

令和 6 年 6 月 5 日現在

機関番号：82502

研究種目：挑戦的研究（萌芽）

研究期間：2022～2023

課題番号：22K19393

研究課題名（和文）超偏極MRSとDREADDによるアストロサイトイメージングバイオマーカー開発

研究課題名（英文）Development of Astrocyte Imaging Biomarkers Using Hyperpolarized MRS and DREADD

研究代表者

高堂 裕平（Yuhei, Takado）

国立研究開発法人量子科学技術研究開発機構・量子生命科学研究所・主幹研究員

研究者番号：60593564

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）：アストロサイトは脳内で重要な役割を担うことが明らかになりつつあるが、神経細胞と異なり電気活動を示さないため、活動性指標はカルシウム濃度に基づき、マクロな視点でのアストロサイト活動評価は困難である。本研究では、アストロサイトの脳内における活動の意義を明らかにするために、アストロサイトの活動性を反映するバイオマーカーを確立することを目指した。マウスのアストロサイトのカルシウム濃度をDREADDで操作し、このときの脳内環境の変化を、種々のイメージングバイオマーカーで評価をしたところ、超偏極¹³Cピルビン酸及び¹⁸F-FDG-PETがアストロサイトの活動を反映するイメージングになる可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

世界初の覚醒下マウス超偏極MRIといった技術的に挑戦的な手法を用い、DREADDによるアストロサイト操作のマウスを対象にアストロサイトイメージングバイオマーカーを開発することを目指す点が挑戦的な課題であった。本研究により、¹³Cピルビン酸からの代謝がアストロサイトの活動に関与する可能性が示唆された。アストロサイトの活性化はアルツハイマー病や神経変性疾患の早期の病態進行で重要な意義を有することが近年明らかになってきており、今回の結果をもとにイメージングバイオマーカーの検討を進めることで、器質的変化が明らかでない脳病態の診断・治療法開発につなげていくことが可能になると考えられる。

研究成果の概要（英文）：Astrocytes are increasingly recognized for their important roles in the brain. However, unlike neurons, they do not exhibit electrical activity, making it challenging to evaluate their activity on a macro scale since the indicators of their activity are based on calcium concentration. This study aims to establish biomarkers that reflect astrocyte activity in order to elucidate the significance of astrocyte activity in the brain. By manipulating the calcium concentration in mouse astrocytes using DREADD and evaluating the changes in the brain environment using various imaging biomarkers, we found that hyperpolarized ¹³C pyruvate and ¹⁸F-FDG-PET could potentially serve as imaging markers reflecting astrocyte activity.

研究分野：病態神経科学

キーワード：アストロサイト 超偏極MRI 脳エネルギー代謝 イメージングバイオマーカー DREADD

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

アストロサイトは高等な生物であるほどに神経細胞に対する脳内の存在比率が高くなり、脳内で重要な役割を担っていることが明らかになりつつある。しかし、神経細胞と異なり電気活動を示さないため、活動性の指標はカルシウム濃度に基づいて行われ、マクロな視点でのアストロサイト活動の評価は困難である。したがって、マクロな評価が必要となるヒト脳病態において、アストロサイトがどのように関与しているかは未知の部分が多い。

2. 研究の目的

本研究の目的は、アストロサイトの脳内における活動の意義を明らかにするために、アストロサイトの活動性を反映するバイオマーカーを確立することである。

3. 研究の方法

マウスの脳内アストロサイトのカルシウム濃度を Designer Receptors Exclusively Activated by Designer Drugs (DREADD) で操作し、このときの脳内環境の変化を、イメージングバイオマーカー (超偏極 MRS、ポジトロン断層撮像 (PET)) 等で明らかにする。本研究で得られたバイオマーカーは今後アストロサイト機能を反映する新たなイメージングプローブ開発の際の基盤データとなる。

