

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 25 年 6 月 17 日現在

機関番号：82101

研究種目：基盤研究(B)

研究期間：2010～2012

課題番号：22390238

研究課題名（和文）MRI 横緩和速度を用いる生体鉄とヒト神経変性疾患に関する研究

研究課題名（英文）Relationship between bioiron and neurodegenerative disease investigated through the proton relaxation rate by MRI

研究代表者 三森文行 (Fumiyuki Mitsumori)

独立行政法人国立環境研究所・環境計測研究センター・客員研究員

研究者番号：90125229

研究成果の概要（和文）：これまでに明らかにした、ヒト脳組織水の見かけの横緩和速度(R_2^{\dagger})が局所鉄濃度($[Fe]$)と高分子量分画(f_M)の線形結合 ($R_2^{\dagger} = \alpha[Fe] + \beta f_M + \gamma$, α, β, γ は定数)により記述できることを利用して、測定した R_2^{\dagger} より脳の鉄分布画像を得る方法を開発した。この鉄画像法により、神経変性疾患、無セルロプラスミン血症患者では脳の全域において、健常被験者脳のおよそ4倍の鉄蓄積が見られることを明らかにした。また、前記の線形結合式が 1.5T から 7T の広い測定磁場で成立することを実証し、 α, β, γ の磁場依存性からヒト脳の緩和機構を明らかにした。

研究成果の概要（英文）：We developed an in vivo iron imaging method using a relationship of the observed apparent transverse relaxation rate, R_2^{\dagger} of human brain water, the iron concentration, $[Fe]$, and the macromolecular mass fraction, f_M ($R_2^{\dagger} = \alpha[Fe] + \beta f_M + \gamma$, α, β, γ are coefficients). Iron image obtained with a patient with aceruloplasminemia showed approximately 4 times increase in the iron concentration compared with healthy subjects in all brain regions. We also clarified that the above relationship is valid at wide range of magnetic field from 1.5 to 7T. Field dependent change in α, β, γ gave us a clue to uncover the mechanism of relaxation in human brain.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	5,400,000	1,620,000	7020000
2011年度	4,800,000	1,440,000	6240000
2012年度	4,100,000	1,230,000	5330000
年度			
年度			
総計	1,4300,000	4,290,000	18,590,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・放射線科学

キーワード：高磁場 MRI, 横緩和速度, ヒト脳, 生体鉄, 神経変性疾患

1. 研究開始当初の背景

アルツハイマー病に代表される神経変性疾患の増大は大きな社会問題となってきている。この病因については患者死後脳で著しいアミロイド集合体の蓄積が見られることからアミロイド仮説が提唱された。しかし、ア

ミロイドを大量に蓄積する病態モデル動物では神経変性は発症せず、またアミロイド蓄積が起きているヒトにおいても長期にわたって神経変性が起こらないことから、単純なアミロイド仮説には疑問が呈された。一方、アルツハイマー病患者死後脳では、アミロイ

ドの沈着の起きた部位に鉄の蓄積が見られること、病態の進展と平行して脳内の鉄濃度の増大が見られることから、同病の病因と鉄蓄積に深い関係があるのではないかという疑いが生じた。しかし、これまで、脳内の鉄濃度の定量には死後の解剖試料の化学分析を待つしかなく、*in vivo*での鉄画像法の開発が待たれていた。この点に関して、我々は平成19～21年に基盤研究(B)「高磁場MRIによる含鉄タンパク質フェリチンの定量化と分子イメージングへの適用研究」において、MRIで測定可能な脳組織水の見かけの横緩和速度から鉄分布画像を得られる可能性を示した。

2. 研究の目的

本研究においては、以下の3点の実現を目的とした。

- (1) これまでに我々が得たヒト脳の見かけの緩和速度と脳内鉄濃度、および高分子分画の相関式を用いてヒト脳の鉄濃度分布を画像化できる方法を開発する。
- (2) 開発した方法を用いて、銅蛋白質セルロプラスミン遺伝子の変異により鉄の異常代謝をきたし神経変性を発症する無セルロプラスミン血症患者脳と健常被験者の脳の鉄分布画像を測定し、その差異を明らかにする。
- (3) この画像化法の立脚する科学的基盤を明らかにするために、ヒト脳組織水の横緩和に寄与する鉄や高分子量成分の寄与、その機構について妥当なモデルを提案する。

