

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 1 日現在

機関番号：14501

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2015～2016

課題番号：15K21146

研究課題名（和文）メタボローム解析による術中MRS精度の検証

研究課題名（英文）Verification of the accuracy of intraoperative MRS using metabolomic analysis

研究代表者

甲田 将章（KOHTA, MASA AKI）

神戸大学・医学研究科・助教

研究者番号：80590843

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,000,000円

研究成果の概要（和文）：神経膠腫手術において、術中MRS所見と関心領域から摘出した腫瘍組織の比較をおこなったところ、残存腫瘍の同定には、cholineおよびcholine/NAA比が有用であった。術中MRS所見と摘出組織のメタボローム解析結果の比較では、有意な相関はみられなかった。MRSボクセルサイズに比し摘出腫瘍が小さく、また、代謝物含有量が少ないためと考えられた。術中MRS関心領域の設定には、さらなる工夫を要する。

研究成果の概要（英文）：The present study demonstrated that intraoperative MRS was a useful tool to evaluate the proliferative activity of residual tumor during glioma surgery. The cutoff value of choline and choline/NAA may provide a good guide for the practical use of glioma surgery. On the other hand, there was no significant linear correlation between intraoperative MRS and GC-MS.

研究分野：脳神経外科

キーワード：術中MRI 術中MRスペクトロスコピー 神経膠腫

1. 研究開始当初の背景

頭蓋内腫瘍の画像診断ではMRIが中心的な役割を担っているが、高磁場MRIである3-Tesla MRI (3T MRI)が臨床応用されて以後、特にその有用性が高まっている。3T MRIでは、1.5T MRI と比べ、信号強度の増加、周波数分解能の向上、化学シフトの拡大があり、良質な画像を得ることができ、これらの利点は特にMRスペクトロスコピー (MR Spectroscopy : MRS)において発揮されている。

組織を構成する物質の原子核は自転しながら自転軸の首振り運動をする、いわゆる歳差運動をおこなっているが、MRSは、この原子核の歳差運動の回転速度の違いとその回転速度を持つ原子の量との関係をグラフにしたものである。多くは測定対象の原子核を水素原子としており、¹H-MRSと呼ばれている。主な測定物質として、神経細胞マーカーであるNアセチルアスパラギン酸 (N-acetyl-L-aspartate : NAA)、細胞エネルギー代謝の指標であるクレアチン (creatine : Cr)、細胞膜代謝の指標であるコリン含有物 (choline-phosphocholine : Cho)などが挙げられ、組織の質的診断の追加情報が得られている。

通常、癌細胞では、グルコースの取り込みが活発化し解糖系が亢進する、いわゆるWarburg効果を認める。このような代謝経路のリモデリングにより、ATPのみならず、細胞増殖に必要な核酸、タンパク質、脂質などの生体高分子を癌細胞は得ている。こうした癌細胞の代謝リモデリングは腫瘍ごとに異なっている。例えば、神経膠腫では、TCA回路内のイソクエン酸デヒドロゲナーゼ (isocitrate dehydrogenase : IDH)の変異によりエネルギー代謝に変化が生じ、その結果として、通常では産生されない2ヒドロキシグルタル酸 (2-hydroxyglutarate : 2-HG)が産生され、腫瘍細胞内に蓄積されている。また、悪性神経膠腫では、PI3K-AKT-mTORのシグナ

ルが亢進することにより、mTORの下流のSREBPやHIF1aを介して、代謝物の変化が起こっている。3T MRSでは、前述のNAA、Cr、Choに加えて、2-HG、グルタミン (glutamine : Gln)、グルタミン酸 (glutamic acid : Glu)、グルタチオン (glutathione-SH : GSH)など、腫瘍に関係の深い代謝物の測定が高い精度で可能になってきている。申請者は、このような3T MRSの特性を活かし、LCModel MRSソフトウェアを用いて、脳腫瘍のバイオマーカーの探索、および病態解明の研究をすすめてきた。具体的には、神経膠腫においてIDH変異に関連した代謝産物である2-HGを術前MRSで計測し、ガスクロマトグラフィー/質量分析計 (GS/MS)を用いて手術により摘出した組織内の2-HG代謝物量と比較する解析をおこなった。その結果、術前MRS 2-HGを用いたIDH変異の予測は、感度67%、特異度93%というデータが得られた。現時点での結果は、特異度が高いものの感度が低い値となっており、術前MRSとメタボローム解析の結果が一致しない例も存在している。その原因として、開頭手術の際の“ブレインシフト”の可能性を考えている。ブレインシフトとは、手術がすすむにつれ、術前画像と術中所見に“ずれ”が生じる現象で、硬膜切開、髄液排除、腫瘍摘出などが原因で生じうる。手術中はニューロナビゲーションシステムを用いて術前画像をもとに腫瘍の摘出をおこなっているが、ブレインシフトにより最大15mmのずれが生じるとの報告もあり (Neurosurgery 2005)、そのため、術前MRSでの関心領域と実際の摘出組織の間には乖離があるものと考えている。

