

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 17 日現在

機関番号：34318

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2012～2014

課題番号：24592148

研究課題名(和文) 生体における新たなneurogenesis imagingの確立と臨床応用

研究課題名(英文) The new neurogenesis imaging for the development of in vivo clinical applications

研究代表者

樋口 敏宏 (Higuchi, Toshihiro)

明治国際医療大学・医学教育研究センター・教授

研究者番号：80218700

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,100,000円

研究成果の概要(和文)：内在性神経細胞は、神経再生や学習の他、ストレスコントロールと密接な関係があると言われている。脳の基質的・機能的評価を実施する上で、生体内の代謝物を評価可能なプロトンMRスペクトロスコピーは重要な役割を果たす。本研究では¹H-MRSIの手法によって新しいneurogenesis imagingを行うことを目的とした。3.0テスラMRI装置を用いて、1.28 ppmに測定される神経幹細胞や神経前駆細胞に特異的な代謝物スペクトルの観測に成功した。

研究成果の概要(英文)：Proton magnetic resonance spectroscopy (¹H-MRS) has been widely used for detection of metabolites that are specific for tissues and these compounds have been used as reliable biomarkers. The purpose of these studies is to detect the "neurogenesis imaging" technique using ¹H-MRS signal, and propose the clinical application. The 1.28-ppm chemical shift correlates with neurogenesis and suggest that can be analyzed using the 1.28-ppm biomarker as a valid reference for NPCs. We found the NPCs specific spectra at 1.28ppm in the human brain using 3.0-T MRI.

研究分野：脳神経外科学

キーワード：MRS 代謝 内在性神経細胞 神経再生

1. 研究開始当初の背景

脳は内在性神経幹細胞が細胞分裂を継続して神経細胞を供給していること (neurogenesis) が報告されている。neurogenesis は学習や記憶の機能と密接な関連があり、さらにストレスのコントロールや抑うつ、抗うつ剤の薬効にも重要な役割を果たすことが報告されている。特に再生医療への応用が期待される脳虚血をはじめとする中枢神経損傷後の神経再生においては、この内在性神経幹細胞の賦活化が重要であることも周知のこととなっている。従来、神経幹細胞や神経前駆細胞の同定・分布の研究は細胞に 5-bromo-2'-dexoyuridine (BrdU) を取り込ませる組織学的手法により行われてきたが、生体での画像化および解析の手法はまだ確立しているとは言えない。一方、中枢神経系の *in vivo* での非侵襲的画像化は 1980 年代に磁気共鳴画像法 (MRI) が導入されて以来、めざましい進歩を遂げた。MRI は形態的および組織組成的診断技術として日常診療に広く用いられており、さらに水分子の拡散強調画像による超急性期脳梗塞診断や、脳機能画像 (fMRI) による脳機能研究が可能となっている。最近では MRI 造影効果の強い酸化鉄微粒子にて標識した胚性幹細胞の脳移植後の遊走、分化の画像化や、鉄貯蔵タンパクであるフェリチンの遺伝子導入によって神経幹細胞を画像化する手法など、MRI の撮像技術は細胞イメージングおよび分子イメージングの段階に入ってきている。また、生体内の代謝物を測定する MR スペクトロスコピー (MRS) についても、装置の高磁場化に伴いその有用性が見直されてきている。現在 neurogenesis マーカーとしてのスペクトル評価が報告されているのは、細胞を高分解能 NMR で計測されたものがほとんどである。一般的な臨床 MRS では NAA やクレアチンなど豊富に存在する代謝物の検出を対象としており、neurogenesis マーカーのような存在量が少ない物質の測定は実施されておらず、生体内での検出手法の確立にも至っていない。

2. 研究の目的

本研究は 1H-MRSI の手法によって 1.28 ppm に測定される神経幹細胞や神経前駆細胞に特異的な代謝基質の分布画像を測定することによって新しい neurogenesis imaging を行うことを目的とした。

3. 研究の方法

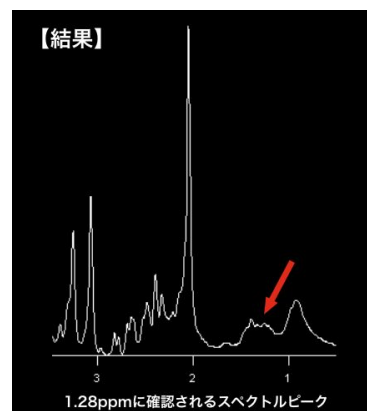
測定には臨床用 3.0T MRI 装置 (SIEMENS Trio) を使い、7cm single channel surface coil (7cm_SC) および 32ch matrix head coil (32ch) のコイルを使用して実験を実施した。測定対象には健常成人のボランティアを募り、同意を得て実験を実施した。

