

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和元年6月4日現在

機関番号：17701

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K10793

研究課題名(和文) てんかん原性病変におけるメチオニン集積亢進機序の解明

研究課題名(英文) Mechanism of methionine accumulation in epileptogenic lesions

研究代表者

花谷 亮典 (HANAYA, Ryosuke)

鹿児島大学・医歯学域医学系・准教授

研究者番号：60304424

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：結節性硬化症と限局性皮質形成異常症/片側巨脳症に伴う薬剤抵抗性てんかんにおいて、各約60%と90%で推定されるてんかん原性領域でメチオニン集積が亢進した。メチオニンの集積を伴わない結節性硬化症例では、他の検査を総合してもてんかん原性領域を同定できなかった。また、てんかん発作のない症例では病変部へのメチオニンの集積はなかった。メチオニンの集積を伴った難治症例は全例が切除術を受け、メチオニン集積部位を完全に切除できた例では術後2年目の時点で発作は消失ないしは著減した。切除された組織ではメチオニン非集積群に比して高集積群でIba-1陽性細胞が増加し、その全例で活性型マイクログリアの集積を伴った。

研究成果の学術的意義や社会的意義

発作間歇期のてんかん焦点同定法として、核医学検査による糖代謝や脳血流評価は有用なツールである。これらのトレーサーはてんかん原性領域を集積低下として呈する。正常組織と比べて元々糖代謝や脳血流が低下している結節性硬化症の大脳皮質結節のような病変では、複数の結節が存在する場合にいずれの病変も集積低下を示す。そのため、てんかん焦点同定における診断的意義は高いとは言えない。発作時脳血流SPECTはてんかん原性領域で高集積を呈するが、この検査を行うには多くの労力を要する。発作間歇期に集積亢進を示すメチオニンPETは、こうした複数病変を有する形成異常症におけるてんかん原性領域同定において有用性が非常に高い。

研究成果の概要(英文)：In patients with drug-resistant epilepsy caused by tuberous sclerosis and focal cortical dysplasia / unilateral megalencephalopathy, methionine accumulated in the estimated epileptogenic area in about 60% and 90% of the patients, respectively. In the patients with tuberous sclerosis without methionine accumulation, the epileptogenic area could not be identified even by the other tests. In the patients without epilepsy, there was no accumulation of methionine in the lesion. All patients with drug-resistant epilepsy accompanied by methionine accumulation had resective surgery. The seizures were disappeared or significantly reduced at the second year after operation, in cases where the methionine accumulation lesion could be completely removed. Resected tissue study indicated that Iba-1 positive cells increased in the high accumulation group compared to the methionine non-accumulation group, and all of which were accompanied by accumulation of active microglia.

研究分野：脳神経外科学分野

キーワード：メチオニン PET てんかん原性領域 皮質形成異常 結節性硬化症

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

1. 研究開始当初の背景

てんかん発現においては、発現過程に関連する脳領域ごとに、てんかん原性の原因となる epileptogenic lesion、てんかん発作が起始する epileptogenic zone、発作症状の出現する symptomatogenic zone、過敏性を有する irritative zone に分類される。器質病変の有無は切除術に向けた大きなアドバンテージを有するが、器質病変とてんかん原性領域は必ずしも一致しないため、その関係性を評価することは難治性焦点発作の外科治療を検討する上で大変重要となる。てんかん原性領域の検索法の多くは、発作が起こっていない状態で行われる。核医学的手法としては、てんかん原性領域に関連した発作間歇期の機能不全領域の検出を目的として、¹⁸F-fluorodeoxy glucose(FDG)-PET が頻用されている。感受性に優れているが、機能低下領域はしばしば広範にわたる。また、複数の非腫瘍性病変が存在する場合には、病変は全て糖代謝の低下として示される。この他にも、¹¹C-flumazenil や ¹¹C-MPDX をトレーサーとして、それぞれベンゾジアゼピン受容体やアデノシン A1 受容体の評価が行われるが、いずれもてんかん原性領域での集積低下として描出されるため、局在性診断として決定的な診断法となりにくい場合がある。

