

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成24年 6月19日現在

機関番号：82502

研究種目：基盤研究（B）

研究期間：2009～2011

課題番号：21390352

研究課題名（和文）

水拡散測定法を用いた次世代ファンクショナルMRIメカニズムの解明とその応用

研究課題名（英文）

Signal source of functional MRI under heavy diffusion weighting

研究代表者

小島 隆行（OBATA TAKAYUKI）

独立行政法人放射線医学総合研究所・重粒子医科学センター・チームリーダー

研究者番号：00285107

研究成果の概要（和文）：

本課題では水拡散測定法を用いたファンクショナルMRI（DfMRI）のメカニズム解明とその応用を試みた。ヒト・動物MRIの結果から、我々の獲得しているDfMRI信号変化はBOLD環境の変化に大きく依存したが、その変化は従来のBOLD変化とは異なるものであった。また、わずかではあるが、低拡散水フラクション変化も確認された。これらは、*in vitro*実験の結果も考慮すると、DfMRIが細胞レベルでのBOLDおよび水拡散変化を反映していることを示唆している。

研究成果の概要（英文）：

This project aimed to make clear the mechanism of functional magnetic resonance imaging under heavy diffusion weighting (DfMRI). Our results from human and animal MRI indicated that the main source of DfMRI signal is BOLD related, but the signal changes were different from usual BOLD. The human data also included some diffusion related signal contribution to DfMRI. Taking *in vitro* aquaporin data into consideration, DfMRI may reflect intracellular BOLD and water diffusion changes.

交付決定額

（金額単位：円）

| | 直接経費 | 間接経費 | 合計 |
|--------|-----------|-----------|------------|
| 2009年度 | 3,700,000 | 1,110,000 | 4,810,000 |
| 2010年度 | 2,400,000 | 720,000 | 3,120,000 |
| 2011年度 | 1,900,000 | 570,000 | 2,470,000 |
| 年度 | | | |
| 年度 | | | |
| 総計 | 8,000,000 | 2,400,000 | 10,400,000 |

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：水拡散・MRI・機能イメージング・分子イメージング

1. 研究開始当初の背景

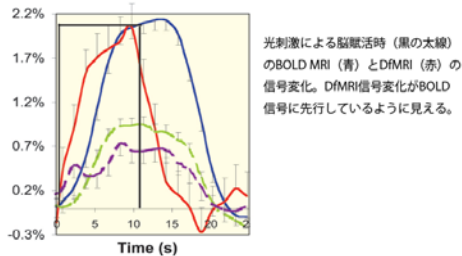
BOLD法（従来法）を用いたファンクショナルMRIの原理と限界

ファンクショナルMRI（fMRI）は小川らによって提案されてから広く神経科学の世界で使用され、脳賦活研究においては欠くことのできない手法となっている。この手法は脳内のデオキシヘモグロ

ビン濃度を敏感に反映するMRI撮像法（BOLD法：blood oxygen level dependent）を用いて脳の活動をモニターするものであるが、デオキシヘモグロビン濃度は神経活動を直接観測しているものではなく、その結果として生じる血流変化と酸素消費量のアンバランスによって生じる現象を見ている（Ogawa,

S. et al. Proc Natl Acad Sci U S A 89, 5951-5 (1992))。このため、実際の神経活動より遅れて信号変化が起こることや、信号変化量が必ずしも神経活動を反映していないことなど、問題点も指摘されている。

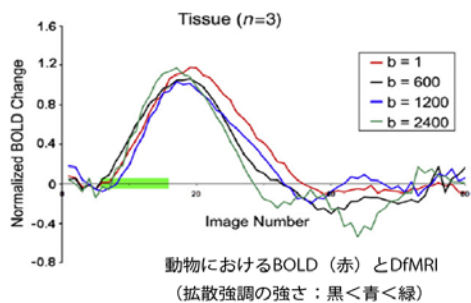
水拡散を用いた fMRI の発見



近年、拡散強調下で行われるファンクショナル MRI (DfMRI) で得られる低拡散水からの信号が、細胞の膨化を反映し、通常の BOLD 信号に先行して変化するという報告がなされ、世界的注目を集めた (Le Bihan, et al. Proc Natl Acad Sci U S A 103, 8263-8 (2006))。彼らは、DfMRI は従来の BOLD fMRI と違い、ダイレクトに神経活動を測定している可能性が高いとの結論を出している。ただ、そのメカニズムに関しては神経細胞膨化説以外にも小血管に選択的な BOLD 信号を見ている可能性を示唆する報告もあり、いまだ、最終的な結論には至っていない。

