

令和 5 年 6 月 2 日現在

機関番号：24405
研究種目：基盤研究(C) (一般)
研究期間：2019～2022
課題番号：19K09455
研究課題名(和文) 光マルチモダリティイメージングによる神経代謝血管連関解析と脳循環代謝評価への応用

研究課題名(英文) Development of a multimodal optical imaging system for investigation of neurovascular metabolic coupling and evaluation of cerebral blood flow and metabolism

研究代表者
鈴木 崇士 (Suzuki, Takashi)

大阪公立大学・健康科学イノベーションセンター・特任准教授

研究者番号：10572224
交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：脳神経活動-循環代謝を解明するために、これまでに開発した光脳循環代謝イメージングとフラビン蛋白蛍光イメージングとの融合を試みた。しかしながら、研究代表者の異動や研究活動の自粛などにより、マルチモダリティ化には至らなかった。そこで、研究計画を実施可能な範囲で変更した。

本研究において、OCTによる小型魚類成魚の脳血管の3次元構造を、非侵襲かつin vivoで撮像する方法を開発することができた。その結果、脳血管径や血管の屈曲率を定量評価することが可能となった。本研究結果は、脳血管を経時的に評価することを可能とし、疾患の進行が脳に与える影響を解明する一助となりうる。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究により開発された非侵襲 in vivo 脳血管イメージングは、加齢や疾患の進行に伴う脳血管系の変化について同一生物の組織を経時的に評価することを可能とする。小型魚類のヒト疾患モデルを対象に用いることで、疾患発生機序の解明や、創薬スクリーニングへの応用が期待される。

研究成果の概要(英文)：In order to know the complicate relationship between neural activity, cerebral metabolism and cerebral blood flow, we tried to develop a multimodal optical imaging system. However, this concept multimodality optical imaging has not been realized due to unpredictable disturbances such as the coronavirus diseases pandemic and changes experiment environment according to the transfer of a researcher. In this study, we established a non-contact in vivo angiographic approach and searched vascular networks in the brain of small fish (medaka) using the optical coherence tomography (OCT). Our technique allowed to visualized blood vessels in medaka brain. We were also able to show the three-dimensional distribution of microvessels in the medaka brain. Therefore, this in vivo optical imaging method could be used to perform follow-up studies of cerebrovascular changes in disease model medaka and help to reveal the mechanisms of cerebrovascular disease.

研究分野：生体光計測

キーワード：生体光計測 光コヒーレンストモグラフィ 脳循環代謝 神経代謝カップリング 分光イメージング

1. 研究開始当初の背景

体温は生命活動の基盤となる物理量である。組織の活動度、血流、環境等に影響を受けており、生理的条件下でも部位差があり、活動により絶えず変動していることは明らかである。よって、脳内温度や脳局所温度の変動は、脳活動を反映し、定量的に脳活動を評価できる有用な手段となると考えられる。また、脳温度と血流から脳循環代謝状態を知ることによって、脳血管疾患や脳外科手術中のリアルタイムモニタリングへの応用も期待される。そこで本研究では、脳代謝を評価することのできる光イメージングを用い、脳温度・血流イメージングシステムに組み込むことで、代謝・温度・血流を同時に評価することのできる光マルチモダリティイメージングを開発する。

2. 研究の目的

本研究の目的は、複数の光イメージングを用いて、脳代謝、温度、血流変化、さらには血管構造を同時に評価することのできる光マルチモダリティイメージングを開発し、脳機能計測と脳病態評価に応用する技術を確立することである。

3. 研究の方法

(1) 脳循環代謝イメージング

脳温度イメージングは、赤外温度カメラ (A6700sc FLIR 社製) を用いて構築した (図 1)。血流イメージングは、レーザースペックル血流イメージングを、近赤外レーザーと CCD カメラにより構築した。



図 1. 温度イメージング

(2) フラビン蛍光イメージング

脳神経活動を可視化するため、実体顕微鏡 (SMZ800N, Nikon 製) をベースに、LED 励起光 (440-460nm) とバンドパスフィルタ (500-560nm)、デジタルカメラ (7, Sony 製) を用いてシステムを構築した。

(3) OCT

非侵襲脳循環 3 次元計測のため、スペクトラルドメイン OCT をセットアップし、イメージング実験を実施した (図 2)。

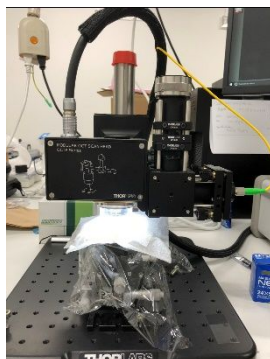


図 2. OCT 装置

(4) 分光イメージ

分光イメージは、可視～近赤外域に感度を持つ、分光カメラを用いて取得した。

4. 研究成果

(1) マルチモダリティイメージング実現の検討のため、麻酔下のマウスの脳を対象として、フラビン蛋白蛍光イメージング実験をおこなった。撮影は暗所にて、デジタルカメラの高感度モードによりおこなった(図3)。その結果、フラビン蛋白によると思われる自家蛍光を観察することができた。

