

実績報告書（創成特定研究事業）

大学院医学研究院 教授
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. 研究成果

1) MRI マクロイメージングの手技確立

- ①017 標識水の濃度ファントムを使用し、高速 T2 mapping 法を開発した。時間分解能や定量性の高い MRI 解析が可能となった。(仲田有美・M2)。
- ②培養細胞の培地に 017 標識酸素ガスや 017 標識グルコースを投与し、代謝水による MRI 信号変化をとらえることに成功した。
- ③正常ラットに 0-17 標識水を静脈内・動脈内投与し、経時的に MRI 撮像を行った。動物専用コイルを用いて撮像シーケンスを最適化し、投与した 0-17 標識水の脳実質内・脳室内分布が経時的に定量解析可能となった。(亀田浩之・助教)
- ④MRI を連続撮像しながら髄腔内投与する手法をラットとマウスで確立した。難易度の高い手技であったが、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。0-17 標識水の MRI 撮像も行い、脳槽だけでなく脳実質への 0-17 標識水の分布も確認できた。(木野田直也・D1・新規参画)

2) MRI マクロイメージングの疾患モデル動物への応用

- ①水中毒モデルラットに 017 標識水を腹腔内投与し、WT と比較して AQP4ko では脳内に水が貯留することを明らかにした。(石川智愛・慶応義塾大学・助教)。
- ②BBB 破綻が確認されている ALS モデルマウス (SOD1) に 017 標識水を静脈内投与し、WT と比較して脊髄内に水が貯留していることを明らかにした。(星野豊・D2)
- ③BBB 破綻が確認されている ALS モデルマウス (SOD1) に 017 標識水を静脈内投与し、WT と比較して脳内に水が貯留していることを明らかにした。(小牧裕司・室長代理)
- ④変形性膝関節症モデルウサギに 017 標識水を関節内投与し、病理学的に軟骨変性が生じている部位に水が貯留していることを明らかにした。変形性膝関節症の早期診断法として特許を出願した。(小野寺智洋・講師・新規参画)

3) MRI マクロイメージングのヒトでの臨床研究

- ①健康成人における 017 標識水の安全性と有効性を確認するために医師主導第 I 相治験を行った。有害事象は認められず、投与量に応じた脳内濃度変化が確認された。(原田太以佑・特任助教・新規参画)
- ②健康成人における点眼投与の安全性と有効性を検証するために臨床研究を行った。点眼した 017 標識水が前房水に分布して消失していく過程が描出できた。(富安もよこ・量子科学技術研究開発機構・主幹研究員・新規参画)
- ③特発性正常圧水頭症・アルツハイマー型認知症の患者に 017 標識水の髄腔内投与を行い、脳脊髄液腔への分布・消失を検討した。特発性正常圧水頭症の患者ではアルツハイマー型認知症の患者に対して脳脊髄液のクリアランスが遅延していることが明らかとなった。(杉森博行・准教授・新規参画)
- ④健康成人での脳脊髄液の流れを low b-value diffusion MRI で実測してモデル化した。(尾藤良孝・富士フィルムヘルスケア・主管技師長)

4) 同位体顕微鏡マイクロイメージング

- ①0-18 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確立した。金塗布処理のみ常温での処理であったが、投与した 018 標識水が血管内に多く分布していることが確認された。(坂本直哉・助教)
- ②多機能コーティング装置を導入し、金塗布処理を含めてすべてのプロセスを低温下で行う処理フローを確立した。ラット脳に 018 標識水を直接穿刺し、同時注入した色素よりやや広い範囲で水が分布することを確認した。ただし、イトカワの隕石解析のために同位体顕微鏡のマシントimeがとれず、今後は同位体顕微鏡の 1 台を生物解析専用にすることも提案されている。
- ③生体試料の水分布を確認するため、ラット肝の門脈内に 018 標識水を注入し、直後に試料を凍結させて同位体顕微鏡での観察を行った。血管内や類洞内に高濃度の 017 標識水が分布していることが確認された。(深井原・特任講師・新規参画)

