

平成 30 年 6 月 12 日現在

機関番号：16101

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K09926

研究課題名(和文) レドックス制御と神経伝達バランスに関するMRIを用いたバイオマーカーの開発

研究課題名(英文) Development of biomarkers related with redox and neuronal balance

研究代表者

原田 雅史 (HARADA, Masafumi)

徳島大学・大学院医歯薬学研究部(医学系)・教授

研究者番号：20228654

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)： 脳内環境の評価手法として通常MRSとMEGA-PRESS法を用いて、治療効果や病態の指標となる定量的なパラメータを検討した。測定対象とした代謝物は抗酸化ストレス物質であるグルタチオン(GSH)、抑制系神経伝達物質であるγ-アミノ酪酸(GABA)及び興奮系神経伝達物質であるグルタミン酸(Glu)とその代謝物であるグルタミン(Gln)等である。GSHの評価では、喫煙者は非喫煙者にくらべて有意に低値であり、喫煙における酸化ストレスの増加が示唆された。慢性疼痛患者では、Glu及びGlnが健常者にくらべて有意に低値で、GABAは高値の傾向がみられ、抑制神経系の過剰な反応があることが推察された。

研究成果の概要(英文)： We tried to develop the quantitative biomarkers reflecting cerebral environment using MRS and MEGA - PRESS method. The metabolites as the targeted substances are glutathione (GSH) which is an antioxidant stress substance, γ-aminobutyric acid (GABA) which is an inhibitory neurotransmitter, glutamate (Glu) which is an excitatory neurotransmitter and its metabolites Glutamine (Gln) etc. GSH in the brain of smokers was significantly lower than non-smokers, suggesting an increase in oxidative stress with smoking. In patients with chronic pain, Glu and Gln were significantly lower than those of healthy subjects, and GABA tended to be higher, and it was considered that there was excessive reaction of the inhibitory nervous system in patients with chronic pain.

研究分野：放射線診断

キーワード：MRS redox GSH グルタミン酸 グルタミン GABA

1. 研究開始当初の背景

神経ネットワークを含めた脳内環境の変化は、様々な病態や疾患において認められ、特に細胞に障害を及ぼす酸化ストレスの増加は広範な病態での要因や背景に存在すると考えられる。本研究では、酸化ストレスの程度の評価として、抗酸化ストレス物質の代表的な化合物であるグルタチオン(GSH)の測定を非侵襲的に行い、その濃度の変化を検討した。

さらに、神経ネットワークの伝達は興奮系や抑制系の複雑な制御によってバランスが保たれているが、この神経伝達のバランスの異常は生理的活性物質の異常な産生の原因となることがある。慢性疼痛の機序の研究では、神経機能の異常や病態が単にニューロンの異常のみによって起因するものでなく、ニューロンやグリア及びネットワークも含めた脳内環境の総合的な異常によって発症にいたることが示唆されている。慢性疼痛では、弱い刺激に対して過剰に反応する NMDA 受容体の機能亢進(中枢性感作)及び抑制系神経伝達物質である GABA による抑制の減弱(脱抑制)が先行研究では提唱されている。従って、NMDA 受容体の神経伝達物質であるグルタミン酸(Glu)や前駆体であるグルタミン(Gln)及び GABA の局在の生成を非侵襲的に評価することは、慢性疼痛病態を理解する上で有用である可能性が高い。また、持続的な障害刺激は、グリア細胞の増殖及びアストロサイトやミクログリアの活性化を通してサイトカインやラジカル等の増加の原因となる。このような変化は、抗酸化ストレス物質やレドックス状態に変化を及ぼし、抗酸化物質である還元型グルタチオン(GSH)やアスコルビン酸(Asc)、レドックス状態の指標である NAD⁺や NADH の産生、脳内局所濃度に変化が生じる。これらの脳内代謝物は慢性疼痛の発症機序に直接関連している可能性がある。

これまでに臨床用 3T MRI 装置を用いた proton MR spectroscopy (MRS) の臨床研究を進めており、LC モデルを用いた脳内代謝物の定量化の精度を向上させてきた。また、GABA 等の微量代謝物の測定は 3T MRI 装置では精度よく定量化することが困難であったが、MEGA - PRESS 法に着目し、臨床用 3T MRI 装置における測定法の開発を行った結果、GABA の信号を選択的に評価することが可能となった。

以上から、本研究ではまず、(1)脳内グルタチオンの濃度を健常者で測定して非喫煙者と喫煙者とで相違がみられるか検討し、(2)慢性疼痛患者の脳内環境を評価して、治療効果や病態を評価しえる定量的なバイオマーカーを開発することを試みた。