4. 研究成果

神経幹細胞や神経前駆細胞に特異的な代謝

物 (NPCs 代謝物) の指標として 1.28 ppm のスベクトルピークが用いられているが、その信号波形から T_2 が短いこと、*in vivo* では量が少ないことが計測上の問題点として挙げられている。1.28 ppm ピークが多く含まれると予想される海馬を中心に計測し、計測条件の最適化を図った。ヒト海馬を対象として、TE を短く設定可能な STEAM 法を用いて計測を行った。 T_2 に依存した信号変化に着目することで、海馬領域に含まれる比較的 T_2 の短い成分を確認することができた。また、1.28 ppm の信号変化を片対数プロットしたところ、一つの指数関数でないことが明らかとなった。この領域の付近には lipids のメチル基が確認されており、このメチル基との分離も必要と考えられたが、脳内含有量が少なく信号強度が低いために物質の同定には至らなかった。従来法を用いた場合に分離された状態での検出が困難であったため、同じく脳内濃度が少ない アミノ酪酸 (GABA) のスペクトル分離の手法を適用することによって 1.28 ppm の検出を目指した。GABA は抑制系の神経伝達物質であり、様々な疾患や脳活動との関連で注目されているが、脳内濃度が 1mM 程度であるため観測が困難な物質である。通常のプロトンスペクトルにおいて、GABA の信号はクレアチンの大きな信号と重なることから観測できない。そこで、GABA 測定の手法として提案されているのが MEGA-PRESS 法である。GABA のスペクトルピークは、その化学構造から 1.9 ppm, 2.3 ppm, 3.0 ppm に観測されると言われる。このとき、1.9 ppm に対する選択パルスによって 3.0 ppm の GABA 信号を反転させ、パルス照射前後の差分データを取得することによってクレアチンの信号を相殺することで GABA の信号を検出する。しかしながら、観測される GABA 信号に他の高分子の信号が含まれることが示唆されていることに加え、われわれのグループの検討により、クレアチンの消え残りが存在することが明らかとなった。波形分離のパラメータおよびベースラインについてもベイズ統合を利用してシーケンスパラメータの最適化を行い正常脳内の GABA 信号を計測したところ 1mM 程度の濃度の信号が観測された。また、本シーケンスによって正常被験者において

1.28ppm 付近にスペクトルピークが確認され、NPCs 代謝物を検出できている可能性が高いと考えられた。MRI 装置を用いたプロトン MR スペクトロスコピーは、生



体内の代謝物測を測定する手法として優れており、本研究では MR スペクトルの分離手法を工夫することによって微量代謝物の検出を可能にすることに成功した。NPCs 代謝物の分布変化は再生過程等の重要な生体フェイズを反映することから、今後、MRSI による分布評価は将来的な病態の評価指標となり得る。

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 6 件)

Yamamoto H, Fukunaga M, Takahashi S, Mano H, Tanaka C, Umeda M, Ejima Y: Inconsistency and Uncertainty of the Human Visual Area Loci following Surface-based

Registration. Probability and Entropy Maps. Human Brain Mapping, 33(1):121-9, 2012. 査読有

Murase T, Umeda M, Fukunaga M, Tanaka C, Higuchi T: Deconvolution analyses with tent functions reveal delayed and long-sustained increases of BOLD signals with acupuncture stimulation. Magn Reson Med Sci., 12:121-127, 2013. 査読有

村瀬 智一, 樋口敏宏: 独立性成分分析法を用いた鍼刺激後も持続する脳機能 MRI の解析. 明治国際医療大学誌, 8:13-22, 2013. 査読有

Bito Y, Hirata K, Ebisu T, Kawai Y, Otake Y, Hirata S, Shirai, T, Soutome Y, Ochi H, Yamamoto E, Umeda M, Higuchi T, Tanaka C: Diffusion-weighted Line-scan Echo-planar Spectroscopic Imaging Technique to Reduce Motion Artifacts in Metabolite Diffusion Imaging. Magnetic resonance in medical sciences, 14:43-50, 2014. 査読有

Yamamoto H, Yamamoto H, Mano H, Umeda M, Higuchi T, Saiki J: Activity in early visual areas predicts interindividual differences in binocular rivalry dynamics. Journal of Neurophysiology, 111: 1190-1202, 2014. 査読有

