

令和 5 年 5 月 18 日現在

機関番号：32669

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2022

課題番号：19K16005

研究課題名（和文）安静時機能的MRIを用いたてんかん猫の脳機能欠落域の検出および標準脳の作成

研究課題名（英文）Detection of functional deficit zone in cats with epilepsy using resting state functional MRI and creation of standard brain template

研究代表者

濱本 裕仁（Hamamoto, Yuji）

日本獣医生命科学大学・その他部局等・助教

研究者番号：60825206

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,600,000円

研究成果の概要（和文）：猫はてんかんや認知機能障害など人と同様の脳神経疾患を呈するが、核医学を用いた代謝測定などの検査は困難であり、MRIを中心とした診断が行われている。我々は、猫の脳機能における安静時のネットワークの異常によりてんかん病変の検出が可能か否かを調査した。猫において頭頂葉皮質が加齢に伴い萎縮することを示した。そのため、体性感覚野の機能が加齢に伴い生理的に減弱する可能性が示唆された。一方、安静時機能的MRIを用いたデフォルトモードネットワーク解析では、てんかん焦点を描出することはできなかった。本研究で使用したソフトウェアはヒトで開発されたものであり、猫に対する最適な条件を検討する必要があると考える。

研究成果の学術的意義や社会的意義

猫は犬とともに最も身近な動物であり、飼育環境の改善などから高齢化の傾向にある。近年の研究により、猫はてんかんやアルツハイマー型認知機能障害などの様々な脳神経疾患でヒトのモデル動物になり得ると考えられているが、ヒトと同様に脳の経時的変化やその機能をMRIを用いて評価した報告はほとんどなかった。本研究結果は猫の老齢医学の基礎データであるため画像診断による脳萎縮の診断につながり、今後の脳機能の解析により適切な治療開発に貢献する可能性が秘められている。また、ヒトの疾患モデル動物としてのトランスレーショナル・リサーチの先駆けになるものである。

研究成果の概要（英文）：Cats present with neurological disorders similar to humans, such as epilepsy and cognitive dysfunction. Since it is difficult to perform metabolic measurements using nuclear medicine examination in cats, diagnosis of many neurological diseases is based mainly on magnetic resonance imaging (MRI). Using resting-state functional MRI, we investigated whether abnormal default mode networks can detect an epileptogenic zone. This study showed that the bilateral parietal cortex atrophies with aging in cats without neurological dysfunction including epileptic seizures. Therefore the function of the somatosensory cortex may be declined with aging. And then, default mode network analysis using resting-state functional MRI could not detect the functional deficit zone. Since the software used in this study was developed for humans, it is necessary to investigate the optimal parameter in cats.

研究分野：犬猫のてんかん

キーワード：てんかん 脳萎縮 機能的MRI 安静 猫

1. 研究開始当初の背景

てんかんは、脳を持つ全ての動物に起こりうる疾患であり、獣医療では最も一般的な脳疾患である。てんかん発作は意識の消失を伴う全身のけいれんや一部の筋肉における局所的なけいれんなど様々な発作型が存在する。これらのてんかん発作が繰り返される場合にてんかんが診断されるが、動物のてんかん治療は抗けいれん薬による内科的な治療以外にほとんど選択肢がない。内科的な治療ではてんかんそのものを治すものではなく、あくまでてんかん発作をコントロールする目的にしかならない。人医療ではてんかん患者に外科治療が適応されることがある。これはてんかん発作を引き起こす脳領域を切除することでてんかん発作の発生をなくし、てんかんを完治させることができる。そのため、このてんかんを引き起こす脳領域(てんかん原性領域)を同定するためにさまざまな検査が行われている。獣医医療では磁気共鳴画像(MRI)を主体とした主観的な脳の構造的異常の検出が行われるが、てんかん原性領域の同定には多角的な検討が必要となる。

猫の脳研究は古くより行われ、脳機能に関して現在でも多くの情報が用いられている。近年、高齢猫の脳において人の加齢性変化と類似する病理学的変化が認められ、アルツハイマーモデルの動物として人医療への貢献が期待されている²。画像研究において、犬の脳の加齢を示した研究はいくつか報告されるが^{3,4}、猫の報告はほとんどない。脳の加齢がもたらす構造的変化が機能的な障害をもたらす可能性があるため正確に描出する必要がある。これまで脳全域を評価する場合に観察者の主観的評価に依存することが多かったが、このバイアスを無くすためにVoxel-based morphometry法が公表された⁵。この方法は人の脳構造を解析するために開発されたものであったが、猫においても測定可能であることが報告されている⁶。構造異常領域を解剖学的に同定するためにMRIを用いた猫の標準脳⁷を用いるが、人ではこの標準脳に病理学的位置座標が組み込まれている。より正確な病変診断を行うためには、MRI画像と病理学的位置情報を持つ標準脳を作成することが急務となる。

