

令和 4 年 6 月 7 日現在

機関番号：83903

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K12872

研究課題名(和文) MRI用造影剤に起因するガドリニウムの脳内沈着に関するマルチモーダル画像解析研究

研究課題名(英文) A multimodal imaging study on gadolinium deposition in the brain caused by the contrast agent for MR imaging

研究代表者

山田 雅之 (Yamada, Masayuki)

国立研究開発法人国立長寿医療研究センター・認知症先進医療開発センター・研究員

研究者番号：40383773

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：近年、造影磁気共鳴画像(MRI)検査を目的にガドリニウム(Gd)キレート造影剤(以下、GBCA)を頻回投与された被検者の脳組織中にGdの残存沈着が指摘され、動物研究でも実証された。しかし、その詳細な機序や脳組織におけるGdの化合状態については未解明のままである。本研究ではWistarラットを対象に作出したGBCA頻回投与によるGd脳内残存蓄積モデルの経時的脳MRIを実施し、さらに同ラット脳組織を電子線マイクロアナライザを用いて元素特異的の微視画像解析を行い、Gdの脳沈着をマルチモーダルに解析した。加えて、GBCAの脳内移行機序に関し、アкваポリン4水チャンネルの機能性との関連性を明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では実験動物(ラット)を対象に他の画像診断検査用造影剤と比べて安全とされてきたGdキレート造影剤の頻回投与がもたらす脳組織でのGd残存沈着を再現し、その詳細を解析した。Gd造影剤がどのような生理学的機序により脳内に移行し、どのような状態で脳組織に残存蓄積しているのか等、本研究を開始する時点で十分に明らかにされていなかった学術的課題の解明に向け、重要な手がかりを得ることができた。本研究により得られたGdの脳内残存蓄積に関わる基礎的な知見は、今後の安全なGd造影剤の開発や医療での利用における安全性の向上に寄与すると考える。

研究成果の概要(英文)：Recent reported studies showed that gadolinium (Gd) deposition in rodent brain caused after successive administration of a gadolinium (Gd)-chelated contrast agent over few weeks. Our study both used temporal magnetic resonance imaging (MRI) and an electron probe micro analyzer (EPMA) to identify the deposited Gd in the regional brain of rats received the administration. The microstructure image analysis of the brain tissues by EPMA revealed more detail information of localization among Gd, Ca, and P in the brain tissue structure than MRI. In addition, the results of this study clarified the mechanism of GBCA migration in the brain in relation to the functionality of aquaporin 4 water channels.

研究分野：実験動物画像解析

キーワード：MRI 直鎖型GBCA Gd脳組織沈着 EPMA AQP4

1. 研究開始当初の背景

2014年に神田ら¹によって報告されたガドリニウム(Gd)キレート造影剤(以下、GBCA)の複数回被投与と患者におけるGdの脳局所蓄積は、現代医療に欠くことのできない画像診断技術である造影MRI検査の安全性を揺るがす重大な問題である。その後、世界中の研究者が当該問題に関する研究報告を発表し、今やGBCAの複数回投与と特定脳組織におけるGd沈着の因果関係は疑いの余地がない状況にある。これらの先行研究において、ヒト脳では剖検組織の解析やMRIの画像解析など後向き研究が中心であり、Gd脳内沈着の機序や詳細な前向き検討にはラット等の実験動物を用いた動物実験研究が実施されてきた。

動物実験研究を含む多くの先行研究によってGBCAの複数回投与と特定脳組織におけるGd沈着の因果関係は実証され²、脳組織中でのGdの局在が微視的レベルでも明らかにされつつある。一方で、GBCAがどのように脳内に移行するのか(脳内移行経路)や、どのように特定脳組織に集積するのか(脳組織特異的なGdの沈着機序)、さらに遊離Gdがどのような元素と共在し、どのような化合物を形成して脳組織に沈着しているのか(Gd含有沈着化合物の状態)という学術的「問い」については十分に解明されていない状況にあった。

2. 研究の目的

GBCAの静脈内繰り返し投与によって健常なWistarラットの脳組織に生じたGdの残存沈着について、MRIや電子線マイクロアナライザ(EPMA)を駆使したマルチモーダル画像解析研究を実施し、十分に解明されていない脳組織中での沈着状態やGdの脳内移行機序の解明を目的とした。

