

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成24年 6月 15日現在

機関番号：82502

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2009～2011

課題番号：21613010

研究課題名（和文）水分子拡散スペクトル画像法の開発による正常および病態脳における生体内組織評価

研究課題名（英文）In vivo tissue characterization for normal and disease models using diffusion spectral imaging

研究代表者

ジェフリー カーショウ（Jeffrey Kershaw）

独立行政法人放射線医学総合研究所・分子イメージング研究センター・準技術員

研究者番号：50508801

研究成果の概要（和文）：

（1）変調可能なMPGパルスを持つDSIを7T高磁場MRIにて開発し実装した、（2）均一な微小粒子によって水分子拡散を調節されたin vitroでのサンプル、および正常ラット小脳を対象に、その理論モデルを構築し検討した、（3）DSIをgliomaモデルに適用し、正常組織との違いを検討した。DSIは、細胞レベルでの水分子のふるまいをより正確に評価し、非侵襲的な計測法であるため、将来の臨床での細胞微小環境の評価に応用が期待できると考えられた。

研究成果の概要（英文）：

（1）A protocol to perform Diffusion spectroscopic imaging (DSI) by adding oscillating MPG pulses to a spin-echo sequence has been developed for our high-field preclinical 7T-MRI. （2）A theoretical model for the DSI was investigated using micro-particle samples (in vitro) and cerebellum of the rats (in vivo). （3）DSI has been applied to a glioma model in vivo and the detectability evaluated. The non-invasive DSI method will be useful technique for characterising tissue/cellular microstructure.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,200,000	360,000	1,560,000
2010年度	1,100,000	330,000	1,430,000
2011年度	1,100,000	330,000	1,430,000
年度			
年度			
総計	3,400,000	1,020,000	4,420,000

研究分野：時限

科研費の分科・細目：非侵襲的神経イメージング

キーワード：水分子拡散、拡散MRI、変調傾斜磁場、小脳、拡散時間、高磁場MRI、ラット、oscillating gradient

1. 研究開始当初の背景

MRIを用いた拡散強調画像法は、脳虚血の早期診断など臨床において普及しているが、どのような分子メカニズムを反映しているの

か不明確な部分が多く残っている。また、より短い拡散時間による水分子のふるまいを分析することで、細胞膜や小器官の状態をより強く反映し、細胞の密度だけでなく大きさ

などを評価しうる方法論が生まれる可能性がある。

## 2. 研究の目的

本研究の目的は、脳における水分子の挙動を反映する NMR 信号の特徴付け (characterization) を行うために、変調をかけた「動き検知用傾斜磁場 (MPG)」を使った「拡散スペクトル・イメージング (DSI)」の方法論を開発し、またその精度を確認する事である。

## 3. 研究の方法

DSI の適用として、まず刺激が導出する神経賦活に関する神経生理学的現象と NMR 信号関係についての更なる理解を得るために、BOLD 効果による脳機能画像法 (fMRI) の研究に集中する。この方法論は、短い拡散時間における水分子のふるまいを検出し、正常脳活動と障害あるいは病的な脳における水分子の動きと MRI 信号との関係について、多くの診断に有用な情報 (特徴付け) をもたらすと考えられる。本研究は、1) 変調可能な MPG パルスを持つ DSI を 7T 高磁場 MRI にて開発し、2) サンプルおよび正常ラットにおいて、その理論モデルを構築し、3) glioma モデルに適用し、正常組織との違いを検討する。

## 4. 研究成果

平成 21 年度は、(a) 拡散スペクトル・イメージング (DSI) の実装について。拡散スペクトル・イメージング・シーケンスを作成し、実験用 7T-MRI (Bruker 社製・ParaVision システムソフトウェア) に実装することに成功した。生体に見立てたファントムおよび均一な微小粒子によって水分子拡散を調節された *in vitro* でのサンプルについて、計測してシーケンスの稼働を確認した。(b) DSI を安静時のラット脳の水分子の動きについて、*in vivo* にて適用した。正常 Sprague-Dawley ラット (180-320 g) を使用し、拡散異方性に富んだ小脳を対象臓器に選定して、画像を得る事に成功した。(c) DSI を脳機能 MRI (fMRI) の研究に適用する予備実験として、BOLD 信号を利用した従来の fMRI 実験に必要なラット前肢刺激実験系 (麻酔下) および計測系に関して、固定法や麻酔方法を最適化し、とりわけ pCO<sub>2</sub> のより安定的な制御法について、一定の水準に達した。(d) DSI で得られたデータを解析するためのソフトウェアとして、MatLab ソフトウェアを用いて自作した。2. 理論モデルに関する研究として、不均一な材質に対する DSI 適用について理論モデルを作成した。

