

令和 4 年 6 月 22 日現在

機関番号：16401

研究種目：挑戦的研究（萌芽）

研究期間：2020～2021

課題番号：20K20665

研究課題名（和文）認知症診断を目指した脳内酸素代謝の非侵襲的観測法の開発

研究課題名（英文）Development of a non-invasive method to observe oxygen metabolism in the brain for diagnosis of dementia

研究代表者

津田 正史（Tsuda, Masashi）

高知大学・教育研究部総合科学系複合領域科学部門・教授

研究者番号：10261322

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 5,000,000円

研究成果の概要（和文）：水の磁気共鳴核種である ^{17}O を生体内で直接観測するMRI技術の開発として、インビトロ ^{17}O 濃度定量と画像化法と、インビボでの ^{17}O 濃度測定と濃度動態の画像化の検討を行った。検出コイルとして、 $^{17}\text{O}/^1\text{H}$ 二重共鳴コイルの作成し、マルチボクセル ^{17}O -MRSの最適撮像条件検討を行い、 ^{17}O 水濃縮率と ^{17}O 水信号強度には相関性があることを見出した。健常マウスとアルツハイマー型認知症モデルマウスに ^{17}O 水あるいは ^{17}O ガスを投与して脳のマルチボクセルMRS撮像を実施し、 ^{17}O -CSI画像のパターンや水生成量を検討した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究成果から脳のミトコンドリア機能を酸素代謝として可視化する基本技術につながるものと期待され、新たなADの診断技術、あるいはAD治療薬の新たなスクリーニング法の開発に繋がるものと期待され、いまだ根本的治療法のない認知症治療や研究に有用であると期待される。

研究成果の概要（英文）：To develop MRI techniques for direct observation of ^{17}O water in vivo, we investigated the quantitative evaluation of ^{17}O -labeled water in vitro and in vivo as well as measurements of ^{17}O -chemical shift imaging. We made a $^{17}\text{O}/^1\text{H}$ double resonance coil, and optimal imaging conditions for multivoxel ^{17}O -MRS were established. Healthy mice and Alzheimer's disease model mice were treated with ^{17}O water or ^{17}O gas, and multivoxel MRS imaging of the mice brains was observed. The patterns of ^{17}O -CSI images and water production in brains were examined.

研究分野：物理系薬学

キーワード：磁気共鳴イメージング

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。

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

研究代表者らはこれまでに、高感度異種核 MRI 技術の開発を行ってきた。高感度化の試みとして、動的核偏極(DNP)-MRI 基質の開発を目的として、グルコース代謝イメージング用基質として、炭素結合性水素を完全に重水素標識したグルコース($U\text{-}^{13}\text{C}_6\text{-Glc-C-}d_7$)が、in Cell での解糖系代謝のリアルタイム観察可能であることを見出した(*Biol. Pharm. Bull.* **2014**, 37, 1416-1421)。さらに、完全に重水素標識した ^{15}N ラベルコリン“ $^{15}\text{N-Choline-}d_{13}$ ”や ^{15}N ラベルトリメチルフェニルアンモニウムを合成し、異種核 MRI の基質として優れた能力があること見出してきた(*Nature Commun.* **2013**, 4, 2411-2417 ほか)。グルコースは、脳内のエネルギー生産において細胞質とミトコンドリアで大量に消費される二酸化炭素へと変換されるが、この代謝過程をリアルタイム観測するのは生成物がガスであることから検出が容易ではなかった。そこで脳内で大量に消費されるもう一つの成分、酸素ガスの代謝に着目して水への変換を可視化することで、細胞機能を非侵襲診断できると考えた。

2. 研究の目的

磁気共鳴イメージング(MRI)は、頭部疾患の非侵襲診断法として汎用され、出血や脳の形態異常から様々な脳疾患の確定診断には欠かせないものである。また fMRI の機能診断では脳血流変化から、脳の活性化状態や賦活部位の把握が可能である。しかしながら、脳神経細胞機能の変性や消失を伴うアルツハイマー型認知症(AD)のような疾患の病態診断は、MRIのみならず PET、CT 等の放射性診断を持ってしても現在のところ不可能である。