動物 MRI 実験における細胞膨化説と矛盾した結果

同様の実験は、超高磁場 動物 MRI でも検証されている。ヒト MRI と類似した信号変化は確認されているが、信号源は細胞の膨化ではなく、血管由来の信号であることを示唆している (Yacoub, et al. Magn Reson Imaging 15, 15 (2008))。このような矛盾する結果が得られた原因としては静磁場の違い・種の違いの二つの可能性が考えられ、単純な比較は困難な状況である。



ヒト・動物 MRI におけるシームレスな研究の必要性

マイクロレベルでの脳循環代謝変化をとらえられるレーザー顕微鏡測定などを用いた DfMRI のメカニズム解明には、動物 MRI での研究が不可欠であるが、ヒト用 MRI と異なる測定環境で MRI 測定を行っている限り、ヒト DfMRI の本質的なメカニズム解明は不可能である。ヒト・動物 MRI 共通の研究環境を用意する必要性が高まっている。

2. 研究の目的

ヒト MRI、動物 MRI、動物レーザー顕微鏡を用いて、臨床で観測される D fMRI の変化と細胞レベルでの生理学的・病理学的変化とのマッチングをはかることにより、DfMRI のメカニズムを解明するとともに、臨床疾患診断への応用に向けてエビデンスを提供していく。

3. 研究の方法

- (1) **ヒト MRI**: DfMRI で得られる変化の信号源を探索するため、BOLD 信号と低拡散水フラクシオン (細胞膨化を反映) を分離可能なシーケンスを開発し、ボランティアスタディを行った。
- (2) **動物 MRI**: 一般にヒトで行われている DfMRI と同様のシーケンスを作成し、げっ歯類での脳賦活実験を行った (7テスラ)。BOLD の影響を評価するために、エコータイムを複数回変化させる測定を行い、酸化鉄微粒子を使用した比較実験を行った。また、細胞膨化説の検証のため、細胞膜水透過性をコントロールできるアクアポリン発現細胞を用いて、拡散 MRI 実験を行った。
- (3) **動物レーザー顕微鏡**: ヒトと動物での実験結果の差異に対して、麻酔の影響が考えられたため、無麻酔下で循環代謝測定を行うための実験系を作成し、脳賦活時の変化を観測した。

4. 研究成果

- (1) **ヒト MRI**: DfMRI から BOLD 信号と拡散に依存する信号とを分離可能なシーケンスの開発に成功した (図 1)。このシーケンスは通常の拡散強調シーケンスの後に 180 度パルスを追加することで、エコータイム (TE) の異なる二つの信号を取得し、拡散強調下での R2 (横緩和速度: T2 の逆数) の同時取得を可能とした。

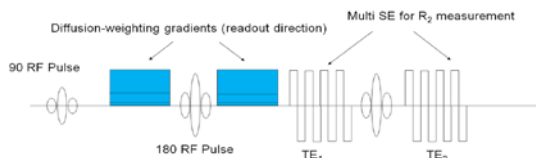
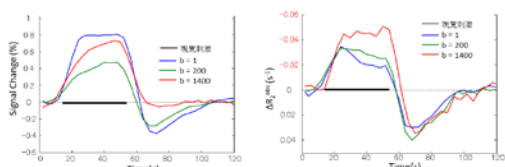


図1 BOLD信号と拡散に依存する信号を分離可能なMRIシーケンス

このシーケンスを用いて、DfMRI で得られた信号から BOLD 成分と低拡散水フラクション（細胞膨化を反映）を独立情報として抽出し、脳賦活との対応を見た。BOLD を反映する ΔR_2 の変化は従来の BOLD fMRI 同様に拡散強調の度合いに寄らず、明らかな刺激後の Undershoot を認め（図 2 右、60s-100s の変化）、本シーケンスで BOLD 成分を抽出できていることが確認できた。脳賦活による信号変化は BOLD 成分が主体であったが、その変化は従来の BOLD 変化とは異なるものであった（図 2 右の $b=1$ と $b=1400$ で、賦活後半での R_2 変化が異なる）。また、信号の変化を BOLD のみでは説明できず、低拡散水フラクションの関与が示唆された。

図2 異なる拡散強調ごとの信号変化（左）とその時のBOLD効果（右）



* 関連論文⑤および1編執筆中

- (2) **動物 MRI:** 従来型のヒト DfMRI と同様のシーケンスで、げっ歯類での脳賦活実験を行った。前足に対する電気刺激で賦活部位が良好にマッピングできた（図 3）。