3. 研究の方法

(1) *in vivo* 脳の鉄分布画像作成法

本研究ではまず、これまでに脳組織水の見かけの横緩和速度 R_2^{\dagger} ($=1/T_2^{\dagger}$) と、局所鉄濃度 $[Fe]$ 、高分子量分画 f_M と $(1 - f_w)$ で定義される; f_w は水の分画) の間に実験的に下記の線形式が得られている 4.7T の磁場強度において、同式を用いて $[Fe]$ の分布画像を計算することをめざす。

$$R_2^{\dagger} = 0.47[Fe] + 24.9f_M + 9.54 \quad [1]$$

ここで、 R_2^{\dagger} は我々の開発した MASE 測定法で 6 エコーの単指数関数フィットより得られるが、同時に得られる M_0 画像は基本的に脳内の水分分布に対応した画像を与える。しかし、高磁場においては、RF の不均一により M_0 画像には歪みが生じている。この M_0 より、 f_w を得、さらに f_M 画像を得るためには、 M_0 画像に対して B_1 不均一の補正を行う必要がある。我々の測定では、断熱 RF パルスを用いているため送信時の B_1^+ 不均一は免れているが、受信時の B_1^- 不均一を補正しなければならない。脳の B_1^- 分布を直接測定する方法はないため、下記の方法を考案した。

B_1^+ と B_1^- の間には一定の相関があるものと仮定し、位相法を用いて被験者脳の B_1^+ 画像を測定する。同一被験者脳を MASE 法により測定し、 $B_1^- M_0$ 画像を得る、後者を前者により除し、 $B_1^- M_0 / B_1^+$ 画像を作成する。これは、 B_1^- / B_1^+ 比が個人ごとの M_0 で変調された画像となっている。部位ごとの M_0 の変動や、個人差を除くため、24 被験者でこの比を平均し、残存する M_0 の影響をローパスフィルターで除くと、万人に適用可能な B_1^- / B_1^+ 比 ($=\rho$) を得ることができる。個々の被験者で B_1^+ を測定し ρ をかければ、個人ごとの B_1^- が得られることになる。この B_1^- をもって MASE 法で得られる $B_1^- M_0$ を補正することにより、RF 不均一の影響を除いた M_0 画像が得られ、これより水分分布画像 f_w を作製し、 $1 - f_w$ により f_M 画像を得た。ここに、得られた R_2^{\dagger} 、 f_M の両画像を式[1]に代入して鉄分布画像を得た。なお、当初の仮定はファントム試料測定において実証された。また、本補正法は、この補正法により、4.7T における RF 不均一により歪んだ画像強度が均一に補正できることから妥当性を保証されるものと考えられる。

(2) 無セルロプラスミン血症患者脳と健常被験者脳の鉄分布画像比較

研究分担者、宮嶋により遺伝子解析により同定された無セルロプラスミン血症患者の脳の MASE 測定、全頭 3 次元 T_1 強調画像、 T_1 画像の測定を行った。被験者は 60 歳男性で、網膜変性があり、30 年以上にわたって糖尿病を患っている。これらは、典型的な無セルロプラスミン血症の症状である。対照群として健常な 60 歳男性 4 名において同様の測定を行った。得られた画像より、(1) で記した方法により鉄分布画像を作成し、比較を行った。

(3) ヒト脳組織水における横緩和機構の検討

以上の測定、解析は 4.7T の磁場強度において行うが、緩和機構についての手がかりを得るためには、磁場強度を変えて測定を行う必要がある。このため、低磁場の 1.5T、および 1.9T の測定は、我々の有している 4.7T MRI 装置の主磁場強度を変えて測定を行った。なお、1.9T では既存の 4.7T 装置の ^{31}P チャンネルを利用して測定を行った。1.5T 測定には新規のバードケージ型信号検出器を作製した。また、3T、7T の測定は、研究協力者であるマイケル・ガーウッド博士のミネソタ大学の研究室に設置されたシーメンスの MRI 装置を借用した。この測定のために、研究代表者が以前にアジレント MRI 装置用に開発した MASE 測定法のシーメンス装置への移植を行った。これにより、現在、ヒトの測定が行われている 1.5T から 7T の広い磁場強度の範囲においてヒト脳の見かけの横緩和速度の測定を行うことができ、緩和機構につい

