

平成 27 年 6 月 12 日現在

機関番号：12602

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2012～2014

課題番号：24592155

研究課題名(和文) PETおよび光学計測を用いた、再生医療における神経回路再生過程の生体内評価

研究課題名(英文) In vivo PET and optical imaging of neurogenesis of neuronal circuit

研究代表者

稲次 基希 (Inaji, Motoki)

東京医科歯科大学・医学部附属病院・講師

研究者番号：00422486

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)：ラット脳スライスにおける光学計測では、発達過程における基底核-皮質回路の変化を可視化することができた。また、移植細胞から正常細胞への電気生理学的信号を確認しえた。なお、これに適切な色素の基礎的検討を行い報告した。一方でDNA合成能を直接的に評価可能な¹¹C-4DST-PETを脳腫瘍、炎症性疾患患者において行い、DNA合成能を直接反映するイメージングが可能であることを示した。ドパミン細胞移植パーキンソンモデル動物では、ドパミントランスポーターの発現に伴うD2受容体の変化を確認し、細胞移植に伴う経時的なドパミン環境の正常化を可視化した。

研究成果の概要(英文)：1. Optical recording method have demonstrated the development of cortico-striatum circuit in the slice of the rat brain. It also showed the electro-physiological connection from transplanted cells in the slice of PD model rats. We also evaluated new voltage-sensitive fluorescence dyes for monitoring neuronal activity in the embryonic central nervous system. 2. We demonstrated cell proliferation precisely in brain tumor patients using ¹¹C-4DST-PET image. It can also visualize the neurogenesis of transplanted cells. 3. PET imaging of transplanted PD model rats showed the time course of expression of dopamine transporter and normalization of dopamine D2 receptors binding.

研究分野：脳神経外科

キーワード：PET 光学計測

1. 研究開始当初の背景

再生医療・神経移植治療はこれまで治療法が無い、もしくは不十分であるとされてきた多くの神経疾患(パーキンソン病をはじめとして、脳外傷、脳梗塞など)の治療方法として注目を集め続けている。移植実験の課題のひとつに、移植後生体内における移植細胞の評価方法が不十分であることがあげられる。移植後の評価方法としては、病理組織学的検討と行動実験に頼らざるを得ない。神経再生医療の目的は、疾患により失われた神経回路の再構築であり、このためには個体内(生体内)でのより直接的な神経回路の評価が必要となる。

有用な方法として挙げられているのが、PETであり、すでに分子イメージングの分野で中心的な役割を果たしている。PETはさまざまな神経伝達機能をシナプス前機能・後機能の両面から、同一個体において経時的、定量的、多角的に評価しかつ可視化することができる。したがって細胞生着以外にも移植細胞の成熟過程や、脳内の神経伝達物質・受容体の変化、炎症反応の評価が同時に繰り返し評価可能である。この方法はヒト臨床とも共通の方法であり、そのまま臨床応用が可能という利点がある。

2. 研究の目的

本研究では、神経細胞移植治療後の神経回路の再構築過程を、生体内で評価することを目的とする。マルチトレーサーを用いたmicro PETでのin vivo評価を多角的かつ経時的に行ない、移植細胞の変化、脳内神経伝達物質の変化を中心に検討する。ex vivoスライスによる光学的計測によって、移植による神経回路の構築過程の評価を行う。

これらの方法によって、より臨床に近い形で移植治療を評価することができる。特に移植された個体の病態評価・治療効果判定が、同一個体で経時的かつ詳細に行える。移植後の評価方法の多くが病理組織学的検討と行動実験であり、その間をつなぐ評価方法として期待できる。

3. 研究の方法

1) パーキンソンモデルラットにドパミン神経細胞を移植し、動物用PETにて11C-PE2I, 11C-Raclopride, 11C-SCHのmultitracerによって経時的に計測を行い、移植細胞のシナプス前機能の変化と、これに伴うドパミン受容体機能(シナプス後機能)の変化を検討した。また、併せて行動実験を行い、その相関を検討した。