研究代表者は、神経細胞中のミトコンドリアで起こる酸素代謝、すなわち酸素ガスを取込んで水へ変換する反応を非侵襲的かつ定量的に計測することを計画した。特に、脳細胞のミトコンドリア機能変化は、AD や鬱病、統合失調症、多発性硬化症、パーキンソン病との関連性が報告されており、脳のミトコンドリア機能を酸素代謝として可視化が、脳内環境を知る上で極めて重要と考えた。そこで本研究では、酸素の微量安定同位体である酸素- ^{17}O を直接観測する異種核 MRI 技術を用いて、脳内酸素代謝の非侵襲的に定量化する方法を開発する。本技術が開発できれば、新たな AD の診断技術、あるいは AD 治療薬の新たなスクリーニング法の開発に繋がるものと期待される。

3. 研究の方法

研究方法 研究代表者らはこれまでに、本学が所有する動物用強磁場 MRI 装置を用いて、生体内の多量元素のうち MRI での観測が比較的行われていない同位体核種について実験を行ってきた。その結果、存在量が多い酸素の同位体 ^{17}O 核は、同位体比率(0.037%)が少ないにも係らず、水素(通常の MRI)と同程度の短時間で撮像可能であり、0.1% ^{17}O 濃縮水と天然存在比の水を同時に撮像すると明確なコントラストを与えることを見出した。本研究では MRI を用いて、1)インピトロ ^{17}O 濃度定量と画像化法の確立、2)インピボでの ^{17}O 濃度測定と濃度動態の画像化を検討する。特に動物実験については、本学動物実験施設・津田雅之博士の研究協力を仰ぎ実施する。

2020年度には、(1)「インピトロ ^{17}O 水定量」として、A) 信号強度から画像化を可能とする新しい MRI 測定プログラムの開発、B) 検出コイルの作成と調整、C) 各種 ^{17}O 濃度溶液を用いて ^{17}O 信

号強度による検量線の作成を検討する。

A) 信号強度から画像化を可能とする新しい MRI 測定プログラムの開発:最初に核磁気共鳴(NMR)測定にて ^{17}O 直接測定における ^1H 核広帯域デカップリングの効果を検証する。MRI 測定として二重共鳴測定が標準装備されていないことから ^{17}O を観測核として照射核 ^1H をデカップリング照射する化学シフトイメージング測定プログラムを作成し、画像化を行い、感度や測定時間から最適な測定プログラムを選定する。

B) 検出コイルの作成と調整: MRI 用検出コイルは、観測核 ^{17}O 、照射核 ^1H 二重収束型のサーフェスコイルを新たに作成する。

C) 各種 ^{17}O 濃度溶液を用いて ^{17}O 信号強度による検量線の作成: 生体内の ^{17}O 水濃度は、およそ 10mmol/L であり、100mmol/L 程度まで検量線を作成する。

2021年度には、(2)「インピボ ^{17}O 水定量」として、D)様々な濃縮度の ^{17}O 水を静脈注射あるいは経口投与などでマウスに投与し、脳の ^{17}O MRI 測定を実施してインピボでの ^{17}O MRI 信号測定実験を検討する。さらにインピボでの ^{17}O ガスの呼吸による ^{17}O 水への変換を非侵襲的な検出を試みる。

4. 研究成果

信号強度から画像化を可能とする新しい MRI 測定プログラムの開発として、核磁気共鳴(NMR)測定にて ^{17}O 直接測定における ^1H 核広帯域デカップリングの効果を検証し、1.5倍程度の信号増強が認められた。 ^{17}O を観測核として照射核 ^1H をデカップリング照射する化学シフトイメージング測定プログラムを2種類作成した。

検出コイルの作成と調整として、MRI 用検出コイルは、 $^{17}\text{O}/^1\text{H}$ 二重共鳴頭部用サーフェスコイルとマウス頭部用サドル型 ^{17}O プローブコイルを新たに作成し、マウスでの ^{17}O -MRS 測定を実施できることを実証した。1 ボクセル型 ^{17}O -MRS 測定条件(vnmj 使用時)は、測定幅 $10^5\sim 5\times 10^6\text{Hz}$ 、データポイント 500~5,000、RF パルス 130 μ 秒、繰返時間(TR) 2.8~200 m 秒測定を実施し、各種 ^{17}O 濃度溶液での ^{17}O 信号強度は、20mmol/L から 400mmol/L の領域では、 ^{17}O 水信号強度、積分値に直線性があることがわかった。1 ボクセル型 ^{17}O -MRS 撮像シーケンスや複数ボクセル用 ^{17}O -MRS 撮像シーケンスのうち、データ取り込み中に ^1H 核照射した2パルスシーケンスでは、信号強度が1.5倍程度増強されることが示唆された。しかしながら、TRが短い測定であることから測定中にコイル部分に発熱することから、動物実験では ^1H 核照射しないシーケンスで撮像を行うこととなった。

