

令和元年6月3日現在

機関番号：16101

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2018

課題番号：17K17891

研究課題名(和文) 死後脳MRI画像の濃淡形成における機能的死後変化の役割

研究課題名(英文) Functional changes of postmortem brain and its effects on MRI image contrast

研究代表者

西山 祐一 (NISHIYAMA, Yuichi)

徳島大学・大学院医歯薬学研究部(医学域)・助教

研究者番号：80730598

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)：本研究では、死後脳MRI画像の濃淡形成において、金属沈着という機能的死後変化が及ぼす影響を検討した。ラット死後脳T2強調MRI画像において、被殻および視床に顕著な画像信号低下を認め、金属成分の沈着の可能性が示唆された。これらの部位について、金属含有酵素であるスーパーオキシドディスムターゼ(SOD)の発現、および鉄成分の沈着の有無を病理学的に調べた結果、いずれも組織内での顕著な発現・沈着を認めなかった。以上から、器質的死後変化および金属沈着とは異なる何らかが、死後脳MRI画像の濃淡を変化させる要因として存在する可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

死後画像と生体画像の画像信号の違いは主として、器質的な死後変化が原因であるとされている。本研究では、金属成分の沈着や、あるいは脳浮腫などの典型的な器質的死後変化とは異なる何らかが、死後脳MRIにおける特徴的な画像コントラストを生じさせる要因として存在する可能性が明らかになった。本研究で得られた成果は、死後脳組織に生じる死後変化の詳細な解明、さらには死後脳MRI画像の読影方法を構築するうえでの一助になると期待される。

研究成果の概要(英文)：This study focused on the metal deposition in the postmortem brain as functional change of the tissue, and investigated its influence in generating MRI image contrast of postmortem rat brain. Putamen and thalamus showed a significant reduction of signal intensity in a postmortem T2-weighted MRI image. We assessed the expression of metal-containing enzyme, superoxide dismutase (SOD) and the iron deposition in these brain regions by histopathological staining, and no significant increase of metal deposition was observed. These findings suggested that other contributing factors except metal deposition and organic postmortem change exist for generating characteristic MRI image contrast of the postmortem brain.

研究分野：放射線科学, 放射線生物学

キーワード：死亡時画像診断 MRI CT 死後変化 脳 SOD 鉄

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

世界的な解剖率の低下を背景に、Computed tomography (CT) や Magnetic resonance imaging (MRI) などの画像診断装置で遺体を検査する死亡時画像診断が急速に普及してきた。死亡時画像診断では遺体の腐敗などの死後変化と死因(病変)とを正確に区別することが重要である。死後脳画像ではその両者の区別が特に難しく、脳の死後変化がもたらす特徴的な画像信号(画像の濃淡)の変化について多くの知見を集約することが求められている。たとえば死後早期の脳 CT では、細胞性浮腫により灰白質と白質の境界が不明瞭になる(Takahashi N., *et al.*, *Japanese Journal of Radiology*, 28(5): 349-354, 2010)。また、大脳皮質では白質に比べて早期に器質的死後変化が生じることが近年では明らかになっている(Nishiyama Y., *et al.*, *European Radiology* 27(6): 2317-2325, 2017)。これら死後変化に起因した画像信号変化を、身元不明遺体における死亡時期の推定に応用する研究も進められている。

現在の死後画像の読影方法では、浮腫などの器質的死後変化と病変とを区別することに焦点が当てられている。その一方で、大脳基底核の周辺部位では器質的死後変化では説明できない画像信号の変化が生じることが明らかになっている(Nishiyama Y., *et al.*, *European Radiology* 27(6): 2317-2325, 2017)。この事実は、死後脳画像には器質的死後変化とは他に、病変と区別するべき死後変化が存在することを意味する。しかし、この画像信号の変化がどのような死後変化を反映したものなのかは未解明のままである。

### 2. 研究の目的

死後の大脳基底核周辺に生じる特異的な画像信号変化の機序のひとつとして、死戦期呼吸による脳内血管の充血があげられる。死亡直前の死戦期における脳内酸素量の低下に対し、代償的に血管が拡張することで血管内が充血し、CT 画像上で画像信号を上昇させると考えられている(Shirota G., *et al.*, *PLoS One* 10(11): e0143848, 2015)。その他の機序としては、死後組織内の金属量の増加という機能的死後変化の関与が考えられる(Kobayashi T., *et al.*, *Japanese Journal of Radiology* 28(1): 8-14, 2010)。例えば死後脳に類似した脳梗塞では、虚血に対する応答としてマンガ、銅、亜鉛などの金属を含有する酵素である Superoxide dismutase (SOD)(Liu XH., *et al.*, *Brain Research* 625(1): 29-37, 1993) や血液脳関門の破綻に由来した鉄成分(van Etten E.S., *et al.*, *Cerebrovascular Diseases* 40(1-2): 67-72, 2015) が組織に沈着することが知られている。一般的に組織内の金属量は CT・MRI 画像の濃淡を特徴づける重要な因子である。したがって金属沈着という機能的死後変化を反映した画像濃淡の特徴が明確になれば、より精密な死後画像の読影方法を構築してゆくことができると期待される。

