

令和 6 年 6 月 17 日現在

機関番号：14401

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2019～2023

課題番号：19K08172

研究課題名（和文）化学交換飽和移動イメージング法を用いた乳酸代謝の画像化と病態モデルへの適用

研究課題名（英文）Imaging of lactate metabolism using chemical exchange saturation transfer imaging and its application to pathological models

研究代表者

齋藤 茂芳 (Saito, Shigeyoshi)

大阪大学・大学院医学系研究科・准教授

研究者番号：40583068

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）：ミトコンドリア病では好氣的エネルギー代謝が障害され嫌氣的エネルギー代謝が酷使されるため乳酸が蓄積する。本研究では乳酸を対象とした化学交換飽和イメージング法（Chemical Exchange Saturation Transfer: CEST）により、脳内の乳酸分布評価を行った。本研究ではミトコンドリア病モデルマウスとしてLeigh脳症モデルマウスを使用し、7T-MRIを用いてCESTイメージング、MRSを用いてT2強調画像で病変が検出される前の早期の脳代謝変化を検出することができた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

乳酸を対象とした化学交換飽和イメージング法（Chemical Exchange Saturation Transfer: CEST）により、脳内の乳酸分布評価が可能である。生体内の乳酸蓄積を非侵襲的に画像化できれば、生体の2次元的な乳酸分布、同じ個体で継時的な観察をすることが可能であり、ミトコンドリア症のみならず、虚血性疾患などへの応用も期待できる。

研究成果の概要（英文）：Mitochondrial disease is a designated intractable disease caused by mutations in mitochondria, cellular organelles, and is a disorder of energy metabolism that leads to abnormalities in skeletal muscle and the central nervous system, which require large amounts of energy. In mitochondrial diseases, aerobic energy metabolism is impaired and anaerobic energy metabolism is overused, resulting in the accumulation of lactic acid. In this study, lactic acid was used as the target chemical. In this study, the possibility of evaluation of lactate distribution assessment in the brain was verified by Chemical Exchange Saturation Transfer (CEST) imaging method for lactate using 7T-MRI. In this study, Leigh encephalopathy model mice were used as a model mouse for mitochondrial disease, and CEST imaging and MRS were used to detect early brain metabolic changes before lesions were detected on T2-weighted images using 7T-MRI.

研究分野：生体イメージング

キーワード：7T-MRI 高磁場MRI CESTイメージング 乳酸 ミトコンドリア病モデルマウス

様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

1. 研究開始当初の背景

ミトコンドリア病は細胞小器官であるミトコンドリアの変異を原因とし、骨格筋や中枢神経系に異常を引き起こす指定難病である。ミトコンドリア病では好氣的エネルギー代謝が障害され嫌氣的エネルギー代謝が酷使されるため乳酸が蓄積する。MRS(magnetic resonance spectroscopy) では、生体内の分子の種類や濃度などを検出・評価でき、生体内の乳酸を検出することが可能である。本研究で提案する乳酸を対象とした化学交換飽和イメージング法 (Chemical Exchange Saturation Transfer: CEST) を利用することで脳内の乳酸分布評価が可能である。生体内の乳酸蓄積を非侵襲的に画像化できれば、生体の 2 次元的な乳酸分布、同じ個体で継時的な観察をすることが可能であり、ミトコンドリア症のみならず、虚血性疾患などへの応用も期待できる。本研究ではミトコンドリア病モデルマウスとして Leigh 脳症モデルマウスを使用した。Leigh 脳症はミトコンドリア病の一つで 2 歳以前の乳児期に発症し、主症状は精神運動発達遅延、筋力・筋緊張低下、呼吸障害等がある。脳 CT・MRI で大脳基底核、脳幹に両側対称性の病変が見られる。

2. 研究の目的

本研究では乳酸を対象とした化学交換飽和イメージング法 (Chemical Exchange Saturation Transfer: CEST) により、脳内の乳酸分布評価を行った。本研究ではミトコンドリア病モデルマウスとして Leigh 脳症モデルマウスを使用し、7T-MRI を用いて CEST イメージング、MRS を用いて T2 強調画像で病変が検出される前の早期の脳代謝変化を検出することを目的とした。

