

平成 21 年 4 月 29 日現在

研究種目：若手研究（B）  
 研究期間：2007 ～ 2008  
 課題番号：19790997  
 研究課題名（和文）超音波 sonoporation 効果を用いた新規脳白質線維の画像化法の開発  
 研究課題名（英文）Development of a novel imaging method of the white matter in the central nervous system using sonoporation  
 研究代表者  
 木下 学（KINOSHITA MANABU）  
 大阪大学・医学部附属病院・医員  
 研究者番号：40448064

研究成果の概要：当研究課題では MRI ならびに超音波の生物学的特性を生かし、中枢神経系における新規画像作成方法の開発を試みた。MRI では拡散テンソル画像（DTI）を研究の中心に据え、また超音波では細胞内への生体物質の導入をこれに組み合わせた。本研究により超音波による外来物質の細胞内導入条件の最適化が可能となり、また MRI 側での研究では DTI の組織学的意味付けならびに他画像モダリティとの組み合わせが可能である事が証明された。

## 交付額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2007 年度	2,000,000	0	2,000,000
2008 年度	1,300,000	390,000	1,690,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,300,000	390,000	3,690,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・脳神経外科学

キーワード：(1) 超音波 (2) 神経機能画像 (3) MRI (4) Sonoporation (5) 手術支援画像

## 1. 研究開始当初の背景

(1) 超音波技術は微小気泡(microbubble)との併用により、sonoporation と呼ばれる一時的な細胞膜透過性の亢進、in vitro および in vivo での細胞の apoptosis の誘導、血液脳関門の一時的な開放といった生体作用を引き起こすことが可能であることが知られつつある。このような作用は悪性新生物の新規治療法あるいは薬剤輸送法として期待され、sonoporation はウイルスベクターを用いない遺伝子治療法として、また血液脳関門の開放は中枢神経系への化学療法剤などの drug

delivery system として精力的に研究が進められている。

(2) 一方、近年の MRI 技術の発展により拡散テンソル画像(DTI)の解析により fiber-tracking 法ないしは tractography と呼ばれる白質神経線維の MRI による描出方法が開発された。この方法は、深部白質線維情報を得られるものとして期待され、脳外科の日常診療にも使用されつつある。しかしながら、申請者らの報告でも分かるように、fiber-tracking 法にも限界があり、従来の fiber-tracking 法の欠点を補うことができる新

技術の開発が待望されている。

## 2. 研究の目的

本研究ではDTIによる fiber-tracking を評価し、補完する手法として超音波による sonoporation を用いた新規の深部白質線維の描出方法を開発することを目的とする。

より具体的には、

(1) DTI 画像ならびに fiber-tracking の生物学的に意味するところの詳細な検討。

(2) 効率良く sonoporation 効果を得るための超音波照射条件の最適化。

(3) DTI 画像が他画像モダリティと融合可能かどうかの検討。

である。

## 3. 研究の方法

(1) DTI 画像の生物学的特性ならびにその情報の解釈を理解するために、脳腫瘍患者において定位的に採取された組織標本とDTI画像の一致する部位の fractional anisotropy (FA) や mean diffusivity (MD) との比較検証を行った。

(2) sonoporation 効率の向上のため以下の2点において詳細な検討を行った。

Standing wave の有無による sonoporation 効率の変化。

In vitro 実験系を用いて培養細胞を超音波発生装置で照射し、standing wave 有無においての細胞生存率、ならびに sonoporation 効率を測定した。