本研究課題では、死後脳組織における機能的死後変化として金属沈着に焦点を当て、これが死後脳 MRI 画像の濃淡形成に与える影響について検討を行った。

### 3. 研究の方法

#### (1) 死後脳 MRI 画像の取得

健全な SD ラット(雄, 8~10 週齢)を炭酸ガスにて屠殺し、死後脳 MRI 画像(T1 強調および T2 強調)を屠殺直後、屠殺 4 時間後、屠殺 48 時間後に取得した。使用した MRI 装置(MRminiSA, DS ファーマバイオメディカル)の磁場強度は 1.5 T であった。同じ被検体の MRI 画像であっても、画像取得時の被検体温度によって MRI 信号は変化することが知られている。そこで画像取得時を除いて、死体は一定温度(4 または 22 )に設定したインキュベータ内で静置させた。

#### (2) 標準ラット脳画像の作成

本研究課題では統計画像解析ソフトである SPM (statistical parametric mapping) を用いて死後の MRI 画像信号変化を全脳領域にわたって解析した。既存の SD ラット T2 強調標準脳画像(Nie B., *et al.*, *Human Brain Mapping* 34(6): 1306-1318, 2013) を用い、屠殺直後に撮像したすべての T2 強調脳画像の脳形態を標準画像の脳形態に合わせこむようにコンピュータ上で変形させ、脳座標を一致させた。この脳形態の標準化の際に実行された脳座標の移動情報を屠殺直後に併せて取得した T1 強調脳画像に適用させることで、T1 強調脳画像も標準化させた。画像演算処理にて、標準化させた T1 および T2 強調脳画像を平均化することで、独自の T1 および T2 強調標準脳画像を作成した。

#### (3) 統計画像解析による画像信号変化部位の検出

死後脳 MRI 画像に生じる画像信号変化を、SPM を用いた統計画像解析の手法を用いて解析した。独自に作成したラット T1 および T2 強調標準脳画像を用いて、屠殺直後、屠殺 4 時間後、屠殺 48 時間後に取得した T1 および T2 強調画像をそれぞれ標準化した。変形後の脳画像の各ボクセルが有する MRI 信号を統計的に解析し、死後に有意に信号値が変化する脳部位を抽出した。なお生体ラットの脳 MRI 画像が設備上の問題で取得困難であったため、本研究課題では、屠殺直後に取得した脳画像を生前脳 MRI 画像と定義した。

#### (4) 死後脳組織への金属沈着

MRI 画像を取得した直後に全脳を摘出し、4%パラホルムアルデヒドによって24時間固定(4)した。固定後は定法に従って脱脂・脱水処理し、パラフィンに包埋した。コロナル面の病理観察用切片を作成し、免疫染色により死後脳組織における金属含有酵素であるSODの発現の有無を調べた。また、ベルリンブルー染色によって、死後脳組織における鉄成分の沈着の有無を調べた。

#### 4. 研究成果

##### (1) 死後脳 MRI 画像に生じる画像信号変化

生前(屠殺直後)に取得したT2強調画像と比較し、屠殺48時間後に取得したT2強調画像では、被殻および視床において有意な画像信号低下を認めた。臨床的にも金属沈着を有する病変はT2強調画像にて低信号を示すことから、これらの脳部位における金属成分の沈着の可能性が示唆された。しかし、これら以外にも有意なMRI画像信号変化を生じた脳部位が存在したため、被殻および視床に特異的にみられるMRI画像信号変化ではないと考えられた。また、これらの画像信号変化は死体静置温度、および死後経過時間と有意な相関関係になかった。本研究で使用した動物用1.5T-MRI装置は、磁場強度と画像鮮明度の兼ね合いによって、1シーケンスあたり15~30分程度の長時間の撮像時間が必要であった。したがってMRI画像取得中に死体温度が上昇してしまい、死後変化とは無関係に画像信号を変化させた可能性が否定できなかった。今後、より高磁場のMRI装置を用いることで、死体温度上昇の影響を低減しつつ鮮明な画像を取得し、死後にMRI画像信号変化を生じる脳部位を明確に特定することが望まれる。

