

助成研究成果

報告書

平成17年度

(研究期間：平成18年4月1日～平成19年3月31日)



目 次

卷頭言 1

理事長 齋 藤 正 男

I. 基礎研究

I-1. 磁場配向用物質の磁気異方性決定因子の解明 3

東京大学大学院 工学系研究科

堀 井 滋

I-2. 肺磁界測定法を用いた石綿代替品（ロックウール）の安全性評価 5

北里大学 医学部

工 藤 雄一朗

I-3. 磁気刺激法による難治性てんかん治療法の開発 8

産業医科大学 医学部

由 比 友 顯

I-4. NMR法による海洋天然超分子の生体膜動態解析およびMRI法を用いた脳神経疾患への臨床応用に関する研究 12

東京大学大学院 医学系研究科

中 川 秀 紀

II. 応用研究

II-1. 非侵襲統合脳機能計測と脳内機能連関モデリングに基づく三次元視覚処理の研究 16

独立行政法人産業技術総合研究所

岩 木 直

II-2. 実験的歯の移動および抹消血流の動態に及ぼす静磁場の影響について 19

九州大学 歯学研究院

名 方 俊 介

II-3. 経頭蓋磁気刺激を用いた視覚認知機構ダイナミックスイメージング 22

九州大学大学院 システム情報科学研究院

伊 良 皆 啓 治

II-4. 再構成画像の任意スケーリング可能な磁気共鳴イメージング法 24

宇都宮大学 工学部

伊 藤 聰 志

III. テーマ指定研究

III-1. in vivo 計測によるラットの神経一筋を用いたパルス磁気刺激の影響に関する研究 27

鹿児島大学 工学部

塗 木 淳 夫

平成18年度研究助成テーマ 30

卷頭言

財団法人 磁気健康科学研究振興財團

理事長 齋藤正男

我々生物が地球の磁気の中で生活し、進化してきたこともあり、磁気の生体作用については非常に古くから関心が持たれ、研究がなされてきました。生物の種類によっては、磁界の影響を激しく受けるものもありますが、人間の場合には、磁気は穏やかに長期間にわたって作用します。磁気を使って病気を治療し、健康を増進する方法は、一部の国で盛んに行われています。

また磁気は生体に直接作用するだけでなく、生体内の様々な現象を加速し、あるいは抑えることによって、結果的に生体内の状態を示し、また状態に影響を与えることが知られています。最近の医学では、強い磁界、弱い磁界を効果的に利用することによって、診断・治療に役立てるとする研究が多数なされています。

しかし磁気の作用は、「こうしたらこうなる」というように短絡的に理解される場合が少ないために、性急に学術的成果を求める研究者達には興味の対象とならず、研究の歴史が長いのにもかかわらず、多くの未知の部分が残されています。この財團は、磁気の生体作用の中から、人間の健康に役立つと期待される現象を取り上げ、その解明と応用を通して社会に貢献しようとするものであります。学術的研究を助成するほかに、講演会など社会に向けた活動をしております。

この報告書は、平成17年度の助成研究報告書を原文のまままとめたものです。基礎的な研究から実際応用に近い研究まで様々なものが含まれていますが、いずれもこの分野に新しい道を拓くことを目指したものであります。この報告書を通して、似た問題に関心をお持ちの研究者相互の連絡が進み、磁気健康科学が発展することを期待しております。

磁場配向用物質の磁気異方性決定因子の解明

(Determination factor of magnetic anisotropy on ceramics for magnetic grain alignment)

〒113-8656 東京都文京区本郷7-3-1

東京大学 大学院工学系研究科 応用化学専攻 堀井 澄

目的

セラミックは無機の固体であり、それ自身には生物的な活性はない。しかし、セラミックス材料の医学・歯学分野への利用に向けた研究は存在し、人工関節や義歯などを対象にこれまでに多く行われている。しかし、強度や耐久性の問題やコストなど依然として課題が残っており、主因としてセラミックスの微細組織が挙げられる。セラミックス材料は数ミクロン程度の単結晶の集合体であり、密度（集合の度合い）や配向（集合の規則度）がセラミックス材料の強度を決定つける重要な因子である。しかし、適切な配向法が提案されていないのが現状である。

近年、日本で発明された液体ヘリウム使わない超伝導電磁石が開発され、非磁性材料でも強磁場を利用した配向法が適用可能となってきており、この磁場配向法は、サイズを問わず自由な形態制御が実現できることから医工学応用にふさわしいプロセスとなりうる可能性を秘めている。しかし、物質の磁気異方性や磁化容易軸の発現機構は複雑な結晶構造などがあいまって依然として不明であり、つまり、セラミックス材料の磁気状態の理解は、今後の医工学分野におけるセラミックスの利用を促進する上で重要となる。

本研究課題では、複雑な結晶構造をもつ層状コ

バルト酸化物や層状銅酸化物をモデル物質として、磁場配向法で配向体を作製し、磁気異方性と結晶構造の関係や磁性元素添加による磁気異方性の変化からセラミックス材料の磁気異方性の発現機構を明らかにした。

実験方法

層状コバルト酸化物として $[(Bi_{0.5}Pb_{0.5})_2Ca_2O_4]_yCoO_2$ [略して(Bi,Pb)Ca222]、層状銅酸化物として $REBa_2Cu_3O_7$ [略してRE123、RE=希土類元素]を選択した。系の磁気異方性を明らかにするために、(Bi,Pb) Ca222についてはCaサイトをREで一部（モル比で10%あるいは20%）置換した試料、RE123については様々なRE123試料を用いて磁場配向体を作製し、配向体の表面（上配向磁場）のX線回折実験から磁化容易軸を明らかにするとともに、磁場印加に対して平行方向($\chi_{//}$)と垂直方向(χ_{\perp})の磁化率（室温）から磁気異方性($\angle\chi = \chi_{//} - \chi_{\perp}$)を求めた。

結果および考察

(Bi,Pb) Ca222系については、Caサイトを様々なRE(Ce,Pm除く)で置換を行った(Bi,Pb)(Ca,RE)222粉末を作製しその磁場配向効果を

明らかにすることで系の磁気異方性がどのように変化するのか調べた。10テスラの超伝導磁石中で配向させた配向体および無磁場下で同様な方法で作製した試料のX線回折パターンからRE添加による磁化容易軸を判定した。RE無添加の(Bi,Pb)Ca222は非常に弱いながらも磁化容易軸をc軸方向にもつが、RE=Pr,Nd,Tb,Dyのとき、磁場配向により磁化容易軸がc軸であることを示す001ピーク強度が著しく増強した。特にTb,Dyでこの効果は顕著であった。一方、RE=Er,Ybではab軸配向を示す200ピークがメインピークとなり磁化容易軸がab軸方向に転換したことを示している。他のREでは、顕著な違いが見られなかった。さらに、c軸磁化容易軸を有することがわかった(Bi,Pb)(Ca,RE)222(RE=Pr,Nd,Tb,Dy)の磁気異方性 $\Delta\chi$ を定量的に調べた。X線回折パターンの結果を反映して、 $\Delta\chi$ の値はPr,NdドープのときSI単位系で $10^{-5}[-]$ オーダー、Tb,Dyドープのとき $10^{-4}[-]$ オーダーとなり、同じc軸磁気異方性を高めるREでも種類によりその効果が大きく異なることがわかった。なお、Tb,Dyドープで実現した磁気異方性の値から配向磁場を求めるとき粒径2ミクロンの結晶粒のケースで約1.5Tであり、この値は常伝導電磁石程度で実現できる磁場であり、このような結晶化学的手法で配向磁場の低減が実現できることを示した。

RE123(Ce,Pm,Tb除く)についても上記と同様な方法でREの違いによる磁化容易軸の変化を明らかにした。なお、希土類元素のうち磁性を決める4f電子が存在しないY123ではCuO₂面の磁気異方性によりc軸方向に磁化容易軸をもつ。配向体のX線回折パターンから決定した磁化容易軸のREの種類に対する変化は(Bi,Pb)(Ca,RE)222系とほぼ一致することがわかった。すなわち、RE=Pr,Nd,Dyのときc軸であり、RE=Tm,Er,Ybではab軸であった。また、磁気異方性 $\Delta\chi$ の値においてもRE=Pr,NdよりもRE=Dyの方が一桁高いことがわかった。

以上より、非磁性の層状構造を有する物質において、磁気異方性の制御方法としてRE固溶が有効

であることが示された。一方、REであれば何でも良いわけではなく、目的の配向方向に適したREが存在する。本研究では、銅酸化物とコバルト酸化物を扱ったが、このRE添加による磁気異方性変化の傾向は他の物質系でも基本的には適用可能と思われることから、酸化物系生体材料への展開も拓ける可能性がある。

発表

1. 堀井ら、ビスマス系コバルト酸化物の磁気異方性制御と磁場配向体の熱電特性
第三回日本熱電学会学術講演会論文集 (2006)
128-129.
2. Horii et al., Improvement of thermoelectric performance in magnetically c-axis-oriented bismuth-based cobaltites,
Scripta Materialia (accepted on April 23, 2007
in Scripta Materialia)

肺磁界測定法を用いた 石綿代替品（ロックウール）の安全性評価

(The evaluation of the effect of lungs in rats of rock wool after exposure by nasal inhalation)

〒228-8555 神奈川県相模原市北里1-15-1
北里大学 医学部衛生学公衆衛生学 工 藤 雄一朗

目的

石綿代替繊維として人造鉱物繊維 (MMMF; Man-made mineral fibers) が開発された。その中の一つにロックウール (Rock Wool: RW) がある。RWは断熱材、保温材、吸音板を中心に幅広く使われている。しかしその一方では、石綿とRWを含む代替繊維が、形態的に類似しているため有害性に対する危惧がもたれている。RWの安全性について、IARC (国際ガン研究機関) の報告では、現在Group3 (ヒトのデータでは不十分な発がん性で、動物のデータで制限つきないし不十分な発がん性を示す) に分類されている¹⁾。本実験では、RWの安全性を検討するため、NC社製のRWを使用しラットに対して鼻部吸入曝露実験を行い、肺磁界測定法、肺内滞留性 (肺内繊維数と繊維サイズ (長径、短径) の推移)、肺の病理学的評価によりRWの肺障害性を評価した。

方法

鼻部曝露装置を用いてオスFischer344ラット (6~10週令) 6匹を目標曝露濃度100fiber/cm² (長径>20μm) で1日6時間、5日連続曝露した。コントロール群6匹はRWを曝露させず、肺磁界測定法のみ行った。曝露終了1日後に磁界測定の

