

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 8 月 9 日現在

機関番号：72611

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2014～2016

課題番号：26860982

研究課題名(和文) q-space imaging法による筋線維タイプ識別法の確立

研究課題名(英文) Establish of the muscle fiber type identification method by q-space imaging

研究代表者

畑 純一 (Hata, Junichi)

公益財団法人実験動物中央研究所・実験動物研究部・研究員

研究者番号：00568868

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,900,000円

研究成果の概要(和文)：本研究の目的はq-space imagingにて骨格筋線維のタイプを選別する手法を確立することである。QSIは生体組織のマイクロ構造情報を取得することが可能である。これを基に骨格筋線維のタイプを非侵襲的かつ簡便に識別可能とする手法を確立することが目的である。結果、水分子の微細構造における変位量を解析することが可能となり、生体組織のマイクロサイズの構造情報を取得することができた。また、マウス下腿部骨格筋の染色像と比較し、マウス下腿部骨格筋のAxial断面像内の筋タイプ分布との比較、その筋細胞径との比較を行い有意な相関が得られた。筋線維タイプの識別法として新規性に富んだ手法として確認された。

研究成果の概要(英文)：The purpose of this study is to establish a method for sorting the skeletal muscle fibers type by q-space imaging. This method can acquire microstructure information of living tissue. Based on this information, we establish a method to make the type of skeletal muscle fibers noninvasive and easy to distinguish. As a result, it became possible to analyze the displacement amount in the microstructure of the water molecule, and it was possible to acquire the micro-sized structural information of the living tissue. In addition, compared with stained images of skeletal muscle of mouse lower thigh, comparison with the skeletal muscle type distribution in axillary cross section image of the mice's lower leg, and comparison with muscle cell diameter, significant correlation was obtained. It was confirmed as a novel technique as a method of identifying the muscle fiber type.

研究分野：磁気共鳴医学

キーワード：磁気共鳴画像法 パルスシーケンス 拡散強調画像 制限拡散 q-space imaging 骨格筋 筋線維 高磁場MRI

1. 研究開始当初の背景

骨格筋の筋線維は形態学的、機能学的な観点から数種類のタイプに分類される。ヒトの筋線維は主に遅筋線維 (slow twitch: SW, type1 線維)、速筋線維 (fast twitch: FT, type2 線維) と大別される。これらは、収縮特性、エネルギー系、疲労耐性などの特性が大きく異なる。現在、筋線維構成比の測定法には筋生検による ATPase 染色法 (Ringqvist M. et al, Scand J Dent Res., 1971) が主流であるが、筋生検は身体への侵襲性に加え、手技の煩雑さが伴う。生体における骨格筋はこれらの type1 と type2 が混在し組織されている。筋線維構成比は各筋群において異なり、type1 が多いもの、またその逆と様々である。さらに、疾患、トレーニングにより筋線維構成比は変化する。(Thompson LV, et al, J. Appl. Physiol., 1998) このため、筋線維タイプの構成を理解することは臨床医学分野、スポーツ医科学分野と多岐にわたり重要である。

MRI における撮像法のうち q-space imaging: QSI は Callaghan PT によって 1990 年に提唱された。当初、QSI は NMR の分野で多孔物質に対する研究目的で報告された。この QSI は生体組織における水分子の制限拡散を解析する手法とされている。このため、マイクロサイズの構造情報を取得することが可能となる。やがて、生体にも目が向けられ脳疾患による細胞の変形 (King MD, et al, Magn. Reson. Med., 1994) や、赤血球の形状評価 (Kuchel PW, et al. Magn. Reson. Med., 1997) などの報告がなされ臨床応用へ大きな期待が寄せられている。

2. 研究の目的

本研究の目的は q-space imaging : QSI (核磁気共鳴画像法による制限拡散計測法) にて骨格筋線維のタイプを選別する手法を確立することである。QSI は水分子の微細構造における変位量を解析する手法であり、生体組織のマイクロサイズの構造情報を取得することが可能となる。この計測値を基に骨格筋線維のタイプを非侵襲的かつ簡便に識別可能とする手法を確立する。