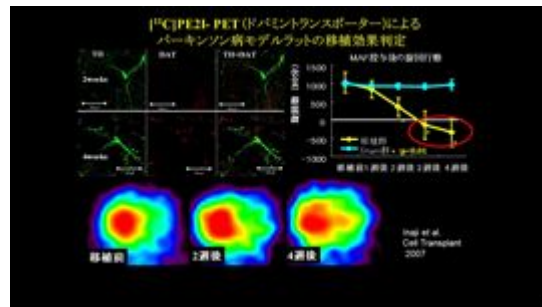
2) DNA合成能を直接的に評価しうる新規PETトレーサーである11C-4DSTを脳腫瘍患者にて施行し、病理検査結果と合わせて検証することで、その妥当性とin vivoでの有用性を評価した。

3) ラット脳スライスを用いて、光学計測の手法を用いて、皮質線条体経路の神経伝達を

評価した。さらに移植細胞における神経回路の発達過程の可視化を試みた。

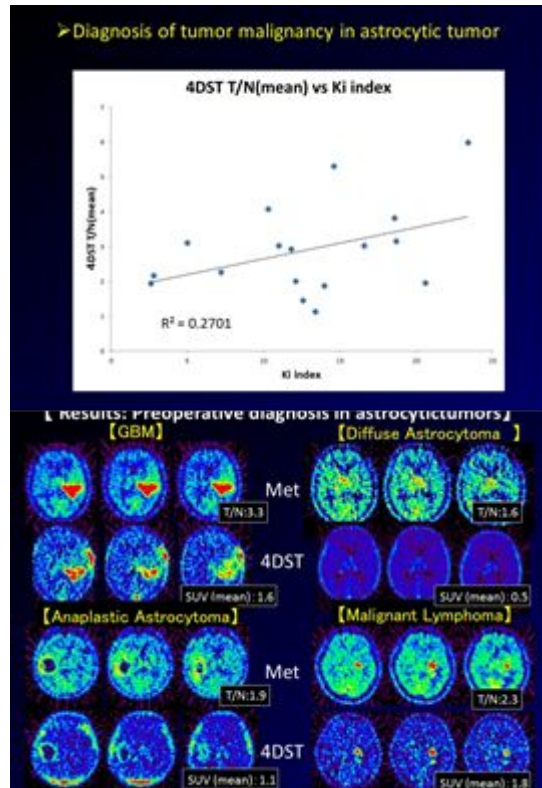
4. 研究成果

1) 移植細胞は11C-PE2Iによる評価では、2週後、4週後とドパミントランスポーターの発現が同一個体内で確認され、移植細胞の成熟過程が評価しえた。これに伴いドパミンD2受容体の機能亢進が徐々に正常化していくことが確認された。行動実験ではこれに合致した結果が得られており、in vitro autoradiographyによってもこれらは確認された。11C-SCHによるドパミンD1受容体の変化は認められなかった。

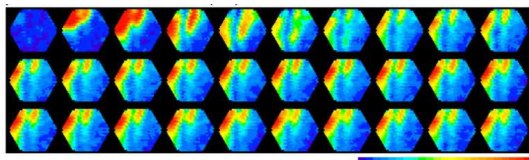


11C-DAA1106を用いたmicrogliaの評価では、移植操作に伴う集積が確認され、移植手術による炎症反応が確認され、免疫抑制剤の投与により炎症が抑制され、細胞の生着率の増加が確認された。

2) 11C-4DSTはDNA合成能を反映する新規PETトレーサーであり、脳腫瘍において腫瘍の悪性度:Ki indexと正の相関を認め、ほかのトレーサーと比較してもより正確にDNA合成能を反映することが示された。



ラット脳スライスを用いて、光学計測の手法を用いて、皮質線条体経路の神経伝達を評価した。これに伴い新規色素の評価を行った。さらに移植細胞における神経回路の発達を可視化した。



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 11 件)

