

THE REPORT OF STUDY RESULT BY SUBSIDY

助成研究成果報告書

第28回



The Watanabe Foundation
公益財団法人 渡邊財団

助 成 研 究 成 果 報 告 書



第28回

(研究期間：令和4年4月1日～令和5年3月31日)

目 次

巻頭言	1
	理事長 小谷 誠
I. 基礎研究	
I-1. 静磁場による脾臓由来IL-10誘導を用いた認知症発症予防の試み	3
	大分大学 医学部 内分泌代謝・膠原病・腎臓内科学講座 後藤 孔郎
I-2. 生体内局所電磁場と原子核スピンの相互作用計測と新規現象探索	6
	東京大学 大学院工学系研究科 島添 健次
I-3. 磁気刺激による内耳前庭系を介した反射機能改善の検証	8
	岐阜医療科学大学 大学院保健医療学研究科 田中 邦彦
I-4. 磁気刺激を用いた神経回路創出法の確立を目指して	11
	同志社大学 大学院脳科学研究科 正水 芳人
I-5. がん温熱療法と診断を目指した磁気ナノ微粒子の創製	13
	横浜国立大学 大学院工学研究院 一柳 優子
II. 応用研究	
II-1. 反復経頭蓋磁気刺激併用認知リハビリテーションによる認知機能改善効果の検証	15
	順天堂大学 大学院医学研究科 リハビリテーション医学 高倉 朋和
II-2. 超小型ナノカプセル ¹⁹ F MRI 造影剤の開発	18
	大阪大学 大学院工学研究科 蓑島 維文
II-3. 上肢の局所性ジストニアに対する装着型器機を用いた磁気刺激治療	20
	藤田医科大学 保健衛生学部リハビリテーション学科 藤村 健太
II-4. 磁性ナノ粒子を用いたオルガネラの膜損傷の研究	23
	岩手大学 理工学部生命コース 芝 陽子
III. テーマ指定	
III-1. 統合失調症のガンマ帯域神経振動異常におけるAMPA型グルタミン酸受容体の役割	25
	九州大学 大学院医学研究院 精神病態医学 田村 俊介
III-2. 核磁気共鳴エラストグラフィーを用いた肝うっ血評価による心不全の非侵襲リスク層別法の開発	28
	北海道大学 大学院医学研究院 循環病態内科学教室 永井 利幸

巻 頭 言

公益財団法人 渡邊財団

理事長 小 谷 誠

今から46年程前に私は米国のマサチューセッツ工科大学（MIT）に留学して、人間の身体から発生する微弱な磁気を計測して、病気の診断に役立てようとする研究を2年間行い、帰国後も生体磁気計測の研究を続けてきた。

人間の心臓や脳からは微弱な磁気が発生していることは以前から推定されていたが、この微弱な磁気を計測できる磁束計がなかった。ところが、1970年代に超伝導技術を応用した超高感度のSQUID磁束計が米国立研究所とMITの共同研究で開発された。

MITではこのSQUID磁束計を用いて、心臓から発生する磁気の計測に成功し、更に心臓磁気の千分の1程度の脳から発生する磁気計測に挑戦している頃、私はMITに留学した。

私がMITに留学した頃、MITの研究所では大変なことが起っていた。それは、米国の著名な医師が、「MITのグループは心臓や脳の神経活動に伴って発生する磁気を計測していると言っているが、それは間違いである。彼らの計測している磁気は血液の中の鉄分が地磁気を乱している磁気を計測しているのにすぎない」と新聞で批判された。その結果、MITの生体磁気計測の研究への米国の公的研究費は大幅に削減されていた。

私は、この医師の意見は理にかなっていると思って、十数名の健常者の血液を採取してSQUID磁束計で計測したが、血液は全く磁性がないことがわかった。

その理由は、鉄自体は常に磁性を持っているが、鉄が酸素と結合する仕方によって強い磁性を持ったり、全く磁性を持たなくなる。血液中の鉄は全く磁性を持たないように酸素と結合しているのである。

人間の祖先がこの世に登場し、立って歩き、言葉を交わすようになったのは、今から200万年程前と云われている。この間に、地磁気の大きさと方向が10回ほど変わっている。このように地磁気の大きさや方向が大きく変わる環境の中で人間は進化してきたので、地磁気の影響はあまり受けないように人体はできている。

ところが、人間が電気を使うようになったのは、僅か200年ほど前からである。そのため、人体は電気に対しては防衛能力が進化しておらず、大変敏感に反応する。例えば、心臓の表面に数ボルトの電圧を加えると心臓は正常に働かなくなる。ところが、外部から心臓に磁気を加えて心臓を止めることは大変困難である。

このような人体の特徴から電気治療器は即効性があるが、取り扱いを間違えると大変危険である。それに対して、磁気治療器は危険性は少ないが、時間をかけてじっくり治療する必要性があると思われる。

本財団は生体磁気現象を通して国民の医療と健康に貢献することを目的として、学術研究を助成し、講演会を開催するなど、社会に向けた活動をしている。しかし、磁気的作用は、基礎的現象から始まり、体内の複雑な相互作用への関与を通して生じるものであり、短期間の実験試行ではなく、長期間腰を落着けて追求して初めて明らかにされることが多い。

いっぽう昨今の学界においては、短期間に成果を挙げ、学位や業績に結びつけようとする雰囲気強く、原因結果の関係が明白な現象や、客観的に説明できる現象に関心が集中するように見受けられる。これに対して本財団は、性急に成果を求めようとするよりも、長期間にわたる努力を覚悟して特定の問題に取り組む学究の徒を支援したいと考えている。

この報告書は、令和3年度に助成した研究の報告書を、原文のままにまとめたものである。基礎面から実際の応用にいたる広い範囲の研究が含まれているが、いずれもこの領域に新しい道を拓くことを目指している。この報告書が契機になって、志を同じくする研究者の間に連絡が始まり、磁気健康科学の発展に貢献することを期待している。

静磁場による脾臓由来 IL-10 誘導を用いた認知症発症予防の試み

後藤孔郎*

Koro Gotoh

*大分大学医学部, 〒879-5593 大分県由布市挾間町医大ケ丘 1-1

Faculty of Medicine, Oita University

1-1 Idaigaoka, Yufu city, Oita 879-5593 Japan

Abstract

Obesity decreases one of anti-inflammatory cytokines, IL-10 synthesis from spleen, and this reduction brings chronic systematic inflammation, including brain. In addition, obesity is also a risk factor of Alzheimer's dementia (AD), which is related with chronic inflammation in the brain. On the other hand, the expression of brain-derived neurotrophic factor (BDNF) which is necessary for neuronal maintenance falls in AD patients. In this research, we examine whether a magnetic field reverses obesity-induced reduction of BDNF expression in brain as well as IL-10 synthesis from spleen, and these alterations are useful for preventing the development of AD.

Keywords: IL-10, spleen, Alzheimer's dementia, brain-derived neurotrophic factor, obesity

1. 目的

肥満でもたらされるメタボリックシンドロームは、全身性の軽度慢性炎症が基盤病態である。また最近の研究により、肥満がアルツハイマー型認知症 (AD) の危険因子であるというエビデンスが集積されてきており、さらには神経細胞外のアミロイド β ($A\beta$) の沈着のみならず、ミクログリア細胞 (MG) の活性化とそれに伴う慢性炎症が AD の病態生理に大きく関わるとされている。¹⁾ 一方、脳由来神経栄養因子 (Brain-derived neurotrophic factor; BDNF) は神経細胞の発生や成長、維持、修復など重要な働きをするタンパク質であるが、近年、この BDNF の発現量が AD 患者の脳で減少していることが確認されている。²⁾ これまで我々は、肥満により脾臓由来 Interleukin (IL)-10 の合成能が低下し、この低下が脳内での MG 活性化および脳内炎症の促進をもたらすことを明らかにしている。³⁾

また、小腸の L 細胞から分泌される Glucagon-like peptide-1 (GLP-1) が、肝臓内の門脈周

囲に存在する GLP-1 受容体を介して肝由来求心性迷走神経を活性化させ、さらにその活性が脳内 BDNF 発現の増加をもたらすことを解明している。⁴⁾ 肥満および 2 型糖尿病患者では、血中 GLP-1 濃度が低下していることを考慮すると、肥満により小腸内でも炎症性病変が発症し、この炎症性変化が GLP-1 分泌能の低下を引き起こしている可能性が示唆される。したがって、脾臓由来 IL-10 合成能を高めれば、小腸での炎症性病変が抑制され、GLP-1 分泌能も改善し、それに伴い脳内 BDNF 発現も促進されることで AD 発症予防に有用となると推測される。

本研究の目的は、肥満による脾臓由来 IL-10 の合成能および門脈血 GLP-1 濃度が、AD の病態形成に大きく関与していることを証明することにある。

2. 方法

[1]モデル動物の作製：

雄野性マウス (8 週齢) に通常餌または高脂肪餌を 2 ヶ月摂取させ、通常食群と高脂肪食群に分け

る。各群に A β (0.001mg/日) の持続中枢投与を行う。さらに高脂肪食群を脾臓非摘出 (sham) 群、Sham+磁場慢性暴露群、脾臓摘出 (SPX) 群、SPX+磁場慢性暴露群に分ける。従って、通常食+sham 群 (CNT+sham)、高脂肪食+sham 群 (HF+sham)、高脂肪食+磁場慢性投与群 (CNT+sham+MF)、高脂肪食+SPX 群 (HF+SPX)、高脂肪食+SPX+磁場慢性投与群 (HF+SPX+MF) の 5 群を作製し、さらに 1 ヶ月飼育する。静磁場の慢性暴露については、表面磁束密度 200mT の磁石を飼育ケージに挟み込むことによって、ケージの中央部は平均 30mT の磁力が発生している環境を作製する。このような静磁場を 1 日中暴露しておく。飼育後、以下のような項目を検討する。

[2]脾臓に関する評価：

- a) 脾臓を温存している群に対して、脾臓内の炎症性サイトカインである TNF- α 、抗炎症性サイトカインである IL-10 含有量を測定する。
- b) IL-10 の合成に大きく関与する脾臓内 B 細胞および制御性 T 細胞の発現について検討する。

[3]小腸に関する評価：

- a) 下部小腸および血中での GLP-1 濃度および GLP-1 の不活化酵素である dipeptidyl peptidase-4 (DPP-4) の小腸内発現を検討する。
- b) 小腸内での炎症病態を評価するため、炎症性マクロファージ (M1 マクロファージ) の腸内浸潤を免疫組織学的に検討する。

[4]脳に関する評価：

- a) 脳内の BDNF 発現を測定する。
- b) 認知症の発症には脳内の炎症性変化が大きく関与していることから、脳内の炎症性サイトカインである TNF- α 、抗炎症性サイトカインである IL-10 の測定、BDNF 発現および炎症に関与しているグリア細胞の活性を評価する。
- c) 脳内のアミロイド β (A β)、A β の前駆体である amyloid precursor protein (APP) 含有量を定量する。
- d) 空間認知機能および記憶能の影響に関する評価を、モーリスの水迷路試験を用いて評価する。

3. 結果

肥満による脾臓内での IL-10 発現の低下が、磁場の慢性暴露によって有意に増加した。また、B 細胞の低下も改善した。肥満による小腸内での DPP-4 活性の亢進および GLP-1 発現の低下、小腸

内の炎症が脾臓の摘出により有意に悪化した。脾臓がある場合には、磁場の慢性暴露はそのような変化を改善させたが、脾臓がない場合には改善しなかった。一方、血中 GLP-1 濃度には有意な変化がなかった。さらに、肥満による脳内炎症性変化の亢進や BDNF 発現の低下が、脾臓摘出によってさらに著明に変化した。ところが、脾臓がある場合には、磁場の慢性暴露はそのような変化を改善させたが、脾臓がない場合には改善しなかった。脳内 APP 含有量に関しては、有意な変化がみられなかった。また、空間認知機能については、肥満によるプラットホームまでの到達時間の遅延が脾臓摘出によって悪化した。ところが脾臓がある場合には、磁場の慢性暴露はそのような変化を改善させたが、脾臓がない場合には改善しなかった (図 1)。記憶能についても、肥満によるプラットホーム区画の滞在時間の短縮が脾臓摘出によって悪化した。ところが脾臓がある場合には、磁場の慢性暴露はそのような変化を改善させたが、脾臓がない場合には改善しなかった (図 2)。

4. 考察

以前より、炎症性腸疾患の患者に対して磁場を与えると IL-10 の発現が増加し、病状が改善するといった報告が散見されている。我が国では、リウマチ性疾患といった炎症性疾患に対して磁場が家庭療法として用いられており、磁場には抗炎症性作用を有することが認められている。動物実験においてアジュバント関節炎を作製した後、静磁場に暴露させると炎症性変化が改善することが報告されている。³⁾したがって、静磁場は肥満による脾臓由来 IL-10 の合成低下を改善する可能性が示唆される。また、下部小腸の L 細胞から分泌される GLP-1 を門脈内に投与すると、肝臓からの求心性迷走神経を介して脳内の BDNF 神経が活性化し、さらにこの活性が脾臓への遠心性交感神経を刺激する。この刺激が遠心性交感神経終末末端から BDNF 分泌を促進させることを明らかにしている。⁴⁾

本研究によって、静磁場の抗炎症作用には脾臓由来 IL-10 の合成促進が関与している可能性がある。また、静磁場による脾臓由来 IL-10 合成能の回復が小腸の炎症性変化を改善させ、小腸からの GLP-1 分泌を促進させ、それに伴い脳内 BDNF 発

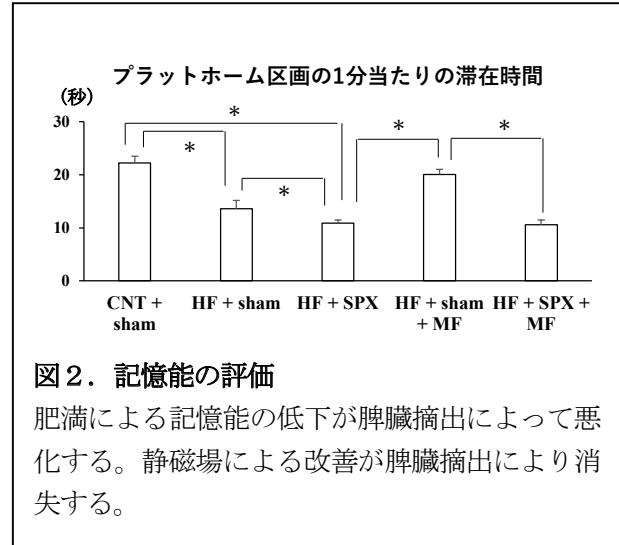
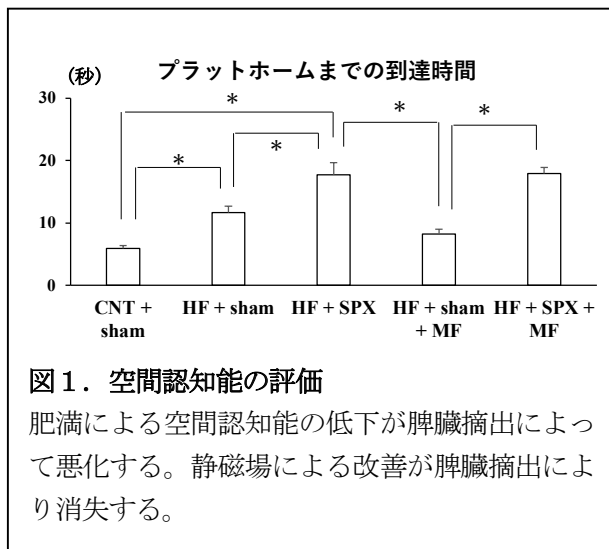
現が増加することが示唆された。したがって、肥満による認知症発症の予防として静磁場の暴露が有効である可能性が推測される。

謝辞

本研究は公益財団法人 渡邊財団からの助成を受けて実施したものである。

参考文献

1. Čater M, et al. A Pathophysiological Intersection of Diabetes and Alzheimer's Disease. **Int J Mol Sci.** 23(19):11562. 2022
2. Banerjee M et al. Emphasizing roles of BDNF promoters and inducers in Alzheimer's disease for improving impaired cognition and memory. **J Basic Clin Physiol Pharmacol.** 34(2):125-136 2021
3. Gotoh K, Iet al. A novel anti-inflammatory role for spleen-derived interleukin-10 in obesity-induced hypothalamic inflammation. **J Neurochem.** 120, 752-764, 2012.
4. Gotoh K, et al. Hypothalamic brain-derived neurotrophic factor regulates glucagon secretion mediated by pancreatic efferent nerves. **J Neuroendocrinol.** 25, 302-311, 2013
5. 谷口典正他. アジュバント関節炎ラットに対する静磁場の影響 **整形外科と災害外科** 49(3) 825-828. 2000



生体内局所電磁場と原子核スピンの相互作用計測と新規現象探索

Measurement of interaction between local electromagnetic field and nuclear spin

島添健次*

Kenji Shimazoe*

*東京大学大学院工学系研究科, 〒113-8656 東京都文京区本郷 7-3-1a

*Graduate School of Engineering, The University of Tokyo

7-3-1 Hongo, Bunkyo-ku, Tokyo 113-8656 Japan

Abstract

MRI and PET/SPECT are both important imaging modality in clinical diagnosis as a morphological imaging and a functional imaging. Both are using the unique characteristics of atomic nuclei, such as nuclear spin and the emitted gamma-ray photon, however, the integration of those devices is limited. In this study, the cascade gamma-ray emitted from atomic nuclei under high magnetic field is investigated for the future integration of magnetic resonance method and nuclear medicine.

Keywords: nuclear spin, magnetic resonance, nuclear medicine, cascade gamma-ray

1. 目的

MRI (Magnetic Resonance Imaging)は原子核スピン(微小磁石・磁気モーメント)のエネルギー分裂差を利用した高精細な医用イメージング手法の一つである。MRI では強磁場の印加によって原子核の状態を変化させる。一方で医用分子イメージング手法として、PET (Positron Emission Tomography)や SPECT (Single Photon Emission Computed Tomography)に代表される核医学技術が存在する。これらの技術は原子核から放出される巨大なエネルギーを利用し分子の位置を高感度に特定する。これらの技術はどちらも原子核・原子核スピンを利用した医用イメージング技術ではあるがこれまでは比較的単純な PET/MRI などの機能イメージングと形態イメージングの融合という観点でのみ利用されてきた。著者らはこれまでの研究において、原子核から放出されるカスケードガンマ線を持ちいることで、原子核の四重極モーメントと外場の相互作用を利用した pH などの化学情報の抽出に成功してきた¹⁾。同様に原子核の磁気双極子モーメントを利用することで MRI

で用いられている強磁場とカスケードガンマ線を用いることで新たなイメージング手法や応用の可能性が考えられる。本研究では磁場を印加した際のカスケードガンマ線の変化の定量化および利用可能性を検討することを目的とした。

2. 方法

2.1 検出手法・材料

本研究では臨床的に用いられている SPECT 核種である $^{111}\text{InCl}_3$ を放射性薬剤として用いた。 ^{111}In は中間状態およそ 85 ナノ秒の時定数を有し、171 keV と 245 keV のガンマ線を連続的に放出するカスケードガンマ線放出核種である(図 1)。

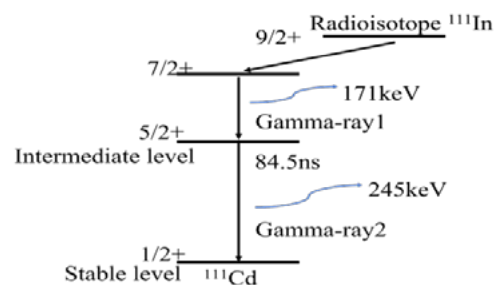


図 1 ^{111}In の崩壊図とカスケードガンマ線放出

171 keV 及び 245 keV のガンマ線の時間的・空間的な相関を計測することで原子核スピンと外場の相互作用を定量化する。ガンマ線放出角度を高精度に計測するガンマ線計測器として GAGG シンチレーターと SiPM の 8×8 アレイを 8 個用いた検出器を用いた。検出器からの信号は 512 チャネルをすべて並列で読出を行う dynamic TOT 回路を用いて、位置、エネルギー、時間をリストモードで記録した。記録したデータからカスケードガンマ線に由来する同時計数イベントを抽出し解析を実施した。

2.2 実験体系

まず、印加磁場に対する ^{111}In 原子核の応答を定量化するため、 $^{111}\text{InCl}_3$ 液体に異なる強度の磁場(0-3T)を印加し、90 度方向および 180 度方向の放出角度を有するガンマ線の強度を計数することでラーモア歳差運動の観測と定量化を行った(図 2)。また位置情報を磁場強度にエンコードしたイメージング手法の原理検証を実施した。

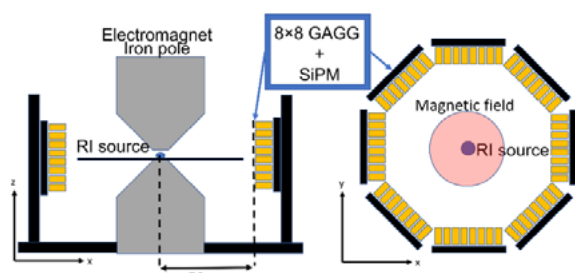


図 2 磁場の印加体系と検出器配置体系。線源を囲むように $8 \times 8 \times 8=512$ チャネルの検出器アレイを配置してある。文献 3)より転載改変

3.結果

図 3 に観測したラーモア歳差運動の例を示す。磁場強度に比例した振動が観測された。

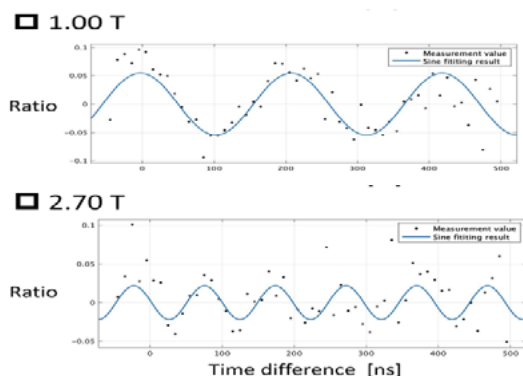


図 3 ガンマ線計測によるラーモア歳差運動の観測 (1 T および 2.7 T の例) 文献 3), 4)より転載改変

図 4 に実験値と過去の文献値の比較を示す。2.34 MHz/T の観測に成功した。また強度分布を持つ磁場印加により位置情報の取得の原理検証に成功した。

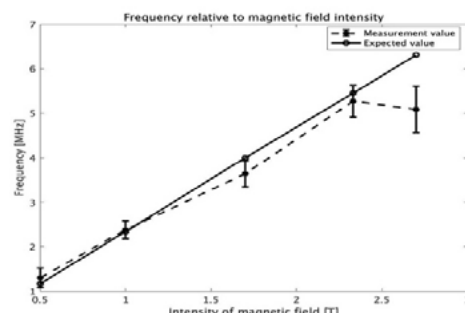


図 4 ガンマ線計測によるラーモア周波数

9. 考察

本研究によりガンマ線の計測から微量の原子核の液体中のラーモア歳差運動を高感度に検出可能であること、得られたラーモア周波数から位置分解が原理的には可能であることが示された。一方で計数の統計精度などの問題から位置分解の高精度化には本手法に適したアルゴリズムが必要であると考えられる。また上記に加えて現在 SPION 等の超常磁性酸化鉄ナノ粒子等を用いた緩和時間の変更などの検討を開始しており今後 MRI 技術と核医学技術の融合がさらに進んで行くと考えられる。

謝辞

この研究は公益財団法人渡邊財団第 28 回磁気研究助成の補助を受けて実施したものである。

参考文献

- 1) Shimazoe, Kenji, Mizuki Uenomachi, and Hiroyuki Takahashi. *Communications Physics* 5.1 (2022): 24.
- 2) Shimazoe, Kenji, et al. "Dynamic time over threshold method." *IEEE Transactions on Nuclear Science* 59.6 (2012): 3213-3217.
- 3) 上木太晟 東京大学修士論文 「摂動角相関を用いた外場環境推定による新たな核医学イメージングに関する研究」 2022 年度
- 4) Ueki, Taisei, et al. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section A: Accelerators, Spectrometers, Detectors and Associated Equipment* 1050 (2023): 168122.

