

平成22年6月2日現在

研究種目：基盤研究(B)
 研究期間：2007～2009
 課題番号：19390327
 研究課題名（和文） 高磁場MRIによる含鉄タンパク質フェリチンの定量化と分子イメージングへの適用研究
 研究課題名（英文） Quantification of ferritin iron and its application to molecular imaging using high field MRI
 研究代表者
 三森 文行 (MITSUMORI FUMIYUKI)
 独立行政法人国立環境研究所・化学環境研究領域・室長
 研究者番号：90125229

研究成果の概要（和文）： B_1 磁場分布が不均一になる高磁場MRIにおいてもヒト脳組織水の横緩和速度を正確に測定できる測定法（MASE法）を開発した。本法を用いて測定したヒト脳内各部位の見かけの横緩和速度(R_2^*)は局所鉄濃度([Fe])と高分子量分画(f_M)の線形結合 ($R_2^* = \alpha[Fe] + \beta f_M + \gamma$, α, β, γ は定数) で記述できることを見いだした。この関係を用いて観測した R_2^* から脳内フェリチン鉄濃度を正確に測定できるようになった。

研究成果の概要（英文）：We developed a pulse sequence of MASE, which enables us to measure apparent transverse relaxation rates (R_2^*) of the water molecule at high field MRI. R_2^* values obtained in human brain was well described with a linear combination of regional iron concentration ([Fe]) and macromolecular fraction (f_M), $R_2^* = \alpha[Fe] + \beta f_M + \gamma$, where α, β , and γ are coefficients. Brain regional iron concentration can be accurately quantified using the equation and experimentally determined coefficients.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	7,000,000	2,100,000	9,100,000
2008年度	4,000,000	1,200,000	5,200,000
2009年度	2,900,000	870,000	3,770,000
年度			
年度			
総計	13,900,000	4,170,000	18,070,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・放射線科学

キーワード：高磁場MRI, 生体分子, フェリチン, 磁性, 分子イメージング

1. 研究開始当初の背景

生体にとって鉄は必須金属であるとともに過剰の鉄は活性酸素種の生成を介して酸化ストレスの原因となる。生体鉄を測定するには死後組織を酸灰化後、比色法や、ICP法により定量するなど破壊的方法しかなかった。一方、MRIの T_2 強調画像で低信号を呈する部

位と鉄含量には相関が見られることが知られていた。しかし、 T_2 強調信号強度は鉄以外でも変動し、より定量的な T_2 値を生体で正確に測定することは、スライス選択の不完全性、高磁場において顕在化する B_1 磁場の不均一性に妨害され困難であった。

2. 研究の目的

下記の3点の実現を目的とした。

(1) 生体において高磁場でも組織水の横緩和速度を正確に評価できる T_2 緩和時間測定法を実現する。

(2) ヒト脳の T_2 緩和時間分布を測定し、局所における非ヘム鉄濃度（大部分がフェリチン鉄と考えられる）との相関を求める。

(3) T_2 緩和時間と非ヘム鉄濃度の相関を用いてヒト脳内のフェリチン鉄濃度を定量する方法を確立する。また、その確度、感度について評価する。

3. 研究の方法

(1) 本研究では、4.7Tの高磁場において、上記の不完全なスライス選択、 B_1 不均一を克服してヒト脳の T_2 緩和時間分布を正確に測定できる方法を構築した。このためにはスピネコー測定において、より完全な信号の再結像を可能とする断熱RFパルス (Adiabatic Full Passage pulse, AFP) を2個使い、 T_2 による信号減衰を忠実に再現するマルチエコー (Multi-echo Adiabatic Spin Echo, MASE) 測定法 (図1) を構築した。

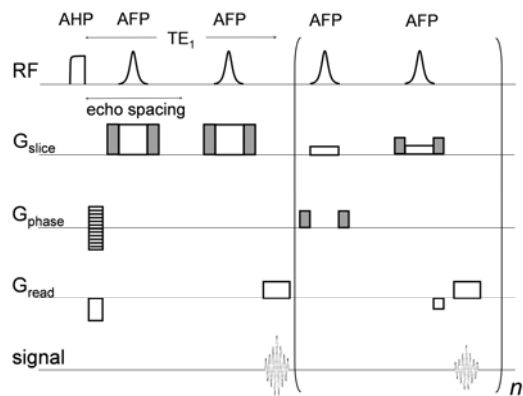


図1. MASE法パルスシーケンス

(2) 健常な男女被験者12名、ついで54名のグループでMASE法を用いて、基底核領域を含む軸位断の T_2 マップを集積し、前頭皮質、前頭白質、尾状核、被殻、淡蒼球、視床における見かけの横緩和速度 ($R_2^\dagger = 1/T_2^\dagger$, MASE法により得られる横緩和時間が通常の実験室系の横緩和と回転系における横緩和の両者の影響を受けているため、見かけの T_2 と称し、この点を明らかにするために \dagger を付して示す) と、死後脳の同部位で実測された非ヘム鉄との相関を検討した。