2. 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は MRI マクロイメージングの開発において中心的役割を果たしており、ほぼ全ての MRI 研究に関与している。画像診断学教室の大学院生 3 名（修士課程 1 名、博士課程 2 名）の研究指導を工藤と共に行ってきたが、研究内容の充実に伴い、来年度はさらに 2 名の大学院生（博士課程）と 1 名の留学生を受け入れる予定である。予防歯科の野川敏史助教は臨床研究のプロジェクトマネジメントを行っている。

医学研究院では小野寺智洋講師が膝関節の動物実験、深井原特任講師が肝臓の動物実験を主導し、全く新しいイメージング技術開発を先導している。原田太以特任助教、岩田育子助教が臨床研究に携わっており、唐明輝特任助教、清水幸衣特任助教は MRI 撮像や画像解析を担当している。

保健科学研究院の杉森博行准教授は臨床研究の MRI データ解析を担当し、遺伝子病制御研究所の北條慎太郎准教授は同位体顕微鏡の試料作製を担当している。

創成研究機構の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た。もともと隕石などの解析が主たる研究分野であったが、生体試料のイメージング技術開発にも研究分野が広がった。

他大学との共同研究も進んでおり、実験動物中央研究所の小牧裕司室長代理とは密接に連携しながらイメージング技術開発やデータ取得を進めている。量子科学技術開発機構の富安もよこ主幹研究員は点眼 MRI の臨床研究、慶応義塾大学の石川智愛助教は水中毒モデルでの病態解明を進めている。

3. 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

上記の様々な分野の若手研究者がプロジェクトに参画することで、既存の枠組みに捕らわれない新しい思想での研究が進んでいる。当初は脳に限定した研究を予定していたが、関節や肝臓などの多臓器にも研究が広がっている。また、MRI と同位体顕微鏡を併用しながらマルチスケールでのイメージング技術開発を行うためには多分野の研究者が相互に知恵を持ち寄って課題解決を行う必要があり、多くの若手研究者の柔軟な頭脳が集まることでのメリットが大きいと考えている。

4. 業績（プロジェクト開始以降）

（1）研究構想に記載した論文等に係る目標値の達成状況

PIである工藤與亮の原著論文は2020年：13本、2021年度：16本であった。本プロジェクトの研究内容に密接に関連したものは2本であったが、投稿中のものが3本、投稿準備中のものが2本ある。国際共著論文は3本であった。

（2）特許申請・取得状況

①特願 2020-180918：軟骨の損傷を検出するための造影剤、並びに当該造影剤を利用した軟骨の損傷を検査する方法及びプログラム、小野寺智洋、工藤與亮、他2名

（3）外部資金獲得状況 ※課題名、研究期間、獲得総額等を記載

①「酸素の安定同位体 0-17 標識水による筋萎縮性側索硬化症の早期診断 MRI」AMED 難治性疾患実用化研究事業（R2-R4）、代表：工藤與亮、271,700 千円

②「MRI と同位体顕微鏡を用いたマルチスケールの水分子イメージング」科研費基盤研究(B)（R3-R5）、代表：工藤與亮、13,100 千円

③「0-17 標識水を水トレーサーとして用いた MRI による関節軟骨病変の早期診断を可能とする革新的評価法の確立と治験に向けた実用化研究」AMED 橋渡し研究戦略的推進プログラム（R3-R4）、代表：小野寺智洋、分担：工藤與亮、3,000 千円

④「外傷性膝関節軟骨損傷に対する 0-17 標識水を用いた新たな質的評価法の確立」JA 共済交通事故医療研究助成（R2~R3）、代表：小野寺智洋、3,000 千円

⑤「[Global×Local な医療課題解決を目指した最先端 AI 研究開発] 文科省先進的医療イノベーション養成事業（R2-R6）、分担：工藤與亮、約 120,000 千円