3. 研究の方法

申請者はこれまでに骨格筋に有用な MRI パルスシーケンスの設計開発に関する研究を行ってきた。その中で骨格筋に対し QSI 法による筋線維タイプ選別の可能性を見出した。本研究ではこの手法の確立を前臨床研究としてマウスモデルに適用し QSI 計測、生検による ATPase 染色法により筋線維タイプ識別法の確立を目指す。平成 26 年度は動物実験機による 7 テスラ動物実験機により QSI 計測システム環境構築を行う。平成 27 年度以降

は QSI による計測、染色法により病理的根拠に基づく手法の確立を行う。また、マウス廃用性筋萎縮モデルを対象とし臨床展開への応用への可能性を探索する

4. 研究成果

本研究は磁気共鳴画像法 (MRI) を用いて骨格筋線維のタイプを選別する手法を確立することである。骨格筋線維タイプの選別には q-space imaging 法を用い手法確立を目指す。この手法は水分子の変位量解析を行うことで組織の微細構造を計測することが可能となる。

この目的を達成するために、生体組織のマイクロ構造情報を取得することが可能な q-space imaging 法の設計開発確立した MRI 技術を用いて、マウス下腿のデータ収集や解析を行い、仮説に基づいた妥当性の評価を行った。

前者では、動物実験用 7 テスラ MRI 装置に設計開発したパルスシーケンスシステムプログラムの実装を行い、各種条件設定や調整を行った。また、q-space 解析を行うためには独自の画像解析用プログラムの開発が必要不可欠である。このため、実装したパルスシーケンスのテストデータを用い、解析プログラムの開発も同時に行った。

本研究では動物を対象とし手法の確立を目的としている。このため、マウス下腿部に対し MRI 計測が可能となるような実験台の作成、体位保持用補助具の開発を行った。また、それを用いた動物固定法、麻酔管理法の確立を行った。MRI では対象にあったコイルの選定が大事である。このため、ポリウムコイル、サーフェスコイル、クライオシステムコイルと比較し最適なコイルとしてクライオシステムコイルを選定した。

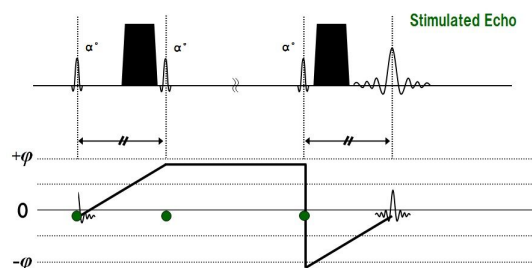


図 1 設計を行った QSI based Stimulated Echo Pulse Sequence System

後者としては、確立した MRI 技術を用いて、マウス下腿を対象とし、データ数の追加、得られたデータに対し q-space 解析を行った。また、MRI 計測の後に、切片画像の確認も行うが、非常に多くの手技を伴う。このため、切片を作成するための液体窒素、イソペンタンによる凍結ブロック作成手技、クライオス

タットを用いた切片作成手技，染色法手技の習得を行い、のちにMRI画像の計測に合わせて同一個体の染色画像の取得を行った。

結果として、QSIを用いることで水分子の微細構造における変位量を解析することが可能となり、生体組織のマイクロサイズの構造情報を取得することができた。また、マウス下腿部骨格筋の染色像（速筋染色：SC-71と遅筋染色：BA-D5）と比較し、マウス下腿部骨格筋のAxial断面像内の筋タイプ分布との比較、その筋細胞径との比較を行い有意な相関が得られた。このように本研究で開発を行った手法の妥当性を評価することで、筋線維タイプの識別法として新規性に富んだ手法として確認された。