このようなブレインシフトの影響を完全に排除する方法の一つに、ブレインシフトが起こった後にMRIを取り直す術中MRIの手法がある。当施設では、2015年3月から3-Tesla術中MRIが稼働している。この術中MRIによりブレインシフトの影響を排除でき、かつ全

身麻酔下での撮像により体動によるアーチファクトも最小限に抑えることが可能である。これまでの術中 MRS を用いた検討では、Cho/Cr 比を測定し残存腫瘍の有無を組織学的に確認した報告はみられる (J Neurosurgery 2013) が、摘出した組織の代謝物を測定した報告はなされていない。今回のわれわれの研究では、ニューロナビゲーションシステムと術中 MRI および MRS 画像を融合させて、術中 MRS 画像の関心領域と一致した腫瘍組織を採取することができ、MRS 画像と質量分析器によるメタボローム解析の高精度な比較検討が可能である。術中 MRS による代謝物計測の精度を質量分析器で確認することは、術中 MRS の精度向上につながると考えている。

2. 研究の目的

本研究で明らかにしたいのは以下の点である。

(1) 申請者の施設で手術を受ける神経膠腫患者に対し、術中 MRS を用いて測定した代謝物と摘出組織の病理組織学的検討から、術中 MRS が残存腫瘍同定の指標となり得るか解析する。

(2) 術中 MRS 関心領域から摘出した腫瘍組織中に含有される代謝物を GC/MS あるいは LC/MS を用いて評価し、MRS 所見との比較から、その相関について解析する。

3. 研究の方法

(1) 術中 MRS を用いて測定した神経膠腫代謝物と病理組織学的所見に関する解析

術中 MRI を用いて手術をおこなった神経膠腫症例を対象とし、術中 MRS を用いて神経膠腫代謝物を測定した。MRS 撮像条件は、SE 法 (PRESS) TE : 30msec、TR : 2000msec、NSA : 80、VOI : 15 × 15 × 15mm、Water suppression BW 50Hz、Flip angle : 90 ° BW 1200Hz とした。MRS 関心領域の設定部位は、術中 MRI で腫瘍の残存が疑われる部位、すなわち、腫瘍摘出

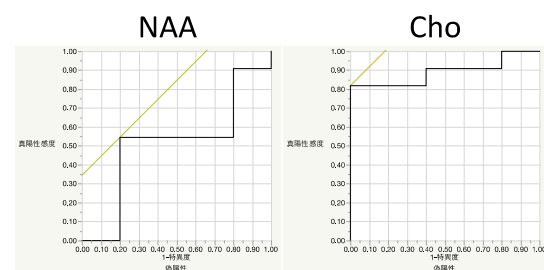
腔に隣接する FLAIR 高信号領域または造影効果を認める領域とした。術中 MRS 撮像後、術中ナビゲーションシステムの情報をアップデートし、MRS 関心領域部位から組織を正確に採取した。得られた組織は Ki-67 による染色をおこない、術中 MRS 所見との比較をおこなった。

(2) 術中 MRS 所見と GC/MS 解析の相関に関する検討

(1) と同様に術中 MRS を撮像し、MRS 関心領域から組織を摘出した。摘出した組織は GC/MS 解析をおこない、代謝物を計測した上で、術中 MRS 所見との相関について解析した。

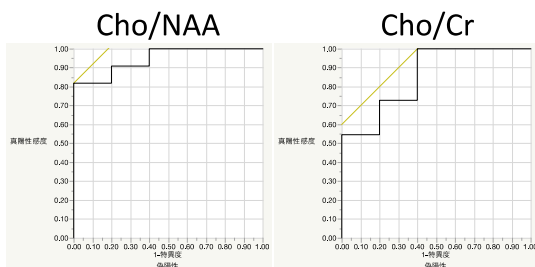
4. 研究成果

(1) 2017 年 3 月までに術中 MRI を用いて手術をおこなった症例は 115 例 (119 手技) であり、そのうち、glioma 症例 (WHO grade II-IV) は 43 例 (WHO grade II : 11 例、III : 7 例、IV : 25 例) であった。LCModel を用いた術中 MRS 解析の結果と病理組織学的所見との比較検討をおこなえたのは、12 症例 (16 関心領域 Voxel of Interest (VOI)) で、症例の内訳は、WHO grade II が 2 症例 (3VOI)、grade III が 2 症例 (4VOI)、grade IV が 8 症例 (9VOI) であった。LCModel を用いた解析の結果は、NAA : $2.94 \pm 0.56\text{mM}$ 、Cho : $1.49 \pm 0.24\text{mM}$ であった。MIB-1 > 1% をアウトカムとし ROC 解析をおこなったところ、NAA の AUC は 0.51、感度 55%、特異度 80%、Cho の AUC は 0.89、感度 82%、特異度 100% であった。これらより、MIB-1 > 1% を予測する因子として Cho が有用と考えられ、そのカットオフ値は 1.074mM であった。