3. 研究の方法

Gd脳内残存蓄積モデルは、研究代表者らが健常なWistarラットにおいて既に確立したGBCAの反復投与プロトコルにて作出した。対象動物の経時的なMRI撮像は、1.5TコンパクトMRI撮像装置(MRT-A1508AC, DSファーマバイオメディカル)を用いて実施し、同ラットの脳組織はEPMAによる金属元素特異的の微視画像解析を新潟大学共用基盤センター設置のEPMA-1610(島津製作所)にて実施した。また、GBCAの脳内移行に関するMRI撮像は、上記のコンパクトMRI装置にてGBCAの脳槽内遠隔投与法を確立した上で脳脊髄液の動態を追跡する経時的MRI撮像を実施した。

さらに、GBCAを用いることなく造影MRIと同等の情報を得ることができる代替撮像法の考案を研究項目に加えた。本検討では片側総頸度脈を結紮したBL6マウスを対象とし、4.7T-MRI装置(Pharmascan47/16, Bruker)を使用して拡散MRI法による血行動態変化の検出を試みた。

得られた全ての画像データは、MATLAB(Mathworks)を用いた自作プログラムコードにて分析された。

4. 研究成果

(1) GBCAを反復投与した脳内Gd蓄積モデルラットのEPMA解析

対象ラット脳から作製した小脳歯状核及び淡蒼球の凍結薄切試料について、EPMAによる金属元素特異的の微視画像解析を実施した。EPMAは先行研究で広く利用されている他の

金属元素分析法に比して精度(元素分解能)が高いとされ、本研究では脳組織に残存蓄積する Gd を正確に同定し、さらにカルシウム(Ca)やリン(P)の共在を明示した。特に、Gd と Ca の空間的な分布は極めて類似しており(Fig.1)、両元素の化学的挙動の類似性に基づく共沈や不溶性化合物としての組織沈着が示唆された。

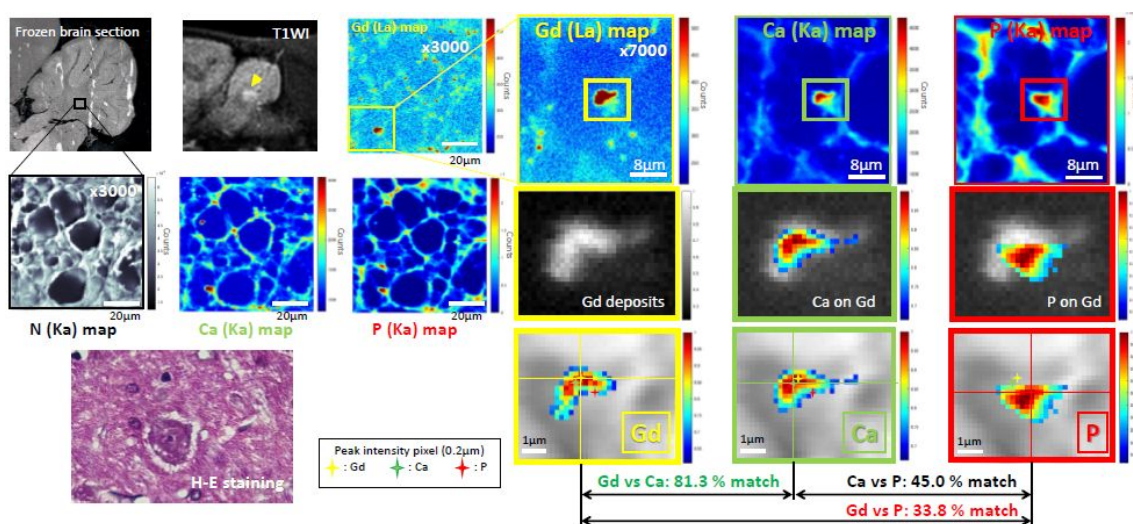


Figure 1: In the element specific distribution maps focused on relatively those rich-concentration area in cerebellar microstructure, higher matching rates between Gd and Ca, i.e., lower matching rate with P, lead us to presume that the Gd complexes including Ca²⁺-binding protein³ such as calnexin⁴ constitute Gd deposits which contribute to the observed contrast enhancement in follow-up MRIs.

(2) GBCA の脳内移行におけるアクアポリン 4 水チャンネルの関与

MRI 装置内に保定された生体ラット脳に GBCA を適切に遠隔投与方法を確立し、造影剤の投与前後に経時的 MRI を実施することで GBCA が脳槽の脳脊髄液から脳実質の細胞間質液に移行する動態 (glymphatic influx) を明瞭に可視化した(Fig.2)。また、選択的にアクアポリン 4 チャンネルの機能を阻害する薬剤を併用した場合に、この脳内移行は明らかに低下したことから、GBCA の脳内移行にアクアポリン 4 水チャンネルの機能性が大きく関わっていると考察した。

