

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 5 月 14 日現在

機関番号：13101

研究種目：基盤研究(S)

研究期間：2009～2013

課題番号：21220007

研究課題名(和文)磁気共鳴分子マイクロイメージング開発

研究課題名(英文)Magnetic Resonance Molecular Microimaging

研究代表者

中田 力(Nakada, Tsutomu)

新潟大学・脳研究所・教授

研究者番号：50281720

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 164,400,000円、(間接経費) 49,320,000円

研究成果の概要(和文)：本研究は世界の研究者が過去30年間以上失敗し続けてきたリガンド型MRI分子イメージングの開発を行う極めて挑戦的なプロジェクトであった。その宣言通り期間内で不可能と思われていた夢の画像法開発に成功し、研究代表者によりJJ Vicinal Coupling Proton Exchange (JJVCPE) と名付けられた。具体的には、H₂O¹⁷を用いた水分子と、O¹⁷-PiBを用いたアミロイド分子イメージングが施行され、アクアポリン4を介したVirchow-Robin腔の間質流が β -amyloidのクリアランスに必須でありその機能不全がAlzheimer病の発症機序に強く関連していることを突き止めた。

研究成果の概要(英文)：The research project was one of the most ambitious proposals aiming to develop ligand based MRI molecular imaging, a goal that has eluded world scientists for more than 30 years. Our research team successfully developed such a "dream" imaging method as we promised. The technique utilized O¹⁷, a stable isotope of oxygen, labeled specific ligand and its JJ vicinal coupling to its covalent proton. The method was termed JJ Vicinal Coupling Proton Exchange (JJVCPE) imaging by the project director. We applied this method to study water molecule dynamics utilizing H₂O¹⁷, and beta-amyloid imaging utilizing O¹⁷-PiB in vivo. The studies showed that aquaporin-4 (AQP-4), abundant in glia in brain, plays a major role in the interstitial flow through the Virchow-Robin space. The disturbance in this system, which is critical for beta-amyloid clearance, plays a major role in the pathogenesis of Alzheimer disease.

研究分野：総合領域

科研費の分科・細目：神経科学・神経科学一般

キーワード：MRI 7テスラ MR microscopy 解剖学的解像度 超高磁場 MR spectroscopy hyperpolarization 機能画像

1. 研究開始当初の背景

生命科学研究の最終目的が医療実践への貢献にあることは言うまでもない。分子生物学の劇的な進歩は、これまで治療法の開発など夢物語とさえ考えられていた難治性神経変性疾患でさえも克服できる可能性を生み出している。しかし、同時に、決定的な問題点も浮き彫りにされた。それは、正確な病態の検査法の欠如である。確定診断が顕微鏡による組織病理所見である脳神経変性疾患においては、病態の進行度、あるいは、治療効果の判定を正確に行うためには、繰り返し、脳の各部分の生検を行う必要がある。しかし、それは現実問題として不可能である。最先端医学が直面している、この絶望的なパラドックスを打開する唯一の方法が、生検標本を用いて行われる組織検査と同等の検査を、非侵襲的に試行可能とする画像技術、「臨床生体顕微鏡」の確立である。それにも拘らず、これまで、実践的な技術開発は行われて来なかった。本研究は世界に先駆けて、その実践研究と技術開発を手掛けたチームの先駆的事業である。

2. 研究の目的

磁気共鳴画像 (MRI) で到達可能な空間分解能の理論上の最小値は 4μ である。従って、MRI 画像学研究の最終ゴールは、顕微鏡レベルの MRI 画像、つまりは、MR microscopy を臨床に提供することにある。しかし、臨床に適應する生体顕微鏡の施行には、空間分解能の向上と同時に、対象とする病理所見、例えば、Alzheimer 病における amyloid などを特異的に描写することも必須となる。すなわち、組織検索における免疫染色のような特異性を持った臨床画像である。それは、一般的に molecular imaging と総称されている。臨床応用の可能な molecular imaging の代表が陽電子断層 (PET) であるが、PET における理論上の最高空間分解能が 700μ であることから、PET の技術だけでも、「臨床生体顕微鏡」は完成しない。本研究は、PET の持つ高い特異性と MRI の持つ高い空間分解能とを有機的に融合させた、新しい画像法、ligand 型 MR molecular microscopy を開発することにより、「臨床生体顕微鏡」を確立することを目的としている。

