

令和 3 年 6 月 22 日現在

機関番号：37303

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18H03526

研究課題名(和文)代謝動態計測のための新たな動的核偏極MRI開発および実証研究

研究課題名(英文)Development of dynamic nuclear polarization MRI for metabolic dynamics measurement

研究代表者

市川 和洋 (Ichikawa, Kazuhiro)

長崎国際大学・薬学部・教授

研究者番号：10271115

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,300,000円

研究成果の概要(和文)：本研究は、常温核偏極MRI(DNP-MRI)の高度化により、分布・代謝に時間を要する代謝過程全般に応用可能な生体代謝リアルタイム分子イメージングの技術基盤を構築することを目的とした。そのために、 ^{13}C など他核測定が可能な計測プローブ開発と画像化コイルの開発を行なった。その結果、実用的な時間で ^{13}C DNP-MRIが実現可能なことを明らかにした。また、担元モデル、糖尿病モデル動物に応用し、その有用性を示した。以上の結果は、これまで行われている ^1H DNP-MRIのみならず ^{13}C DNP-MRIなどの代謝イメージングに展開可能な潜在的有効性を示唆している。

研究成果の学術的意義や社会的意義

様々な代謝反応により生体機能・恒常性が調節されている。そのため、疾患状態において代謝反応や代謝産物の変化し、診断や治療効果の判断指標として用いられている。リアルタイムで臓器代謝活性を計測できれば、創薬・医療に貢献することが期待できる。極低温核偏極MRIは近年発展している技術であり、前立腺がん等での代謝変化検出が示されているが、測定可能時間が短く応用が限られている。そこで、常温で繰り返し計測を実現し応用範囲を広げることを目的とし、本研究ではその技術基盤を確立した。

研究成果の概要(英文)：The purpose of this study was to build a technological basis for real-time molecular imaging that can be applied to metabolic processes that require time for distribution and metabolism by room temperature dynamic nuclear polarization MRI (DNP-MRI). To this end, we have developed a DNP-MRI probe that can measure other nuclei such as ^{13}C . As a result, it was indicated that ^{13}C DNP-MRI can be performed in a practical time. In addition, it was applied to a tumor or diabetes model of animal. The above results suggest the potential effectiveness as metabolic imaging of ^{13}C DNP-MRI.

研究分野：生体医工学

キーワード：DNP MRI 代謝

1. 研究開始当初の背景

生体代謝のイメージングは、基礎医学研究及び高度な臨床診断に重要である。fMRI (脳神経活動等を反映する血流動態など) や PET (グルコース様化合物の代謝集積) など、臨床診断に用いられ医学・医療に大きく貢献している。MRI を始めとする磁気共鳴計測法は主要画像診断手法の一つとして広く適用されている。一方で、磁気共鳴法自身は計測法として低感度であり適応対象が限定されるため、生体機能で重要な多くの生体代謝のリアルタイム分子イメージングは困難であった。

核偏極 (dynamic nuclear polarization DNP) は NMR 構造解析に用いられてきたスピン間エネルギー移動による核スピン感度向上手法である。近年、偏極希ガスをを用いた肺の高解像度画像化や極低温 DNP 迅速溶融法 (電子スピンによる DNP 効果と低温効果で、 ^{13}C 標識体の場合 10,000 倍増感) タイプの DNP-MRI が行われ、米国では $1\text{-}^{13}\text{C}$ ピルビン酸の前立腺癌における代謝動態のリアルタイム計測によるがん診断臨床研究が行われている。我々の長偏極寿命の分子プローブ設計、AminopeptidaseN 活性、 γ -glutamyl transpeptidase 活性応答性プローブの開発も含めて、幾つかのグループから酵素代謝リアルタイムイメージングが報告され、活発な開発研究が進められている。一方で、極低温 DNP-MRI は 1 回きりの偏極化と数十秒から数分程度の偏極寿命であるため、分子プローブの投与から標的臓器への分布、代謝に時間を要する一般的な代謝過程は適応困難であり、適用範囲が限定される状況であった。

2. 研究の目的

本研究では、上述の分布・代謝に時間を要する代謝過程全般に応用可能な生体代謝リアルタイム分子イメージングの技術基盤を構築することを大目標とした。

一定時間経過後に高感度代謝計測を行うには、反応基質プローブを生体投与後、核偏極を生じさせることが必要である。それには我々が開発してきた経時的繰返偏極が可能な常温 DNP-MRI 装置が適しているが、偏極度は～数十倍に留まり感度が不十分であった。我々は常温 ^1H DNP-MRI 計測システムの改良で従来比数十～百倍の大幅な高感度化を実現することで、生体代謝イメージングには感度不足と考えられた点を克服した。そこで本システムを ^{13}C DNP-MRI 化合物等の他核種計測に応用し、リアルタイム代謝計測を初めて実現する前臨床研究装置開発と実証研究を目的とした。また、DNP は電子スピンを増幅タネとすると核種問わず電子スピン感度で計測可能となる。そのため低磁気回転比核でも大幅な増感効果が得られ、創薬研究において広く生命科学全般に波及効果をもつ可能性も有する。そこで他核種化合物についての生体・リアルタイム計測の実現性について基礎データを得ることをあわせて目的とした。