こうした中で、我々は、Met-PET がてんかん原性を伴う脳実質病変で集積亢進を呈することを見出し、発作間歇期に集積亢進を呈する、てんかん原性領域検出のための有用な検査法として症例を重ねてきた。Met-PET は主に低分化神経膠腫や glioneural tumor の診断に用いられている様に、アミノ酸合成の開始コドンであるメチオニンをトレーサーとしている。したがって、てんかん原性を有する実質病変周囲で、てんかん原性の形成に伴う何らかのアミノ酸合成が亢進していることが推測される。これまでに、活性化ミクログリアの集積が認められることを確認しており、Met-PET での集積亢進にはミクログリアを介した局所反応が関連していることが示唆される。

てんかんの発現に際しては、興奮性・抑制性神経伝達物質の代表であるグルタミン酸・GABA の不均衡やシナプス外動態(Czapiński, 2005; Sierra-Paredes and Sierra-Marcuño, 2007)、その他の神経伝達物質(Boison, 2008)やチャネル(Armijo, 2005)などの影響が示されている。近年、てんかん焦点部位では局所の炎症性変化や血管新生が生じており(Lerner-Natoli, 2011)、ミクログリアの Toll 様受容体(TLR)のサブタイプを介して、神経伝達物質の不均衡やサイトカインがこうした細胞障害を誘発する報告や、反対に細胞保護作用を示す可能性が報告されている。皮質形成異常や結節性硬化症では TSC1 と TSC2 の遺伝子異常が、mTOR を介して転写促進に働く (Crino, 2011; Schonberger, 2009)。また、mTOR 阻害剤のラパマイシンは、皮質形成異常症や結節性硬化症に関連するてんかん発作を減少させたり、側頭葉てんかんモデル動物の発作を減少させることが報告されており(Galanopoulou, 2012)、Met-PET の集積亢進は特定の遺伝子背景や、TSC1/TSC2 遺伝子発現系でみられる dysmorphic neuron などの形態的特徴に関連して生じる可能性もある。

一方で、大脳皮質病巣を伴わない難治性てんかんや内側側頭葉てんかんでは Met-PET の集積亢進はみられていない。さらに、メチオニンの高集積は、広範な形成異常中の一部に限局することがある、複数の皮質結節がある中で1つのてんかん原性結節だけが集積を示す、難治性焦点性てんかんを呈さない場合には集積亢進を伴わない、などの傾向を有しており、Met-PET における集積亢進は、先天的な遺伝子素因を背景としつつも、アミノ酸合成を伴う局所異常を介した所見であることが予測される。

2. 研究の目的

難治性てんかんの焦点切除に当たっては、発作時脳波や脳磁図などの生理学的検査、MRI による形態評価、核医学検査による脳機能評価など、複数の視点から焦点同定が試みられる。IMP-SPECT、IMZ-SPECT、FDG-PET などの核医学検査では、発作のない状態では脳の機能不全を反映し、てんかん焦点は集積低下領域として検出される。そのため、結節性硬化症など複数の器質病変を伴う場合や皮質形成異常など病巣が広範に及ぶ場合には、病変自体が脳組織よりも集積低下を示すために、てんかん原性領域の診断としては有用な所見が得られないことがある。我々は器質病変を伴う難治性てんかんにおいて、主に神経膠腫の評価に際して用いられる ¹¹C-Methionine (Met-PET) が、てんかん原性病巣に一致した集積亢進を呈し、切除部位の決定において非常に有用であることを確認してきた。このメカニズムは不明であるが、進行性ではない異なった病変が同様に集積亢進を来すことから、てんかん焦点領域に焦点形成の共通事象となりうるアミノ酸代謝亢進が発現していると考えられる。我々は同部位での活性化ミクログリア増生を確認しており、焦点部位での局所反応はミクログリアを介して生じていると推測するに至った。本研究は、ミクログリアを介する局所反応と各組織の特徴を抽出し、メチオニン集積との相関を明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

難治性てんかん患者に対して、臨床的なてんかん原性領域評価結果と Met-PET 所見との比較を行い、てんかん原性領域推定における Met-PET の有用性と適応を明らかにする。次いで、外科的摘出組織を用いて、組織学的特徴・ミクログリア増生・関連蛋白・サイトカイン変化の検討を行う。臨床所見と組織・生化学的研究所見との対比により、てんかん原性領域でのミクログリアの変化を確認するとともに、Met-PET 高集積を呈するてんかん原性病変で生じている

局所変化についての解明を行う。

(1)大脳皮質異常を伴う薬剤抵抗性てんかん患者に対して、Met-PET によるメチオニン高集積領域・様式と、病巣の組織型、発作様式、他の臨床検査所見から推定されるてんかん原性領域、外科切除領域および早期てんかん発作転帰、との関連について検討した。