指標として、四三酸化鉄3mgを生理食塩水0.2mlに入れ、ラットに気管内投与した。陰性対照群6匹には四三酸化鉄のみ投与した。その後、ペントバルビタール (100mg/kg) を用い腹腔内麻酔した。麻酔後、肺磁界測定装置を用い、50mTで1秒間外部磁化を行った。磁化後、ラットから発生する残留磁界を40分間計測した。残留磁界値はパソコン上に出力した。肺磁界測定は、RW曝露群および陰性対照群とともに曝露終了1日後、3日後、2週後、4週後、2ヶ月後、3ヶ月後、4ヵ月後に行った。また、両群ともに、各測定日ごとに磁化直後の残留磁界値をプロットし、肺内の四三酸化鉄のクリアランスを比較した。結果は対照群、実験群とともに6匹のラットより得られたデータを、平均値±標準誤差により示した。また、対照群、実験群より得られたデータをt検定で解析した。肺内滞留性実験ではラット24匹を曝露させ曝露終了1日後、90日後、180日後に6匹ずつ屠殺した。得られた結果は、1元配置分散分析を行い、Scheffe法による多重比較により検定を行った。

結果

肺磁界測定法では、細胞障害性を示す緩和は、RW曝露群および陰性対照群ともに観察期間でいずれも迅速にみられた。磁化後2分間の緩和係数は、RW曝露群および陰性対照群ともに差はみられなかった。四三酸化鉄のクリアランスは、両群ともに迅速にみられた。肺内纖維数および纖維サイズの幾何平均値は、Sceffe法による多重比較では曝露直後群に比べ、90日後群、180日後群で有意に減少した ($p<0.05$)。肺内纖維数の変動により算出した半減期は、55日であった (長径 $>20\mu\text{m}$)。

考察

肺磁界測定法はCohen²⁾により初めて行われた手法である。肺磁界測定法の原理は、磁性粒子が滞留した肺に外部から磁化をかけると、外部磁化を中止後、肺から微弱な磁界（残留磁界）を計測することができる。残留磁界は時間とともに急速に減衰する。この減衰を緩和と呼ぶ。これは、肺胞マクロファージに貪食された四三酸化鉄が、外部磁化により磁化され一方向に配列し、外部磁化を止めると細胞骨格により食胞がランダムに回転して、残留磁界は急速に減衰すると考えられる。緩和は、外部の磁化により磁性方向が一つにされた細胞内磁性粒子が、時間の経過とともに細胞内の食胞の運動によりランダムに回転するため、磁性粒子の方向の一一致性が失われ、その結果、残留磁界を減少させると考えられている。肺胞マクロファージによる纖維の貪食作用により、緩和およびクリアランスが迅速に生じ、緩和係数も両群ともに差はなかったと考えられた。纖維数および纖維サイズの減少の理由および病理学的変化がみられなかった理由として、気管・気管支の粘液線毛運動による纖維の排泄、肺胞マクロファージによる纖維の貪食、肺内での纖維の溶解が考えられた³⁾。

結論

肺磁界測定法から、RWは肺障害性が少ないことが示唆された。今後は、長期間（曝露後1年後まで）の観察期間での肺磁界測定法・肺内滞留性評価・病理学的評価を行い、RWの肺障害性をさらに検討することが必要である。

参考文献

- 1) IARC Working Group on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Man-made vitreous fibers. IARC Monogr Eval Carcinog Risks Hum. 2002; 81: 1-381.
- 2) Cohen D : Ferrimagnetic contamination in the lungs and other organs of the human body. Science 180:745-748,1973
- 3) Hesterberg TW, Hart GA: Synthetic Vitreous Fibers: A Review of Toxicology Research and Its Impact on Hazard Classification. Critical Reviews in Toxicology 2001;31 (1) : 1-53.

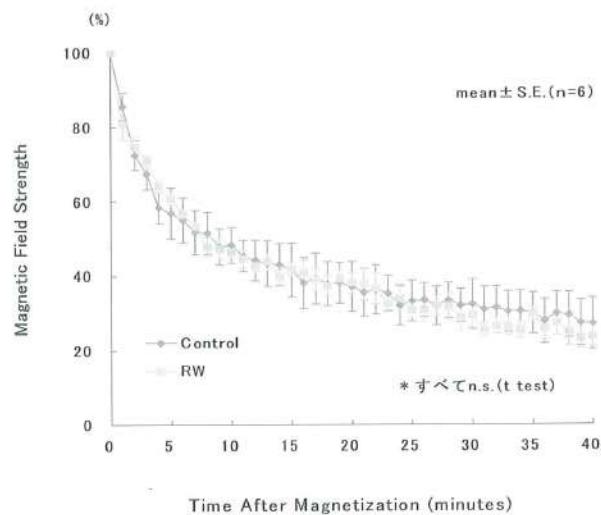


Figure 1. 4ヶ月後の緩和曲線

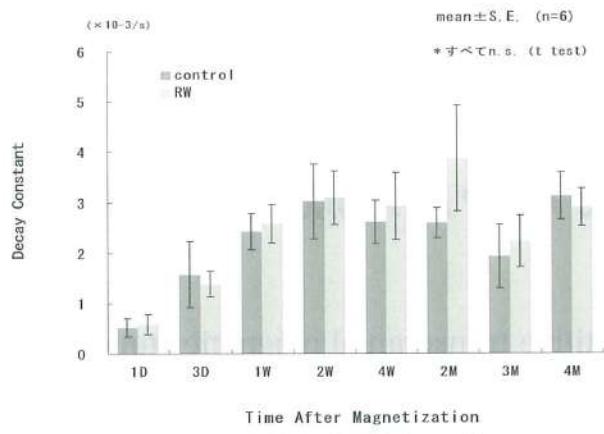


Figure 2. 鉄投与後の緩和曲線

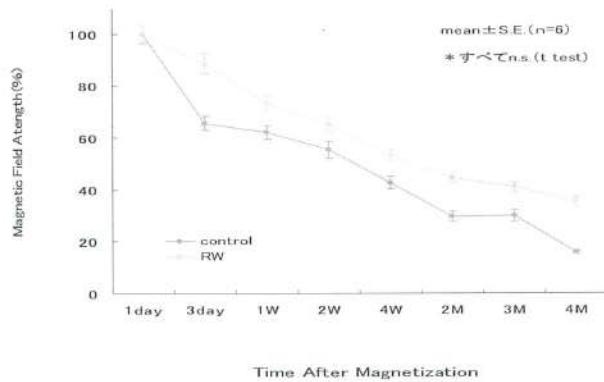


Figure3. ラット肺からの磁性粒子のクリアランス

発表

- 1) 第79回日本産業衛生学会、「2種類のロックウールの溶解性に比較」2006. 4. 仙台
- 2) The 28th International Congress on Occupational Health. 「Comparative cytotoxicity study of long and short chrysotile by cell magnetometric evaluation.」 2006.6. Milano, Italy.
- 3) 第20回日本生体磁気学会、「細胞磁界測定法によるロックウールの細胞毒性評価」 2006. 6. 東京
- 4) 第54回日本職業災害医学会、「NC社製ロックウールの肺内滞留性評価」2006. 11. 横浜 第77回日本衛生学会、「鼻部吸入曝露実験によるロックウールの肺障害性評価」 2007.3. 大阪

磁気刺激法による難治性てんかん治療法の開発

(Antiepileptic effects of low-frequency repetitive transcranial magnetic stimulation)

〒807-8555 福岡県北九州市八幡西区医生ヶ丘1-1
産業医科大学 医学部神経内科 由比友頤

目的

てんかん患者は日本国内に約100万人おり約30%は複数の抗てんかん薬にても発作をコントロールできない難治性てんかんである。薬物にてんかん薬による副作用や妊娠などのため薬剤の減量・中止が必要となる場合もあり薬物治療を補う新たな治療法が求められている。

経頭蓋磁気刺激法は円形コイルを頭皮上にあてコイルにパルス電流を流し周囲に変動磁場を生じさせ、二次的に頭蓋内に渦電流を発生させ深部の脳組織を無痛性・非侵襲的に刺激する方法である。健常人の大脳への連続刺激では高頻度(5Hz以上)では興奮性に、低頻度(1Hz前後)では抑制性に働くことが既に明らかにされている[1]。

これまで発作誘発の危険性からてんかん患者への磁気刺激は禁忌とされてきたが、近年低頻度磁気刺激によるヒトてんかん治療が報告され始めている。が刺激条件や対象患者が様々であり効果も一定していない[2、3]。

我々は低頻度経頭蓋磁気刺激法が薬物療法を補助する新たなてんかん治療法となるにはその機序解明が必要と考え、遺伝性てんかんモデルであるELマウスを用いて磁気刺激によるてんかん治療の可能性ならびに機序解明を行う。ELマウスは

一側の頭頂皮質に始まる発作発射が対側頭頂皮質や両側前頭皮質・海馬に伝播し全般化することから、部分発作の二次性全般化てんかんモデルと考えられている。しかも成長期に感覚刺激を加えるとてんかん発作発現を促すことができ、てんかん原性獲得過程を研究できるモデルでもある[4]。

方法

- 1) ELマウスの発作：ELマウスは12週齢から1回／週、高さ20cm程の放り上げを30回連続しておこなうことで次第にてんかん原性を獲得していく、14週齢からは数回程度の放り上げによってけいれん発作をきたすようになる。12週齢から毎週ほうり上げ刺激を行い、その度てんかん発作をきたす個体数(出現率)、てんかん発作をきたすまでの放り上げ回数、発作持続時間を記録する。
- 2) 低頻度経頭蓋磁気刺激法：マウス脳直上に直径8cmの円形コイルをのせる。運動閾値の100%の強度、1Hz、300回の磁気刺激を1回／週行う。コントロール群へはコイルは同様に頭部にのせた上で音刺激のみ与える。各群10匹の♀マウスを用いる。刺激時期はA:てんかん原性獲得前である8週齢より開始する群(てんかん原性獲得前rTMS群)とB:放り

上げ刺激を8週間うけててんかん原性が完成しすべてのマウスが3回程度の放り上げで発作を生じる19週齢から磁気刺激を開始する群（てんかん原性獲得後rTMS群）の2通り行う。

3) 海馬スライス標本での電気生理学的検討

磁気刺激がELマウスのてんかん発作に影響を与える時期を同定したうえで、同時期のELマウス大脳より海馬スライス標本を作製しその神経細胞興奮性について電気生理学的検討を行う。マウスをジエチルエーテル麻酔下で断頭した後、海馬を速やかに取り出しリニアスライサー（Pro 7, 堂阪EM）を用いて400 μ Mの厚さの海馬スライスを作成する。 O_2/CO_2 混合ガス（95%/5%）で飽和した人工脳脊髄液（124mM NaCl、2mM KCl、1.25 mM KH₂PO₄、2mM CaCl₂、2mM MgSO₄、26mM NaHCO₃、10mM グルコース）を灌流したインターフェイス型チャンバー（32±1°C）で1時間インキュベートした後、CA3細胞の軸索である放線状層を電気刺激しCA1錐体細胞から反応を記録する。なお本実験に用いたマウスの処置については産業医科大学の動物実験および飼育倫理審査委員会で承認されたものである（承認番号AE01-001）。