2. 研究の目的

臨床用 MRI 装置を用いた脳内環境の評価手法として通常の MRS と MEGA-PRESS 法

等を用いて、健常ボランティア及び慢性疼痛患者の脳内環境を評価し、治療効果や病態を評価しえる定量的なパラメータを開発することが目的である。

3. 研究の方法

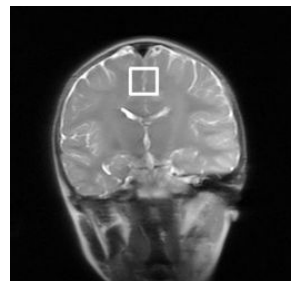
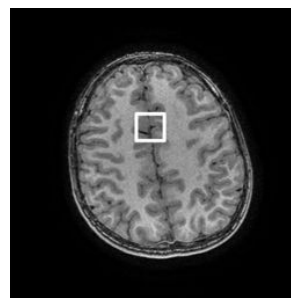
(1)GSH の検討：ファントム及び同意を得た 12 名の健常対象者について、通常の MR 画像に追加して GSH を評価するための MEGA-PRESS を追加して測定した。健常者については、喫煙歴を調査して、喫煙における GSH の変化を評価した。

(2)慢性疼痛患者における神経バランスと脳内環境の評価：対象は、健常コントロール 6 名(年齢 61.5±5.6 歳)と慢性疼痛患者 6 名(年齢 64.3±10.0 歳)であり、原疾患は頸椎症(2 例)、腰椎椎間板ヘルニア(1 例)、腰部脊柱管狭窄症(1 例)、変形性脊椎症(2 例)である。

MRI の撮像は、下記のシーケンスで施行した。

- SE 法 2DT2 強調像(Ax)
- 3DSPGRT1 強調像(Sag)
- SWAN(磁化率強調像, multi TE, phase images)
- Diffusion Tensor Imaging(DTI, FA, AD, RD etc)
- 3DpCASL_TTmap(通過時間マップ)
- 3DpCASL_long label (脳血流量定量画像)
- Proton MRS1(STEAM, short TE, long TR)
- Proton MRS2(MEGA-PRESS, GABA)
- Resting fMRI

MRS の測定部位は、今回下記のように帯状回を中心に行った。

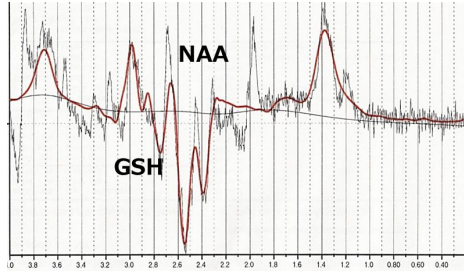


4. 研究成果

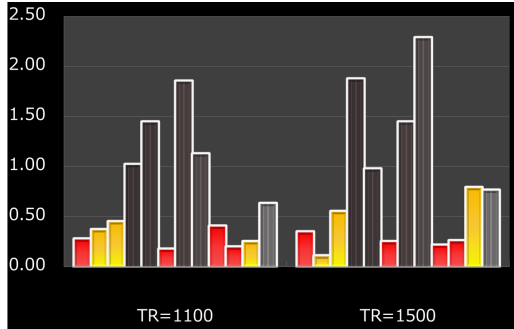
(1)GSH の検討：

健常者における GSH のスペクトルを下記に

示す。



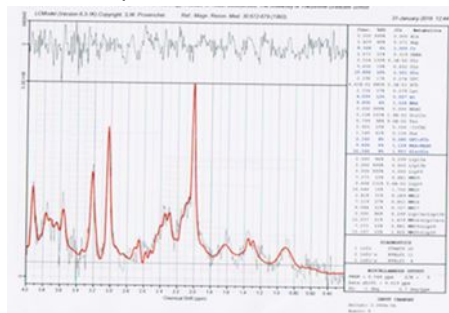
健常者における GSH 濃度のばらつき



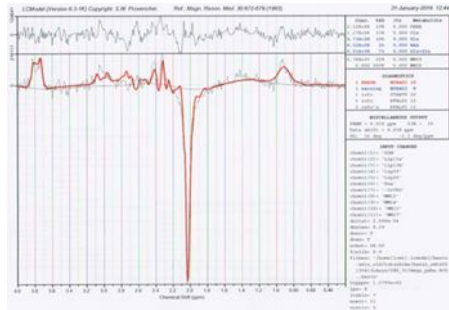
GSH 濃度の個人差は 0.3~2.3 mM とばらつきが大きく、1mM 以下であった低値の被験者 7 名のうち 4 名は喫煙者であり、喫煙者の GSH 濃度は非喫煙者の平均より有意に低値であった。