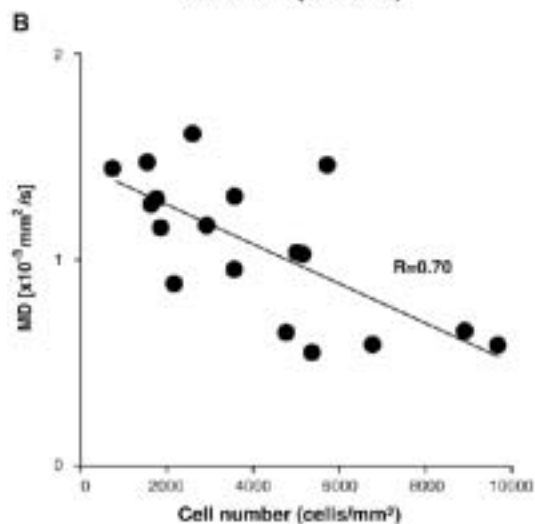
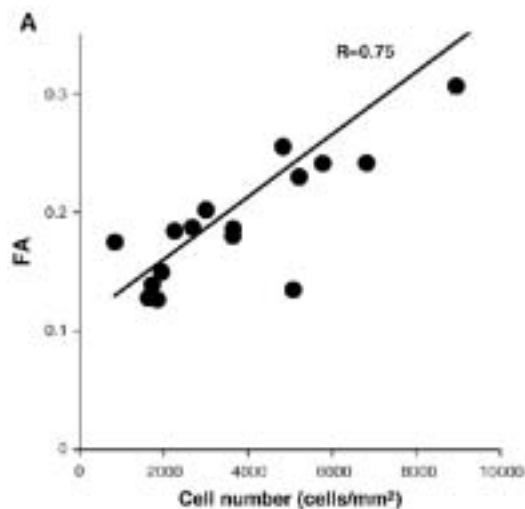
超音波照射による細胞死 apoptosis の発現頻度とその分子機構についての解析。

In vitro 実験系を用いて培養細胞を超音波発生装置で照射し、Bcl-2 を中心にポトース関連分子の動態を検討した。

(3) DTI 画像が他の画像モダリティと融合可能であるかを検証した。臨床症例においてメチオニンPET 画像とDTI画像が融合可能であるかを検証した。画像のレジストレーションやその後のデータ解析を Matlab ソフトを用いて独自に開発したプログラムで解析した。

## 4. 研究成果

(1) DTI 画像より得られる各パラメータと組織学的特徴を詳細に検討すると、DTI 画像の MD は組織細胞密度と負の相関をし、FA とは正相関することが明らかとなった。この関係に関しては様々なデータが乱立している状況であり、一定した解釈が得られていなかった。また本研究の最終目標である DTI と sonoporation 画像の融合を行う際に、そのベースとなる組織の背景によりDTI画像の各パラメータがどのように変化するかを知る事は極めて重要な課題であった。本研究結果は2008年の Neuroimage に発表されている。



(2) sonoporation 効率の向上のため以下の2点において詳細な検討を行った。

Standing wave の有無による sonoporation 効率の変化。

Standing wave の有無により sonoporation 効率が大幅に変化する事を初めて証明した。

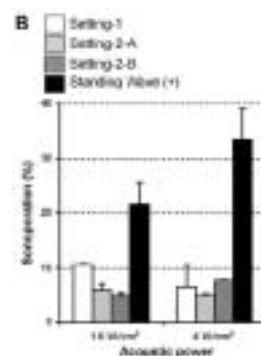
過去の報告は実験系において

standing wave の有

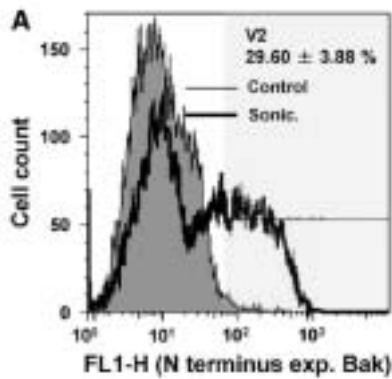
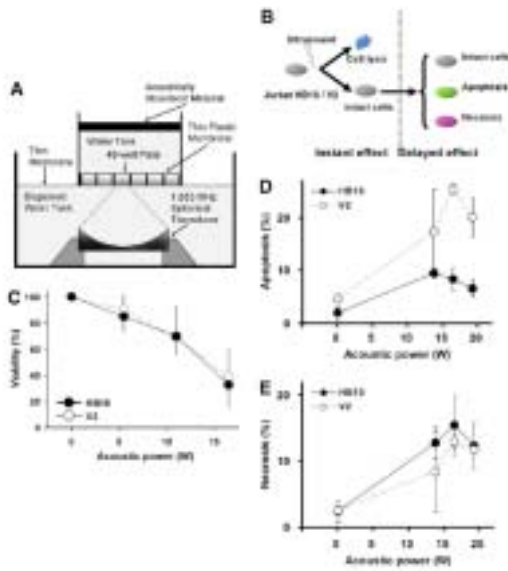
無が極めて曖昧である系を使用しており、本検証は超音波の分野において革新的なデータである。