結果

A. てんかん原性獲得前rTMS群

- 1) てんかん発作出現率：コントロール群では12週齢より放り上げ刺激によっててんかん発作を起こすマウスが出現しはじめ週齢を重ねるに従って出現率は増加し17週齢にて100%となつた。一方rTMS群では14週齢からようやく発作を起こすマウスが出現し始めたが17週齢では全マウスが発作を生じた。この間12-15週齢にかけての発作出現率はrTMS群が有意差をもつて低下していた（fig.1）。
- 2) 発作の初発週齢：放り上げ刺激によるてんかん発作を初めて起こした週齢を比較したところ、コントロール群14.3±0.3週に対して

rTMS群では15.5±0.3週とrTMS群が有意に延長していた（Table）。

- 3) 発作のパラメーターへの効果：てんかん発作を来す放り上げ回数（Fig.2a）、発作持続時間（Fig.2b）に関してはコントロール群、rTMS群間では有意差はみられなかった。

B. てんかん原性獲得後rTMS群

てんかん原性獲得前rTMS群と異なり、てんかん原性獲得後rTMS群では発作のパラメーターへのrTMSの効果はみられなかった（Fig.3a、3b）。

C. てんかん原性獲得前rTMS群での海馬スライス標本での電気生理学的解析

てんかん発作が抑制されている15週齢でのELマウス群とコントロール群とで電気刺激に対する反応をみたところ、rTMS群の方が刺激反応曲線が興奮左にシフトしており興奮性が高まっている結果であった（Fig.4）。

考察

- 1) 低頻度rTMSによるてんかん発作抑制：低頻度rTMSは、てんかん原性獲得前である8週齢より開始した場合に12週から15週にかけての発作出現率を有意に抑制し、その結果発作の初発週齢も延長させた。が16週齢以降にはrTMSのてんかん発作抑制作用はみられなくなった。rTMSは発作の持続時間や誘発する放り上げ回数には影響しなかった。19週齢というてんかん原性獲得後からのrTMSではまったく効果がないことからも、ELマウスにおいてはrTMSはてんかん原性の獲得過程を遅らせるのが主たる作用と思われる。
- 2) rTMSの作用機序： ELマウスは生後5週齢ごろからGABA性抑制機構[5、6]、グルタミン酸興奮系[4]、Superoxide dismutase[7]など様々な機能に異常が出現、進行してんかん原性を形成・獲得すると言われている。今回の実験にててんかん原性の形成過程のみrTMSが作用することが明らかとなった。ところが

15週齢での海馬CA1細胞の電気刺激に対する興奮性はrTMS群のほうが高まっている結果であった。このことはrTMSの作用点はすくなくとも海馬ではグルタミン酸シナプス興奮系抑制ではないこと、16週齢以降のrTMSのてんかん発作抑制効果消失にグルタミン酸シナプス興奮系の亢進が関与していることを示唆している。ELマウスの発作はまず大脳皮質での発火が海馬におよびあらたな海馬での過剰興奮を引き起こすといわれており、てんかん原性ならびにrTMSによる変化については大脳皮質と海馬で異なる可能性もある。海馬のみならず大脳皮質の電気生理学的解析も今後必要である。

発表

第48回日本神経学会総会（名古屋）2007年5月
Complex Medical Engineering 2007（北京）
2007年5月

文献

- [1] R. Chen, "Studies of human motor physiology with transcranial magnetic stimulation," *Muscle Nerve*, vol.9 (Suppl) , pp. S26-32, 2000.
- [2] D.L. Menkes, M. Gruenthal, "Slow-frequency repetitive transcranial magnetic stimulation in a patient with focal cortical dysplasia," *Epilepsia*, vol.41, pp. 240-242, 2000.
- [3] W.H. Theodore, K. Hunter, R. Chen, F. Vega-Bermudez, B. Boroojerdi, P. Reeves-Tyer, et al., "Transcranial magnetic stimulation for the treatment of seizures: a controlled study," *Neurology*, vol.59, pp. 560-562, 2002.
- [4] J. Suzuki, "Investigations of Epilepsy with a Mutant Animal (EL Mouse) Model," *Epilepsia*, vol.45 (Suppl. 8) , pp.2-5, 2004.

- [5] Y. Fueta, W. Schwarz, K. Ohno, Y. Endo, T. Mita, "Selective suppression of hippocampal region hyperexcitability related to seizure susceptibility in epileptic El mice by the GABA-transporter inhibitor tiagabine," *Brain Res.*, vol.947, pp.212-217, 2002.
- [6] Y. Murashima, K. Kasamo, J. Suzuki, "Developmental and seizure-related regional differences in immediate early gene expression and GABAergic abnormalities in the brain of EL mice," *Epilepsy Res.*, vol.26, pp.3-14, 1996.
- [7] Y. Murashima, J. Suzuki, "Abnormalities of superoxide dismutase isozyme pattern during development and formation of abnormal plasticity in epileptic mutant EL mice brain," in L. Packer, M. Hiramatsu, T. Yoshikawa, *Free radicals in brain physiology and disorders*. San Diego: Academic Press, pp.157-172, 1996.

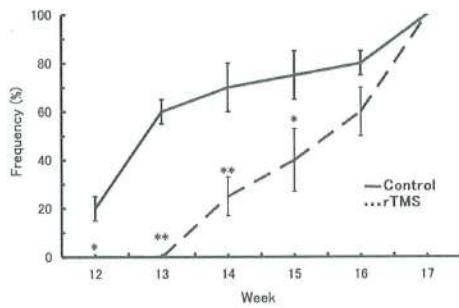


Fig.1 Seizure frequency of EL mice with or without rTMS. Significant changes were determined by a paired t-test (* p<0.05, ** p<0.01).

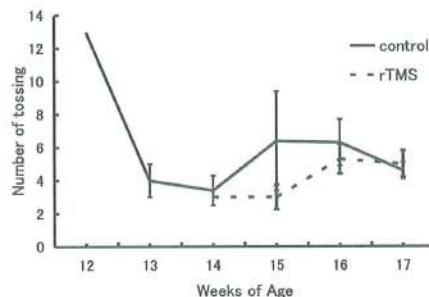


Fig.2a: Number of tossing for seizure induction. Data shown mean±S.D.

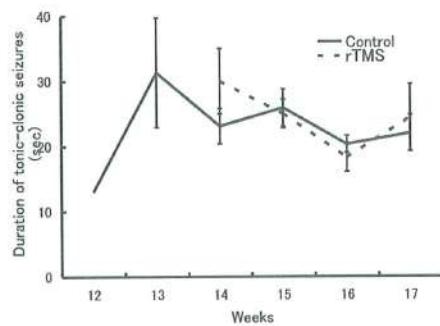


Fig2b:Duration of tonic clonic seizures. Data shown mean \pm S.D.

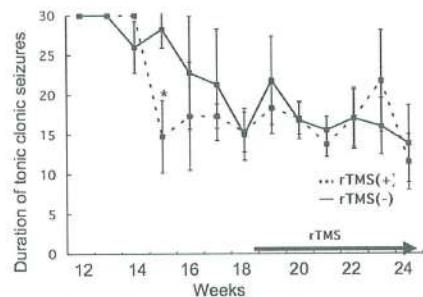


Fig3a:Duration of tonic clonic seizures

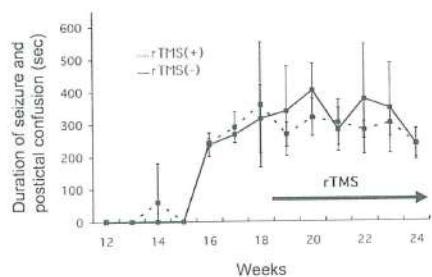


Fig3b:Duration of tonic clonic convulsion and postictal Convulsion (sec).

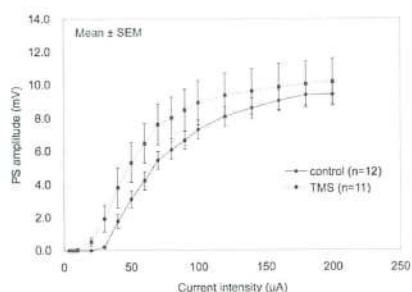


Fig.4 stimulation-response curves of hippocampus

Table: Time of first seizure

	week
Control	14.3 \pm 0.3
rTMS	15.5 \pm 0.3

$P<0.05$

NMR法による海洋天然超分子の生体膜動態解析 およびMRI法を用いた脳神経疾患への臨床応用に 関する研究

(Anti-radical and molecular aspects of xanthophylls-lecithin bilayer studied by nuclear magnetic resonance)

〒113-0033 東京都文京区本郷7-3-1
東京大学大学院 医学系研究科 生体物理医学専攻 中川秀紀

目的

高齢化が進む社会において、脳神経疾患の予防は重要課題である。脳リン脂質では高度不飽和脂肪酸（PUFA）の含量が高く、そのため脳内PUFAのラジカル過酸化防止は脳神経機能の維持・改善に役立つと考えられる。本研究では、各種微細藻類の藻体抽出物を用いて（1）ラジカルスカベンジャー活性物質のスクリーニングおよび活性物質の単離、（2）1Dおよび2D NMR法による活性物質の構造解析、（3）リポソームを用いた活性物質のナノカプセル化、（4）³¹P-NMRによるリポソームの膜透過性解析、（5）ゲル浸透クロマトグラフィー（GPC）による膜融合能評価を行い、脳神経疾患への臨床応用を目的とした基礎的検討を行った。

方法

東京大学分子細胞生物学研究所の細胞・機能高分子総合センター（IAM）より分譲を受けた微細藻類を対象にスクリーニングした結果、42株のうち3種に強力なラジカル消去活性が認められた。各種クロマトグラフィーを用いて活性本体を単離し、NMR、MSスペクトルなどの機器分析を中心に構造解析を行った。NMRスペクトル測定

にはJEOL製のJNM-A600を使用し、化学シフト（ δ 値）、プロトン数（¹Hピーク積分比）、多重度（s, d, t, dd, m）および結合定数（J値）の1D NMR情報に加え、2D NMR（COSY, HMBC, HMQC）で得られた¹H-¹Hおよび¹H-¹³Cの相関情報から各ピークを帰属した。

さらに、活性物質を封入した一枚膜リポソーム（SUV）を調製し、膜に対する磁性イオン（Pr³⁺）の透過率を³¹P-NMRスペクトル変化からモニタリングした[1]。

活性物質を封入したSUVの膜融合能は、融合により生じたリポソームサイズの拡大を Sepharose 4BカラムによるGPCで測定することで評価した[2]。

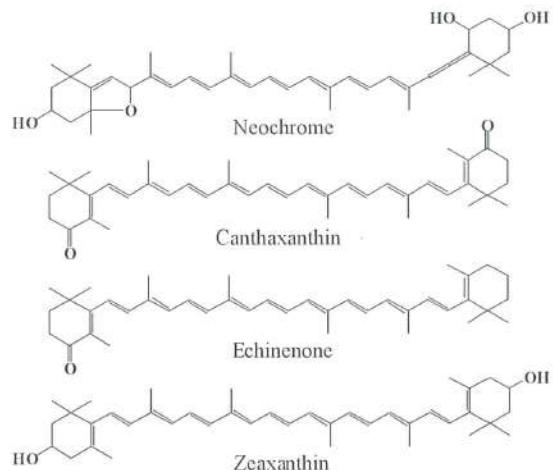


Fig.1 Xanthophylls isolated from microalgae.

