

科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）研究成果報告書

平成 25 年 3 月 31 日現在

機関番号：34318

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2011 年度 ～ 2012 年度

課題番号：23791454

研究課題名（和文） 活性グリア特異性造影剤の研究

研究課題名（英文） Research of the cell activity specific contrast agent

研究代表者

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

研究成果の概要（和文）：

マンガンは動物を用いた MRI 研究において有用な造影剤である。本研究課題は、マンガンの造影機構と組織特性の関係を明らかにすることを目的とする。マンガン添加タンパクの加熱による大幅な緩和能の増強が見られた。また、組織染色および質量分析で得られた結果は、組織特異的にマンガンの緩和能が増強されていることを示唆した。

研究成果の概要（英文）：

Manganese is very useful contrast agent for animal MRI studies. The purpose of this study is to clarify the relationship of tissue properties and relaxation mechanism. Manganese added protein was observed enhancement of relaxivity significantly by heating. The results obtained by mass spectrometry and tissue staining suggested that the relaxivity of the manganese is changing in a tissue-specific manner.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
交付決定額	2,800,000	840,000	3,640,000

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：放射性医薬品・造影剤

1. 研究開始当初の背景

MR 分子イメージング手法の一つとして知られる「マンガン増感 MRI」は、造影剤としてマンガンイオンの投与を行うことで高いコントラスト変化を得る画像法である。我々はこれまでに脳梗塞領域に見られるアストロサイト過剰増殖の描出 (Kawai et al. NeuroImage, 2010) や、神経損傷後に見られるマンガン取り込み量の変化を報告してきた。マンガン増感 MRI はマンガンが T₁

緩和時間を短縮させることを原理とし、画像において白く描出される陽性造影剤として利用する方法である。マンガンによる T₁ 緩和時間の短縮は、一般的に細胞密度などの違いによって決定されると考えられている。この高いコントラスト変化が得られるマンガン増感 MRI は、神経構造の詳細な検討を行う上で有用な手法であることは確かであるが、マンガンの緩和能と組織特性の詳細な検討が行われておらず、マンガンを用いた場合の機

能的な造影機序にはまだ不明確な部分が多く残されている。

2. 研究の目的

組織特性と造影効果の関係を明らかにすることを目的に、MRIを用いた緩和能の検討および組織学的検討を行った。

3. 研究の方法

1) タンパクとMR緩和能の検討

1. 5T MRIを用いてマンガン含有タンパク（卵白）の T_1 緩和時間およびMTRを測定した。

撮像シーケンス：

$T_1=IR$ FSE, TR/TE/TI=2000/15/50~2000ms.

MT=3D-TOF-GE, TR/TE/FA=35/2.4/10°, saturation RF-FA=670°

2) 細胞活性とマンガン濃度

組織マンガン濃度の定量を行うため、マンガン投与群と非投与群の2群を設定した。投与群には50mM マンガン水溶液を尾静脈より投与(75mg/kg)し、対照群には生理食塩水を投与した後、24時間後に麻酔下にて脱血および生食灌流を行い、その後組織抽出を実施した。抽出した組織はICP質量分析を用いて含有マンガン量の測定を行った。また、組織評価として摘出脳に対してGFAP染色およびcalbindine染色を行った。

4. 研究成果

1) マンガン含有タンパクの緩和能の検討では、熱処置によってMTRが上昇し、また、マンガンが添加されたサンプルに ΔR_1 の増加が観察された。一般にタンパク質の周囲には不凍水と呼ばれる水分子の層がある。この層はタンパク質に結合して動きが束縛された水分子の層であると考えられている。その周囲にはさらに束縛が弱い水分子の層がある。その外側にある束縛の弱い水分子のスピンはその周囲にある束縛されない水分子のスピンと化学交換している。一方、タンパク質に常磁性金属が結合した場合、スピン拡散によりタンパク質全体に緩和が生じる。この緩和効果が化学交換で自由水に広がることでMRIによって撮像される水の緩和が観測されると考えられる。卵白に含まれるアルブミンは通常水和基が内側に折りたたまれるような立体構造を持ち、熱変性により水和基が外側に開かれる。このアルブミンの熱変性による化学交換の大きさは、MRIで化学交換を検出する手法であるmagnetization transfer (MT)の技法を利用して確認されている。アルブミンは金属イオンと結合することが分かっている。そこで塩