磁気刺激による内耳前庭系を介した反射機能改善の検証

Verification of reflex improvement by the magnetic vestibular stimulation

田中邦彦, 杉浦明弘
Kunihiko Tanaka and Akihiro Sugiura

岐阜医療科学大学 大学院保健医療学研究科
〒501-3892 岐阜県関市市平賀長峰 795-1
Graduate School of Health and Medicine
Gifu University of Medical Science
795-1 Nagamine, Ichihiraga, Seki, Gifu 501-3892 Japan

Abstract

Effects of magnetic vestibular stimulation on posture and arterial pressure control were examined. Center-of-gravity sway on a foam rubber with closed-eyes was measured for 1 minute in eight healthy volunteers. Neodymium magnets (0.4 T) or an aluminum disks (0 T) were attached behind the auricle during measurement. The trajectory length and the envelopment area of sway were significantly smaller when magnetically stimulated at 0.4T. The integrated values of 0.1-1Hz with 0.4T were significantly smaller on both the X-axis and the Y-axis. Arterial pressure control in six subjects were significantly augmented with 0.4T stimulation. Thus, magnetic vestibular stimulation increases vestibular-related motor and arterial pressure control function.

Keywords: gravity, posture, equilibrium system, orthostatic hypotension, vestibulo-arterial pressure reflex

1. 目的

内耳前庭系は姿勢の変化を感知し、反射的に眼球や下肢の筋肉の収縮度を変化させて姿勢を維持しようとする。ここから中枢神経系に情報を伝達する前庭神経に強い電気刺激を加えると、動揺感が引き起こされ、身体の重心動揺が大きくなる¹⁾。その一方で、微弱な電気刺激を加えると、動揺が抑制される即ち姿勢調節機能が改善されるという報告がある²⁾。これらの反応は「ノイズ」が大きければ本来の刺激をマスクしてしまい反応性が低下するが、微弱な刺激を加えると反応性がより高くなるという「確率共振」現象に矛盾しない。

これまでに我々は、内耳前庭系が、運動神経・

筋系を介した姿勢調節のみならず、自律神経を介した起立直後の血圧調節に重要な役割を果たしていることを示してきた^{3,4)}。仰臥位から立位に姿勢を変化させた際、身体にかかる重力は、その短軸方向から長軸方向へと変化する。足方向に向かって血管内の静水圧内は高くなり、下半身に血液が貯留し、血圧が低下してしまう。このとき、内耳前庭系が姿勢変化を感知し、反射的に血管収縮させることで、この血圧低下を予防している。上記同様、強い電気刺激を前庭神経に与えると姿勢変化が適切に感知できず、起立直後の血圧が低下するが、微弱な電気刺激を与えると、この前庭-血圧反射が増強され、血圧低下が認められないか、あるいはより上昇する現象が見られる⁴⁾。

医療機関では様々な画像診断装置を用いて検査を行う。そのひとつである、磁気共鳴画像診断装置 (Magnetic Resonance Imaging; 以下MRI)は強い磁場と電磁波によって体内を画像化する。このMRI検査を行う際、特に頭部MRI検査を行う際、往々にして患者がめまい、吐き気などいわゆる「磁場酔い」を訴えることがある。この現象は撮影を行わなくても眼振が記録されることから、磁場が変化していない静磁場においても引き起こされると考えられる⁵⁾。

電気刺激によって観察される現象と考え合わせると、強い磁気刺激で平衡感覚が乱されるのであれば、微弱な磁気刺激ではその感度および、それを介した調節能は、より高くなるのではないかと考えた。そこで今回、現行のMRIの磁場よりも比較的低い磁気刺激が、内耳前庭系を介した姿勢調節、血圧調節に与える影響を検討した。

2. 方法

計測はすべて岐阜医療科学大学倫理委員会の承認のもと、書面による同意を得たうえで行った。

- 重心動揺

健康ボランティア 8 名に対して行った。閉眼、閉足位でフォームラバーを設置した重心軌跡測定装置 (TKK5810, 竹井機器) を用いて重心動揺を 1 分間測定した。測定時にはネオジウム磁石 (直径 1.2 cm, 0.4T) もしくはアルミ板 (直径 1.2 cm, 0T) を耳介後部に貼付した。測定結果から単位時間あたりの重心動揺軌跡長、動揺の外周面積、左右 (X 軸) 方向と前後 (Y 軸) 方向の重心動揺軌跡を周波数解析し、耳石器が強く関与しているといわれる 0.1–1Hz 領域を積分した。得られた結果を 0.4T と 0T で比較した。

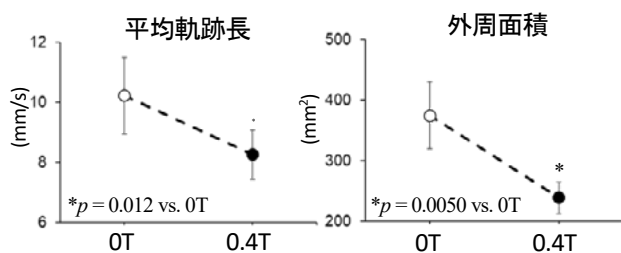


図 1: 磁気刺激による重心動揺変化

- 起立時血圧変化

健康ボランティア 6 名に対して行った。上記同様ネオジウム磁石 (0.4T)あるいはアルミ板 (0T)を貼付した状態で、連続血圧 (Human NIBP, AD Instruments)を計測しつつ、仰臥位から 60° 頭高位 (立位) に姿勢を変化させた。仰臥位と姿勢変化直後 10–15 秒間の平均血圧の差を解析した。

3. 結果

図 1 に重心動揺試験の結果を示す。平均軌跡長 (左)、重心軌跡の外周面積 (右) のいずれも 0.4T で磁気刺激したときの方が有意に小さかった。さらに、周波数解析においては、X 軸、Y 軸のいずれにおいても、領域の積分値が有意に小さかった。

図 2 に起立時の平均血圧変化を示す。0T の場合には起立時の血圧は変化しないが、0.4T の磁器刺激を行った際には、有意に増加した。

4. 考察

本研究では重心動揺計測時にラバーマットで体性感覚を攪乱し、閉眼にて視覚情報を遮断しているため、重心動揺軌跡の短縮、外周面積の縮小は、磁気刺激が内耳前庭系由来の姿勢調節機能が改善したと考えられる。X 軸・Y 軸とも 0.1–1Hz 領域の動揺が減少したことは、これを裏付ける。また、仰臥位から起立した際には内耳前庭系が姿勢変化を感知し、血圧を積極的に上昇させている。血液の足方シフトによる血圧低下を予防するためであるが、この上昇効果が磁気刺激によって増大することが示された。今後は起立性低血圧あるいは前庭機能低下をきたした患者、高齢者等で検証したい。

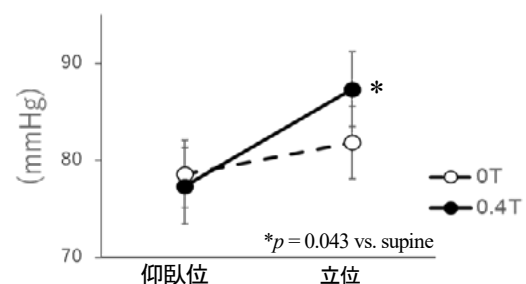


図 2: 磁気刺激による起立時平均血圧変化

謝辞

この研究は公益財団法人 渡邊財団磁気研究助成事業第3回岡井治特別研究助成の補助を受けて実施したものである。

本論文の内容は令和4年11月24日に東京で開催された『第68回日本宇宙航空環境医学会大会』ならびに令和5年3月15日に京都で開催された『第100回日本生理学会大会』で報告した。

参考文献

- 1) Fitzpatrick, R. C. et al: J Appl Physiol 96 2301-2316 (2004).
- 2) Iwasaki S. et al: Neurology 82 969-975 (2014).
- 3) Tanaka K. et al. Autonomic Neuroscience 148 90-96 (2009).
- 4) Tanaka K. et al. Autonomic Neuroscience 166 66-71 (2012).
- 5) Ward, B.K. et al: Frontiers in Neurology 8 122 (2017).

磁気刺激を用いた神経回路創出法の確立を目指して

Toward the development of technology to create novel neuronal circuits
using magnetic stimulation

正水 芳人

Yoshito Masamizu

同志社大学大学院脳科学研究科，〒610 - 0394 京都府京田辺市多々羅都谷 1-3

Graduate School of Brain Science, Doshisha University

1-3 Tatara Miyakodani, Kyotanabe-shi, Kyoto 610-0394 Japan

Abstract

In this project, I aim to develop the technology to create new neuronal circuits in the damaged brains to recover brain functions. In the future, I will implant neurons into the damaged brain, and plasticity will be induced by magnetic stimulation at specific times to create neuronal circuits with specific brain functions. In this research, I established a system in which the coils were installed on a head-fixed device needed to perform *in vivo* calcium imaging.

Keywords: magnetic stimulation

1. 目的

脳障害の対処法として，本研究では神経細胞を脳に移植することによる脳機能の回復を目指す。ただし脳に神経細胞を移植するだけでは特定の脳機能を持つ神経回路の再建は期待できない。このため本研究ではげっ歯類を対象とし，障害がある脳に神経回路を創出し，脳機能を回復させるための基盤技術の開発を目指す。具体的には，神経細胞を脳に移植し，かつ特定のタイミングで磁気刺激を行い可塑性を誘導し，特定の脳機能を持つ神経回路を創出することによって，脳機能を回復させる。さらに神経生理学的手法を用いて，*in vivo* カルシウムイメージングで，脳活動を計測し，脳機能回復過程における活動変化を解明することを目指す。

2. 方法

蛍光カルシウムセンサーは，cpEGFP (circularly permuted enhanced green fluorescent protein)，カルモジュリン，ミオシン

のカルモジュリン結合部位 M13 からなる。カルシウムイオンがカルモジュリンと結合すると，カルモジュリンは M13 と結合できるようになり，立体構造が変化し，励起光によって緑色の蛍光を発する^[1]。神経細胞が興奮する際には，細胞内のカルシウムイオン濃度が上昇するため，蛍光カルシウムセンサーを神経細胞に遺伝子発現させることによって，神経活動の可視化ができる。なお観察部位のガラス窓を工夫すること^[2]によって，長期間，多細胞で同一の神経細胞の活動を観察（図 1）することが可能である。

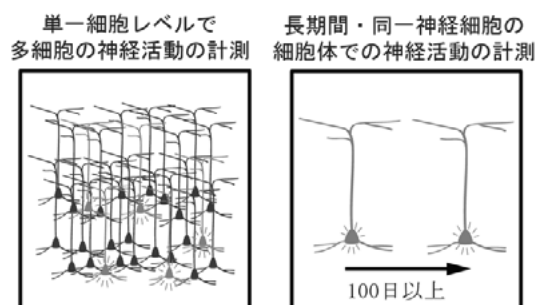


図 1 *in vivo* カルシウムイメージングの特徴

顕微鏡下で*in vivo*カルシウムイメージングを行うためには、頭部固定状態で課題をおこなわせる必要がある (図2) [3].

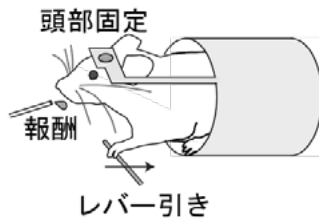


図2 頭部固定状態で行うレバー引き課題

3. 結果

実験方法に記載の *in vivo*カルシウムイメージングを行うことが可能な頭部固定装置にコイルを設置する系を確立し、赤色LED光源で磁気刺激が可能かどうかを検討した (図3).



図3 頭部固定装置に取り付けた磁気刺激装置

この磁気刺激装置は、TTL トリガーによる制御可能なファンクションジェネレーターからなるパルス送信部、コイル送電用の外部電源に接続されたパルス受信部、および磁気刺激のためのコイル部から構成されている。このため、この小型コイルに特定の周波数、および特定のタイミングで大容量の電流を流すことで、様々な磁気刺激が可能となった。

4. 考察

今後、本研究で開発した磁気刺激装置を用いて刺激中に*in vivo*カルシウムイメージングを行うことによって、脳活動の制御が可能であるかどうかを検討する。さらに神経細胞を脳に移植し、かつ特定のタイミングで磁気刺激を行い可塑性を誘導し、特定の脳機能を持つ神経回路を創出することによって、脳機能を回復させることを目指す。

謝辞

この研究は渡邊財団の補助を受けて実施したものである。

参考文献

- [1] Chen TW, Wardill TJ, Sun Y, Pulver SR, Renninger SL, Baohan A, Schreiter ER, Kerr RA, Orger MB, Jayaraman V, Looger LL, Svoboda K, Kim DS. Ultrasensitive fluorescent proteins for imaging neuronal activity. *Nature*, 2013;499(7458):295-300.
- [2] Sadakane O[#], Masamizu Y[#], Watakabe A[#], Terada S[#], Ohtsuka M, Takaji M, Mizukami H, Ozawa K, Kawasaki H, Matsuzaki M, Yamamori T. ([#] Co-first authors) Long-term two-photon calcium imaging of neuronal populations with subcellular resolution in adult non-human primates. *Cell Reports*, 2015;13(9):1989-99.
- [3] Masamizu Y[#], Tanaka YR[#], Tanaka YH, Hira R, Ohkubo F, Kitamura K, Isomura Y, Okada T, Matsuzaki M. ([#] Co-first authors) Two distinct layer-specific dynamics of cortical ensembles during learning of a motor task. *Nature Neuroscience*, 2014;17(7):987-94.

がん温熱療法と診断を目指した磁気ナノ微粒子の創製

Development of Magnetic Nanoparticles for Cancer Thermal Therapy and Diagnostics

一柳優子*
Yuko Ichiyanagi*

*横浜国立大学大学院・工学研究院, 〒240-8501 神奈川県横浜市保土ヶ谷区常盤台 79-5

*Graduate School of Scientific Engineering, Yokohama National University
79-5 Tokiwadai, Hodogaya-ku, Yokohama 204-8501 Japan

Abstract

Recently magnetic nanoparticles are drawn attention, not only in physical properties but in the field of life science. Magnetic materials accumulate heat in response to external magnetic fields. This feature is useful for thermal therapy. They can also be used for diagnostic imaging. In addition, the nm size is large enough to be introduced into cells. In this proposal, magnetic particles are integrated with medicine to create a new science and technology.

Keywords: magnetic nanoparticles, hyperthermia, diagnostics

1. 目的

物性研究で扱われる nm スケールの磁気微粒子は、近年、高密度記録媒体や各種磁性材料のみならず、ライフサイエンスの分野でも注目を集めてきた。これからは、物理学的手法を用いて医学と融合させ、新しい科学技術の発展に貢献していきたい。ナノサイズであれば十分細胞に入る大きさである。一方で磁性体は外部磁場を印加することで、熱を蓄積する。そこで、がん細胞に特異的に導入される磁気微粒子を作製し、その上で外から磁場をかけて発熱させれば、物理エネルギーを利用したがん温熱療法、磁気ハイパーサーミアが可能になるであろう。本研究では、外部磁場で発熱するナノサイズの磁気微粒子を作製し、がん細胞に選択的に導入される工夫をするとともに、診断としての機能も持つ微粒子を開発することを目的とする。

ナノサイズの磁気微粒子の発熱は磁気緩和によるもので、磁気モーメントの回転に起因する Néel 緩和と、粒子自体の回転に起因する Brown

緩和がある。磁気ハイパーサーミア用の発熱媒体としては、周囲の環境に影響されずに緩和できる、Néel 緩和による発熱が有効であると考えている。我々はこれまでに SiO_2 で包含された磁気クラスターを用いて、ヒト乳がん細胞、前立腺がん細胞における *in vitro* 実験で、磁気ハイパーサーミア効果を確認した。^{1,2)} 今回は生体適合性の高い PEG (Polyethylene Glycol) で修飾することを試みた。

2. 方法

2-1. 種々の磁気微粒子の作製と同定

独自の湿式混合法を用いて様々な組成、粒径の磁気微粒子を作製した。例としてニッケルフェライト(NiFe_2O_4)微粒子の作製方法を示す。PEG(400あるいは2000)の溶液中に金属塩化物 $\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, それぞれの水溶液と NaOH を混合させ、洗浄と乾燥したのち電気炉で焼成する。粒径は PEG に加える水の量で調整した。得られた粒子は X 線粉末解析(XRD), 電子顕微鏡(TEM), X 線微細構造(XAFS), 蛍光 X 線(XRF), 赤外線吸収

分光(FT-IR)などで同定した。

2-2.磁化測定と交流磁場中の昇温測定

SQUID 磁束計により、直流磁化および交流磁化を測定した。昇温測定は交流磁場を発生する装置を作製し、コイル内にガラス管に詰めた試料を設置して、コイルを冷却しながら光ファイバー温度計で昇温を測定した。

2-3.ヒト乳がん細胞を用いた in vitro 温熱実験

ヒト乳がん細胞 MBA-MD-231 をディッシュに培養し、微粒子を撒布して 30 分間交流磁場 ($f = 45.8 \text{ kHz}$, $h = 8.8 \text{ Oe}$)を印加し、その後はがした細胞を染色して生・死細胞数をカウントした。

2-4. MRI 用ファントム作製と MR 効果測定

アガロースに粒子を分散させ、ファントム試料を作製し、スピンエコーシーケンスにて T_2 緩和を測定した。

3.結果と考察

交流磁化率虚数部 χ'' は、体温付近の 310 K で 17 nm の粒子がピークを持つため発熱が期待でき、実際に温度上昇も他の粒径より格段に高く、がん

細胞を死滅させるのに可能な温度、42.5℃に達した(Fig.1)。³⁾ヒト乳がん細胞を用いた in vitro 実験の結果を Fig.2 に示す。1.がコントロール、2.が磁場のみ印加したもの、3.がハイパーサーミアによる、がん細胞の生存率である。非常に小さい磁場で 30 分のみ印加にもかかわらず、30% 以上の死滅が確認できた。粒子の毒性については生体

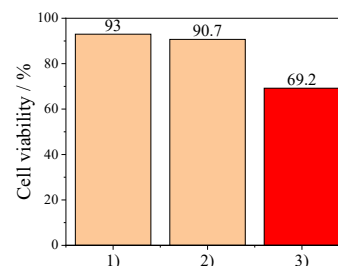


Fig.2 ヒト乳がん細胞 MBA-MD-231 のハイパーサーミア実験結果。1) Control, 2) 磁場印加のみ, 3) ハイパーサーミア

適合性評価をしており、粒子のみでは毒性が無いこと、PEG を修飾すると、さらに生体適合性が向上することも確認している。MR 測定では、Mn-ferrite 系で優位な T_2 短縮効果が得られ、診断用の材料としても期待できる。

4. 学会・シンポジウム報告

本論文の内容の一部は 2022 年 12 月 7 日に徳島大学で開催された、International Symposium on Nanomedicine2022, 2023 年 3 月 17 日に上智大学・ハイブリッドで開催された『第 70 回応用物理学会春季学術講演会』で報告したものである。

謝辞

この研究は渡邊財団第 28 回磁気研究助成の補助を受けて実施したものである。

参考文献

- 1) T. Kondo, Y. Ichiyanagi et al., J. Appl. Phys. 117 17D157 (2015).
- 2) Harutaka Mekar, Yuko Ichiyanagi and Fuyuhiko Tamanoi, Cell-inspired materials and engineering, Magnetic nanoparticles and alternating magnetic field for cancer therapy, Springer (2021)p.165-179.
- 3) K. Ohara, T. Moriwaki, K. Nakazawa, T. Sakamoto, K. Nii, M. Abe and Y. Ichiyanagi, AIP Advances 13 025238 1-5 (2023).

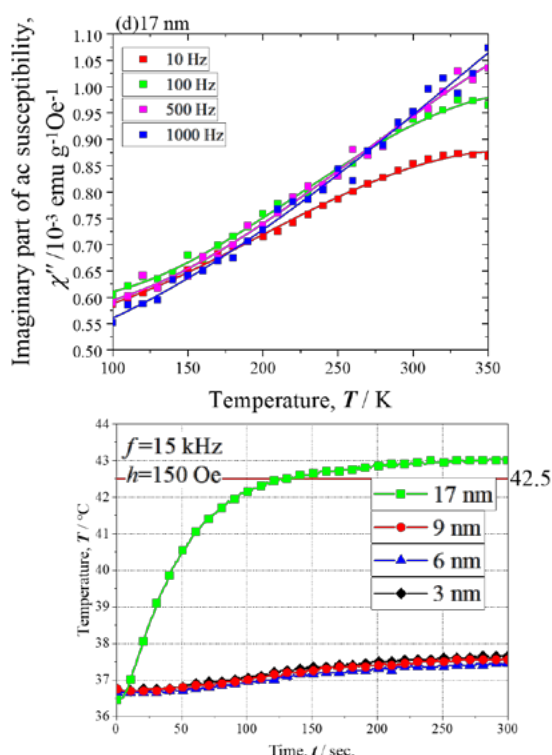


Fig.1 粒径が 17 nm の 10-1 kHz における交流磁化率虚数部 χ'' (上) と 3-17 nm の粒子の交流磁場中での発熱特性 (下)。

反復経頭蓋磁気刺激併用認知リハビリテーションによる

認知機能改善効果の検証

Verification of cognitive improvement by cognitive rehabilitation combined with repetitive transcranial magnetic stimulation

高倉朋和^{*,**}

Tomokazu Takakura

*順天堂大学大学院医学研究科リハビリテーション医学，〒113-8421 東京都文京区本郷 2-1-1

**順天堂東京江東高齢者医療センター，〒136-0075 東京都江東区新砂 3 丁目 3-20

*Department of Rehabilitation Medicine, Juntendo University Graduate School of Medicine
2-1-1 Hongo, Bunkyo-ku, Tokyo 113-8421 Japan

**Department of Rehabilitation Medicine, Juntendo Tokyo Koto Geriatric Medical Center
3-3-20 Shinsuna, Koto-ku, Tokyo 136-0075 Japan

Abstract

Repetitive transcranial magnetic stimulation (rTMS), a non-invasive brain stimulation (NIBS) method, is expected as a non-drug therapy for preventing the progression of dementia. Although there is still no unified consensus on the stimulation site and stimulation method, there are many reports using high-frequency stimulation (HF-rTMS) for the left dorsolateral prefrontal cortex (Lt.DLPFC), similar to depression treatment. Recently, there are also research reports using intermittent theta burst stimulation (iTBS). Concomitant use of cognitive function training (rTMS-Cog therapy) is also considered to be useful for improving cognitive functions in daily life. We plan to continue research on rTMS treatment aimed at improving cognitive and memory functions.