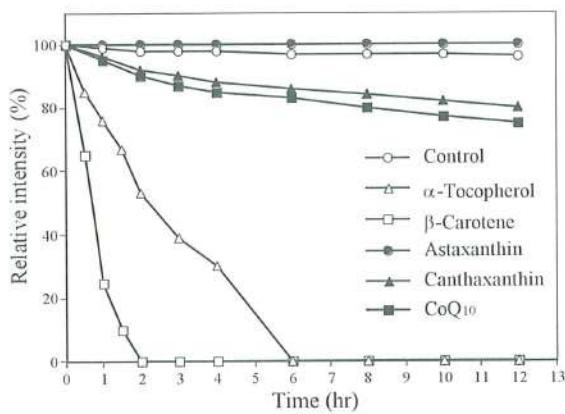


Fig. 2 Reduced rates of the intermembranous ^{31}P -NMR signals for xanthophyll-SUVs.

結果

NMR法を中心とした構造解析の結果、強力な活性本体はキサントフィル類であることが判明し、*C. acerosum* から neochrome ($\text{IC}_{50} = 0.51 \mu\text{g/mL}$)、*M. aeruginosa* から echinenone ($\text{IC}_{50} = 0.42 \mu\text{g/mL}$) および zeaxanthin ($\text{IC}_{50} = 0.39 \mu\text{g/mL}$)、*C. muscicola* から canthaxanthin ($\text{IC}_{50} = 0.34 \mu\text{g/mL}$) が得られた (Fig. 1)。

Fig. 2にキサントフィルまたは関連化合物を封入したSUVの内層側 ^{31}P -NMRピークの消失を示した。レシチンのみSUV (半減期: 6.25日) に対して、 β -carotene封入SUV (半減期: 30分) では約300倍も膜透過性が増大 (膜が不安定化) したが、astaxanthin含有SUV (半減期: 25日) では膜透過性が1/4に抑制された。

Fig. 3に膜融合反応後のGPC流出パターンを示した。 β -caroteneまたはcanthaxanthin封入SUVでは膜融合能が強化し、astaxanthin封入では融合能が減弱化した。

考察

本研究で得られたキサントフィルは、天然由来最強として知られる α -tocopherol ($\text{IC}_{50} = 5.1 \mu\text{g/mL}$) を10倍上回る超高活性ラジカル消去分子といえる。これらの超分子をリポソーム化して

標的部位にデリバリーする際、リポソーム膜構造の血中安定性および標的細胞との膜融合能は重要因素となる。

リポソーム化による膜透過性の変化 (Fig. 2) から、 β -carotene封入SUVでは膜の脆弱化が観られたが、canthaxanthinやastaxanthinの封入では膜の構造安定性が維持され、生体内デリバリーのための条件を満たすものと考えられた。

膜融合能の評価において、 β -caroteneやcanthaxanthinの膜への導入位置が融合に適した膜流動化を与えるのに対し、astaxanthin導入による膜の安定化は融合を妨げる結果となった。膜を安定化するキサントフィルのリポソーム化において、膜流動制御は今後の課題となつた。

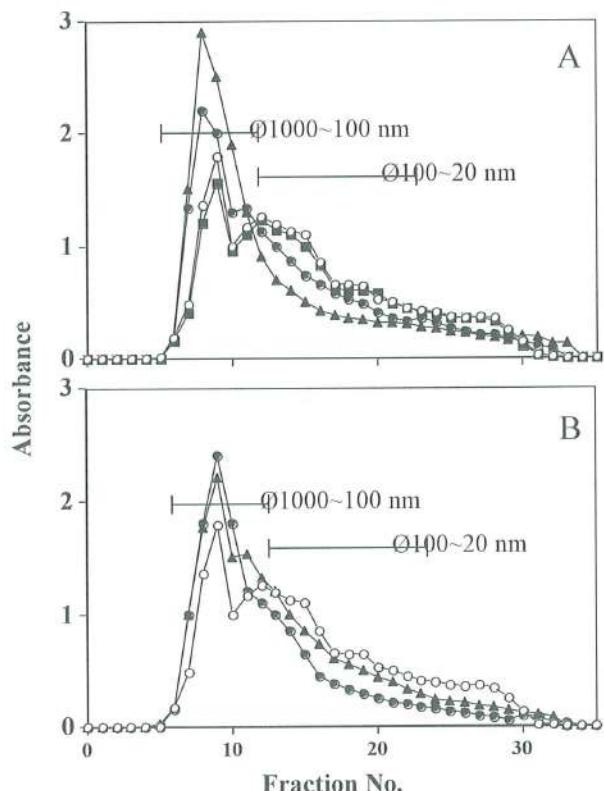


Fig. 3. Gel permeation chromatogram of xanthophyll-SUVs after fusion reactions: (A) elution profiles of SUVs incorporated with nothing (○), α -Toc (●), β -Car (▲), Ast (■); (B) elution profiles of SUVs incorporated with nothing (○), Can (●), CoQ₁₀ (▲).

近年、リポソームを用いた外的刺激による脳へのデリバリーに多くの工夫がなされてきており、

生体外部からの磁気照射を利用した脳デリバリーを今後検討していきたい。

参考文献

- [1] Hidenori Nakagawa, Shoogo Ueno, Shigeru Okada, Hiroki Abe: The Interaction of Radical Scavenging Compounds with Biomembranes Studied by ^{31}P Nuclear Magnetic Resonance. *Elsevier Int. Congr. Ser. (Biomagnetism)*, 2007 (in press) .
- [2] Hidenori Nakagawa, Tsuyoshi Shiina, Masaki Sekino, Makoto Kotani, Shoogo Ueno: Fusion and Molecular Aspects of Liposomal Nanocarriers Incorporated with Isoprenoids. *IEEE Transactions on NanoBioscience*, 2007 (in press) .

口演発表

<国際学会>

Hidenori Nakagawa, Tsuyoshi Shiina, Makoto Kotani, Hiroko Kotani, Shoogo Ueno: Structural and antioxidative stabilities of liposomal nanocapsules in membrane physicochemical properties. 25th Scientific Conference of the Society for Physical Regulation in Biology and Medicine, Honolulu, USA, January, 2007.

Hidenori Nakagawa, Shoogo Ueno, Shigeru Okada, Hiroki Abe: The Interaction of Radical Scavenging Compounds with Biomembranes Studied by ^{31}P Nuclear Magnetic Resonance. 15th International Conference on Biomagnetism, Vancouver, Canada, August, 2006.

Hidenori Nakagawa, Toshie Takahashi, Hiroko Kotani, Masaki Sekino, Makoto Kotani, Shoogo Ueno: Improvement of Stabilization and Cell

Fusion Potential of Paramagnetic liposomes for the Application to Drug Delivery System. 15th International Conference on Biomagnetism, Vancouver, Canada, August, 2006.

Hidenori Nakagawa, Hiroko Kotani, Sachiko Yamaguchi, Masaki Sekino, Shoogo Ueno: Nuclear magnetic resonance relaxation study of paramagnetic liposomal nanocapsules and *in vivo* effects in mice. 28th Annual Meeting of the Bioelectromagnetics Society, Cancun, Mexico, June, 2006.

<国内学会>

中川秀紀、椎名毅、小谷誠、滝沢穂高、山川誠、上野照剛、ラジカルおよび励起一重項酸素によるリポソーム膜物性変化に関する研究、第22回日本生体磁気学会大会、岡崎、2007年6月

中川秀紀、松本竜樹、椎名毅、小谷誠、上野照剛、光酸化を利用したリポソーム内包薬物の放出制御に関する研究、第22回日本生体磁気学会大会、岡崎、2007年6月

中川秀紀、椎名毅、山川誠、滝沢穂高、小谷誠、上野照剛、磁気共鳴スペクトル変化による膜融合能簡易評価法の検討、第2回日本磁気科学会年次大会、大阪、2007年6月

中川秀紀、椎名毅、小谷誠、松本竜樹、上野照剛、核磁気共鳴法を利用した生体膜過酸化反応の追跡、第2回日本磁気科学会年次大会、大阪、2007年6月

中川秀紀、椎名毅、小谷誠、松本竜樹、上野照剛、膜酸化を利用した機能性リポソームの基礎的研究、第46回日本生体医工学会大会、仙台、2007年4月

中川秀紀、椎名毅、関野正樹、小谷誠、上野照剛、

磁性リポソームの酸化および構造安定性に関する基礎的検討、第1回日本磁気科学会年次大会、つくば、2006年11月

中川秀紀、椎名毅、関野正樹、小谷誠、上野照剛、磁性リポソームの生体内制御に関する基礎的検討、第1回日本磁気科学会年次大会、つくば、2006年11月

中川秀紀、椎名毅、関野正樹、小谷誠、上野照剛、臨床応用を目的とした磁性リポソームキャリアの基礎的研究、第30回日本応用磁気学会学術講演会、島根、2006年9月

中川秀紀、小谷誠、関野正樹、小谷博子、上野照剛、常磁性リポソームの安定化および膜融合能の改善に関する研究、第21回日本生体磁気学会大会、東京、2006年6月

the Application to Drug Delivery System.
Elsevier Int. Congr. Ser. (Biomagnetism), 2007 (in press) .

中川秀紀、小谷誠、関野正樹、小谷博子、上野照剛、分枝鎖状化合物の封入による常磁性リポソームキャリアの膜動態制御に関する基礎的研究、日本生体磁気学会誌、2007年 (Vol.19 (2)、p.23-27、2006年)

Hidenori Nakagawa, Tsuyoshi Shiina, Makoto Kotani, Hiroko Kotani, Shoogo Ueno: Structural and antioxidative stabilities of liposomal nanocapsuls in membrane physicochemical properties. *Molecular and Cellular Biomechanics*, 3, 163, 2007.

論文発表

<学術論文>

Hidenori Nakagawa, Tsuyoshi Shiina, Masaki Sekino, Makoto Kotani, Shoogo Ueno: Fusion and Molecular Aspects of Liposomal Nanocarriers Incorporated with Isoprenoids. *IEEE Transactions on NanoBioscience*, 2007 (in press) .

Hidenori Nakagawa, Shoogo Ueno, Shigeru Okada, Hiroki Abe: The Interaction of Radical Scavenging Compounds with Biomembranes Studied by ^{31}P Nuclear Magnetic Resonance. *Elsevier Int. Congr. Ser. (Biomagnetism)*, 2007 (in press) .

