

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 18 日現在

機関番号：10101

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2012～2014

課題番号：24650246

研究課題名(和文)MRI複素誘電率画像は細胞内水分子のネットワーク構造を反映するか？

研究課題名(英文)Detectability of protein concentration changes in MRI

研究代表者

山本 徹 (Yamamoto, Toru)

北海道大学・保健科学研究所・教授

研究者番号：80261361

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：病気によるタンパク濃度変化のMRIによる非侵襲的検出の可能性を検証するため、MRIで求まる縦緩和率、横緩和時間に加え誘電率のタンパク濃度依存性を調べ、横緩和率が最もタンパク濃度変化検出精度が高いことを明らかにした。特に、脳脊髄液の流れの影響を受けない信号抽出を工夫することで、細菌性髄膜炎などによる脳脊髄液中のタンパク濃度変化をT2値測定により判別できる可能性があることを示した。

研究成果の概要(英文)：To investigate the possibility of noninvasive MR detection of pathologic changes in protein concentration, we measured the protein concentration dependency of permittivity, longitudinal and transverse relaxation rate. The transverse relaxation rate showed most accurate dependency. We also measured the transverse relaxation rate of cerebrospinal fluid in lateral ventricle and showed enough accuracy to detect pathologic bacterial meningitis etc. changes of protein concentration by developing a method to derive pixels that are free from cerebrospinal fluid flow.

研究分野：磁気共鳴医学

キーワード：MRI タンパク 誘電率 縦緩和 横緩和

1. 研究開始当初の背景

生体試料の電気物性は広い周波数で調べられているが、10 MHz – 1 GHz の周波数帯域は δ 分散と呼ばれ、主にタンパクの挙動が現れる。MRI の周波数はこの領域にあるので、MRI によりタンパクの挙動を反映した信号取得が期待されている。MRI による生体の電気的特性計測は、1991 年に提案されたが、MRI 装置の安定性 (特に、高周波系) が不十分なため近年まで実用化に至らなかった。近年、MRI 装置の高磁場化に伴い、電磁界の精密制御や、生体内に誘起される高周波渦電流の予測が課題となり、MRI における高周波技術が急速に進歩し、生体の電気的性質を画像化する方法も新たな研究領域として確立されつつある。この方法により求まる生体電気伝導度は溶存するイオンの種類や濃度などに依存し、神経膠腫での増加が認められており、臨床的にも着目されている。また、誘電率は、水分子が持つ電気的雙極子の回転運動や、タンパクの挙動を反映するが、MRI により求まる組織誘電率の有用性が明らかにされていない。

2. 研究の目的

誘電率のタンパク濃度依存性を *in vivo* 系で誘電率測定装置を用い確認し、MRI による誘電率測定精度目標を明らかにする。同様に $R1 (= 1/T1)$ および $R2 (= 1/T2)$ のタンパク濃度依存性も調べ、タンパク濃度変化検出精度について、誘電率、 $R1$ 、 $R2$ 測定による違いを比較する。最も高精度な方法を用い、生体内での検出精度を検証する。

3. 研究の方法

(1) 誘電率のタンパク濃度依存性

生体内に多く存在し安定性が高いタンパクとして BSA (bovine serum albumin) を用い、0 ~ 200 mg/mL の濃度の BSA 水溶液を作成した。ネットワークアナライザに溶液測定用プローブを接続し、溶液からの高周波反射

波から誘電率を測定した。この時 1.5 T, 3 T, 7 T の MRI の共鳴周波数に相当する 64 MHz, 128 MHz, 300 MHz の 3 種類の周波数で測定した。

(2) T1, T2 のタンパク濃度依存性

3T MRI にて IR (Inversion Recovery) 法を独自に改良した TR の影響を除去する方法を用い $R1$ 測定を行った。BSA 濃度が 0 mg/mL の時の $R1$ を基準とし、各濃度の $R1$ と基準 $R1$ との差 $R1$ を求めた。また、マルチエコー法を用いて $R1$ と同様に $R2$ を求めた。

