

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 5 月 21 日現在

機関番号：32653

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2012～2015

課題番号：24591790

研究課題名(和文) 超高磁場MR装置を用いた神経疾患モデルマウス脳機能の解明

研究課題名(英文) Neurochemistry of mouse model investigated with 7T MR spectroscopy

研究代表者

高梨 潤一 (Takanashi, Jun-ichi)

東京女子医科大学・医学部・教授

研究者番号：00302555

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,100,000円

研究成果の概要(和文)：MR spectroscopy (MRS)を用いて先天性大脳白質形成不全症の脳化学変化を明らかにした。すなわち、Choline (Cho) 低下が先天性大脳白質形成不全症におけるMRS上の基本的な脳化学異常であることを見出した。二種の先天性大脳白質形成不全症モデルマウスの検討から、成熟乏突起膠細胞欠損が N-acetylaspartate (NAA) 上昇に關与することを明らかにした。本研究成果はヒト大脳白質形成不全症の診断に直ちに応用可能であり、治療効果判定・病態解明に応用可能である。

研究成果の概要(英文)：Proton MR spectroscopy (MRS) of a hypomyelinating mouse model, a myelin synthesis-deficient mouse, a model of congenital Pelizaeus-Merzbacher disease (PMD) with mutation of the Plp1 gene, revealed increased N-acetylaspartate (NAA) and creatine (Cr) and decreased choline (Cho). That of a shiverer mouse with an autosomal recessive mutation of the Mbp gene showed decreased Cho with normal NAA and Cr. Accordingly, the reduction of Cho on MRS might be a common marker for hypomyelinating disorders. NAA concentrations range from normal to increased, probably depending upon the underlying pathology of oligodendrocytes. NAA may be increased in hypomyelination with a reduced number of mature oligodendrocytes, such as PMD.

The MRS pattern with reduced Cho and normal to increased NAA may lead to a diagnosis of hypomyelinating disorders, which is difficult to differentiate from demyelinating disorders on MR imaging.

研究分野：小児神経学、神経放射線学

キーワード：MRスペクトルスコピー 核磁気共鳴画像(MRI) 先天性大脳白質形成不全症 Pelizaeus-Merzbacher  
病 N-acetylaspartate (NAA) choline (Cho) モデルマウス

## 1. 研究開始当初の背景

1). MR spectroscopy は非侵襲的な脳代謝の解析を可能とする。高梨らは、種々の中枢神経変性・代謝・感染性疾患における MRI, MR spectroscopy による診断能向上、病態解明、治療効果判定を報告してきた。

2). 先天性大脳白質変性症の代表疾患である Pelizaeus-Merzbacher disease (PMD) 患者の MR spectroscopy 解析から、神経細胞指標の *N*-acetylaspartate (NAA) 上昇、髄鞘指標の Choline (Cho) 低下を報告した。NAA は神経疾患で低下を示し、NAA 上昇を呈する疾患は Canavan 病のみが知られている。

3). 近年の実験動物用超高磁場 MR 装置の開発に伴い実験動物に対する MRI 報告が散見される。しかし MR spectroscopy による脳代謝 (神経化学的) 研究はごく少ない。高梨らは、7 テスラ MR 装置を用い PMD モデルマウス (Msd マウス) の脳画像を撮像し、加えて MR spectroscopy による脳代謝解析を行った。Msd マウスでは乏突起膠細胞の機能不全を反映した Cho 低値、多くの神経疾患で低下する NAA 高値が認められた。

## 2. 研究の目的

本研究では病態・治療法が未だ明確でない神経疾患のモデルマウスに対して 7 テスラ MR 装置を用いた MRI, MR spectroscopy を施行する。脳画像所見・脳内代謝動態を明らかにし、その結果を人神経疾患の診断能向上、発症メカニズム解明に応用する。

ヒト大脳白質変性疾患には、先天的に髄鞘が形成されない先天性大脳白質形成不全症、いったん形成された髄鞘が破壊される脱髄性疾患に大別される。本研究では、MRI で鑑別の困難な先天性大脳白質形成不全症、脱髄性疾患の解明を目的とする。

## 3. 研究の方法

モデルマウス実験は放射線医学総合研究所の動物用 7 テスラ MR 装置を用いて施行する。

MRI 画像として T1, T2 強調画像、拡散強調画像 (apparent diffusion coefficient; ADC, fraction anisotropy; FA を測定) を撮像する。髄鞘形成、脱髄、浮腫の程度は T2 値、ADC、FA から推定しえる。MR spectroscopy は視床ないし大脳皮質に関心領域を設定し PRESS 法