- (1) はじめに覚醒下マウスでの超偏極 MR 実験系の構築を目標に超偏極 MRS の実験プロトコルを作成する。並行して DREADD によるアストロサイトカルシウム濃度が操作できていることを二光子顕微鏡で検証し、イメージング実験の準備を行う。
- (2) DREADD によるアストロサイトの操作が可能なマウスを用い、複数のイメージングバイオマーカーによる脳内環境の評価を実施する。

4. 研究成果

- (1) 覚醒下マウスにおける超偏極 MRI のプロトコル作成：麻酔下実験との比較

超偏極 ^{13}C ピルビン酸は脳内で代謝され ^{13}C 乳酸と ^{13}C 重炭酸イオンを産生することが知られている。ピルビン酸の脳内代謝は超偏極 MRI に適したターゲットとして知られる一方、そのピルビン酸代謝は麻酔による影響が想定され、ラットでの実験結果が近年報告されている²。マウスの覚醒超偏極 MRI は遺伝子改変モデルを含む種々の病態モデルの利用の面からも重要性が高いがこれまで実現の報告はなく、本研究ではその実験系の構築から開始した。まずマウス用の ^1H - ^{13}C サーフェスコイルを作成し、マウス脳からのプロトン H 及び ^{13}C の検出を確認した。

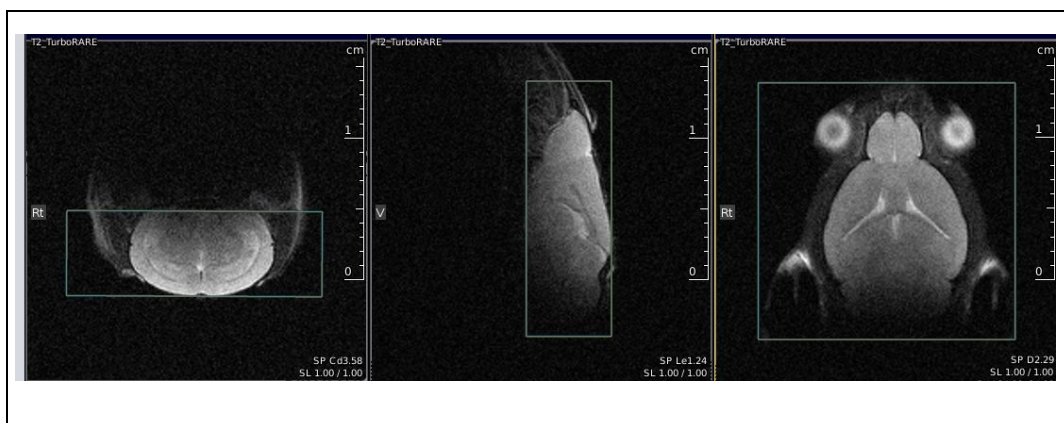


図1. プロトンコイルによるマウス脳構造画像

プロトンの信号は十分な感度があり、超偏極 MR の撮像時に必要となる解剖情報を得られることが検証できた (図1)。

マウスのサーフェスコイルの感度の確認後、マウスへの ^{13}C ピルビン酸の投与量及び投与経路の検討を行い、安定してイメージングのできる最適量を決定した。その最適量を用いてマウス脳イメージングを行い、Single pulse、Chemical shift imaging (CSI) の両方とも実施可能であ

ることを確認した。また、DREADD によるアストロサイトの操作は CNO の投与後 30 分持続することを二光子顕微鏡により確認し、イメージングの実施タイミングを CNO 投与後 30 分に設定した。

続いて麻酔下と覚醒下の脳内代謝の違いを検出するため、同じマウスを麻酔下と覚醒下で超偏極 MRI 実験を実施した。我々は超偏極装置を用いて 1-¹³C ピルビン酸を偏極し、その ¹³C ピルビン酸をマウスに尾静脈から投与し、¹³C 乳酸及び ¹³C 重炭酸イオンへの代謝検出を試みた。麻酔下では乳酸の検出は明瞭であったが、重炭酸イオンの検出は不明瞭であった。一方、覚醒下では安定して重炭酸イオンの検出を行うことができることを確認した (図 2)