（4）その他特筆すべき業績

特になし



－ 研究開発課題名 －

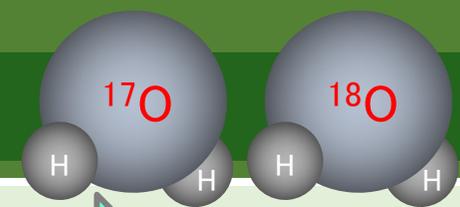
マルチスケールの 安定同位体イメージング

令和4年3月29日

北海道大学大学院 医学研究院
放射線科学分野 画像診断学教室
工藤與亮

kkudo@med.hokudai.ac.jp

マルチスケールの安定同位体イメージング



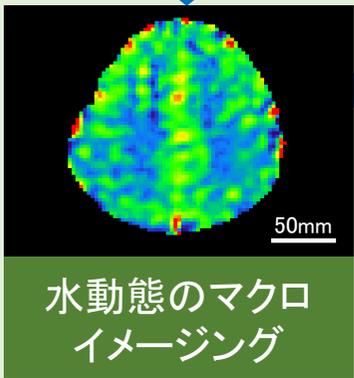
北大発のMRI技術

＜安定同位体イメージングの利点＞
 余分な分子付加が不要で化学的性質に影響されない
 半減期のない安定したラベル・イメージング
 長時間撮像による高分解能化

分子そのものをトレーサ追跡・解析



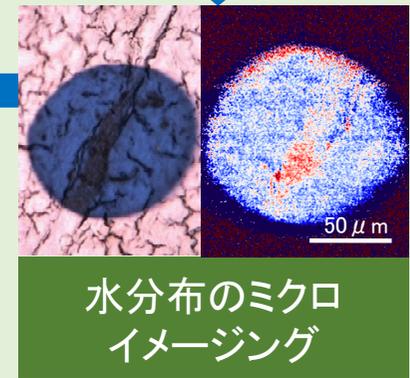
世界唯一の同位体顕微鏡



水動態のマクロイメージング

＜顕微鏡レベルから肉眼レベルで解析＞
 脳内水動態の解析から様々な臓器・分子へ展開

新たな生体機能や病態の解明
 分野横断型の新たな学術分野の開拓



水分布のマイクロイメージング

世界中で北大だけで実験可能な研究環境

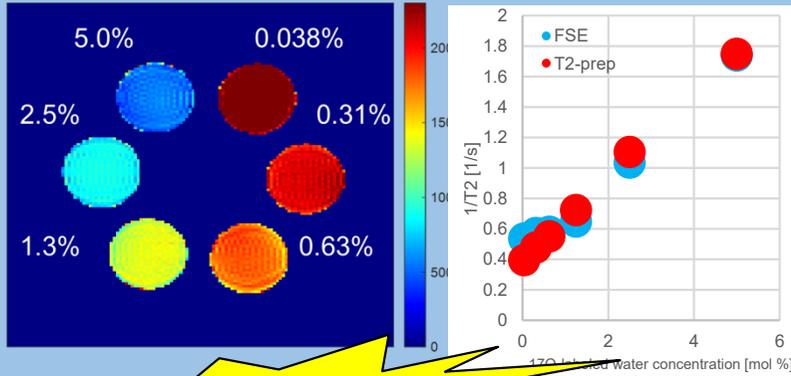
国際共著論文の増加、大型研究費の獲得、継続的な産学連携研究

1) MRIマクロイメージングの研究手法確立

017標識水の濃度ファントム計測



仲田有美
医学研究院 (M2)

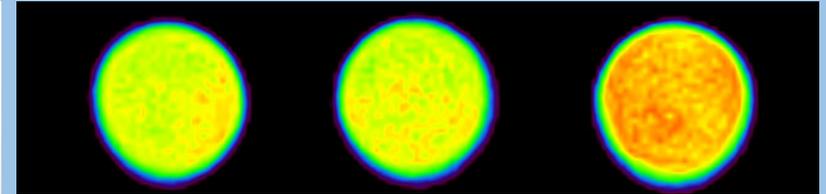


MRI撮像法の確立

培養細胞でMRI撮像(017標識酸素・017標識グルコース)



亀田浩之
歯学研究院 (助教)



Positive Control (0.045% H₂¹⁷O) ¹⁷O-glucose ¹⁶O-glucose

細胞代謝の可視化

科研費 基盤研究(B) (工藤、H29-R2) 13,000千円

細胞レベルで酸素代謝・グルコース代謝による代謝水を可視化

投稿準備中 (Magn Reson Med, IF=4.616)

