

^{17}O -MRI による脳の画像診断法

前田 彰彦^{*1}, 工藤 與亮^{*3}, 原田太以佑^{*4}, 亀田 浩之^{*4}, 大野 敬司^{*1},
櫻井 勇斗^{*2}, 下平 晴記^{*1}, 吉田 秀俊^{*1}, 平 博司^{*1}

Maeda Akihiko, Kudo Kohsuke, Harada Taisuke, Kameda Hiroyuki, Oono Takashi, Sakurai Hayato, Shimodaira Haruki,
Yoshida Hidetoshi, Taira Hiroshi

1. はじめに

近年、分子イメージングは、がん、脳血管疾患、心疾患等の画像診断法として広く普及している。SPECT（単光子放出断層撮像法）、PET（陽電子放出断層撮像法）等、放射線を利用した手法がその主流となっている中で、安定同位体である ^{17}O を利用した MRI（核磁気共鳴撮像法）の開発が進んでいる。これは、水- ^{17}O （ H_2^{17}O 、以下「Water- ^{17}O 」）を分子プローブとして脳血流や脳脊髄液等の動態を画像化する世界で初めての試みであり、放射線被ばくがなく水分子そのものの動態を観測できることがその大きな利点となっている。

本開発は、内閣府の最先端・次世代研究開発支援プログラム「水分子プローブと位相変動を利用した次世代非侵襲的脳血流代謝 MRI 検査法の開発」として岩手医科大学先端医療研究センターで 2010 年度から開始された。その後、北海道大学病院に研究開発の主体を移し、2017 年度には医師主導型第 I 相臨床試験（健康成人での ^{17}O -MRI 撮像）を実施、人体での安全性や画像の有用性等が明らかにされている。

本稿では、「Water- ^{17}O 」を用いた MRI 脳診断技術に加え ^{17}O 製造技術について紹介する。

2. Water- ^{17}O を用いた MRI 脳診断技術

自然界に 0.038% 程度存在する ^{17}O は、酸素の安定同位体の中で唯一 MRI の信号変化をもたらす核

種である。 ^{17}O 自体の核磁気共鳴（NMR）現象¹を利用した MRI 撮像は直接法と呼ばれるが、 ^{17}O の共鳴周波数（5.8 MHz/T）は臨床用 MRI 装置で利用される水素原子核（プロトン）の共鳴周波数（42.6 MHz/T）とは異なっているため、専用の RF アンプや送受信コイル等が必要となる。また、 ^{17}O の T2 値²は非常に小さいため、超短 TE³等の特殊な撮像シーケンスも必要となる。一方、 ^{17}O で標識された水分子（ H_2O ）のプロトンは T2 短縮が生じるため、プロトンの信号変化として捉えることも可能であり、これは間接法と呼ばれる。間接法ではプロトンの NMR 現象を利用するため臨床用 MRI 装置で撮像が可能であり（図 1）、直接法よりも高感度で ^{17}O を検出することができる。その他、 ^{17}O の共鳴周波数の CW 照射⁴によるデカップリング法⁵もあるが、直接法と同様に特殊なハードウェアが必要となる。

Water- ^{17}O は ^{17}O で標識した水分子であるが、水分子であるためアレルギー反応や腎不全患者でのリスクもなく、生体に安全に投与することができる。静脈内投与により様々な臓器の血流量や血管透過性の定量解析が可能である。また、 ^{17}O は酸素ガス（ O_2 ）として投与することもできる。酸素ガスの状態では MRI の信号変化を捉えることはできないが、細胞

- 1 核磁気共鳴（NMR）現象：外部静磁場に置かれた原子核が固有の周波数の電磁波と相互作用する現象
- 2 T2 値：スピン-スピン緩和に要する時間（横緩和時間）
- 3 超短 TE：エコー時間（TE）を超短時間に設定できる撮像法
- 4 CW 照射：一定のエネルギーを連続照射する手法
- 5 デカップリング法：スピン結合を何らかの方法で取り除き、信号の分裂を防ぐ手法



図1 3T 臨床用 MRI (日立製作所)

内で代謝されて水分子になると MRI の信号が変化するため、酸素代謝の画像化が可能である。

^{15}O -PET は脳血流や酸素代謝の定量解析におけるゴールドスタンダードとされている。しかし、 ^{15}O は半減期が 122 秒と短く、サイクロトロンが必要であり、放射線被ばくがある。それに対し、 ^{17}O は核種としての半減期がないため長時間のトレーサ解析が可能であり、放射線被ばくもないのが大きな利点である。なお、MRI で用いられる Gd 造影剤はアレルギー反応や腎不全患者での腎性全身性線維症 (NSF) のリスクがあるが、 ^{17}O にはそのような危険がないため安全性が高い。

