

令和 6 年 6 月 12 日現在

機関番号：17401

研究種目：挑戦的研究（萌芽）

研究期間：2022～2023

課題番号：22K19938

研究課題名（和文）DfMRIに基づく匂い応答の脳活性化パターン解析：嗅覚障害の改善に向けて

研究課題名（英文）DfMRI analysis of brain activation patterns induced by odor stimulations

研究代表者

寺沢 宏明（Terasawa, Hiroaki）

熊本大学・大学院生命科学研究部（薬）・教授

研究者番号：10300956

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 5,000,000円

研究成果の概要（和文）：本課題は、匂い 脳活性化パターン 行動・情動・生理変化の対応付けを念頭におき、匂い刺激によるマウスの脳活性化部位を DfMRI 法にて正確に同定するシステムの構築を目的とする。

本研究により、DfMRI 法を利用するための研究環境を整備した。コンピュータプログラム制御の匂い曝露装置を用いて高精度で周期的に嗅覚刺激を与え、独立成分解析を組み合わせることで、嗅覚応答を捉えることに成功した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究において、嗅覚刺激による脳応答の情報を高感度で得るための基盤技術となるDfMRI-ICA法の開発を進めることができた。

今後、本技術を利用して、匂い 脳活性化パターン 行動・情動・生理変化の三者の対応付けが可能となる。この三者を対応付けした研究データを蓄積することにより、脳活性化パターンに基づいて、行動・情動・生理変化を予測するシステムの開発を進める。行動・情動・生理変化を誘導する匂い物質の獲得にもつながることが期待出来る。さらに、早期の認知症や新型コロナウイルス感染者において嗅覚機能に障害が生じるため、同定・取得した匂い物質を用いて、患者の嗅覚機能の診断や療養に応用できる可能性がある。

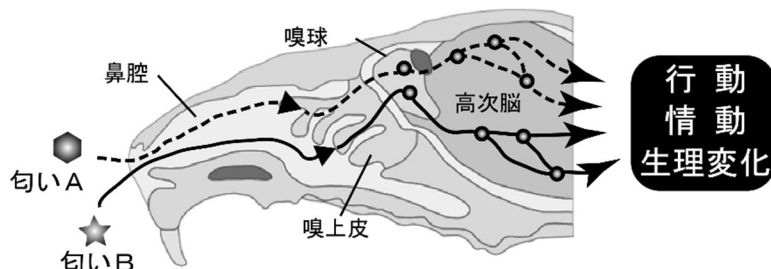
研究成果の概要（英文）：This research project aims at an establishment of the analytical system to accurately identify mouse brain regions activated by odor stimulations, based on the diffusion fMRI (DfMRI) method, with the prospect to associate odorants and brain activation patterns with behaviors, emotions and physiological changes. As a result, the research environments for DfMRI were established. DfMRI, combined with the developed independent component analysis (ICA) method and the developed computer-controlled periodical odor exposure system, appeared to improve detection sensitivity of olfactory responses in the mouse brain.

研究分野：MRI

キーワード：DfMRI 嗅覚 脳・神経 拡散 機能的MRI

### 1. 研究開始当初の背景

匂い物質は、固有の脳神経回路を活性化し、行動・情動・生理変化を誘導する(図1)。どの匂い物質が、どの脳領域を活性化するかというパターンを明らかにできれば、匂い脳活性化パターン 行動・情動・生理変化の三者の対応付けが可能となる。この三者の対応付けが達成されれば、脳活性化パターンに基づいて、行動・情動・生理変化が予測できると考えた。



(図1) マウス脳における匂いの情報伝達

三者の対応付けにおいては、どの脳領域が活性化されるのかを、高い空間分解能に基づいて、正確に同定する必要がある。生体において脳の活性化領域を調べる最も有効な手法に機能的MRI (fMRI: functional Magnetic Resonance Imaging) がある。fMRIにおいて汎用的に用いられるBOLD (Blood Oxygenation Level Dependency) 法では、神経発火とともなって生じる、毛細血管網における血流増大による局所的な磁場変化を捉える。しかし、神経発火以外に、麻酔や飲酒等による血管の拡張・収縮の要因がある場合、MR信号が神経発火と相関せず、活性化部位の同定が困難になる。