Hidenori Nakagawa, Toshie Takahashi, Hiroko Kotani, Masaki Sekino, Makoto Kotani, Shoogo Ueno: Improvement of Stabilization and Cell Fusion Potential of Paramagnetic liposomes for

非侵襲統合脳機能計測と脳内機能連関モデリングに基づく三次元視覚処理の研究

(Noninvasive functional connectivity modeling of the visual cognitive processing involved in 3-D perception from 2-D motion)

〒563-8577 大阪府池田市緑丘1-8-31

独立行政法人産業技術総合研究所 岩木 直

目的

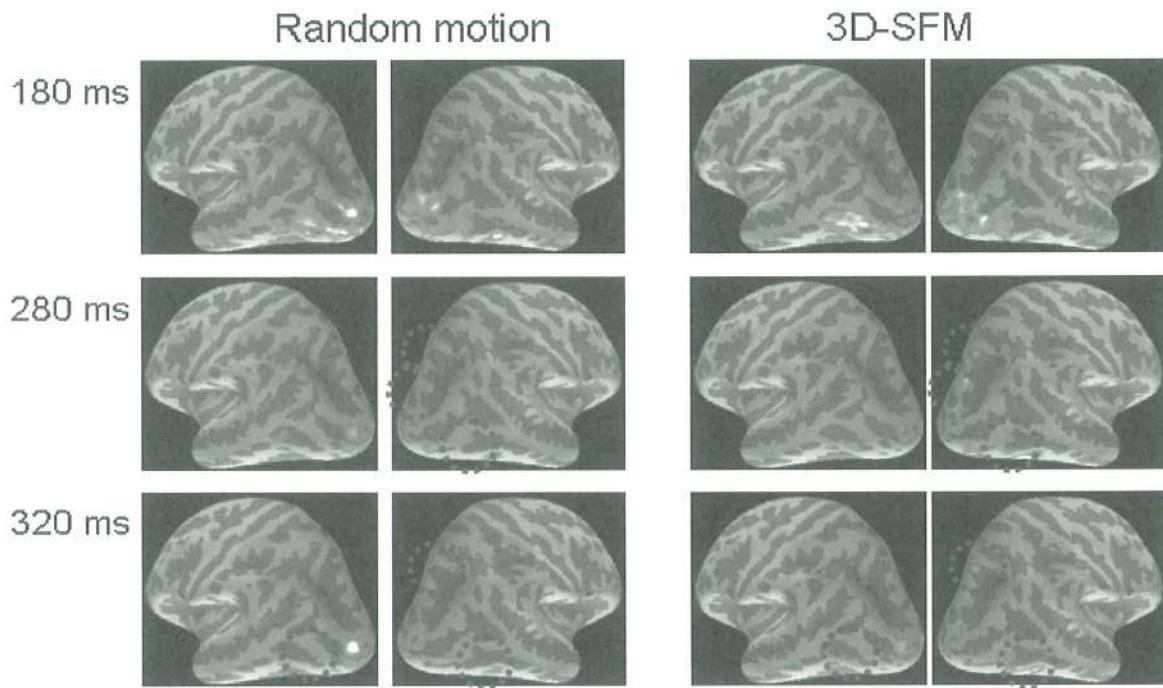
透明の球面上に配置された多数のドットを中心軸周りに回転運動をさせ、それを二次元平面に投影したものを観察すると、二次元平面上のランダムドットの動きから、奥行きのある三次元の球状構造が知覚される。二次元網膜像に含まれる運動情報からの三次元構造の知覚 (3D structure perception from motion: 3D-SFM) [1]には、背側視覚経路 (dorsal stream) で処理される動きの情報と腹側視覚経路 (ventral stream) で処理される形の情報の統合が必要とされ、それぞれ独立に働くと考えられていたこれら二つの視覚情報処理経路の間における相互作用を解明する上で、非常に重要なトピックとなっている。これまでに、ヒトを対象として機能的MRI (fMRI) を用いた研究が行われ、3D-SFMに関連する脳内活動部位 (頭頂-後頭部、上頭頂部、腹側後側頭部) が明らかにされてきた。しかし、fMRIの時間解像度における制約条件のため、これらの部位の電気生理学的な活動のメカニズムおよびそれらの間の相互作用は明らかにされていない。

本研究提案では、3D-SFMに関連する脳活動を、脳磁界計測 (MEG) / 脳波 (EEG) およびfMRIを用いて計測する。得られたデータは、これまで申請者らが開発してきたマルチモーダル脳機能計測

データの統合解析技術[2]を用いて解析を行い、ミリ秒オーダーの時間解像度とミリメートルオーダーの空間解像度をもつ動的な脳活動マップとして表現する。これによって、3D-SFMの神経基盤となっている背側視覚経路と腹側視覚経路における、神経活動の動的な相互作用の解明を試みる。

方法

データ解析技術：まず電気生理学的な計測技術 (MEG) と血液動力学的な計測技術 (fMRI) の統合解析により、それぞれの手法の長所である時間的および空間的解像度の良さを相補的に利用できる脳機能可視化システムを実装した。具体的には、申請者がこれまでの研究で開発してきたMEGデータを用いた脳内活動分布可視化アルゴリズムをベースに、fMRI計測データから得られる脳内活動の空間分布を先見情報として用いる統合データ解析モデルを作成した。すなわち、fMRIで得られる活動マップを、MEGデータからの脳内神経電流分布推定問題に対する先見情報として組み込むことにより、電気生理学的計測と血液動力学的計測で得られる脳活動データを統合的に扱うことのできるモデルを開発した。これにより、高い空間的分解能と高い時間分解能の双方を兼ね備えた、非侵襲脳機能計測・可視化を行った。



3D-SFM実験課題：スクリーン上に配置したランダムドットの動きのランダムさをパラメトリックにコントロールすることにより、完全な三次元物体の構造が知覚される条件（3D-SFM条件）からランダムな動きが知覚される条件（Random条件）までを連続的に変化させ、各試行に対応する被験者の主観的知覚を指運動などの反応により収集するとともに、同様の条件でMEG/EEG計測およびfMRI計測を行った。計測されたデータは、刺激条件と被験者の反応によってカテゴリー分割した後、それぞれ上述したデータ解析技術を用いて、動きからの三次元構造の知覚に関連する高次視覚野の動的な活動の可視化を行った。

結果

図1に、ランダムな点の動きが知覚される条件（Random）と、3次元の回転する球が知覚される条件（3D-SFM）に対する、脳活動可視化結果を示す。Random条件では、後頭部視覚野における活動のみが刺激呈示後 300 ms以降まで継続するのに対して、3D-SFM条件では、250 ms以降に後頭-頭頂部および頭頂部における活動、さらに後頭-側頭下部における活動が観測された。

考察

本研究で得られた結果は、2次元の点の動きから3次元物体を知覚する際に、高次視覚野を含む後頭部の活動に加えて、背側視覚経路上の後頭-頭頂部と頭頂部の活動と、腹側視覚経路上の後頭-側頭下部の活動が関与することを、高い時間・空間解像度で示している。

後頭-頭頂部および頭頂部の活動は、2次元の点の動きからの3次元物体知覚についての過去のfMRIを用いた報告と[3,4]、その空間的分布の点で一致しており、さらにこれらの部位における時間的な情報を付け加えるものである。また、頭頂部は物体の心的かつ空間的操作でも活動すること[5]、後頭-側頭下部は物体の認知を担うことが明らかにされている。これらを総合すると、2次元の点の動きからの3次元物体知覚では、視覚刺激の空間的な操作を担う背側視覚系と、物体に認知を担う腹側視覚系が協調的に活動することを示唆する。

文献

1. H. Wallach and D.N. O'Connell, "The kinetic depth effect," *J. Exp. Psychol.*, vol. 45, pp. 205-217, 1953.
2. S. Iwaki, M. Tonoike, S. Ueno, Visualization of the brain activity during mental rotation processing using MUSIC-weighted lead-field synthetic filtering, *IEICE Trans. Inf. & Syst.*, 85-D: 175-183, 2002.
3. G.A. Orban, S. Sumaert, J.T. Todd,, P.V. Hecke, and G. Marchal, "Human cortical regions involved in extracting depth from motion," *Neuron*, vol. 24, pp. 929-940, 1999.
4. A. L. Paradis, V. Cornilleau-Peres, J. Droulez, P.F. Van de Moortele, E. Lobel, A. Berthoz, D. Le Bihan, and J.B. Poline, "Visual perception of motion and 3-D structure from motion: an fMRI study," *Cereb. Cortex*, vol. 10, pp.772-783, 2000.
5. S. Iwaki, S. Ueno, T. Imada, and M. Tonoike, "Dynamic cortical activation in mental image processing revealed by biomagnetic measurement," *Neuroreport*, vol. 10, pp. 1793-1797, 1999.

発表予定

1. S. Iwaki, G. Bonmassar, J.W. Belliveau, Brain Activities during 3-D Structure Perception from 2-D Motion as Assessed by Combined MEG/fMRI Techniques, IEEE/ICME International Conference on Complex Medical Engineering-CME2007, Beijing, China, May 2007.
2. 岩木直他, MEG/fMRI統合計測・解析による三次元物体知覚の神経ダイナミクス可視化, 第22回日本生体磁気学会, 岡崎, 2007年6月.

実験的歯の移動および末梢血流の動態に及ぼす 静磁場の影響について

(The static magnetic field accelerates the experimental orthodontic tooth movement with homeostatic adaptation of the local blood flow)

〒812-8582 福岡県福岡市東区馬出3-1-1
九州大学 歯学研究院 名方俊介

目的

歯列矯正治療を行う際の歯の移動には、歯槽骨のリモデリング起り、また骨のリモデリングには歯根膜の安定した血流の維持が重要である。静磁場は血流状態を変化させることは知られており、また近年、実験的歯の移動時の破骨細胞の活性や骨芽細胞の分化に対する静磁場の促進効果が報告され（Tengku, B. S. ら2000年、山本 ら2003年）ている。このように静磁場がもたらす血流の変化が、歯の移動に必要な骨のリモデリングに影響を及ぼすことは興味深いが、実験的歯の移動と末梢の血流状態の変化を評価した研究はない。本研究の目的は、静磁場を暴露した環境で実験的歯の移動実験を行うとともに、周囲歯肉の血流を同時に記録することで、その影響を評価することである。

資料と方法

1) 実験的歯の移動

本研究には、生後6週齢の雄性Wistarラットを30頭用いた。実験期間中、固形飼料と飲料水で飼育し、各実験段階で体重の測定を行った。50mg/kgに秤量したペントバルビタール溶液（Abbot Laboratories, Illinois, USA）の腹腔内投

与により、麻酔を行った被験動物の上顎右側第一臼歯を被験歯とした。伸縮性のコイルスプリング（Hi-T II; 径0.006-inches, コイル径: 0.020-inches, 3M Unitek, Monrovia, USA）を設置するためのフックを被験歯に装着（図1）し、その1週間後にスプリングによる実験的歯の移動を開始した。スプリングは切歯と被験歯間に設置し、被験歯に対し40gfの近心移動方向の力を加えた。実験的歯の移動に伴い、静磁場を暴露する実験群とそうでない対照群にわけた。