(3) R_2^\dagger と局所鉄濃度 ([Fe]) の相関に付加的影響を与える因子の探索を行い、高分子分画

($f_M = 1 - \text{水分分}$) がこれに当たることを見いだし、多重相関解析を用いて R_2^\dagger , [Fe], f_M を結ぶ実験式を求めた。

4. 研究成果

(1) 作成したMASE法の性能評価のために、硫酸銅とアガロースを用いて、 T_1 値を1.7s、 T_2 値を30~105msに調整したゲルファントム試料を作製し、MASE法とCPMG法との比較検討を行った。図2に示すとおり、ヒト脳の T_2 値をカバーする領域で、両者で得られる結果は良い一致を示し、MASE法で正確な T_2 測定が行えることがわかった。これに比べ、通常のsinc pulseを再結像に用いるHahn spin echo (HSE) 法では $T_2=105\text{ms}$ の試料で測定値が過小評価されてしまう (図2, Δ)。

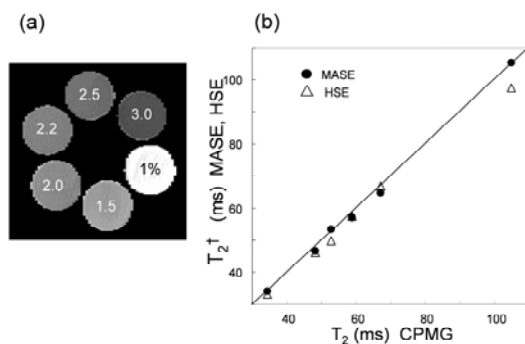


図2. アガロースファントム (左) におけるMASE法とCPMG法、HSE法の比較

(2-1) MASE法で測定した健常被験者の T_2 , T_1 マップの例を図3に示す。図に示すA: 前頭

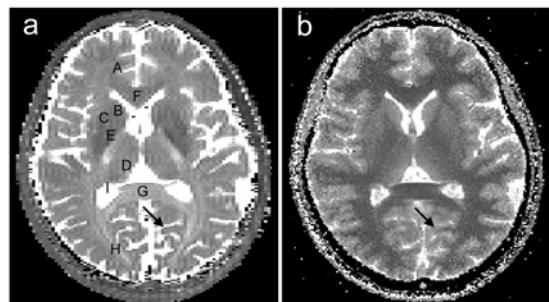


図3. ヒト脳の T_2 (a) 及び T_1 (b) マップ

皮質、B: 尾状核、C: 被殻、D: 視床、E: 淡蒼球の5箇所の皮質領域での見かけの R_2^\dagger を健常男女12名で平均し、それぞれの領域の既報の[Fe]に対してプロットすると、両者には相関係数0.97の強い直線相関があることがわかった (図4)。しかし、前頭白質の R_2^\dagger は皮質と[Fe]で得られる相関直線からはずれ、白質では鉄以外の横緩和要因があることが

示唆された。また、この相関直線の傾き、 $k_2 = 0.551 \pm 0.079$ ($s \cdot \text{mg Fe}/100 \text{ g wet wt}$)は、これまでに脳 R_2^\dagger と $[\text{Fe}]$ の相関で報告された値の中でもっとも大きな値であり、高磁場における横緩和の鉄に対する感度の高さを示している。さらに、これまでに死後脳において0.05~1.5Tの6種の異なる磁場強度で測定された k_2 値と今回in vivoで得られた値を観測磁場強度 B_0 に対してプロットすると、相関係数0.99の高い直線相関を示すことがわかった。この結果は、脳内横緩和に対して非ヘム鉄が支配的に効いていることを示している。

