

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 13 日現在

機関番号：34318

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2009～2011

課題番号：21591860

研究課題名（和文） Neurogenesis imaging（内在性神経幹細胞画像）の確立と臨床応用

研究課題名（英文） Establishment and Clinical application of Neurogenesis Imaging Technique

研究代表者

樋口 敏宏（HIGUCHI TOSHIHIRO）

明治国際医療大学・医学教育研究センター・教授

研究者番号：80218700

研究成果の概要（和文）：

虚血後に生じるグリア細胞の過剰増殖を検出可能な手法として、マンガン造影剤を利用した MR 画像法を示し、低濃度の造影剤を用いた場合にもグリオーシス領域を検出できることを示した。また、梗塞巣を伴わない脳虚血研究において、グリアの増殖が生じる前の海馬領域にマンガン取り込みによる緩和時間の短縮が検出された。マンガンの緩和機構にタンパクの結合が大きく寄与する可能性を示した。

研究成果の概要（英文）：

The purpose of these studies is to examine the “neurogenesis imaging” technique using MRI and propose the clinical application. We have detected reactive gliosis as a result of focal ischemia by the manganese-enhanced MRI (MEMRI) technique. The increase of manganese accumulation is supposed to be due to increased uptake of manganese by hyperactive glia cells or to high density of glial cells. In the transient forebrain ischemia (cerebral ischemia without infarction), excessive manganese accumulation in the CA1 was observed on 3 days and 10 days after ischemia. The agreed change was found at 10 days as a result of astrocyte activation to be obtained by immunohistological staining for GFAP although the 3 days result did not accord.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
21年度	1,500,000	450,000	1,950,000
22年度	1,200,000	360,000	1,560,000
23年度	800,000	240,000	1,040,000
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・脳血管障害学

キーワード：神経再生・MRI・マンガン・脳虚血

1. 研究開始当初の背景

神経幹細胞は成熟した脳内においても細胞分裂を継続し、神経細胞を供給することが明らかになっている。また、神経の損傷後に起

こる組織の器質的変化は、物理的に神経の再生を妨げることが指摘されている。近年、より詳細な病態把握の観点より、中枢神経系において生じる神経の損傷から回復の過程を

MRI や PET などの医療画像を用いて診断・定量する技術の確立が求められている。

2. 研究の目的

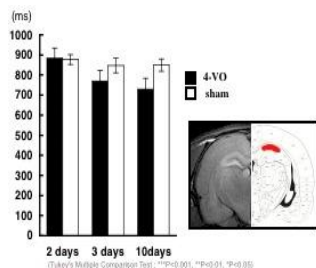
本研究では、成体脳における内在性神経幹細胞による神経再生過程を in vivo において画像化することをめざし、マンガン増感磁気共鳴画像法を応用して虚血脳における神経の修復・再生過程を画像化するとともに、メカニズムの詳細な検討を行うことを目的とした。

3. 研究の方法

造影効果の高いマンガンを細胞に取り込ませて画像化するマンガン増感磁気共鳴画像法は、高い空間分解能で組織の変化を観察することができる。本研究では 4.7-T 高磁場 MRI 装置を用いて実験動物における組織コントラストの変化を観察した。(1) 組織とマンガン蓄積の関係をより詳細に明らかにするため、正常脳および自作ファントムを用いた造影特性の検討を実施した。(2) 一過性中大脳動脈閉塞モデルを作成し、梗塞発生領域およびその周囲のコントラスト変化に着目し、解析を行った。(3) 虚血特性による差異検討するため、脳虚血による梗塞巣が生じない四主幹動脈結紮による一過性前脳虚血モデルを作成し、マンガン増感磁気共鳴画像を得た。

