

令和 5 年 5 月 1 日現在

機関番号：13101

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2018～2022

課題番号：18H02762

研究課題名(和文) 化学交換飽和移動MRIを用いたアルツハイマー病における認知予備能評価法の開発

研究課題名(英文) Development of a method to assess cognitive reserve in Alzheimer's disease using chemical exchange saturation transfer MRI.

研究代表者

五十嵐 博中 (Igarashi, Hironaka)

新潟大学・脳研究所・教授

研究者番号：20231128

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 7,000,000円

研究成果の概要(和文)：アルツハイマーモデル動物で、gluCEST測定後に組織シナプス密度を測定し、gluCEST値と相関を確認。側頭葉・海馬ではCBFの低下に先行するgluCEST減少と局所的なgluCEST効果とCBFの相関を見出した。更に、ヒトへの応用を行い、7T MRIで2D gluCESTを開発し、正常例で再現性を確認、認知症症例での海馬のシナプス減少を確認した。現在撮像時間を短縮するためにパルス・シーケンスの改良と画像計算プログラムの変更を行っている。さらに、3Dイメージング・シーケンスを作成し、正常例で全脳シナプス密度画像の再現性を検証。3T MRIへの応用・移植を開始し、正常脳の撮像に成功した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

理論的にさまざまな低分子を通常の形態的MRIに迫る空間分解能で撮像が可能な手法であるCEST-MRIを用い、グルタミン酸をはじめとした神経伝達物質関連分子の濃度マップを作成できれば、変性疾患における種々の局所神経機能を直接反映した機能評価を行うことが可能になると考えられる。これにより、新しい認知機能の無侵襲な客観的診断法として疾患のみならず、老化脳の評価も可能となり、疾患診断・病態把握のみならず、「好ましい老化」を目指したライフスタイルの検証など社会的なインパクトも大きいと考えられる。

研究成果の概要(英文)：In an animal model of Alzheimer's disease, tissue synaptic density was measured after gluCEST measurement and correlated with gluCEST values. In temporal lobe and hippocampus, we found a decrease in gluCEST preceding a decrease in CBF and a correlation between local gluCEST effects and CBF. Furthermore, we applied this technique to humans, developed 2D gluCEST with 7T MRI, confirmed its reproducibility in normal cases, and confirmed the reduction of hippocampal synapses in dementia cases. We are currently improving the pulse sequence and modifying the image calculation program to shorten the imaging time. Furthermore, we created a 3D imaging sequence and verified the reproducibility of whole-brain synaptic density images in normal cases. 3T MRI application and implantation have been started and normal brains have been successfully imaged.

研究分野：神経学・磁気共鳴学

キーワード：磁気共鳴イメージング アルツハイマー病 CEST

## 1. 研究開始当初の背景

多くの神経変性疾患の病因の中核はアルツハイマー病におけるアミロイド・タウなどの異常蛋白の蓄積である。しかし、1986年にアメリカで開始された修道院の尼僧の認知機能を長期追跡した Nun study (Iacono D et al. *Neurology*, 2009;73:665)における死後脳病理の検討では、アルツハイマー病病理を持つ症例の約30%が死の直前まで正常認知機能を持っていたことが明らかになり、これらの人々は「認知予備能」が高いためと考えられた。この結果より「認知予備能とは何か」という問いが生まれた。脳神経は複雑な神経回路を形成しているが、これは近傍および遠隔の神経同士を効率よく結んだ複雑系ネットワークと見なすことができる (Sporns O. *Front Comput Neurosci*. 2011;doi:10.3389/fncom.2011.00005)。このネットワーク破綻により局所神経機能の障害が生ずると考えられるが、この時、