当初は matrix 8x8, FOV 20x20mm, thk: 10mm と1ボクセルあたり 16mm³ という解像度で撮像時間1時間47分(scan 10,000)を要していた。信号強度の定量性の結果を踏まえて、より短時間で測定するために必要な ^{17}O 水の投与量を算出したところ、10分以内で撮像するためには、6倍以上の信号強度が必要であり、20atom%以上の同位体濃縮率でかつ 200 μ L 以上の投与が必要であることが判明した。 ^{17}O 濃縮率の高い試料を投与することで、解像度 0.2mm³ (matrix 7x7 (再構成 32x32), FOV 20x20mm, thk: 1mm) と80倍で撮像時間 21分14秒(scan 2,000)を達成できた。本撮像では、2D-CSI 画像パターンにさまざまな特徴が認められ、疾患によるパターン分類などに展開できる可能性が高いと考えられる。また、単に信号強度だけを測定した場合に最速測定条件では、解像度 0.2mm³ で6分56秒と15倍の高速化も達成できた。 ^1H 核を用いた MRI に比較するとマウス脳組織の微小部分の解析には十分ではないが、 ^{17}O 核観測は主に代謝異常などを網羅的観測するには十分な解像度であると判断される。

インピボ ^{17}O 水定量として、腹腔内麻酔を施した健常マウスに 7%から 70%の ^{17}O 標識水を尾静脈から投与し、マルチボクセル ^{17}O -MRS 測定を実施し、動物実験における検出感度の面から TR/TE といった測定条件やスキャン数や、 ^{17}O 標識水の投与量を検討した。検討結果を踏まえた標識濃度の ^{17}O 標識水を含むリン酸緩衝液を、老齢の AD モデルマウス(App^{NL-F-KI})の尾静脈から投与し、T1,T2 強調 FSE 画像を測定後、最適条件でマルチボクセル ^{17}O -MRS の時系列的観測を実施した。健常マウスと AD マウスの信号強度を比較したところ、AD マウスでは健常マウスと異なる ^{17}O 水分布パターンを示すことが示された。

^{17}O 標識酸素ガス投与実験は、試作したガス発生装置で発生した高濃度ガスを、MRI マグネット中コイルに固定したマウスに一定の流量で投与することでおこなった。 ^{17}O 標識酸素ガスを投与したマルチボクセル ^{17}O -MRS の時系列的観測では、AD マウスと健常マウスでは脳内の ^{17}O 水の生成に関して異なる分布パターンを示し、酸素ガス由来の水生成量も異なることが判明した。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

| |
|--|
| 1. 発表者名 Masashi Tsuda, Masayuki Tsuda, Noboru Nakayama, Shigeru Nakaoka |
| 2. 発表標題 Observation of 170-labeled water in mice brain by 170-MRS |
| 3. 学会等名 第49回日本核磁気共鳴医学会大会 |
| 4. 発表年 2021年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 Masashi Tsuda, Masayuki Tsuda, Noboru Nakayama, Kei Nakaoka, Shigeru Nakaoka |
| 2. 発表標題 Multivoxel 170-MRS of 170-labeled water for murine model of chronic phase cerebral palsy |
| 3. 学会等名 第50回日本核磁気共鳴医学会大会 |
| 4. 発表年 2022年 |

〔図書〕 計0件

〔出願〕 計1件

| | | |
|-------------------------------------|--------------------------|---------------|
| 産業財産権の名称 核磁気共鳴測定法及び核磁気共鳴装置 | 発明者 津田正史、津田雅之、中山登、中岡茂 | 権利者 同左 |
| 産業財産権の種類、番号 特許、PCT/JP2021/008841 | 出願年 2021年 | 国内・外国の別 外国 |

〔取得〕 計0件

〔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 |
|-------|-------------------------------|--|----|
| 研究協力者 | 津田 雅之 (Tsuda Masayuki) | 高知大学・教育研究部医療学系基礎医学部門・教授 (16401) | |

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 |
|---------|---------|
|---------|---------|