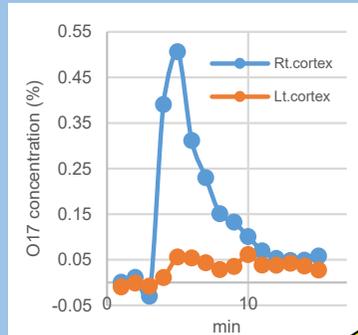
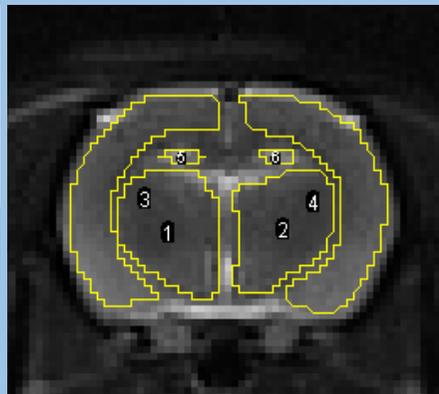
新開発の高速T2 prep法で定量性の高い017濃度計測を実現

投稿準備中 (Journal of Magnetic Resonance Imaging, IF=4.642)

正常ラット脳での静脈内・動脈内・髄腔内投与(017標識水)



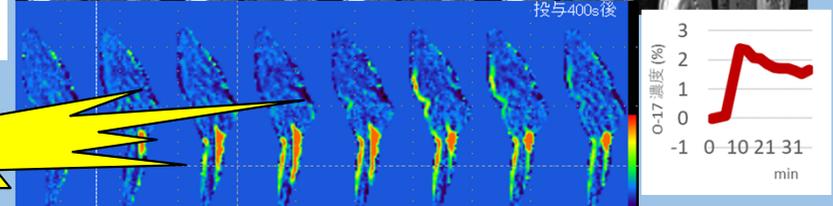
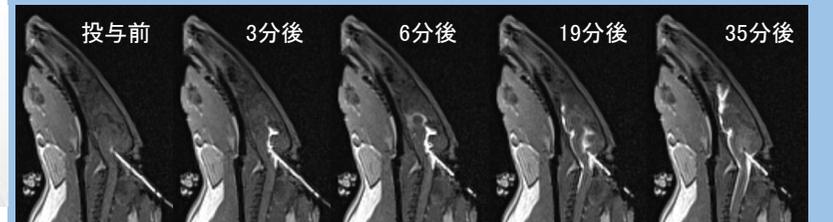
木野田直也
医学研究院 (D1)



MRI基礎実験技術の確立



亀田浩之
歯学研究院 (助教)



科研費 若手研究 (亀田、R1-R3) 3,300千円

MRIを撮像しながら017標識水を髄腔内投与する手法を確立

017標識水を動脈内投与して脳内に明瞭な濃度ピークを確認

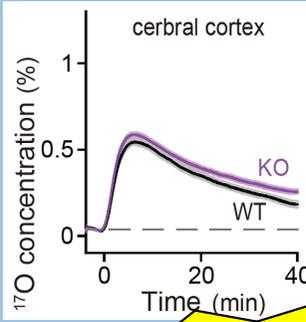
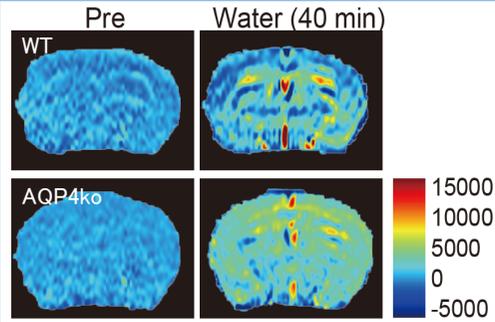
実験継続中: AQP4ko動物・AQP4阻害薬投与・疾患モデル動物・頸部リンパ管結節モデルなどへの研究発展へ

2) MRIマクロイメージングの疾患モデル動物への応用

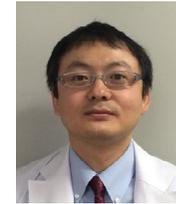
水中毒モデルラットでの腹腔内投与 (WT vs. AQP4ko)