1) Water- ^{17}O の安全性

前述のように ^{17}O は原理的に安全と考えられるが、ヒトに静脈内投与するには安全性試験が必要である。これまでに非 GLP 反復投与毒性試験 (ラット)、Ames 試験、GLP 反復投与複合型毒性試験 (ラット)、GLP 反復投与毒性試験 (マーマセツト)、GLP 安全性薬理試験 (マーマセツト) を行っており、Water- ^{17}O に関連した毒性等は認められなかった。これらの動物での安全性試験に引き続き、北海道大学病院臨床研究開発センターの Phase I Unit を利用してヒトでの医師主導型第 I 相試験も行った。二重盲検にてプラセボ、10 atom% または 20 atom% の Water- ^{17}O の静脈内投与を行ったが、有害事象は発生せず、バイタルサインや臨床検査値に有意な変動を認めなかった。体内動態の解析では生物学的半減期は約 6.7 日と推定された。MRI の信号変化は脳皮質、大脳白質、視床・基底核で計測し、10 atom% 投与群ではプラセボに対して大脳皮質、視床・基底核で有

意な信号変化を認めており、20 atom% 投与群では大脳皮質、大脳白質、視床・基底核のすべてで有意な信号変化を認めた。

2) ^{17}O -MRI 診断

筆者らは Water- ^{17}O の MRI 撮像法として間接法を用いている。間接法では ^{17}O の存在によるプロトンの T2 短縮を利用するため、基本的に T2 強調型⁶ の撮像シーケンスが用いられる。T2 強調型の撮像シーケンスには様々な手法があるが、トレーサ解析に重要な時間分解能と空間分解能のバランスが良い steady-state 型の撮像シーケンスを用いて動物実験を行った。MRI の信号変化は数値シミュレーションが可能であるため、MRI 信号変化から ^{17}O 濃度を定量することができ、濃度ファントムでのバリデーションでも良好な直線性を認めている。

20 atom% 濃度の Water- ^{17}O をビーグル犬に静脈内投与して steady-state 型の撮像シーケンスにて連続撮像を行った結果、小脳皮質で大きな濃度変化を認めており、大脳皮質や大脳白質でも有意な濃度変化を認めた。同時に側脳室内でも有意な濃度変化が観察されており、脳脊髄液動態の解析も可能であることが示唆されている。

健康成人での臨床研究においても 20 atom% 濃度の Water- ^{17}O を静脈内投与し、脳実質や脈絡叢で有意な濃度変化を認めており、脳血流解析が可能であることが確認されている (図 2)。脳表のクモ膜下腔や側脳室でも濃度変化を認めたが、両者は同じ脳脊髄液であっても濃度変化のカーブは異なっていた (図 3)。

脳表のクモ膜下腔では脳実質や脈絡叢と類似した濃度変化であったが、側脳室内ではより緩徐な濃度

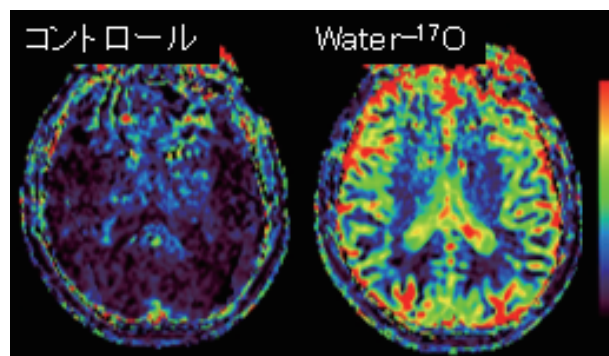


図2 Water- ^{17}O 投与後の濃度マップ

6 T2 強調型：T2 の変化を強調した撮像法

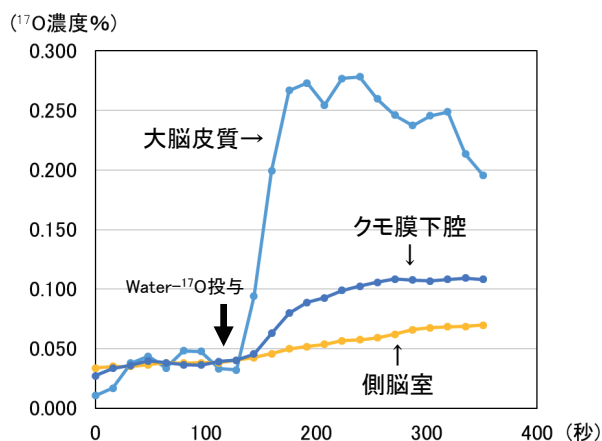


図3 Water- ^{17}O 投与後の時間濃度曲線

変化であった。脳脊髄液は古典的には脈絡叢で産生されるとされてきたが、実際にはクモ膜下腔を走行する血管や脳表からの漏出が主体であることを示唆している。このように、Water- ^{17}O の静脈内投与では血流解析だけでなく脳脊髄液の動態解析も可能であると考えている。