Keywords: transcranial magnetic stimulation, cognitive rehabilitation

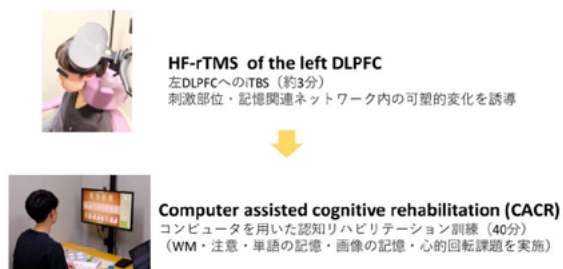
1. はじめに

2012 年の全国認知症有病率調査結果から，認知症患者数は 2025 年に 700 万人に達すると予測される．認知症予備軍である軽度認知障害 (mild cognitive impairment, MCI) は 400 万人程度でこのうち 10-30% が認知症に進行すると予測される．MCI の段階からの進行予防が重要である．非侵襲的脳刺激法 (non-invasive brain stimulation, NIBS) である反復経頭蓋磁気刺激 (repetitive transcranial magnetic stimulation, rTMS) は，刺激部位とその関連するネットワークの可塑性を非侵襲的に変調させることができうつ病，疼痛，脳卒中後運動障害

など多岐にわたる精神・神経疾患に対し研究が進められてきた．近年 rTMS はアルツハイマー病 (AD) をはじめとする認知症疾患・MCI に対し，症状進行予防のための非薬物療法として期待されている．本研究では rTMS + コンピュータ機器を用いた認知リハビリテーション (computer assisted cognitive rehabilitation, CACR) 併用による短期集中認知リハビリテーション治療の効果

を検証し、今後の臨床応用可能性を検証するものである。

2. 方法



無作為化並行群間比較(RCT), 60 歳から 80 歳までの MCI 患者を対象に A 群(15 名) : iTBS 刺激もしくは B 群 (15 名) : シャム刺激の rTMS 実施後 CACR (40 分間) を週に 3 回・2 週間実施する。(図)

介入前, 介入終了時, 介入終了後 2W に, MOCA-J, 数唱(順唱スパン数), 空間性 WM, 言語性 WM (RST スパン得点), 語流暢性, TMS による電気生理学的検査 (RMT, SAI (ISI 21-25grand mean)を行い, 群内・群間比較を行う。

3. 結果

特定臨床研究として研究実施準備を進め 2022 年度より本研究を開始している。COVID-19 第 7 波 (2022 年 7 月～), 第 8 波 (2022 年 10 月～) の全国的感染拡大に伴い当該医療機関における臨床研究活動に制約を生じたため, 研究進捗に遅れを生じた。2023 年 3 月末時点で COVID-19 流行は収束に向かっており, 2023 年度以降も本研究を引き続き継続し効果を検証してゆく予定である。

4. 考察

認知症および MCI に対する rTMS 治療は, これまでのところ①標準的的刺激方法 (刺激強度, 周波数, 刺激時間), ②至適刺激部位についてコンセンサスは得られておらず, 実用化に向けさらなるエビデンス蓄積が必要といえる。認知機能改善に向けた研究には rTMS 単独による研究と, rTMS と認知機能訓練を併用した研究(rTMS-Cog therapy)が

ある。また単独部位刺激 (single-site rTMS)と多部位刺激 (multi-site rTMS)による研究に大別される。Di Lazzaro らは AD・MCI を対象とし 2020 年までに行われた RCT について systematic review を行っている。この報告によると, 刺激部位・頻度として左背外側前頭前野 (DLPFC) への高頻度刺激が最も多く, このほかに両側 DLPFC への高頻度刺激, 右 DLPFC への高頻度刺激, 右 DLPFC への低頻度刺激, 両側 DLPFC に加え Broca 野・Wernicke 野・両側下頭頂小葉など多部位への高頻度刺激, 楔前部への高頻度刺激が報告されている。近年, 認知機能改善を目的とし間欠的 θ バースト刺激 (iTBS)を用いた報告も増えてきている。 θ バースト刺激(Theta burst stimulation, TBS)とは, 50Hz 間隔の 3 連発刺激を 5Hz で繰り返すパターン刺激であり, 間欠的に 2 秒間連続刺激・8 秒間休止を行い 600 発のパターン刺激を行うものは intermittent TBS(iTBS)と呼ばれる。iTBS は従来の高頻度刺激法に比べ短時間で効率的に皮質可塑性変化が得られることが知られ, 上肢一次運動野への iTBS 刺激の場合では, 刺激後 30 分にわたり皮質脊髓路興奮性が增強することが知られる。MCI から軽度・中等度の AD を対象に行われた研究では, 認知トレーニング実施前に左 DLPFC へ HF-rTMS を実施(add-on)することによるトレーニング促進効果が報告されている。rTMS によるニューロモジュレーション効果を, 日常の「物忘れ」予防へと汎化させるためには rTMS 後に実施する認知リハビリテーション訓練が重要と考えている。CACR は, ゲーム感覚で楽しく・繰り返し課題に取り組むことが可能であり, 被験者の課題達成状況に応じて難易度を調整することも可能である。CACR を通じて, 被験者自身により自分の記憶能力を定量的・客観的に観察する機会ともなり, 認知症進行予防に向けたメタ認知獲得の一助にもなると期待される。

謝辞

本研究をご支援くださいました渡邊財団関係者各位に深謝申し上げます。

参考文献

- 1) Di Lazzaro V, et al. Diagnostic contribution and therapeutic perspectives of transcranial

magnetic stimulation in dementia. Clin Neurophysiol. 2021;132(10):2568-607

- 2) Bagattini C, et al. Enhancing cognitive training effects in Alzheimer's disease: rTMS as an add-on treatment. Brain Stimul. 2020;13(6):1655-64.

超小型ナノカプセル ^{19}F MRI 造影剤の開発

菱島維文* **

*大阪大学大学院工学研究科, 〒565-0871 大阪府吹田市山田丘 2-1

**JST さきがけ, 〒565-0871 大阪府吹田市山田丘 2-1

Abstract

磁気共鳴画像法 (MRI) は深部組織において高い空間分解能で分子イメージングを行うための強力なツールである. 特に ^{19}F MRI は, 内在性の生体分子に由来するバックグラウンドシグナルなしに ^{19}F 含有造影剤を可視化できる有望なツールである. 我々は MRI 造影剤としてパーフルオロカーボンを含むシリカナノカプセルを開発しているが, ナノ粒子の生体内分布はサイズ, 材料, 表面修飾状態に依存する. そこで本研究では粒子径を小さくした超小型シリカナノカプセルの開発を行った. 従来の 1/3 程度の直径 30 nm のナノカプセルを調製し, 生きたマウスで生体内分布を可視化した.

キーワード: MRI, ^{19}F MRI, シリカナノカプセル

1. 目的

核磁気共鳴画像法 (MRI) は核磁気共鳴 (NMR) の原理に基づいた画像化法で生体深部の観測可能な核種を画像化する. 代表的なものに水由来のプロトン (^1H) を画像化する ^1H MRI が挙げられ, 局所におけるプロトン密度, 緩和時間の差をコントラストとして画像化し, 診断に使われている. また, 外部から投与する造影剤によってコントラストの差を上昇させることが可能であり, 例として常磁性の Gd^{3+} 錯体や超強磁性の酸化鉄ナノ粒子などが報告されている (引用 1). しかしながら, ^1H MRI では生体内に豊富に存在する水分子由来のシグナルと共に観測されるため, 造影剤由来のシグナルの見分けがつかない場合がある.

一方で, 近年観測核種としてフッ素 (^{19}F) を利用した ^{19}F MRI が注目されている. ^{19}F は高い MRI 感度を示し, 生体内にバックグラウンドシグナルが存在しないことから, ^{19}F を含む化合物を造影剤として投与することで, 造影剤由来のシグナルがコントラスト良く観察される (引用 2). われわれのグループでは分子内に ^{19}F を多く含む液体状のパーフルオロカーボンを内包し, シリカ (SiO_2) で外側を被覆したナノカプセルを開発しており,

^{19}F MRI 造影剤としての応用を進めている (引用 3). このナノカプセルは高い感度を示し, 生体内で ^{19}F MRI シグナルが観測された. しかしながら, 標的組織への送達効率の低さや組織への長期間の残留といった課題も見られていた. ナノ粒子の体内動態はサイズに依存することが知られているため (引用 4), 本研究では粒子サイズのより小さなナノカプセル型 ^{19}F MRI 造影剤の開発とその体内動態の評価を行うことを目的とした.

2. 方法

ナノカプセルは Perfluoro-15-crown-5-ether (PFCE) を含むパーフルオロカーボン相, カチオン性界面活性剤を含む水相, シリカ重合の原料となるテトラエトキシシラン (TEOS) を含む有機相の三相からなる溶液を攪拌混合して得た. 粒子サイズは動的光散乱法 (DLS), および透過型電子顕微鏡 (TEM) による観察像から測定した. ナノカプセルに内包されたフッ素化合物 (PFCE) について ^{19}F NMR により測定した. また, ^{19}F MRI を用いて, マウスに投与後のナノカプセルの動態を観察した.

3. 結果

2. で示した三相を混合攪拌する手法によってシ

リナノカプセルを得た。サイズを DLS および TEM 観察像で確認したところ、サイズが 100-150 nm 程度の分布のナノカプセルと共に 30-50 nm 程度の分布のナノカプセルが得られた。サイズが小さいナノカプセルを分離精製するため、遠心分離操作により大きいサイズのカプセルを沈殿させ、上清を分離することで小さいサイズのナノカプセルのみを回収することができた。透析後のナノカプセルを TEM で観察すると平均径は 30 nm 程度となっていた(図 1)。また、シリカ層が外側に、PFC 層が内側にあるコア-シェル型の構造をしていることも確認できた。水溶液中に分散させたナノカプセルを ^{19}F NMR で測定すると、内包されている PFCE の化学シフト領域に鋭いピークが観察された。ピークがブロードせず見られたことから、液体状の PFCE が流動性を維持した状態でカプセルへと内包されていることが確認された。また、シリカ重合の材料を検討することで、表面にカチオン性、アニオン性の官能基が導入されたナノカプセルを得ることに成功した。

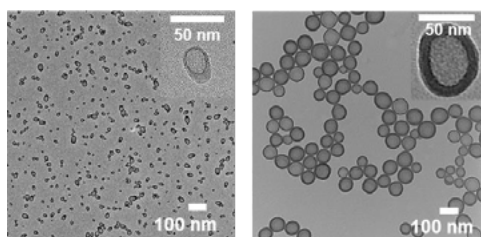


図 1. (左) 作製したナノカプセル (右) 従来の作製法によるナノカプセルの TEM 像

ナノカプセルを ^{19}F MRI で画像化できるか検討したところ、粒子濃度依存的な ^{19}F MRI シグナルが観測された。また、ナノカプセルの体内動態の評価のためマウスに静脈注射でナノカプセルを投与し、投与直後と 3 日後のマウスを ^{19}F MRI により撮像した。投与直後のマウスからは肝臓から ^{19}F MRI シグナルが検出された一方で、投与 3 日後のマウスからはシグナルが観察されなかった(図 2)。

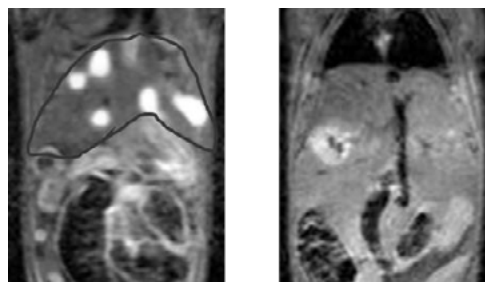


図 2. (左) 投与直後のマウス (右) 投与 3 日後のマウスの ^{19}F MRI 画像。左図の囲いは肝臓を示す。

4. 考察

今回開発した超小型ナノカプセルは従来の方法で作製したナノカプセルと比べてサイズがおよそ 3 分の 1 と小さくなった。これは、シリカ重合のプロセスとナノエマルジョン形成のプロセスを同時に行うことにより、エマルジョン形成直後にサイズの肥大化を伴うことなく表面へのシリカ重合が進行できたためと考えられる。マウスへの体内動態に関しては日数経過によりナノカプセル由来の ^{19}F MRI シグナルが減衰していた。従来のサイズのナノカプセルでは数日後の段階では体内からの ^{19}F MRI シグナルはほとんど減衰せず見られていたことから、本結果は興味深い。サイズの小さなナノカプセルは体内からの排出が速く起こったのではないかと示唆される。

今後はがん組織移行性を評価するための担癌マウスでの評価、ならびに表面修飾が及ぼす影響について MRI による評価を引き続き進めていく予定である。

本論文の一部の内容は 11 月 29 日に神戸で開催された『第 10 回アジア生物無機化学国際会議 (AsBIC10)』で報告したものである。

謝辞

この研究は渡邊財団の補助を受けて実施したものである。

参考文献

- 1) Wahsner Jessica, *et al. Chem. Rev.* 119, 957 (2018).
- 2) Tirota Ilaria, *et al. Chem. Rev.* 115, 1106 (2015).
- 3) Hisashi Matsushita, *et al. Angew. Chem. Int. Ed.* 53, 1008 (2014).
- 4) Yu Matsumoto, *et al. Nat. Nanotechnol.* 11, 533 (2016).

上肢の局所性ジストニアに対する装着型器機を用いた磁気刺激治療

Magnetic stimulation therapy by a wearable device for focal dystonia of the upper extremity

藤村健太*, 加賀谷齊**

Kenta Fujimura*, Hitoshi Kagaya**

*藤田医科大学保健衛生学部リハビリテーション学科,

〒470-1192 愛知県豊明市杣掛町田楽が窪 1-98

**国立研究開発法人 国立長寿医療研究センターリハビリテーション科部,

〒474-8511 愛知県大府市森岡町 7-430

*Faculty of Rehabilitation, School of Health Sciences, Fujita Health University

1-98 Dengakugakubo, Kutsukake, Toyoake, Aichi 470-1192 Japan

** Department of Rehabilitation Medicine, National Center for Geriatrics and Gerontology,

Obu, 7-430 Morioka, Obu, Aichi 474-8511 Japan

Abstract

The purpose of this study was to determine the feasibility of using a wearable magnetic stimulator machine in conjunction with conventional rehabilitation and to evaluate the effect of magnetic stimulation below motor and sensory thresholds for focal dystonia of the upper extremity. Ten patients with stroke hemiplegia and one patient with focal dystonia of the upper extremity were included in the study. The results showed that the wearable device did not interfere with conventional rehabilitation and the feel and fit of the device were good. In addition, magnetic stimulation reduced symptoms of dystonia and improved the accuracy of writing ability. The effect may be sustained after 3 months of intervention.

Keywords: focal dystonia, wearable magnetic stimulator, writer's cramp

1. はじめに

ジストニアは運動障害の一つであり、骨格筋の持続のやや長い収縮、もしくは間欠的な筋収縮に特徴づけられる異常な運動である。ジストニアがあると随意運動の遂行が様々に妨げられ、日常生活に困難を生じさせる。局所に生じるジストニアを局所性ジストニアといい、人口 10 万人あたり 3～38 人と報告されている。¹⁾ 上肢の局所性ジストニアとしては、書痙 (writer's cramp)、奏楽手痙 (musician's dystonia)、スポーツによるジストニアなどが有名である。書痙などの主な治療法としてはボツリヌス療法が治療の第一選択とされているが本邦では保険適応がない。さらにボツリヌス

療法を用いた上肢の局所性ジストニアに対する治療は治療手技の困難さや筋脱力などの副作用のため、広範には行われていない。また、抗コリン薬、抗てんかん薬などの薬物療法の効果も乏しく、高いエビデンスもない。一方、経皮的電気刺激 (transcutaneous electrical nerve stimulation; TENS) を用いた上肢筋への運動閾値未満の電気刺激が書痙の改善に有効であったとの報告がある。²⁾ しかし TENS を使用するには電極を皮膚に貼付する手間がかかることや刺激中にピリピリするような疼痛や不快感が生じやすく、患者の受け入れが必ずしも良好ではない。

近年、電気刺激と同様の機序で筋や神経を刺激

可能な磁気刺激の臨床応用が注目されている。磁気刺激は電極貼付の必要がなく、衣服の上からでも刺激可能であり、臨床で使用しやすい。また皮膚に存在する侵害受容器を刺激しないため、電気刺激における感覚閾値以上の刺激でも磁気刺激では一定の範囲で感覚閾値未満になり、不快感なく刺激することが可能である。一方、磁気刺激に用いるコイルは一般に大きくて重いという欠点があるが、前述のように TENS で用いる電気刺激強度は運動閾値未満であり小型の磁気刺激器機が適用できる可能性がある。そこで、われわれは刺激強度を弱くした磁石を利用した小型軽量の装着型磁気刺激器機を開発した（特許申請中）（図 1）。本器機は 7.9×7.7 cm, 重量 107.5g, バッテリー・永久磁石内蔵で上肢に装着可能である。周波数 150Hz, 磁束密度 0.2T であり、運動閾値未満かつ感覚閾値未満の磁気刺激ができるため、書痙を含む上肢の局所性ジストニアの治療に有効な可能性がある。

本研究では装着型磁気刺激器機を通常リハビリテーションに併用することの実現可能性（feasibility）と、運動閾値未満かつ感覚閾値未満の磁気刺激が書痙を含む上肢の局所性ジストニアの治療への有効性を検討した。



図 1. 装着型磁気刺激器機（IFG 社）

2. 方法

本研究は特定臨床研究として認可を受けて実施された（弱い末梢磁気刺激が生体に与える効果の検討, jRCTs042200013）。

1) 装着型磁気刺激器機を併用したリハビリテーションの実現可能性の検証

対象は脳卒中片麻痺患者 10 名（脳梗塞 9 名、脳出血 1 名）とした。年齢は 72 ± 11 歳、男性 8 名、

身長 164.7 ± 12.0 cm, 体重 61.4 ± 12.5 kg, 麻痺側上肢運動機能は Stroke Impairment Assessment Set で上肢近位テスト 3.5 ± 1.1 , 遠位テスト 3.2 ± 1.0 であった。ペースメーカー挿入患者、てんかんの既往のある患者、刺激部位近傍に取り外しのできない金属のある患者、妊娠している女性は除外した。また全ての対象者に書面での説明を行い、本研究に参加するための同意を得た。

対象者は作業療法の訓練時間に麻痺側の前腕伸筋を標的として磁気刺激器機を装着した。第 1 週目の連続する 3 日間、訓練時間（60 分間）に磁気刺激器機を装着し、運動閾値未満の磁気刺激を行いながら通常のリハビリテーション治療を行った。3 日目の訓練終了時に使用感などを 7 段階の Likert Scale を用いて評価した。第 2 週は磁気刺激機器を装着せずに訓練を行った。第 3 週に再び連続する 3 日間、磁気刺激器機を装着し訓練を行い、器機なしと比べてどうであったかを評価した。

2) 上肢の局所性ジストニアに対する効果の検証

書痙などの上肢の局所性ジストニアを有する左視床出血後に右片麻痺を呈した 50 歳代後半の男性患者を対象とした。発症から 4 年半が経過しており、明らかな麻痺はなく右上肢不随意運動のみ残存していた。対象者には書面での説明を行い、本研究に参加するための同意を得た。

前腕屈筋群である浅指屈筋、長母指屈筋を標的として磁気刺激を行い（図 2）、30 分間の刺激前後における即時効果を検討した。また、1 日 60 分間の刺激を 3 か月間継続して行った際の書字能力を比較した。書字能力の評価には、TraceCoder[®]（シスネット株式会社）を使用し、螺旋図形（周間 20mm, 3 周）のトレース課題におけるズレ量、加速度、躍度を測定した。



図 2. 前腕屈筋群を標的とした磁気刺激

3. 結果

1) 装着型磁気刺激器機を併用したリハビリテーションの実現可能性の検証

Likert Scale による中央値はそれぞれ、使用感 5 (よい), 装着感 5 (よい), 疼痛の有無 7 (疼痛なし), 器機での訓練を続けたいか 7 (続けたい), 訓練の妨げとなったか 6 (妨げなかった) であった。

2) 上肢の局所性ジストニアに対する効果の検証

即時変化として, 30 分間の磁気刺激前後におけるトレース課題のズレ量は刺激前 3.3 ± 3.7 cm, 刺激後 1.8 ± 1.6 cm であった。また加速度は刺激前 0.3082 ± 0.4150 cm/s², 刺激後 0.2057 ± 0.2341 cm/s², 躍度は刺激前 0.0074 ± 0.0117 cm/s³, 刺激後 0.0043 ± 0.0050 cm/s³ であった。刺激前後におけるトレース課題の様子を示す (図 3)。刺激前に比べて刺激後の施行では, トレースの基準線からのズレ量が明らかに減少した。

3 か月間の刺激を行った後の評価では, ズレ量 1.9 ± 1.3 cm, 加速度 0.4293 ± 0.5480 cm/s², 躍度 0.0099 ± 0.0159 cm/s³ であった。

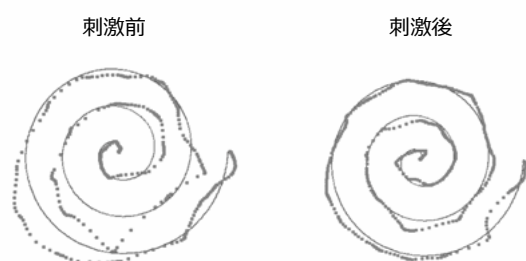


図 3. 30 分間の磁気刺激前後におけるトレース課題の変化

4. 考察

本研究は装着型磁気刺激器機を併用したリハビリテーションの実現可能性と運動閾値未満かつ感覚閾値未満の磁気刺激による局所性ジストニアへの効果について, 脳卒中片麻痺患者を対象に検討した。

本器機の装着は通常のリハビリテーションを妨げることなく, 使用感や装着感も良好な結果であった。また, 通常の電気刺激でしばしば生じる刺激時の疼痛や不快感なども生じることはなかつ

た。本検証により, 装着型磁気刺激器機を併用したリハビリテーションの実現可能性が良好であることが示唆された。

上肢の局所性ジストニアに対する運動閾値未満かつ感覚閾値未満の磁気刺激は, 刺激直後にジストニア症状を減少させ, トレース課題の精度を向上させた。またその効果は即時のみならず, 長期的な介入によっても持続する可能性が示唆された。本研究で用いたトレース課題については明確な健常値がない (現在作成中) が, これまでの健常者を対象にしたわれわれの計測データでは, ズレ量 0.7 ± 0.5 cm, 加速度 0.2342 ± 0.2435 cm/s², 躍度 0.0045 ± 0.0049 cm/s³ である。これより, ズレ量は十分でないが, 加速度や躍度は健常値に近い値にまで改善したと考えられる。

TENS は主に求心性線維を活性化することで動作筋と拮抗筋の間における興奮と抑制の関係性を再構築する。³⁾ 本器機による磁気刺激においても同様の機序により, ジストニアで著しく損なわれている中枢神経系における動作筋と拮抗筋の相互作用の再構築を促進したことで, 上肢の書字動作における能力が向上したと考えられる。今後, この効果を明確にするため, 対照群を設定した多数例での試験を行い, 検証していく必要がある。

謝辞

この研究は公益財団法人渡邊財団の補助を受けて実施したものである。

参考文献

- Japanese Society of Neurology: Guidelines for the Treatment of Dystonia 2018.1) 一般社団法人日本神経学会 (監修) 「ジストニア診療ガイドライン」作成委員会: ジストニア診療ガイドライン 2018 (南江堂, 2018).
- 2) Tinazzi M, et al: TENS for the treatment of writer's cramp dystonia: A randomized, placebo-controlled study. *Neurology* 64 (11):1946-1948 (2005).
- 3) Tinazzi M, et al: Long-lasting modulation of human motor cortex following prolonged transcutaneous electrical nerve stimulation (TENS) of forearm muscles: evidence of reciprocal inhibition and facilitation. *Exp Brain Res* 161(4):457-64 (2005).