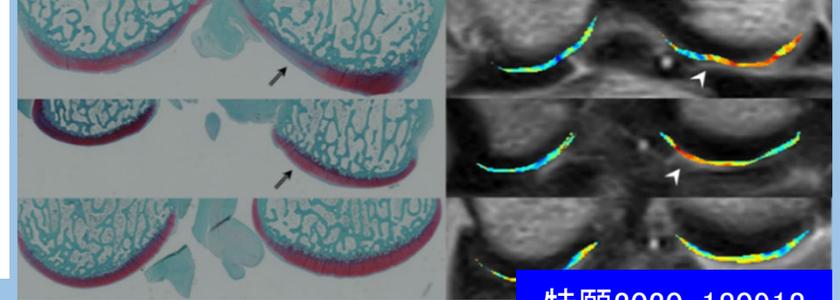
石川智愛
慶応義塾大学
(助教)



変形性膝関節症モデルウサギでの関節内投与



小野寺智洋
医学研究院
(講師)



特願2020-180918

病態解明への応用

科研費 基盤研究(B) (工藤、R3-R5) 13,100千円

水中毒ではAQP4koで脳内に水が滞留していることを発見

投稿準備中 (*Science*, IF=47.728)

AMED 橋渡し研究戦略的推進プログラム (小野寺、R3-R4) 3,000千円

JA 共済交通事故医療研究助成 (小野寺、R2-R3)、3,000千円

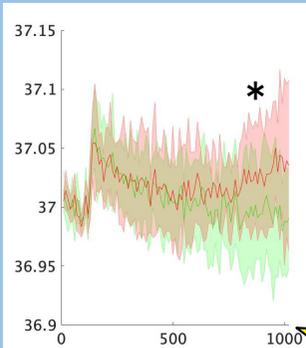
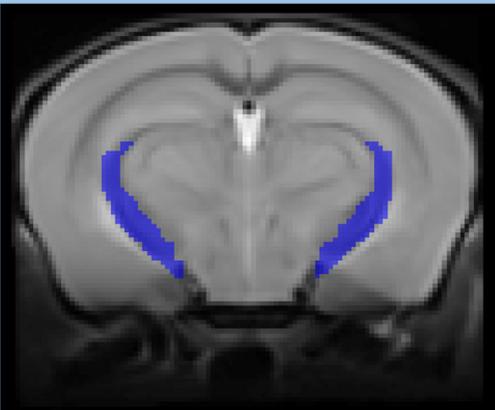
病理所見と一致した軟骨変性部位に水動態異常を検出

投稿中 (*Cartilage*, IF=4.634)

ALSモデルマウス(脳)での静脈内・髄腔内投与



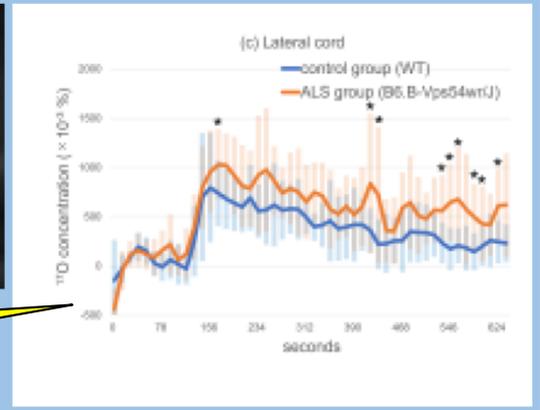
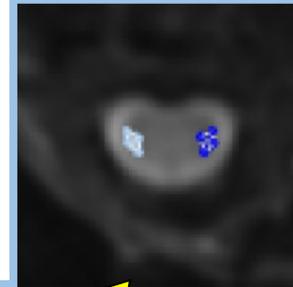
小牧裕司
実験動物中央研究所
(室長代理)



ALSモデルマウス(脊髄)での静脈内投与



星野豊
画像診断学教室
(D2)