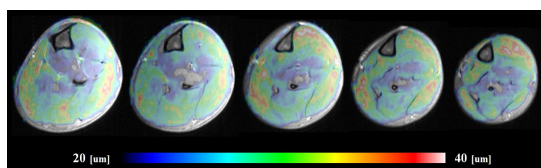


図2 骨格筋の筋線維タイプ選別イメージング

主に本研究での新規性がある点としては、(1)組織切片を必要としないため非侵襲的、(2)MRI装置内にて安静にしているのみのため簡便、(3)断面のみでなく3次元的に評価可能といった点が挙げられる。本法が今後臨床にて確立されることにより、骨格筋疾患の画像診断や機序解明において新しい基準をもたらす可能性が考えられる。また、アスリートのスポーツ選手の場合、スプリンターは速筋線維が多く、マラソン選手は遅筋線維が多い。さらに、これらの割合は練習によりある程度変化するが、筋線維タイプ構成比が非侵襲かつ筋全体にて計測可能となるとスポーツ医学の発展も大いに期待できる。

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4件)

Mariko Tanikawa, Jin Nakahara, Junichi Hata, Shigeaki Suzuki, Kanehiro Fujiyoshi, Hirokazu Fujiwara, Suketaka Momoshima, Masahiro Jinzaki, Masaya Nakamura, Hideyuki Okano, Shinichi Takahashi, Norihiro Suzuki; q-Space Myelin Map imaging for longitudinal analysis of demyelination and remyelination in multiple sclerosis patients treated with fingolimod: A preliminary study; J Neurol Sci. 2017 Feb 15;373:352-357. doi: 10.1016/j.jns.2017.01.009. Epub 2017 Jan 5.

Hata, J., Nagata, H., Endo, K., Komaki, Y., Sato, M., Numano, T. and Yagi, K. Assessment of Human Skeletal Muscle Contraction and Force by Diffusion Tensor Imaging. Open Journal of Radiology, 5, 189-198. doi: 10.4236/ojrad.2015.54026.

Fujiyoshi K., Hikishima K., Nakahara J, Tsuji O, Hata J., Konomi T, Nagai T, Shibata S, Kaneko S, Iwanami A, Momoshima S, Takahashi S, Jinzaki M, Suzuki N, Nakamura M, Toyama Y, and Okano H. Application of q-Space Diffusion MRI for the Visualization of White Matter. J Neurosci. 2016 Mar 2;36(9):2796-808. doi: 10.1523/JNEUROSCI.1770-15.2016.

Tomokazu Numano, Kazuyuki Mizuhara, Junichi Hata, Toshikatsu Washio, Kazuhiro Homma: A simple method for MR elastography: a gradient-echo type multi-echo sequence; Magnetic Resonance Imaging, Article in Press, DOI: 10.1016/j.mri.2014.10.002

[学会発表](計 38 件)

J. Nakahara, M. Tanikawa, J. Hata, K. Fujiyoshi, S. Suzuki, H. Fujiwara, S. Momoshima, M. Jinzaki, M. Nakamura, H. Okano, S. Takahashi, N. Suzuki: q-Space imaging versus diffusion tensor imaging for the visualization of remyelination in multiple sclerosis; 32nd Congress of the European Committee for Treatment and Research in Multiple Sclerosis, London, England, 2016.9.14-17

J. Nakahara, M. Tanikawa, S. Suzuki, J. Hata, K. Fujiyoshi, H. Fujiwara, S. Momoshima, M. Nakamura, H. Okano, S. Takahashi and N. Suzuki: q-Space Myelin Map Analysis of Brain Lesions in Neuromyelitis Optica-Spectrum Disorders: A Preliminary Study.; 9th Pan Asian Committee for Treatment and Research in Multiple Sclerosis (PACTRIMS), Bangkok, Thailand, October 27-29, 2016

A. Uematsu, J. Hata, Y. Komaki, F. Seki, C. Yamada, E. Sasaki, H. Okano: Anatomical Development of Hippocampus in Common Marmoset; ISMRM Workshop on Breaking the Barriers of Diffusion MRI, Lisbon, Portugal, 2016.9.11-16

Junichi Hata, Akiko Uematsu, Takaaki Kaneko, Makoto Fukushima, Fumiko Seki, Yuji Komaki, Yawara Haga, Yukiko Nagawa,