2) 静磁場暴露環境

Nd-Fe-B磁石（NEOMAX）を垂直方向に組み合わせ、四方をヨークでシールドし、中心磁場強度500mTを発揮する実験用磁場回路（X-4056A, D300×W400×H150mm, 株式会社NEOMAX）内に設置したアクリル製ゲージにて飼育することにより静磁場の曝露を行った。

3) 実験的歯の移動量の計測

移動開始前、移動開始後1,3,5,7,14日目に付加型シリコン印象材で精密印象を採得し、得られた石膏模型上で第一臼歯遠心頬側咬頭—第二臼歯遠心頬側咬頭間の距離を最小可能測定量0.01mmのデジタルキャリパスで測定し移動距離を算出した。

また、印象採得と同時に被験歯近心部歯肉の血流量をレーザードップラー血流計（ALF21N;（株）アドバンス）にて測定した。

結果

実験的歯の移動量は、移動開始5、7および14日目において、実験群の方が有意に大きかった（図2）。また前半の7日間での移動量は実験群の方が有意に大きかったが、後半の7日間の移動量には有意な差は認められなかった（図3）。

対照群における、被験歯近心部歯肉の血流量は、実験前と比較して移動開始7日目に有意に減少したが、14日目では有意な差は認められなかった。また実験群では実験前、7、14日の間で有意な差は認められなかった（図4,5）。

考察

実験期間中、被験動物の体重は順次増加し、装置や静磁場暴露による全身状態への影響は最小限におさえられたと思われる。市岡らが報告した静磁場の循環系に対する動物実験によると、静磁場暴露中、皮下の微小血管血流量は減少し、暴露を解除すると増加すると述べている。本研究での被験歯近心部歯肉の血流量は対照群において逆に増加した。一方実験群においては実験期間中変化を認めなかった。これらの違いは、本実験において暴露した磁束密度が500mTであったのに対し、市岡らが用いたものは8Tとはるかに大きく、また今回用いた被験動物は生理的状態とは異なる実験的歯の移動を行っていた環境であったためだと思われる。しかしながら今回用いた実験群と対照群との間には、末梢の血流量の動態に相対的な差が認められ、14日間の歯の移動量、特に移動開始初期段階に影響を及ぼしたと思われる。今後は骨のリモデリングへの影響を解明するために組織学的検討を加えていく予定である。

参考文献

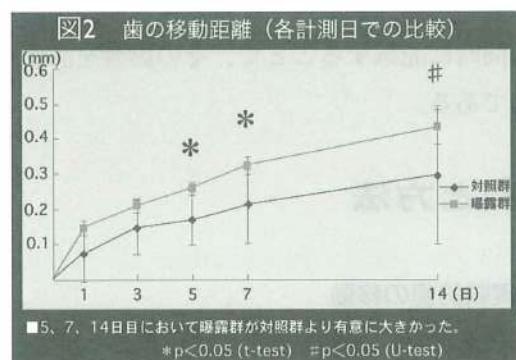
Tengku,B.S.,Joseph,B.K.,Harbrow,D.,Taverne,A.A.R.,Symons,A.L. :Effect of a static magnetic field on orthodontic tooth movement in the rat.European Journal of Orthodontics, 22:475-487, 2000.

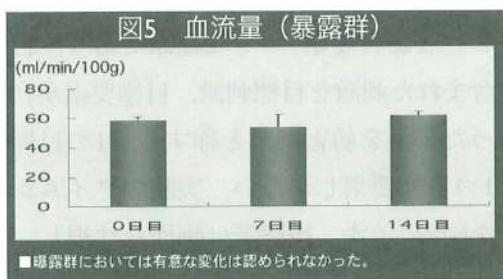
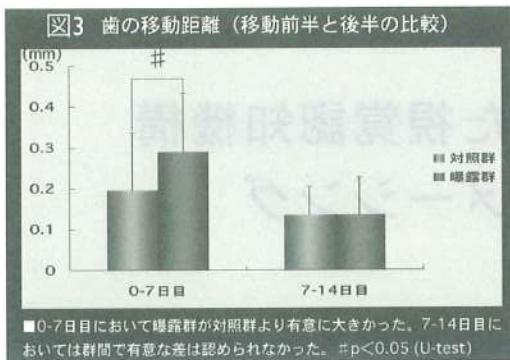
Yamamoto,Y.,Ohsaki, Y., Goto, T., Nakasima,A., Iijima, T. :Effects of Static magnetic fields on Bone Formation in Rat Osteoblast Cultures. Journal of Dental Research, 82:962-966, 2003.

Ichikawa,S., Ohura, N., Minegishi, M., Nakatsuka T., Harii, K. :Biological effects of strong static magnetic fields on skin microcirculation PartII : Effects on hemodynamics and skin temperature. Journal of Japan Plastic and Reconstructive Surgery, 18:547-551, 1998.



図1
実験的歯の移動のための口腔内装置





経頭蓋磁気刺激を用いた視覚認知機構 ダイナミックスイミージング

(Functional dynamic brain imaging of visual perception by transcranial magnetic stimulation)

〒819-0395 福岡県福岡市西区元岡744

九州大学 大学院 システム情報科学研究院 伊良皆 啓 治

目的

経頭蓋磁気刺激(TMS: transcranial magnetic stimulation)は、脳神経を非侵襲で刺激することができ、従来脳機能研究や脳神経疾患の診断、治療に用いられている。一方、TMSが脳の働きの一時的抑制や促進が可能であるという特性から、近年脳機能ダイナミクスの研究に応用されている。

視覚探索とは目的の物体を探す、ヒトの視覚的注意の一種である。視覚探索の研究はこれまで多くなされており、TMSを用いた従来の研究では右後頭頂皮質が関与していることが示唆されている。しかし視覚探索の時間特性はまだ十分わかっていない。本研究ではTMSを視覚探索課題に用い、ヒトの視覚探索処理の時間特性を調べることが目的である。

方法

TMS発生装置はMagStim社のSuper Rapid Stimulatorを使用する。刺激強度は被験者ごとに決め、右運動野刺激における左手親指の運動閾値とする。刺激コイルは内径70mmの8字型コイルを使用する。

視覚課題として、“pop-out”型の視覚探索刺激

課題を採用した。刺激は 5×5 の行列で分割された画面 ($4.7^\circ \times 4.7^\circ$) にランダムに呈示された8つの視覚要素で構成される。視覚要素は目標要素「J」と妨害要素「L」2種類であり、目標要素が含まれた刺激を目標刺激、目標要素が含まれなかつた刺激を妨害刺激と称する。1つ目標刺激には1つ目標要素しかない。実験のタイムシーケンスを図2に示す。被験者は画面を注視し、注視点が1500ms呈示した後、視覚探索刺激が1500ms呈示される。被験者には目標要素の有無によってマウスの左右(有:左; 無:右)のボタンのどちらかをできるだけ早くかつ正確にクリックすることが課される。

視覚刺激呈示してから被験者が反応するまでの時間を反応時間として記録される。その後、また注視点が1500ms呈示される。1試行はこのように60回繰り返される。目標刺激は全刺激中50%割合で出現する。視覚探索刺激が提示してから一定の時間間隔(SOA: stimulus onset asynchrony)で2連発(20ms間隔)のTMS刺激を被験者の右後頭頂皮質に与える。本研究では、SOAを100, 150, 200, 250msと設定して4条件の実験を行った。また、TMS刺激が視覚探索課題に与える影響を調べるため、各SOA条件下TMSを与えると与えない2条件で実験を行った。被験者は各条件で2回試行を行った。

結果

TMSを与えた際の反応時間を規格化した結果を図2に示す。TMSを与えたときの値を基準値1として規格化し、5人の平均をとって基準値1を引いた。TMSの有無による状態の違いを解析するために一元配置分散分析を行った。SOA=150msでは、TMSによる反応時間の有意的な遅れが認められた ($p<0.001$)。しかしながら他のSOAの場合においては有意的な差は見られなかった。

考察

従来の研究では右後頭頂皮質が関与していることが分かっているが、右後頭頂皮質が視覚探索課題を処理するタイミングを研究していなかった。本研究では、TMS刺激を出すタイミングを制御し、各タイミングでTMS刺激が視覚探索に与えた影響を調べた。その結果、SOA=150msの場合、被験者に有意的な反応時間の遅れを認めたため、視覚探索課題は視覚刺激呈示してから150ms前後に右後頭頂皮質で処理される可能性があると考えられる。本研究で示したように、経頭蓋磁気刺激を用いて、特定の脳部位を特定の時間で刺激することにより、脳機能の一時的な抑制が可能であった。従来の、脳機能イメージング研究では、脳の活動部位をイメージングすることは可能であるが、積極的にその働きを制御することはできない。経頭蓋磁気刺激ではこれが可能であり、経頭蓋磁気刺激と他のイメージング技術を用いることにより脳機能ダイナミックスイメージングの有効な手法となることが期待できる。

発表

TMS effect on visual search task, Sheng Ge, Akira Matsuoka, Shoogo Ueno, Keiji Iramina, Proceedings of the 28th IEEE EMBS Annual International Conference, pp.1118-1120, (2006)

Sheng Ge, Takashi Saito, Jing-Long Wu, Keiji Iramina, A study on some optical illusions based upon the theory of inducing field, Proceedings of the 28th IEEE EMBS Annual International Conference, pp.4205-4208, (2006)
Akira Matsuoka, Sheng Ge, Shoogo Ueno, Keiji Iramina, World Congress on Medical Physics and Biomedical Engineering 2006, pp.2656-2658, (2006)

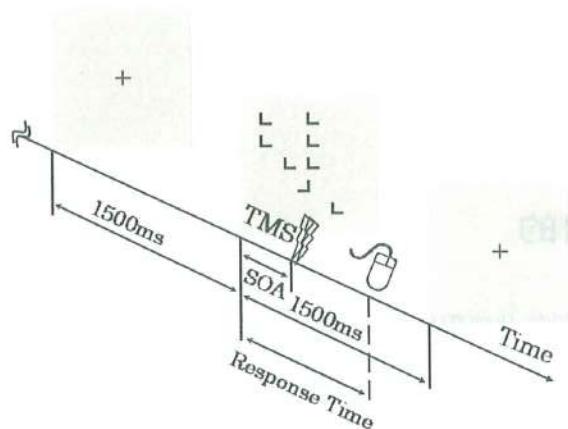


図1 実験タイムシーケンス

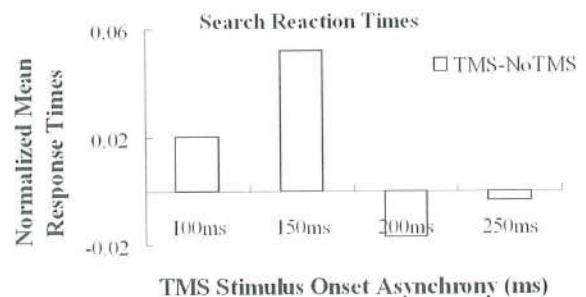


図2 SOA別の反応時間

再構成画像の任意スケーリング可能な 磁気共鳴イメージング法

(Anti-alias Scalable Image Reconstruction Magnetic Resonance)