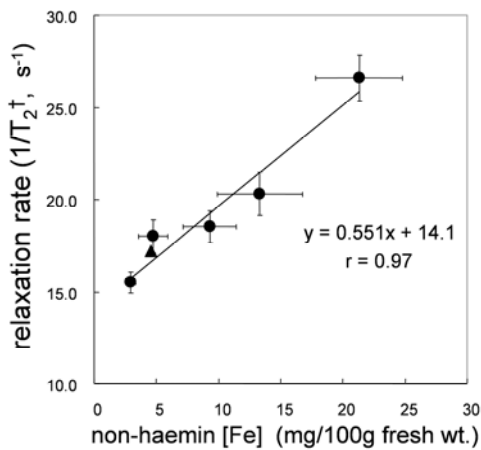


図4. 健常被験者12名で得られた脳内5部位の皮質領域における R_2^\dagger と既報の非ヘム鉄濃度との線形相関

(2-2) 男女54名からなるさらに大きなグループで同様の測定を行い、得られた R_2^\dagger と $[\text{Fe}]$ の相関を検討した(図5)。直線相関の結果(図5a)は前述の12名の結果を再現するばかりでなく、皮質各部位の実測 R_2^\dagger の相関直線からのずれも前回の結果を再現した。この結果は、ヒト脳組織水の R_2^\dagger には $[\text{Fe}]$ 以外にシステムティックな緩和要因が存在することを強く示唆した。このことから、付加的な緩和要因について探索を進め、 $1 - f_M$ (水分画)で定義される組織の高分子量分画 f_M が実測値を良く説明することを見いだした。

実測 R_2^\dagger が $[\text{Fe}]$ と f_M の線形結合で表現されるという実験式($R_2^\dagger = \alpha[\text{Fe}] + \beta f_M + \gamma$, α, β, γ は定数)を仮定し、54名の測定値のうち、30歳以上の被験者38名で得られた実測値の多重相関解析を行った。この結果、 $R_2^\dagger = 0.47[\text{Fe}] + 24.9f_M + 9.54$ という実験式が得られた。多重相関の相関係数は0.99ときわめて高く、 $[\text{Fe}]$ のみを考慮する直線相関では相関からはずれてしまう前頭白質の R_2^\dagger 値もきわめて良く説明できた(図5b)。同図内に各部位の R_2^\dagger 値にしめる $[\text{Fe}]$ 、 f_M 、定常項の寄

与もそれぞれ破線で示す。これにより、脳内で鉄濃度低い前頭皮質や白質では横緩和に対して f_M が支配的な寄与を示し、鉄濃度の高い被殻や淡蒼球では鉄が横緩和を支配していることがわかる。

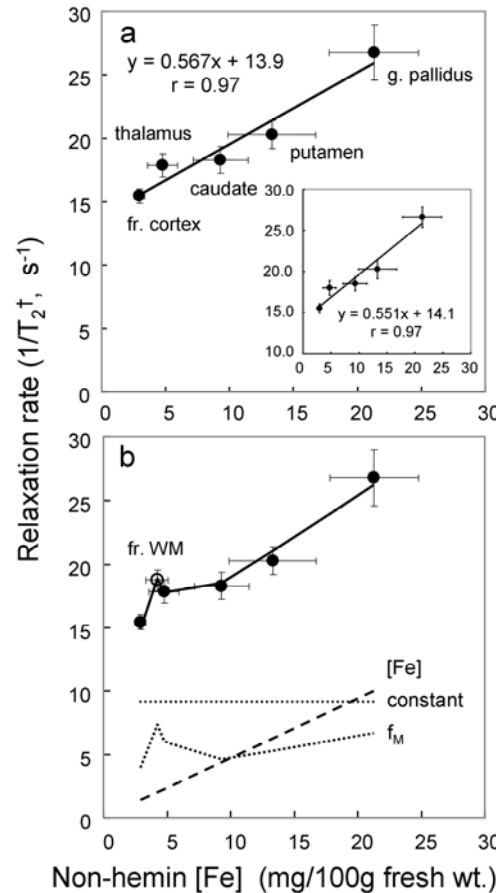


図5. (a) 健常被験者38名で得られた脳内5部位の皮質領域における R_2^\dagger と既報の非ヘム鉄濃度との線形相関。枠内は12名の結果を示す。(b) 同じ測定値に対して $R_2^\dagger = \alpha[\text{Fe}] + \beta f_M + \gamma$ を用いて得られた多重相関の結果。前頭白質(α)が良くフィットしていることがわかる。破線は実線で示す計算値に占める鉄、高分子分画、定数項の寄与を示す。

(3) 前述の実験式を用いて全被験者54名の脳内各部位の鉄濃度を実測 R_2^\dagger より推定した。得られた $[\text{Fe}]$ を被験者の年齢に対してプロットした結果を図6に示す。この結果より、前頭皮質、尾状核、被殻、淡蒼球でこれまでに報告された $[\text{Fe}]$ 値が良く再現されるのみならず、指数関数的な年齢依存性も再現されている。特筆すべきは、30歳以上で唯一例外的に脳内の鉄濃度が減少すると報告されている視床部位において負の年齢依存性が観測された点である。年齢的に鉄濃度が安定する30歳以上の被験者で推定された $[\text{Fe}]$