- 1) 局所の神経回路に冗長性があり障害の影響を食い止めることができる。
- 2) 今まで用いてきた回路に変わり新しい回路が同じ機能を果たすようになる。

のどちらかが成立すれば局所機能障害を免れることができる。この考えを元に、近年 fMRI、DTI、ECG、PET 等のモダリティを用いたネットワーク解析が広く行われているが、この手法では上記の 1) を直接検出することは困難であり、一貫した結果が得られていない。一方、1)、2) の両者のケースにおいて必要となることは神経回路密度の余裕(予備能)であり、これは神経回路の接続点であるシナプス密度の余裕(予備能)と言い換えることができる。これを裏付けるように、アルツハイマー病病理を呈し、認知機能が正常であった老年者の Brodmann46 野(記憶の定着を行っていると考えられる)においてシナプスの構成部分であるスパイン密度が正常脳老年者と同様に保たれているが、認知機能が低下していた症例ではスパイン密度が低下していたという報告が 2017 年になされた(図 1, Benjamin D et al. *Ann Neurol*, 2017, doi:10.1002/ana.25049)。これらより、生体における局所シナプス密度は神経機能を直接反映している可能性があると考えられる。一方、申請者らは哺乳類の脳においてシナプスの 80% はグルタミン酸作動性であることより、急激な代謝変化がグルタミン酸生合成サイクルに影響を及ぼさない正常脳あるいは変成疾患脳においては、脳のグルタミン酸濃度を定量することによりシナプス密度を評価することができるという仮説をたてた。これを検証するため、正常成長における小児から成人への成長段階におけるシナプス刈り込みによる大脳皮質のシナプス密度の低下を磁気共鳴スペクトロスコピー(MRS)によるグルタミン酸濃度の定量により生体にて検出できることを実証した(Shimizu M et al. *Pediatr Res*. 2017; 10.1038/pr.2017.101)。更に、変性疾患の一つであり、神経原性呼吸不全が死因の多くを占める小脳型多系統萎縮症(MSA-C)において、橋のグルタミン酸濃度は呼吸機能に相関するが、形態画像から得られた橋体積(即ち萎縮の程度)には相関が認められないことを見いだした(Takado Y et al. *eNeurologicalSci*, 2016; doi: 10.1016/j.ensci.2016.10.002)。これらの結果を踏まえれば、理論的にさまざまな低分子を通常の形態的 MRI に迫る空間分解能で撮像が可能な手法である CEST-MRI を用い、グルタミン酸をはじめとした神経伝達物質関連分子の濃度マップを作成できれば、変性疾患における種々の局所神経機能を直接反映した機能評価を行うことが可能になると考えられる。

## 2. 研究の目的

本研究はアルツハイマー病病理所見を持つ老年者の 30-50% に認められる「病理変化に比べ認知症状の緩徐な症例」(認知予備能の高い症例)を突破口に、認知機能などヒトの局所神経機能を直接反映したバイオマーカーとなる無侵襲な検査法を、化学交換飽和移動磁気共鳴イメージング(CEST-MRI)を用いて開発し、神経変性疾患に広く展開することを目的とする。

アルツハイマー病をはじめとする神経変性疾患においては病因の中核となる病理所見(アルツハイマー病におけるアミロイド・タウ蓄積など)と病態(アルツハイマー病における認知症状)は必ずしも相関せず、機能低下と最も相関するのは局所のシナプス密度である。しかし、現状では局所シナプス密度を反映する無侵襲なイメージング手法は開発されていない。本研究では局所シナプス密度を無侵襲かつ高空間分解能で評価する MRI 測定法を開発し、アルツハイマー病をはじめとする神経変性疾患の客観的機能評価法を確立する

## 3. 研究の方法

まず、アミロイド の蓄積を伴い、遅れてシナプス密度の低下が生じる 5xFAD アルツハイマー Tg マウスを用い生後 24 ヶ月まで 3 ヶ月毎に CEST-MRI 測定を行い、生化学・病理所見によるシナプス密度(synaptophysin, PDS-95 蛋白定量・免疫染色)、認知機能評価の結果と比較し、CEST-MRI がシナプス密度・局所認知機能と相関することを通し理論の妥当性を検証する。次に、ヒトへの応用を目的として、ヒト用 7T 超高磁場システムにパルスシークエンスを移植