(3) 生体 T2 測定精度

健常ボランティアを対象にマルチエコー法を用いて側脳室が明瞭に描出される断面を撮像した。側脳室の信号強度が $R2$ 測定精度にどのように影響するかを調べるため、脳室領域のピクセルの信号強度ヒストグラム (信号強度を 20 分割) を作成した。そのヒストグラムをもとに信号強度の閾値を決め、その閾値以上のピクセルデータを用いて T2 値を求め、閾値を変えたときの T2 測定誤差の変化も調べた。さらに、TE を広く変え (100 ~ 1600 ms)、細胞間質液を含む脳実質信号強度の TE 依存性も調べた。

4. 研究成果

(1) 誘電率のタンパク濃度依存性

比誘電率は、いずれの周波数でも BSA 濃度とともに減少した (Fig. 1)。これは、比誘電率が 79 と特異的に高い物質である水が BSA の溶融により排除され、単位体積中の水分

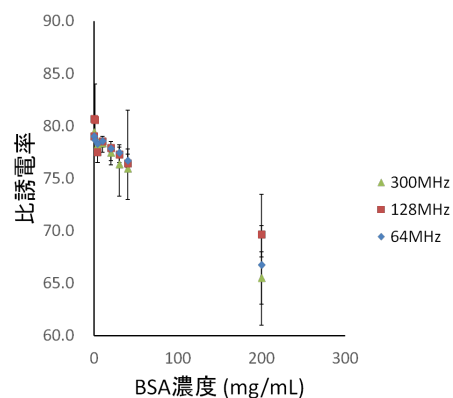


Figure 1. 比誘電率の BSA 濃度依存性

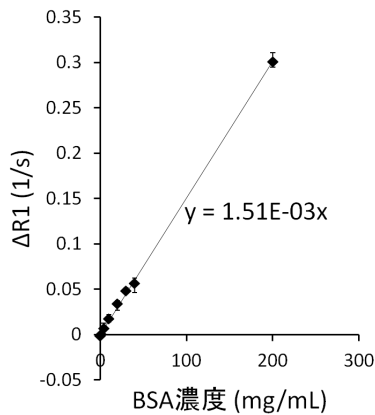


Figure 2. BSA 溶液 $\Delta R1$ の濃度依存性

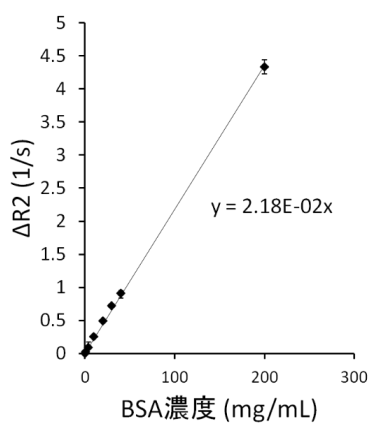


Figure 3. BSA 溶液 $\Delta R2$ の濃度依存性

が BSA 濃度とともに減少する効果が現われたものと解釈できる。BSA の単位分子量当たりの体積 (partial specific volume) 0.733 を考慮すると、BSA 濃度が 200 mg/mL のとき、おおよそ 87% ($1000 / (1000 + 200 \times 0.733)$) の水分量となるが、この濃度では比誘電率がそれぞれ 64MHz, 128MHz, 300MHz の順に 85, 88, 83% の値に低下した。また、Electric Properties Imaging の一種として組織の誘電率を画像化できるが、病気による顕著なタンパク濃度変化 (数 mg/mL 以下) をこの誘電率画像で検出することは困難である。

(2) T1, T2 のタンパク濃度依存性

BSA の T1 値は濃度の上昇に従い減少し、R1 は BSA 濃度に比例し線形的に増加した (Fig. 2)。この時の R1 の BSA 濃度に対する比例係数 (Fig. 2 の実線の傾き) は $1.51 \times 10^{-3} \text{ (mg/mL)}^{-1}\text{s}^{-1}$ であった。なお、