3. Water- ^{17}O 製造技術

筆者らは、長年にわたる空気分離装置の建設・運転で培った深冷蒸留技術を応用し、酸素 (O_2) を原料とした酸素同位体 ^{18}O の分離技術を開発し、2004年に製造プラント1号機を建設した。

開発にあたって技術的課題となったのは、①酸素同位体間の物性差が小さい（沸点差約 0.05 K）ため従来にない多段の蒸留が必要であること、②天然存在比が小さい（ ^{17}O 0.038 atom %， ^{18}O 0.205 atom %）ため原料の投入量に対して製品量が非常に少ないこと、③製造プラントの起動から製品採取開始までの時間（起動時間）が1年以上と長いこと、であった。これらを解決するため、空気分離装置では一般的でない「ステップカスケード⁷⁾」を用いた連続多段蒸留プロセスを採用した。これは、原料 O_2 を投入する塔の塔径が最も大きく、末端の製品 $^{18}\text{O}_2$ 取出部へ向かうに従い塔径を徐々に小さくするプロセスである。設備と動力コストの削減、及び、塔内の流量（ホールドアップ）低減による起動時間の短縮（6か月）

7 カスケード：目的成分を必要濃度へ濃縮するために、同様の分離操作を何度も繰り返すプロセス（例：連続多段蒸留）。

が可能となった。また、初めて採用する製造プロセスであるため、シミュレータによる精密な設計とパイロットプラントによる実証試験を行うことで技術リスクを低減した。これらにより、世界初の深冷蒸留による ^{18}O 分離プラントの建設に成功した。蒸留塔末端から採取された $^{18}\text{O}_2$ に高純度水素を添加して Water- ^{18}O (> 98 atom %) を生産、現在、3機のプラントで世界最大の製造能力年産 600 kg を有する。

1) ^{17}O の製造

^{17}O -MRI 診断では、 ^{17}O を 10 atom % 以上に濃縮する必要がある。Water- ^{18}O 製造プラント1,2号機（千葉県五井市・年産 100 kg，袖ヶ浦市・年産 200 kg）では、副生成物としての Water- ^{17}O は 1 atom % 程度である。2016年に新設した3号機（山口県周南市・年産 300 kg，図4）では、 ^{18}O 分離のエネルギー効率向上のための施策（蒸留塔数の大幅増加，小塔径規則充填物の採用）が ^{17}O 濃縮に有利に働くことがわかり、Water- ^{17}O 10 atom % が製造可能となることが見出された。

^{17}O は酸素安定同位体（ ^{16}O ， ^{17}O ， ^{18}O ）の中間成分であり、天然存在比が最も小さいため、 ^{18}O に比べて濃縮しづらいという特徴がある。Water- ^{17}O 10 atom % 製造へ向け、当社固有の各種シミュレータによる最適な運転条件算出と実証による様々な取組みを行っ



図4 Water- ^{17}O ・Water- ^{18}O 製造プラント

た。プロセスでは、通常、蒸留塔群の中間に形成される ^{17}O 濃度ピークを蒸留塔群の後半に形成されるように変更、製品採取塔におけるホールドアップを小さくすることができた。図 5 に今回設計したプロセスの酸素安定同位体の濃度分布を示す。

また、ダイナミックシミュレータにより ^{17}O 濃縮挙動を予測した。その結果、 ^{18}O 生産量の調整により ^{17}O 濃縮が促進されることがわかり、これを実際の運転に適用することで濃縮時間を短縮できた。

これらの取組みにより、製造プラントの起動から約 2 年半後の 2018 年に ^{17}O 濃度が 10 atom% に到達し、Water- ^{17}O の製造開始となった。この結果は、シミュレータによる予測と良好に一致し（図 6）、現在、Water- ^{17}O (> 10 atom%)、年産 30 kg で安定的に製造を継続している。

2) ^{17}O 標識生理食塩液の製造

製造した Water- ^{17}O は、食塩を等張した ^{17}O 標識生理食塩液として動物および人体に静脈注射で投与するため、専用のクリーンルーム内で GMP（医薬品及び医薬部外品の製造管理及び品質管理の基準）に準拠した製造・品質管理下で製品化される。表 1 に ^{17}O 標識生理食塩液の品質保証項目、規格値及び試験方法を記載する。2017 年には北海道大学病院で実施した医師主導型第 I 相臨床試験向けに治験薬を製造した。