平成 22 年度は、Oscillating gradient シーケンスの作成と多様な *in vitro* サンプル

でのテストに続いて、*in vivo* イメージングの実施を行った。(a) 正常ラット脳において、*in vivo* で組織 Characterization を行った。高磁場 7T-MRI を用いて、ラット小脳を撮像し、拡散異方性を持つ白質繊維における水分子の挙動を 228 もの異なる方向からの傾斜磁場をかけて調べた。計測結果の信頼性と再現性を改善するために、撮像手法を最適化した。さらに、データ解析方法と、そのための後処理ソフトウェアの改善を行い、撮像 5 分後に解析が完了するよう改良された。その結果、小脳白質、小脳灰白質、視覚野および連合線維において、25-133 Hz の変調周波数において、平均拡散の上昇が観察された。一方、fractional anisotropy (FA) 値は、小脳白質のみで減少が観察された。現在、この結果の解釈を検討している。(b) 血液がどのように結果に影響するかを調べるために、常磁性血管内造影剤 (例えば USPIO) を使って、血管内からの信号寄与を変化させて撮像した。(c) 組織の微細構造が変化する病態 (gliosarcoma や neuroblastoma) のラットモデルに、本法を適用するために、免疫不全ラットと腫瘍細胞種について調査し、予備的な検討を行った。理論面での検討に関しては、(a) 組織の微小環境の変化を定量的に抽出するための計測技術の開発を試みた。

最終年度は、統計的処理に必要な十分なデータ収集の追加およびデータ解析を行い、組織の微細構造について定量的な解析を行い、拡散時間の短いものと長いものとで、異なった信号源があることが推定できた。この結果は、組織の水の動きにおいて、「制限された拡散仮説」と一致することが示唆され、これらの結果をまとめて論文を執筆し国際誌に投稿した。この研究は、見かけの拡散異方性の変化を提示する最初の Oscillating gradient を用いた研究になり、DSI の基本的コンセプトの提示に成功した。併せて、派生的な研究として、拡散脳機能画像法において磁化率に異方性がある事を見出し、そのメカニズムに関する初期的な検討も実施した。

## 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 4 件)

- ① Leuze C, Kimura Y, Kershaw J, Shibata S, Saga T, Chuang KH, Shimoyama I, Aoki I, Quantitative measurement of changes in calcium channel activity *in vivo* utilizing dynamic manganese-enhanced MRI (dMEMRI), *NeuroImage*, 査読有、60 巻、2011、392-399  
DOI:10.1016/j.neuroimage.2011.12.030
- ② Odaka K, Aoki I, Moriya J, Tateno K,

- Tadokoro H, Kershaw J, Minamino T, Irie T, Fukumura T, Komuro I, Saga T, In Vivo Tracking of Transplanted Mononuclear Cells Using Manganese-Enhanced Magnetic Resonance Imaging (MEMRI), PLoSOne, 査読有、2011、6 巻、e25487 DOI:10.1371/journal.pone.0025487
- ③ Autio JAA, Kershaw J, Shibata S, Obata T, Kanno I, Aoki I, High b-value diffusion-weighted fMRI in a rat forepaw electrostimulation model at 7T, NeuroImage, 査読有、57 巻、2011、140-148 DOI:10.1016/j.neuroimage.2011.01.006
- ④ Jeffrey Kershaw, Moyoko Tomiyasu, Kenichi Kashikura, Yoshiyuki Hirano, Hiroi Nonaka, Hiroo Ikehira, Iwao Kanno, Takayuki Obata, et al., A multi-compartmental SE-BOLD interpretation for stimulus-related signal changes in diffusion-weighted functional MRI, NMR in Biomedicine, 査読有、22 巻、2009、770-778
- [学会発表] (計 11 件)
- ① Jeffrey Kershaw, Biexponential modeling of diffusion-weighted MRI of rat brain before and after global ischaemia, 第 39 回日本磁気共鳴医学会大会、2011.10.1、北九州市：リーガロイヤルホテル小倉
- ② Jeffrey Kershaw, Alternative interpretations for high b-value diffusion-weighted fMRI signal changes, 第 13 回日本ヒト脳機能マッピング学会、2011.9.2、京都市：京都国際会館
- ③ Jeff Kershaw, Christoph Leuze, Takayuki Obata, Iwao Kanno, Ichio Aoki, Changes to the fractional anisotropy and mean diffusivity of in vivo rat brain measured at short effective diffusion-times, 19th Annual Meeting & Exhibition, 2011.5.11, カナダ：モントリオール
- ④ Jeffrey Kershaw, Takayuki Obata, Christoph Leuze, Autio Joonas, Ichio Aoki, Investigating ADC at short effective diffusion-times using oscillating-gradient diffusion MRI、第 38 回日本磁気共鳴医学会大会、2010.9.30-10.2、つくば市：エポカルつくば
- ⑤ Jeffrey Kershaw, Takayuki Obata, Christoph Leuze, Autio Joonas, Ichio Aoki, Investigating ADC at short effective diffusion-times using oscillating-gradient diffusion MRI,