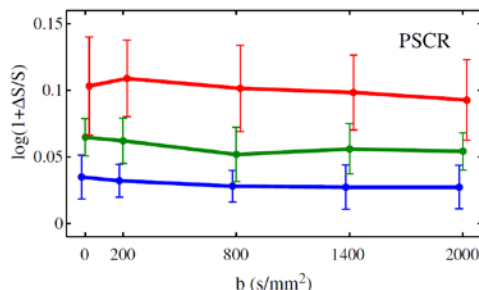
図3 ラット前足刺激時の脳賦活領域



人を対象とした測定と異なり、拡散強調の強さと信号変化との間には有意な関係は見出されなかった。エコータイムを複数回変化させた結果（図 4）と、酸化鉄微粒子を使用した比較実験から、げっ歯類による 7テ

スラという強磁場下での MRI 測定では、DfMRI の信号変化は BOLD 関連の成分のみで、説明することが可能であった。

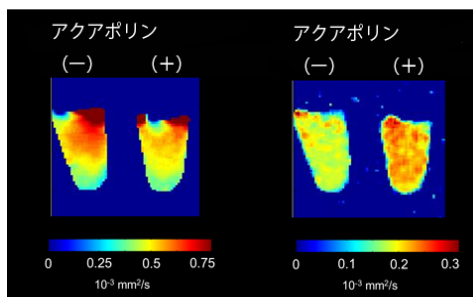
図4 賦活時の異なるb値（大きいほど拡散強調が強い）での信号変化。エコータイム（blue 30ms, green 60ms, red 90ms）が大きくなると変化も大きくなり、BOLD効果の影響を反映していると考えられる。



細胞膜水透過性をコントロールできるアクアポリン発現細胞を用いた拡散 MRI 実験では、強い拡散強調の下でのみ細胞膜水透過性の変化を捉える事が可能であった。実験では、アクアポリンが発現している細胞と発現していない細胞を PCR チューブにいれ、拡散強調を細かく変化させて（0 から 8000s/mm² を 14 ステップ）MRI を取得した。通常臨床で使用されている「弱い拡散強調」を用いた画像（ADC マップ）では発現の有無による信号差ははっきりしなかったが、「強い拡散強調」での画像では両差の差は鮮明に認められた。このことは、DfMRI で用いられる「強い拡散強調」の下では細胞近傍に局在する水からの情報を得ることができることを示唆している。

* 関連論文①および1編執筆中

図5 弱い拡散強調での画像（左）と強い拡散強調での画像（右）。アクアポリン発現の有無は右の画像で明瞭となっている。



- (3) **動物レーザー顕微鏡:** 無負荷で動く接地面（空気で浮上させた発泡スチロールのボール）上でマウスを頭部のみで固定する実験系を作成し、初期検討として無麻酔下でひげ刺激による脳賦活時の血流変化をレーザー

顕微鏡、レーザードップラー法およびスペックル法で観測した。また、放射線照射により変化した脳循環代謝のモニタリングも行った。無麻酔下での各種刺激に対する脳活動変化を捉えることが可能となり、今後の発展が期待される。

*関連論文 (② ③ ④)

- (4) **DfMRI メカニズム解明**: ヒト MRI、動物 MRI 動物実験の結果から、我々の獲得している DfMRI 信号変化の多くの部分は BOLD 環境の変化を反映していることが示唆された。しかし、その変化は従来の BOLD 変化とは異なるものであった。ヒト DfMRI では、わずかではあるが、低拡散水フラクションの変化も確認された。これは、*in vitro* 実験の結果も考慮すると、DfMRI が細胞レベルでの BOLD および水拡散変化を反映していることを示唆している。

*一遍論文執筆中

- (5) **臨床診断への展開**: 本研究で開発された BOLD 信号と水拡散変化を同時に取得可能な MRI 測定法は脳研究のみでなく、腫瘍診断など、幅広い臨床研究への展開が可能である。実際に、癌疾患に対する PET との比較研究も開始されており、今後の成果に期待したい。

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 5 件)

- ① Autio JA, Kershaw J, Shibata S, Obata T, Kanno I, Aoki I. High b-value diffusion-weighted fMRI in a rat forepaw electrostimulation model at 7 T. *Neuroimage* 査読有 57:140-8(2011)
DOI:10.1016/j.neuroimage.2011.04.006
- ② Autio J, Kawaguchi H, Saito S, Aoki I, Obata T, Masamoto K, Kanno I. Spatial frequency-based analysis of mean red blood cell speed in single microvessels: investigation of microvascular perfusion in rat cerebral cortex. *PLoS ONE* 査読有 6: e24056(2011)
DOI: 10.1371/journal.pone.0024056