Erika Sasaki, and Hideyuki Okano: Understanding Marmoset Neural Architecture using Ultra High Field MRI; International Society of Magnetic Resonance in Medicine Japanese Chapter 1st Annual Scientific Meeting, February 23-24, 2017, Osaka, Japan

Akiko Uematsu, Keigo Hikishima, Junichi Hata, Hideyuki Okano; High Resolution Diffusion Tensor Imaging Non-Human Primate Fetus Brain; International Society of Magnetic Resonance in Medicine Japanese Chapter 1st Annual Scientific Meeting, February 23-24, 2017, Osaka, Japan

Daisuke Nakashima, Nobuyuki Fujita, Junichi Hata, Takeo Nagura, Kanehiro Fujiyoshi, Hideyuki Okano, Masahiro Jinzaki, Morio Matsumoto, Masaya Nakamura. Q-space Imaging Is A Novel Technique To Evaluate Intervertebral Disc Degeneration; Orthopaedic Research Society 2017 Annual Meeting, March 19-22, San Diego, California

Tomokazu Numano, Kawabata Yoshihiko, Kazuyuki Mizuhara, Toshikatu Washio, Junichi Hata, Kazuhiro Homma: A retrofit Technology for MR Elastography; Scientific Meeting & Exhibition ISMRM, vol.23, p2528, 2015.5, Toronto, Ontario, Canada

Ryosuke Ishihara, Yuji Komaki, Fumiko Seki, Takaaki Kaneko, Akiko Uematsu, Junichi Hata, Ryutaro Yano, Erika Sasaki, Hideyuki Okano. Integration of multi-modal information for Marmoset whole brain analysis and proximity evaluation. The 3rd International Congress On MRI (ICMRI) & The 20th Annual Scientific Meeting of KSMRM March 27-28, 2015 Grand Hilton Seoul

Ryutaro Yano, Junichi Hata, Fumiko Seki, Ryosuke Ishihara, Yuji Komaki, Keigo Hikishima, Kenji Tanaka, Hideyuki Okano: Following Demyelination with Ultra-high-field Diffusion MR Imaging; The 4th International Congress On Magnetic Resonance Imaging (ICMRI 2016) and 21st Annual Scientific Meeting Of KSMRM March 24(Thu)-26(Sat), 2016 · Grand Hilton Hotel, Seoul, Korea

Suzuki Yuichi, Kunimatsu Akira, Mori Harushi, Hata Junichi, Sasaki Hiroki, Amemiya Shiori, Masutani Yoshitaka, Maruyama Katsuya, Xu Jian, Watanabe

Yasushi, Ino Kenji, Goto Masami, Sato Jiro, Yano Keiichi, Ohtomo Kuni: Observation of Brain Development in Neonates/infants Using Diffusional Kurtosis Imaging; Scientific Meeting & Exhibition ISMRM, vol.22, p2603, 2014.5, Milan, Italy

Katsura Masaki, Suzuki Yuichi, Hata Junichi, Sasaki Hiroki, Mori Harushi, Kunimatsu Akira, Xu Jian, Maruyama Katsuya, Ohtomo Kuni: The Effect of Intravenous Gadolinium on Diffusion Kurtosis Imaging: Evaluation of Brain Tumors; Scientific Meeting & Exhibition ISMRM, vol.22, p3352, 2014.5, Milan, Italy

J Nakahara, K Fujiyoshi, K Hikishima, J Hata, S Momoshima, S Takahashi, H Okano, M Nakamura, N Suzuki: Visualization of demyelination and remyelination by Myelin Map imaging: A longitudinal pilot study; 2014 JOINT ACTRIMS-ECTRIMS MEETING, vol.22, p----, 2014.9, 13 Boston, MA, USA

Nakahara J, Fujiyoshi K, Hikishima K, Hata J, Momoshima S, Takahashi S, Okano H, Nakamura M, Suzuki N. Visualization of demyelination and remyelination by a novel Myelin Map MRI: A longitudinal pilot study. 7th Congress of the Pan-Asian Committee for Treatment and Research in Multiple Sclerosis (PACTRIMS) (2014).