〒321-8585 栃木県宇都宮市陽東7-1-2
宇都宮大学 工学部 情報工学科 伊藤聰志

目的

磁気共鳴現象を利用した生体断層撮像装置（以下、MRIと称する）の商用機では、撮像法としてフーリエ変換映像法が採用されている。この方法では、撮像時にサンプリング定理を満足しないと像の折返しが発生しアーティファクトとなる。本研究では磁気共鳴現象を利用した生体断層撮像法（MRI）においてサンプリング定理を満足しないために発生する折り返しアーティファクトを回避する新たな画像再構成法について検討を行うことを目的とする。

方法

位相拡散フーリエ変換映像法[1][2]（以後、Phase Scrambling Fourier Transform imaging; PSFT法と略称する）は、フーリエ変換映像法の変法である。フーリエ変換映像法の位相エンコード方向勾配磁界に同期して、被写体内のスピノの位相を拡散するパルスを設ける。係数bの磁界を使用した場合に得られる信号は式（1）となる。位相拡散フーリエ変換映像法を実現する方法には、この2次関数状磁界を使用する方法の他に、線形勾配磁界と直線的に時間スイープする静磁界を併用する方法、および被写体励起用RFパルス

の位相を二次関数的に変調し、線形勾配磁界印加のもとで照射する方法などがある。

$$v(k_x, k_y) = \int \int_{-\infty}^{\infty} \left\{ \rho(x) e^{-j\beta b \tau (x^2 + y^2)} \right\} e^{-j(k_x x + k_y y)} dx dy \quad (1)$$

式（1）において、 k_x, k_y は空間周波数と呼ばれる量である。式（1）の指数項をまとめると式（2）を得る。

$$v(k_x, k_y) = e^{\frac{j(k_x^2 + k_y^2)}{4jb\tau}} \int \int_{-\infty}^{\infty} \rho(x, y) e^{-j\beta b \tau \left(\left(x + \frac{k_x}{2jb\tau} \right)^2 + \left(y + \frac{k_y}{2jb\tau} \right)^2 \right)} dx dy \quad (2)$$

式（2）において、以下のように変数変換を行うと式（4）を得る。

$$x' = -\frac{k_x}{2jb\tau}, \quad y' = -\frac{k_y}{2jb\tau} \quad (3)$$

$$v(x', y') e^{-j\beta b \tau (x'^2 + y'^2)} = \int \int_{-\infty}^{\infty} \rho(x, y) e^{-j\beta b \tau (x'^2 + y'^2)} dx dy = v_{\rho}(x', y') \quad (4)$$

式（4）は光や音波などで得られるフレネル回折式と同形である。この形式に変換された信号を $v_{\rho}(x', y')$ とする。

式（1）の信号は、振幅変調を受けた $\rho(x, y)$ がフーリエ変換された記述式になっているから逆フーリエ変換を利用して通常の再構成処理によって画像を再生することが可能である。また、式（4）は畳み込み積分となっているから、畳み込み定理を利用して再構成処理によっても画像再生

が可能である。式(4)のフレネル変換式は畳み込み積分となっているから、そのフーリエ変換は畳み込み定理より式(5)となる。ここで ω_x , ω_y は、 x , y のフーリエ変換空間を意味する。

$$\begin{aligned} F[v_f(x', y')] &= F[v(x', y') e^{-j\beta\tau(x'^2+y'^2)}] = F[\rho(x, y) * e^{-j\beta\tau(x^2+y^2)}] \\ &= F[\rho(x, y)] \cdot F[e^{-j\beta\tau(x^2+y^2)}] \\ &= F[\rho(x, y)] \cdot \frac{\pi}{\beta\tau} e^{-j\frac{\pi}{2}} e^{\frac{\rho_x^2+\rho_y^2}{4\beta\tau}} \end{aligned} \quad (5)$$

式(5)より、 $\rho(x, y)$ は以下の式により求めることができる[4]。このとき得られる画像の分解能と視野は一般に逆フーリエ変換再構成とは異なる値が得られる[3][4]。

$$F[\rho(x, y)] = \frac{\gamma b \tau}{\pi} \cdot e^{j\frac{\pi}{2}} F[v(x', y') e^{-j\beta\tau(x'^2+y'^2)}] e^{-j\frac{\rho_x^2+\rho_y^2}{4\beta\tau}} \quad (6)$$

$v_{fr}(x', y')$ から画像再構成を行うフレネル変換再構成では、 $\gamma b \tau$ の値が真値でない場合に再生された画像はぼける。しかしながら、その前段の位相拡散フーリエ変換法の信号(2)からフレネル変換型の信号 $v_{fr}(x', y')$ に変換する過程以降で使用する $\gamma b \tau$ が同一の値であれば、 $\gamma b \tau$ が真値でなくても鮮明な画像を再構成することができる。また、このとき再構成画像は $\gamma b \tau$ の値に応じてスケーリングされて縮小、あるいは拡大することになる。いま、真値の $\gamma b \tau$ でなく、 $\alpha \gamma b \tau$ (α は実数)を使用する場合を考える。このとき得られる像は、以下の式で与えられる。

$$\rho_\alpha(x, y) = \alpha^2 \rho(\alpha x, \alpha y) e^{-j\frac{(\alpha-1)\gamma b \tau}{\alpha}[(\alpha x)^2 + (\alpha y)^2]} \quad (7)$$

式(7)のように再生画像が α 倍にスケーリングされることがわかる。このフレネル変換再構成を利用したスケーリング効果により、通常の逆フーリエ変換再構成では折返しアーティファクトが発生する場合でも、スケーリングによりみかけの視野を拡大することができ、折返しの生じない画像を再生することが可能となる。

結果

撮像実験では静磁場強度0.0187 T、共鳴周波

数が779 kHzの試作MRIを用い、被写体にはゆずを使用した。 $\gamma b \tau = 6.1 \text{ rad/cm}^2$, $\Delta x = 0.067 \text{ cm}$, $\Delta x' = 0.12 \text{ cm}$, スライス厚は0.7 cmとした。(a)は、PSFT信号である。この信号から通常の逆フーリエ変換処理を行った結果が(b)の画像である。視野が4.3cmに対し、被写体のゆずのサイズが大きいので折返しアーティファクトが生じている。 $\alpha = 0.8$ とし、画素幅を $\alpha \Delta x'$ (=0.096 cm)としてスケーリング変換を実施したフレネル変換再構成像が(c)である。殆ど折返しのない画像が得られていることがわかる。撮像実験により、提案手法の有効性を実証することができた。

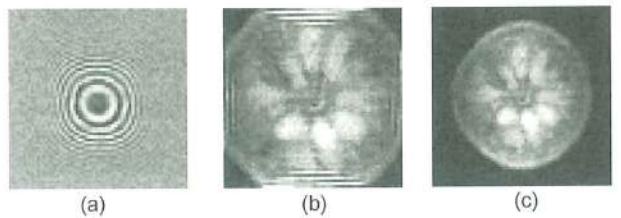


Fig.1 Results of anti-aliasing reconstruction of "yuzu" orange, (b) Fourier reconstructed image, (c) Scaled image by Fresnel transform

考察

PSFTはフーリエ変換映像法と同じサンプリング軌道を取るから、被写体の歪みや分解能はフーリエ変換映像法と同等である。一方、画像のS/N比は $\gamma b \tau$ 値や被写体の分布により僅かに変化する。Fig.5で示したように $\gamma b \tau$ 値や被写体の分布が大きいと信号の拡がり幅が大きくなり、信号の打ち切りによる信号エネルギーの損失が大きくなる。そのため、 $\gamma b \tau$ 値は許容範囲で最小の値を使用した方がS/N比的に有利である。 $\gamma b \tau$ 値の許容最小値を使用した場合に、信号のエネルギーはフーリエ変換映像法の信号に比べて数%程度の減少になるので、画像S/N比はフーリエ変換映像法より僅かに小さくなる。

本方法の応用として、Fig.1 (b)のように意図的にフーリエ変換再構成では折り返しアーティファクトが発生するような高分解能で撮像し、像の折り返しが生じない視野中央領域を標準的な撮像に

比べて高分解能で観察する方法を考えることができる。再生像の分解能はサンプリング定理で決定される値以上にはならないので、逆フーリエ変換再構成で得られた画像に折り返しが生じない場合には、スケーラブル再構成によって画素幅を小さくし折り返しが生じるように像を拡大しても補間と同等な処理となって高分解能化にはならない。すなわち、意図的にサンプリング定理を満足しない高分解能な撮像条件で撮像しておく必要がある。

このとき同一の信号から像の折り返しは生じているが画像中央部は標準的な撮像に比べて高分解能な画像と、スケーラブル再構成により折り返しを殆ど生じずに被写体全体が映像化された画像のいずれの画像も作成でき、それらの観察が可能となる。パラレルイメージングでは複数の信号から折り返しを解消した高分解能画像を合成するが、本方法を応用すると单一の受信コイルによって得られた单一信号を利用し、分解能と有効視野を可変しながら部分的に高分解能観察を可能とする。提案法は2次関数状の位相変調を与える処理が必要となるが、单一の受信コイルで適用可能という点でパラレルイメージング非対応のMRIにも適用可能性があると考える。

発表

論文発表

- 1) 伊藤聰志, 中村俊, 劉娜, 山田芳文,
位相拡散フーリエ法を用いたMRアンチエイリ
アス画像再構成
電子情報通信学会論文誌, vol.J90-D, No.4,
pp.1149-1157 (2007.04) .

国際会議発表

- 1) S.Ito, S. Nakamura, Y. Yamada, K. Tanaka,
Anti-alias Imaging by Fresnel Scalable Image
Reconstruction,
International Society of Magnetic Resonance
in Medicine 14th Scientific Meeting, Seattle,
Washington, USA, p.693 (2006.05) .

- 2) S.Ito, S. Nakamura, Y. Yamada, K. Tanaka,
Anti-alias Image Reconstruction using Phase
Scrambling Imaging Technique
World Congress on Medical Physics and
Biomedical Engineering 2006,
IFMBE Proceedings, vo.14, pp.1344-1347,
Seoul, Korea (2006.08) .

学会口頭発表

- 1) 中村俊, 伊藤聰志, 山田芳文,
位相拡散フーリエ法を用いたMRアンチエイリ
アス画像再構成
第25回日本医用画像工学会, , Proceedings on
CD-ROM (2006.07) .
- 2) 伊藤聰志, 中村俊, 山田芳文, 田中邦雄,
位相拡散フーリエ変換映像法を利用したアン
チエイリアス画像再構成
第34回日本磁気共鳴医学会大会, 242-24AM,
p.240 (2006.09) .