早期診断への応用

AMED 難治性疾患実用化研究事業 (工藤、R2-R4) 271,700千円

錐体路での血管透過性亢進を検出

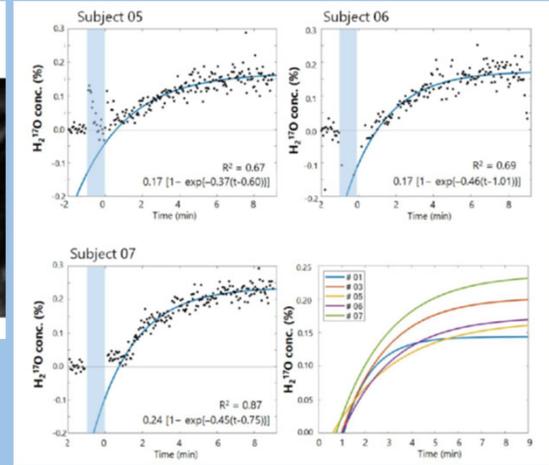
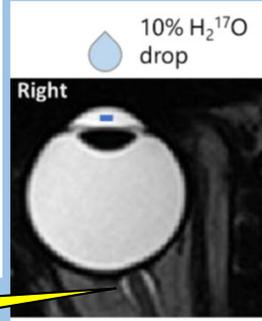
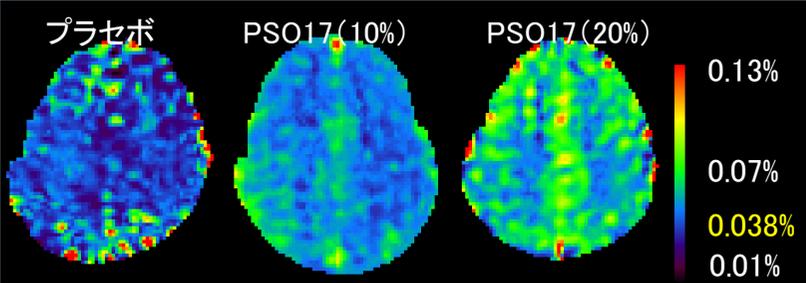
投稿準備中 (*Journal of Magnetic Resonance Imaging*, IF=4.642)

脊髄・錐体路での血管透過性亢進を検出

投稿準備中 (*Magn Reson Med*, IF=4.616)

3) MRIマクロイメージングのヒトでの臨床研究

健康成人での静脈内投与(医師主導第I相治験)

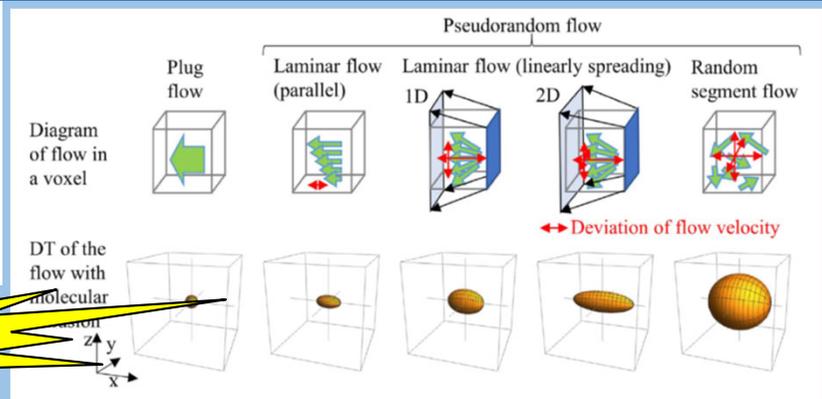
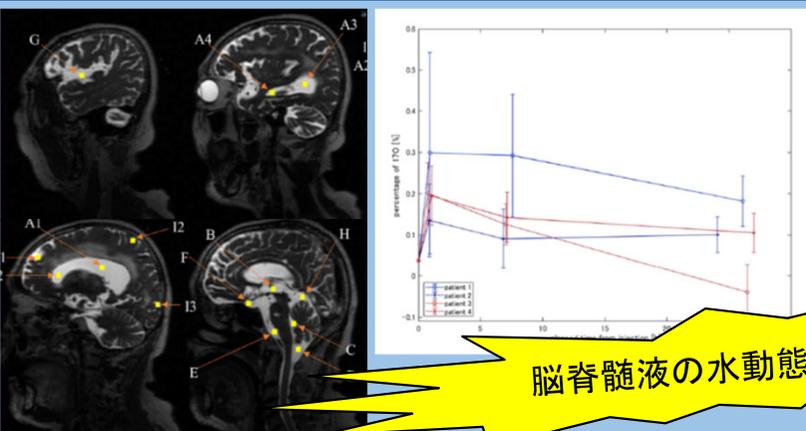