(TR/TE=4000/20) で施行、LCModel を用いて定量化する。神経細胞 (NAA)、グリア細胞 (mIns)、髄鞘 (Cho)、エネルギー状態 (Cr) 評価の他、グルタミン、グルタミン酸、GABA、乳酸 (Lac) などを測定し脳代謝を解析する。脳病理との比較検討も施行する。

1). モデルマウス実験に先立ち、予めファントム実験を施行し、測定精度を検証する。次いで以下のモデルマウスを検討する。

2). 先天性大脳白質形成不全症モデルマウスとして、髄鞘の主たる構成タンパク質の一つである proteolipid 蛋白 (PLP) 欠損マウス (Msd マウス、ヒト PMD モデルマウス)、ミエリン塩基性タンパク (myelin basic protein; MBP) 欠損マウス (Shiverer マウス) を解析する。

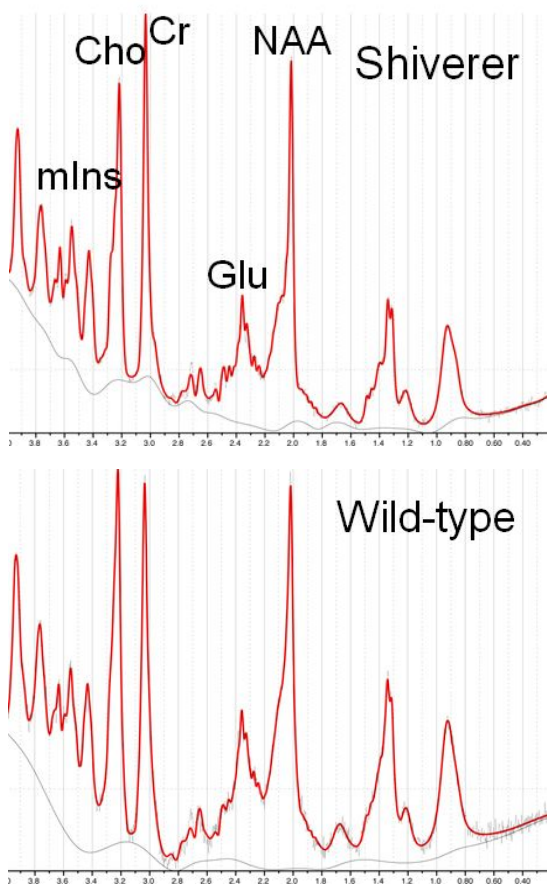
3). 脱髄性疾患モデルマウスとして、ABC 輸送体タンパク (ABCD1) 遺伝子ノックアウトマウス (副腎白質ジストロフィーモデルマウス) の解析を行う。

## 4. 研究成果

1). モデルマウス実験に先立ち、放射線医学総合研究所の 7 テスラ MR 装置 (Magnet: Kobelco and JASTEC Japan; Console: Bruker Biospin, Germany) に新たに導入されたクライオプローブコイルの精度検定を施行した。ファントムを用いた MRI, MR spectroscopy 実験から、従来のコイルに比してより解像度、S/N の良好な結果を得られることが確認された。

2). 髄鞘構成タンパク質の一つであるミエリン塩基性タンパク (MBP) 欠損マウス (Shiverer マウス、MBP 遺伝子に大きな欠失を有する自然発生マウス) の解析を施行した。12 週齢の Shiverer マウス (*mbp*<sup>-/-</sup>) 7 匹、ヘテロマウス

(*mbp +/-*) 8匹、ワイルドマウス (*mbp +/+*) 8匹  
 に対し、MR spectroscopyを施行しLCModelを  
 用いて定量解析した。併せてマウス脳のMbp,  
 Gfap, Ng2染色を施行した。その結果、Shiverer  
 マウス(視床)の Cho はヘテロ・ワイルドマ  
 ウスに比して低値、tNAA (NAA+NAAG)は有  
 意差を認めなかった。免疫染色ではShiverer  
 マウス(視床)で髄鞘低形成が明らかであっ  
 た。本研究結果は、Msdマウスを用いた先行  
 研究と併せ、Cho低下が髄鞘形成不全の一般  
 的な所見であることを示している。ヒト髄鞘形  
 成不全疾患(PMD など)の診断に直ちに応用  
 可能であり、治療効果判定・病態解明に応用  
 可能と考えられる。



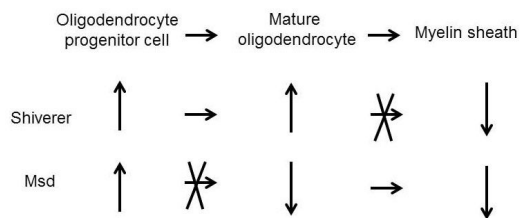
Concentration of metabolites in thalamus

		tNAA	Cr
Shiverer	Conc (mM)	6.68±0.48	6.99±0.52
	%SD	2.7±0.5	1.9±0.4
Heterozygous	Conc (mM)	7.03±0.50	6.93±0.46
	%SD	2.9±0.3	1.8±0.5
Wild-type	Conc (mM)	6.80±0.33	6.83±0.27
	%SD	3.0±0.5	1.9±0.4

\*\*\*, p<0.001; \*\*, p<0.01; \*, p<0.05.