量

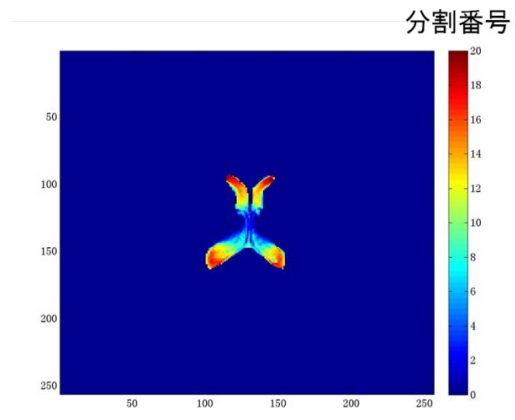


Figure 4. 側脳室信号強度

BSA 濃度が数 mg/mL 以下の測定では、容器を大気開放する時間が長いと大気からの酸素の混入の影響が認められた。

BSA の T2 値は濃度の上昇に従い減少し、R2 は BSA 濃度に比例し線形的に増加した (Fig. 3)。この時の R2 の BSA 濃度に対する比例係数 (Fig. 3 の実線の傾き) は $2.18 \times 10^{-2} \text{ (mg/mL)}^{-1}\text{s}^{-1}$ であった。また、R2 の測定誤差率は R1 よりも減少した。なお、R1 値測定と同様な大気からの酸素の混入の影響が認められた場合があった。

(3) 生体 T2 測定精度

脳実質中の T2 値は大きな違いを示したが、脳室や脳溝の T2 値は 2000 程度でほぼ一定の値を示していた。側脳室内の信号強度は、その標準偏差/平均値が 32% で大きく揺らいでおり、その様子をカラーマップで示した (Fig. 4)。脳室内は脈絡叢からの脳脊髄液産出流の影響を受けるが、信号強度が高いピクセルほどその影響を受けていないものと考えられる。信号強度の閾値を決めその閾値以上のピクセルデータを用いて T2 値を求めた結果を Fig. 5 に示す。この図の横軸がヒストグラムをもとに定めた閾値番号である。横軸の閾値番号が低下し T2 値導出に用いるピクセル数が多くなるにもかかわらず、平均 T2 値が減少し、その誤差が増大した (Fig. 5(b))。T2 値の誤差率は解析に用いる閾値番号の上昇に伴い低下傾向を示し、ヒ

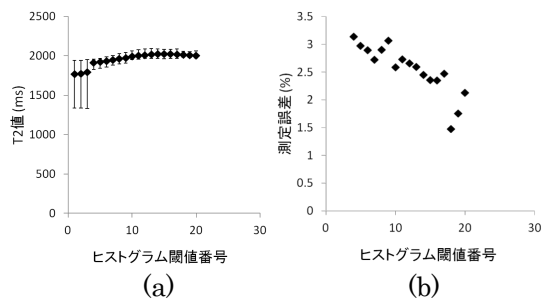


Figure 5. 側脳室の T2 値およびその測定誤差の解析閾値依存性

(a)のエラーバーは 4 回の測定の最大値と最小値、(b)ヒストグラム閾値番号が 1~3 番目の測定誤差は 15%以上となり割愛。

ストグラムの 18 番目の値を閾値（上位 3 領域のデータ）としたときが最小の誤差率（1.5%）であった（Fig. 5 (b)）。なお、最小の誤差率となったときのピクセル数の割合は 5%であった。脳室内の低い信号強度のピクセルを含むほど T2 測定誤差が増加したので（Fig. 5 (a)）、高い信号強度のピクセルに限定することで誤差低下が図れるが、一方、データに用いるピクセル数が減ることによって逆に誤差が増加する。その兼ね合いで誤差が最小（1.5%）となる信号強度の閾値がヒストグラムの上位 3 領域目の値であった（Fig. 5 (b)）と考えられる。