での検討を行えるようになった。1.5T、1.9T、3T、4.7T、7Tの磁場強度で、それぞれ、12名、10名、5名、38名、6名の健常な男女被験者において測定を実施し、得られた R_2^* を、 $[Fe]$ 、 f_M を変数として重回帰分析を行い、それぞれの磁場強度で式[1]に当たる線形結合式を求めた。

4. 研究成果

(1) 図1に20歳の女性健常被験者の脳の鉄分布画像を示す。鉄濃度は0~20mg Fe/100g fr. wt.のカラースケールで示され、赤色の最も鉄濃度が高い領域は基底核の淡蒼球(globus pallidus)に相当する。また、内包後脚、

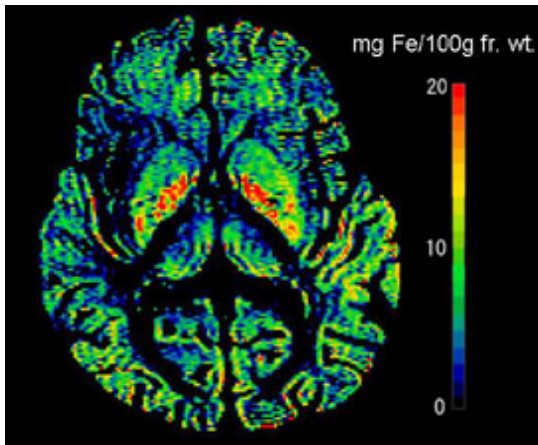


図1. 20歳健常女性脳の鉄分布画像。鉄濃度は0~20mg Fe/100g fr.wt.のカラーロードで表示している。

視放線領域は鉄のほとんどない黒で表示されている。後頭葉や一部の側頭皮質、前頭皮質では周辺の白質部位に比較して鉄濃度が高くなっている。脳内各部位における鉄濃度の絶対値(たとえば淡蒼球:15mg/100g fr.wt., 前頭皮質:3.5mg/100g fr.wt., 白質:3mg/100g fr.wt.)も、これまでに死後脳の化学分析で得られた20歳女性の値と一致しており、今回開発を行ったin vivo脳の鉄分布画像法は妥当であると評価した。

(2) 図2に無セルロプラスミン血症患者脳、および性、年齢のマッチした健常者脳の鉄分布画像を示す。鉄濃度は、いずれも図1と同じカラースケールで示している。健常者脳では、20mg/100g fr.wt.を超える鉄濃度は淡蒼球や、後頭葉、側頭葉皮質の一部のみで見られるのに対し、患者脳では脳のほぼ全域でこの濃度を超過していることが明瞭にわかる。

患者脳の大脳基底核、被殻(putamen)、淡蒼球(globus pallidus)では多量に蓄積した鉄のため T_2^* 値が検出限界を超えて短くなっているため、鉄分布画像上ではボイドとなっている(図上、緑の線で示す)。周辺の測定値より、これらの部位の鉄濃度は60mg/100g fr.wt.を超えるものと推定される。

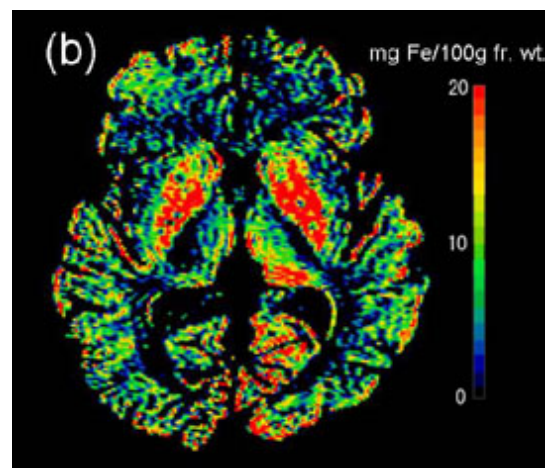
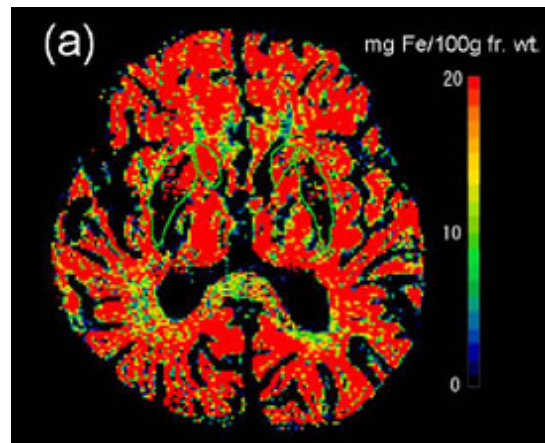