4. 研究成果

(1) ラット正常脳における 3D-Mn 造影画像を撮影し精密に解析した結果、マンガンの投与によって造影される領域は細胞内に存在する calbindin や parvalbumin などのカルシウム結合タンパクの分布と一致することから、Mn は細胞内においてこれらのタンパクと結合して存在し緩和効果を増強することが示唆された。ファントムを用いた実験においてもアルブミンの有無によって緩和時間が変化したことから、タンパクがマンガンの緩和能に強く影響を及ぼすことが示された。(2) 虚血後に生じるグリオーシスを画像化する手法を確立した。また、正常脳においては緩和時間に変化を及ぼさない低濃度のマンガンの投与において、グリアの活性が観察される領域ではマンガンの蓄積が観察されることを明らかにした。(3) 四主幹動脈結紮による一過性前脳虚血モデルを対象に、虚血後 2 日、3 日、10 日後に MRI を撮像し、組織染色を併せて実施した。虚血モデルの海馬 CA1 において 3 日後および 10 日後にマンガンによる有意



な T_1 の低下が認められた。GFAP 染色、NeuN 染色による組織学的所見では 3 日後に有意な変化は認められないことから、蛋白産生の増加やミクログリア活性を反映すると考えられた。10 日後には神経細胞の脱落が明らかになるとともに GFAP 陽性が有意となり、アストロサイトの活性化を示すものと考えられた。

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 10 件)

- ① 尾藤良孝, 河合裕子, 平田宏司, 恵飛須俊彦, 大竹陽介, 平田智嗣, 白猪亨, 五月女悦久, 越智久晃, 梅田雅宏, 樋口敏宏, 田中忠蔵, Diffusion-weighted Spectroscopic Imaging による脳虚血モデルラットの解析、磁気共鳴学会雑誌、査読有、Vol. 32(1)、17-20、2012.
- ② Yamamoto H, Fukunaga M, Takahashi S, Mano H, Tanaka C, Umeda M, Ejima Y: Inconsistency and uncertainty of the human visual area loci following surface-based registration: probability and entropy maps. Human Brain Mapping, 査読有, Vol. 33, 121-129, 2012. DOI: 10.1002/hbm.21200.
- ③ Liu J, Jo JI, Kawai Y, Aoki I, Tanaka C, Yamamoto M, Tabata Y: Preparation of polymer-based multimodal imaging agent to visualize the process of bone regeneration. J Control Release. 査読有、Vol. 157(3), 398-405, 2011. DOI: 10.1016/j.jconrel.2011.09.090.
- ④ Y Yasuda, T Shimoda, K Uno, N Tateishi, S Furuya, Y Tsuchihashi, Y Kawai, S Naruse and S Fujita, Temporal and sequential changes of glial cells and cytokine expression during neuronal degeneration after transient global ischemia in rats. J Neuroinflammation. 査読有、Vol. 8、70-80、2011. DOI: 10.1186/1742-2094-8-70.
- ⑤ 青木伊知男, 河合裕子、マンガン造影磁気共鳴画像法(MEMRI)の実際。磁気共鳴学会雑誌、査読有、Vol. 31、1-19、2011.
- ⑥ 尾藤良孝, 平田宏司, 恵飛須俊彦, 河合裕子, 大竹陽介, 平田智嗣, 白猪亨, 五月女悦久, 越智久晃, 梅田雅宏, 樋口敏宏, 田中忠蔵、Diffusion-weighted line-scan echo-planar spectroscopic imaging による代謝物拡散計測の精度向上。磁気共鳴学会雑誌、査読有、Vol. 30、36-38、2010.