1. 稲次基希、前原健寿 てんかんの診断 PET, SPECT, MEG 日本臨床 72(5); 827-833: 2014 査読なし
2. Maehara T, Inaji M, Matsuura M: Surgical effects of focus resection for patients with intractable epilepsy. *Neurol Med Chir (Tokyo)* 2013; 53(5): 281-6 査読有り
3. Mullah HS, Inaji M, Nariai T, Ishibashi S, Ohno K: A selective adenosine A2A receptor antagonist ameliorated hyperlocomotion in an animal model of lateral fluid percussion brain injury. *Acta Neurochir Suppl.* 2013; 118: 89-92 査読有り
4. Nariai T, Inaji M, Tanaka Y, Hiura M, Hosoda C, Ishii K, Ohno K: PET molecular imaging to investigate higher brain dysfunction in patients with neurotrauma. *Acta Neurochir Suppl.* 2013; 118:251-4 査読有り
5. Habib-E-Rasul Mullah, Komuro R, Yan P, Hayashi S, Inaji M, Momose-Sato Y, Loew LM, Sato K: Evaluation of voltage-sensitive dyes for monitoring neuronal activity in the embryonic central nervous system. *J Membr Biol.* 2013; 246 (9): 679-88 査読有り
6. Hara K, Maehara T, Miyajima M, Ohta K, Iino H, Inaji M, Matsuda A, Matsushima E, Hara M, Matsuura M: Post-operative mismatch negative recovery in a temporal lobe epilepsy patient with cavernous angioma. *Clin Neurol Neurosurg.* 2013; 115(6): 756-760 査読有り
7. Ishii Y, Nariai T, Tanaka Y, Mukawa M, Inaji M, Maehara T, Ohno K: Practical clinical use of dynamic susceptibility contrast magnetic resonance imaging (DSC-MRI) for the surgical treatment of Moyamoya disease. *Neurosurgery.* 2013 Dec 12 査読有り
8. Saad Habib-E-Rasul Mullah, Motoki Inaji, Tadashi Nariai, Yoko Momose-Sato, Katsushige Sato and Kikuo Ohno: Optical analysis of developmental changes in synaptic potentiation in the neonatal rat corticostriatal projection. *Neuroscience.* 201: 338-348, 2012 査読有り
9. Mukawa M, Nariai T, Matsushima Y, Tanaka Y, Inaji M, Maehara T, Aoyagi M, Ohno K: Long-term follow-up of surgically treated juvenile patients with Moyamoya disease. *J Neurosurg Pediatr.* 10(5): 451-6, 2012 査読有り
10. Shigeta K, Ohno K, Takasato Y, Masaoka H, Hayakawa T, Yatsushige H, Inaji M, Sumiyoshi K, Momose T, Maeda T: Analysis of DWI ASPECTS and recanalization outcome of patients with acute-phase cerebral infarction. *J Med Dent Sci* 59:57-63, 2012 査読有り
11. 稲次基希、入江伸介、田中洋次、成相直、大野喜久郎、稲垣徹、斎藤修、李泰辰、斎藤孝次 3D-DRIVE法によるSTA-MCA吻合術前シミュレーションの有用性、CI研究34(1):25-29, 2012 査読有り

[学会発表](計 37 件)

1. 林志保里、稲次基希、成相直、織田圭一、坂田宗之、石井賢二、石渡喜一、前原健寿 内側側頭葉てんかんにおける術後の抗てんかん薬についての検討 第 48 回日本てんかん学会学術集会 平成 26 年 10 月 2-3 日東京、東京都
2. 林志保里、稲次基希、成相直、田中洋次、織田圭一、坂田宗之、石井賢二、石渡喜一、原恵子、前原健寿 :てんかん焦点診断における PET の有用性. 日本脳神経外科学会 第 73 回学術総会, 東京, 東京都 2014.10.9-11
3. 成相直、山本昌昭、百瀬俊也、川邊拓也、稲次基希、田中洋次、前原健寿、石井賢二、石渡喜一 : 悪性脳腫瘍に対する PET 代謝イメージガイド定位放射線治療の臨床的有用性に関する解析. 日本脳神経外科学会 第 73 回学術総会, 東京, 東京都 2014.10.9-11
4. 平井作京、稲次基希、成相直、林志保里、田中洋次、織田圭一、石渡喜一、石井賢二、前原健寿 : 成人もやもや病患者における発症形式と脳循環代謝の 15Ogas PET を用いた検討. 日本脳神経外科学会 第 73 回学術総会, 東京, 東京都 2014.10.9-11