例えば、細菌性髄膜炎による脳室脳脊髄液のタンパク濃度差はおよそ 0.5 mg/mL であると推察される。この濃度差は R1 で 0.8×10^{-3} 、R2 で 1.1×10^{-2} の差に相当する。正常な CSF の T1, T2 値はそれぞれ 3700 ms と 2000 ms であるので、CSF の信号の緩和率測定から細菌性髄膜炎を判別するには、R1 では 0.3%、R2 では 2.2%の違いを検出する必要がある。このことから R1 よりも R2 に着目した判別に可能性がある。特に、解析に用いる信号強度の閾値を定める方法による R2 測定では最小誤差が 1.5%であったので、MRI による細菌性髄膜炎の非侵襲的判別が行える可能性がある。今回撮像したスライス内の側脳室の体積は 8.6 mL であったが、今回のポ

ランティアと同年齢層の平均側脳室体積は 25.0 mL であるので、異なるスライスも撮像することで 2.9 (= 25.0/8.6) 倍のピクセルデータを用いることができる。その結果、他のスライスでの脈絡叢の影響が同程度であることを仮定すると、R2 測定誤差を 0.9%まで低減できる目処がある。また、撮像加算回数の増加や 3 次元撮像などの工夫により、さらに SNR を上昇させることで、タンパク濃度変化検出能を向上させることが可能である。

また、細胞間質液も CSF 同様に細胞外液であり病気に連動しタンパク濃度が変化していると考えられる。脳実質のマルチエコー信号強度には、通常知られている T2 緩和である速い成分に加え、長い TE で残存する遅い成分（long tail 成分）の存在が認められたが、この long tail 成分のみの T2 値は 2000 ms 程度で、間質液からの信号を反映していると解釈できる。しかし脳実質内のこの long tail 成分の T2 値はばらつきが大きく、病気に連動するタンパク濃度変化を捉えるには SNR が不十分である。この理由として、全プロトン密度に対する細胞間質液プロトン密度の割合が低く、また、血液酸素飽和度揺らぎおよび毛細血管から供給される酸素の濃度変動の影響が考えられる。

MRI で測定される生体組織情報（誘電率, T1, T2）中、T2 値のタンパク濃度変化測定精度が最も高く、特に、細菌性髄膜炎などによる脳脊髄液中のタンパク濃度変化を判別できる可能性がある。

<引用文献>

- Haacke EM, Petropoulos LS, Nilges EW, Wu DH, Phys Med Biol, 26, 1991, 723-734
 Katscher U, Voigt T, Findekle C, Vernickel P, Nehrke K, Dössel O, IEEE Trans Med Imag, IEEE Trans Med Imaging, 28, 2009, 1365-1374
 Voigt T, Väterlein O, Stehning C, Katscher U, Fiehler J, Proc Intl Soc Mag Reson Med, 19, 2011, 127
 Putnam FW, ed. The plasma proteins: structure, function and genetic control. 2nd ed. Academic Press. New

York. 1, 1975, 141-147
Voigt T, Katscher U, Dössel O, Magn Reson Med, 66, 2011, 456-466
Conklin J, Winter JD, Thompson RT, Gelman N, Magn Reson Med, 59, 2008, 1190-1196
Akdogan I, Kiroglu Y, Onur S, Karabulut N, Folia Morphol, 69, 2010, 193-200

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1件)

Tsutsumi K, Saito N, Kawazoe Y, Ooi H, Shiba T: Morphogenetic study on the maturation of osteoblastic cell as induced by inorganic polyphosphate. PLOS ONE, 査読有, 9(2):e86834. doi: 10.1371/journal.pone.0086834, 2014

[学会発表](計23件)

Yamamoto T: MR physics and physiology: what we see in proton signals from the human body. 14th Asia-Oceania Congress of Medical Physics & 12th South East Asia Congress of Medical Physics, Ho Chi Minh City, Vietnam, 2014.10.23-25.