名川友紀子、畑純一、矢野竜太郎、関布美子、小牧裕司、八木一夫、関根紀夫：透明脳のためのMRI撮像パラメータの構築；日本放射線技術学会総会学術大会、vol.72、p145、2016.4.16

Fumiko Seki, Yuji Komaki, Junichi Hata, Akiko Uematsu, Keigo Hikishima, Erika Sasaki, Hideyuki Okano: MRI-based characterization of lifespan development in common marmosets; 日本神経科学学会 vol39, 2016.7.20-22 · 横浜

Kazuo Yagi, Masakazu Sato, Junichi Hata, Yasuhiko Tachibana, Norio Sekine: Estimate of optimum imaging conditions using the Monte Carlo simulation in QSI; 第44回日本磁気共鳴医学会大会、vol.36、p131、2016.9.12

Akiko Uematsu, Junichi Hata, Yuji Komaki, Fumiko Seki, Erika Sasaki, Hideyuki Okano: Anatomical Development of Hippocampus and its Related Regions in Common Marmoset; 第44回日本磁気共鳴医学会大会、vol.36、p265、2016.9.13

Marin Nishio, Yuji Komaki, Fumiko Seki, Junichi Hata, Akiko Uematsu, Ryosuke Ishihara, Ryutaro Yano, Erika Sasaki, Akira Furukawa: Age-related changes in magnetization transfer ratio with atlas based whole brain analysis in common marmoset development; 第44回日本磁気共鳴医学会大会、vol.36、p266、2016.9.13

Yawara Haga, Junichi Hata, Akiko Uematsu, Takaaki Kaneko, Yukiko Nagawa, Marin Nishio, Yuji Komaki, Fumiko Seki, Noriyuki Kishi, Erika Sasaki, Hideyuki Okano, Akira Furukawa: Postmortem MRI properties of common marmoset brain during formaldehyde-fixed; 第44回日本磁気共鳴医学会大会、vol.36、p266、2016.9.13

Yukiko Nagawa, Junichi Hata, Akiko Uematsu, Fumiko Seki, Yuji Komaki, Ryutaro Yano, Masakazu Sato, Ryosuke Ishihara, Hideyuki Okano, Kazuo Yagi, Norio Sekine: Impacts of difference of transparency reagents on mouse brain; 第44回日本磁気共鳴医学会大会、vol.36、p267、2016.9.13

Junichi Hata, Akiko Uematsu, Takaaki Kaneko, Makoto Fukusima, Fumiko Seki, Yuji Komaki, Yukiko Nagawa, Keigo Hikishima, Noriyuki Kishi, Erika Sasaki, Hideyuki Okano: Depiction of Neural Microstructures by Ultra High Field MRI; 第44回日本磁気共鳴医学会大会、vol.36、p267、2016.9.13

Fumiko Seki, Yuji Komaki, Junichi Hata, Akiko Uematsu, Keigo Hikishima, Erika Sasaki, Hideyuki Okano: MRI-based characterization of lifespan development in common marmosets; 第44回日本磁気共鳴医学会大会、vol.36、p339、2016.9.12

佐藤正和, 八木一夫, 畑 純一, 丹綾香: 拡散シミュレーションによる生体内微細制限構造における水分子の挙動推定; 日本放射線技術学会総会学術大会, vol.71, p247, 2015.4.19

谷川万里子, 中原仁, 藤吉兼浩, 正島啓吾, 畑 純一, 百島祐貴, 高橋慎一, 岡野栄之, 中村雅也, 鈴木則宏. Pilot longitudinal follow-up study of Myelin Map in multiple sclerosis. 第56回日本神経学会学術大会(2015).