3. 研究の方法

実験は Bruker 社製水平型 7T-MRI を用いて行った。動物は 6 週齢の Leigh 脳症マウスを 5 匹、同週齢のコントロールマウス 5 匹使用した。コントロールとして一般的な C57/BL6 マウス、Ndufs4 KO が Ndufs4 遺伝子をノックアウトした Leigh 脳症マウスを実験に使用した[1]。マウスはイソフルラン麻酔下で撮影を行い、体温管理は循環高温水槽により行った。呼吸モニターを用いて呼吸数を観察し、マウスの生理状態の維持を行った。

[撮影条件]

・ T₂ 強調画像

Leigh 脳症で観察される脳幹部病変の検出のために T₂ 強調画像を取得した。Rapid acquisition with relaxation enhancement (RARE) sequence を用い、TR を 4000ms、TE を 33ms に設定した。分解能は 100×100 μ m で撮影時間は 6 分とした。

・ CEST

Magnetization transfer RARE sequence を用い、TR を 4000ms、TE を 43ms に設定した。-5.0 ~ +5.0 ppm 間を 0.5 ppm 間隔で連続した 21 枚の画像を取得した。B0 補正には Water saturation shift referencing (WASSR) を用いた。分解能は 200×200 μ m で撮影時間は 40 分とした。

・ MRS

PRESS sequence を用い、TR を 2500ms、TE を 20ms に設定した。シミングには Fast Automatic Shimming technique by Mapping Along Projections (FASTMAP) を使用した。撮影時間は 15 分とした。

[画像評価]

関心領域をシングルスライスで海馬レベルのスライスに設定した。CEST では 0.5、1.0、2.0、3.0、

3.5ppm の 5 つのオフセット周波数で Magnetization Transfer Ratio Asymmetry (MTRasym) マップを作成した。MRS では代謝物濃度を Lac・mIns・GPC+PCh・Cr+PCr・Glu+Gln・NAA+NAAG の 6 つで LCMoel を用いて測定し、統計解析には Unpaired t-test を使用した。

4 . 研究成果

嗅球、皮質、海馬、小脳、脳幹レベルでの T_2 強調の横断面画像を撮影した(図1)。Controlが同週齢の正常マウス、Ndufs4 KOがNdufs4遺伝子をノックアウトしたLeigh脳症マウスである。 T_2 強調画像では6週齢のLeigh脳症マウスとコントロールマウスの両方で明らかな病変は検出されなかった。

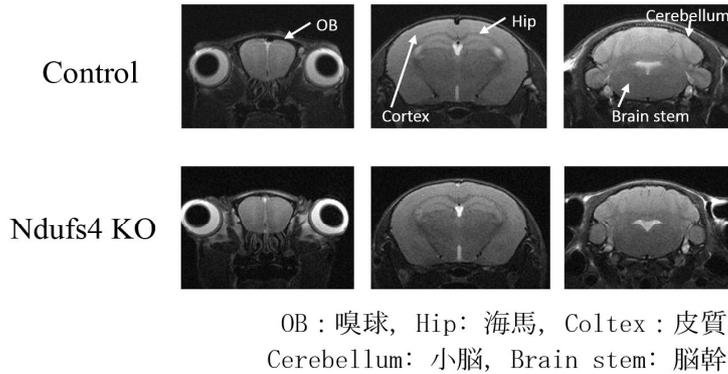


図 1 . T_2 強調画像

下に 5 つのオフセット周波数での典型的な MTR asymmetry 画像を示す(図 2)。0.5、1.0、2.0ppm でコントロールマウスに比べて Leigh 脳症マウスの MTR 値が有意に上昇しているのが視覚的に観察できた。