磁性ナノ粒子を用いたオルガネラの膜損傷の研究

Membrane damage of cellular organelles by magnetic nanoparticles

芝 陽子*, 小林 悟**, 大柳 洸一**, 芝崎 祐二***

Yoko Shiba, Satoru Kobayashi, Koichi Oyanagi, and Yuji Shibasaki

*生命科学コース, **材料科学コース, ***物質化学コース,
岩手大学総合科学研究科理工学専攻, 〒020-0066 盛岡市上田 3-18-33

* Graduate course of Biological Sciences,

Graduate course in Material Sciences and Engineering, *Graduate course in Chemistry,
Division of Science and Engineering, Graduate School of Arts and Sciences, Iwate University
3-18-33, Ueda, Morioka, Iwate, 020-0066, JAPAN

Abstract

Magnetic nanoparticles (MNPs) have been used for a variety of medical application including Drug Delivery System (DDS). MNPs are internalized into cells and transported to membranous organelles. We aimed at analyzing physical stiffness of organelle membrane by MNPs. We delivered MNPs into early endosomes in cancer cells and applied magnetic field from outside of cells, then examined if endosomal membrane was damaged or not by visualizing CHMP4B, a cytosolic marker of membrane damage. We found more CHMP4B colocalized with MNPs after applying magnetic field. We are now calculating the mechanical force required for membrane damage. These studies will develop the future technology that we could manipulate intracellular organelles by MNPs and magnetic field.

Keywords: Magnetic nanoparticle, organelle, membrane damage

1. 目的

哺乳動物細胞には様々な細胞小器官(オルガネラ)が存在し,それぞれの機能を果たしている(図1). オルガネラは膜で区画化されており、膜の物理的性質はオルガネラの機能に重要である。細胞膜については光ピンセットで外から細胞膜を引っ張る手法などによって膜張力が測定されてきたが,細胞内のオルガネラ膜の物理的性質についてはまだ不明な点が多い。

磁性ナノ粒子は磁性を持ったナノサイズの粒子のことで,磁場をかけることで遠隔操作が可能である.本研究では磁性ナノ粒子を哺乳動物細胞に取り込ませ,オルガネラ内の磁性ナノ粒子を磁場によって運動させ,オルガネラ内側からの膜の破れやすさを力

学的に測定することを目的とした。

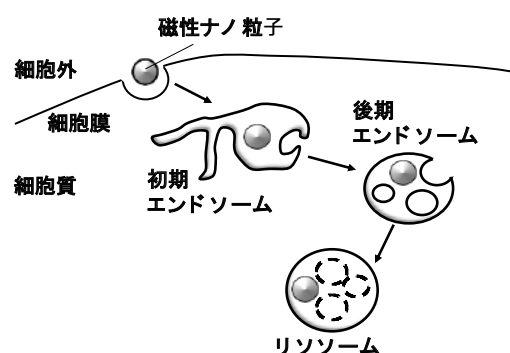


図1.哺乳動物細胞の細胞内輸送経路. 外部のものは取り込まれた後,初期エンドソーム,後期エンドソーム,リソソームと輸送され,分解される.磁性ナノ粒子も原則この経路を通ると考えられる。

2. 方法

15nm の球状の Fe_3O_4 ナノ粒子を熱分解法で合成した. 磁性ナノ粒子の形状等は透過型電子顕微鏡(TEM)で確認した. さらに磁性ナノ粒子の表面修飾を行った. 磁性ナノ粒子の表面にヒドロキシ (OH) 基を導入し, OH 基を起点として生体適合性が高くナノ粒子の生体内分散性を向上させるグリセリンポリマーをグリシドールのリビング重合法を利用して成長させた. さらにポリグリセリン上の OH 基を NH_2 基に変換し, 緑色蛍光色素 Fluorescein Isothiocyanate (FITC) を導入した. 磁性ナノ粒子の凝集を防ぐため, 遠心分離した上清液を用いた. 表面修飾は赤外, 紫外可視分光法や熱重量分析で修飾効率を確認し, TEM で凝集塊がないかを確認した. 表面修飾含め, 約 20nm の磁性ナノ粒子を作製した(論文執筆中).

3. 結果

ヒト乳がん細胞 MCF-7 に作製した磁性ナノ粒子を取り込ませ, MTT assay により細胞の生存率を調べた. その結果, 作製した磁性ナノ粒子は $100\mu\text{g/ml}$ 以下なら細胞毒性がないことを確認できた. MCF-7 に磁性ナノ粒子を取り込ませ, 共焦点顕微鏡で観察したところ, 取り込み後 20 分で初期エンドソームマーカー EEA1, 1 時間でリソソームマーカー lamp1 と共局在が見られた. このことから取り込み後 20 分で磁場をかければ初期エンドソームが膜損傷すると予測された. オルガネラ膜は損傷すると CHMP4B を含む ESCRT 複合体が膜に凝集する.¹⁾ 磁性ナノ粒子を MCF-7 に 20 分取り込ませ, 小林研究室の磁場発生用小型コイルと電源を用いて 24well plate の細胞にそれぞれ直流 (DC), 2 V, 5 分, 交流 (AC), 6V, 0.5Hz, 5 分で磁場を印加した. その後, 細胞を固定し共焦点顕微鏡で観察したところ, 磁場を印加した細胞で磁性ナノ粒子が CHMP4B と共局在していることが観察された(図 2A). 現在 2 回の実験を行っているが, 特に直流の方でより多く共局在が観察されており, Control との有意差が見られている(図 2B). このことから直流磁場により磁性ナノ粒子が運動し, エンドソーム膜が損傷している予備的知見を得た.

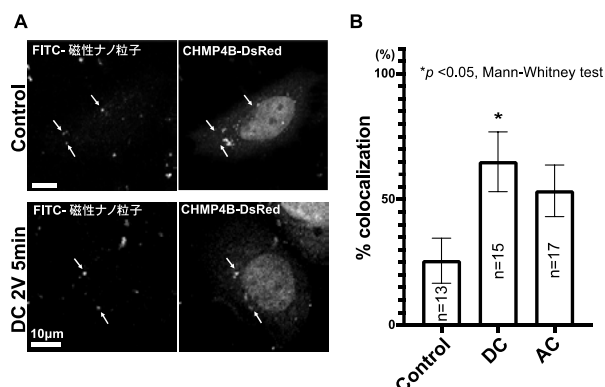


図 2. A. 磁性ナノ粒子を取り込ませた MCF-7. 磁性ナノ粒子の位置を矢印で示す. DC で CHMP4B が共局在している. B. A の実験を 2 回行い共局在を定量した. Control に比べて磁場印加時に増加し, 特に DC で有意差が見られた.

4. 考察

本研究では MCF-7 細胞に取り込ませてから, 磁場を印加すると磁性ナノ粒子と CHMP4B との共局在が増加するという結果が得られた. このことは磁場の印加によってオルガネラ膜が損傷し, CHMP4B がオルガネラ膜にリクルートされる可能性を示している. これから 3 回目の実験を行い, 再現性を確認するが, 特に直流で共局在の増加が見られていることから, 交流磁場で細胞を殺すハイパーサーミアとは異なる様式で膜損傷を起こしている可能性がある. 今後は膜損傷を起こす力の見積りを行い, 各オルガネラの膜の物性を明らかにしていく.

5. 謝辞

この研究は公益財団法人渡邊財団の補助を受けて実施したものである. また, 本論文の内容は 2023 年 6 月 27-30 日の第 75 回日本細胞生物学会で発表予定である.

参考文献

- 1) Mercier et al : Endosomal membrane tension regulates ESCRT-III-dependent intra-lumenal vesicle formation, Nat Cell Biol, (8), 947, (2020)

統合失調症のガンマ帯域神経振動異常における

AMPA 型グルタミン酸受容体の役割

Roles of AMPA-type glutamate receptors on gamma-band neural oscillatory dysfunctions in schizophrenia

田村俊介*, **, 平野羊嗣*, **, 三笥良*

Shunsuke Tamura***, Yoji Hirano*** and Ryo Mitoma*

*九州大学大学院医学研究院精神病態医学, 〒812-8582 福岡市東区馬出 3-1-1

**宮崎大学医学部臨床神経科学講座精神医学分野, 〒889-1692 宮崎県宮崎市清武町木原 5200

* Department of Neuropsychiatry, Graduate School of Medical Sciences, Kyushu University

3-1-1 Maidashi, Higashi-ku, Fukuoka 812-8582 Japan

**Department of Psychiatry, Faculty of Medicine, University of Miyazaki

5200 Kihara, Kiyotake-cho, Miyazaki 889-1692 Japan

Abstract

In the present study, we investigated roles of AMPA (α -amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazole propionic acid)-type glutamate receptors on abnormal gamma-band oscillatory activity in schizophrenia (SZ). We measured resting-state magnetoencephalography (MEG) from SZ patients and healthy controls. We also assessed their AMPA receptor functions using a positron emission tomography tracer of AMPA receptor, [11C]K-2. The MEG data analysis revealed that gamma-band oscillatory networks in SZ had hyper-connectivity throughout the brain. In addition, we found a strong correlation of AMPA receptor density with gamma-band network features in the posterior ramus of the right lateral sulcus. Our present study is the first to examine the connection of AMPA receptor function to gamma-band oscillatory activity in the human brain.

Keywords: schizophrenia, AMPA receptor, gamma-band neural oscillation, neural network

1. 目的

統合失調症は、診断や治療の社会的重要度が非常に高いにも関わらず、現在に至るまでその神経科学的基盤を定義することは出来ていない。ただし、現時点でも妥当性の高いバイオマーカーに関する知見が多く蓄積されており、その一つが脳内で生じる 30-100 Hz の周期的な神経活動であるガンマ帯域神経振動である¹⁾。しかしながら、統合失調症で数多く報告されているガンマ帯域神経振動異常は、空間分解能の低い脳波計を用いて調べられている

ため、その異常に関わる精確な脳領域は特定されていない。

また、統合失調症モデル動物を用いた研究での知見から、ガンマ帯域神経振動異常の背景として、グルタミン酸などを神経伝達物質として介在する興奮性神経系の障害が考えられている²⁾。しかしながら、ヒト生体において、ガンマ帯域神経振動と興奮性神経伝達機能の関係性を調べた研究は存在しない。

本研究では、空間解像度の高い脳磁計を用いて、統合失調症のガンマ帯域神経振動異常

に関わる脳領域を特定する。さらに、陽電子放出断層撮影 (positron emission tomography, PET) を用いて、脳内に存在する AMPA (α -amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazole propionic acid) 受容体の密度を計測し、ガンマ帯域神経振動との関係性を調べる。

2. 方法

実験参加者は、健常者 27 名と統合失調症患者 21 名で、参加者全員が脳磁図の計測を行なった。その内、健常者 14 名と統合失調症患者 12 名は PET 計測にも参加した。

脳磁図計測には、306 チャンネル全頭型脳磁計 (Elekta, Neuromag) を用いた。検査中は、実験参加者に覚醒、安静閉眼の状態での臥位を保持してもらい、4 分間の安静時脳活動を計測した。同日に Phillips 社製の 3T MRI 装置を用いて、T1 強調画像の撮像も行なった。脳磁図データの解析では、脳波・脳磁図解析用ソフトウェア MNE-Python と脳画像解析用ソフトウェア FreeSurfer を用いた。脳磁図データと MRI データの位置合わせを行った後、解剖学的に分類された 150 個の脳領域毎に安静時のガンマ帯域神経振動のパワーを求めた。さらに、脳領域間で、ガンマ帯域神経振動における振幅包絡の相関を求めることで、機能的結合性を評価した。その結果に基づいて、ガンマ帯域神経振動が形成する脳内ネットワークの特徴を調べた。具体的には、特定の脳領域がどの程度その他の脳領域とクラスターを形成しているかを表す指標 (Degree centrality (D-CENT), Clustering coefficient (C-COEF)) を計算した。D-CENT と C-COEF については、 t 検定を用いて、各脳領域において群間で有意な差が見られるかどうかを調べた。有意性の検定では、多重比較の補正として False Discovery Rate (FDR)-correction を行った。

PET 計測では、ヒト生体での計測の妥当性が実証された、AMPA 受容体標識 PET プローブである [^{11}C]K-2²⁾ を用いた。[^{11}C]K-2 は九州大学病院放射線部において合成し、PET 画像は biograph mCT system (Siemens) を用いて撮像した。PET 撮像は 60 分間行い、注射後 30-

50 分のデータを解析した。PET の解析には FreeSurfer を用いて、脳磁図と同一の脳座標上で AMPA 受容体密度を計算した。PET データと MRI データの位置合わせを行った後、解剖学的に分類された 150 個の脳領域毎に、AMPA 受容体密度の指標として、部分容積効果を補正した信号値 (partial volume correction (PVC)) を求めた。脳磁図データの解析において、D-CENT, C-COEF に群間での有意差が認められた脳領域において、D-CENT, C-COEF と PVC の間に相関が見られるかどうかを調べた。相関分析には Spearman の方法を用い、相関係数の検定に際しては、FDR-correction を用いて p 値の補正を行った。

3. 結果

脳磁図の解析を行なった結果、統合失調症患者において、ガンマ帯域神経振動から求めた脳領域間の機能的結合が異常に亢進していることが分かった。機能的結合の結果に基づいて計算した D-CENT と C-COEF に関しては、ほぼ全ての脳領域において、健常者に比べて統合失調症患者の方が大きな値を持つことが分かった。

続いて、D-CENT や C-COEF に群間での有意差が見られた脳領域において、PET データから分析した PVC との相関を調べた。その結果、右半球外側溝の後部において、D-CENT と PVC の間に強い正の相関が見られることが分かった (図 1) ($\rho = 0.633$, $p = 0.046$)。

4. 考察

脳磁図を用いて、統合失調症患者のガンマ帯域神経活動に異常が見られる脳領域の特定を試みたところ、脳領域全体に渡って、ガンマ帯域ネットワークの異常亢進が見られることが分かった。この結果は、統合失調症患者において自発のガンマ帯域活動が異常亢進するという報告¹⁾と合致する結果であるが、本研究と同様に D-CENT や C-COEF を用いて、統合失調症患者のネットワーク特徴を調べた先行研究³⁾とは異なる結果であった。そのため、結果の

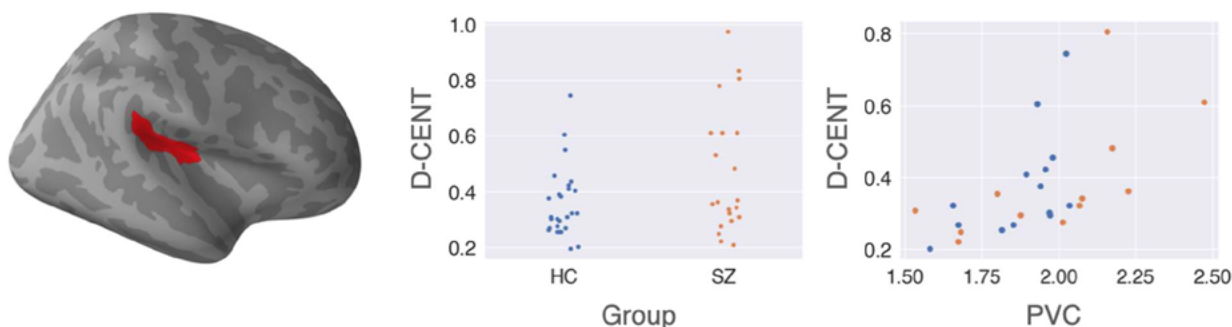


図 1. 右半球外側溝の後部（左図）における D-CENT の群間比較（中央図）と D-CENT と PVC の相関図（右図）。

信頼性については今後更なる検討が必要だと思われる。

各脳領域のネットワーク特徴と AMPA 受容体密度の相関については、右半球外側溝の後部において、D-CENT が AMPA 受容体密度と正の相関を示すことが分かった。このことは、AMPA 受容体密度が高い程、右半球外側溝の後部におけるガンマ帯域ネットワークが異常亢進する傾向があることを示唆している。しかしながら、その他の脳領域では、ガンマ帯域ネットワークと AMPA 受容体密度との間に有意な相関は確かめられなかった。そのため、AMPA 受容体以外の神経伝達機能がガンマ帯域神経活動に関与する部分も大きいと思われる。今後は AMPA 受容体のみならず、ガンマ帯域神経活動の発生に関与すると考えられている *N-methyl-D-aspartic acid* (NMDA) 受容体や *gamma-Aminobutyric acid* (GABA) 受容体などとの関連も合わせて調べていく必要があるだろう。

謝辞

この研究は公益財団法人渡邊財団による第 28 回磁気研究助成の補助を受けて実施したものである。ここに厚く御礼申し上げます。

参考文献

- 1) Hirano, Y., & Uhlhaas, P. J. (2021). Current findings and perspectives on aberrant neural oscillations in schizophrenia. *Psychiatry and Clinical Neurosciences*, 75(12), 358-368.

- 2) Miyazaki, T., Nakajima, W., Hatano, M., et al. (2020). Visualization of AMPA receptors in living human brain with positron emission tomography. *Nature Medicine*, 26(2), 281-288.
- 3) Tagawa, M., Takei, Y., Kato, Y., et al. (2022). Disrupted local beta band networks in schizophrenia revealed through graph analysis: A magnetoencephalography study. *Psychiatry and Clinical Neurosciences*, 76(7), 309-320.

核磁気共鳴エラストグラフィーを用いた肝うっ血評価による

心不全の非侵襲リスク層別法の開発

Risk stratification using liver magnetic resonance elastography
in patients with heart failure

永井利幸

Toshiyuki Nagai

北海道大学 大学院医学研究院 循環病態内科学教室,

〒060-8638 北海道札幌市北区北 15 条西 7 丁目

Department of Cardiovascular Medicine, Faculty of Medicine and Graduate School of Medicine,
Hokkaido University, Kita-15, Nishi7-Kita-ku, Sapporo 060-8638 Japan

Abstract

Right atrial pressure (RAP) measured by an invasive catheter is one of the key determinants of adverse events in patients with heart failure (HF). Recently, we have developed a novel non-invasive method for accurate estimation of RAP using liver stiffness assessed by magnetic resonance elastography (MRE). We performed liver MRE for 207 HF patients and found the significant association between liver stiffness assessed by MRE (LS-MRE) and subsequent adverse events. In conclusion, elevated LS-MRE may be useful for risk stratification in patients with HF.

Keywords: right atrial pressure, heart failure, liver stiffness, congestion, prognosis

1. 目的

心不全は心血管疾患における死因の首位を占め、近年の薬物治療や医療機器の劇的な進歩にも関わらず、5 年生存率は未だに約 50%程度と、悪性腫瘍に匹敵する予後不良の臨床症候群である。

心不全の主要病態は全身うっ血と低心拍出状態である。心不全患者において、右心房圧 (right atrial pressure; RAP) は、全身うっ血を最も鋭敏に反映するパラメータの一つであり、強力な予後規定因子であるとともに、治療適正化においても重要な役割を果たしている。

解剖学的に右心房と肝静脈は下大静脈を介して直接交通しており、肝臓は弾性繊維で覆われていることから、RAP の上昇は肝臓のうっ血を引き起こし、肝硬度を上昇させることが知られている。これまで、肝超音波法を用いて RAP を推定しう

ることが報告されているが、¹⁾この方法は超音波法を基礎とした測定法であり、16.9-17.6%程度の測定エラーが生じる上、再現性も低いことから、決して信頼性の高い測定法とは言えないことが問題視されてきた。

近年、核磁気共鳴エラストグラフィー (Magnetic resonance elastography; MRE) が、核磁気共鳴画像法による新しい非侵襲的肝線維化評価法として開発された。MRE で測定された肝硬度 (LS-MRE) は、肝生検によって評価された肝線維化の重症度と極めて強く相関し、再現性も高く、測定エラーはわずか 4.3%と報告されている。²⁾

我々は、パイロット研究として、108 例の慢性心不全患者で検討したところ、MRE で測定された肝硬度は実測 RAP と良く相関し、臨床的に問題となる RAP 高値 (≥ 10 mmHg) を超音波法より

もはるかに高精度で予測しうることを報告した。³⁾ しかしながら、MRE で非侵襲的に測定された肝硬度 (LS-MRE) そのものが心不全患者の予後リスクを層別しうるかについては不明である。本研究の目的は、心不全患者における LS-MRE の予後的意義を解明することである。

2. 方法

本研究は前向き観察研究であり、北海道大学病院に心不全の診断で入院した以下の基準に該当する連続症例 207 例を登録した (図 1)。(① 20 歳以上、② 文書による同意、③ 心不全の診断基準を満足)。除外基準は以下の通りである。①植込み型ペースメーカーなどの体内金属等の理由により MRE 撮像禁忌、②ウィルス性肝炎、非ウィルス性肝炎、肉芽腫疾患、先天性動静脈奇形を含む既知の器質的肝疾患を併存、③心不全の代償化後も呼吸苦等の心不全症状やせん妄等の神経症状が強固で、MRE 撮像が不能、あるいは MRE 画像が質不良で解析不能

【肝臓 MRE の撮像・解析】

MRE は全例で右心カテーテル検査の前後 4 日以内に 3.0 テスラ MRI 装置である Discovery 750W (GE Healthcare, Waukesha, WI, USA) を用いて、16 および 40 チャネル GEM アレイコイルを使用し撮像した。MRE 画像は、専用のアクティブドライバとパッシブドライバを使用して患者を仰臥位として撮像した。

解析用の関心領域 (region of interest; ROI) は、画像ビューアー (EXTREX, J-MAC System, Sapporo, Japan) を使用して描出した。描出した ROI 内の弾性率は自動計算され、計測された各断面の弾性率の平均値を、その患者の肝硬度 (単位: kPa) として解析した。

【予後追跡】

全例で予後追跡を行い、心血管イベント (全死亡 [心血管死、非心血管死]、心不全増悪による再入院) のイベント発生を評価した。

【統計解析】

生存分析および Cox 比例ハザードモデルによる多変量解析を行い、MRE で測定された肝硬度が死亡、心不全入院と独立して関連するかを検討した。

3. 結果

患者の平均年齢は 66 ± 14 歳、113 例 (55%) が男性であった。複合有害事象は 44 例 (21%) で発生し、その内訳は全死亡 15 例 (7%)、心不全による入院 29 例 (15%) であった。LS-MRE 値の中央値 2.54 kPa (IQR 2.34-2.82) で高値群と低値群の二群に分け、検討を行った (図 1)。

Kaplan-Meier 解析では、LS-MRE 高値群は LS-MRE 低値群よりも有意に複合有害事象の発生が高かった (図 2)。Cox 比例ハザードモデルによる多変量解析では、心不全の予後規定因子で調整後も、LS-MRE 値 (1.0 kPa 増加あたり) および LS-MRE 高値 (≥ 2.54 kPa) は、複合有害事象と有意かつ独立して関連していた (調整前ハザード比 [HR] 3.47、95%信頼区間 [CI] 2.14-5.62; 調整後 HR 3.98, 95% CI 1.89-8.40)。