Cho	mlns	Gln	Glu
1.84±0.04	7.04±0.44	3.60±0.44	8.45±0.35
1.8±0.4 **	3.0±0.6	7.1±1.1	2.9±0.4
2.07±0.18 *	6.95±0.49	3.39±0.56	8.92±1.03
2.0±0.0	3.3±0.5	8.8±1.2	3.0±0.0
1.97±0.12	6.96±0.57	3.40±0.38	8.62±0.54
2.0±0.0	3.8±0.9	9.4±2.1	3.4±0.5

二種の先天性大脳白質形成不全症モデルマ  
 ウス(Msd マウス [PLP 遺伝子欠損], Shiverer  
 マウス[MBP 遺伝子欠失])の MR spectroscopy  
 (MRS) 所見の相違を病理学所見から検討し、  
 NAA 値は NAA 代謝の場である成熟乏突起膠  
 細胞 (mature oligodendrocyte) の有無による  
 こと、すなわち成熟乏突起膠細胞を欠く Msd  
 マウスでは NAA 高値となり、存在する  
 Shiverer マウスでは NAA 正常であることを見  
 出した。



3). 副腎白質ジストロフィーモデルマウスで  
 ある ABCD1 knockout マウスを MRS で検討し  
 た。本マウスは ABCD1 蛋白が検出されず、  
 血漿中極長鎖脂肪酸上昇が確認されている  
 が、明らかな神経症状を呈さない。MRS、病  
 理的検討でも明らかな異常を認めず、  
 ABCD1 KO マウス脳に明らかな脱髄は生じ

ていないことが確認された。マウス寿命は2年と短く極長鎖脂肪酸の異常があったとしても、その程度の期間では脱髄が起こらないし極長鎖脂肪酸の異常から脱髄が起こるまでの機序にヒトとマウスで違いがある可能性が考えられた。

## 5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計22件)

1. Sumida K, Inoue K, Takanashi J, et al (23人中3番目). The magnetic resonance imaging spectrum of Pelizaeus-Merzbacher disease: A multicenter study of 19 patients. *Brain Dev* 2016; 38: 571-580. doi: 10.1016/j.braindev.2015.12.007.
2. Takanashi J, Mizuguchi M, Terai M, Barkovich AJ. Disrupted glutamate-glutamine cycle in acute encephalopathy with biphasic seizures and late reduced diffusion. *Neuroradiology* 2015; 57: 1163-1168 DOI 10.1007/s00234-015-1573-x.
3. Takanashi J. Neurochemistry of hypomyelination investigated with MR spectroscopy. *Magn Reson Med Sci* 2015; 14: 85-91. doi: 10.2463/mrms.2014-0064.
4. Miyatake S, Takanashi J, et al (16人中5番目). Expanding the phenotypic spectrum of *TUBB4A*-associated hypomyelinating leukoencephalopathies. *Neurology* 2014; 82: 2230-2237. doi: 10.1212/WNL.0000000000000535
5. Takanashi J, Nitta N, Iwasaki N, Saito S, Tanaka R, Aoki I. Neurochemistry in Shiverer mouse depicted on MR spectroscopy. *J Magn Reson Imaging* 2014; 39: 1550-1557. doi: 10.1002/jmri.24306
6. Takanashi J, Osaka H, Saitsu H, Sasaki M, Mori H, Shibayama H, Tanaka M, Nomura Y, Terao Y, Inoue K, Matsumoto N, Barkovich AJ. Different patterns of

hypomyelination and cerebellar abnormality between POLR3A and POLR3B mutations.