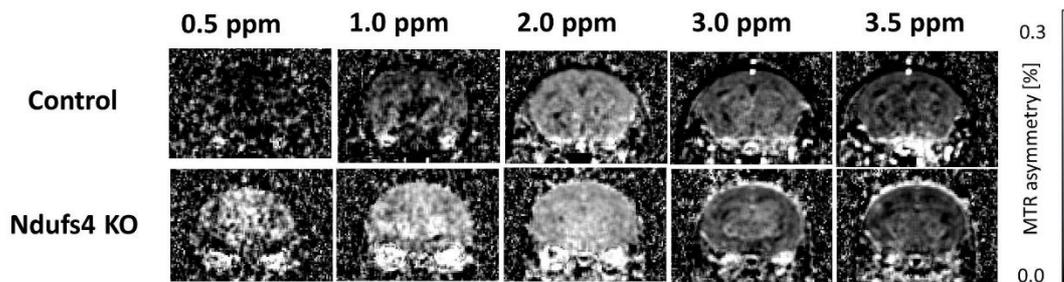


図2. MTR asymmetry 画像

下図の MTR asymmetry 曲線では、0.5 ~ 2.0ppm 付近でコントロールマウスより Leigh 脳症マウスが高かった(図 3)。

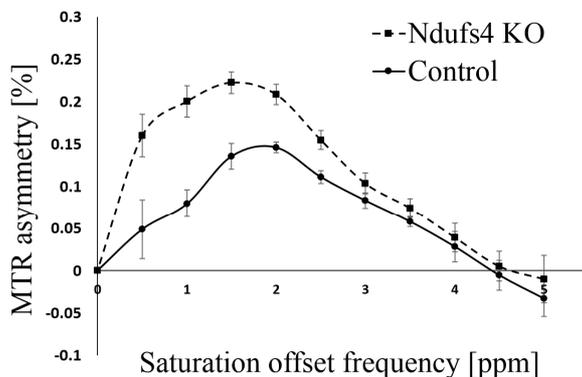


図 3 . MTR asymmetry 曲線

5つのオフセット周波数において、0.5、1.0、2.0ppm でコントロールマウスより Leigh 脳症マウスの MTR 値が有意に高くなった (図4)。

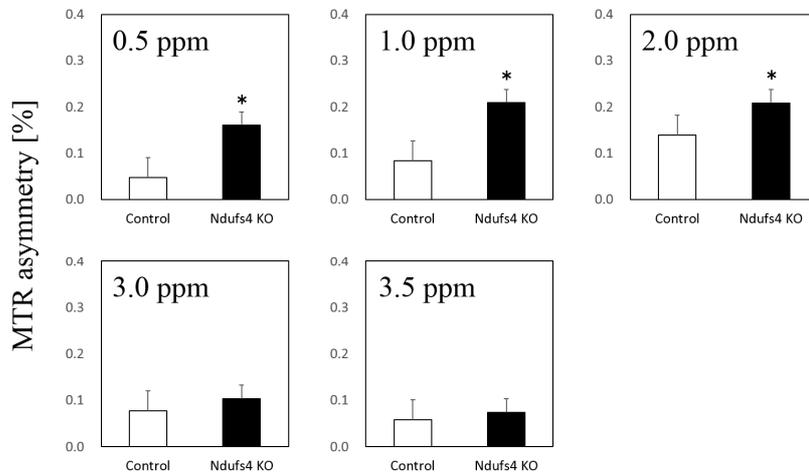


図4. 5つのオフセット周波数で有意差検定を行った結果

典型的な MRS スペクトルでは、Leigh 脳症マウスで乳酸のピークが有意に上昇しているのを確認することができた (図5)。

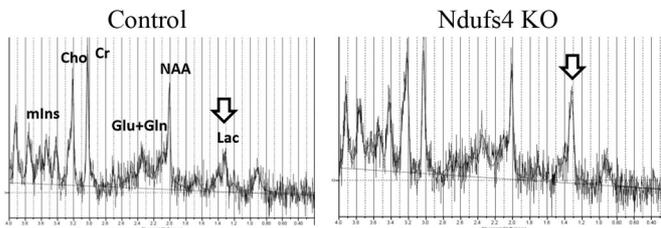


図5. MRSスペクトル

MRS によって得られた6個の代謝物濃度を比較した (図6)。乳酸が Leigh 脳症マウスで有意に上昇しているのが分かった。

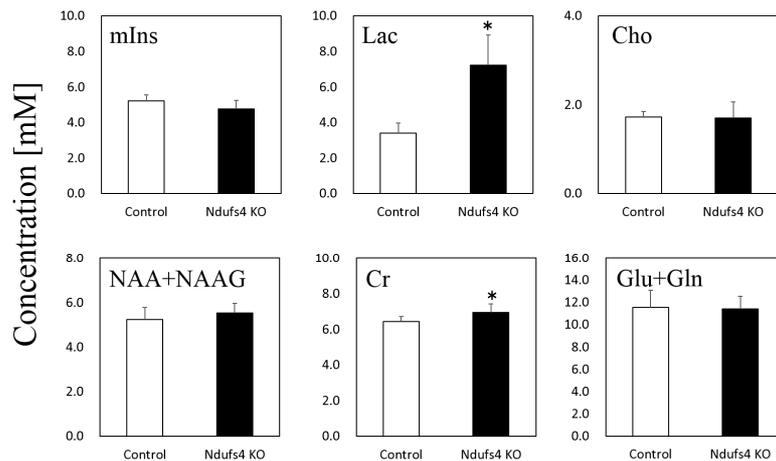


図6. 代謝物濃度

先行研究によるとミトコンドリア病モデルマウスのT₂強調画像での脳幹部病変は9週で観察される。本研究では6週齢のLeigh脳症マウスでT₂強調画像により病変は検出されなかったが、MRSでは脳内乳酸の上昇が確認された。したがって、本実験で使われた6週齢のLeigh脳症マウスは脳病変の検出が可能になる前の初期段階のミトコンドリア病マウスである[1]。先行研究では乳酸のケミカルシフトは0.4~1.0ppmに分布すると報告されている[2]。本研究ではCESTで0.5ppm及び1.0ppmのMTR asymmetryが上昇し、MRSでは脳内乳酸の上昇が確認された。この

ことから 0.5ppm ~ 1.0ppm の CEST 効果が 6 週齢の Leigh 脳症マウスの脳内乳酸の上昇を反映していることが示唆されている。また、先行研究ではクレアチンのケミカルシフトは 1.8~2.0ppm に分布すると報告されており[3]、本研究で 2.0ppm の MTR asymmetry が上昇し MRS で脳内クレアチンの上昇が確認された。よって 2.0ppm の CEST 効果の上昇は脳内クレアチンの上昇が反映されたと考えられる。