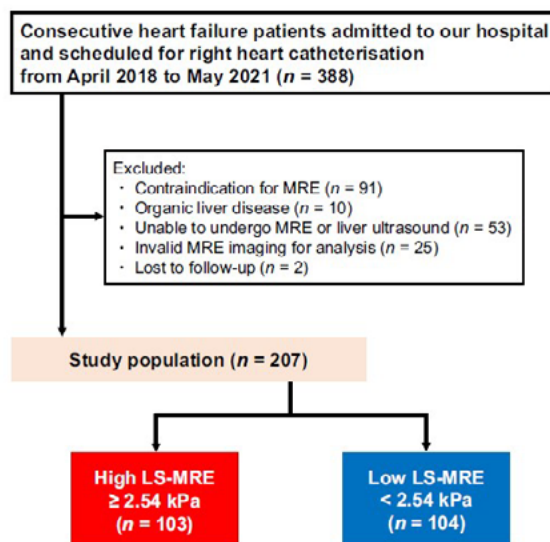


図 1 研究フローチャート

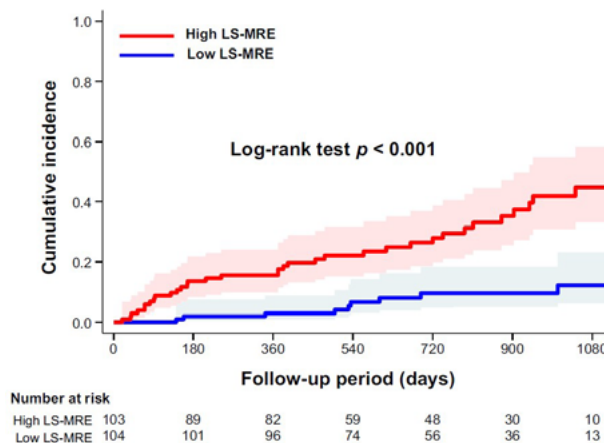


図 2 生存分析

多変量線形回帰分析では、LS-MRE 値は RAP 値、ヒアルロン酸値、 γ -GT 値、ALP 値、fibrosis 4 index と独立して相関していた。LS-MRE 値と最も強い相関を示した指標は RAP 値であった (β 統計量 0.31, $P < 0.001$)。

4. 考察

本研究では、器質的肝疾患を有さない心不全患者において、LS-MRE は全死亡および心不全入院の複合有害事象の発生と独立して関連していたことが明らかになった。⁴⁾また、LS-MRE は右房圧、ヒアルロン酸値、 γ -GT 値、ALP 値、fibrosis 4 index と独立して相関しており、中でも右房圧は LS-MRE と最も強い相関を示した。⁴⁾

心不全患者では、右房圧の上昇に伴い、受動的に肝臓内の静脈圧が上昇すると、非弾性被膜に覆われている肝臓は腫大し、硬くなる(肝硬度上昇)ことが知られている。Millonig らは、実際にブタモデルにおいて、中心静脈圧と超音波エラストグラフィで測定した肝硬度が完全な相関関係($r = 1.0$, $P < 0.01$)を示し、かつ可逆的に制御可能であることを示した。⁵⁾

肝静脈圧上昇が慢性的に持続すると、肝実質の静脈周囲および類洞周囲に線維化が生じ、最終的には可逆性の乏しい架橋線維化が形成される。⁶⁾本研究では、ヒアルロン酸や fibrosis 4 index などの肝線維化指標が LS-MRE と有意に独立して相関しており、肝硬度上昇は右房圧上昇と肝線維化を反映している可能性が示唆された。

本研究における LS-MRE の中央値は 2.54 (IQR 2.33-2.82) kPa であり、2 例を除き 4.0 kPa を超える症例は存在しなかった。LS-MRE と METAVIR スコアリングシステムを用いた肝線維化の病理学的グレードにおける有意な相関関係が報告されており、F0, F1, F2, F3, F4 の LS-MRE は、 2.6 ± 0.4 , 3.4 ± 0.6 , 3.8 ± 1.1 , 6.0 ± 1.4 , 8.2 ± 2.0 kPa であった。²⁾そのため、本研究の心不全症例の大部分は F0 か F1 に分類されることが明らかになった。

本研究において、LS-MRE は、超音波法によって得られる肝硬度と比較して、右房圧の予測に優れていた。また、有害事象の予測において、LS-MRE が超音波法によって得られる肝硬度と比

較して高い予後弁別能を示しており (Harrel の C 統計量: 0.724 vs. 0.582, $P = 0.015$)、肝硬度の測定精度は MRE がより優れている可能性が示唆された。

本論文の内容は 3 月 10 日に福岡で開催された『第 87 回日本循環器学会学術集会：プレナリーセッション』で報告したものである。

参考文献

- 1) Omote K, et al. Heart and Vessels 2019; 34: 984-991.
- 2) Yoshimitsu K, et al. European Radiology 2016; 26: 656-63.
- 3) Kato Y, et al. JACC Cardiovasc Imaging 2020; 13: 2050-52.
- 4) Tada, et al. Eur Radiol 2023; 33: 2062-2074.
- 5) Millonig G, et al. J Hepatol 2010; 52:206-210.
- 6) Wells ML, et al. Radiographies 2016; 36:1024-37.

令和4年度 研究助成テーマ

令和4年度は、以下のように、第29回 8名(基礎1名・応用4名・テーマ指定3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. 磁場操作による培養基板の弾性率制御技術を用いた幹細胞ステムネス維持に関する研究
熊本大学 大学院 先端科学研究部 産業基盤部門 先端工学第三分野／森田 康之

II. 応用研究

- II-1. コロナ後遺症に伴うメンタルヘルス障害に対する磁気刺激療法の開発
慶應義塾大学 医学部 精神・神経科学教室／野田 賀大
- II-2. T細胞の抗腫瘍活性を増強する磁性ナノ粒子の開発
慶應義塾大学医学部 先端医科学研究所がん免疫研究部門／伊藤 雄介
- II-3. 筋層浸潤性膀胱癌のナノ粒子を用いた膀胱温存療法の確立
名古屋市立大学大学院腎・泌尿器科学分野／権田 将一
- II-4. 末梢磁気刺激を用いた痙攣治療の機序解明
慶應義塾大学医学部リハビリテーション医学教室／紙本 貴之

III. テーマ指定研究

- III-1. 下肢への磁気刺激と電気刺激の連合性ペア刺激による脳の可塑的变化に対する上肢運動の効果の検証
株式会社ソニーコンピュータサイエンス研究所／加藤 辰弥
- III-2. 経頭蓋静磁場刺激が有する脳内ネットワーク調節作用の神経生理学的解明
新潟医療福祉大学 リハビリテーション学部／芝田 純也
- III-3. 神経節に及ぼす磁場のメカニズム解明と在宅で使用可能な女性向け医療機器への応用
大阪大学大学院 医学系研究科 心臓血管外科／金田 恵理

なお、所属は研究助成決定当時のものです。

THE REPORT OF STUDY RESULT BY SUBSIDY



28TH

(STUDY DURATION : April 1, 2022 – March 31, 2023)

CONTENTS

Preface.....	1
Director Makoto Kotani	
I. Basic Research	
I-1. Prevention of dementia using spleen-derived IL-10 induction by a static magnetic field	3
Department of Endocrinology, Metabolism, Rheumatology and Nephrology, Faculty of Medicine, Oita University Koro Gotoh	
I-2. Measurement of interaction between local electromagnetic field and nuclear spin	6
Graduate School of Engineering, The University of Tokyo Kenji Shimazoe	
I-3. Verification of reflex improvement by the magnetic vestibular stimulation ..	8
Graduate School of Health and Medicine, Gifu University of Medical Science Kunihiko Tanaka	
I-4. Toward the development of technology to create neuronal circuits using magnetic stimulation	11
Graduate School of Brain Science, Doshisha University Yoshito Masamizu	
I-5. Development of Magnetic Nanoparticles for Cancer Thermal Therapy and Diagnostics	13
Graduate School of Scientific Engineering, Yokohama National University Yuko Ichiyanagi	
II. Application Research	
II-1. Verification of cognitive improvement by cognitive rehabilitation combined with repetitive transcranial magnetic stimulation	15
Dept. of Rehabilitation Medicine, Juntendo University Graduate School of Medicine Tomokazu Takakura	
II-2. Development of Ultrasmall Nanocapsules for ^{19}F MRI Contrast Agent	18
Graduate School of Engineering, Osaka University Masafumi Minoshima	
II-3. Magnetic stimulation therapy by a wearable device for focal dystonia of the upper extremity	20
Faculty of Rehabilitation, School of Health Sciences, Fujita Health University Kenta Fujimura	
II-4. Membrane damage of cellular organelles by magnetic nanoparticles	23
Faculty of Science and Engineering, Iwate university Yoko Shiba	
III. Specific Research	
III-1. Roles of AMPA-type glutamate receptors on gamma-band neural oscillatory dysfunctions in schizophrenia	25
Department of Neuropsychiatry, Graduate School of Medical Sciences, Kyushu University Shunsuke Tamura	
III-2. Risk stratification using liver magnetic resonance elastography in patients with heart failure	28
Department of Cardiovascular Medicine, Faculty of Medicine and Graduate School of Medicine, Hokkaido University Toshiyuki Nagai	

Preface

About 46 years ago, I have been researching feeble magnetic measurements from the human body in order to help diagnose the disease at the Massachusetts Institute of Technology (MIT) in the United States for two years. I have been studying biomagnetism measurement after returning home.

It has been estimated that weak magnetism is generated from human heart and brain, but there was no magnetometer capable of measuring this weak magnetism. However, in the 1970s, an ultra-sensitive SQUID magnetometer using superconducting technology was developed in collaboration between US National Research and MIT.

When the magnetic measurement from heart using this SQUID magnetometer was successful and challenging magnetic measurements from the brain of about 1 / 1,000 of cardiac magnetism, I had been studying at MIT.

MIT laboratory was in big trouble during my study abroad. A prominent doctor in the United States criticized of MIT's research as follows. "They say that they measure the magnetism caused by nerve activity of heart and brain, but that is incorrect. They are only measuring the magnetism that the iron in the blood is disturbing the geomagnetism." As a result, the public research expenditure in the US for MIT biomagnetism research was greatly reduced.

I regarded his theory as correct. Therefore, I measured more than ten blood with SQUID magnetometer, but it turned out that blood had no magnetism at all.

The reason is that iron itself always has magnetism, but it has strong magnetism or no magnetism at all depending on the bonding method of iron and oxygen. Iron in the blood binds to oxygen so that it has no magnetism at all.

The evolution of mankind has progressed from birth to bipedalism to communication through spoken language over 2millions of years. The strength and directions of the geomagnetism have changed about ten times during the years. Since humans have evolved in such magnetic environment, human body have made to have little effect of geomagnetism.

On the other hand, it has been only 200 years or so since humans started using electricity. The humans have not developed full defensive capabilities against it. Therefore, a human body is vulnerable and sensitive to electricity: a heart stops beating once a couple of voltages are applied to the chest, however, it is quite difficult to stop a heart when magnetism is applied externally.

In view of this, it is fair to say that electric medical devices bring an immediate effect. However, they could be dangerous once misused. In contrast, magnetic medical devices are not dangerous, but they must be used for a long time for treatment.

Our foundation intends to contribute to the health and medical care of the nation, by subsidizing scientific research and appealing to the society through seminars. It should be noted, that the effect of the magnetic field is generated from some basic phenomena interacting with the complex mechanism of the body. The effect can only be clarified by a long-term persistent effort, not by short-sighted research.

It is a regrettable tendency in the present scientific sector that researchers are mostly interested in achieving successful results for acquiring a degree or achievement in a short period, focusing on obvious cause-effect relationship or phenomenon which invites quantitative descriptions. In view of such a tendency, our foundation prefers to support researchers who persistently attack a particular problem expecting long-term results rather than those who rush into short-term results.

This report is the summary of research which our foundation supported in the fiscal year 2021. It includes a wide range of topics from basic aspects to practical applications, intending to pave new ways in this area. It is our hope that the report will motivate researchers with similar interests to start communication and contribute to the development of magnetic health science.

Director Makoto Kotani
The Watanabe Foundation

Prevention of dementia using spleen-derived IL-10 induction by a static magnetic field

Koro Gotoh*

*Faculty of Medicine, Oita University
1-1 Idaigaoka, Yufu city, Oita 879-5593 Japan

Abstract

Obesity decreases one of anti-inflammatory cytokines, IL-10 synthesis from spleen, and this reduction brings chronic systematic inflammation, including brain. In addition, obesity is also a risk factor of Alzheimer's dementia (AD), which is related with chronic inflammation in the brain. On the other hand, the expression of brain-derived neurotrophic factor (BDNF) which is necessary for neuronal maintenance falls in AD patients. In this research, we examine whether a magnetic field reverses obesity-induced reduction of BDNF expression in brain as well as IL-10 synthesis from spleen, and these alterations are useful for preventing the development of AD.

Keywords: IL-10, spleen, Alzheimer's dementia, brain-derived neurotrophic factor, obesity

1. PURPOSE

Metabolic syndrome due to obesity induces systemic chronic inflammation. There are many researches that obesity is one of risk factors for Alzheimer's dementia (AD) and the activation of microglia (MG) as well as deposits of amyloid β (A β) in brain is related with pathophysiology of AD.¹⁾ On the other hand, brain-derived neurotrophic factor (BDNF) plays an important role in the development, growth, maintenance, and repair of neurons. Recently, It has been confirmed that BDNF expression in brain is reduced in AD patients.²⁾ We have shown that obesity reduces the synthesis of spleen-derived Interleukin (IL)-10, which leads to MG activation and inflammation in the brain.³⁾

It has been clarified that glucagon-like peptide-1 (GLP-1) secreted by L cells in the small intestine activates the hepato-derived afferent vagus nerve via GLP-1 receptors located around the portal vein in the liver, and its activity leads to an increase in BDNF expression in the brain.⁴⁾ Considering that blood

GLP-1 concentrations are reduced in obesity, it is suggested that obesity also causes inflammatory lesions in the small intestine, and that this inflammatory responses may cause a decrease in GLP-1 secretion. Therefore, it is presumed that enhancing the ability to synthesize IL-10 from the spleen suppresses inflammation in the small intestine, improves GLP-1 secretion, and promotes BDNF expression in the brain, which is useful for preventing the development of AD. The purpose of this study is to prove that the synthesis of IL-10 from the spleen and the concentration of GLP-1 in portal vein blood are significantly involved in the pathogenesis of AD due to obesity.

2. METHODS

[1] Model animals :

Wild type mice (8 weeks) are fed a normal chow or a high-fat diet and continuous central administration of A β (0.001 mg/day) is performed to each group. The high-fat diet group is further divided into sham group, sham + magnetic field chronic exposure group,

splenectomy (SPX) group, and SPX + magnetic field chronic exposure group. Therefore, five groups of normal chow + Sham group (CNT + sham), high-fat diet + Sham group (HF + sham), high-fat diet + magnetic field chronic administration group (HF + sham + MF), high-fat diet + SPX group (HF + SPX), high-fat diet + SPX + magnetic field chronic administration group (HF + SPX + MF) are prepared and bred for another 1 month. For chronic exposure to the static magnetic field, by sandwiching a magnet having a surface magnetic flux density of 200 mT between the breeding cages, an environment in which an average magnetic force of 30 mT is generated in the center of the cage is created. Such a static magnetic field is exposed throughout the day.

[2] Assessment on the spleen :

- a) For the group that preserves the spleen, the content of TNF- α , an inflammatory cytokine in the spleen, and IL-10, an anti-inflammatory cytokine, were measured.
- b) The expressions of B cells in the spleen and regulatory T cells that are deeply involved in the synthesis of IL-10 were investigated.

[3] Assessment on the small intestine :

- a) GLP-1 concentrations in the lower small intestine as well as blood and expression of dipeptidyl peptidase-4 (DPP-4), an inactivation enzyme of GLP-1, in the small intestine were investigated.
- b) In order to evaluate the inflammation in the small intestine, we examined the intestinal infiltration of inflammatory macrophages immuno-histologically.

[4] Assessment on the brain :

- a) BDNF expression in the brain was evaluated.
- b) Since inflammatory changes in the brain are greatly associated with the development of dementia, TNF- α , an inflammatory cytokine in the brain, IL-10, an anti-inflammatory cytokine were measured, and the activity of glial cells related with inflammation was also evaluated.
- c) A β and amyloid precursor protein (APP) content, a precursor of A β , in the brain were quantified.
- d) We evaluated the effects of spatial cognition using the Maurice water maze test.

3. RESULTS

Decreased IL-10 expression in the spleen as well as decline of B cells due to obesity was significantly increased by chronic exposure to magnetic fields. Increased DPP-4 activity and decreased GLP-1 expression in the small intestine via obesity, and inflammation in the small intestine were significantly aggravated by removal of the spleen. In the presence of a spleen, chronic exposure to the magnetic field improved such above alterations, but not in the absence of a spleen. On the other hand, there was no significant change in blood GLP-1 levels. In addition, the promoted inflammatory changes in the brain and the reduction in BDNF expression due to obesity worsened more markedly with SPX. However, in the presence of a spleen, chronic exposure to the magnetic field improved such changes, but not in the absence of a spleen. There was no significant change in APP content of brain. Moreover, the deterioration of spatial cognition (Figure 1) as well as memory (Figure 2) due to obesity was exacerbated by SPX. Although, in the presence of a spleen, chronic exposure to the magnetic field improved such changes, but not in the absence of a spleen (Figure 1 and 2).

4. DISCUSSION

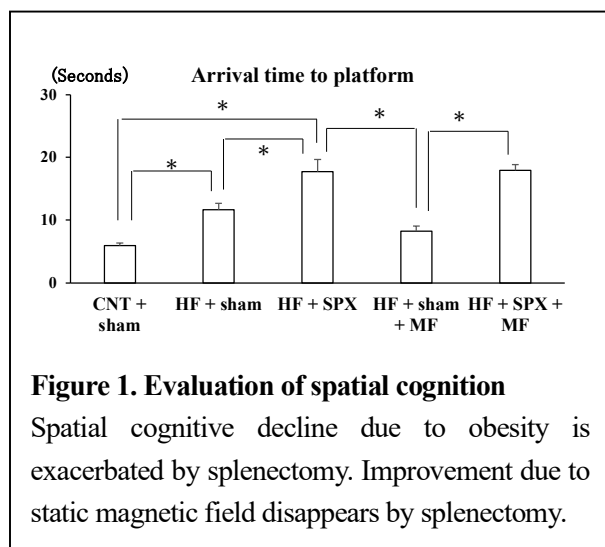
There have been some reports that applying a magnetic field to patients with inflammatory bowel disease increases the expression of IL-10 and improves their condition. In Japan, magnetic fields are used as home remedies for inflammatory diseases such as rheumatic diseases, and magnetic fields are recognized to have anti-inflammatory effects. In animal experiments, it has been reported that exposure to a static magnetic field after making adjuvant arthritis improves inflammatory changes.⁵⁾ Therefore, it is indicated that the static magnetic field may improve the reduction in the synthesis of IL-10 from the spleen due to obesity. In addition, when GLP-1 secreted from L cells in the lower small intestine is administered into the portal vein, the BDNF nerve in the brain is activated via the afferent vagus nerve from the liver, and this activity further stimulates the efferent sympathetic nerve to the pancreas. It has been clarified that this stimulation promotes BDNF secretion from the terminals of

efferent sympathetic nerve terminals ⁴⁾.

This study suggests that the anti-inflammatory effect of the static magnetic field may be related to the promotion of the synthesis of IL-10 from the spleen. In addition, it was suggested that the recovery of IL-10 synthesis from the spleen by the static magnetic field improved inflammatory changes in the small intestine and promoted GLP-1 secretion from the small intestine, thereby increasing BDNF expression in the brain. Therefore, it is speculated that exposure to static magnetic fields may be effective in preventing the onset of dementia due to obesity.

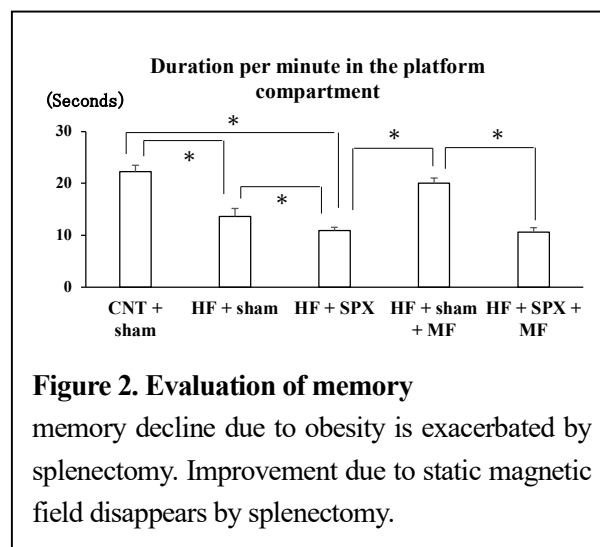
Acknowledgements

This research was supported by the Watanabe Foundation.



REFERENCES

1. Čater M, et al. A Pathophysiological Intersection of Diabetes and Alzheimer's Disease. *Int J Mol Sci.* 23(19):11562. 2022
2. Banerjee M et al. Emphasizing roles of BDNF promoters and inducers in Alzheimer's disease for improving impaired cognition and memory. *J Basic Clin Physiol Pharmacol.* 34(2):125-136 2021
3. Gotoh K, Iet al. A novel anti-inflammatory role for spleen-derived interleukin-10 in obesity-induced hypothalamic inflammation. *J Neurochem.* 120, 752-764, 2012.
4. Gotoh K, et al. Hypothalamic brain-derived neurotrophic factor regulates glucagon secretion mediated by pancreatic efferent nerves. *J Neuroendocrinol.* 25, 302-311, 2013
5. Taniguchi N et al . Effect of static magnetic field on adjuvant arthritis rats. *Orthopedics and Disaster Surgery.* 49(3) 825-828. 2000



Measurement of interaction between local electromagnetic field and nuclear spin

Kenji Shimazoe*

*Graduate School of Engineering, The University of Tokyo
7-3-1 Hongo, Bunkyo-ku, Tokyo 113-8656 Japan

Abstract

MRI and PET/SPECT are both important imaging modality in clinical diagnosis as a morphological imaging and a functional imaging. Both are using the unique characteristics of atomic nuclei, such as nuclear spin and the emitted gamma-ray photon, however, the integration of those devices is limited. In this study, the cascade gamma-ray emitted from atomic nuclei under high magnetic field is investigated for the future integration of magnetic resonance method and nuclear medicine.

Keywords: nuclear spin, magnetic resonance, nuclear medicine, cascade gamma-ray

1. PURPOSE

MRI (Magnetic Resonance Imaging) is useful imaging modality in clinical diagnosis because of its fine visualization of morphological information utilizing nuclear spin as small magnet. On the other hand, the devices in nuclear medicine, such as PET (Positron Emission Tomography) and SPECT (Single Photon Emission Computed Tomography), are useful molecular imaging method because of its excellent sensitive detection of molecules up to pico mole order. Nuclear medicine devices utilize the enormous energy from the atomic nuclei. Though both MRI and PET/SPECT utilize the unique characteristics of atomic nuclei, however, it is only used as a combination of morphological imaging and functional imaging by just combining the image.

Authors previously presented and demonstrated extracting chemical information, such as pH, with cascade gamma-rays emitted from atomic nuclei utilizing the electric quadrupole hyperfine interaction between nuclei and the external molecular field¹⁾.

Similarly, in this study we have investigated the possibility to utilize the magnetic dipole interaction between nuclei and external field for the advancement of nuclear medicine devices and MRI. We have quantified the response of cascade gamma-rays under high magnetic field and demonstrated the feasibility of use of gamma-ray for the detection of position information encoded in the magnetic field strength.