超音波照射による細胞死 apoptosis の発現頻度とその分子機構についての解析。

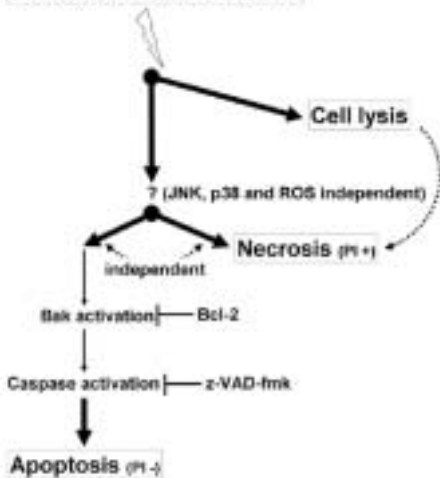
いかにして超音波処置後の細胞死を防ぐかは同手法を用いてる研究ならびに技術開発において重要である。実験等か



ら超音波誘導のアポトーシスには Bcl-2 蛋白を中心に、その上流の Bax 下流のカスプーシスが重要な役割を担っている事がはっきりとした。この研究により超音波処置後の細胞死予防のためにどの分子を標的におくのが合理的か明らかとなった。

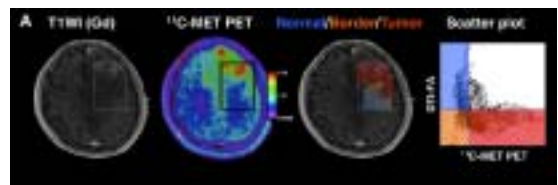
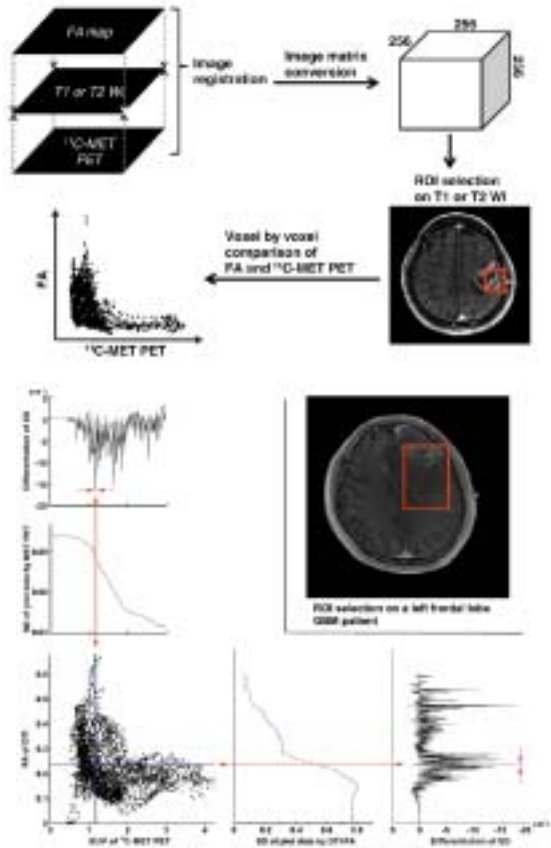


Ultrasound + microbubbles



(3) DTI 画像が他の画像モダリティと融合可能であることを検証

DTI 画像と他モダリティであるメチオニン PET 画像との融合は可能であり、各ボクセルの横断的なデータ解析が可能であった。



またこれらのデータを解析する事で新規画像の作成も可能であることを証明できた。

### 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6件)

Kinoshita M\*, Asai A, Komeda S, Yoshimura K, Takeda J, Uesaka T, Yamanouchi Y, Kanzaki H, Kawamoto K: Spontaneous Regression of a Spinal Extradural Arteriovenous Fistula After Delivery by Cesarean Section -Case Report-. *Neurol Med Chir (Tokyo)*. in press. 査読有り

Kinoshita M\*, Hashimoto N, Goto T, Yanagisawa T, Okita Y, Kagawa N, Kishima H, Tanaka H, Fujita N, Shimosegawa E,

Hatazawa J, Yoshimine T: Use of fractional anisotropy for determination of the cut-off value in 11C-methionine positron emission tomography for glioma. *Neuroimage*. 2009;45 (2):312-318. 査読有り

Kinoshita M\*, Hashimoto N, Goto T, Kagawa N, Kishima H, Izumoto S, Tanaka H, Fujita N, Yoshimine T: Fractional anisotropy and tumor cell density of the tumor core show positive correlation in diffusion tensor magnetic resonance imaging of malignant brain tumors. *Neuroimage*. 2008;43 (1):29-35. 査読有り