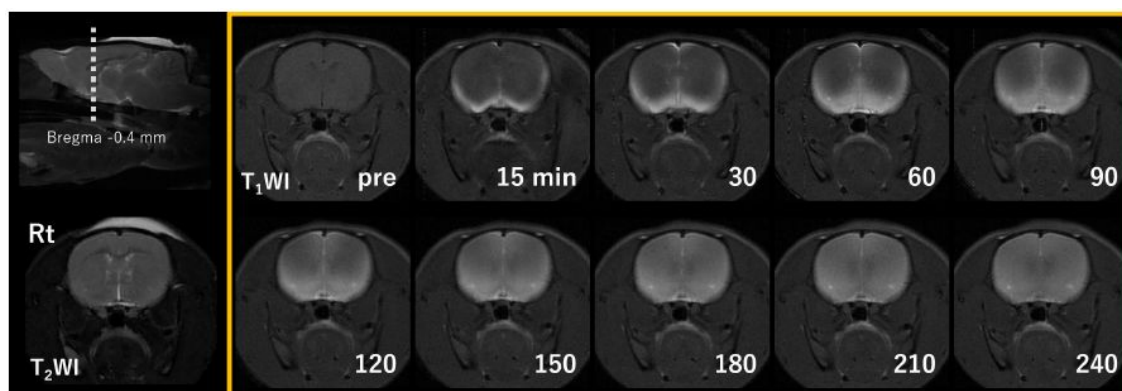


Figure 2: Representative visualization of the sequential CSF-ISF exchange by contrast enhanced MRI in the rat brain.

(3) GBCA を用いることなく脳の血行動態に関する画像情報が得られる MRI 撮像法の検討

GBCA からの Gd の遊離は利用されるキレートの特성에依りて異なるとされるが、直鎖型キレート GBCA の反復投与により生じる脳組織沈着に関するこれまでの知見に鑑み、GBCA を用いることなく血行動態に関する画像情報が得られ代替法を検討した。既に広く利用される拡散 MRI の手法である IVIM 法を応用した本法は、片側大脳半球の動脈血流を軽度低下させた BL6 マウスについて、その血行動態の変化を明示した(Fig.3)。臨床で利用される GBCA を用いて血行動態を解析する撮像法の代替として、GBCA を用いることなく同様の情報が得られる本法の有用性が示唆された。