2. METHODS

2.1 Detection methods and materials

Liquid state clinically available $^{111}\text{InCl}_3$ radio tracer was used as a cascade gamma-ray nuclide.

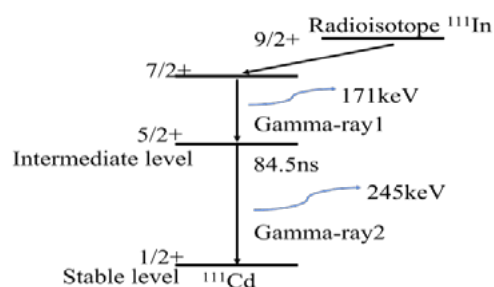


Figure 1 ^{111}In decay scheme and cascade gamma-ray

^{111}In has an intermediate state with the time constant of 85 nano seconds and emits 171 keV and 245 keV gamma-rays in a successive way. (Figure 1). By measuring the spatio-temporal distribution of 171 keV and 245 keV gamma-rays, the hyperfine interaction between nuclear spin and the external field was quantified. To measure the gamma-ray emission angle with high accuracy, eight 8×8 GAGG scintillators array coupled to SiPM array were used. 512 channel signals are readout in parallel by using dynamic Time over Threshold circuit for recording all the position, energy, and timing information as list mode data. Coincidence events are extracted from the data to identify the cascade gamma-rays.

2.2 Experimental Setup

Firstly, to quantify the response of ^{111}In nuclei to the magnetic field, we have applied different magnetic field strength (0-3 T) and measured the gamma-ray events in 90 degree and 180 degree emission for observing Larmor precession. (Figure 2).

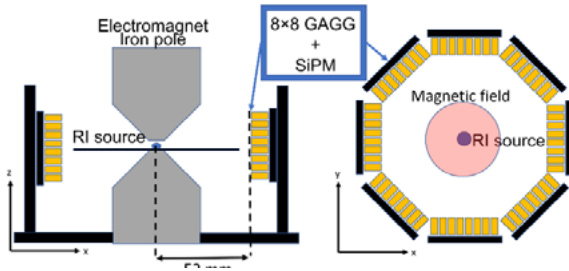


Figure 2 Experimental setup of magnet and detector geometry surrounding a source. Reprinted from Ref. 3)

3. RESULTS

Figure 3 shows the observed Larmor precession depending on the magnetic field strength.

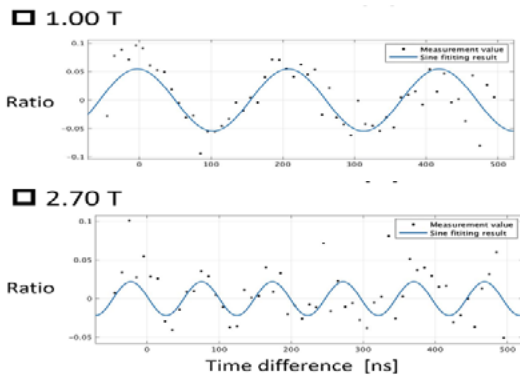


Figure 3 Larmor precession observed by gamma-rays (1 T and 2.7 T case) Reprinted from Ref. 3) and 4)

Figure 4 shows the comparison of previously reported value and experimentally measured data. The Larmor frequency of 2.34 MHz/T was observed and the position encoding by magnetic field is feasible.

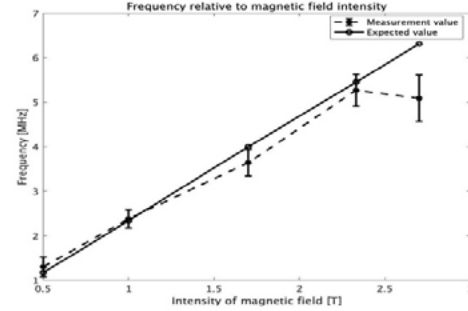


Figure 4 Larmor frequency by gamma-ray detections

9. DISCUSSION

This research demonstrates the detection of Larmor precession in liquid state $^{111}\text{InCl}_3$ molecule with high sensitivity around pico mole and also shows the feasibility of position detection encoded in the magnetic field strength with gamma-ray detection. On the other hand, to achieve a better spatial resolution, new algorithm will be required specialized to gamma-ray detection method. We have also started the investigation of SPION combined with cascade gamma-rays for the future integration of MRI and nuclear medicine technology.

Acknowledgement

This research is supported by funding of 28th research grant in the Watanabe foundation.

REFERENCE

- 1) Shimazoe, Kenji, Mizuki Uenomachi, and Hiroyuki Takahashi. *Communications Physics* 5.1 (2022): 24.
- 2) Shimazoe, Kenji, et al. "Dynamic time over threshold method." *IEEE Transactions on Nuclear Science* 59.6 (2012): 3213-3217.
- 3) Taisei Ueki, Master Thesis, The University of Tokyo, 2022
- 4) Ueki, Taisei, et al. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section A: Accelerators, Spectrometers, Detectors and Associated Equipment* 1050 (2023): 168122.

Verification of reflex improvement by the magnetic vestibular stimulation

Kunihiko Tanaka and Akihiro Sugiura

Graduate School of Health and Medicine

Gifu University of Medical Science

795-1 Nagamine, Ichihiraga, Seki, Gifu 501-3892 Japan

Abstract

Effects of magnetic vestibular stimulation on posture and arterial pressure control were examined. Center-of-gravity sway on a foam rubber with closed-eyes was measured for 1 minute in eight healthy volunteers. Neodymium magnets (0.4 T) or an aluminum disks (0 T) were attached behind the auricle during measurement. The trajectory length and the envelopment area of sway were significantly smaller when magnetically stimulated at 0.4T. The integrated values of 0.1-1Hz with 0.4T were significantly smaller on both the X-axis and the Y-axis. Arterial pressure control in six subjects were significantly augmented with 0.4T stimulation. Thus, magnetic vestibular stimulation increases vestibular-related motor and arterial pressure control function.

Keywords: gravity, posture, equilibrium system, orthostatic hypotension, vestibulo-arterial pressure reflex

1. Purpose

The vestibular system senses changes in posture and reflexively changes the muscle contraction for the eye movement and lower extremities to maintain posture. When strong galvanic vestibular stimulation is applied to the vestibular nerve, which transmits information to the central nervous system, dizziness is induced, and the center of gravity of the body sway increases¹⁾. On the other hand, it has been reported that applying of weak electrical stimulation suppresses the sway, that is, improves postural control²⁾. These responses do not contradict the “stochastic resonance”, the phenomenon in which if the “noise” is large, the stimulus is masked and reactivity is lowered, but if a weak stimulus is applied, the reactivity becomes higher.

Recently, we have demonstrated that the vestibular system is playing an important role not only in postural regulation, but also in arterial pressure (AP) control at the onset of posture change via the autonomic nervous system^{3, 4)}. When the posture is changed from the

supine position to the standing position, direction of the gravity to the body changes from the short axis to the long axis direction. The hydrostatic pressure in the blood vessels increases toward the foot, causing footward blood shift and AP should be dropped. At this time, the vestibular system senses the change in posture and reflexively constricts blood vessels to prevent this drop in AP. As described above, when strong electrical stimulation is applied to the vestibular nerve, postural changes cannot be sensed appropriately, and AP immediately decreases. AP is not decreased, or further increased with weak stimulation⁴⁾.

In medical institutions, various imaging machines are used. Magnetic Resonance Imaging (MRI), uses strong magnetic fields and electromagnetic waves to image the inside of the body. During MRI exam, especially when performing for the head, patients often complain “magnetic field sickness” such as dizziness and nausea. Since nystagmus is recorded without imaging, this phenomenon is considered to be caused

even in a static magnetic field where the magnetic field does not change⁵⁾.

Considering with the phenomenon observed by electrical stimulation, if strong magnetic stimulation disturbs the sense of balance, weak magnetic stimulation may increase the sensitivity and the controllability. Thus, in this study, we examine the effects of magnetic stimulation, which is relatively lower than the current MRI, on postural control and AP control via the vestibular system.

2. Methods

This study was approved by the Institutional Review Board at the Gifu University of Medical Science, and written informed consent was obtained from all subjects.

2-1 Center of gravity sway

Eight healthy volunteers were recruited. Center-of-gravity sway was measured for 1 minute (TKK5810, Takei Kikai) with a foam rubber, closed-eyes, and feet-closed position. A neodymium magnet (diameter 1.2 cm, 0.4 T) or an aluminum plate (diameter 1.2 cm, 0 T) was attached behind the auricle during measurement. Trajectory and envelopment area of the sway, and 0.1 – 1 Hz component of the sway in the left-right (X-axis) and front-back (Y-axis) directions were analyzed. The differences between 0.4T and 0T were compared.

2-2 AP change at the onset of standing

Six healthy volunteers were tested. While measuring continuous AP (Human NIBP, AD Instruments) with a neodymium magnet (0.4T) or an aluminum plate (0T) attached in the same manner as above, the posture was changes from the supine position to a 60° head-high

position (standing position). Difference in mean AP during supine position and 10-15 seconds after the onset of postural change was analyzed.

3. Results

Figure 1 shows the values of the center-of-gravity sway test. Both the average length (left) and the envelopment area (right) were significantly smaller when magnetically stimulated at 0.4T. Furthermore, in the frequency analysis, the integrated value of the area was significantly smaller for both the X-axis and the Y-axis.

Figure 2 shows the average AP at the onset of standing. With 0T, the AP did not change, but it increased significantly with magnetic stimulation of 0.4T at the onset of posture change.

4. Discussion

In the present study, during the center of gravity measurement, the somatosensory sensation was disturbed with the foam rubber, and visual information was blocked by closing the eyes. Thus, the decreases in the length and the area might be the results of improvement of the vestibular-related postural control. Decreases in the frequency componens support the idea. At the onset of standing, the vestibular system senses potural change, and actively increases AP. This is to prevent AP decrease due to the footward blood shift, and the effect was enhanced by magnetic stimulation. It should be verified in elderly people and patients with orthostatic hypotension or vestibular dysfunction.

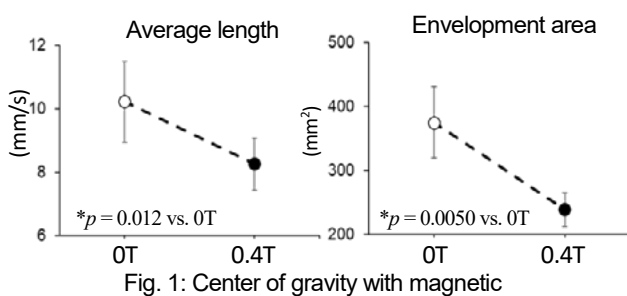


Fig. 1: Center of gravity with magnetic

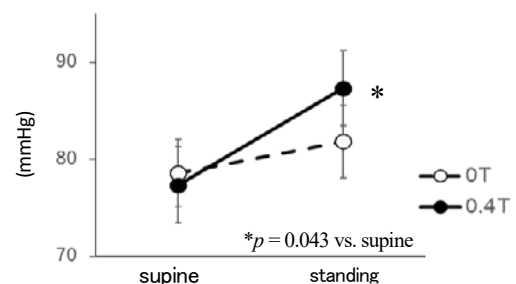


Fig. 2: Mean AP with magnetic stimulation

Acknowledgement

This study is supported by Watanabe Foundation, Magnetism Research grant, 3rd Osamu Okai Special Research Grant.

This study was presented at the 68th meeting of the Japan Society of Aerospace and Environmental Medicine (Nov. 24, 2022 Tokyo) and the 100th Anniversary Annual Meeting of the Physiological Society of Japan.

References

- 1) Fitzpatrick, R. C. et al: J Appl Physiol 96 2301-2316 (2004).
- 2) Iwasaki S. et al: Neurology 82 969-975 (2014).
- 3) Tanaka K. et al. Autonomic Neuroscience 148 90-96 (2009).
- 4) Tanaka K. et al. Autonomic Neuroscience 166 66-71 (2012).
- 5) Ward, B.K. et al: Frontiers in Neurology 8 122 (2017).

Toward the development of technology to create novel neuronal circuits using magnetic stimulation

Yoshito Masamizu

Graduate School of Brain Science, Doshisha University
1-3 Tatara Miyakodani, Kyotanabe-shi, Kyoto 610-0394 Japan

Abstract

In this project, I aim to develop the technology to create new neuronal circuits in the damaged brains to recover brain functions. In the future, I will implant neurons into the damaged brain, and plasticity will be induced by magnetic stimulation at specific times to create neuronal circuits with specific brain functions. In this research, I established a system in which the coils were installed on a head-fixed device needed to perform *in vivo* calcium imaging.

Keywords: magnetic stimulation

1. Purpose

We aim to recover brain functions using transplanting neurons into the brain. However, only the transplantation of neurons into the brain is not expected to reconstruct neural circuits with specific brain functions. Therefore, this study aims to develop the technology to create novel neuronal circuits in the damaged brain using magnetic stimulation. Specifically, I will implant neurons into the brain, and plasticity will be induced by magnetic stimulation at specific times to create neuronal circuits with specific brain functions. Furthermore, we aim to reveal neural activity changes during brain function recovery using *in vivo* calcium imaging.

2. Method

Calcium sensors are based on cpEGFP (circularly permuted enhanced green fluorescent protein), a calcium-binding protein (calmodulin), and a binding peptide (M13).

CaM undergoes a conformational change in the presence of calcium and associates with M13. The conformational change results in increased fluorescence brightness ^[1]. Using a glass window we reported previously ^[2], we aim to observe the neuronal activity in the same population of neurons for a long time (Fig. 1).

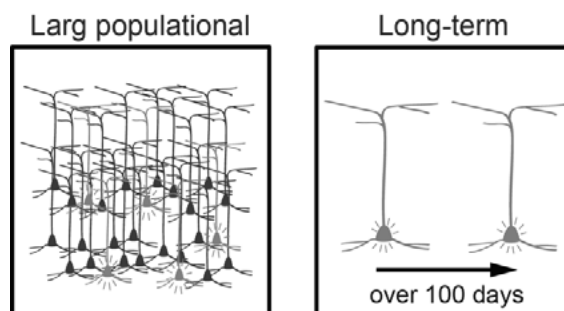


Fig. 1 Features of *in vivo* calcium imaging

In order to perform *in vivo* calcium imaging under a microscope, the animal must perform the task with the head constraint. (Fig. 2) [3].

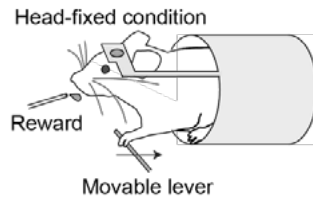


Fig. 2 Lever pull task performed with the head fixed

3. Results

I established a system in which the coils are installed on a head-fixed device capable of performing *in vivo* calcium imaging as described in the method. Next, I investigated whether magnetic stimulation is possible to light on a red LED (Fig. 3).



Fig. 3 Magnetic stimulator attached to head-fixed device

The magnetic stimulator consists of a pulse transmitter, a TTL-triggered controllable function generator, a pulse receiver connected to an external power supply for coil power transmission, and a coil for magnetic stimulation. This magnetic stimulator enables various types of stimulation using a large current to this small coil at specific frequencies and timings.

4. Discussion

In the future, I will investigate whether it is possible to control neural activity using *in vivo* calcium imaging and the magnetic stimulator developed in this study. Furthermore, we aim to recover brain function by implanting neurons into the brain and inducing plasticity through magnetic stimulation at a specific time to create novel neural circuits with specific brain functions.

Acknowledgement

This research was supported by the Watanabe Foundation.

References

- [1] Chen TW, Wardill TJ, Sun Y, Pulver SR, Renninger SL, Baohan A, Schreiter ER, Kerr RA, Orger MB, Jayaraman V, Looger LL, Svoboda K, Kim DS. Ultrasensitive fluorescent proteins for imaging neuronal activity. *Nature*, 2013;499(7458):295-300.
- [2] Sadakane O[#], Masamizu Y[#], Watakabe A[#], Terada S[#], Ohtsuka M, Takaji M, Mizukami H, Ozawa K, Kawasaki H, Matsuzaki M, Yamamori T. ([#] Co-first authors) Long-term two-photon calcium imaging of neuronal populations with subcellular resolution in adult non-human primates. *Cell Reports*, 2015;13(9):1989-99.
- [3] Masamizu Y[#], Tanaka YR[#], Tanaka YH, Hira R, Ohkubo F, Kitamura K, Isomura Y, Okada T, Matsuzaki M. ([#] Co-first authors) Two distinct layer-specific dynamics of cortical ensembles during learning of a motor task. *Nature Neuroscience*, 2014;17(7):987-94.

Development of Magnetic Nanoparticles for Cancer Thermal Therapy and Diagnostics

Yuko Ichiyanagi*

*Graduate School of Scientific Engineering, Yokohama National University
79-5 Tokiwadai, Hodogaya-ku, Yokohama 204-8501 Japan

Abstract

Recently magnetic nanoparticles are drawn attention, not only in physical properties but in the field of life science. Magnetic materials accumulate heat in response to external magnetic fields. This feature is useful for thermal therapy. They can also be used for diagnostic imaging. In addition, the nm size is large enough to be introduced into cells. In this proposal, magnetic particles are integrated with medicine to create a new science and technology.

Keywords: magnetic nanoparticles, hyperthermia, diagnostics

1. PURPOSE

In recent years, magnetic nanoparticles have attracted attention not only in high-density recording media and various magnetic materials, but also in the field of life science. The nanometer size is large enough to be introduced into a cell. On the other hand, magnetic materials accumulate heat upon an application of an external magnetic field. If magnetic nanoparticles that are specifically introduced into cancer cells are fabricated and heated by applying an external magnetic field to them, hyperthermia, a cancer thermotherapy using physical energy, will become possible. In this study, we aim to fabricate magnetic nanoparticles that generate heat in an external magnetic field, devise ways to selectively introduce them into cancer cells, and develop particles that also have diagnostic functions.

The heating of nano-sized magnetic particles is due to magnetic relaxation, which consists of Néel relaxation caused by the rotation of magnetic moments and Brown relaxation caused by the rotation of the particles themselves. We consider that the Néel relaxation, which is unaffected by the surrounding

environment, is the most effective heat-generating medium for magnetic hyperthermia.

We have confirmed the magnetic hyperthermia effect using SiO₂-encapsulated magnetic clusters in human breast and prostate cancer cells in vitro experiments.^{1,2)} In this study, we attempted to modify the clusters with PEG (Polyethylene Glycol), which is a highly biocompatible material.

2. METHOD

2-1. Preparation and evaluation of the particles

Magnetic nanoparticles of various compositions and particle sizes have been prepared using an original wet mixing method. As an example, nickel ferrite (NiFe₂O₄) particles were prepared by mixing the metal chlorides NiCl₂·6H₂O and FeCl₂·4H₂O, aqueous solutions of each and NaOH in a PEG (400 or 2000) solution, washing, drying, and sintering in an electric furnace. The particle size was adjusted by the amount of water added to the PEG. The particles were evaluated by X-ray powder analysis (XRD), electron microscopy (TEM), X-ray microstructure (XAFS), X-ray fluorescence (XRF), and infrared absorption

spectroscopy (FT-IR).

2-2. Magnetic measurements and temperature increase

DC magnetization and AC magnetization were measured with a SQUID magnetometer. For the temperature rise measurement, a device generating an AC magnetic field was constructed, and a sample packed in a glass tube was placed inside the coil.

2-3. In vitro experiments of hyperthermia treatment

Human breast cancer cells MBA-MD-231 were cultured in a dish, distributed with fine particles, and applied an alternating magnetic field ($f = 45.8$ kHz, $h = 8.8$ Oe) for 30 minutes, after which the peeled cells were stained and the number of living and dead cells was counted.

2-4. fabrication of MRI phantom and measurement of MR effect

A phantom sample was prepared by dispersing particles in agarose gel, and T_2 relaxation was measured using a spin-echo sequence.

3. RESULTS AND DISCUSSION

The AC magnetic susceptibility imaginary part χ'' has a peak at 310 K, near body temperature, for particles of 17 nm, which can be expected to generate

heat, and in fact the temperature rise is much higher than for other particle sizes, ³⁾ reaching 42.5°C, a temperature at which cancer cells can be killed (Fig.1). The results of in vitro experiments using human breast cancer cells are shown in Fig. 2. The three conditions of cell viabilities were, 1) Control, 2) Magnetic field only, and 3) Hyperthermia treatment. Despite the application of a very small magnetic field for only 30 minutes, more than 30% of the cancer cells were suppressed. The biocompatibility of the particles has been evaluated, and it has been confirmed that the particles alone are not toxic and that the biocompatibility is further improved by modification with PEG.

In MR measurements, a significant T_2 shortening effect was obtained in the Mn-ferrite system, and it is expected to be used as a diagnostic material.

4. Conference and Symposium Reports

Some of the contents of this paper were presented at the International Symposium on Nanomedicine2022 held at the University of Tokushima on December 7, 2022, and at the 70th Spring Meeting of the Japan Society of Applied Physics held at Sophia University, Hybrid, on March 17, 2023.

Acknowledgement

This study was supported by the 28th Magnetic Research Grant from the Watanabe Foundation.

References

- 1) T. Kondo, Y. Ichiyanagi et al., J. Appl. Phys. 117 17D157 (2015).
- 2) Harutaka Mekar, Yuko Ichiyanagi and Fuyuhiko Tamanoi, Cell-inspired materials and engineering, Magnetic nanoparticles and alternating magnetic field for cancer therapy, Springer (2021)p.165-179.
- 3) K. Ohara, T. Moriwaki, K. Nakazawa, T. Sakamoto, K. Nii, M. Abe and Y. Ichiyanagi, AIP Advances 13 025238 1-5 (2023).

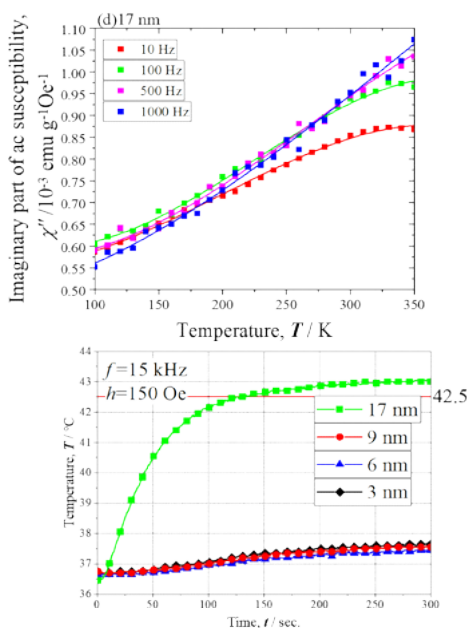


Fig.1 AC magnetic susceptibilities χ'' of 17 nm sample in 10-1 kHz field (upper) and increase in temperature of 3-17 nm samples in AC field. (down)

Verification of cognitive improvement by cognitive rehabilitation combined with repetitive transcranial magnetic stimulation

Tomokazu Takakura^{*,**}

^{*}Department of Rehabilitation Medicine, Juntendo University Graduate School of Medicine
2-1-1 Hongo, Bunkyo-ku, Tokyo 113-8421 Japan

^{**}Department of Rehabilitation Medicine, Juntendo Tokyo Koto Geriatric Medical Center
3-3-20 Shinsuna, Koto-ku, Tokyo 136-0075 Japan

Abstract

Repetitive transcranial magnetic stimulation (rTMS), a non-invasive brain stimulation (NIBS) method, is expected as a non-drug therapy for preventing the progression of dementia. Although there is still no unified consensus on the stimulation site and stimulation method, there are many reports using high-frequency stimulation (HF-rTMS) for the left dorsolateral prefrontal cortex (Lt.DLPFC), similar to depression treatment. Recently, there are also research reports using intermittent theta burst stimulation (iTBS). Concomitant use of cognitive function training (rTMS-Cog therapy) is also considered to be useful for improving cognitive functions in daily life. We plan to continue research on rTMS treatment aimed at improving cognitive and memory functions.