図2. (a) 無セルロプラスミン血症患者(60歳男性)脳、及び(b) 健常被験者(60歳男性)脳の鉄分布画像。鉄濃度は0~20mg Fe/100g fr.wt.のカラーロードで表示している。

図3に患者脳および性、年齢のマッチした4名の健常被験者脳の8個の領域で得られた鉄濃度の比較を示す。患者脳では脳の全域にわたって、健常被験者に比べておよそ4倍の鉄濃度の増大が見られる。鉄濃度の増大が患

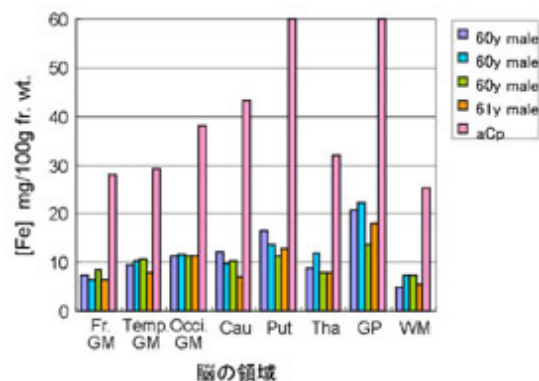


図3. 無セルロプラスミン血症患者脳と健常被験者4名の脳の8領域における鉄濃度の比較。

者脳の全域に及んでいることは、鉄が主にアストロサイトに蓄積するというこれまでの知見と一致している。

新しく開発した鉄分布画像法を用いることにより、無セルロプラスミン血症患者脳での異常な鉄濃度の増大を *in vivo* で定量的にとらえられることを示した。他の神経変性疾患においても、本法を用いて、これまで死後脳で繰り返し報告されている脳の鉄濃度の増大を *in vivo* でとらえ、診断や治療経過の観察に応用できる可能性がある。

(3) (1)で提案した新しい脳の鉄分布画像法は、脳組織の水プロトンの見かけの横緩和速度が局所の鉄濃度、蛋白質や脂質等の巨大分子の存在量により定量的に記述できるという実験的事実に依存している。その理論的背景はこれまで明らかにされていないため、ここでは緩和速度の磁場依存性を追求し、記述式の変動よりその機構の解明をめざす。1.5, 1.9, 3, 4.7, 7T の5種の磁場強度で測定した見かけの横緩和時間 T_2^\dagger マップを図4に示す。各

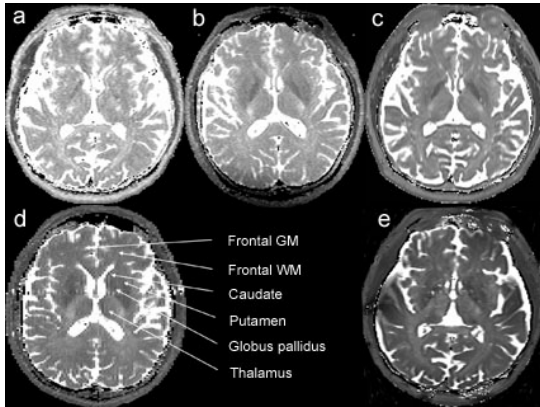


図4. (a)1.5T, (b)1.9T, (c)3T, (d)4.7T, (e)7Tにおける T_2^\dagger マップ。重回帰分析に用いた T_2^\dagger のサンプリング領域を(d)に示した。

部位の T_2^\dagger が磁場強度の増大に伴って短くなっていることが明瞭に見て取れる。各磁場強度において脳内6部位の重回帰分析により得られた回帰式は[2]~[6]で示される。