3. 研究の方法

基盤となる画像法は、申請者が開発した新しい画像法で、JJ Vicinal Coupling Proton Exchange (JJVCPE) 法と名付けられたものである。核磁気共鳴 (Nuclear Magnetic Resonance, NMR) 感受性のある原子核は、共有結合を介してお互いに干渉し合い、JJ coupling と呼ばれる現象をおこす。特に共有結合で直接結ばれている原子核同士は強い coupling を示し、vicinal coupling と呼ばれる。自然界で優位に存在する O-16 は NMR 感受性がなく、この現象を示さないが、非放

射性同位元素である O-17 は NMR 感受性があり、隣接した proton と JJ vicinal coupling を呈する。水分子はその一部が解離して proton と塩基とに分かれる。従って、水溶液では、水分子のプロトンは常に交換がなされている。O-17 と coupling したプロトンが水溶液中で解離する分子構造を持つ分子では、水分子の一部に O-17 と coupling したプロトンが入り込むことになり、MRI 信号における $T2^*$ の変化として捉える事が可能となる。ここから、適切な分子構造を持つ O-17 でラベルされた物質の分布を、間接的に画像化することが可能になるのである。本研究では、具体的に二つの molecular imaging に焦点を合わせて、技術開発を遂行した。水分子と β -amyloid である。

4. 研究成果

本研究遂行に必須の hardware/software 開発も重要な成果であるが、工学的な詳細報告は本報告書の主旨と馴染まない。従って、ここでは、代表的な医学・生物学的成果のみを記載する。本研究で使用されている遺伝子改変マウス、リガンドなども、すべて本研究チームにより、開発、作成されたものであり、それ自体、特記すべき成果ではあるが、その記載も省略する。

もともと、MRI 分子イメージングは研究代表者 (中田) をパイオニアとする技術である (Magn Reson Imag 1987; 5:259-266)。MRI 分子イメージングのリガンドには、MRI コントラストに用いられる Gd^{++} などの強い電荷をもつ分子をラベル分子として用いることはできず、全く新しい MRI 画像法を開発する必要があった。この画期的な画像法は、酸素の非放射性同位元素 O-17 を用いた方法で、O-17 と共役結合するプロトンとの JJ vicinal coupling によるエネルギー変化を、水溶液上で水分子のプロトンとの交換により画像として捉える方法論である。研究代表者により JJVCPE 画像法と名付けられている。

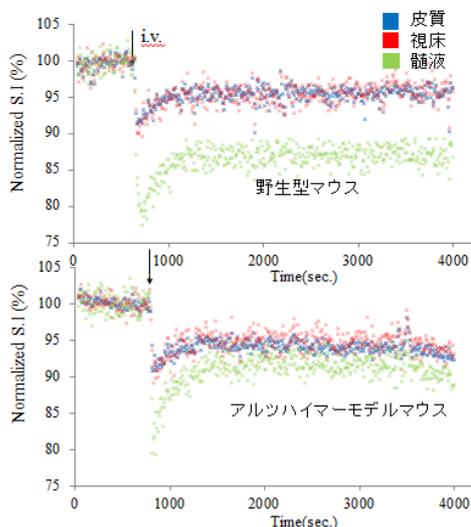
H₂O₁₇ JJVCPE 法による水分子動態解析

JJVCPE 法の具体的な応用として、水分子の動態の詳細解析を生体で行うことを可能とし、脳の高次機能、特に、意識の維持、記憶の保持に大きく関わっていることが明らかにされている水チャンネル、アクアポリン (AQP) をターゲットに研究が進められた。脳の主たるアクアポリンである AQP-4 と毛細血管系のアクアポリンである AQP-1 との遺伝子改変マウスを用いて、脳脊髄液循環が脳の間質流と呼ばれる、Virchow-Robin 間隙に流れ込む水分子に大きく依存することを突き止めた (NeuroReport 2014;25:39-43)。