臨床研究手法の確立

文科省 橋渡し研究加速ネットワークプログラム (H26-H28) 238,585千円
ヒトに投与できるO17標識水(PSO17)を開発して安全性を確認
投稿中 (Journal of Magnetic Resonance Imaging, IF=4.642)

健康成人での点眼投与
眼球(前房水)への水浸透と吸収を可視化
投稿中 (Preprint (medRxiv))

特発性正常圧水頭症・認知症患者での髄腔内投与



脳脊髄液の水動態解明へ

AMED 臨床研究・治験推進研究事業(工藤、H29-R1) 153,846千円
脳脊髄液のクリアランスを定量解析して水頭症診断に応用
Magn Reson Imaging. 2021 Dec 28;87:77-85. (IF=2.608)

健康成人での拡散MRI (Low b-value Diffusion MRI)
脳脊髄液の水分子の流れを実測してモデル化する手法を開発
Magn Reson Med. 2021 Sep;86(3):1369-1382. (IF=4.616)

4) 同位体顕微鏡マイクロイメージング

マウス脳の静脈内投与



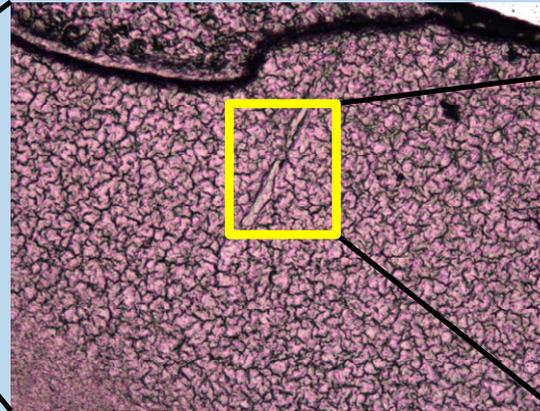
坂本直哉
創成研究機構
(助教)



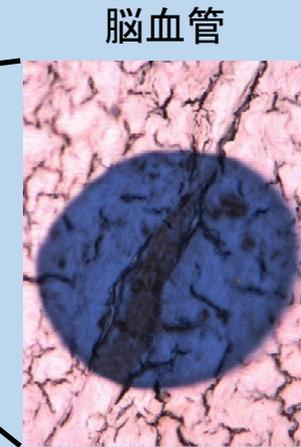
凍結切片で水の蒸発を防ぐ必要

多機能コーティング装置の導入

凍結下での金塗布処理が可能に

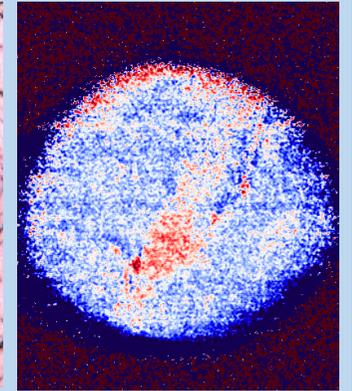


マウス大脳切片



脳血管

$^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ 存在比



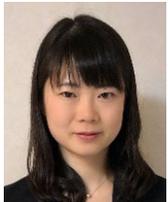
100 μm

low

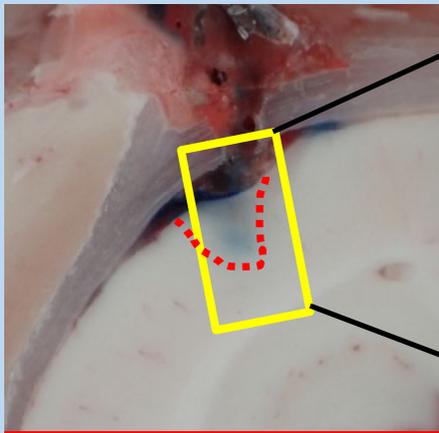
high

血管内の高濃度な水分子を同位体顕微鏡で大まかに可視化

ラット脳の直接注入



内田萌菜
遺伝子病制御研究所
(研究員)