- ⑦ Maeda K, Yamamoto H, Fukunaga M, Umeda M, Tanaka C, Ejima Y: Nural correlates of color-selective metacontrast in human early retinotopic areas. *J Neurophysiol*、査読有、Vol. 104, 2291-2301, 2010. DOI: 10.1152/jn.00923.
- ⑧ Morisaki S, Kawai Y, Umeda M, Nishi M, Oda R, Fujiwara H, Yamada K, Higuchi T, Tanaka C, Kawata M, Kubo T: In vivo assessment of peripheral nerve regeneration by diffusion tensor imaging. *J Magn Reson Imaging*: 査読有、Vol. 33、535-542、2011. DOI: 10.1002/jmri.22442.
- ⑨ Inoue Y, Aoki I, Mori Y, Kawai Y, Ebisu T, Osaka Y, Houri T, Mineura K, Higuchi T, Tanaka C: Detection of necrotic neural response in super-acute cerebral ischemia using activity-induced manganese-enhanced (AIM) MRI. *NMR Biomed*. 査読有、Vol. 23(3)、304-12、2010. DOI: 10.1002/nbm.1464.
- ⑩ Kawai Y, Aoki I, Umeda M, Higuchi T, Kershaw J, Higuchi M, Silva AC, Tanaka C: In vivo visualization of reactive gliosis using manganese-enhanced magnetic resonance imaging. *NeuroImage*, 査読有、Vol. 49(4)、3122-31、2010. DOI: 10.1016/j.neuroimage.2009.11.005.
- [学会発表] (計 27 件)
- ① 尾藤良孝, 河合裕子, 平田宏司, 恵飛須俊彦, 大竹陽介, 平田智嗣, 白猪亨, 五月女悦久, 越智久晃, 梅田雅宏, 樋口敏宏, 田中忠蔵、Diffusion-weighted Spectroscopic Imaging による脳虚血モデルラットの解析、第 39 回日本磁気共鳴医学会大会、2011.10.1、福岡県小倉
- ② 渡邊康晴, 木村啓作, 梅田雅宏, 河合裕子, 樋口敏宏, 田中忠蔵、筋組織中における水分子の動態解析-筋収縮時の評価-、第 39 回日本磁気共鳴医学会大会、2011.9.30、福岡県小倉
- ③ Y. Bito, Y. Kawai, K. Hirata, T. Ebisu, T. Shirai, S. Hirata, Y. Soutome, H. Ochi, M. Umeda, T. Higuchi, and C. Tanaka、Diffusion Tensor Spectroscopic Imaging of Rat Brains、International Society for Magnetic Resonance in Medicine 19th Annual Meeting & Exhibition、2011.5.11、Montreal, Canada.
- ④ Y. Kawai, Y. Yasuda, N. Tateishi, M. Umeda, Y. Watanabe, T. Higuchi, S. Furuya, S. Naruse, S. Fujita, and C. Tanaka、In vivo Detection of Glial Activity after Transient Forebrain Ischemia using Manganese-enhanced MRI、International Society for Magnetic Resonance in Medicine 19th Annual Meeting & Exhibition、2011.5.10. Montreal, Canada.
- ⑤ Y. Bito, Y. Kawai, K. Hirata, T. Ebisu, T. Shirai, S. Hirata, Y. Soutome, H. Ochi, M. Umeda, T. Higuchi, and C. Tanaka、Diffusion-weighted Spectroscopic Imaging of Rat Brains After Middle Cerebral Artery Occlusion、International Society for Magnetic Resonance in Medicine 19th Annual Meeting & Exhibition、2011.5.9、Montreal, Canada.
- ⑥ Tenjin H, Takadou M, Mandai A, Nanto M, Osaka Y, Nakahara Y, Umeda M, Higuchi T、Detailed magnetic resonance imaging for surgery of unruptured intracranial aneurysm、Joint EANS Annual-Meeting-4th World ICH Conference、2011.5.4、Newcastle Gateshead, UK.
- ⑦ 梅田雅宏, 森勇樹, 吉岡芳親, 河合裕子, 渡辺康晴, 村瀬智一, 中井麻衣, 樋口敏宏, 田中忠蔵、心拍による腎動脈の血流速度と腎皮質の ADC の関係、第 38 回日本磁気共鳴医学会大会、2010 年 10 月 1 日、茨城県つくば市
- ⑧ 中井麻衣, 梅田雅宏, 渡辺康晴, 河合裕子, 樋口敏宏, 田中忠蔵、オポアルブミン水溶液の熱変性による MTR 上昇と T₁ 短縮効果の関係、第 38 回日本磁気共鳴医学会大会、2010 年 10 月 1 日、茨城県つくば市
- ⑨ 尾藤良孝, 平田宏司, 恵飛須俊彦, 河合裕子, 大竹陽介, 平田智嗣, 白猪亨, 五月女悦久, 越智久晃, 梅田雅宏, 樋口敏宏, 田中忠蔵、Bipolar Diffusion Gradients による Diffusion-weighted Spectroscopic Imaging の体動アーティファクト抑制、第 38 回日本磁気共鳴医学会大会、2010 年 9 月 30 日、茨城県つくば市
- ⑩ 河合裕子, 安田みう子, 立石成人, 梅田雅宏, 渡辺康晴, 樋口敏宏, 古谷誠一, 成瀬昭二, 藤田哲也, 田中忠蔵、一過性前脳虚血による海馬におけるグリア活性の検討、第 38 回日本磁気共鳴医学会大会、2010 年 9 月 30 日、茨城県つくば市
- ⑪ Kawai Y, Yasuda Y, Tateishi N, Umeda M, Watanabe Y, Higuchi T, Furuya S, Naruse S, Fujita S, Tanaka C、

