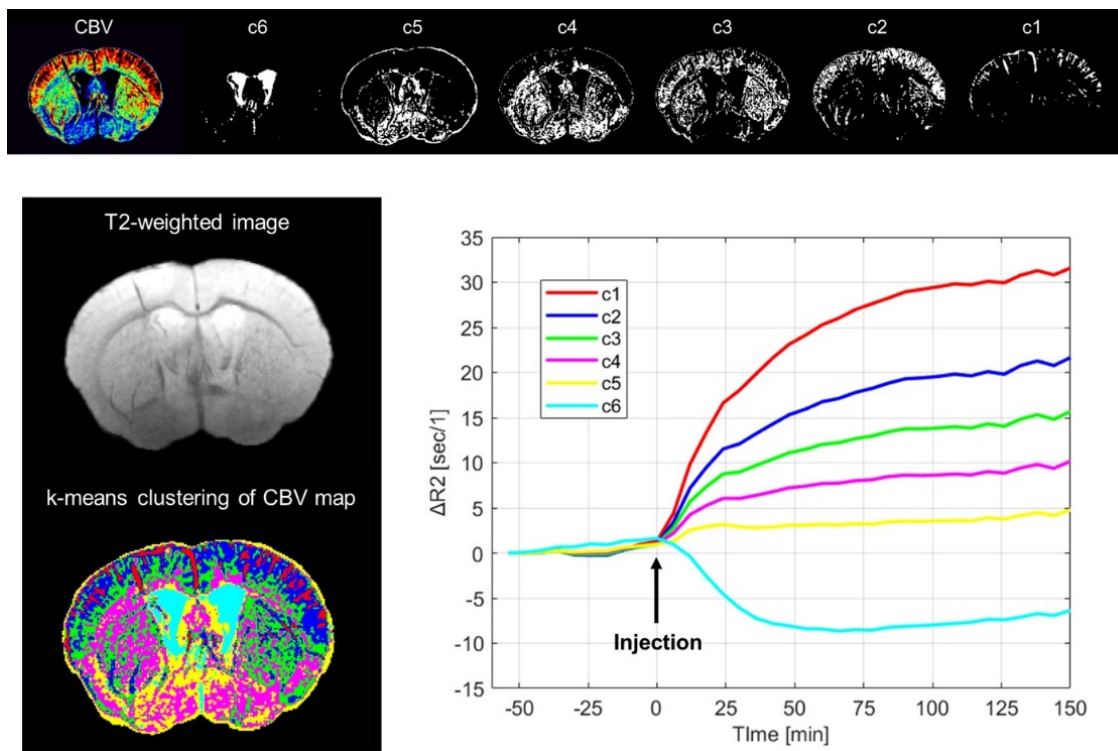
ガドリニウム造影剤投与により、T2 の定量値 (ms) が、34.8 $\pm$ 0.5 から 25.6 $\pm$ 1.5 まで減少した (灰白質)。また、投与前の SN 比は 41.9 $\pm$ 4.0、投与後の SN 比は 51.6 $\pm$ 8.6 であった。代表的な画像を図 1 に示す。グルコース代謝画像に酷似しており、大脳皮質で高い血管密度が観測さ