Kei Fukuzawa, Hiroyuki Takashima, Yuya Yamatani, Yasuo Takatsu, Junichi Hata, Eisuke Sato, Kenta Miwa; Comparison of Apparent Diffusion Coefficients among Different MRI Platforms: A Multicenter

Phantom Study; 日本放射線技術学会総会学術大会, vol.71, p251, 2015.4.19

畑 純一, 佐藤正和, 矢野竜太郎, 小牧裕司, 正島啓吾, 藤吉兼浩, 中村雅也, 岡野栄之: Long Diffusion Time における骨格筋拡散信号の挙動; 日本磁気共鳴医学会 (JSMRM), vol.43, p74, 2015.9.12

矢野竜太郎, 畑 純一, 関布美子, 石原良祐, 小牧裕司, 正島啓吾, 田中謙二, 岡野栄之: 超高磁場拡散 MRI で脱髄を追う; 日本磁気共鳴医学会 (JSMRM), vol.43, p97, 2015.9.12

名川友紀子, 畑 純一, 矢野竜太郎, 関布美子, 小牧裕司, 八木一夫, 関根紀夫: 透明化による脳組織変性の評価; 日本磁気共鳴医学会 (JSMRM), vol.43, p101, 2015.9.13

石原良祐, 小牧裕司, 兼子峰明, 植松明子, 関布美子, 畑 純一, 矢野竜太郎, 岡野栄之: マーモセット全脳網羅的解析のための多段階情報の統合と画像評価; 日本磁気共鳴医学会 (JSMRM), vol.43, p101, 2015.9.13

佐藤正和, 畑 純一, 八木一夫, 立花泰彦, 関根紀夫: モンテカルロシミュレーションを用いた生体内微細制限構造における拡散最適条件の推定; 日本磁気共鳴医学会 (JSMRM), vol.43, p107, 2015.9.11

八木一夫, 新川翔太, 畑 純一, 遠藤和樹: DTI を用いた筋力発揮時における羽状筋構造解析; 日本磁気共鳴医学会 (JSMRM), vol.43, p74, 2015.9.12

沼野智一, 水原和行, 伊東大輝, 大西孝明, 畑 純一, 高本孝一, 西条寿夫: 独自 MR elastography システムの特徴と制限・限界点; 第43回日本放射線技術学会秋季大会, vol.71, p935, 2015.10.10

新川翔太, 八木一夫, 畑 純一, 遠藤和樹, 渡邊尊仁, 山崎雅史: Simpson 法を用いた前脛骨筋体積算出法の提起; 日本放射線技術学会総会学術大会, vol.70, p296, 2014.4.12

佐藤正和, 八木一夫, 畑 純一, 渡邊尊仁: 信号値シミュレーションによる Multi Inversion Recovery RF Pulse の有用性の推定; 日本放射線技術学会総会学術大会, vol.70, p317, 2014.4.13

畑 純一, 小牧裕司, 関布美子, 正島啓吾, 井上貴史, 藤吉兼浩, 中村雅也, 岡野栄之: 7T MRI による骨格筋の高分解能拡散イメージング; 日本磁気共鳴医学会 (JSMRM), vol.42, p57, 2014.9.14

新川翔太,八木一夫,畑 純一,遠藤和樹: DTI を用いた前脛骨筋 fiber tracking -筋線維走行描画による羽状金の立体構造解析-; 日本磁気共鳴医学会 (JSMRM), vol.42, p63, 2014.9.14

矢野竜太郎,畑 純一,徐 明,石原良祐,吉田慶多朗,小牧裕司,関布美子,疋島啓吾,田中謙二,岡野栄之: MRI を用いて透明脳を視る; 日本磁気共鳴医学会 (JSMRM), vol.42, p91, 2014.9.13

佐藤正和,八木一夫,畑 純一: 生体内微細制限構造における水分子の変位シミュレーション; 日本磁気共鳴医学会 (JSMRM), vol.42, p93, 2014.9.14

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

名称:
発明者:
権利者:
種類:
番号:
出願年月日:
国内外の別:

取得状況(計 0 件)

名称:
発明者:
権利者:
種類:
番号:
取得年月日:
国内外の別:

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

畑 純一 (HATA, Junichi)
公益財団法人実験動物中央研究所・実験動物
研究部・研究員
研究者番号: 00568868

(2) 研究協力者

疋島 啓吾 (HIKISHIMA, Keigo)
沖縄科学技術大学院大学

藤吉 兼弘 (FUJIYOSHI, Kanehiro)
慶應義塾大学整形外科教室