Tha KK, Stehning C, Suzuki Y, Ulrich K, Terasaka S, Kazumata K, Kudo K, Shirato H: Noninvasive evaluation of electrical conductivity of the normal and diseased brain tissues: the results of a preliminary study. The 1st GI-CoRE Medical Science and Engineering Symposium, Sapporo Park Hotel, Sapporo, 2014.2.23.

Tha KK, Stehning C, Suzuki Y, Ulrich K, Jochen K, Kazumata K, Terasaka S, van Cauteren M, Kudo K, Shirato H: Noninvasive evaluation of electrical conductivity of the normal brain and brain tumors. The joint annual meeting ISMRM-ESMRMB, Milan, Italy, 2014.5.10-16.

高橋紗綾, 平山将梧, 唐明輝, 山本 徹: グラジエントエコー法を用いた高速高精度 T1 値測定の可能性. 第 107 回日本医学物理学会学術大会, パシフィコ横浜, 横浜, 2014.4.10-13. (Jpn. J. Med. Phys. 2014;34S1:156.)

高橋紗綾, 唐明輝, 山本 徹: 改良 IR 法解析法による高速高精度 T1 値測定の可能性. 第 42 回日本磁気共鳴医学会大会, ホテルグランヴィア京都, 京都, 2014.9.18-20.

荻子仁泰, 高野陽介, 横浜拓実, 山本 徹: 横緩和時間の酸素濃度依存性. 第 42

回日本磁気共鳴医学会大会, ホテルグランヴィア京都, 京都, 2014.9.18-20.

Tha KK: Noninvasive evaluation of electrical conductivity of the brain tumors by MRI. Japan Society of Neuroradiology 43rd Annual Meeting, Yonago Convention Center "BIG SHIP", Yonago, Japan, 2014.3.21-23.

Ogisu K, Fujita A, Yamamoto T: Insight into intravoxel incoherent motion: appearance of signal from interstitial fluid. International Society for Magnetic Resonance in Medicine 21th Annual Meeting and Exhibition, Salt Lake City, USA, 2013.4.20-26. (Proc. Intl. Soc. Magn. Reson. Med. 21:3110.)

Tha KK: Noninvasive evaluation of electrical conductivity of the normal and diseased brain tissues. JSMRM 41st Annual Meeting. ASTY Tokushima, Tokushima, Japan, 2013.9.19-21.

荻子仁泰, 藤田亜希子, 山本 徹: IVIM 成分の再考: 間質液信号の出現. 第 25 回臨床 MR 脳機能研究会プログラム・抄録集. 東京ステーションコンファレンス, 東京, 2013.3.16.

藤田亜希子, 荻子仁泰, 山本 徹: 溶存酸素分子の常磁性による緩和時間短縮効果. 第 41 回日本磁気共鳴医学会大会, アスティとくしま, 徳島, 2013.9.19-21.

荻子仁泰, 藤田亜希子, 山本 徹: 拡散強調画像に現れる長い T2 値成分. 第 41 回日本磁気共鳴医学会大会, アスティとくしま, 徳島, 2013.9.19-21.

[図書](計0件)

なし

[産業財産権]

出願状況(計0件)

なし

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

出願年月日:

国内外の別:

取得状況(計0件)

なし

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

出願年月日:

取得年月日:

国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6．研究組織

(1)研究代表者

山本 徹 (YAMAMOTO TORU)
北海道大学・大学院保健科学研究院・教授
研究者番号：80261361

(2)研究分担者

堤 香織 (TSUTSUMI KAORI)
北海道大学・大学院保健科学研究院・助教
研究者番号：80344505
タ キンキン (Tha Khin Khin)
北海道大学・大学院医学研究科・特任講師
研究者番号：20451445