$$1.5T: R_2^\dagger = 0.15[Fe] + 21.5f_M + 6.67 \quad [2]$$

$$1.9T: R_2^\dagger = 0.18[Fe] + 23.4f_M + 6.62 \quad [3]$$

$$3T: R_2^\dagger = 0.33[Fe] + 20.8f_M + 8.95 \quad [4]$$

$$4.7T: R_2^\dagger = 0.47[Fe] + 24.9f_M + 9.54 \quad [5]$$

$$7T: R_2^\dagger = 0.66[Fe] + 39.3f_M + 10.31 \quad [6]$$

これより、[Fe]、 f_M の寄与を示す α 、 β 、及び定数項 γ を観測磁場強度に対してプロットすると、図5を得る。

横緩和速度に対する鉄の寄与 α は磁場強度に対して直線的に増大し、その y 切片はほ

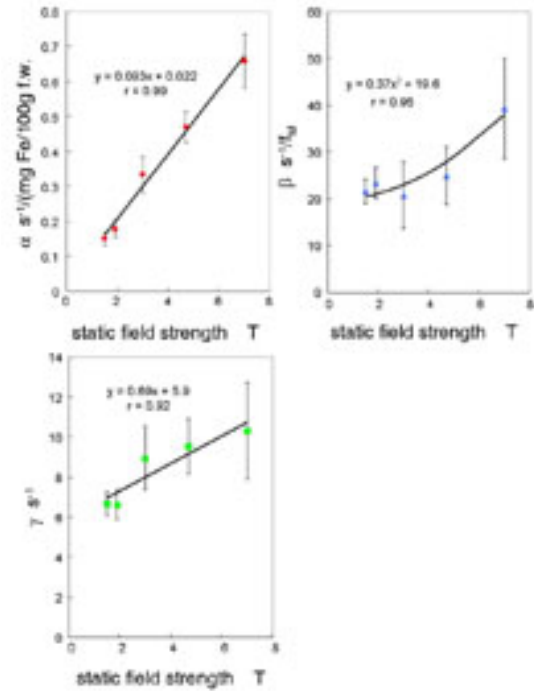


図5. (左上) α , (右上) β , (左下) γ の観測磁場強度依存性。

とんどゼロである。この磁場依存性はフェリチン分子水溶液の水分子プロトンの緩和挙動と全く同一で、ヒトの脳内においても、鉄に関してはフェリチン水溶液と同じ緩和機構が働いていることを強く示唆する。

一方、 β は磁場強度の2乗に比例する挙動を示し、きわめて大きな y 切片を有する。 γ は磁場に対する依存性が小さくほとんど一定である。以下に、横緩和速度に対する巨大分子の寄与について、バルクの水プロトンと巨大分子上のプロトンの2種類の化学交換機構を考え、磁場依存性で見られる挙動がうまく説明できるか否かを考察する。

最初にバルク水と、巨大分子のアミド、アミノ、水酸基等の交換性プロトンとの化学交換を考える。この交換反応のもたらし横緩和速度 R_{ex} は式[7]で表される。

$$R_{ex} = P_s P_f \delta \omega^2 k_{ex} / [k_{ex}^2 + \{(2\sqrt{3} / \tau_{es})^4 + P_s^2 \delta \omega^4\}^{1/2}] \quad [7]$$

ここで、 P_s 、 P_f はそれぞれ、バルク水、巨大分子交換サイトの相対的ポピュレーションで $P_s + P_f = 1$ である。 $\delta \omega$ は両交換サイトの化学シフト差、 k_{ex} は交換速度、 τ_{es} は測定に用いたエコースペース時間、13ms である。 $\delta \omega^2$ の存在により、緩和速度は観測磁場強度の2乗に比例して増大する。ここでは、 $P_f = 0.02$ 、 $k_{ex} = 5000\text{Hz}$ 、 $\delta \omega = 0.2\text{ppm}$ を想定した。

第二の交換反応としては、バルク水と、巨大分子内部に強固に結合した結合水や交

換性プロトンとの遅い交換を考える。この場合は、バルク水の線幅の小さなピークと結合水の線幅の広いピークが化学シフト差なしに重なり合う構造になる。バルク水の横緩和速度 R_{2s} は式[8]で表される。

$$R_{2s} = 0.5 [R_{2f0} + R_{2s0} + k_f + k_s - \{(R_{2f0} - R_{2s0} + k_f - k_s)^2 + 4k_f k_s\}^{1/2}] \quad [8]$$

ここで、 R_{2f0} 、 R_{2s0} はそれぞれ結合水、バルク水プロトンの交換がない場合の横緩和速度、 k_f 、 k_s はそれぞれ、結合水からバルク水、バルク水から結合水への交換速度である。ここでは、バルク水、結合水の回転相関時間としてそれぞれ、 $1 \sim 1.5 \times 10^{-10}$ s、 5×10^{-5} s を想定して R_{2f0} 、 R_{2s0} を計算し、 $k_s = 1 \sim 3$ Hz を想定した。