3. 研究の方法

高感度常温 ^1H DNP-MRI 装置を (1) 他核種計測可能なシステムへ高度化し、 ^{13}C などの生体動態研究への適用実現、(2) がん・糖尿病モデルなどにおいて、有用性を実証する。具体的な項目は以下の通りおこなった。

(1) 代謝イメージング装置開発、改良:

1-1) 既存 ^1H -DNP-MRI をベースに改良行いシステム開発を行う。周波数帯域が ^1H 、 ^{13}C で 1/4 異なり、それぞれ約 800KHz, 200KHz である。ラジオ通信等で用いられる帯域であるため、新規に帯域に合わせた外来ノイズ遮断を行う。

1-2) ^{13}C など他核種 DNP-NMR/MRI 計測プローブを本システム向けに設計、製作する。まず 溶液試験用の小型・高感度計測プローブを試作し、条件・パラメータ確定を行ったうえで、動物計測プローブを作成することで創薬研究用装置として完成し、動物モデル実証研究に供する。

また、予備検討で長時間スキャンにより得られた ^{13}C DNP-NMR スペクトルでは、プロトンカップリングによる微細構造が検出された。そこで、 ^1H デカップリング用のコンソール改良と電源増幅器導入し、スペクトルの単純化による検出感度増加を計る。

1-3) ^1H 、 ^{13}C では磁気回転比が 4 倍異なることから、 ^{13}C で ^1H と同様の空間解像度を有する画像を取得するには、傾斜磁場コイルの所用電流が 4 倍異なる。それにともない ^1H と比べて高い発熱あるいは冷却性能を有する ^{13}C 用傾斜磁場コイルを必要とする。そこで、将来開発・アップグレードを念頭に設計基礎データを取得しコイル設計を行う。

(2) 疾患モデルでの有用性実証:

数分～30 分程度の実用的な全撮像時間内にリアルタイム代謝計測を行う条件のもと代謝動態イメージングを実施し、有用性の実証を行う。

モデル動物において、 ^{13}C DNP-MRI による可視化を行う。併せて、偏極物理定数を確定し、計測シーケンスパラメータを確定させる。

4. 研究成果

(1) 代謝イメージング装置開発、改良：

1-1) 200kHz 帯について当実験室内の電磁波状況を調べたところ、800kHz 帯とは異なる外来ノイズが含まれていた。一部は、外部基地局から、また所内のスイッチング電源に由来することがわかった。そこで、200kHz 帯に焦点を当てた電波シールドボックスを設計、製作した。その結果、当初より約 1/1000 と実用範囲にノイズを低減した。

1-2) ^{13}C 計測用 DNP-NMR/MRI 計測プローブを設計、製作した。同プローブを用いて ^{13}C 尿素の DNP-MRI スペクトル計測が可能であることを確認した。その結果を動物計測プローブ(マウス頭部程度サイズの対象物測定用)に展開・設計をおこない、動物計測用プローブを試作した。同プローブを用いて、実験用マウスの頭部・胸部・下腹部の計測を進めた。その結果にもとづき設計上の修正を行い、各部位測定に適した形状での評価、改良を行なった。さらに感度(クオリティファクター)低下をもたらす配線改良を進め、感度向上を実現した。

また、数十分程度のデータ積算を行う場合には、計測磁場の安定性が重要になる。しかし NMR 装置と異なり標準マーカーの感度が十分でなく、周波数補正が困難である。そこで、永久磁石の温度調節を行う、高精度磁場制御装置を導入し、10 分程度の計測に適用できる安定性を実現した。

1-3) ^{13}C など低磁気回転比核イメージングでは、 ^1H との磁気回転比だけ多くの電流を要する。既存装置は ^1H 計測用であるため、大電流に対応可能な傾斜磁場コイルの導入、排熱手段の付加が必須である。傾斜磁場からの熱が永久磁石の温度に影響すると、磁場強度が変化しスペクトルの位置の変化として計測される。そこで、画像化パルスシーケンス下で、NMR スペクトルを取得し、温度影響を見積もった。まず、既存装置には温度センサーと同期した排風器を設計、導入したところ、30 分間程度 100Hz 程度の磁場変動に抑制することが可能となった。 ^{13}C 動物測定用には実用性能に到達したため、まず本条件で次項の検討を行なった。

並行して、 ^{15}N 標識物や ^{31}P 標識物など、生体代謝物として重要な標識体の計測の実現を目指して、高放熱性コイルを限られた磁石装置空間内に収めるための設計変更を継続し、設計初版を完成した。その結果、 ^{15}N 標識物では放熱性がなお不足していることがわかった。そこで、将来の DNP-MRI 装置自身のアップグレードも想定し、既存装置空間に拘らない、より放熱性の高い傾斜磁場コイル設計を完了した。