し、溶液モデル(MR ファントム)上で、動物実験で得られた測定手法をヒトに応用するための安全性試験および測定条件最適化を目的とした基礎実験を行う。次に正常成人グルタミン酸マップ撮像の最適化を行う(五十嵐・鈴木清隆担当)。正常成人ボランティアの協力の元、同時に取得した MRS との比較を行い、結果を撮像コンディションに還元することで定量性に関する信頼性を担保する。更に、高齢ボランティアの協力の元、画像統計を用い種々の認知機能と相関する脳部位の同定を行う。

#### 4 . 研究成果

まず、前臨床用 7T 装置および自作の画像計算プログラムを用い、アルツハイマーモデル動物(5xFAD transgenic mouse)の経時的測定を行った POC 研究において、gluCEST 測定後に測定部位の検体を用いて ELSA を用いシナプス密度の生化学的な指標となる Synaptophysin を測定、gluCEST による測定値と良好に相関することを確認した。この結果および、側頭葉と海馬では gluCEST の減少が脳血流(CBF)の低下に先行したこと、5xFAD マウス縦断測定では、局所的な gluCEST 効果は CBF と相関していたが、一般化線形混合モデルでは大脳皮質では基底部とは統計的に異なる相関を示した。頭頂皮質では NODDI MRI を用いた神経軸索・樹状突起密度は gluCEST 効果と相関していたが、海馬では相関しておらず、病態生理学的なメカニズムの地域差を明らかにし、これらの結果を論文化した。

更に人への応用としてヒト用 7T を用い成人健常ヒトによる 2D gluCEST を作成し、正常例における再現性を検討、十分な再現性を持つことが確認され、現在論文執筆中である。この後、認知症症例におけるグルタミン酸マップの撮像を開始し、海馬のシナプス減少を画像化する事に成功した。また現時点では撮像に約 30 分を要しているために、撮像時間の短縮を目的としたパルス・シークエンスの改良および画像計算プログラムの変更を行っており、撮像時間を 10 分程度に抑えるために、ファントムおよび正常ボランティアの撮像を行い、条件の最適化を行っている。また、2D-gluCEST では一度の撮像にて 1 スライスのみを得ることが可能であるが、全脳を一度に撮像することを目的としてシークエンスを更に発展させ、スパイラル収集法を用いた 3D イメージング・シークエンスを作成、ファントム・正常ヒトにおける 3D-gluCEST 撮像に成功し、正常例における全脳シナプス密度画像の測定に関して再現性の検証を行っている。また、7T での撮像のみでなく、現在臨床に広く使用されている 3T MRI への応用・移植を開始し、3T への 3D 画像移植を開始し、現在プログラミングおよびファントムによる調整を終了し、正常脳の撮像に成功した。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計8件（うち査読付論文 7件/うち国際共著 4件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Ken Ohno, Masaki Ohkubo, Bingwen Zheng, Masaki Watanabe, Tsuyoshi Matsuda, Ingrid L. Kwee, Hironaka Igarashi	4. 巻 eCollection
2. 論文標題 GlyCEST: Magnetic Resonance Imaging of Glycine - Distribution in the Normal Murine Brain and Alterations in 5xFAD Mice	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Contrast Media & Molecular Imaging	6. 最初と最後の頁 8988762
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1155/2021/8988762	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する
1. 著者名 Igarashi H, Ueki S, Kitaura H, Kera T, Ohno K, Ohkubo M, Terumitsu-Tsujita M, Kakita A, Kwee I	4. 巻 eCollection
2. 論文標題 Longitudinal GluCEST MRI Changes and Cerebral Blood Flow in 5xFAD Mice.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Contrast Media Mol Imaging	6. 最初と最後の頁 8831936
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1155/2020/8831936	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する
1. 著者名 Matsuda Masato, Igarashi Hironaka, Itoh Kosuke	4. 巻 13
2. 論文標題 Auditory T-Complex Reveals Reduced Neural Activities in the Right Auditory Cortex in Musicians With Absolute Pitch	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Frontiers in Neuroscience	6. 最初と最後の頁 809
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3389/fnins.2019.00809	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 Itoh Kosuke, Sakata Honami, Igarashi Hironaka, Nakada Tsutomu	4. 巻 71
2. 論文標題 Automaticity of pitch class-color synesthesia as revealed by a Stroop-like effect	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Consciousness and Cognition	6. 最初と最後の頁 86 ~ 91
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.concog.2019.04.001	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 Nomura Toshiharu, Okamoto Kouichirou, Igarashi Hironaka, Watanabe Masato, Hasegawa Hitoshi, Oishi Makoto, Fujii Yukihiko	4. 巻 29
2. 論文標題 Vascular Hyperintensity on Fluid-Attenuated Inversion Recovery Indicates the Severity of Hypoperfusion in Acute Stroke	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Stroke and Cerebrovascular Diseases	6. 最初と最後の頁 104467 ~ 104467
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jstrokecerebrovasdis.2019.104467	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 Huber Vincent J., Igarashi Hironaka, Ueki Satoshi, Terumitsu-Tsujita Mika, Nito Chikako, Ohno Ken, Suzuki Yuji, Itoh Kosuke, Kwee Ingrid L., Nakada Tsutomu	4. 巻 2019
2. 論文標題 Visualizing the Distribution of Matrix Metalloproteinases in Ischemic Brain Using In Vivo 19F-Magnetic Resonance Spectroscopic Imaging	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Contrast Media & Molecular Imaging	6. 最初と最後の頁 1 ~ 8
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1155/2019/8908943	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 該当する