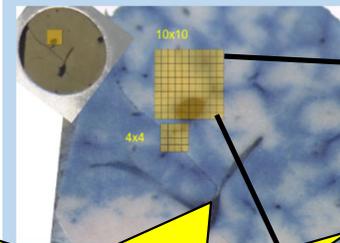
完全凍結プロセス下でのイメージングに初めて成功

同時注入の色素より広い範囲に水分子が分布することを確認

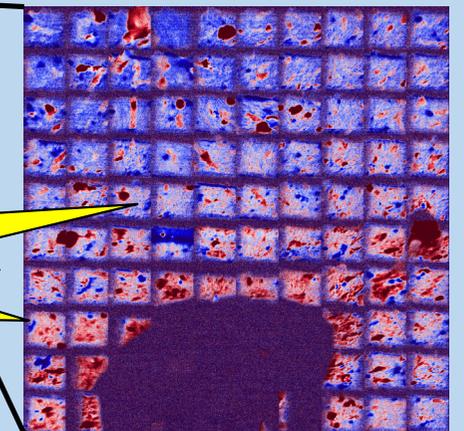
ラット肝の門脈内投与



深井原
医学研究院
(特任講師)



$^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ 存在比



世界初の水分子
マイクロイメージング!

血管内・類洞内に高濃度の水分子が存在することを可視化

研究実施体制

北海道大学

MRI



同位体顕微鏡

医学研究院

遺伝子病制御研究所

連携研究センター 分子・細胞機能イメージング分野
工藤與亮(分野長、PI)

保健科学研究院

臨床 医用生理工学分野
杉森博行(准教授)

脳 先端画像診断開発分野
清水幸衣(特任助教)

臨床 死因究明教育研究センター
原田太以佑(特任助教)

臨床 脳神経内科学教室
岩田育子(助教)

解析 画像診断学教室
唐明輝(特任助教)
星野豊(D2)、木野田直也(D1)
仲田有美(M2)

顕微 分子神経免疫学分野
北條慎太郎(准教授)
内田萌菜(研究員)

膝 整形外科学教室
小野寺智洋(講師)、細川吉暁(D4)

肝 消化器外科学教室 I
深井原(特任講師)

創成研究機構

戦略重点プロジェクト研究部門
坂本直哉(助教)
阿部光太郎(助教)
岸綾美(ポスドク)

情報科学研究院

炭素 磁気共鳴工学研究室
松元慎吾(准教授)

歯学研究院

脳 歯科放射線学教室
亀田浩之(助教)

臨床 予防歯科
野川敏史(助教)

実験動物中央研究所

脳 ライブイメージングセンター
小牧裕司(室長代理)

量子科学技術研究開発機構

眼球 分子イメージング診断治療研究部
小島隆行(グループリーダー)
富安もよこ(主幹研究員)

東京大学

病理 医学系研究科 基礎神経医学講座
山田薫(助教)

九州大学

糖 カーボンニュートラル・エネルギー
国際研究所
内田竜也(准教授)

La Fe University, Spain

脳 Radiology Department
Luis Marti-Bonmati(教授)

New York University, USA

脳 Center for Biomedical Imaging
Seena Dehkarghani(准教授)

慶應義塾大学

脳 医学部 薬理学教室
石川智愛(助教)

今後の研究発展の展望

- ① 数値シミュレーションを加えた脳内水動態の統合的解明
- ② アルツハイマー病などの神経難病の病態解明・診断・治療法の開発
- ③ O17標識マンノースやC13標識化合物などの動態解析
- ④ D2O解析による移植臓器保護の解明
- ⑤ 国際シンポジウムなどの開催

解析 理工学部
システムデザイン工学科
満倉靖恵(教授)

数値シミュレーション

大阪大学

数値 生体機械科学講座
大谷智仁(講師)