(2) 疾患モデルでの有用性実証：

マウスでの計測を目的として、前項のとおりいくつかの形状の計測プローブを設計、試作し適合性を調べながら改良を行なった。その上で、疾患モデル動物を用いた計測を行った。

以前から ^1H DNP-MRI 計測に用いてきた db/db モデルおよび KK/Ay モデルを用い、血糖上昇による病態形成と代謝変化の相関を調べた。db/db マウスにおいては腎臓部及び頭部において計測を行った。腎臓において DNP-MRI 画像が得られ対象動物と比べて、代謝が変化している傾向が認められた。しかし、動物個体間のばらつきが大きく画像上有意差は得られなかった。

そこで、新たに KK/Ay モデルの検討を進めた。週齢とともに空腹時血糖値は上昇し、10 週以降は $400\text{mg}/\mu\text{L}$ と一定値になったため、10 週以降を病態形成されたと判断した。DNP-MRI 計測では腎臓部の計測を行った。7 週では変化が見られなかったものの、10 週以降では糖尿病モデルにおいて代謝変化が認められた。左右腎臓間では違いは認められなかった。また、10 週以降、糖尿病モデルにおいて経時的変化は認められなかった。次に、糖尿病薬としてインスリン投与による介入試験を行なった。本実験の範囲においては優位な抑制効果は観測されなかった。

担がんモデルとして OV3121 細胞(卵巣癌)投与モデルを用いた。増殖後 1cm^3 形成後のマウスについて計測したところ、担がん動物の移植部位において代謝変動が認められた。 1cm^3 形成以降、部位サイズとの相関は認められなかった。これは癌増殖とともに、腫瘍内血流の変化により酸素濃度等が変化した可能性が考えられる。

以上の通り、疾患モデルでは代謝動態が対照動物に比べて変化していることを見出した。今後は糖尿病薬を用いた介入試験をさらに進め、また抗がん剤による介入試験を実施することで、疾患の診断、治療効果の評価手法としての有用性をさらに検討していく予定である。

以上の通り、他核種 DNP-NMR/MRI 代謝計測を実現する技術基盤開発を完了した。

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 Yasukawa Keiji, Shigemi Ryota, Kanbe Tomomi, Mutsumoto Yusaku, Oda Fumiko, Ichikawa Kazuhiro, Yamada Ken-Ichi, Tun Xin, Utsumi Hideo	4. 巻 30
2. 論文標題 In Vivo Imaging of the Intra- and Extracellular Redox Status in Rat Stomach with Indomethacin-Induced Gastric Ulcers Using Overhauser-Enhanced Magnetic Resonance Imaging	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Antioxidants & Redox Signaling	6. 最初と最後の頁 1147 ~ 1161
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1089/ars.2017.7336	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 Y. Kodama, F. Hyodo, M. Yamato, K. Yasukawa, Y. Minami, N. Sonoda, Y. Ogawa, K. Ichikawa, T. Inoguchi	4. 巻 96
2. 論文標題 Dynamic nuclear polarization magnetic resonance imaging and the oxygen-sensitive paramagnetic agent OX63 provide a noninvasive quantitative evaluation of kidney hypoxia in diabetic mice.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Kidney International	6. 最初と最後の頁 787-792
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.kint.2019.04.034	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 A. Enomoto and K. Ichikawa	4. 巻 323
2. 論文標題 Dual channel EPR excitation coil array for Overhauser-enhanced MRI	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 J Magn Reson	6. 最初と最後の頁 106890
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jmr.2020.106890	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3件（うち招待講演 1件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 榎本彩乃、市川和洋
2. 発表標題 OMRI可視化範囲拡大のための多チャンネルEPR励起用コイルアレイの開発
3. 学会等名 第58回電子スピンサイエンス学会年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 K. Ichikawa
2. 発表標題 DNP-MRI, research i n progress
3. 学会等名 IMMR seminar, West Virginia University (招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 榎本彩乃、加藤奈緒、白水直美、田村千尋、市川和洋
2. 発表標題 電気泳動を利用したニトロキシルプローブ分離分析法の開発(第3報)
3. 学会等名 第59回電子スピンサイエンス学会年会
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 K. Ichikawa, M. Yamato and T. Naganuma	4. 発行年 2020年
2. 出版社 Springer	5. 総ページ数 221-229
3. 書名 Measuring Oxidants and Oxidative Stress in Biological Systems	

〔出願〕 計1件

産業財産権の名称 計測方法および計測装置	発明者 市川和洋	権利者 九州文化学園
産業財産権の種類、番号 特許、特願2019-130425	出願年 2019年	国内・外国の別 国内

〔取得〕 計0件

〔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
研究協力者	榎本 彩乃 (Enomoto Ayano)	長崎国際大学・薬学部・講師 (37303)	

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