- Detection of Signal Enhancement in the Hippocampus after Transient Forebrain Ischemia using Manganese-enhanced MRI. World Molecular Imaging Congress, September, 2010, Kyoto, Japan.
- ⑬ Umeda M, Watanabe Y, Kimura K, Kawai Y, Higuchi T, Tanaka C, Observation of muscular characteristic using diffusion weighted MRI and 1H spectroscopic imaging. 第 87 回 日本生理学会大会、2010 年 5 月 19 日、岩手県盛岡市
- ⑭ Bito Y, Hirata K, Ebisu T, Kawai Y, Otake Y, Hirata S, Shirai T, Soutome Y, Ochi H, Umeda M, Higuchi T, Tanaka C, Water Suppression for Diffusion-Weighted Line-Scan Echo-Planar Spectroscopic Imaging. International Society for Magnetic Resonance in Medicine, May, 2010, Stockholm, Sweden.
- ⑮ Bito Y, Hirata K, Ebisu T, Kawai Y, Otake Y, Hirata S, Shirai T, Soutome Y, Ochi H, Umeda M, Higuchi T, Tanaka C, Motion Artifact Reduction Using Bipolar Diffusion Gradients in Diffusion-Weighted Echo-Planar Spectroscopic Imaging. International Society for Magnetic Resonance in Medicine, May, 2010, Stockholm, Sweden.
- ⑯ Kawai Y, Umeda M, Watanabe Y, Higuchi T, Naruse S, Tanaka C, Detection of Brain Activity During Chronic Pain Using Activity-Induced Manganese-Enhanced MRI in the Rat. International Society for Magnetic Resonance in Medicine, May, 2010, Stockholm, Sweden.
- ⑰ Bito Y, Hirata K, Hirata S, Shirai T, Ebisu T, Kawai Y, Otake Y, Soutome Y, Ochi H, Umeda M, Higuchi T, Tanaka C, Correction of Eddy Currents for Time-domain-interleaved Blipped-phase-encoding Echo-planar Spectroscopic Imaging, International Society for Magnetic Resonance in Medicine, May, 2010, Stockholm, Sweden.
- ⑱ 河合裕子, 青木伊知男, 梅田雅宏, 樋口敏宏, 樋口真人, Afonso C Silva, 田中忠蔵, Manganese-enhanced MRI を用いた虚血脳における組織変化の検出、日本脳循環代謝学会総会、2009 年 11 月 19-20 日、大阪府豊中市、
- ⑲ 河合裕子, 梅田雅宏, 渡邊康晴, 樋口敏宏, 田中忠蔵, Magnetization transfer による MEMRI における造影効果の検討、第 37 回日本磁気共鳴医学会大会、2009 年 10 月 13 日、神奈川県横浜市
- ⑲ 村瀬智一, 河合裕子, 渡邊康晴, 梅田雅宏, 樋口敏宏, 田中忠蔵, Magnetization transfer による MEMRI における造影効果の検討、第 37 回日本磁気共鳴医学会大会、2009 年 10 月 13 日、神奈川県横浜市
- ⑳ 村瀬智一, 河合裕子, 渡邊康晴, 梅田雅宏, 樋口敏宏, 田中忠蔵, cold injury モデルにおける MEMRI の造影効果の検討、第 37 回日本磁気共鳴医学会大会、2009 年 10 月 13 日、神奈川県横浜市
- ㉑ 森崎真介, 小田良, 藤原浩芳, 糸井恵, 河合裕子, 梅田雅宏, 樋口敏宏, 田中忠蔵, 久保俊一、拡散テンソル法による in vivo 抹消神経再生評価法の有用性、第 37 回日本磁気共鳴医学会大会、2009 年 10 月 13 日、神奈川県横浜市
- ㉒ 梅田雅宏, 河合裕子, 村瀬智一, 渡邊康晴, 樋口敏宏, 田中忠蔵, 塩化マンガン体内埋め込みポンプの開発、第 37 回日本磁気共鳴医学会大会、2009 年 10 月 13 日、神奈川県横浜市
- ㉓ Keisaku, Kimura, Yasuharu, Watanabe, Kenji, Katayama, Masahiro, Umeda, Tadashi, Yano, Increased intramuscular pressure during venous occlusion decreases the mobility of the intramuscular water with indentation, International Congress of Physiological Science. 2009 年 7 月 27 日-8 月 1 日. Kyoto, Japan
- ㉔ Yasuharu, Watanabe, Masahiro, Umeda, Keisaku, Kimura, Yuko, Kawai, Toshihiro, Higuchi, Chuzo, Tanaka, A new imaging of muscle deformation applied electrical stimulation using MRI, International Congress of Physiological Science. 2009 年 7 月 27 日-8 月 1 日. Kyoto, Japan
- ㉕ Watanabe, Yasuharu, Kimura, Keisaku, Umeda, Masahiro, Higuchi, Toshihiro, Tanaka, Chuzo, Dynamic DTI During Muscle Contraction by Electrical Stimulation, International Society for Magnetic Resonance in Medicine. 2009 年 4 月 18 日-24 日. Honolulu, Hawaii, USA
- ㉖ Bito, Yoshitaka, Shirai, Toru, Hirata, Satoshi, Taniguchi, Yo, Hirata, Koji, Otake, Yosuke, Soutome, Yoshihisa, Ochi, Hisaaki, Ebisu, Toshihiko, Kawai, Yuko, Umeda, Masahiro, Higuchi, Toshihiro, Tanaka, Chuzo, Parallel Line-scan Echo-planar Spectroscopic