- 5.稲次基希、成相直、Mullah Saad、田中洋次、林志保里、坂田宗之、織田圭一、石渡喜一、石井賢二、前原健寿: 頭部外傷におけるアデノシン受容体の治療、診断ターゲットとしての可能性. 日本脳神経外科学会第 73 回学術総会, 東京, 東京都 2014.10.9-11
- 6.稲次基希、成相直、林志保里、田中洋次、織田圭一、坂田宗之、豊原潤、石渡喜一、石井賢二、前原健寿,: Malignant glioma adjuvant therapy における PET clinical use の有用性. 第 54 回日本核医学会学術総会, 大阪市, 大阪府 2014.11.6-8
- 7.成相直、稲次基希、百瀬俊也、林志保里、織田圭一、石井賢二、石渡喜一、山本昌昭 : メチオニン PET ガイドによる悪性脳腫瘍のナイフ治療の有効性. 第 54 回日本核医学会学術総会, 大阪市, 大阪府 2014.11.6-8
- 8.織田圭一、我妻慧、稲次基希、林志保里、成相直、坂田宗之、石井賢二、叶井徹、今林悦子、豊原潤、石渡喜一 : 三次元 PET 脳循環代謝測定における対幹部シルドの効果. 第 54 回日本核医学会学術総会, 大阪市, 大阪府 2014.11.6-8
- 9.林志保里、稲次基希、成相直、織田圭一、坂田宗之、石井賢二、石渡喜一、前原健寿 : びまん性軸索損傷患者における MPDX PET を用いた病態検討. 第 54 回日本核医学会学術総会, 大阪市, 大阪府 2014.11.6-8
- 10.我妻慧、織田圭一、三輪建太、稲次基希、林志保里、石井賢二、坂田宗之、石橋賢士、伊藤公輝、豊原潤、成相直、石渡喜一 : O-15 ガス PET/CT 撮像におけるコールドアーチファクト改善の検討. 第 34 回日本核医学技術学会総会学術大会, 大阪市, 大阪府 2014.11.6-8
- 11.稲次基希、成相直、林志保里、田中洋次、織田圭一、坂田宗之、石渡喜一、豊原潤、石井賢二、前原健寿 : 11C-4DST PET の Glioma 悪性度診断における有用性と妥当性の検証. 第 53 回日本核医学会学術総会, 2013.11.8-10 福岡市、福岡県
- 12.林志保里、稲次基希、成相直、前原健寿、織田圭一、坂田宗之、石井賢二、石渡喜一 : 側頭葉てんかん患者脳における [11C]MPDX PET を用いたアデノシン A1 受容体の測定. 第 53 回日本核医学会学術総会, 2013.11.8-10 福岡市、福岡県
- 13.稲次基希・成相直・田中洋次・林志保里・前原健寿・織田圭一・坂田宗之・豊原潤・石渡喜一・石井賢二 : PET multi-tracer による glioma 診断・治療の有用性 日本脳神経外科学会第 72 回学術総会 2013.10.16-18 横浜市、神奈川県
- 14.林志保里・稲次基希・成相直・前原健寿・織田圭一・坂田宗之・石井賢二・石渡喜一 : 11C-MPDX PET を用いた側頭葉てんかん患者脳におけるアデノシン A1 受容体分布の検討 日本脳神経外科学会第 72 回学術総会 2013.10.16-18 横浜市、神奈川県