この2つの化学交換モデルで想定したパラメータはいずれもこれまでにヒト脳の磁化移動測定や、z スペクトロスコピー測定で得られた値と合致したものである。実際にヒト脳で測定される横緩和速度は2つの交換反応がほぼ均等に寄与しているものと仮定すると、図6の実線で示す結果を得た。脳の6つの部位における実測値をよく説明できる結果が得られた。

なお、 γ については、バルク水プロトン同士の古典的雙極子相互作用に由来するものと考えられる。これにより、実験的に得られた、ヒト脳の見かけの緩和速度への、鉄の寄与、巨大分子の寄与、水分子同士の雙極子相互作用の寄与の線形結合式について妥当な機構モデルが提出できたものとする。

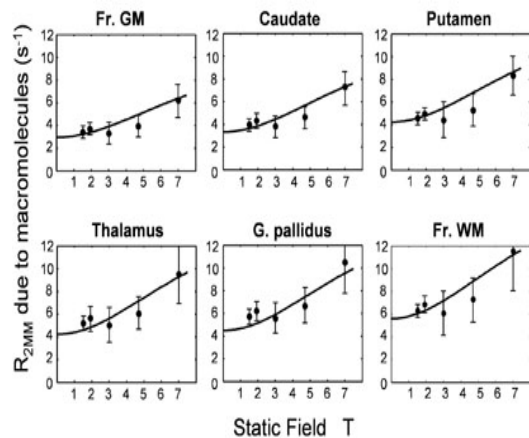


図6. 脳の6つの部位において、バルク水と巨大分子間の2種の化学交換を考慮して得られた横緩和速度の計算値(実線)と実測より得られた βf_M の値(黒丸)。

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12件)

- ① Mitsumori F, Watanabe H, Takaya N, 他4名: Toward understanding transverse relaxation in human brain through its field dependence. *Magn. Reson. Med.* 68, 947-953 (2012). [査読有]
- ② Watanabe H, Takaya N, Mitsumori F: Highly resolved two dimensional 1H spectroscopy of human brain using ISIS CT-PRESS with resolution enhancement. *Magn. Reson. Med. Sci.* 11, 235-241 (2012). [査読有]
- ③ Hattori A, Miyajima H, Tomosugi N, Tatsumi Y, Hayashi H, Wakusawa S: Clinicopathological study of Japanese patients with genetic iron overload syndromes. *Pathol. Int.* 62, 612-618 (2012). [査読有]
- ④ Miyajima H Editorial: Neurodegeneration with brain iron accumulation. *Curr. Drug Targets* 13, 1181-1181 (2012). [査読有]
- ⑤ Mitsumori F, Watanabe H, Takaya N: Quantitative iron mapping in human brain based on the apparent transverse relaxation time. *Proc Int. Soc. Magn. Reson. Med.*, 19, 4513-4513 (2011). [査読有]
- ⑥ Watanabe H, Takaya N, Mitsumori F: Non-uniformity correction of human brain imaging at high field by RF field mapping of B_1^+ and B_1^- . *J Magn. Reson.*, 212, 426-430 (2011). [査読有]
- ⑦ Watanabe H, Takaya N, Mitsumori F: Asymmetric field distribution in B_1^+ and B_1^- maps are caused by phase differences in field components in the laboratory frame. *Proc. Intl. Soc. Mag. Reson. Med.* 19, 4421-4421 (2011). [査読有]
- ⑧ Suzuki M, Kosugi I, Terada T, Shirakawa K, Suzuki H, Kono S, Miyajima H: A case of Epstein-Barr virus associated post-transplant lymphoproliferative disorder with CNS involvement: pathological findings at both biopsy and autopsy. *Neuropathol.* 31, 440-445 (2011). [査読有]
- ⑨ Mitsumori F, Watanabe H, Takaya N, Garwood M, Auerbach EJ: Transverse relaxation of tissue water in human brain: relative contributions of iron and macromolecules., *Proc. Int. Soc. Magn. Reson. Med.*, 18, 4976-4976 (2010).