ミトコンドリア病モデルマウスにおいて、CEST イメージング、MRS を用いて T₂ 強調画像で病変が検出される前の早期の脳代謝変化を検出することができた。

参考文献

- 1 . Quintana A, Kruse SE, Kapur RP, Sanz E, Palmiter RD. Complex I deficiency due to loss of Ndufs4 in the brain results in progressive encephalopathy resembling Leigh syndrome. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2010;107(24):10996–1001.
- 2 . DeBrosse C, Nanga RP, Bagga P, Nath K, Haris M, Marincola F, Schnall MD, Hariharan H, Reddy R. Lactate chemical exchange saturation transfer (LATEST) imaging in vivo A biomarker for LDH activity. *Sci Rep*. 2016;6:19517.
- 3 . DeBrosse C, Nanga RP, Wilson N, D'Aquila K, Elliott M, Hariharan H, Yan F, Wade K, Nguyen S, Worsley D, Parris-Skeete C, McCormick E, Xiao R, Cunningham ZZ, Fishbein L, Nathanson KL, Lynch DR, Stallings VA, Yudkoff M, Falk MJ, Reddy R, McCormack SE. Muscle oxidative phosphorylation quantitation using creatine chemical exchange saturation transfer (CrCEST) MRI in mitochondrial disorders. *JCI Insight*. 2016;1(18):e88207.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計12件（うち査読付論文 8件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Onishi Ryutarou, Sawaya Reika, Tsuji Keiho, Arihara Narumi, Ohki Akiko, Ueda Junpei, Hata Junichi, Saito Shigeyoshi	4. 巻 14
2. 論文標題 Evaluation of Temozolomide Treatment for Glioblastoma Using Amide Proton Transfer Imaging and Diffusion MRI	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Cancers	6. 最初と最後の頁 1907 ~ 1907
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/cancers14081907	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Kuribayashi Sohei, Saito Shigeyoshi, Sawaya Reika, Takahashi Yusuke, Kioka Hidetaka, Takezawa Kentaro, Kiuchi Hiroshi, Fukuhara Shinichiro, Nonomura Norio	4. 巻 未定
2. 論文標題 Creatine Chemical Exchange Saturation Transfer (Cr-CEST) Imaging Can Evaluate Cisplatin-induced Testicular Damage	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Magnetic Resonance in Medical Sciences	6. 最初と最後の頁 未定
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2463/mrms.mp.2021-0125	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Takahashi Yusuke, Kioka Hidetaka, Fukuhara Shinichiro, Kuribayashi Sohei, Saito Shigeyoshi, Asano Yoshihiro, Takashima Seiji, Yoshioka Yoshichika, Sakata Yasushi	4. 巻 54
2. 論文標題 Visualization of Spatial Distribution of Spermatogenesis in Mouse Testes Using Creatine Chemical Exchange Saturation Transfer Imaging	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Magnetic Resonance Imaging	6. 最初と最後の頁 1457 ~ 1465
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/jmri.27734	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Saito Shigeyoshi	4. 巻 78
2. 論文標題 5. Advanced Imaging Technology? T1rho? CEST Imaging	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Japanese Journal of Radiological Technology	6. 最初と最後の頁 95 ~ 100
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.6009/jjrt.780111	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Takahashi Yusuke, Saito Shigeyoshi, Kioka Hidetaka, Araki Rikita, Asano Yoshihiro, Takashima Seiji, Sakata Yasushi, Yoshioka Yoshichika	4. 巻 51
2. 論文標題 Mouse skeletal muscle creatine chemical exchange saturation transfer (CrCEST) imaging at 11.7T MRI	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Magnetic Resonance Imaging	6. 最初と最後の頁 563 ~ 570
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/jmri.26844	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Ohki Akiko, Saito Shigeyoshi, Hirayama Eri, Takahashi Yusuke, Ogawa Yuko, Tsuji Masahiro, Higuchi Takahiro, Fukuchi Kazuki	4. 巻 19
