

実績報告書（創成特定研究事業）

氏名： 工藤 與亮

■プロジェクト研究構想名： マルチスケールの安定同位体イメージング

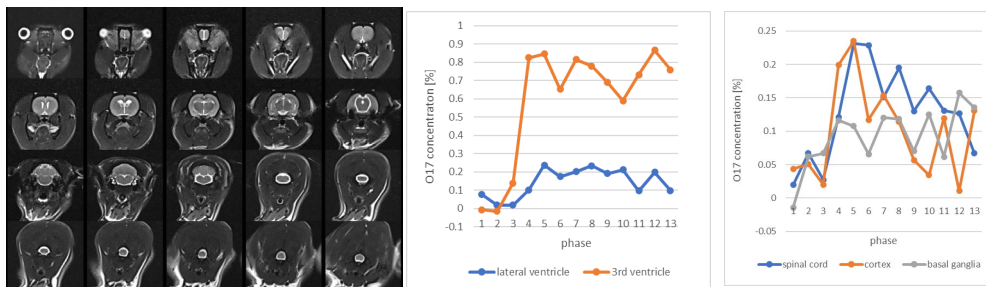
1. 研究構想概要

本研究では、酸素の安定同位体である $O-17$ ・ $O-18$ 標識水分子を用いて脳内の水動態の解明に挑む。北大にある世界唯一の同位体顕微鏡でのミクロレベルでの水分布、そして MRI でのマクロレベルでの水動態解析を組み合わせることで、脳内のリンパ系システムとして提唱されている glymphatic system における水動態を解明する。水分子に対する解析基盤の構築後、糖やアミノ酸などの蛍光標識が困難な様々な小分子へ発展させ、世界に先駆けたマルチスケール安定同位体イメージング解析基盤を北大発で構築する。

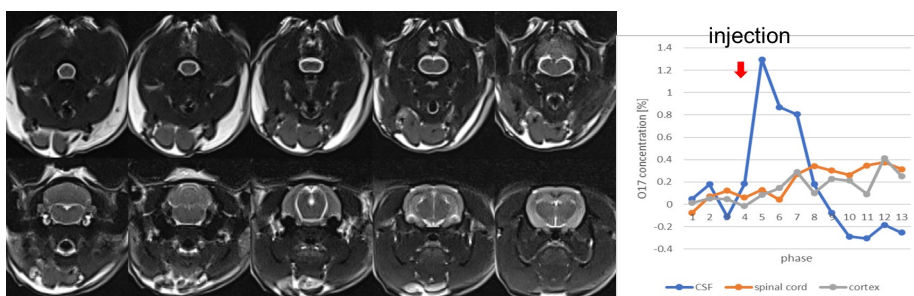
2. 今年度の進捗、成果

1) 正常動物での MRI マクロイメージング

正常ラットに $O-17$ 標識水分子 (10 mol%, 5 mL/kg) を静脈内投与し、経時的に MRI 撮像（間接法）を行った。動物専用コイルを用いて撮像シーケンスを最適化し、静脈内投与した $O-17$ 標識水分子の脳実質内分布、脳室内分布が経時的に定量解析可能となった。



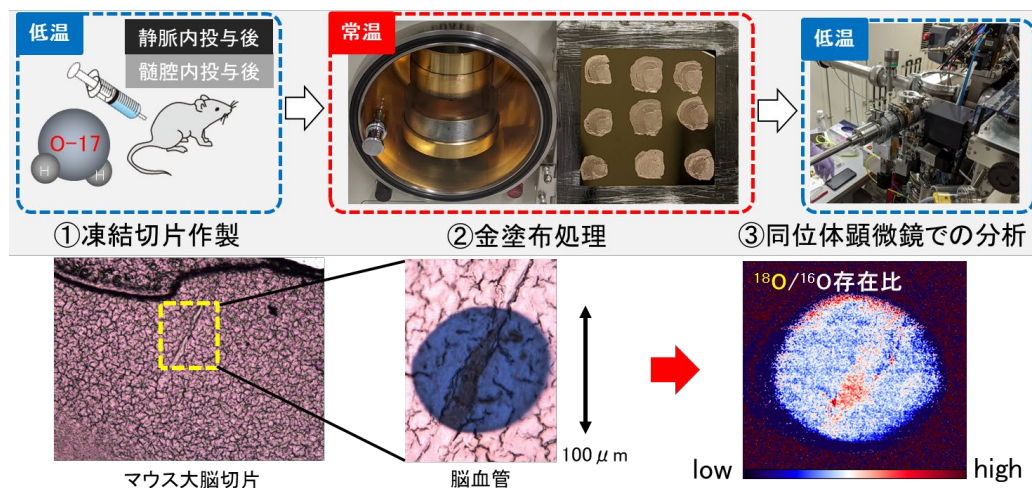
$O-17$ 標識水分子の髄腔内投与は難易度が高い手技であるが、ほぼ失敗することなく投与可能な手法を確立した。Gd 造影剤を用いた撮像によって、想定通りに脳槽やクモ膜下腔に Gd 造影剤が分布することを確認した。 $O-17$ 標識水分子の髄腔内投与での MRI 撮像も行い、脳槽だけでなく脳実質への $O-17$ 標識水分子の分布も確認することができた。