1. 著者名 Huber Vincent J., Igarashi Hironaka, Ueki Satoshi, Kwee Ingrid L., Nakada Tsutomu	4. 巻 29
2. 論文標題 Aquaporin-4 facilitator TGN-073 promotes interstitial fluid circulation within the blood?brain barrier	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 NeuroReport	6. 最初と最後の頁 697 ~ 703
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1097/WNR.0000000000000990	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 該当する

1. 著者名 Natsumeda Manabu, Motohashi Kunio, Igarashi Hironaka, Nozawa Takanori, Abe Hideaki, Tsukamoto Yoshihiro, Ogura Ryosuke, Okada Masayasu, Kobayashi Tsutomu, Aoki Hiroshi, Takahashi Hitoshi, Kakita Akiyoshi, Okamoto Kouichirou, Nakada Tsutomu, Fujii Yukihiko	4. 巻 41
2. 論文標題 Reliable diagnosis of IDH-mutant glioblastoma by 2-hydroxyglutarate detection: a study by 3-T magnetic resonance spectroscopy	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Neurosurgical Review	6. 最初と最後の頁 641 ~ 647
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s10143-017-0908-y	査読の有無 無
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2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 大野健、大久保正樹、渡辺将樹、五十嵐博中
2. 発表標題 glyCESTイメージングの開発と応用
3. 学会等名 脳循環代謝学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Igarashi H
2. 発表標題 19F-Magnetic Resonance Spectroscopic Imaging visualizes the distribution of Matrix metalloproteinases in ischemic brain using in vivo
3. 学会等名 BRAIN & BRAIN PET 2019 (国際学会)
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

米国カルフォルニア大学ディビス校神経内科、Ingrid L. Kwee教授の教室と共同研究を行い、前臨床レベルマウスの脳内蛋白の生化学的分析を行った。
---

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
研究 分担 者	大久保 真樹  (Okubo Masaki)	新潟大学・医歯学系・教授	
	(10203738)	(13101)	

6. 研究組織（つづき）

	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
研究分担者	鈴木 清隆  (Suzuki Kiyotaka)  (40303169)	新潟大学・脳研究所・准教授    (13101)	

	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
研究協力者	鈴木 雄治  (Suzuki Yoji)  (90529851)		
研究協力者	北浦 弘樹  (Kitaura Hiroki)  (80401769)		
研究協力者	植木 智志  (Ueki Satoshi)  (90595117)		
研究協力者	酒多 穂波  (Sakata Honami)  (50804548)		

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