- 15.百瀬俊也・成相直・川辺拓也・稲次基希・田中洋次・前原健寿・石井賢二・石渡喜一・山本昌昭 : 再発転移性脳腫瘍に対する PET ガイドによる定位放射線治療の有用性 日本脳神経外科学会第 72 回学術総会 2013.10.16-18 横浜市、神奈川県
- 16.川並麗奈・田村郁・小林大輔・河野能久・稲次基希・田中洋次・成相直・前原健寿 : テモダール導入後の膠芽腫の予後と MGMT 発現 日本脳神経外科学会第 72 回学術総会 2013.10.16-18 横浜市、神奈川県
- 17.前原健寿・稲次基希・成相直・田中洋次・林志保里・石渡喜一・石井賢二・小林大輔 : 神経画像検査を用いたてんかん焦点におけるグリア機能評価の可能性 2013.10.11-12 第 47 回日本てんかん学会学術集会 北九州市、福岡県
- 18.林志保里・稲次基希・成相直・前原健寿・織田圭一・坂田宗之・石井賢二・石渡喜一 : 11C-MPDX PET 用いた側頭葉てんかん患者脳におけるアデノシン A1 受容体分布の測定 2013.10.11-12 第 47 回日本てんかん学会学術集会 北九州市、福岡県
- 19.稲次基希・成相直・田中洋次・林志保里・前原健寿・織田圭一・坂田宗之・豊原潤・石渡喜一・石井賢二 : Glioma 診断・治療における Met-PET の活用と新規リガンド 4DST-PET の有用性 2013.09.19-20 第 18 回日本脳腫瘍の外科学会 大津市、滋賀県
- 20.稲次基希・成相直・林志保里・田中洋次・前原健寿・織田圭一・坂田宗之・豊原潤・石渡喜一・石井賢二 : Met-PET・4DST PET を用いた脳腫瘍診断 2013.05.24-25 第 31 回脳腫瘍病理学会 東京
- 21.稲次基希・成相直・武川麻紀・田中洋次・青柳傑・前原健寿 : もやもや病患者における非定型的脳主幹動脈病変に関する考察 第 38 回日本脳卒中学会 2013.02.13 東京、東京都
- 22.稲次基希・成相直・田中洋次・青柳傑・前原健寿・石渡喜一・石井賢二 : 成人もやもや病の現状と治療 2013.02.13 第 42 回日本脳卒中の外科学会 東京、東京都
- 23.稲次基希・成相直・大野喜久郎・宮崎祐介・大宮正毅・鈴木隆太郎・五十嵐貴大・紙谷武・藤原一枝 : 柔道頭部外傷メカニズム解明に向けての取り組み 透過頭蓋骨ダメージモデルを用いた検討 2013.03.08-09 第 36 回日本脳神経外傷学会 名古屋市、愛知県
- 24.稲次基希、成相直、田中洋次、坂田宗之、織田圭一、豊原潤、石井賢二、石渡喜一、前原健寿 : Met-PET、4DST-PET を用いた悪性神経膠腫治療 2013.02.22-23 第 36 回日本脳神経 CI 学会総会 広島市、広島県
- 25.橋本聡華、稲次基希、田中洋次、成相直、前原健寿、能勢裕里江、石橋哲、横田隆徳、織田圭一、石井賢二、石渡喜一 : Met PET による tumefactive MS 診断の可能性の検討 2013.02.22-23 第 36 回日本脳神経 CI 学会総会 広島市、広島県
- 26.田中洋次・山本昌昭・成相直・稲次基希・