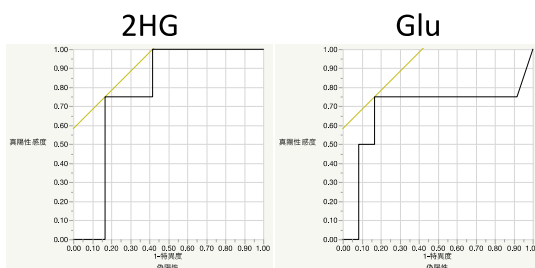
Cho/NAA、Cho/Cr を指標に、上記同様 MIB-1 > 1% をアウトカムとして ROC 解析をおこ

なったところ、Cho/NAA の AUC は 0.95、感度 82%、特異度 100%、Cho/Cr の AUC は 0.86、感度 100%、特異度 60%であった。MIB-1>1%を予測する因子としては、Cho/NAA がさらに有用であり、そのカットオフ値は 0.477 であった。



(2)(1) で得られた組織を用いてメタボローム解析をおこない、2HG、Glu、Gln、Ins を測定した。術中 MRS における 2HG、Glu、Gln、Ins と比較したが、いずれも有意な相関は得られなかった。MRS ボクセルサイズ (15x15x15mm³) に比べ摘出組織が小さく、また代謝物の含有量がわずかであったためと考えられた。

さらに、得られた組織の病理組織学的検討より IDH1 変異の有無を調べ、追加の検討をおこなった。IDH1 変異をアウトカムとし ROC 解析をおこなったところ、2HG の AUC は 0.77、感度 75%、特異度 83%、Glu の AUC は 0.68、感度 75%、特異度 83%であった。術前 MRS と比較し、ほぼ同等の結果であった。



神経腫瘍手術において、術中 MRS における Cho および Cho/NAA 比は残存腫瘍の同定に有用であることが示唆された。一方で、微量代謝物の測定には、関心領域の設定にさらなる工夫が必要と考えられた。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者に

は下線)

〔雑誌論文〕(計 1 件)

Kohta M, Sasayama T, Nakai T, Taniguchi M, Nagashima H, Tanaka K, Mizukawa K, Itoh T, Kohmura E. Cisterna magna meningiomas without dural attachment: Report of two cases. *Neurol Neurochir Pol*. 2017 May - Jun; 51(3): 247-251. PMID: 28279513

〔学会発表〕(計 5 件)

甲田 将章、篠山 隆司、長嶋 宏明、水川 克、甲村 英二、グリオーマ手術における術中 MRS の有用性に関する検討、第 16 回日本術中画像情報学会、2016 年 7 月 9 日、松山全日空ホテル(愛媛) 宅見 寿輝、堀井 慎太郎、曾宮 雄一郎、神澤 匡数、川光 秀昭、甲田 将章、術中脳 1H-MR Spectroscopy の測定精度評価、第 16 回日本術中画像情報学会、2016 年 7 月 9 日、松山全日空ホテル(愛媛)

篠山 隆司、甲田 将章、長嶋 宏明、坂田 純一、前山 昌博、藤本 陽介、水川 克、甲村 英二、グリオーマ摘出術における 3.0-Tesla 術中 MR スペクトロスコピーの有用性の検討、第 21 回日本脳腫瘍の外科学会、2016 年 9 月 9~10 日、虎ノ門ヒルズフォーラム(東京) Takashi Sasayama、Masaaki Kohta、Kazuhiro Tanaka、Katsu Mizukawa、Hiroaki Nagashima、Tomoaki Nakai、Junichi Sakata、Masahiro Maeyama、Eiji Kohmura、Intraoperative magnetic resonance spectroscopy for glioma surgery、13th Asian Society for Neuro-Oncology (ASNO) Meeting、2016 年 9 月 11~14 日、Sheraton on the Park (Sydney、Australia)

甲田 将章、篠山 隆司、長嶋 宏明、

前山 昌博、水川 克、甲村 英二、グ
リオーマ手術における術中 MRS の有用
性に関する検討、日本脳神経外科学会
第 75 回学術総会、2016 年 9 月 29 日～
10 月 1 日、福岡国際会議場・マリンメ
ッセ福岡（福岡）

甲田 将章、篠山 隆司、前山 昌博、
水川 克、甲村 英二、グリオーマ手術
における術中 MRS の現状と近未来、第
17 回日本術中画像情報学会、2017 年 3
月 2 日、鹿児島サンロイヤルホテル(鹿
児島)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

甲田 将章（KOHTA Masaaki）
神戸大学・大学院医学研究科・助教
研究者番号：80590843