田中忠蔵、村瀬智一、福永雅喜、博田節夫、梅田雅宏、河合裕子、渡邊康晴、樋口敏宏: fMRI による AKA-博田法の検討-第 2 報-慢性腰痛の治療前後の副運動 2 型刺激による脳賦活領域の変化-. 日本関節運動学的アプローチ医学会誌, 15:53-58, 2014. 査読有

[学会発表](計 20 件)

Yuko Kawai, Masahiro Umeda, Yasuharu Watanabe, Toshihiro Higuchi, Chuzo

Tanaka: Detection of Spontaneous Pain due to Chronic Pain in the Rat. International Society for Magnetic Resonance in Medicine 20th Annual Meeting & Exhibition, 944, 2012 年 5 月 10 日.

Yoshitaka Bito, Yuko Kawai, Koji Hirata, Toshihiko Ebisu, Yosuke Otake, Satoshi Hirata, Toru Shirai, Yoshihisa Soutome, Hisaaki Ochi, Masahiro Umeda, Toshihiro Higuchi, Chuzo Tana: Diffusion-weighted Spectroscopic Imaging of Multiple Metabolites in Rat Brains after Middle Cerebral Artery Occlusion. International Society for Magnetic Resonance in Medicine 20th Annual Meeting & Exhibition, 463, 2012 年 5 月 8 日.

Tomokazu Murase, Masahiro Umeda, Yuko Kawai, Yasuharu Watanabe, Toshihiro Higuchi, Chuzo Tanaka: Investigating the duration of brain response to acupuncture stimulation by using independent component analysis. International Society for Magnetic Resonance in Medicine 20th Annual Meeting & Exhibition, 759, 2012 年 5 月 10 日.

Masahiro Umeda, Toshihiro Higuchi, Yuki Mori, Yoshichika Yoshioka, Yasuharu Watanabe, Yuko Kawai, Tomokazu Murase, Chuzo Tanaka: The investigation of apparent diffusion coefficient in renal cortex and medulla during the cardiac cycle. International Society for Magnetic Resonance in Medicine 20th Annual Meeting & Exhibition, 1322, 2012 年 5 月 9 日.

村瀬智一 梅田雅宏 河合裕子 渡邊康晴, 樋口敏宏, 田中忠蔵: fMRI 測定に用いる熱刺激システムの試作と性能検証. 第 40 回日本磁気共鳴医学会大会, 講演抄録集, 184, 2012 年 9 月 6 日.

尾藤良孝, 河合裕子, 平田宏司, 恵飛須俊彦, 大竹陽介, 平田智嗣, 白猪亨, 五月女悦久, 越智久晃, 梅田雅宏, 樋口敏宏, 田中忠蔵: 健常ラット脳の Diffusion Tensor Spectroscopic Imaging (DTSI). 第 40 回日本磁気共鳴医学会大会, 講演抄録集, 402, 2012 年 9 月 8 日.

Tanaka Chuzo, Hakata Setsuo, Murase Tomokazu, Umeda Masahiro, Watanabe Yasuharu, Kawai Yuko, Someya Yoshiaki, Naruse Shoji, Higuchi Toshihiro: Brain Activation Study by Passive Intra-Articular Movement of Radiolunate and Sacroiliac Joints Using fMRI. International Society for Magnetic Resonance in Medicine 21st Annual Meeting & Exhibition, 2013 年 04 月 20 日

-26 日

Murase Tomokazu, Umeda Masahiro, Kawai Yuko, Watanabe Yasuharu, Naruse Shoji, Tanaka Chuzo, Highchi Toshihiro: Deconvolution Analyses with Tent Functions Reveal Delayed and Long-Sustained Increases of BOLD Signals with Acupuncture Stimulation. International Society for Magnetic Resonance in Medicine 21st Annual Meeting & Exhibition, 2013 年 04 月 20 日 -26 日

Bito Yoshitaka, Kawai Yuko, Hirata Koji, Ebisu Toshihiko, Otake Yosuke, Hirata Satosh, Shirai Toru, Soutome Yoshihisa, Ochi Hisaaki, Umeda Masahiro, Higuchi Toshihiro, Tanaka Chuzo: Diffusion Tensor Spectroscopic Imaging of Multiple Metabolites in Rat Brains. International Society for Magnetic Resonance in Medicine 21st Annual Meeting & Exhibition, 2013 年 04 月 20 日 -26 日