- ⑩ Takaya N, Watanabe H, Mitsumori F: Transverse relaxation of water in ferritin gel: relative contributions of iron and gel., Proc. Intl. Soc. Magn. Reson. Med., 18, 2966-2966 (2010). [査読有]
- ⑪ Watanabe H, Takaya N, Mitsumori F: Image inhomogeneity correction in human brain at high field by B_1^+ and B_1^- maps. Proc. Intl. Soc. Mag. Reson. Med. 18, 2841-2841 (2010). [査読有]
- ⑫ Kono S, Yoshida K, Tomosugi N, Terada T, Hamaya Y, Kanaoka S, Miyajima H: Biological effects of mutant ceruloplasmin on hepcidin-mediated internalization of ferroportin. Biochim. Biophys. Acta 1802, 968-975 (2010).

[学会発表] (計 10 件)

- ① Mitsumori F, Watanabe H, Takaya N, Miyajima H: Iron mapping in human brain using apparent transverse relaxation rate and macromolecular mass-fraction obtained by multiecho adiabatic spin echo measurements. ENC2013, 2013.4.16 (Asilomar) (招待講演).
- ② 三森文行: 脳における T2 の機構. 第 40 回日本磁気共鳴医学会大会, 2012.9.7 (京都) (招待講演).
- ③ 三森文行, 渡邊英宏, 高屋展宏, 宮嶋裕明: 神経変性疾患無セルロプラスミン血症患者脳の鉄分布画像. 第 40 回日本磁気共鳴医学会大会, 2012.9.7 (京都).
- ④ Mitsumori F: Journey of in vivo NMR to MRI – special focus on T2 and iron in human brain. The International Symposium on Nuclear Magnetic Resonance 2011, 2011.11.17 (Yokohama) (招待講演).
- ⑤ 三森文行: in vivo NMR—細胞からヒトまで, 構造生物応用研究会, 2011.11.6 (東京) (招待講演).
- ⑥ 宮嶋裕明: 脳の鉄代謝調節とその破綻による神経変性症. 第 15 回 日本適応医学学会学術集会, 2011.6.24 (浜松) (招待講演).
- ⑦ Mitsumori F: In vivo iron mapping in healthy and diseased brains at 4.7T, CMRR Seminar, 2010.12.14 (Minneapolis) (招待講演).
- ⑧ Mitsumori F: T2 contrast and brain iron., Symposium “Brain physiology and image contrast” in Japanese Society of Magnetic Resonance in Medicine 2010, 2010.10.1 (Tsukuba) (招待講演).
- ⑨ Mitsumori F, Watanabe H, Takaya N, Garwood M, Auerbach EJ: Towards

Understanding Transverse Relaxation Mechanisms of Tissue Water in human brain., Joint EUROMAR2010 and 17th ISMAR Conference, 2010.7.5 (Florence).

- ⑩ 渡邊英宏, 高屋展宏, 三森文行: B1+, B1-マッピングを用いた高磁場でのヒト脳画像不均一補正, 第 38 回日本磁気共鳴医学会大会, 2010.10.1 (つくば).

[図書] (計 3 件)

- ① 三森文行, 渡邊英宏: 二次元MR S, 選択照射を用いるスペクトル編集法「磁気共鳴スペクトルの医学応用 (成瀬昭二監修)」, インナービジョン, 東京 pp 272-277, pp.278-284 (2012).
- ② 河野智, 宮嶋裕明: 無セルロプラスミン血症の鉄過剰とその特徴. 「慢性肝炎における鉄毒性と除鉄治療. ~C 型慢性肝炎を中心に~日本鉄バイオサイエンス学会 (編)」, 医薬ジャーナル社. pp.179-191, (2012).
- ③ 三森文行: ヒト脳の MRI 画像コントラストは何で決まるか. 「広がる NMR の世界」, pp.118-121 コロナ社, 東京 (2011).

6. 研究組織

(1) 研究代表者

三森 文行 (MITSUMORI FUMIYUKI)
独立行政法人国立環境研究所・
環境計測研究センター・客員研究員
研究者番号: 90125229

(2) 研究分担者

渡邊 英宏 (WATANABE HIDEHIRO)
独立行政法人国立環境研究所・
環境計測研究センター・主任研究員
研究者番号: 60370269

宮嶋 裕明 (MIYAJIMA HIROAKI)
浜松医科大学・
医学部・教授
研究者番号: 90221613

(3) 連携研究者

瀬山 春彦 (SEYAMA HARUHIKO)
独立行政法人国立環境研究所・
環境計測研究センター・室長
研究者番号: 40142096