(2)慢性疼痛患者の脳内環境について健常コントロールと慢性疼痛患者との proton MRS を下記に示す。

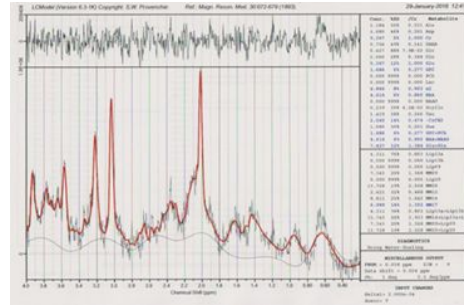
健常者の proton MRS



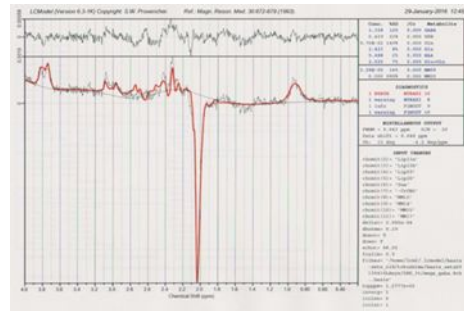
健常者の MEGA-PRESS



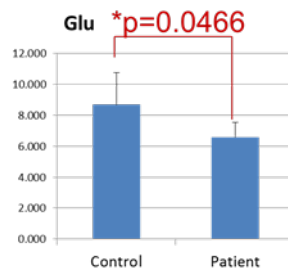
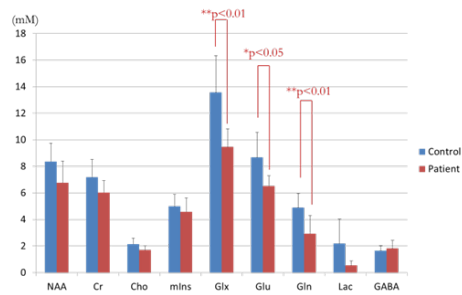
慢性疼痛症例の proton MRS

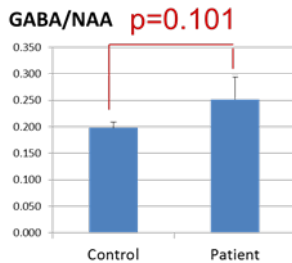
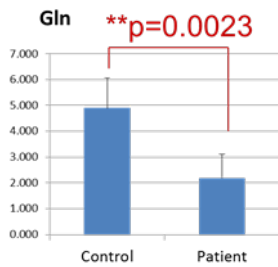


慢性疼痛症例の MEGA-PRESS



代謝物濃度を水信号を基準にして定量を行い、健常者群と患者群とで比較した。結果を下記に示す。





Glx 以外の代謝物は統計学的有意差を認めなかった。

今回の検討では、Neuronal marker である NAA や Cr 及び glial marker である mIns 等は有意差を認めなかった。神経伝達関連指標としては、興奮系ニューロンの Glx, Glu 及び Gln で患者群で有意に低値であり、抑制系ニューロンの GABA は有意差は認めないものの、GABA/NAA 比で患者群が高値である傾向がみられた。これまでの先行研究では、慢性疼痛患者において Glx が上昇するという報告と低下する報告が混在しているが、その原因として部位による相違と原疾患による相違の可能性が考えられる。Gussew らは我々と同様の前部帯状回で MRS を測定し、Glx の低下を報告している 1)。また、Fayed らは、memantine の効果について randomized control trial を施行し、有効症例において Glx の上昇を報告している 2)。これらの結果は、慢性疼痛患者の前部帯状回では Glx が低下していることを示唆する所見であり、本研究結果と一致する。今後さらに症例を追加することにより、原疾患と MRS データとの相関性等、慢性疼痛患者における代謝物変化について詳細な検討が可能となると考えられる。

参考論文

- 1) Gussew A, Rzanny R, Gullmar D, et al. 1H-MR spectroscopic detection of metabolic changes in pain processing brain regions in the presence of nono-specific chronic low back pain. *NeuroImage* 2011, 54(2); 1315-1323
- 2) Fayed N, Oliván-Blázquez B, Harrera-Mercadal P, et al. Changes in metabolites after treatment with memantine in fibromyalgia. A double-blind randomized controlled trial with magnetic resonance spectroscopy with a 6-month follow-up. *CNS Neurosci Ther.* 2014, 20(11); 999-1007

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 2 件)

1) Goji A, Ito H, Mori K, Harada M, et al. (8 人中 4 番目) Assessment of Anterior Cingulate Cortex (ACC) and Left Cerebellar Metabolism in Asperger's Syndrome with Proton Magnetic Resonance Spectroscopy. *PLoS One.* 6;12:e0169288. doi: 10.1371/journal.pone.0169288.

eCollection 2017 査読あり

2) Kubo H, Nakataki M, Harada M, et al. (17 人中 16 番目) ¹H-magnetic resonance spectroscopy study of glutamate-related abnormality in bipolar disorder. *J Affect Disord.* 15;208:139-144, 2017 査読あり

〔学会発表〕(計 1 件)

1) Masafumi Harada, Clinical evaluation of metabolic biomarkers observed by MRS. The 77th annual meeting of the Japan Radiological Society. Yokoham Japan, Apr 12 ~ 15, 2018

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕なし

出願状況 (計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況 (計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等
なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

原田 雅史 (HARADA, Masafumi)
徳島大学・大学院医歯薬学研究部・教授
研究者番号：20228654

(2)研究分担者

阪間 稔 (SAKAMA, Minoru)

徳島大学・大学院医歯薬学研究部・教授

研究者番号： 20325294

(3)連携研究者

なし

研究者番号：

(4)研究協力者

なし