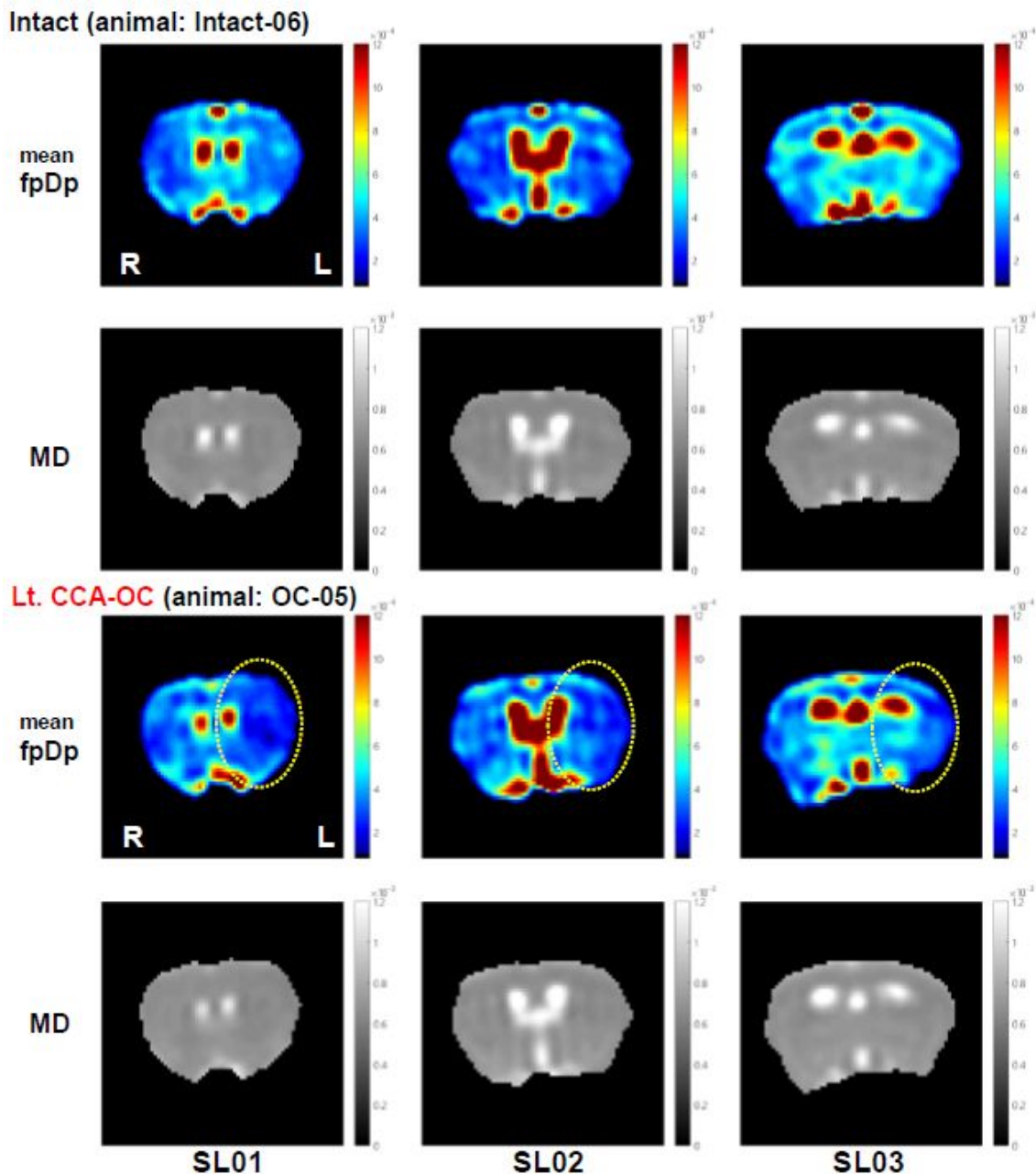


Figure 3: Comparing the hemispheric differences in representative calculated brain images between the intact and the unilateral carotid ligation mice.

(4) まとめ

本研究では、GBCA の反復投与により脳内に Gd の残存蓄積が生じたモデルラットを対象に MRI や EPMA を駆使したマルチモーダル画像解析に取り組み、GBCA の反復投与に

より生じる Gd の脳組織残存蓄積に関する新たな知見を得た。これらの知見は、本研究課題に関わる重要な学術基盤であり、その解明にも寄与すると考える。

一方、Gd の蓄積が特定脳組織に特異的に生じることや、残存蓄積がもたらす生体への影響などについては詳細が解明されておらず、今後も本研究成果を発展継続させる研究の遂行が求められる。

<引用文献>

1. Kanda, T., *et al.* (2014). *Radiology* 270(3): 834-841.
2. Robert, P., *et al.* (2018). *Invest Radiol* 53(9): 499-517.
3. Frenzel, T., *et al.* (2017) *Invest Radiol*. 52(7):396-404.
4. Chataigner L., *et al.* (2016) *Struct Biol Commun*. 72(Pt 4):276-81.

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 Takano Kazuki, Yamada Masayuki	4. 巻 71
2. 論文標題 Contrast-enhanced magnetic resonance imaging evidence for the role of astrocytic aquaporin-4 water channels in glymphatic influx and interstitial solute transport	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Magnetic Resonance Imaging	6. 最初と最後の頁 11~16
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.mri.2020.05.001	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4件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 Yamada M, Yamamoto H, Takano K, et al.
2. 発表標題 Integrated image analysis of structure and intracerebral perfusion of mice brain using a combined DKI-based IVIM analysis with DTI on preclinical MRI.
3. 学会等名 第47回日本磁気共鳴医学会大会. 2019.09.20-22. 熊本.
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Harada S, Takano K, Miyake K, Hayashi K, Yamamoto H, Shirakawa S, Yamada M.
2. 発表標題 Detection of frequency-dependent activation of stress responses in the emotional nervous system by MEMRI.
3. 学会等名 第47回日本磁気共鳴医学会大会. 2019.09.20-22. 熊本.
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Umezawa E, Fukuba T, Murayama K, Yamada M, et al.
2. 発表標題 A method to detect coherent flows using diffusion weighted image intensity.
3. 学会等名 第47回日本磁気共鳴医学会大会. 2019.09.20-22. 熊本.
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Narita H, Yamada M
2. 発表標題 Development of a Positioner for Taking an MRI of an Experimental Mouse's Lumbar Spine
3. 学会等名 The 10th International Conference on Leading Edge Manufacturing in 21st Century
4. 発表年 2021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
研究協力者	高野 一輝 (Takano Kazuki)		
研究協力者	小林 正義 (Kobayashi Masayoshi)		
研究協力者	五十嵐 文子 (Ikarashi Ayako)		
研究協力者	副島 啓義 (Soejima Hiroyoshi)		
研究協力者	渡邊 孝一 (Watanabe Kouichi)		

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
研究協力者	小木曾 昇 (Ogiso Noboru)		
研究協力者	木村 泰之 (Kimura Yasuyuki)		

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