##### (2) 死後脳組織における金属沈着の病理学的評価

MRI画像信号変化が生じた脳部位に関し、金属成分の沈着の有無を病理観察によって評価した。鉄沈着の検出を目的としたベルリンブルー染色では、顕著な鉄成分の沈着がいずれの脳部位にも認められなかった。このことから、死後脳におけるMRI画像信号変化に対し、鉄成分沈着の寄与はないと判断された。他方、金属含有酵素であるSODについて免疫染色による検出を試みたが、これに関しても顕著な発現が認められず、MRI画像信号変化におけるSODの関連性は低いと考えられた。これらのことから、脳浮腫のような典型的な器質的死後変化、あるいは金属沈着とは異なる何らかの死後変化が、MRI画像信号を変化させる要因として存在する可能性が示唆された。なお、一般的に死後組織は腐敗によって染色性が著しく低下するため、SODの検出に免疫染色は適さない。そこで今後、死後脳組織を採取し、原子吸光光度法等の代替手段によって組織内金属量の変化を評価することが望まれる。

#### <引用文献>

1. Takahashi N, Satou C, Higuchi T, Shiotani M, Maeda H, Hirose Y. Quantitative analysis of brain edema and swelling on early postmortem computed tomography: comparison with antemortem computed tomography. *Japanese Journal of Radiology* 28(5): 349-354, 2010.
2. Nishiyama Y, Kanayama H, Mori H, Tada K, Yamamoto Y, Katsube T, Takeshita H, Kawakami K, Kitagaki H. Whole brain analysis of postmortem density changes of grey and white matter on computed tomography by statistical parametric mapping. *European Radiology* 27(6): 2317-2325, 2017.
3. Shirota G, Gonoji W, Ishida M, Okuma H, Shintani Y, Abe H, Takazawa Y, Ikemura M, Fukayama M, Ohtomo K. Brain swelling and loss of gray and white matter differentiation in human postmortem cases by computed tomography. *PLoS One* 10(11): e0143848, 2015.
4. Kobayashi T, Shiotani S, Kaga K, Saito H, Saotome K, Miyamoto K, Kohno M, Kikuchi K, Hayakawa H, Homma K. Characteristic signal intensity changes on postmortem magnetic resonance imaging of the brain. *Japanese Journal of Radiology* 28(1): 8-14, 2010.
5. Liu XH, Kato H, Nakata N, Kogure K, Kato K. An immunohistochemical study of copper/zinc superoxide dismutase and manganese superoxide dismutase in rat hippocampus after transient cerebral ischemia. *Brain Research* 625(1): 29-37, 1993.
6. van Etten ES, van der Grond J, Dumas EM, van den Bogaard SJ, van Buchem MA, Wermer MJ. MRI susceptibility changes suggestive of iron deposition in the thalamus after ischemic stroke. *Cerebrovascular Diseases* 40(1-2): 67-72, 2015.
7. Nie B, Chen K, Zhao S, Liu J, Gu X, Yao Q, Hui J, Zhang Z, Teng G, Zhao C, Shan B. A rat brain MRI template with digital stereotaxic atlas of fine anatomical delineations in paxinos space and its automated application in voxel-wise analysis. *Human Brain Mapping* 34(6): 1306-1318, 2013.

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 1 件)

1. 西山 祐二, 竹下 治男, 北垣 一. 脳 CT 画像における死後変化と最近の研究動向. 日本診療放射線技師会雑誌 65(789), 12-15, 2018. (査読有り)

[http://www.jart.jp/activity/ib0rgt0000004fq4-att/2018-07\\_paper01.pdf#search=%27%E8%84%B3CT%E7%94%BB%E5%83%8F%E3%81%AB%E3%81%8A%E3%81%91%E3%82%8B%E6%AD%BB%E5%BE%8C%E5%A4%89%E5%8C%96%E3%81%A8%E6%9C%80%E8%BF%91%E3%81%AE%E7%A0%94%E7%A9%B6%E5%8B%95%E5%90%91%27](http://www.jart.jp/activity/ib0rgt0000004fq4-att/2018-07_paper01.pdf#search=%27%E8%84%B3CT%E7%94%BB%E5%83%8F%E3%81%AB%E3%81%8A%E3%81%91%E3%82%8B%E6%AD%BB%E5%BE%8C%E5%A4%89%E5%8C%96%E3%81%A8%E6%9C%80%E8%BF%91%E3%81%AE%E7%A0%94%E7%A9%B6%E5%8B%95%E5%90%91%27)

〔学会発表〕(計 1 件)

1. 西山 祐二 死後脳 CT 画像における死後変化の全脳解析 .低線量放射線健康影響研究会 2017, 2017 年 9 月 29 日 .

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

名称 :

発明者 :

権利者 :

種類 :

番号 :

出願年 :

国内外の別 :

取得状況 (計 0 件)

名称 :

発明者 :

権利者 :

種類 :

番号 :

取得年 :

国内外の別 :

〔その他〕

ホームページ等

## 6. 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名 :

ローマ字氏名 :

所属研究機関名 :

部局名 :

職名 :

研究者番号 (8 桁) :

(2)研究協力者

研究協力者氏名 :

ローマ字氏名 :

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。