文献

論文発表

- [1] Maudsley AA: Dynamic Range Improvement in NMR Imaging Using Phase Scrambling. J Magn Reson 76: 287-305, 1988.
- [2] Wedeen VJ: Dynamic Range Compression in MRI by Means of a Nonlinear Gradient Pulse. Magn. Reson. Med., 6: 287-295, 1988.
- [3] 山田芳文, 田中邦雄, 阿部善右衛門: 走査型
非線形勾配磁場を用いたNMRフレネル変換イ
メージング. 電子情報通信学会論文誌 C J-70-
C: 439-446, 1987.
- [4] Yamada Y., Tanaka K., Abe Z.: NMR
Fresnel transform imaging technique using a
quadratic nonlinear field gradient., Rev. Sci.
Instrum., vol.63, no.11, pp.5349-5358
(1992) .

in vivo 計測によるラットの神経-筋を用いた パルス磁気刺激の影響に関する研究

(Recovery effect on muscle fatigue in rats exposed by pulse Magnetic field in vivo)

〒890-0065 鹿児島県鹿児島市郡元1-21-40
鹿児島大学 工学部 塗木 淳夫

目的

正常ラットおよび低カリウムラットの筋に対して磁気刺激を印加し、磁気刺激の疲労回復効果を電気生理学的変化から明らかにする。

方法

本実験では、測定対象としてラット（10～15週齢、平均体重300g、以下正常ラットとする）および、正常ラットにおよそ40日間低カリウム食を与えたラット（11～13週齢、平均体重185g、以下低カリウムラットとする）を用いた。低カリウムラットの筋はヒトが低カリウム症となった場合と状態が似ているとされており、実験的病態モデルとして知られている。被験筋として後肢のヒラメ筋および長指伸筋を用いた。

作成した実験系を図1に示した。電気刺激は

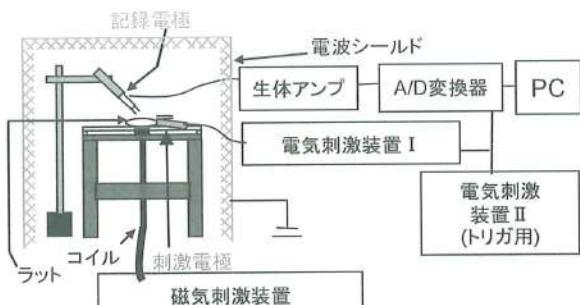


図1 システム概要

ラットの神経にフック状刺激電極（銀・塩化銀電極、直径8mm）を引っかけ、電気刺激装置I（SAN-EI社製：ELETORIC STIMULATOR 3F46）からアイソレータ（ISOLATOR 5361）を介して行った。また、双極誘導の測定電極（銀・塩化銀電極、直径8mm）、参照電極（銀・塩化銀電極）を被験筋に接触させておき、これらから取り込んだ誘発電位を、生体アンプ（日本光電社製：Neuropack Σ）、A/D変換器（AD Instruments社製：Mac lab/8s）を介して、コンピュータ（Power Macintosh G3）へ入力した。また、記録と解析の効率化のため、電気刺激装置II（日本光電社製：Electric Stimulator SEN-3301）のトリガによって電気刺激装置IとAD変換器とを同期させた。磁気刺激系は、ラットを厚さ2mmアクリル台に固定し、台をはさんで被験筋の直下に直径25mmの8の字コイルの中心を配置したもので、磁気刺激装置（Magstim社製：Model 200）から刺激を行った。実験のタイムテーブルを図2に示す。本実験において電気刺激は、波形を矩形波、強度を最大上刺激110%，パルス幅を50μsecとした。まず、疲労を誘発するため、この波形を周波数50Hzで連続的に3分間繰り返した。その後の疲労回復期に電気刺激の周波数を1/30Hzに切り替えて1800secを行い、筋電図を記録した。この期間に磁気刺激を行う群をExposure、行わない群を

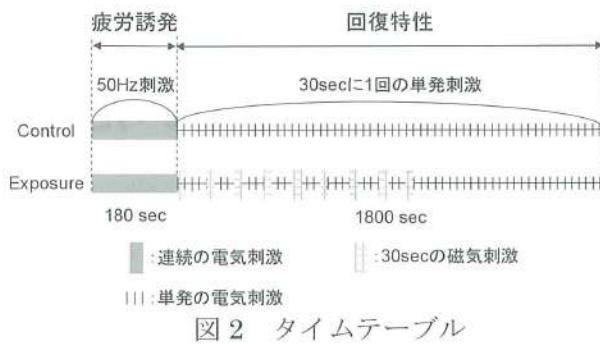


図2 タイムテーブル

Controlとした。Exposureは、強度を30~60%（最大出力約2.0T）とした。刺激の時間は疲労誘発刺激直後を0secとして、0sec, 120sec, 240sec, 360sec, 480sec, 600sec, 720sec, 840sec時点からそれぞれ30secにわたって行った。

疲労誘発後から始まる回復期の筋電図振幅値の推移をその最終値（1800sec時点での誘発電位の振幅）で規格化し、回復特性として定性的に表した。

結果

正常ラットおよび低カリウムラットにおけるヒラメ筋、長指伸筋のControlの結果の中央値を図3に示した。この結果より、振幅値の立ち上がりが、正常ラットよりも低カリウムラットにおいて、またヒラメ筋よりも長指伸筋において、より緩やかになることを観測した。また同図において、筋電図振幅値の最終値への収束が、共通して対数関数的であることから、各グラフの時定数を求め、結

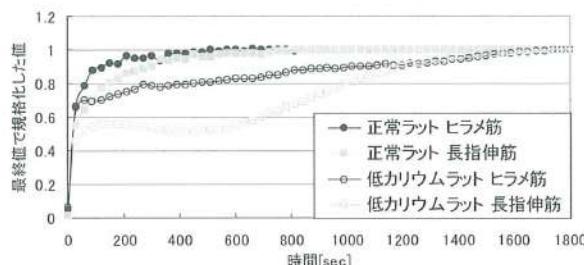


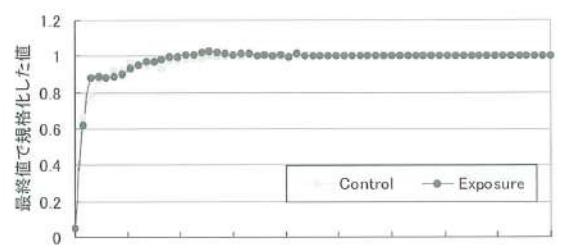
図3 Control データの比較

表 Control データの時定数

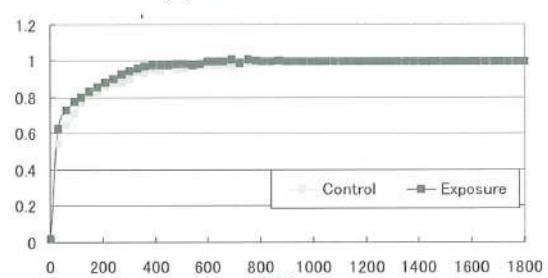
時定数 [ms]	正常ラット	低カリウム ラット
ヒラメ筋	27.7	27.8
長指伸筋	52.8	737.5

果を表に示した。結果より時定数は、正常ラットと低カリウムラットの比較では、後者の方がヒラメ筋において1.00倍、長指伸筋において14.0倍大きく、ヒラメ筋と長指伸筋の比較では後者の方が、正常ラットにおいて1.91倍、低カリウムラットにおいて26.5倍大きくなった。

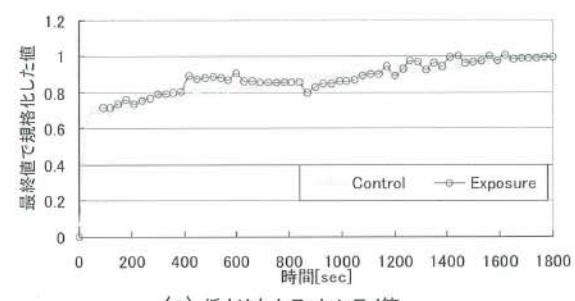
図3のControlとそれぞれに対するExposureとの結果を図4に示した。これにより、正常ラット、低カリウムラットに関係なく、長指伸筋においてExposureの立ち上がりが早くなることが観測された。



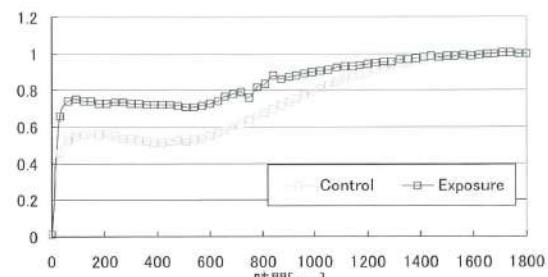
(a) 正常ラットヒラメ筋



(b) 正常ラット長指伸筋



(c) 低カリウムラットヒラメ筋



(d) 低カリウムラット長指伸筋

図4 ControlとExposureの比較

考察

本実験では筋電図の振幅によって疲労を定量化おり、回復特性の時定数は疲労からの回復速度を表していると考えられる。従って、図3および表より、疲労状態からの回復は低カリウムラットよりも正常ラットの方が、長指伸筋よりもヒラメ筋の方が早く起こるという可能性が示唆される。

低カリウム症の症状としては、筋力低下や麻痺などがあり、筋の状態の悪化とともに筋肉量の低下や、疲労に対する耐性の低下も予想される。実験結果はこのようなことが反映されたのではないかと考えられる。また、一般的に、遅筋を多く含むヒラメ筋は疲労に対して耐性があるといわれており、逆に速筋を多く含む長指伸筋はヒラメ筋よりも疲労しやすいといわれている。ヒラメ筋より長指伸筋の方が回復に時間がかかるという実験結果にはこのような筋の特性が現れたのではないかと考えられる。

図4においては、低カリウムラットのEDLの回復特性の立ち上がりが短縮し、それ以外のデータはControlと大差がみられなかった。このことから、磁気刺激は低カリウムラットのEDLに影響を与えることができ、早期回復を促す効果があるという可能性が示唆された。

平成18年度 研究助成テーマ

平成18年度は、以下のように、基礎2名・テーマ指定4名の研究に対し助成が決定いたしました。

I. 基礎研究

- I-1. 歯科精密铸造磁性アタッチメントに関する研究 -歯科用合金に対する接合性-
テキサスA&M大学ヘルスサイエンスセンター・ベーラー歯科大学／渡辺 郁哉

I-2. インスリン分泌細胞の磁場応答に関する研究

弘前大学 医学部／櫻井 智徳

III. テーマ指定研究

- III-1. 交流磁界が動物細胞の細胞内Ca²⁺イオン濃度と細胞運動に及ぼす影響の解析
埼玉医科大学 医学部／駒崎 伸二

- III-2. 拡散強調磁気共鳴画像同時記録を用いた経頭蓋磁気刺激による脳活動変化の測定
国立精神・神経センター 神経研究所／花川 隆

- III-3. 磁気刺激による次世代 ECT（電撃けいれん）療法のための基礎研究
九州大学大学院 システム情報科学研究院／伊良皆 啓治

III-4. 磁場印加によるP19細胞分化制御の基礎研究

東京大学大学院 新領域創成科学研究所／神保 泰彦

なお、所属は研究助成決定当時のものです。