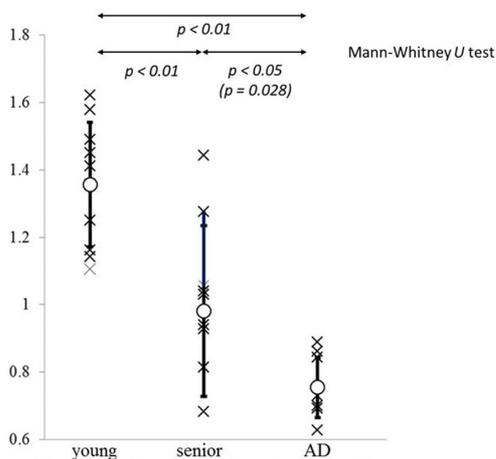
近年、脳の間質流と脳脊髄液循環は、古典的なリンパ流持たない脳のリンパ系であることが再認識され、脳脊髄液の transthyretin の示すシャペロン機能を介して、 β -amyloid

の除去に重要な役割を果たすことも理解されている。研究代表者のチームは、 H_2O^{17} -JJVCPE 法を用いた水動態解析で、Alzheimer 病のモデルマウスにおいて、AQP-4 に直接関係した遺伝子进行操作していないにも拘わらず、AQP-4 ノックアウトマウスで見られると同等の AQP-4 機能低下を示したマウスでのみ、老人斑が形成されることを突き止めた。

一例として、T2 強調画像における H_2O^{17} (30% 0.2ml) 投与後 (矢印) の信号強度変化のマウスの脳における 7.0T 装置での実測値を提示する。赤、青、緑はそれぞれ、皮質、視床、髄液における変化である。アルツハイマーモデルマウスでは髄液に抜ける水の量が減少していることが理解される。



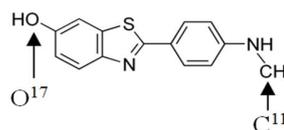
この知見を基に、ヒトにおける水動態の解析研究が H_2O^{15} を用いた陽電子断層 (PET) のプロジェクトとして組まれた。Alzheimer 病 (AD) においては、正常若年者 (young) と比較して顕著な AQP-4 機能低下があることが確認され、健康壮年・老年者の所見から、AQP-4 機能低下が老化の一現象で、AD の発症には β -amyloid 産生と除去とのバランスに崩れが大きく関与していることを突き止めている (下図)。



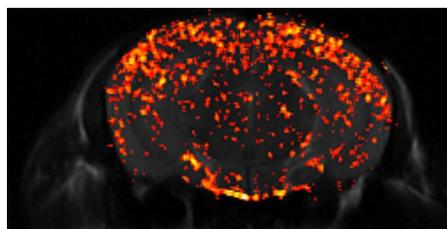
O¹⁷-PIB JJVCPE 法による amyloid 画像

本研究の主体となる目的は PET と同様の分子イメージングを可能とするリガンド型 MRI 分子イメージングであるが、世界の研究者が長年の間失敗し続けてきた、この、夢の画像法の開発に成功している。

PET において amyloid imaging の ligand として開発された PIB は適切な -OH 基を持ち、JJVCPE 法のリガンドとして用いることができる。

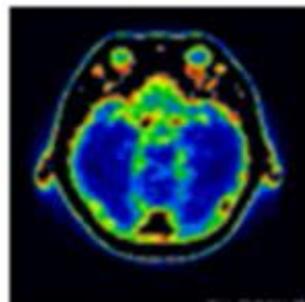


本研究では、O-17 でラベルされた PIB の合成に成功し AD のモデルマウスを用いて、光学顕微鏡と同等のアミロイド画像を生体で獲得することに成功した (J Neurimag 00:1-4, 2014. DOI:10.1111/jon.12091)。



AQP-4 PET 画像

近年、脳における水分子の移動は水分子の特異的な channel による正確な制御を受けることが理解されている。毛細血管の水 channel である AQP-1 は、脳の毛細血管では遺伝子レベルでその発現が完全抑制されており、脳血管関門 (BBB) 形成のための重要な要素となっている。その結果、脳における水分子移動制御の殆どを AQP-4 が担うこととなるが、AQP-4 は脳では astrocyte のみに発現する水 channel である。脳内で AQP-1 が発現する唯一の組織である Choroid Plexus における髄液産生でさえも、AQP-4 の制御下にあることは、本研究で明らかにされている。本研究チームは世界に先駆けて、AQP-4 の分布自体を画像化する、PET 技術の開発にも成功している (J Neuroimaging 23:219-23, 2013)。