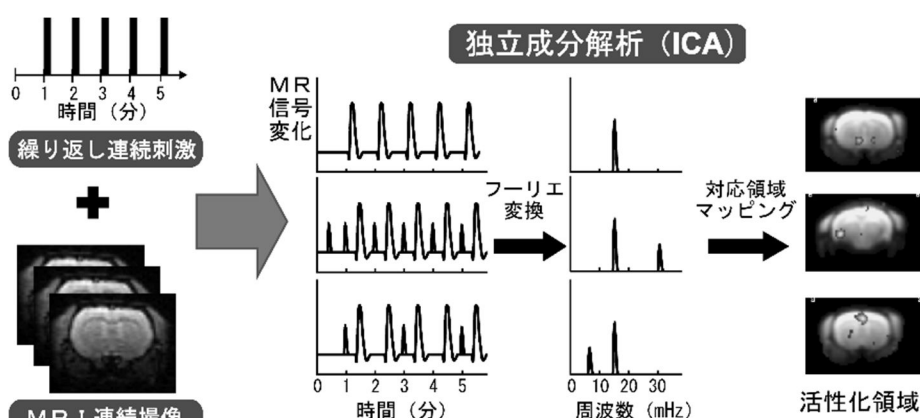
一方、近年、活性化にともなう神経細胞の膨潤を、水の拡散のしやすさに基づいて捉えるDfMRI (Diffusion fMRI) 法の開発が、研究分担者である釣木澤、Le Bihan らにより行われた (Le Bihan, *NeuroImage*, 2012)。神経細胞そのものを観測するため、BOLD法で懸念される神経発火以外の要因にとらわれず、活性化部位を正確に同定できる (Abe *et al.*, *PLOS Biol.*, 2017)。また、MR信号応答が速く、定常状態に戻るの早い。

### 2. 研究の目的

本研究課題は、匂い脳活性化パターン 行動・情動・生理変化の対応付けを念頭におき、匂い刺激によるマウスの脳活性化部位をDfMRI法にて正確に同定するシステムの構築を目的とした。

### 3. 研究の方法

DfMRI法は、BOLD法と比べて信号雑音比(S/N)が低いという難点がある。本研究の熊本大学グループ(寺沢・吉永ら)は、BOLD法において、繰り返し連続刺激と独立成分解析(ICA)を用いて、刺激応答の

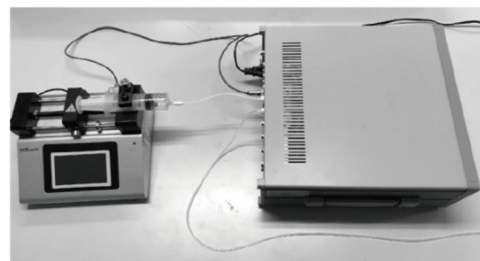


(図2) 周期的刺激とICAを用いた刺激応答の高感度検出

高感度検出に成功している (Yuzuriha *et al.*, *Proc. Intl. Soc. Mag. Reson. Med.*, 2016、図2)。MR信号の時間成分をフーリエ変換により周波数成分として、繰り返し刺激の周波数と一致する成分を抽出するため、ノイズの影響を排除出来る。さらに、繰り返しの積算効果によってS/Nが向上するため、高感度で活性化を検出できる。今回、この手法をDfMRI法と組み合わせた

DfMRI-ICA 法を開発することにより、検出力を高めた。また、DfMRI 法は神経細胞そのものを観測するため、MR 信号応答が速く、定常状態に戻るのが早い。よって刺激間隔を狭くすることが可能であり、一定時間に、より多くの刺激を行うことができる。