*Brain Dev* 2014; 36: 259-263. doi:

10.1016/j.braindev.2013.03.006

7. Tada H, Takanashi J. MR spectroscopy in 18q- syndrome suggesting other than hypomyelination. *Brain Dev* 2014; 36: 57-60. doi: 10.1016/j.braindev.2012.12.003
8. 高梨潤一. MRI, MR spectroscopy による先天性大脳白質形成不全症の診断、病態解明. *脳と発達* 2013; 45: 132-136.
9. Takanashi J, Hayashi M, Yuasa S, Satoh H, Terada H. Hypomyelination in I-cell disease; MRI, MR spectroscopy and neuropathological correlation. *Brain Dev* 2012; 34: 780-783. doi: 10.1016/j.braindev.2011.12.013
10. Takanashi J, Somazawa F, Maruyama K, Terada H, Xu D, A. Barkovich AJ. Metabolic changes in early childhood using LCMoel with corrected water scaling method. *J Magn Reson Imaging* 2012; 35: 174-180.
11. Takanashi J, Saito S, Aoki I, Barkovich AJ, Ito Y, Ken Inoue K. Increased *N*-acetylaspartate in model mouse of Pelizaeus-Merzbacher disease. *J Magn Reson Imaging* 2012; 35: 418-425. doi: 10.1002/jmri.22802.

〔学会発表〕(計20件)

1. Takanashi J. Neuroimaging in acute encephalopathy with biphasic seizures and late reduced diffusion (AESD). 10<sup>th</sup> AOCNR 2015.11.6. Hilton Fukuoka Sea Hawk (福岡県・福岡市)
2. 高梨潤一: MR spectroscopy で診る脳病態. 第8回 Neuro-imaging Refresher Club 2015.11.1、東京コンファレンスセンター・品川(東京都・品川区)
3. 高梨潤一: MR で診る脳代謝:MR スペク

- トルスコピーのあれこれ. 第56回神奈川県小児神経懇話会 2015.7.25、ホテル横浜キャメロットジャパン(神奈川県・横浜市)
4. 高梨潤一: Neurochemistry in hypomyelination on MR spectroscopy. 第56回日本神経学会学術大会 2015.5.20-23、新潟コンベンションセンター(新潟県・新潟市)
5. 高梨潤一、MR spectroscopy を用いた神経疾患モデルマウス脳代謝解析. 第3回日本生物物理学会九州支部・熊本大学イメージングセミナー 2015.5.7、熊本大学(熊本県・熊本市)
6. 高梨潤一: 小児神経疾患における proton MR spectroscopy の臨床応用 第42回日本磁気共鳴医学会総会 2014.9.18-20、ホテルグランピア京都(京都府・京都市)
7. Takanashi J, Nitta N, Terada H, Barkovich AJ, Tada H, Aoki I. Neurochemistry in hypomyelination depicted on MR spectroscopy. 20<sup>th</sup> Symposium Neuroradiologicum 2014.9.7-12、イスタンブール(トルコ)
8. 高梨潤一: Proton MR spectroscopy in neurological disorders. 第50回日本小児放射線学会学術集会 2014.6.27-28、神戸国際会議場(兵庫県・神戸市)
9. 高梨潤一: 白質病変の新しい病態解析と MR マーカー: hypomyelination の MR を用いた neurochemistry. 第41回日本磁気共鳴医学会総会 2013.9.18-20、アステール徳島(徳島県・徳島市)
- [図書](計5件)
1. 高梨潤一: 小児神経疾患における MR spectroscopy (MRS) の臨床応用. 続・イメージからせまる小児神経疾患. 日本小児神経学会編. 診断と治療社 2015, 119 (19-22).
2. 高梨潤一: 小児神経疾患・Proton MRS の臨床有用性コンセンサスガイド 2013年度版 日本磁気共鳴医学会 Proton MRS の臨床有用性検討会編 2013, 81 (36-48)
3. 高梨潤一: 脳の MRS 小児脳、発達. 磁気共鳴スペクトルの医学応用 インナービジョン 成瀬昭二、梅田雅宏、原田雅史、田中忠蔵編 2012, 304 (199-207)
- [産業財産権]
- 出願状況(計0件)  
なし
- 取得状況(計0件)  
なし
- [その他]
- ホームページ等  
先天性大脳白質形成不全症:PMD と類縁疾患に関するネットワーク  
<http://plaza.umin.ac.jp/~pmd/>  
遺伝性白質疾患の診断・治療・研究システムの構築班  
[http://plaza.umin.ac.jp/~pmd/iden\\_introduction.html](http://plaza.umin.ac.jp/~pmd/iden_introduction.html)
6. 研究組織
- (1)研究代表者  
高梨 潤一 (Takanashi Jun-ichi)  
東京女子医科大学・医学部・教授  
研究者番号: 00302555
- (2)研究分担者  
寺田 一志 (Terada Hitoshi)  
東邦大学・医学部・教授  
研究者番号: 90227520
- (3)連携研究者  
青木伊知男 (Aoki Ichio)  
国立研究開発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