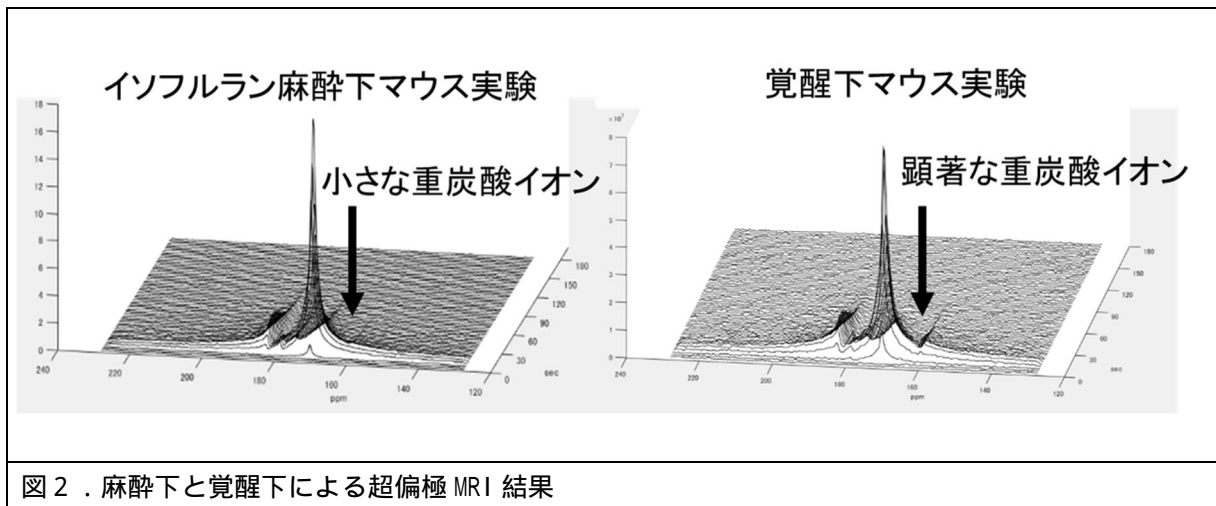


図 2 . 麻酔下と覚醒下による超偏極 MRI 結果

(2) アストロサイトのカルシウム濃度操作によるイメージング実験

覚醒下での実験系の構築ができたのち、DREADD によるアストロサイトのカルシウム濃度を上昇させ、その後のイメージングバイオマーカー実験を実施した。超偏極実験では、¹³C ピルビン酸の尾静脈投与後、乳酸及び重炭酸イオンの産生が减弱している可能性が示唆された。一方、FDG-PET 実験では DREADD によるアストロサイトの操作群では FDG の取り込みが低下している可能性が示唆された。その他のイメージングバイオマーカーでアストロサイトの活性度をとらえたものは現時点では明らかではない。今後、検証を継続しさらなるアストロサイトイメージングバイオマーカーの確立につなげていく。

引用文献

Eichhorn, Takado et al. Proc Natl Acad Sci U S A. 2013 Nov 5;110(45):18064-9.
Ono et al. ISMRM 2023

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Kimura Taeko, Ono Maiko, Seki Chie, Sampei Kazuaki, Shimojo Masafumi, Kawamura Kazunori, Zhang Ming-Rong, Sahara Naruhiko, Takado Yuhei, Higuchi Makoto	4. 巻 49
2. 論文標題 A quantitative in vivo imaging platform for tracking pathological tau depositions and resultant neuronal death in a mouse model	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging	6. 最初と最後の頁 4298 ~ 4311
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00259-022-05898-3	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 Endo H, Tagai K, Ono M, Ikoma Y, Oyama A, Matsuoka K, Kokubo N, Hirata K, Sano Y, Oya M, Matsumoto H, Kurose S, Seki C, Shimizu H, Kakita A, Takahata K, Shinotoh H, Shimada H, Tokuda T, Kawamura K, Zhang MR, Oishi K, Mori S, Takado Y, Higuchi M.	4. 巻 37
2. 論文標題 A Machine Learning Based Approach to Discrimination of Tauopathies Using [18F] PM PBB3 PET Images	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Movement Disorders	6. 最初と最後の頁 2236 ~ 2246
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/mds.29173	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 Terumitsu Makoto, Takado Yuhei, Fukuda Ken-Ichi, Kato Eisuke, Tanaka Sei	4. 巻 Volume 15
2. 論文標題 Neurometabolite Levels and Relevance to Central Sensitization in Chronic Orofacial Pain Patients: A Magnetic Resonance Spectroscopy Study	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of Pain Research	6. 最初と最後の頁 1421 ~ 1432
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2147/JPR.S362793	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 -