石井賢二・石渡喜一・前原健寿：再発悪性グリオーマにおけるメチオニン PET 画像を用いたガンマナイフ治療 2013.02.22-23 第36回日本脳神経 CI 学会総会 広島市、広島県

27. 稲次基希、成相直、田中洋次、前原健寿、織田圭一、石渡喜一、石井賢二、山本昌昭：Met-PET を用いた MRIT1/T2 mismatch 法による放射線壊死判定の妥当性の検証 2013.02.15-16 第 42 回日本神経放射線学会北九州市、福岡県

28. 前原健寿、成相直、稲次基希、田中洋次、石井賢二、石渡喜一：焦点診断における 3TMRI と PET-MRI の有用性の比較検討 2013.01.17 18 第 36 回日本てんかん外科学会 岡山市、岡山県

29. 稲次基希、前原健寿、宮島美穂、原恵子、松浦雅人：焦点切除術の精神症状に対する影響の検討 2013.01.17 18 第 36 回日本てんかん外科学会 岡山市、岡山県

30. 稲次基希、成相直、田中洋次、田村郁、青柳傑、坂田宗之、豊原潤、石渡喜一、石井賢二。11C-4DST PET による悪性脳腫瘍 DNA 合成能の分子イメージング。日本脳外科学会第 71 回学術総会、2012 年 10 月 17-19 日、大阪市、大阪府

31. 田中洋次、成相直、上田泰弘、原祥子、稲次基希、青柳傑、大野喜久郎。Arterial spin labeling 法 MRI 撮影による脳血流の至適定量的評価法の探求。日本脳神経外科学会第 71 回学術総会、2012 年 10 月 17-19 日、大阪市、大阪府

32. 稲次基希、成相直、田中洋次、今江省吾、織田圭一、石渡喜一、石井賢二、青柳傑。もやもや病血行再建術前後の PET による脳循環代謝の検討。第 52 回日本核医学会総会、2012 年 10 月 11-13 日、札幌市、北海道

33. 稲次基希、成相直、田中洋次、青柳傑、坂田宗之、豊原潤、石渡喜一、石井賢二。11C-4DST PET を用いた DNA 合成能イメージングによる悪性脳腫瘍診断。第 13 回日本分子脳神経外科学会、2012 年 9 月 20-21 日、熊本市、熊本県

34. Inaji, M., Nariai, T., Tanaka, Y., Aoyagi, M., Maehara, T. Ohno, K. Keiichi Oda, K., Ishii, K. and Ishiwata, K. : Usefulness of indirect bypass surgery against cerebral ischemia induced by steno-occlusive lesion in posterior cerebral artery in adult patients with moyamoya disease. Joint Neurosurgical Convention 2013 (the 6th International Mt. Bandai Symposium for Neuroscience and the 7th Pan-Pacific Neurosurgery Congress), 2013.1.29-2.3 Waikoloa, Hawaii, USA

35. Nariai, T., Inaji, M., Hayashi, S., Ishii, Y., Mukawa, M., Tanaka, Y., Maehara, T., Ishiwata K., and Ishii, K. : Practical clinical use of positron emission tomography for surgical treatment of adult

Moyamoya disease using indirect bypass technique. 15th WFNS World Congress of Neurosurgery, 2013.9.8-13 Seoul, Korea

36. Hayashi, S., Inaji, M., Nariai, T., Tanaka, Y., Maehara, T., Oda, K., Sakata, M., Toyohara, J., Ishiwata K. and Ishii, K. : Imaging of DNA synthesis rate of malignant brain tumor with a newly developed PET molecular imaging probe 11C-4DST. 15th WFNS World Congress of Neurosurgery, 2013.9.8-13 Seoul, Korea

37. Inaji M, Yamamoto M, Nariai T, Tanaka Y, Urakawa Y, Ishiwata K, Ishii K, Maehara T: Validation of MRI T1/T2 mismatch method for accurate differentiation between radiation injury and recurrence of metastatic brain tumor after gamma knife radiosurgery. -Comparison with methionine PET - 11th International Stereotactic Radiosurgery Society Congress 2013.06.16-20, Toronto, Canada

〔図書〕(計 3 件)

1. 稲次基希・前原健寿 けいれん発作時の緊急対応 Brain Nursing p.734-738 Vol.19 (8) 2013
2. 稲次基希 脳血管障害における再生医療の評価 再生医療における臨床研究と製品開発 2013.09 技術情報協会
3. 稲次基希、前原健寿 神経診察 てんかん Medicina2014; 51(7): 1294-99

6. 研究組織

(1) 研究代表者 稲次基希 (Inaji, Motoki) 東京医科歯科大学・医学部附属病院・講師 研究者番号：00422486

(2) 連携研究者

樋口 真人 (Higuchi, Makoto) 独立行政法人放射線医学総合研究所分子神経イメージンググループ・グループリーダー 研究者番号：10373359

前田 純 (Maeda, Jun)

独立行政法人放射線医学総合研究所分子神経イメージンググループ・主任研究員 研究者番号：30415426

佐藤 勝重 (Sato, Katsushige)

駒沢女子大学人間健康学部・教授 研究者番号：80291342