また、熊本大学グループは、コンピュータ制御により微量の匂い物質を自動で提示できる装置開発を進めてきた (Hayashi *et al.*, *Proc. Intl. Soc. Mag. Reson. Med.*, 2019, 図 3)。匂い刺激の自動化により、刺激のタイミング誤差を 0.1 秒以下に抑えることで高時間分解能を達成し、刺激の周期性をより厳密にすることで DfMRI-ICA 法のさらなる向上が期待できる。今回、装置に改良を加えて、1 匹のマウス当り、匂い刺激を 5 秒 ON 5 秒 OFF のサイクルにて 1 2 回の周期的匂い刺激 (酢酸イソアミルの揮発蒸気) を与えた。

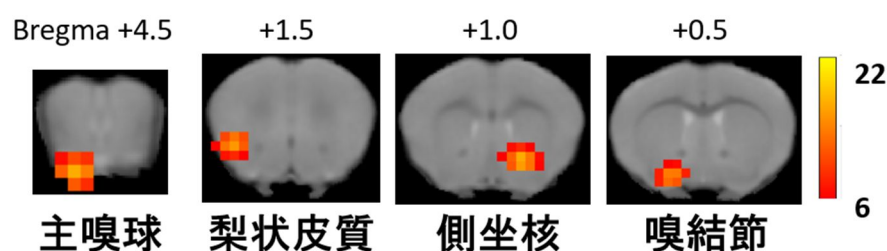


(図3) 匂い提示装置

すべての MRI 撮像には、マウス脳を高空間分解能かつ高感度で撮像する必要があるため、高磁場 7 テスラ MRI 装置とマウス脳用極低温信号検出器 (ともに、Bruker 社製) を用いた。マウスは、7 ~ 10 週齢の C57BL/6N 雄マウスを使用した。すべての実験において、マウスの呼吸数をモニタリングし、直腸体温は  $37 \pm 1$  を保持した。麻酔は、動物固定時にはイソフルラン、MRI 撮像 ( $b=0$ 、あるいは  $b=1800$ ) 時には、メドミジンとケタミンの併用麻酔とし、腹腔内より、急速投与ならびに維持投与を行った。取得した  $T_2^*$  強調画像の撮像データについて、 $T_2$  強調画像を介してマウス標準脳に対して変形して標準化を行った。その後、グループ ICA 解析を適用して検出した活性化領域の中から、匂い刺激と同周期で信号強度が変動したものを選別し、明らかに擬陽性であるものを目視で除外した。

#### 4. 研究成果

$b=0$  の条件において撮像・解析を実施した BOLD-ICA 法では、マウス全脳にわたって、18 の脳領域に活性化が検出されたのに対し、 $b=1800$  の条件において撮像・解析を実施した DfMRI-ICA 法では、43 の脳領域に活性化が検出された。共通して、主嗅球や梨状皮質といった、多くの匂い物質により活性化される嗅覚伝導路の脳領域に活性化が見られた。DfMRI-ICA 法においてのみに有意に活性化が観測された脳領域には、報酬系の領域である側坐核を含んでいた (図 4)。本研究に用いた匂い物質、酢酸イソアミルは、バナナ臭のする食物系の匂いをもつため、側坐核が活性化されたと考えられる。本研究において開発した DfMRI-ICA 法を用いることで、検出能が向上し、この側坐核の活性化の検出に成功したと考えられる。



(図4) 本研究において開発した DfMRI-ICA 法によって観測されたムスコン刺激に対するマウス脳活性化領域の代表例

以上より、本研究において、嗅覚刺激による脳応答の情報を高感度で得るための基盤技術となる DfMRI-ICA 法を開発を進めることができたと言える。

今後、本技術を利用して、匂い 脳活性化パターン 行動・情動・生理変化の三者の対応付けが可能となる。この三者を対応付けした研究データを蓄積することにより、脳活性化パターンに基づいて、行動・情動・生理変化を予測するシステムの開発を進める。行動・情動・生理変化を誘導する匂い物質の獲得にもつながることが期待出来る。さらに、早期の認知症や新型コロナウイルス (COVID-19) 感染者において嗅覚機能に障害が生じるため、同定・取得した匂い物質を用いて、患者の嗅覚機能の診断や療養に応用できる可能性がある。科学的エビデンスに立脚した匂い物質による精神状態の制御 (アロマセラピー) への応用も想定され、QOL 向上への展開が期待される。