化マンガンを添加したアルブミン溶液の加熱時間を変え、Mnイオンと結合したアルブミンの熱変性の程度を変化させた時の緩和能($R_1=1/T_1$)を計測したところ、熱変性により著しい緩和能の上昇が確認できた。

2) 組織マンガン濃度の定量では、対象動物の脳組織および肝臓組織をサンプリングし、組織内に含まれるマンガン濃度を質量分析を用いて測定した。肝臓組織においては、高い濃度のマンガン蓄積が観察された。脳組織においてもマンガン投与群は対照群に対して有意な蓄積が観察されたが、領域毎の比較では、特に海馬・大脳皮質・尾状核において、マンガンの蓄積量に大きな差が見られなかった。MRIで得られる画像では、海馬領域に高い信号強度の増加が観察され、緩和時間の短縮が観察される。また、組織染色では海馬を中心としてcalbindineに反応する領域が存在しており、MRIで見られるマンガンによる信号変化領域と一致した。これまでに、アルブミンとの結合によりマンガンの緩和能が増加することを示しており、生体組織においてもタンパクの存在が緩和機構に影響することが考えられる。組織染色および質量分析で得られた今回の結果は、組織特異的にマンガンの緩和能が増強されていることを示唆した。

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7件)

- ① Liu J, Jo J, 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, 157(3):398-405, 2012. 査読有
DOI: 10.1016/j.jconrel.2011.09.090.
- ② 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, 32(1) 17-20, 2012. 査読なし
<http://www.kopas.co.jp/fmdb/JJMRM/32/1/17.pdf>
- ③ 梅田雅宏, 渡邊康晴, 河合裕子, 樋口敏宏, 田中忠蔵: 拡散テンソル画像(DTI)がもたらす情報 - 水分子の動きによる筋の微細構造評価を中心に. インナービジョン, (27・3): 18-20, 2012.
<http://www.innervision.co.jp/01inner/>

2012/pdf/iv201203_018.pdf

- ④ 渡邊康晴, 梅田雅宏, 河合裕子, 樋口敏宏, 田中忠蔵: 拡散強調画像がもたらす情報 - 運動による水分子の動き評価を中心に. インナービジョン, (27・3): 15-17, 2012.

http://www.innervision.co.jp/01inner/2012/pdf/iv201203_015.pdf

- 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, Vol. 31 (No. 1): 1-19, 2011. 査読あり

<http://www.kopas.co.jp/fmdb/JJMRM/31/1/1.pdf>

- ⑥ 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 of Magn Res Imag., 33(3):535-42., 2011. 査読あり
DOI:10.1002/jmri.22442.

- ⑦ 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., 22:8:70. 2011. 査読あり

DOI: 10.1186/1742-2094-8-70.

[学会発表] (計16件)

- ① Yuko Kawai, Masahiro Umeda, Yasuharu Watanabe, Toshihiro Higuchi, Chuzo Tanaka: Detection of Spontaneous Pain due to Chronic Pain in the Rat. International Society for Magnetic Resonance in Medicine 20th Annual Meeting & Exhibition, 944, 2012年5月10日.

- ② Yoshitaka Bito, Yuko Kawai, Koji Hirata, Toshihiko Ebisu, Yosuke Otake, Satoshi Hirata, Toru Shirai, Yoshihisa Soutome, Hisaaki Ochi, Masahiro Umeda, Toshihiro Higuchi, Chuzo Tanaka: Diffusion-weighted Spectroscopic Imaging of Multiple Metabolites in Rat Brains after Middle Cerebral Artery Occlusion. International Society for Magnetic Resonance in Medicine 20th Annual Meeting & Exhibition, 463, 2012年5月8日.