投与した 0-17 標識水分子の定量解析をより精密に行うため、新しい MRI 撮像法として fast T2 mapping 法の開発を行った。従来の T2 mapping 法と比較して高速であり、時間分解能の高い MRI 解析が可能となった。

2) 正常動物での同位体顕微鏡マイクロイメージング

0-18 標識水分子を正常動物に投与し、低温下で顕微鏡試料を作成するプロセスを調整した。金塗布処理のみ常温での処理となったが、投与した 0-18 原子が血管内に多く分布していることが確認された。金塗布処理についても低温下で行うため、多機能コーティング装置を導入した。



3) アクアポリン (AQP) ノックアウト動物や疾患モデル動物での検討

細胞膜にある水分子の選択的チャネルであるアクアポリン (AQP) をノックアウトした動物や、血管透過性が関与していることが報告されている筋萎縮性側索硬化症のモデル動物を用いて同様の検討を行う予定であったが、MRI 装置の故障と動物発注の調整不良により、これらの遺伝子改変動物での検討は来年度に行うこととなった。

3. 今後の計画

1) 正常動物での MRI マクロイメージング

正常ラットで 0-17 標識水分子を静脈内・髄腔内投与し、新たに開発した fast T2 mapping も用いて高時間分解能で高精度の水動態解析を行う。

2) 正常動物での同位体顕微鏡マイクロイメージング

多機能コーティング装置を用いて、全ての処理プロセスを低温下で行って顕微鏡試料を作成するプロセスを完成させる。

3) アクアポリン (AQP) ノックアウト動物や疾患モデル動物での検討

アクアポリン (AQP) ノックアウト動物や、筋萎縮性側索硬化症のモデル動物を用いて、MRI 撮像や同位体顕微鏡での解析を行う。正常動物での解析と比較することで、AQP 機能の解明や筋萎縮性側索硬化症の病態解明に挑む。

4. 若手研究者のプロジェクトへの関与の状況、および、若手研究者育成への効果

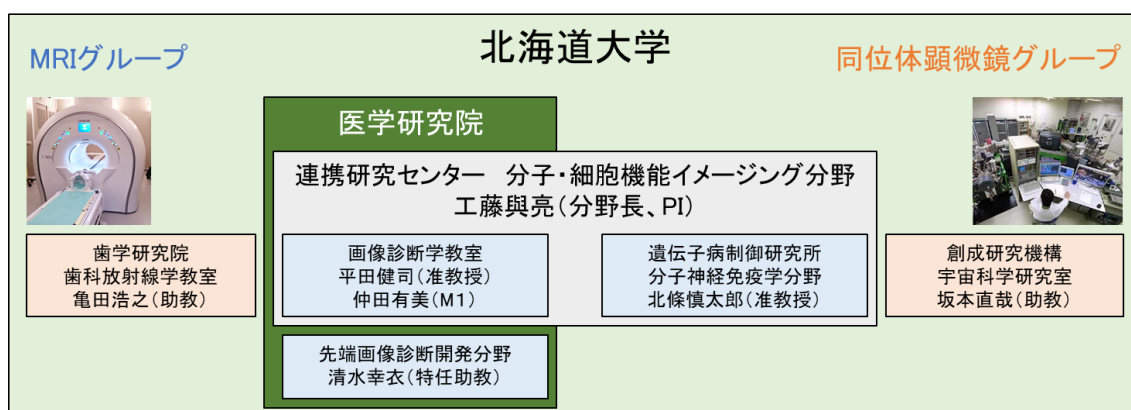
歯学研究院の亀田浩之助教、創成研究機構の坂本直哉助教、大学院生が参画した。亀田浩之助教は MRI 撮像を中心的に行い、大学院生を指導しながら 0-17 標識水分子の投与経路・投与方法を確立し、MRI 撮像法の開発を行っている。また、MRI で撮像した動物の同位体顕微鏡用の試料を作成している。坂本直哉助教は同位体顕微鏡でのイメージングを担当し、低温下での試料作成プロセスを確立し、実際のイメージングも行っている。

また、本プロジェクトを知り、次年度も新たに 1 名の大学院生が参加予定となっている。

5. 若手研究者が参画したことによるプロジェクトへの効果

歯学研究院の亀田浩之助教、創成研究機構の坂本直哉助教はそれぞれ MRI 撮像と同位体顕微鏡撮像の中心的役割を果たしているが、今年度の約半年で実験プロセスの構築をほぼ完成させることができ、次年度以降の本格的な実験を開始する基盤整備が完成した。

6. 研究チーム構成



7. 若手研究者が使用した経費の使途と金額

費目	内訳	金額（概算）（千円）
事業費 （旅費、雑役務費、 消耗品費等）	1) MRI 利用料 2) 0-17 標識生理食塩液 3) 動物飼育費 （使用者：亀田浩之、仲田有美）	200 千円 300 千円 100 千円
設備費	1) 多機能コーティング装置 （使用者：亀田浩之、坂本直哉）	8,000 千円
合計		8,600 千円

8. 出版された原著論文数（プロジェクト開始以降）

13 編（うち国際共著論文 5 編）

9. 8. に著名な学術雑誌への掲載論文が含まれている場合、当該論文の書誌情報

特になし（上記 13 論文の IF 最高値＝7.367）