2. 論文標題 Comparison of Chemical Exchange Saturation Transfer Imaging with Diffusion-weighted Imaging and Magnetic Resonance Spectroscopy in a Rat Model of Hypoxic-ischemic Encephalopathy	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Magnetic Resonance in Medical Sciences	6. 最初と最後の頁 359 ~ 365
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2463/mrms.mp.2019-0128	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Ohki Akiko, Saito Shigeyoshi, Fukuchi Kazuki	4. 巻 10
2. 論文標題 Magnetic resonance imaging of umbilical cord stem cells labeled with superparamagnetic iron oxide nanoparticles: effects of labelling and transplantation parameters	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 13684
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-020-70291-9	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Suzuki Toshihiko, Sato Yoshiaki, Kushida Yoshihiro, Tsuji Masahiro, Wakao Shohei, Ueda Kazuto, Imai Kenji, Iitani Yukako, Shimizu Shinobu, Hida Hideki, Temma Takashi, Saito Shigeyoshi, Iida Hidehiro, Mizuno Masaaki, Takahashi Yoshiyuki, Dezawa Mari, Borlongan Cesar V, Hayakawa Masahiro	4. 巻 0
2. 論文標題 Intravenously delivered multilineage-differentiating stress enduring cells dampen excessive glutamate metabolism and microglial activation in experimental perinatal hypoxic ischemic encephalopathy	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism	6. 最初と最後の頁 1-14
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1177/0271678X20972656	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Takahashi Yusuke, Kioka Hidetaka, Shintani Yasunori, Ohki Akiko, Takashima Seiji, Sakata Yasushi, Higuchi Takahiro, Saito Shigeyoshi	4. 巻 58
2. 論文標題 Detection of increased intracerebral lactate in a mouse model of Leigh syndrome using proton MR spectroscopy	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Magnetic Resonance Imaging	6. 最初と最後の頁 38 ~ 43
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.mri.2019.01.010	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Takahashi Yusuke, Saito Shigeyoshi, Kioka Hidetaka, Araki Rikita, Asano Yoshihiro, Takashima Seiji, Sakata Yasushi, Yoshioka Yoshichika	4. 巻 51
2. 論文標題 Mouse skeletal muscle creatine chemical exchange saturation transfer (CrCEST) imaging at 11.7T MRI	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Magnetic Resonance Imaging	6. 最初と最後の頁 563 ~ 570
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/jmri.26844	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Tanoue Minori, Saito Shigeyoshi, Takahashi Yusuke, Araki Rikita, Hashido Takashi, Kioka Hidetaka, Sakata Yasushi, Yoshioka Yoshichika	4. 巻 62
2. 論文標題 Amide proton transfer imaging of glioblastoma, neuroblastoma, and breast cancer cells on a 11.7T magnetic resonance imaging system	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Magnetic Resonance Imaging	6. 最初と最後の頁 181 ~ 190
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.mri.2019.07.005	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Ohki Akiko, Saito Shigeyoshi, Hata Junichi, Okano Hiroataka James, Higuchi Takahiro, Fukuchi Kazuki	4. 巻 62
2. 論文標題 Neurite orientation dispersion and density imaging for evaluating the severity of neonatal hypoxic-ischemic encephalopathy in rats	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Magnetic Resonance Imaging	6. 最初と最後の頁 214 ~ 219
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.mri.2019.07.013	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計0件

〔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
---------	---------