- World Molecular Imaging Congress 2010, 2010.9.8-9.11, 京都市：国立京都国際会館
- ⑥ Jeffrey Kershaw, Christoph Leuze, Joonas Autio, Sayaka Shibata, Takayuki Obata, Iwao Kanno, Ichio Aoki, Observation of modified diffusion anisotropy in in vivo rat cerebellum using oscillating-diffusion-tensor MRI, World Magnetic Resonance Conference, 2010.7.5-9, Florence, Italy
- ⑦ Jeffrey Kershaw, Christoph Leuze, Joonas Autio, Sayaka Shibata, Takayuki Obata, Iwao Kanno, Ichio Aoki, Observation of modified diffusion anisotropy in in vivo rat cerebellum using oscillating-diffusion-tensor MRI, 日本分子イメージング学会 第 5 回総会、2010.5.22、大津市：ピアザ淡海
- ⑧ 小高 謙一、青木 伊知男、Kershaw Jeffrey、菊池 達矢、福村 利光、菅野 巖、田所 裕之、森谷 純治、館野 馨、南野 徹、小室 一成、移植細胞の動態評価法の開発：急性心筋梗塞ラットにおけるマンガン標識とインジウム 111 標識の比較、第 32 回千葉大学循環病態医科学・循環器内科懇話会、2009.12.13、千葉市：京成ミラマール
- ⑨ 黒岩 大悟、川口 拓之、Kershaw Jeffrey、橘 篤導、青木 伊知男、菅野 巖、小島 隆行、Diffusion-Weighted fMRI における視覚刺激時の R2 の変化、日本磁気共鳴医学会、2009.10.1-10.3、横浜市：パシフィック横浜ベイホテル東急
- ⑩ 黒岩 大悟、Kershaw Jeffrey、川口 拓之、ヨナス オーティオ、平野 勝也、青木 伊知男、菅野 巖、小島 隆行、低拡散水が包含する情報細胞の選択的画像化—低拡散信号によるファンクショナル MRI—、日本分子イメージング学会、2009.5.14-5.15、東京：学術総合センター
- ⑪ Autio Joonas, Jeffrey Kershaw, Takayuki Obata, Daigo Kuroiwa, Iwao Kanno, Ichio Aoki, Diffusion-Weighted TE-dependent fMRI Signal in Rat Somatosensory Cortex at 7T、International Society for Magnetic Resonance in Medicine, 2009.4.18-4.24、ホノルル：Hawai' I Convention Center

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

ジェフリー カーショウ (Jeffrey Kershaw)

独立行政法人放射線医学総合研究所・分子  
イメージング研究センター・準技術員  
研究者番号：50508801

(2) 連携研究者

青木 伊知男 (Aoki Ichio)  
独立行政法人放射線医学総合研究所・分子  
イメージング研究センター・チームリ  
ーダー

研究者番号：10319519

小畠 隆行 (Obata Takayuki)  
独立行政法人放射線医学総合研究所・分子  
イメージング研究センター・チームリ  
ーダー (2009、2010)

独立行政法人放射線医学総合研究所・重  
粒子医科学センター・チームリーダー  
(2011)

研究者番号：00285107

(3) 研究協力者

オーティオ ヨーナス (Autio Joonas)  
独立行政法人放射線医学総合研究所・分子  
イメージング研究センター・技術員  
(2009、2010)

クリストフ ライゼ (Christoph Leuze)  
MAX Planck Institute for Human  
Cognitive and Brain Leipzig

柴田 さやか (Shibata Sayaka)  
独立行政法人放射線医学総合研究所・分子  
イメージング研究センター・技術員

伊藤 浩 (Ito Hiroshi)  
独立行政法人放射線医学総合研究所・分子  
イメージング研究センター・チームリ  
ーダー (2011)

研究者番号：20360357

田桑 弘之 (Takuwa Hiroyuki)  
独立行政法人放射線医学総合研究所・分子  
イメージング研究センター・主任研究  
員 (2011)

研究者番号：40508347