〔学会発表〕 計15件（うち招待講演 13件 / うち国際学会 5件）

1. 発表者名 Ono M, Wulaer B, Yamasaki T, Sakamoto T, Araki R, Hirata K, Saito K, Takakusagi Y, Ming-Rong Z, Nagai J, Takado Y
2. 発表標題 Astrocytes contribute to signals of Hyperpolarized 13C pyruvate in the brain
3. 学会等名 ISMRM 2024 (国際学会)
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 Ono M, Wulaer B, Yamasaki T, Sakamoto T, Araki R, Hirata K, Saito K, Takakusagi Y, Ming-Rong Z, Nagai J, Takado Y
2. 発表標題 Astrocytes contribute to signals of Hyperpolarized ¹³ C pyruvate in the brain
3. 学会等名 EMIM 2024 (国際学会)
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 高堂裕平
2. 発表標題 シンポジウム概要とアルツハイマー病における脳エネルギー代謝評価
3. 学会等名 第34回 臨床MR脳機能研究会 (招待講演)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 高堂裕平
2. 発表標題 認知症とアストロサイト機能不全：脳エネルギー代謝イメージングによる検討
3. 学会等名 第64回日本神経学会学術大会 (招待講演)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 高堂裕平
2. 発表標題 Overview of Hyperpolarization
3. 学会等名 2023 ISMRM & ISMRT Annual Meeting & Exhibition, ISMRM (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 高堂裕平
2. 発表標題 脳病態における脳エネルギー代謝障害：MRS/超偏極MRSによる評価
3. 学会等名 第46回日本神経科学大会（招待講演）
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 高堂裕平
2. 発表標題 Can functional MRS distinguish Glu and GABA during brain activation?
3. 学会等名 fMRS symposium（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 高堂裕平
2. 発表標題 超偏極MRSによる脳エネルギー代謝評価系を用いた精神疾患の病態研究への展望
3. 学会等名 日本生物学的精神医学会年会（招待講演）
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 高堂裕平
2. 発表標題 MRSによる脳代謝計測から脳病態を探る
3. 学会等名 第26回日本ヒト脳機能マッピング学会（招待講演）
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 高堂裕平
2. 発表標題 Brain energy metabolism and glial cells in dementia
3. 学会等名 NEURO2022 (招待講演)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 高堂裕平
2. 発表標題 超偏極MRSおよびH-MRSによるトランスレーショナルリサーチ
3. 学会等名 第5回基礎と臨床をつなぐMR研究会 (招待講演)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 高堂裕平
2. 発表標題 超偏極MRによるエネルギー代謝イメージング: From mice to Human
3. 学会等名 DNP研究会 (招待講演)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Yuhei Takado
2. 発表標題 Combining MRS and PET to elucidate the pathophysiology of Aging brain
3. 学会等名 International Society for Neurochemistry (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 高堂裕平
2. 発表標題 13C同位体を用いたイメージング手法による脳エネルギー代謝研究
3. 学会等名 第13回日本安定同位体・生体ガス医学応用学会大会（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 高堂裕平
2. 発表標題 加齢・認知症病態の理解につなげる脳代謝MRS/超偏極イメージング
3. 学会等名 第25回日本ヒト脳機能マッピング学会（招待講演）
4. 発表年 2023年

〔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