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44件中抜粋)

Suzuki K, Igarashi H, Huber VJ, Kitaura H, Kwee IL, Nakada T. Ligand-based molecular MRI; 0-17 JJVCPE amyloid imaging in transgenic mice. *J Neuroimaging*, 査読有, 受理済、電子出版済、2014, DOI:10.1111/jon.12091
Kurabe S, Itoh K, Matsuzawa H, Nakada T, Fujii Y. Expansion of sensorimotor cortical activation for unilateral hand motion during contralateral hand deafferentation. *Neuroreport*, 査読有, 25巻, 2014, 435-439, DOI: 10.1097/WNR.000000000000138
Igarashi H, Tsujita M, Kwee IL, Nakada T. Water influx into cerebrospinal fluid is primarily controlled by aquaporin-4, not by aquaporin-1: 17O JJVCPE MRI study in knockout mice. *Neuroreport*. 査読有, 25巻, 2014, 39-43, DOI: 10.1097/WNR.000000000000042.
Igarashi H, Tsujita M, Suzuki Y, Kwee IL, Nakada T. Inhibition of aquaporin-4 significantly increases regional cerebral blood flow. *Neuroreport*. 査読有, 24巻, 2013, 324-328, DOI: 10.1097/WNR.0b013e32835fc827.
Suzuki Y, Nakamura Y, Yamada K, Huber VJ, Tsujita M, Nakada T. Aquaporin-4 positron emission tomography imaging of the human brain: first report. *J Neuroimaging*. 査読有, 23巻, 2013, 219-223, DOI: 10.1111/j.1552-6569.2012.00704
Huber VJ, Tsujita M, Nakada T. Aquaporins in drug discovery and pharmacotherapy. *Mol Aspects Med*. 査読有, 5-6巻, 2012, 691-703, DOI: 10.1016/j.mam.2012.01.002.
Nakamura Y, Suzuki Y, Tsujita M, Huber VJ, Yamada K, Nakada T. Development of a Novel Ligand, [C]TGN-020, for Aquaporin 4 Positron Emission Tomography Imaging. *ACS Chem Neurosci*. 査読有, 19巻, 2011, 568-571, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3198134/>

[学会発表](計17件中抜粋)

Nakada T, Igarashi H, Suzuki Y, Kwee IL. Alzheimer patients show significant disturbance in water influx into CSF space. 66回アメリカ神経学会、2014年5月1日、米国・フィラデルフィア
Nakada T. High field imaging at 7T, 2013年度国際神経学連盟総会、2013年5月30日、オーストリア、ウィーン
Nakada T. Development of aquaporin-4 PET imaging, 第35回、国際脳循環代謝学会、2011年5月27日、スペイン、バルセロナ

[図書](計4件中抜粋)

中田力, 松澤等, 鈴木清隆. 日本維持新報社、磁気共鳴画像学、2012、277

[その他]

ホームページ等

<http://coe.bri.niigata-u.ac.jp>

6. 研究組織

(1)研究代表者

中田 力 (NAKADA, Tsutomu)
新潟大学・脳研究所・教授
研究者番号: 50281720

(2)研究分担者

西澤 正豊 (NISHIZAWA, Masatoyo)
新潟大学・脳研究所・教授
研究者番号: 80198457

藤井 幸彦 (FUJII, Yukihiko)
新潟大学・脳研究所・教授
研究者番号: 40283014

五十嵐 博中 (IGARASHI, Hironaka)
新潟大学・脳研究所・教授
研究者番号: 20231128

ビンセント ヒューバー
(HUBER, Vincent)
新潟大学・脳研究所・准教授
研究者番号: 40422620

辻田 実加 (TSUJITA, Mika)
新潟大学・脳研究所・准教授
研究者番号: 60397180

鈴木 清隆 (Suzuki, Kiyotaka)
新潟大学・脳研究所・准教授
研究者番号: 40303169

柿田 明美 (KAKITA, Akiyoshi)
新潟大学・脳研究所・教授
研究者番号: 80281012