(2)外科的摘出組織を用いて、てんかん原性領域形成とミクログリアとの関連、活性化ミクログリアの増生に関連した特徴的な組織型の有無について検討した。

4. 研究成果

臨床的な検討にて、結節性硬化症と限局性皮質形成異常症/片側巨脳症に伴う薬剤抵抗性てんかん症例において、それぞれ約 60%と 90%で、てんかん原性領域と推定される部位でのメチオニン集積が亢進した。一方で、メチオニンが集積しなかった結節性硬化症の症例では、他の検査手法を総合した結果でも、てんかん原性領域の同定ができなかった。また、てんかん発作を伴わない症例では、画像上で結節性硬化症や皮質形成異常症と診断した例であっても、病変部へのメチオニンの集積はなく、結節性硬化症と限局性皮質形成異常症/片側巨脳症、そして脳腫瘍を除き、他の疾患に伴って生じる薬剤抵抗性てんかんでは、推定されるてんかん原性領域にメチオニンの集積は見られなかった。

また、結節性硬化症と限局性皮質形成異常症/片側巨脳症を伴う薬剤抵抗性てんかんでは、メチオニンが集積した症例はいずれも切除外科の適応となった。また、メチオニン集積部位を完全に切除できた症例では、術後 2 年目の時点で発作は消失ないしは著減した。

切除組織を用いた検討では、mTOR 発現において、てんかん発現の有無に関連はみられなかった。また、Iba-1 陽性細胞はメチオニン非集積群に比して高集積群で増加しており、その全例で活性型マイクログリアの集積を認めた。活性型と非活性型マイクログリアの間で TNF- α の集積に著明な差はなく、てんかん発現に際して、ミクログリアの細胞障害性がより亢進している所見には乏しいと考えられた。

以上の結果から、メチオニン PET は結節性硬化症と限局性皮質形成異常症/片側巨脳症において、てんかん原性領域を示す有用な評価法であることが確認された。

5. 主な発表論文等

〔学会発表〕(計 6 件)

11C-Methionine PET を用いたてんかん原性領域推定と術後発作転帰

花谷亮典, 大坪俊昭, 細山浩史, 丸山慎介, 佐藤雅紀, 櫻田祐美, 有田和徳, 吉本幸司
第 42 回日本てんかん外科学会 2019 年 東京

Long-term outcome of epilepsy surgery in pediatric patients

Hanaya R, Hosoyama H

12th Asian Epilepsy Surgery Congress 2018 年

てんかん原性領域推定における 11C-Methionine PET の有用性とその特徴

花谷亮典, 大坪俊昭, 細山浩史, 佐藤雅紀, (丸山慎介), 藤元登四郎, 有田和徳
第 41 回日本 CI 学会 2018/3/2~3 新潟

11C-Methionine PET shows accumulation of Methionine in epileptogenic zone in patients with intractable neocortical epilepsy

Arita K, Hanaya R, Otsubo T, Hosoyama H, Kashida Y, (Maruyama S), Sato M

American Epilepsy Society Annual Meeting 2017 2017/12/1~5

皮質病変を伴う難治性てんかん患者における 11C-Methionine PET の集積亢進

花谷亮典, 大坪俊昭, 細山浩史, 櫻田祐美, (丸山慎介), 中村克己, (藤元登四郎), 有田和徳

第 40 回日本 CI 学会 2017/3/3~4 鹿児島

Availability of 11C-Methionine PET to detect epileptogenic lesion

Hanaya R, Otsubo T, Hosoyama H, (Maruyama S), Kashida Y, Iida K, Nakamura K

11th Asian & Oceanian Epilepsy Congress

2016/5/13~16 Hong Kong Convention and Exhibition Centre

6. 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名：米澤 大

ローマ字氏名：YONEZAWA Hajime

所属研究機関名：鹿児島大学

部局名：医歯学域附属病院

職名：助教

研究者番号（8桁）：50550076

研究分担者氏名：細山 浩史

ローマ字氏名：HOSOYAMA Hiroshi

所属研究機関名：鹿児島大学

部局名：医歯学域医学系

職名：助教

研究者番号（8桁）：70593648

研究分担者氏名：有田 和徳

ローマ字氏名：ARITA Kazunori

所属研究機関名：鹿児島大学

部局名：医歯学総合研究科

職名：客員研究員

研究者番号（8桁）：90212646

(2)研究協力者

研究協力者なし。

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。