- ③ Takuwa H, Autio J, Nakayama H, Matsuura T, Obata T, Okada E, Masamoto K, Kanno I. Reproducibility and variance of a stimulation-induced hemodynamic response in barrel cortex of awake behaving mice. *Brain Research* 1369: 103-111 (2011)
DOI: 10.1016/j.brainres.2010.11.007

- ④ Takuwa H, Matsuura T, Bakalova R, Obata T, Kanno I. Contribution of nitric oxide to cerebral blood flow regulation under hypoxia in rats. *Journal of Physiological Sciences* 60: 399-406 (2010)
DOI: 10.1007/s12576-010-0108-9

- ⑤ Kawaguchi H, Obata T, Ota M, Akine Y, Ito H, Ikehira H, Kanno I, Suhara T. Regional heterogeneity and age-related change in sub-regions of internal capsule evaluated by diffusion tensor imaging. *Brain Res* 2010:1.

[学会発表] (計 10 件)

- ① Takayuki Obata Symposium: Research and Innovation of Molecular Imaging Technology Effect of Cell Membrane Water Permeability on Diffusion-Weighted MR signal Imaging1. 11th Asia-Oceania Congress of Medical Physics (AOCMP) 2011年9月 福岡
- ② Jeff Kershaw, Takayuki Obata, et al. Biexponential modeling of diffusion-weighted MRI of rat brain before and after global ischaemia. 第39回日本磁気共鳴医学会大会 2011年9月 北九州
- ③ 小島隆行 Aquaporin-4 発現細胞を用いた拡散強調MRIの信号源探索 第39回日本磁気共鳴医学会大会 2011年9月 北九州
- ④ 小島隆行: シンポジウム「機能画像・拡散画像の現状」拡散強調MRIで得られる新たな脳機能信号 第23回臨床MR脳機能研究会. (20110219). 東京
- ⑤ 小島隆行: 脳水拡散に関する最近の(マニアックな)話題 第12回東京臨床

- 脳画像解析研究会. (20101108). 東京
- ⑥ 小島隆行: シンポジウム
「Neurovascular coupling」拡散強調
MRI で得られる新たな脳機能信号 第
12 回ヒト脳機能マッピング学会.
(20100620). 東京
- ⑦ 田桑弘之、小島隆行, 他: ひげ刺激負
荷に対する覚醒マウスの脳血流反応
及び自発的運動量との相関 第21回日
本脳循環代謝学会.
(20091119-20091120). 大阪
- ⑧ 川口拓之、小島隆行, 他: 共焦点レー
ザ顕微鏡法を用いたラット体性感覚
野における脳血流動態の時空間解析”
第 21 回日本脳循環代謝学会.
(20091119-20091120). 大阪
- ⑨ J. A. Autio, T. Obata, et al.:
Diffusion-Weighted TE-dependent
fMRI Signal in Rat Somatosensory
Cortex at 7 T” ISMRM 17th Scientific
Meeting and Exhibition.
(20090420-20090424). Honolulu,
Hawaii
- ⑩ D. Kuroiwa, T. Obata, et al.: Signal
Source in Heavily
Diffusion-Weighted functional MRI.
ISMRM 17th Scientific Meeting and
Exhibition. (20090420-20090424).
Honolulu, Hawaii

6. 研究組織

(1) 研究代表者

小島 隆行 (OBATA TAKAYUKI)
独立行政法人放射線医学総合研究所・
重粒子医科学センター・チームリーダー
研究者番号: 00285107

(2) 研究分担者

正本 和人 (MASAMOTO KAZUTO)
電気通信大学・先端領域教育研究センタ
ー・特任准教授
研究者番号: 60455384

(3) 連携研究者

青木伊知男 (AOKI ICHIO)
独立行政法人放射線医学総合研究所・分子
イメージング研究センター・チームリーダ
ー
研究者番号: 10319519

池平博夫 (IKEHIRA HIROO)

独立行政法人放射線医学総合研究所・分子
イメージング研究センター・サブグループ
リーダー
研究者番号: 50150313
(H21 年度)

大林茂 (OHBAYASHI SHIGERU)
独立行政法人放射線医学総合研究所・分子
イメージング研究センター・チームリーダ
研究者番号: 90318246
(H21 年度)

木村裕一 (KIMURA YUICHI)
独立行政法人放射線医学総合研究所・分子
イメージング研究センター・室長
研究者番号: 60205002