値の平均値と実測値の差は、いずれの部位においても±2mg/100g wet wt (0.36mmol Fe/g wet wt, 20ppm) 以下に収まっている。前頭皮質における最小推定値も 1.8mg/100g wet wtであることから、開発された測定法による鉄定量の確度、感度はいずれも 2mg/100g wet wtの範囲にあると考えられる。

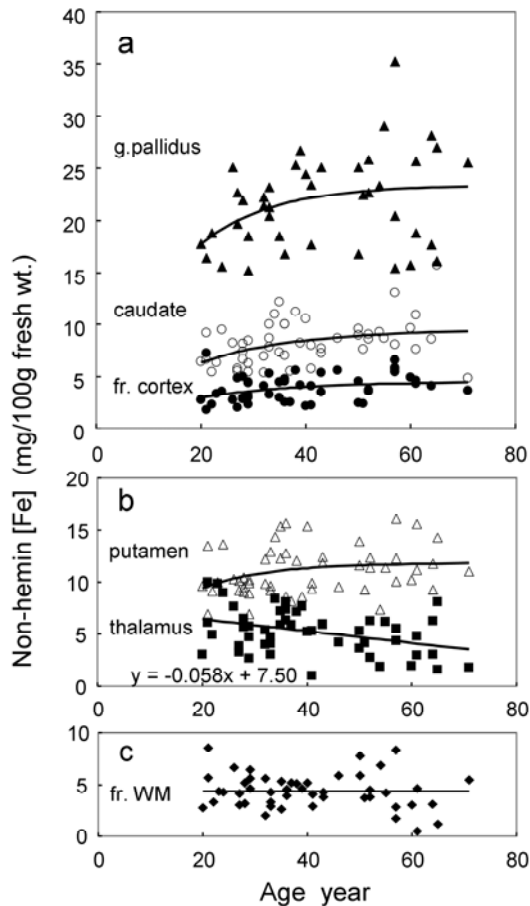


図6. $R_2^{\dagger} = 0.47[\text{Fe}] + 24.9f_{\text{H}} + 9.54$ の実験式を用いて54名の健常被験者脳内各部位で得られた非ヘム鉄濃度の推定値の年齢に対するプロット。実線は最小2乗フィットで得られた年齢依存性。視床において既報と一致する年齢依存的減少傾向が認められる。

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11件)

- ① Mitsumori F, Watanabe H, Takaya N, Estimation of brain iron concentration in vivo using a linear relationship between regional iron and apparent transverse relaxation rate of the tissue water at 4.7T, Magn. Reson. Med., 62,

1326-1330 (2009). 査読有

- ② 三森文行, MRIはどこまで生体内鉄濃度定量を可能とするか、分子細胞治療, 8, 32-36 (2009). 査読有
- ③ Mitsumori F, Watanabe H, Takaya N, Garwood, M, The apparent transverse relaxation rate in human brain varies linearly with tissue iron concentration at 4.7 T, Magn. Reson. Med., 58, 1054-1060 (2007). 査読有

[学会発表] (計21件)

- ① 三森文行, MRIを用いる生体鉄の無侵襲計測, 第1回日本安定同位体・生体ガス医学応用学会大会, 2009.10.31 (東京) (招待講演) .
- ② Mitsumori F, Transverse relaxation of the tissue water in human brain is predominantly determined by iron and macromolecules, 2009 Minnesota Workshops on High Field MR Imaging and Spectroscopy, & Magnetic Resonance Imaging of Brain Function., 2009.10.11 (Minneapolis) (招待講演) .
- ③ 三森文行, 渡邊英宏, 高屋展宏, T_2 緩和速度を用いるヒト脳フェリチン鉄の定量, 第47回NMR討論会, 2008.11.12 (つくば).

[図書] (計6件)

- ① 三森文行, NMRの原理と画像化技術, 「非侵襲・可視化技術ハンドブック (小川誠二、上野照剛監修)」, pp.3-12, (総ページ数1080) NTS、東京 (2007).

6. 研究組織

(1) 研究代表者

三森 文行 (MITSUMORI FUMIYUKI)
 独立行政法人国立環境研究所・
 化学環境研究領域・室長
 研究者番号：90125229

(2) 研究分担者

渡邊 英宏 (WATANABE HIDEHIRO)
 独立行政法人国立環境研究所・
 化学環境研究領域・主任研究員
 研究者番号：60370269
梅津 豊司 (UMEZU TOYOSHI)
 独立行政法人国立環境研究所・
 化学環境研究領域・主任研究員
 研究者番号：00223610

(3) 連携研究者

該当なし

(4) 研究協力者

高屋 展宏 (TAKAYA NOBUHIRO)
(株)エンテックス
マイケル ガーウッド (Michael Garwood)
University of Minnesota