Keywords: transcranial magnetic stimulation, cognitive rehabilitation

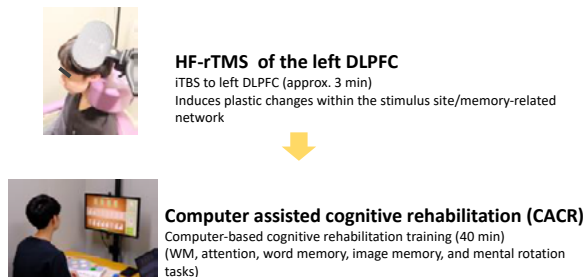
1. PURPOSE

Based on the results of the 2012 National Dementia Prevalence Survey, the number of people with dementia is expected to reach 7 million by 2025. It is important to prevent the progression of dementia from MCI. Repetitive transcranial magnetic stimulation (rTMS), a non-invasive brain stimulation (NIBS), can non-invasively modulate the plasticity of the stimulation site and its associated network. It has been investigated for a wide range of psychiatric and neurological disorders, including depression, pain, and post-stroke movement disorders. Recently, rTMS has shown promise as a non-pharmacological treatment for Alzheimer's disease (AD), dementia, and MCI to prevent the progression of symptoms. In this study, we will examine the efficacy of rTMS combined with computer-assisted cognitive rehabilitation (CACR) in short-term intensive cognitive rehabilitation therapy and its potential for clinical application in the future.

2. METHOD

Randomized controlled trial (RCT), Group A (15 patients): iTBS stimulation or Group B (15 patients): rTMS with sham stimulation followed by CACR (40 min) 3 times a week for 2 weeks in MCI patients aged 60 to 80 years. (Figure)

MOCA-J, digit span, spatial WM, verbal WM



(RST span score), verbal fluency, and electrophysiological testing using TMS (RMT, SAI (ISI 21-25grand mean)) before the intervention, at the end of the intervention, and 2W after the intervention, for comparison within and between counties and groups.

3. RESULTS

The nationwide outbreak of COVID-19 7th Wave (from July 2022) and 8th Wave (from October 2022) caused restrictions on the implementation of clinical research activities at the medical institution concerned, resulting in delays in the progress of this research. As of the end of March 2023, the COVID-19 epidemic was being contained, and we plan to continue this study to verify the efficacy of this treatment.

4. DISCUSSION

So far, for rTMS treatment of dementia and MCI, no consensus has been reached on (1) standard stimulation methods (stimulation intensity, frequency, and duration) and (2) optimal stimulation sites, then further accumulation of evidence is needed for practical application. Studies to improve cognitive function include rTMS alone and rTMS combined with cognitive

function training (rTMS-Cog therapy). Di Lazzaro et al. conducted a systematic review of RCTs conducted up to 2020 in AD and MCI. According to this report, high-frequency stimulation of the left dorsolateral prefrontal cortex (DLPFC) was the most common, followed by high-frequency stimulation of the bilateral DLPFC, high-frequency stimulation of the right DLPFC, low-frequency stimulation of the right DLPFC, and high-frequency stimulation of the multiple sites including Broca's area, Wernicke's area, bilateral inferior parietal lobes, bilateral DLPFC, and high-frequency stimulation of precuneus has been reported. In recent years, there have been increasing reports of intermittent theta burst stimulation (iTBS) for the purpose of improving cognitive function. theta burst stimulation (TBS) is a pattern stimulation with 3 bursts of stimulation at 50 Hz intervals repeated at 5 Hz, with 2 seconds of continuous intermittent stimulation and 8 seconds of pause. Compared to conventional high-frequency stimulation methods, iTBS is known to produce cortical plasticity in a shorter time and more efficiently. iTBS stimulation of the primary motor cortex of the upper limb is known to enhance corticospinal tract excitability for 30 minutes after stimulation. iTBS stimulation of upper limb primary motor cortex is known to enhance corticospinal tract excitability for 30 minutes after stimulation.

In a study conducted in patients with MCI to mild/moderate AD, HF-rTMS to the left DLPFC before cognitive training (add-on) was reported to promote training. Cognitive rehabilitation training after rTMS may be important to generalize the effects of rTMS to the prevention of everyday "forgetfulness". CACR is an enjoyable and repetitive game-like task, and its difficulty can be adjusted according to the subject's task achievement. CACR also provides an opportunity for participants to quantitatively and objectively observe their own memory abilities and is expected to provide an opportunity to acquire metacognition for the prevention of dementia progression.

ACKNOWLEDGMENT

We would like to express our deepest gratitude to the Watanabe Foundation for its support of this research.

REFERENCES

- 1) Di Lazzaro V, et al. Diagnostic contribution and therapeutic perspectives of transcranial magnetic stimulation in dementia. Clin Neurophysiol. 2021;132(10):2568-607
- 2) Bagattini C, et al. Enhancing cognitive training effects in Alzheimer's disease: rTMS as an add-on treatment. Brain Stimul. 2020;13(6):1655-64.

Development of Ultrasmall Nanocapsules for ^{19}F MRI Contrast Agent

Masafumi Minoshima* **

*Graduate School of Engineering, Osaka University

2-1 Yamadaoka, Suita, Osaka 565-0871 Japan

**JST PRESTO

2-1 Yamadaoka, Suita, Osaka 565-0871 Japan

Abstract

Magnetic resonance imaging (MRI) is a powerful tool for molecular imaging with high spatial resolution in deep tissues. In particular, ^{19}F MRI is a promising tool that enables visualization of ^{19}F -containing contrast agents without background signal from endogenous molecules. We have developed perfluorocarbon-encapsulated silica nanocapsules as an MRI contrast agent. Since biodistribution of nanoparticles depends on the size, the material, and the surface modification, we here addressed the development ultrasmall silica nanocapsules for ^{19}F MRI. These nanocapsules with 30 nm diameters were prepared and their biodistribution was visualized in living mice.

Keywords: MRI, ^{19}F MRI, silica nanocapsules

1. PURPOSE

Magnetic resonance imaging (MRI) is an imaging method based on nuclear magnetic resonance (NMR). Conventional ^1H MRI visualizes proton nuclei in deep tissue in body. Gadolinium complexes and superparamagnetic iron oxides are used as a contrast agent for ^1H MRI (ref.1), however, they sometimes suffer from discrimination of the signals from intrinsic ^1H MRI signals. In recent years, fluorine (^{19}F) MRI. ^{19}F MRI is a promising tool that enables visualization of ^{19}F -containing contrast agents without background signals from endogenous molecules (ref.2). Our group has developed perfluorocarbon-encapsulated nanocapsules for application to ^{19}F MRI. These nanocapsules show strong ^{19}F NMR signals and allow visualization of their localizations in living mice by using ^{19}F MRI (ref.3). However, the biodistribution study also implied that the nanocapsules tend to accumulate in liver for long period of time. Based on the finding of the size effects on the biodistribution of nanoparticles (ref.4), we develop ultrasmall (< 50 nm size) nanocapsules as the next generation of ^{19}F MRI

contrast agents.

2. METHOD

We prepared the ultrasmall nanocapsules by vigorous mixing and sonication with triphasic solutions comprised of fluorous phase containing perfluoro-15-crown-5-ether (PFCE), aqueous phase containing cationic surfactants, and organic phase containing tetraethyl orthosilicate (TEOS) as a silica precursor for polymerization. The size and structure of the obtained nanocapsules were characterized by using dynamic light scattering (DLS) and transmission electron microscopy (TEM). Encapsulated PFCE was characterized by using ^{19}F NMR. For in vivo ^{19}F MRI experiment, the ultrasmall nanocapsules were intravenously administered to mice. The mice immediately after and 3-day after administration were imaged by using ^{19}F MRI.

3. RESULTS

Using the aforementioned preparation protocol in triphasic solutions, the silica nanocapsules were

obtained. DLS results showed their sizes were distributed in smaller sizes (30-50 nm) together with larger sizes (100-150 nm). To separate the smaller nanocapsules, the supernatants was collected from the mixture of the nanocapsules by centrifugation. After dialysis, the ultrasmall nanocapsules with uniformed size distribution around 30 nm were obtained. From the TEM images, we confirmed the size and the core-shell structure of the nanocapsules. The ^{19}F NMR peak of PFCE was observed without peak broadening, indicating that PFCE was encapsulated in the nanocapsules as a liquid state keeping its fluidity. In addition, the use of the silica precursors for polymerization enabled preparation of the ultrasmall silica nanocapsules with cationic and anionic surfaces.

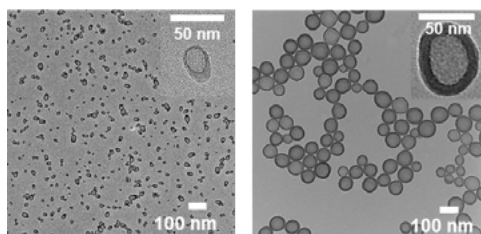


Figure 1. TEM images of ultrasmall nanocapsules (left) and nanocapsules in previous study (right).

Visualization of the nanocapsules were performed by using ^{19}F MRI. The ^{19}F MR signals were observed depending on the concentration of the nanocapsules. Moreover, in vivo ^{19}F MRI showed that the ^{19}F MR signals were observed in liver immediately after administration, whereas the signals were disappeared from the body 3-day after administration.

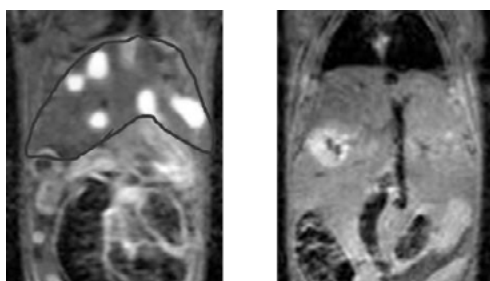


Figure 2. $^1\text{H}/^{19}\text{F}$ MRI of mice. (left) Immediately after administration (right) 3-day after administration. Black lines in left image indicates the area of liver.

4. DISCUSSION

The sizes of the obtained ultrasmall nanocapsules were approximately one third of those of the nanocapsules in our previous report. The decrease of the size was caused by the polymerization process of SiO_2 in the modified protocol. This protocol enables rapid templated hydrolysis on nanoemulsions without the size enlargement by flocculation, aggregation, and Ostwald ripening. In addition, the biodistribution results suggest that the ultrasmall silica nanocapsules were excreted from mice body after injection. In future, we will evaluate the ability of the targeted delivery to tumors in the ultrasmall nanocapsules by using ^{19}F MRI.

A part of this report was presented at the 10th Asian Conference on Bioinorganic Chemistry (AsBIC10) held in Kobe, Japan on November 29, 2022.

ACKNOWLEDGMENT

This study was supported by Watanabe Foundation.

REFERENCES

- 1) Wahsner Jessica, *et al. Chem. Rev.* 119, 957 (2018).
- 2) Tirotta Ilaria, *et al. Chem. Rev.* 115, 1106 (2015).
- 3) Hisashi Matsushita, *et al. Angew. Chem. Int. Ed.* 53, 1008 (2014).
- 4) Yu Matsumoto, *et al. Nat. Nanotechnol.* 11, 533 (2016).

Magnetic stimulation therapy by a wearable device for focal dystonia of the upper extremity

Kenta Fujimura*, Hitoshi Kagaya**

*Faculty of Rehabilitation, School of Health Sciences, Fujita Health University
1-98 Dengakugakubo, Kutsukake, Toyoake, Aichi 470-1192 Japan

** Department of Rehabilitation Medicine, National Center for Geriatrics and Gerontology,
Obu, 7-430 Morioka, Obu, Aichi 474-8511 Japan

Abstract

The purpose of this study was to determine the feasibility of using a wearable magnetic stimulator machine in conjunction with conventional rehabilitation and to evaluate the effect of magnetic stimulation below motor and sensory thresholds for focal dystonia of the upper extremity. Ten patients with stroke hemiplegia and one patient with focal dystonia of the upper extremity were included in the study. The results showed that the wearable device did not interfere with conventional rehabilitation and the feel and fit of the device were good. In addition, magnetic stimulation reduced symptoms of dystonia and improved the accuracy of writing ability. The effect may be sustained after 3 months of intervention.

Keywords: focal dystonia, wearable magnetic stimulator, feasibility

1. INTRODUCTION

Dystonia is an abnormal movement characterized by continuous or intermittent contractions of skeletal muscles. The prevalence of focal dystonia is reported to be 3-38 per 100,000 population.¹⁾ A focal dystonia of the upper extremities includes writer's cramp, musician's dystonia, and sports-related dystonia. Botulinum therapy is the first choice of treatment, but it is not covered by medical insurance in Japan. In addition, botulinum therapy is not widely used in the treatment of focal dystonia of the upper extremities due to the difficulty of the technique and the adverse effects such as muscle weakness. The effect of pharmacotherapy is uncertain due to the lack of evidence. On the other hand, transcutaneous electrical nerve stimulation (TENS) has been reported to be effective in improving spasticity by stimulating upper limb muscles below the motor threshold.²⁾ However,

TENS is not always well accepted by patients because of the time and labor required to apply electrodes to the skin, as well as the possibility of tingling sensation or discomfort during stimulation.

Recently, the clinical application of magnetic stimulation has been attracting attention. Magnetic stimulation does not require the attachment of electrodes and can be performed over clothing, making it easy to use in clinical practice. In addition, because nociceptors in the skin are not stimulated, stimulation above the sensory threshold with electrical stimulation is below the threshold within a certain range with magnetic stimulation, allowing stimulation without discomfort. The disadvantage of using magnetic stimulation is the bulkiness of the equipment, but since the intensity of electrical stimulation used in TENS is below the motor threshold, a small magnetic stimulator may be applicable. We have developed a compact and

lightweight wearable magnetic stimulator using magnets with reduced stimulation intensity (patent pending) (Fig 1). The device measures 7.9× 7.7 cm weighs 107.5g, and can be worn on the upper limb with a built-in battery and permanent magnet. It has a frequency of 150 Hz and a flux density of 0.2 T. It is capable of magnetic stimulation below the motor and sensory thresholds and may be effective in the treatment of focal dystonia of the upper extremity.

This study investigated the feasibility of using a wearable magnetic stimulator in conjunction with conventional rehabilitation and the effect of magnetic stimulation below the motor and sensory thresholds for the treatment of focal dystonia of the upper extremity.



Fig 1. Wearable Magnetic Stimulator (IFG)

2. METHODS

This study was approved by the institutional review board and was registered to jRCT (s042200013).

1) The feasibility of rehabilitation with a wearable magnetic stimulator

The subjects were 10 hemiplegic stroke patients. Their age was 72±11 years, height was 164.7±12.0 cm, and weight was 61.4±12.5 kg. The motor function of the paralyzed upper limb was 3.5±1.1 in the proximal test and 3.2±1.0 in the distal test of the upper limb by Stroke Impairment Assessment Set. Patients with a pacemaker, a history of epilepsy, and a non-removable metal object near the stimulation site, and pregnant women were excluded. All subjects gave written informed consent to participate in the study.

The magnetic stimulator was set on the wrist extensor muscles of the paralyzed forearm. The subject wore the device during rehabilitation for 60 minutes on

three consecutive days in the first week. The device was not used in the second week. It was also used in the third week on the wrist extensor muscles of the paralyzed forearm during rehabilitation for 60 minutes on three consecutive days. The feasibility of this device was evaluated by Likert Scale.

2) The effect on focal dystonia of the upper extremity

A male patient in his late 50s presented with right hemiplegia after left thalamic hemorrhage with focal dystonia of the upper limb. Four and a half years had passed since the onset of the disease, and only involuntary movements of the right upper limb remained without apparent paralysis. The subject gave written informed consent to participate in this study.

Magnetic stimulation was performed on the flexor forearm muscles including flexor digitorum superficialis and flexor pollicis longus (Fig 2). The immediate effects before and after 30 minutes of stimulation were examined. We also compared the writing ability of the subjects after 60 minutes of stimulation per day for 3 months. The amount of displacement, acceleration, and dynamicity were measured in a tracing task of a spiral figure (20 mm between circumferences, 3 laps) by using TraceCoder® (Sysnet Inc.).



Fig 2. Magnetic stimulation to forearm flexor muscles

3. RESULTS

1) The feasibility of rehabilitation with a wearable magnetic stimulator

The median values on Likert Scale were 5 (good), 5 (good), 7 (no pain), 7 (want to continue training with the device), and 6 (did not interfere with training),

respectively.

2) The effect on focal dystonia of the upper extremity

The amount of displacement in the tracing task was 3.3 ± 3.7 cm before stimulation and 1.8 ± 1.6 cm after stimulation. The acceleration was 0.3082 ± 0.4150 cm/s^2 before stimulation and 0.2057 ± 0.2341 cm/s^2 after stimulation, and the jerk was 0.0074 ± 0.0117 cm/s^3 before stimulation and 0.0043 ± 0.0050 cm/s^3 after stimulation. Figure 3 shows the changes in tracing tasks before and after 30 minutes of magnetic stimulation. The amount of displacement obviously decreased after the stimulation.

After 3 months of stimulation, the amount of displacement became 1.9 ± 1.3 cm, the acceleration 0.4293 ± 0.5480 cm/s^2 , and the jerk 0.0099 ± 0.0159 cm/s^3 .

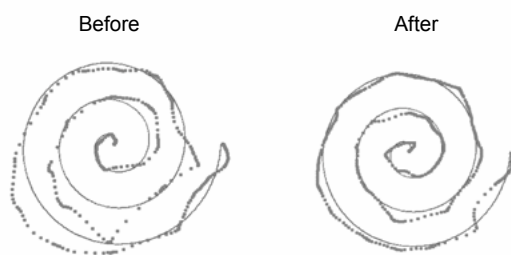


Fig 3. Changes in tracing tasks before and after 30 minutes of magnetic stimulation

4. DISCUSSION

This study investigated the feasibility of a wearable magnetic stimulator in conjunction with conventional rehabilitation and the effect of magnetic stimulation below motor and sensory thresholds on focal dystonia in a stroke patient. The use of this device did not interfere with conventional rehabilitation, and the feel and fit were good. In addition, this device did not cause pain or discomfort during stimulation. Therefore, the feasibility of this device is good.

Magnetic stimulation below motor and sensory

thresholds for focal dystonia in the upper extremity reduced dystonia immediately after stimulation and improved the accuracy of the tracing task. The results suggest that this effect may be sustained with long-term intervention. Although there are no clear normal values for the tracing task used in this study, our previous data on a healthy subject showed that the amount of displacement was 0.7 ± 0.5 cm, acceleration 0.2342 ± 0.2435 cm/s^2 , and jerk 0.0045 ± 0.0049 cm/s^3 . The results suggest that although the amount of displacement was not sufficient, the acceleration and the jerk improved to close to the normal values. TENS restructures the relationship between excitation and inhibition between the action and antagonist muscles by activating mainly afferent fibers.³⁾ Magnetic stimulation with this device also facilitated the restructuring of the interaction between the action and antagonist muscles in the central nervous system, which is significantly impaired by dystonia, through the same mechanism, and this may have resulted in improved writing ability of the upper limb. To clarify this effect, it is necessary to conduct a study by large sample with control groups.

ACKNOWLEDGEMENT

This study was supported by the Watanabe Foundation.

REFERENCES

- 1) Japanese Society of Neurology: Guidelines for the Treatment of Dystonia 2018. (in Japanese)
- 2) Tinazzi M, et al: TENS for the treatment of writer's cramp dystonia: A randomized, placebo-controlled study. *Neurology* 64 (11):1946-1948 (2005).
- 3) Tinazzi M, et al: Long-lasting modulation of human motor cortex following prolonged transcutaneous electrical nerve stimulation (TENS) of forearm muscles: evidence of reciprocal inhibition and facilitation. *Exp Brain Res* 161(4):457-64 (2005).

Membrane damage of cellular organelles by magnetic nanoparticles

Yoko Shiba*, Satoru Kobayashi**, Koichi Oyanagi**, and Yuji Shibasaki***

*Graduate course of Biological Sciences,

**Graduate course in Material Sciences and Engineering,

***Graduate course in Chemistry,

Division of Science and Engineering,

Graduate School of Arts and Sciences, Iwate University

3-18-33, Ueda, Morioka, Iwate, 020-0066, JAPAN

Abstract

Magnetic nanoparticles (MNPs) have been used for a variety of medical application including Drug Delivery System (DDS). MNPs are internalized into cells and transported to membranous organelles. We aimed at analyzing physical stiffness of organelle membrane by MNPs. We delivered MNPs into early endosomes in cancer cells and applied magnetic field from outside of cells, then examined if endosomal membrane was damaged or not by visualizing CHMP4B, a cytosolic marker of membrane damage. We found more CHMP4B colocalized with MNPs after applying magnetic field. We are now estimating the mechanical force required for membrane damage. These studies will develop the future technology that we could manipulate intracellular organelles by MNPs and magnetic field.

Keywords: Magnetic nanoparticle, organelle, membrane damage

1. PURPOSE

Mammalian cells have a variety of membranous structures called organelles that perform each different function. (Fig.1) Membranes of organelles partition the contents from cytosol, therefore physical property of membrane is important for organelle function. The tension of plasma membrane has often been reported by optical tweezers, however, physical properties of organelle membrane remain to be understood.

Magnetic nanoparticles (MNPs) are the magnetized and nano-sized particles that can be controlled by magnetic field. In this study, we aimed at measuring the stiffness of organelle membrane by internalizing MNPs into organelles and applying magnetic field

from outside of cells. Our study would reveal the novel information of membrane property.

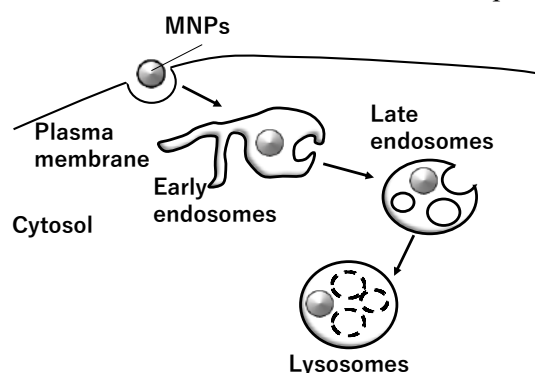


Figure 1. Intracellular Traffic in mammalian cells. Nutrients are internalized into cells and transported to early endosomes, late endosomes and lysosomes to be degraded. Basically, MNPs also follow this route.