Kinoshita M\*, Izumoto S, Hashimoto N, Kishima H, Kagawa N, Hashiba T, Chiba Y, Yoshimine T: Immunohistochemical analysis of adhesion molecules and matrix metalloproteinases in malignant CNS lymphomas: A study comparing primary CNS malignant- and CNS intravascular lymphomas. *Brain Tumor Pathol*. 2008;25 (2):73-78. 査読有り

Kinoshita M\*, Hynynen K: Key Factors That Affect Sonoporation Efficiency in in vitro Settings; The Importance of Standing Wave in Sonoporation. *Biochem Biophys Res Commun*. 2007;359(4):860-865. 査読有り

Kinoshita M\*, Eguchi Y, Hynynen K: Activation of Bak in ultrasound-induced, JNK- and p38-independent apoptosis and its inhibition by Bcl-2. *Biochem Biophys Res Commun*. 2007 ;353(2):515-521. 査読有り

〔学会発表〕(計9件)

木下学、沖田典子、後藤哲、山本福子、千葉泰良、香川尚己、貴島晴彦、橋本直哉、吉峰俊樹：「MRIによる脳腫瘍の生物学的特性の評価 - 拡散テンソル画像 (DTI) による細胞密度、増殖能の評価と FDG-PET との相関性」第 26 回日本脳腫瘍学会 2008 年 12 月 2 日 愛媛

木下学、橋本直哉、後藤哲、沖田典子、山本福子、千葉泰良、香川尚己、貴島晴彦、吉峰俊樹：「MRIによる脳腫瘍の生物学的特性の評価の試み - 拡散テンソル画像 (DTI) による細胞密度、増殖能の評価-」第 67 回日本脳神経外科学会総会 2008 年 10 月 3 日 盛岡

木下学、橋本直哉、後藤哲、沖田典子、山本福子、千葉泰良、香川尚己、貴島晴彦、泉本修一、吉峰俊樹：「The correlation of tumor cell density and diffusion tensor imaging」第 26 回日本脳腫瘍病理学会 2008 年 5 月 23 日 東京

木下学：「超音波の生体作用 (ソノポレーション、アポトーシス、薬物輸送)」第 81 回日本超音波医学会学術集会 2008 年 5 月 23 日 神戸

木下学、吉村晋一、武田純一、上坂達郎、浅井昭雄、山内康雄、河本圭司：「脊髄動静脈瘻診断における Contrast-enhanced MR Angiography の有用性」第 31 回日本脳神経 CI 学会 2008 年 2 月 21 日 東京

木下学、泉本修一、橋本直哉、貴島晴彦、香川尚己、羽柴哲夫、千葉泰良、吉峰俊樹：「中枢神経系悪性リンパ腫の接着因子ならびに組織破壊因子の発現に関する検討」第 25 回日本脳腫瘍学会 2007 年 12 月 9 日 東京

木下学、泉本修一、橋本直哉、貴島晴彦、香川尚己、羽柴哲夫、千葉泰良、吉峰俊樹：「頭蓋内血管内リンパ腫における免疫組織学的検討」第 25 回日本脳腫瘍病理学会 2007 年 4 月 20 日 熊本

木下学、吉峰俊樹、浅井昭雄、Nathan McDannold、Ferenc Jolesz、Kullervo Hynynen：「集束超音波を用いた MR 画像誘導下での脳への Drug Delivery の可能性」第 66 回日本脳神経外科学会総会 2007 年 10 月 4 日 東京

木下学、後藤哲、柳澤琢史、沖田典子、香川尚己、貴島晴彦、橋本直哉、吉峰俊樹：「Use of fractional anisotropy for determination of the cut-off value in methionine PET」第 32 回日本脳神経 C I 学会総会 シンポジウム演者 2009 年 3 月 6 日 京都

〔図書〕(計2件)

Kinoshita M: Targeted Drug Delivery. In: Jolesz FA, Hynynen K eds. *MRI-Guided Focused Ultrasound Surgery*. Informa healthcare. 2007 ; 147-159

Vykhodtseva N, Kinoshita M: Ultrasound-Induced Apoptosis. In: Jolesz FA, Hynynen K eds. *MRI-Guided Focused Ultrasound Surgery*. Informa healthcare. 2007 ; 181-194

〔その他〕

ホームページ等

[www.manabukinoshita.com](http://www.manabukinoshita.com)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

木下学 (KINOSHITA MANABU)

大阪大学・医学部附属病院・医員

研究者番号：40448064