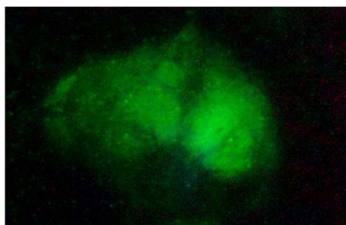


図3. マウス脳のフラビン蛋白蛍光イメージング一例

ここで、すでに開発してある脳循環代謝イメージングとフラビン蛋白蛍光イメージングを融合させたマルチモダリティイメージングを開発する予定であった。しかしながら、実験環境の維持が困難となり、マルチモダリティ化を実現するには至らなかった。これらのイメージング法は、光学的に干渉することはないため、マルチモダリティイメージングシステム実現の可能性を示すことができた。

(2) OCT を用いて、小型魚類(野生型メダカ)の脳血管イメージングをおこなった。まず in vivo 計測を実現するために、麻酔(オイゲノール)とアガロースゲルで、生命活動を維持したまま動きを抑制することに成功した(図4)。



図4. メダカの固定の様子

得られたOCT信号を、血管サイズ情報を維持した画像を再構成し、脳血管3次元構造画像を得ることができた(図5)。脳断層画像から脳血管径を計測し、また3次元構造画像からは、血管の蛇行性を評価することができた。

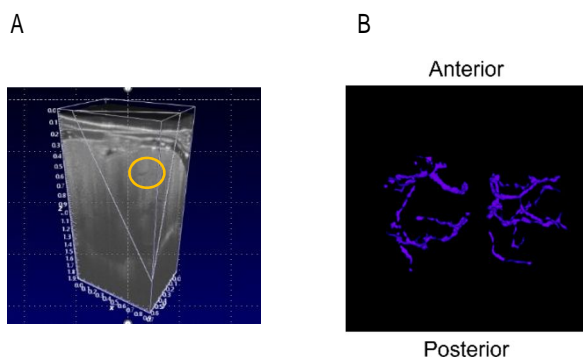


図5. メダカ脳のOCT画像(A)とメダカ脳血管の3次元構造画像(B)。

(3) 血管の動脈, 静脈の判別するために, メダカ胚を対象に分光イメージングをおこなった(図6). その結果, 酸化ヘモグロビン吸収波長において, 血管部分を可視化することができた.

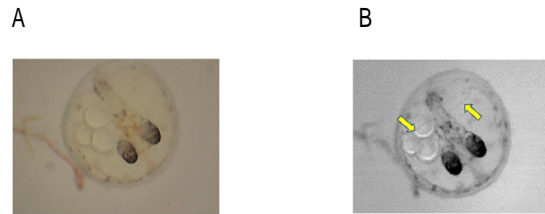


図6 . メダカ胚のビデオカメラ画像 (A) と波長 570nm における分光画像 (B) の一例

本研究では, 脳神経活動と循環代謝を評価する同時イメージング法の開発を目指した. しかしながら, 脳循環代謝イメージングとフラビン蛋白蛍光イメージングのマルチモダリティ化は, 研究代表者の異動による実験環境継続不可により実現するに至らなかった.

脳循環イメージングの実現のため, 小型魚類の脳を対象に, OCT による脳血管イメージング法を開発し, 血管径の評価が可能となった. 開発した方法を P53 遺伝子欠損メダカに用いることで, 野生型と血管径に差があることがわかった. これは様々な疾患モデルを対象に用いることで, 疾患の病態解明や治療法開発に有用であると考えられる. したがって本研究で得られた成果は, 脳血管疾患研究の一助となりうるであろう.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Suzuki Takashi, Ueno Tomohiro, Oishi Naoya, Fukuyama Hidenao	4. 巻 10
2. 論文標題 Intact in vivo visualization of telencephalic microvasculature in medaka using optical coherence tomography	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-020-76468-6	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 -

〔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 Suzuki T, Ueno T, Oishi N, Fukuyama H
2. 発表標題 In vivo optical coherence tomography of cerebral microvessels in medaka
3. 学会等名 Photonics West 2020, BiOS 2020（国際学会）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 鈴木 崇士, 大石 直也, 福山 秀直
2. 発表標題 近赤外ハイパースペクトラルイメージングによるラット外傷性脳損傷の評価
3. 学会等名 Optics & Photonics Japan 2019
4. 発表年 2019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
研究分担者	大石 直也 (Oishi Naoya) (40526878)	京都大学・医学研究科・特定准教授 (14301)	

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	上野 智弘 (Ueno Tomohiro) (10379034)	京都大学・医学研究科・助教 (14301)	

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