2. METHODS

We made MNPs (15 nm in diameter) from iron oleate by thermal decomposition method. The spherical shape of MNPs were confirmed by transmission electron microscopy (TEM). Next, we modified the surface of MNPs. We introduced hydroxy groups (OH) on the surface of MNPs, and polymerized glycidol by living polymerization. Polyglycidol has high biocompatibility and gives solubility in water to MNPs. In addition, we partially replaced OH groups of polyglycidol to NH₂, then introduced Fluorescein Isothiocyanate (FITC), a green fluorescent dye. We eliminated aggregated MNPs by centrifugation and the efficiency of the modification was monitored by UV-Vis spectroscopy and thermogravimetric analysis. The obtained MNPs encapsulated with polyglycidol were well-dispersed in water, and the morphology was confirmed by TEM. We obtained the encapsulated MNPs (approximately 20 nm in diameter) after the surface modification. (Manuscript in preparation)

3.RESULTS

We internalized the above MNPs into human metastatic breast cancer cell line, MCF-7, and examined cytotoxicity by MTT assay in a variety of concentration for 24- 72hr. The MNPs showed no cytotoxicity below 100µg/ml in 24hr. Then we internalized MNPs and incubated at 37°C for several time points, and found that in 20 min, MNPs colocalized with EEA1, an early endosome marker, and within 1hr, colocalized with lamp-1, a lysosome marker. These results suggest that MNPs are delivered to the early endosome in 20 min, and to the lysosome in 1hr. Our prediction is that applying magnetic field after 20 min of internalization could specifically damage the membrane of the early endosome. When organelle membrane was damaged, CHMP4B, a subunit of ESCRT protein complex, is recruited to damaged membrane from cytosol and repairs the membrane damage. We overexpressed CHMP4B fused to DsRed, a red fluorescent protein, to MCF-7, and internalized MNPs for 20 min. We applied magnetic field for 5 min by direct current (DC), 2V, or alternating current (AC), 6V, 0.5Hz. We found more

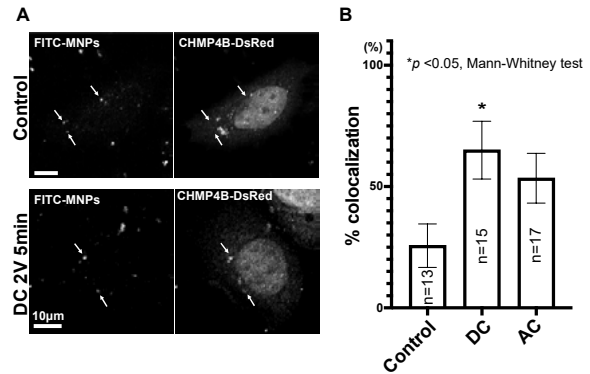


Figure 2. A. MNPs were internalized for 20 min and applied magnetic field. The arrows indicated MNPs. Note that CHMP4B colocalized with MNPs in DC. B. The experiments of A were repeated twice, and quantified colocalization. Note that increase of colocalization in DC was statistically significant.

CHMP4B colocalized with MNPs after applying magnetic field. (Fig.2A) We quantified the colocalization between MNPs and CHMP4B, and confirmed that in DC, the colocalization between CHMP4B and MNPs was increased. (Fig.2B) These results suggest that the early endosomes are injured by MNPs after applying magnetic field of DC.

4. DISCUSSION

In this study, we found that MNPs were colocalized with CHMP4B after applying magnetic field. Especially, DC gave more colocalization, suggesting that DC gives more damage than AC, that is usually used for hyperthermia to kill cancer cells. We are now estimating the force required for membrane damage. Our study would reveal the novel mechanism for membrane damage and possibility to use DC for future application.

5. Acknowledgements

This study was supported by the Watanabe foundation. This study will be reported in the 75th meeting of Japanese Cell Biology Society, 2023, June,27-30th.

REFERENCES

- 1) Mercier et al : Endosomal membrane tension regulates ESCRT-III-dependent intra-luminal vesicle formation, Nat Cell Biol,(8),947, (2020)

Roles of AMPA-type glutamate receptors on gamma-band neural oscillatory dysfunctions in schizophrenia

Shunsuke Tamura^{***}, Yoji Hirano^{***} and Ryo Mitoma^{*}

^{*} Department of Neuropsychiatry, Graduate School of Medical Sciences, Kyushu University
3-1-1 Maidashi, Higashi-ku, Fukuoka 812-8582 Japan

^{**}Department of Psychiatry, Faculty of Medicine, University of Miyazaki
5200 Kihara, Kiyotake-cho, Miyazaki 889-1692 Japan

Abstract

In the present study, we investigated roles of AMPA (α -amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazole propionic acid)-type glutamate receptors on abnormal gamma-band oscillatory activity in schizophrenia (SZ). We measured resting-state magnetoencephalography (MEG) from SZ patients and healthy controls. We also assessed their AMPA receptor functions using a positron emission tomography tracer of AMPA receptor, [¹¹C]K-2. The MEG data analysis revealed that gamma-band oscillatory networks in SZ had hyper-connectivity throughout the brain. In addition, we found a strong correlation of AMPA receptor density with gamma-band network features in the posterior ramus of the right lateral sulcus. Our present study is the first to examine the connection of AMPA receptor function to gamma-band oscillatory activity in the human brain.

Keywords: schizophrenia, AMPA receptor, gamma-band neural oscillation, neural network

1. PURPOSE

Neurophysiological mechanisms underlying schizophrenia (SZ) have not been fully clarified despite the enormous importance of its diagnosis and treatment in society. Gamma-band neural oscillation (periodic neuronal activity at frequency of 30-100 Hz) has attracted attentions as one of promising neurophysiological endophenotypes of SZ¹⁾. However, most studies reporting altered gamma-band oscillations in SZ used electroencephalography with low spatial resolution, and therefore the brain regions responsible for these abnormalities have not been identified.

Based on findings of preclinical studies using animal models of SZ, it is conceivable that altered

gamma-band neuronal oscillations are caused by impairment of excitatory neurotransmission mediated by neurotransmitters such as glutamate¹⁾. However, no studies have examined the relationship between gamma-band oscillations and excitatory neurotransmitter function in the human brain.

In the present study, we attempted to identify brain regions responsible for abnormal gamma-band oscillations in SZ by measuring resting-state brain activity from SZ patients and healthy controls (HCs) using a magnetoencephalography (MEG) with excellent spatial resolution. We also measured their α -amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazole propionic acid (AMPA) receptor density using a

positron emission tomography (PET). We examined the relationships between AMPA receptor density and gamma-band oscillatory features throughout the whole brain.

2. METHOD

Twenty-seven healthy controls (HCs) and 21 SZ patients participated in MEG experiment. Of these participants, 14 HCs and 12 SZ patients also participated in PET experiments.

We used a 306-channel whole-head MEG system (Elekta, Neuromag) to measure 4 minutes resting-state brain activity. During the MEG measurement, the participants were instructed to keep in a supine position with closed eyes. T1-weighted images were also obtained using a Phillips 3T MRI system.

We used MNE-Python (a software for EEG and MEG analysis) and FreeSurfer (a software for brain image analysis) to analyze the MEG data. After co-registration of MEG and MRI data, we estimated gamma-band oscillatory activities at 150 anatomical brain regions. Next, functional connectivities were evaluated by calculating envelope correlations of gamma-band oscillatory activity among the brain regions. Based on the results of functional connectivity analysis, we obtained the characteristics of the gamma-band brain networks. Specifically, we calculated a degree centrality (D-CENT) and clustering coefficient (C-COEF) that indicate the degree to which a specific brain region forms clusters with other brain regions. We used *t*-tests to determine whether there was a significant difference in D-CENT or C-COEF between SZ and HC groups in each brain region. False Discovery Rate (FDR)-correction was applied to *p*-values of *t*-tests to correct for multiple comparisons.

For measurements of PET, we used [11C]K-2, an AMPA receptor PET probe that has been validated in human brain²⁾. PET images were obtained using a biograph mCT system (Siemens). After aligning the PET and MRI data, partial

volume correction (PVC) value was obtained as a measure of AMPA receptor density at 150 anatomical brain regions. We examined whether D-CENT and C-COEF values were significantly correlated with PVC value in the brain regions where significant group differences in D-CENT and C-COEF were observed. We calculated a Spearman's correlation coefficient for each brain region and corrected its *p*-value using the FDR-correction.

3. RESULTS

The MEG analysis revealed that the functional connectivities between the brain regions were abnormally elevated in SZ group. In addition, we found that the D-CENT and C-COEF, which were calculated from functional connectivity data, were significantly higher in SZ than HC groups in almost all brain regions.

In the brain regions where significant group differences in D-CENT and C-COEF were found, we examined their correlations with PVC. We found a strong positive correlation between D-CENT and PVC in the posterior ramus of the right lateral sulcus (Figure 1) ($\rho = 0.633$, $p = 0.046$).

4. DISCUSSION

Using MEG, we found that the gamma-band hyper-connectivities were observed throughout the brain regions. This result is consistent with previous findings that spontaneous gamma-band activity is abnormally enhanced in SZ¹⁾ but is different from a previous study that examined network characteristics in SZ using the D-CENT and C-COEF. Therefore, further investigations would be needed to confirm the reliability of our findings.

Regarding the relationship between gamma-band network features and AMPA receptor function, we found that D-CENT was positively correlated with AMPA receptor density in the posterior part of the right lateral sulcus. This

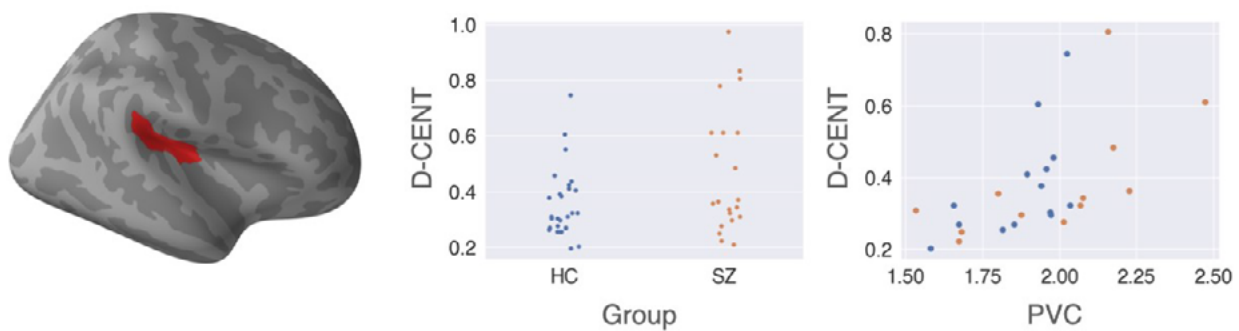


Figure 1. Group comparison of D-CENT (middle panel) and scatter plots of D-CENT as a function of PVC (right panel) in the posterior ramus of the right lateral sulcus (left panel) .

result suggests that the gamma-band network in this region had hyper-connectivities with the other brain regions when the AMPA receptor density was higher. However, in the other brain regions, no significant correlations were observed. Therefore, it is conceivable that neurotransmitter functions other than the AMPA receptors would be also involved in altered gamma-band neural activity in SZ. In the future study, it would be necessary to investigate involvement of not only AMPA but also N-methyl-D-aspartic acid (NMDA) and gamma-Aminobutyric acid (GABA) receptors with gamma-band oscillatory networks.

magnetoencephalography study. *Psychiatry and Clinical Neuroscience*, 76(7), 309-320.

ACKNOWLEDGEMENTS

I would like to acknowledge the Watanabe Foundation for financially supporting this study.

REFERENCES

- 1) Hirano, Y., & Uhlhaas, P. J. (2021). Current findings and perspectives on aberrant neural oscillations in schizophrenia. *Psychiatry and Clinical Neuroscience*, 75(12), 358-368.
- 2) Miyazaki, T., Nakajima, W., Hatano, M., et al. (2020). Visualization of AMPA receptors in living human brain with positron emission tomography. *Nature Medicine*, 26(2), 281-288.
- 3) Tagawa, M., Takei, Y., Kato, Y., et al. (2022). Disrupted local beta band networks in schizophrenia revealed through graph analysis: A

Risk stratification using liver magnetic resonance elastography in patients with heart failure

Toshiyuki Nagai

Department of Cardiovascular Medicine, Faculty of Medicine and Graduate School of Medicine,
Hokkaido University, Kita-15, Nishi7-Kita-ku, Sapporo 060-8638 Japan

Abstract

Right atrial pressure (RAP) measured by an invasive catheter is one of the key determinants of adverse events in patients with heart failure (HF). Recently, we have developed a novel non-invasive method for accurate estimation of RAP using liver stiffness assessed by magnetic resonance elastography (MRE). We performed liver MRE for 207 HF patients and found the significant association between liver stiffness assessed by MRE (LS-MRE) and subsequent adverse events. In conclusion, elevated LS-MRE may be useful for risk stratification in patients with HF.

Keywords: right atrial pressure, heart failure, liver stiffness, congestion, prognosis

1. PURPOSE

Heart failure (HF) is the leading cause of death among cardiovascular diseases. The number of HF patients is increasing worldwide despite advances in medical therapy and devices, with the social problem of a HF pandemic. Amongst many pathophysiologic factors, congestion is considered to be one of the most important drivers for end organ injury and failure in HF. Right atrial pressure (RAP) is a dominant parameter of congestion, and its elevation is an important determinant of worse clinical outcomes in HF patients.

Recently, evaluating liver stiffness (LS) by ultrasound elastography for non-invasive RAP estimation has been reported.¹⁾ Nevertheless, several studies have indicated limitations of ultrasound elastography regarding its low reliability and reproducibility.

Magnetic resonance elastography (MRE) is an emerging non-invasive modality using magnetic resonance imaging (MRI). Measurement of LS by MRE (LS-MRE) has high accuracy and reproducibility to quantify mechanical properties of

tissue and is useful for evaluating liver fibrosis and cirrhosis.²⁾ We have reported that LS-MRE showed a significant positive correlation with RAP, and had greater accuracy for predicting elevated RAP compared to conventional non-invasive modalities of liver ultrasound and echocardiography in patients with HF and without chronic liver disease.³⁾ However, the value of LS-MRE in patients with HF in relation to clinical outcomes is unclear. Accordingly, the aim of this study was to investigate whether LS-MRE could predict clinical outcomes in patients with HF.

2. METHOD

This was a single-center, observational, prospective study that included consecutive patients aged ≥ 20 years with a diagnosis of HF requiring hospitalization in our university hospital and scheduled for RHC from April 2018 to May 2021 (Figure 1).

Prior to MRE, all patients underwent fat-suppressed T1-weighted imaging, which was read by radiologists to exclude organic liver disease. MRE was performed within 4 days of right heart catheterization with a 3.0 Tesla MRI scanner; Discovery 750W (GE Healthcare)

using 16- and 40-channel GEM array coils, and the results were expressed as shear modulus (kPa).

Follow-up data were obtained through outpatient consultations, telephone interviews with the patient or family members, and mail. The primary outcome of interest was the composite of all-cause death and hospitalization for HF.

The cumulative incidence of the composite of all-cause death and hospitalization for HF was estimated by Kaplan-Meier analysis, and log-rank test was performed to assess significance according to the median LS-MRE value. To evaluate the influence of LS-MRE on all-cause death and hospitalization for HF, we constructed univariable and multivariable Cox proportional hazard models. Multivariable analyses were performed using forced inclusion models including age, sex, and pertinent covariates.

Linear regression analysis was performed to determine the factors that were significantly associated with LS-MRE. After univariable screening, candidate variables that are indicators of congestion, liver function and liver fibrosis achieving $p < 0.10$ were entered into a multivariable model to identify independent predictors of LS-MRE.

3. RESULTS

During a median follow-up period of 720 (interquartile range [IQR] 434-1013) days, the primary outcome occurred in 44 patients (21%), including 15 (7%) all-cause deaths and 29 (14%) hospitalizations for HF. The patients were divided into two groups according to median LS-MRE of 2.54 (IQR 2.34-2.82) kPa (Figure 1). Patients with higher LS-MRE showed a higher incidence of the primary outcome compared to those with lower LS-MRE ($p < 0.001$) (Figure 2). Multivariable Cox regression analyses revealed that LS-MRE value was independently associated with the risk of adverse events (hazard ratio 3.98, 95% confidence interval 2.14-5.62). In multivariable linear regression, RAP showed a stronger correlation with LS-MRE (β coefficient = 0.31, $p < 0.001$) compared to markers related to liver fibrosis.

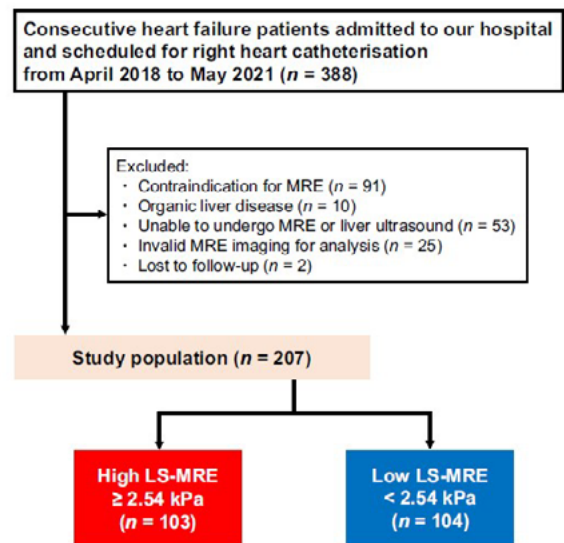


Figure 1. Flow diagram of present study.

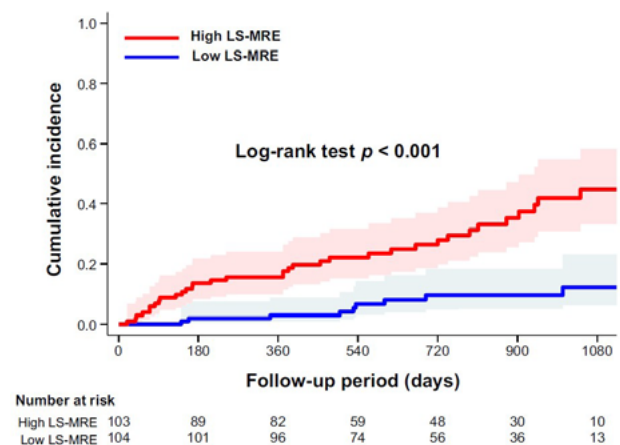


Figure 2 Kaplan-Meier analysis of composite of all-cause death and hospitalization for HF categorized by LS-MRE.

4. DISCUSSION

This study is an initial report evaluating the prognostic significance of LS-MRE in patients with HF and no organic liver disease.⁴⁾ The major finding of this study was that higher LS-MRE was independently associated with increased incidence of all-cause death and hospitalization for HF even after adjustment for previously established variables for predicting worse clinical outcomes.⁴⁾ Moreover, LS-MRE was independently correlated with RAP, hyaluronic acid, FIB-4 index, GGT and type IV collagen 7s. Among these, RAP showed the strongest correlation with LS-MRE, indicating that assessment of LS-MRE would be useful for risk stratification in patients with

HF.⁴⁾

In HF patients, elevated RAP, which is transmitted to the liver via passive congestion, making the liver larger and harder (i.e., elevation of LS) because the liver is encapsulated by a non-elastic membrane. Millonig et al. confirmed its mechanism by demonstrating that central venous pressure directly controlled LS measured by ultrasound elastography with perfect correlation ($r = 1.0$, $p < 0.01$) in a reversible manner during clamping or de-clamping of the IVC in a porcine model.⁵⁾

Chronically elevated hepatic venous pressure leads to perivenous and perisinusoidal fibrosis in the liver parenchyma, and eventually poorly reversible bridging fibrosis develops.⁶⁾ In that stage of advanced liver fibrosis caused by a long duration of HF, LS may not always change in parallel with RAP. In addition, the liver is a compliant organ and may expand before its stiffness increases, and the pulsation transmitted to the liver may not be accurately captured by the MRE as one needs to perform an ECG-gated study. Therefore, a modest correlation between LS-MRE and RAP would be reasonable in clinical settings from our study. However, the median LS-MRE in the present study was 2.54 (IQR 2.34-2.82) kPa, and, with two exceptions, subjects had values below 4.0 kPa. Yoshimitsu et al. reported a significant correlation between LS-MRE and the pathological grade of liver fibrosis (F0 [no fibrosis] - F4 [cirrhosis]) using the METAVIR scoring system [37; 38] in 70 patients who underwent both liver MRE and biopsy within a 3-month interval.²⁾ In their study, LS-MRE was 2.6 ± 0.4 , 3.4 ± 0.6 , 3.8 ± 1.1 , 6.0 ± 1.4 and 8.2 ± 2.0 kPa for F0, F1, F2, F3 and F4, respectively. These findings suggest that the majority of our HF population could be classified as F0 or F1.

Interestingly, our study showed that LS-MRE had higher discriminative value for predicting adverse events compared to LS estimated by ultrasound (Harrel's c-statistics: 0.724 vs. 0.582, $p = 0.015$), which was consistent with our previous report on the prediction of RAP.³⁾ It is suggested that the accuracy of LS-MRE is higher than that of LS estimated by

ultrasound in assessing RAP and outcome prediction.

REFERENCES

- 1) Omote K, et al. Heart and Vessels 2019; 34: 984-991.
- 2) Yoshimitsu K, et al. European Radiology 2016; 26: 656-63.
- 3) Kato Y, et al. JACC Cardiovasc Imaging 2020; 13: 2050-52.
- 4) Tada, et al. Eur Radiol 2023; 33: 2062-2074.
- 5) Millonig G, et al. J Hepatol 2010; 52:206-210.
- 6) Wells ML, et al. Radiographies 2016; 36:1024-37.

The Subjects for the 2022 Research Grants

Here are the subjects (1 Basic Researches, 4 Application Researches, 3 Specific Researches) that the 2022 Research Grants are subsidized.

I. Basic Research

- I-1. Study on maintenance of stem cell stemness using elastic modulus control of culture substrate by magnetic field manipulation
Graduate School of Science and Technology, Kumamoto University/Yasuyuki MORITA

II. Application Research

- II-1. Development of novel transcranial magnetic stimulation therapy for mental health disorders associated with long-COVID
Keio University, School of Medicine, Department of Neuropsychiatry/Yoshihiro NODA
- II-2. Novel magnetic nanoparticles for potentiating anti-tumor activity in T cells
Keio University, School of Medicine,
Institute for Advanced Medical Research Division of Tumor Immunology/Yusuke ITO
- II-3. Establishment of bladder preservation therapy using nanoparticles for muscle invasive bladder cancer
Department of Nephro-urology, Graduate School of Medical Sciences, Nagoya City University/
Masakazu GONDA
- II-4. Mechanism of spasticity treatment using peripheral magnetic stimulation
Department of Rehabilitation Medicine, Keio University School of Medicine/
Takayuki KAMIMOTO

III. Specific Research

- III-1. Elucidation of the effect of upper-limb muscle contractions on plastic brain changes induced by paired associative stimulation with magnetic and electrical stimulation of the lower limb
Sony Computer Science Laboratories, Inc./Tatsuya KATO
- III-2. Investigation of the mechanisms underlying the neuromodulatory effects of tSMS (transcranial static magnetic field stimulation)
Department of Physical Therapy, Niigata University of Health and Welfare/Sumiya SHIBATA
- III-3. Elucidation of the mechanism of static magnetic fields on nerve nodes and application to medical devices for women that can be used at home
Department of Cardiovascular Surgery, School of Medicine, Osaka University/Eri KANEDA

Note: Affiliations above are at the time of the grants were subsidized.

THE REPORT OF STUDY RESULT BY SUBSIDY
助 成 研 究 成 果 報 告 書
第28回

発 行 日	令和5年9月1日
発 行 所	公益財団法人 渡邊財団 福岡県福岡市中央区天神1-13-17 TEL 092-724-3605 FAX 092-724-3690
印 刷	三栄印刷株式会社

より明瞭なカラーデータの図表をご希望の方はサイト(<https://watanabe-zaidan.or.jp/>)に掲載しておりますのでご覧下さい。



この印刷物は、環境に配慮した
ベジタブルインクを使用しています。