Imaging、International Society for
Magnetic Resonance in Medicine.2009
年4月18日-24日. Honolulu, Hawaii,
USA

- ②7 Bito Yoshitaka, Hirata Koji, Ebisu
Toshihiko, Kawai Yuko, Otake Yosuke,
Hirata Satoshi, Shirai Toru, Soutome
Yoshihisa, Ochi Hisaaki, Umeda
Masahiro, Higuchi Toshihiro, Tanaka
Chuzo: Diffusion-Weighted Line-Scan
Echo-Planar Spectroscopic Imaging for
Improved Accuracy in Metabolite
Diffusion Imaging. International
Society for Magnetic Resonance in
Medicine. 2009年4月18日-24日.
Honolulu, Hawaii, USA

[図書] (計 1 件)

樋口敏宏、株式会社インナービジョン、磁気
共鳴スペクトルの医学応用 —MRS の基礎か
ら臨床まで、2012年3月、—第2章-2 腫瘍
の実験 MRS P.104-111.

[その他]

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

樋口 敏宏 (HIGUCHI TOSHIHIRO)
明治国際医療大学・医学教育研究センタ
ー・教授
研究者番号：80218700

(2) 研究分担者

田中 忠蔵 (TANAKA CHUZO)
明治国際医療大学・医学教育研究センタ
ー・名誉教授
研究者番号：80163541
梅田 雅宏 (UMEDA MASAHIRO)
明治国際医療大学・医学教育研究センタ
ー・教授
研究者番号：60223608
渡邊 康晴 (WATANABE YASUHARU)
明治国際医療大学・医学教育研究センタ
ー・講師
研究者番号：90454537
河合 裕子 (KAWAI YUKO)
明治国際医療大学・医学教育研究センタ
ー・助教
研究者番号：90555616

(3) 連携研究者

なし