- ③ Tomokazu Murase, Masahiro Umeda, Yuko Kawai, Yasuharu Watanabe, Toshihiro Higuchi, Chuzo Tanaka: Investigating the duration of brain response to

acupuncture stimulation by using independent component analysis. International Society for Magnetic Resonance in Medicine 20th Annual Meeting & Exhibition, 759, 2012年5月10日.

- ④ Masahiro Umeda, Toshihiro Higuchi, Yuki Mori, Yoshichika Yoshioka, Yasuharu Watanabe, Yuko Kawai, Tomokazu Murase, Chuzo Tanaka: The investigation of apparent diffusion coefficient in renal cortex and medulla during the cardiac cycle. International Society for Magnetic Resonance in Medicine 20th Annual Meeting & Exhibition, 1322, 2012年5月9日.

- ⑤ 村瀬智一, 梅田雅宏, 河合裕子, 渡邊康晴, 樋口敏宏, 田中忠蔵: fMRI測定に用いる熱刺激システムの試作と性能検証. 第40回日本磁気共鳴医学会大会, 講演抄録集, 184, 2012年9月6日.

- ⑥ 梅田雅宏, 樋口敏宏, 渡邊康晴, 河合裕子, 村瀬智一, 関本達之, 大門律雄, 村松佑哉. Low bを用いた拡散強調画像による心筋の収縮および拡張評価. 第40回日本磁気共鳴医学会大会, 講演抄録集, 283, 2012年9月8日.

- ⑦ 渡邊康晴, 木村啓作, 梅田雅宏, 河合裕子, 樋口敏宏, 田中忠蔵: DWIを用いた筋組織の圧変形とその回復過程の画像化. 第40回日本磁気共鳴医学会大会, 講演抄録集, 360, 2012年9月7日.

- ⑧ 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: 健常ラット脳の Diffusion Tensor Spectroscopic Imaging (DTSI). 第40回日本磁気共鳴医学会大会, 講演抄録集, 402, 2012年9月8日.

- ⑨ 村瀬智一, 梅田雅宏, 河合裕子, 渡邊康晴, 樋口敏宏, 田中忠蔵: 独立成分分析法を用いた鍼・偽鍼刺激に伴うBOLD信号変化の検討. 第23回臨床MR脳機能研究会, 東京都. 一般講演セッションI-3, 2011.2.19.

- ⑩ 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, Montréal, Canada. 143, 2011.5.9.

- ⑪ 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, Montréal, Canada. 2400, 2011.5.10.

- ⑫ 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, Montréal, Canada. 408, 2011.5.11.
- ⑬ 柴田さやか, 青木伊知男, 河合裕子, 佐賀恒夫: 高磁場MRイメージングのための一過性および永久中大脳動脈閉塞モデルの検討. 第59回日本実験動物学会総会, 別府市. 2011.5.26.
- ⑭ 村瀬智一, 梅田雅宏, 河合裕子, 渡邊康晴, 樋口敏宏, 田中忠蔵: 触刺激に伴う心地良さに関するfMRI. 第39回日本磁気共鳴医学会大会, 小倉. 0-1-103, 2011.9.29.
- ⑮ 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, 小倉. 0-2-256, 2011.9.30.
- ⑯ 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: *D i f f u s i o n - w e i g h t e d S p e c t r o s c o p i c I m a g i n g* 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, 小倉. P-3-211, 2011.10.1.

[図書] (計1件)

- ① 磁気共鳴スペクトルの医学応用 -MRS の基礎から応用まで-. 2-6「実験MRSのための周辺技術」(成瀬昭二監修). インナービジョン, 139-146, 2012.

6. 研究組織

(1) 研究代表者

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

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者 なし