れ、また微小血管が豊富で代謝が活発な中間層で高い血管密度が観測された。同時に大脳皮質を縦断する高信号のマクロ血管も観測された。



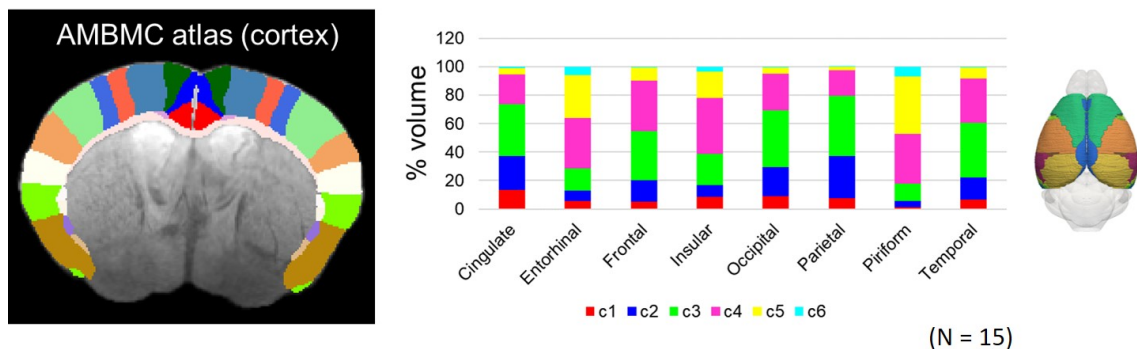
(図 1) 50 ミクロンの空間解像度で撮像したマウス脳血管密度マッピング。

血管密度マップの区分けを行うため、k 平均法によるクラスタリング解析を行った。信号強度に基づき 6 個の区分に分けた (図 2)。第一区分には大脳皮質を縦に走行するマクロ血管、第二・第三区分に大脳皮質のマイクロ血管の区分が確認された。



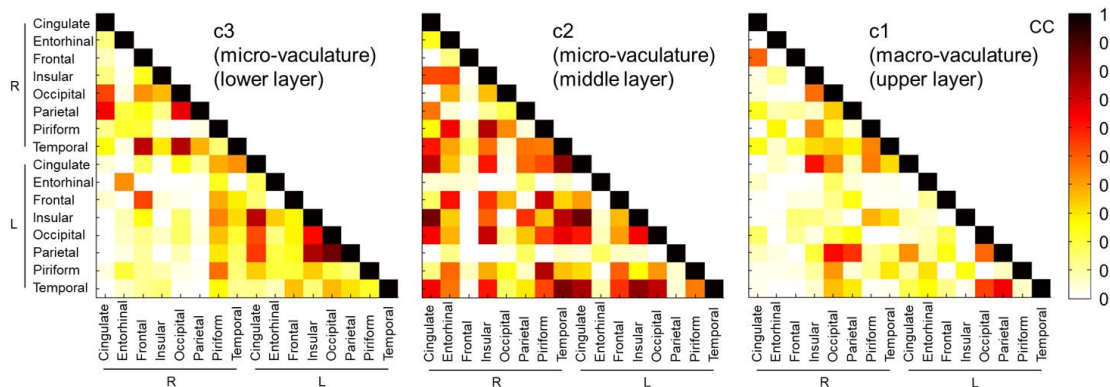
(図 2) k 平均法によるクラスタリング解析の結果。血管密度マップの信号強度に基づき 6 区画への区分けを行った。またそのタイムコースも示す。

大脳皮質の領域毎の血管分布を図3に示す。興味深い事に、帯状皮質 (cingulate)・後頭皮質 (occipital)・頭頂皮質 (parietal) では、微小血管密度 (第二分画) が高かった。この領域はデフォルトモードネットワークの一部であり、ネットワークハブとして機能するため、基底状態の代謝要求が高いとする過去の論文と一致する。



(図3) 大脳皮質の領域毎の区画毎の血管分布。帯状皮質 (cingulate)・後頭皮質 (occipital)・頭頂皮質 (parietal) では、マクロ血管 (c1) 及びマイクロ血管 (c2) の血管密度が高かった。

更に区分ごとの被験者間相関解析を行うと (図4)、第一区分に比べて第二区分において、領域間の相関係数が高かった。すなわち、マクロ血管よりもマイクロ血管の方が、脳内のネットワーク構築に寄与しており、マクロ血管部分を取り除く事で、確度の高い神経活動イメージングに近づいていると考えられる。



(図4) 区画毎の領域間の被験者間相関解析の結果。マクロ血管よりもマイクロ血管の方が、脳内のネットワーク構築に寄与していると考えられる。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計5件（うち招待講演 2件 / うち国際学会 2件）

1. 発表者名 Sumiyoshi A
2. 発表標題 Toward high spatial resolution functional MRI: In vivo 50-micron cerebral blood volume mapping of the mouse brain
3. 学会等名 ISMRM (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 住吉晃
2. 発表標題 50ミクロンの空間解像度で撮像したマウス脳血管イメージング
3. 学会等名 日本分子イメージング学会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 住吉晃
2. 発表標題 動物モデルにおける機能MRI研究: NIDA-IRP@NIHへの留学を通して
3. 学会等名 日本分子生物学会 (招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Sumiyoshi A
2. 発表標題 Rat fMRI in combination with in vivo neurophysiological techniques
3. 学会等名 Japan Neuroscience Society (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Sumiyoshi A
2. 発表標題 Modulation of resting-state functional MRI signal by astrocyte
3. 学会等名 ISMRM (国際学会)
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------