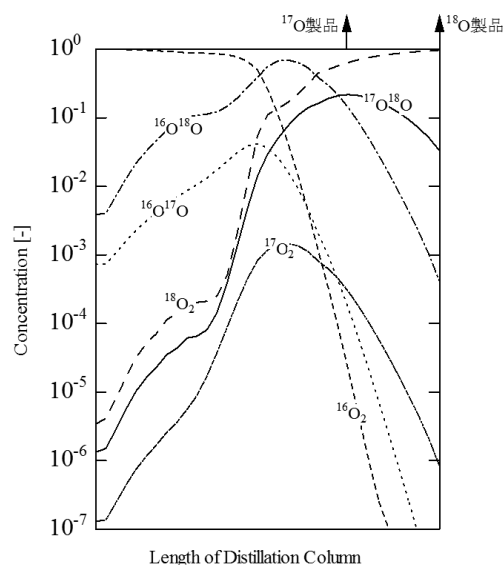


図 5 蒸留塔内の酸素安定同位体濃度分布

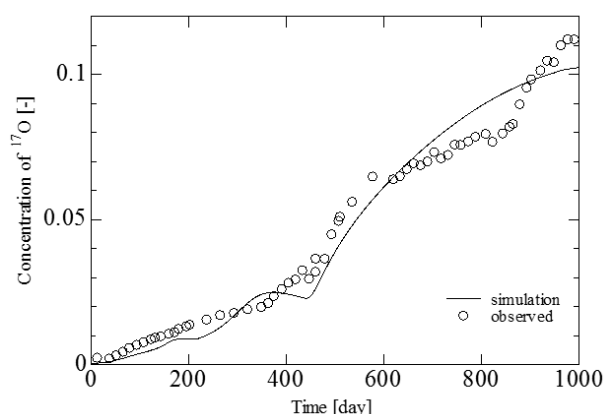


図 6 製品採取塔における起動後の ^{17}O 濃度推移

表 1 品質保証項目、規格値及び試験方法

品質保証項目	単位	規格	試験方法
^{17}O 濃度	atom%	9~11	電気分解-質量分析計
性状	—	無色澄明の液で、弱い塩味がある	日本薬局方
確認試験	—	ナトリウム塩及び塩化物の定性反応を呈する	日本薬局方〈1.09〉
pH 試験	—	4.5~8.0	日本薬局方〈2.54〉
純度（重金属）	—	検液の呈する色は比較液の呈する色より濃くない (0.3 ppm 以下)	日本薬局方〈1.07〉
純度（ヒ素）	—	吸収液の色は標準色より濃くない (0.1 ppm 以下)	日本薬局方〈1.11〉
エンドトキシン	EU/mL	< 0.50	日本薬局方〈4.01〉
採取容量	mL	≥ 10	日本薬局方〈6.05〉
不溶性異物	—	たやすく検出される不溶性異物が認められない	日本薬局方〈6.06〉
不溶性微粒子	個 / 容器	≤ 6000 (10 μm 以上) ≤ 600 (25 μm 以上)	日本薬局方〈6.07〉
無菌	—	微生物及びその増殖が認められない	日本薬局方〈4.06〉
定量法 (NaCl)	w/v%	0.85~0.95	日本薬局方〈2.50〉

4. 今後の展開（おわりに）

近年、脳内の老廃物除去機構として glymphatic system という概念が提唱されている。脳内にはリンパ系がないと言われてきたが、この glymphatic system では血管や脳脊髄液から脳実質の細胞外液（間質液）へ水が漏出し、間質の老廃物を洗い流すように脳脊髄液や静脈に水が流れることが想定されている。これまで蛍光物質を用いて研究が進められているが、水自体を可視化した研究はなされていない。¹⁵O-PET は半減期が短いため水動態の解析は不可能であるのに対し、Water-¹⁷O は長期的な水動態解析も高分解能で可能であるため非常に有望な研究手段となりえる。アルツハイマー型認知症では細胞膜の水チャネルであるアクアポリン⁸が病態に関与しているとも言われており、Water-¹⁷O はアクアポリン機能の解析にも応用可能である。

従来、水そのものの動態を解析する手段がなく、

この Water-¹⁷O は様々な臓器、器官、細胞での水動態を解析する全く新しい手段となり得る。MRI では経時的な濃度変化を非侵襲的に追跡することが可能であり、従来可視化できなかった水動態の解析により新たな生体機能、様々な疾患における病態解析等への展開が期待される。

参考文献

- 1) Kudo K., et al., *Journal of Magnetic Resonance Imaging*, **47** (5) :1373-1379 (2018)
- 2) Kudo K., et al., *Magnetic Resonance in Medical Science*, **17** (3) :223-230 (2018)

(*1 大陽日酸(株)メディカル事業本部 SI 事業部,

*2 大陽日酸(株)開発本部プロジェクト推進統括部,

*3 北海道大学大学院医学研究院画像診断学教室,

*4 北海道大学病院放射線診断科)

⁸ アクアポリン (Aquaporin, AQP) : 水分子を特異的に通過させる膜タンパク