Watanabe Yasuharu, Kimura Keisaku, Umeda Masahiro, Kawai Yuko, Murase Tomokazu, Higuchi Toshihiro, Tanaka Chuzo, Naruse Shoji: Visualization of Hysteresis in Passive Time- Dependent Responses of Skeletal Muscle in vivo by Using DTI. International Society for Magnetic Resonance in Medicine 21st Annual Meeting & Exhibition, 2013 年 04 月 20 日 -26 日

川島康裕, 山城博幸, 山本洋紀, 村瀬智一, 市村好克, 梅田雅宏, 樋口敏宏: 照明強度のヒト大脳視覚野活動への影響: fMRI 研究. 第 46 回照明学会全国大会, 2013 年 09 月 05 日 -07 日

梅田雅宏, 渡邊康晴, 河合裕子, 村瀬智一, 田中忠蔵, 樋口敏宏: 磁性イオン液体を用いた局所シム調整の試み. 第 41 回日本磁気共鳴医学会大会, 2013 年 09 月 19 日 -21 日

村瀬智一, 梅田雅宏, 福永雅喜, 河合裕子, 渡邊康晴, 田中忠蔵, 樋口敏宏: Deconvolution 解析を用いた鍼刺激に伴う賦活領域毎の経時変化の検討. 第 41 回日本磁気共鳴医学会大会, 2013 年 09 月 19 日 -21 日

村瀬智一, 梅田雅宏, 山城博幸, 山本洋紀, 河合裕子, 田中忠蔵, 樋口敏宏: MEGA- PRESS 法による異なる視覚野間の GABA 計測の検討. 第 41 回日本磁気共鳴医学会大会, 2013 年 09 月 19 日 -21 日

梅田雅宏, 渡邊康晴, 河合裕子, 村瀬智一, 田中忠蔵, 樋口敏宏: 1H- MRSI を用いた骨格筋中アセチル - L- カルニチン濃度の運動による変化. 第 41 回日本磁気共鳴医学会大会, 2013 年 09 月 19 日 -21 日

尾藤良孝, 河合裕子, 平田宏司, 恵飛須俊彦, 大竹陽介, 平田智嗣, 白猪 亨, 五月女悦久, 越智久晃, 梅田雅宏, 樋口敏宏, 田中忠蔵: Diffusion-weighted Spectroscopic Imaging を用いた脳虚血モデルラットにおける複数代謝物 ADC の解析. 第 41 回日本磁気共鳴医学会大会, 2013 年 09 月 19 日 -21 日

Murase T, Umeda M, Fukunaga M, Maruyama K, Kawai Y, Watanabe Y, Tanaka C, Highchi T: Validation of the Temporal Signal Change Caused by Acupuncture Stimulation with Multi-Band Acquisition. International Society for Magnetic Resonance in Medicine, 2014 年 05 月 10 日 -16 日

Yamashiro H, Yamatomo H, Mano H, Umeda M, Higuchi T, Saiki J: Multiple neural processes underlying binocular rivalry in retinotopic visual. Society for Neuroscience, 2014 年 11 月 15 日 -19 日

村瀬智一, 梅田雅宏, 福永雅喜, 渡邊康晴, 樋口敏宏: 仮想灸刺激に伴う脳活動変化の検討. 日本磁気共鳴医学会大会, 2014 年 09 月 18 日 -20 日

村瀬智一, 梅田雅宏, 渡邊康晴, 樋口敏宏: ヒト脳内の GABA 測定条件に関する検討. 臨床 MR 脳機能研究会, 2015 年 03 月 14 日

6. 研究組織

(1) 研究代表者

樋口 敏宏 (HIGUCHI TOSHIHIRO)
明治国際医療大学・医学教育研究センター・教授
研究者番号: 8 0 2 1 8 7 0 0

(2) 研究分担者

田中 忠蔵 (TANAKA CHUZO)
明治国際医療大学・医学教育研究センター・名誉教授
研究者番号: 8 0 1 6 3 5 4 1

梅田 雅宏 (UMEDA MASAHIRO)
明治国際医療大学・医学教育研究センター・教授
研究者番号: 6 0 2 2 3 6 0 8

渡邊 康晴 (WATANABE YASUHARU)
明治国際医療大学・医学教育研究センター・講師
研究者番号: 9 0 4 5 4 5 3 7

河合 裕子 (KAWAI YUKO)
明治国際医療大学・医学教育研究センター・助教
研究者番号: 9 0 5 5 5 6 1 6

(3) 連携研究者

なし