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 0件）

1. 著者名 Yoshinaga, S., Tsubakihara, Y., Fukumoto, T., Maita, S., Takeda, M., and Terasawa, H.	4. 巻 31
2. 論文標題 Whole-brain fMRI study of mice under medetomidine/ketamine anesthesia to identify brain regions activated by musk odors.	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Proc. Intl. Soc. Mag. Reson. Med.	6. 最初と最後の頁 4022
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計7件（うち招待講演 1件／うち国際学会 3件）

1. 発表者名 Maita, S., Tsubakihara, Y., Yoshinaga, S., and Terasawa, H.
2. 発表標題 Functional MRI study of olfactory responses induced by musk odor in the whole mouse brain under medetomidine and ketamine anesthesia
3. 学会等名 The 11th Takeda Science Foundation Symposium on PharmaSciences（国際学会）
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 Takeda, A., Yoshinaga, S., Shinjo, T., Kawachi, Y., Terashima, Y., Toda, E., Matsushima, K., Tsurugizawa, T., and Terasawa, H.
2. 発表標題 Imaging analysis of epidermal carcinoma based on time-dependent diffusion MRI
3. 学会等名 The 11th Takeda Science Foundation Symposium on PharmaSciences（国際学会）
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 竹田篤史、吉永壮佐、新城拓人、河内祐樹、寺島裕也、遠田悦子、松島綱治、釣木澤朋和、寺沢宏明
2. 発表標題 時間依存性拡散MRI に基づくがん微小環境イメージング
3. 学会等名 第51回日本磁気共鳴医学会大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 吉永壮佐
2. 発表標題 熊本大学におけるMRI・NMR 設備を用いた研究
3. 学会等名 第1回研究用MRI共有プラットフォーム事業・若手研究交流会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 吉永壮佐
2. 発表標題 熊本大学の小動物用MRI設備を用いた匂いと行動を結ぶ脳神経回路の解析
3. 学会等名 日本生物物理学会九州支部セミナー「構造生物学の新展開：in vitroからin cell, in vivoへ」(招待講演)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 竹田篤史、吉永壮佐、新城拓人、河内祐樹、寺島裕也、遠田悦子、松島綱治、釣木澤朋和、寺沢宏明
2. 発表標題 拡散強調MRI に基づくがん微小環境イメージング法の開発
3. 学会等名 第17回日本分子イメージング学会学術集会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Yoshinaga, S., Tsubakihara, Y., Fukumoto, T., Maita, S., Takeda, M., and Terasawa, H.
2. 発表標題 Whole-brain fMRI study of mice under medetomidine/ketamine anesthesia to identify brain regions activated by musk odors
3. 学会等名 2023 ISMRM & ISMRT Annual Meeting & Exhibition (国際学会)
4. 発表年 2023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
研究分担者	吉永 壮佐 (Yoshinaga Sosuke) (00448515)	熊本大学・大学院生命科学研究部(薬)・講師  (17401)	
研究分担者	釣木澤 朋和 (Tsurugizawa Tomokazu) (10716210)	国立研究開発法人産業技術総合研究所・情報・人間工学領域・主任研究員  (82626)	
研究分担者	武田 光広 (Takeda Mitsuhiro) (90508558)	熊本大学・大学院生命科学研究部(薬)・助教  (17401)	令和4年度のみ参画

	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	白須 未香 (Shirasu Mika)	東京大学・大学院農学生命科学研究科・特任助教  (12601)	
研究協力者	東原 和成 (Touhara Kazushige)	東京大学・大学院農学生命科学研究科・教授  (12601)	
研究協力者	石井 均 (Ishii Hitoshi)	有限会社アルコシステム・取締役	

#### 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
---------	---------