てんかん猫において安静時機能的MRIを用いた報告はない。広義の機能的MRI解析では拡散強調画像や灌流画像を用いた解析が行われている。安静時機能的MRIは脳のコネクティビティを算出する。脳は安静にしている時にも活動を続け様々なネットワークを形成する。このネットワークはデフォルトモードネットワークと言われ、同タイミングで信号の変化が認められた場合には、関連性を疑う必要がある。しかしながら、この解析は非常に複雑な処理を含むため、その評価には慎重に行わなければならない。

2. 研究の目的

本研究は、(1)猫の加齢による変化を検出した後、(2)解剖学的に異常がないと考えられる猫の画像を利用して病理学組織に相関した猫の定位標準脳の作成する、また、(3)てんかん猫に対する安静時機能的MRIによる機能欠落域の探索を行う。安静時機能的MRI解析において用いた動物は家族性自然発症性てんかん猫である。この家族性自然発症性てんかん猫は海馬および扁桃体にてんかん原性領域が疑われる内側側頭葉てんかんのモデル動物と考えられている。そのため、海馬および扁桃体に関連するネットワークの異常が検出できるかどうかを目的とした。

3. 研究の方法

(1) 猫の脳の加齢性変化

てんかん発作を含む神経学的異常が認められない1歳から14歳の猫65頭のT1強調画像を用いてVoxel-based morphometry解析を行った。この解析ではstatistical parametric mapping 12 (SPM12)を用いて脳外組織を手動で除去し、皮質および白質に分割した後にそれぞれ脳領域における脳容積の減少が年齢と相関するか検定した。

(2) 病理学的位置情報をもつ標準脳の作成

研究期間中に他疾患が原因で安楽死となった猫のMRIを取得し、死後剖検により脳の病理学的組織切片を作成した。できる限り定位的な断面が必要であるため、2mm間隔に均等に切断可能なブレインスライサーを用いてブロックの作成を行った。脳に萎縮がないと考えられる脳画像を用いて平均化脳を作成し、病理組織学的検査を行った猫の脳に標準化した。

(3) 安静時機能的MRI解析

家族性自然発症性てんかん猫をプロポフォルにて麻酔導入後、イソフルランによる吸入麻酔下で安静時機能的MRIを取得した。その後、SPM12におけるConnectivity toolbox (CONN)を用いてデフォルトモードネットワークによる機能的結合解析を行った。

4. 研究成果

(1) 猫の脳に加齢性変化

健康な猫において年齢の増加に伴い大脳皮質の容積が有意な減少を示すことが認められたが、白質においては容積に有意な変化は認められなかった (Figure 1)。また、局所領域検討ではその減少は特に頭頂葉皮質で発生していることが確認された (Figure 2)。頭頂葉皮質は体性感覚野など感覚情報の中心的な領域である。老齢の猫における刺激への鈍麻や睡眠サイクルの異常などに関連することが示唆された。また、認知症の犬においては健康な犬と比較して視床間橋サイズ(白質領域)が小さくなることが知られている。本研究においても高齢な猫が研究に含まれるものの全て認知機能障害は確認されていないため、今後の研究では猫においても犬と同様の視床間橋を認知症診断の指標となりうるということが示唆された。

Figure 1 皮質, 白質および総脳容積と年齢の相関

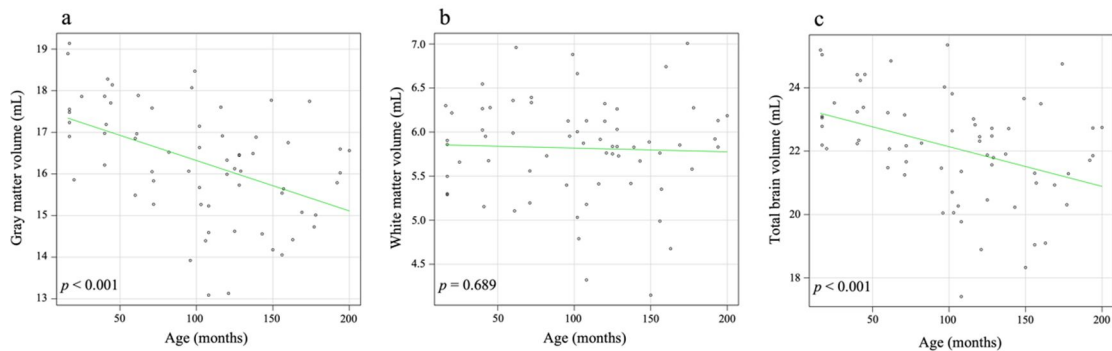


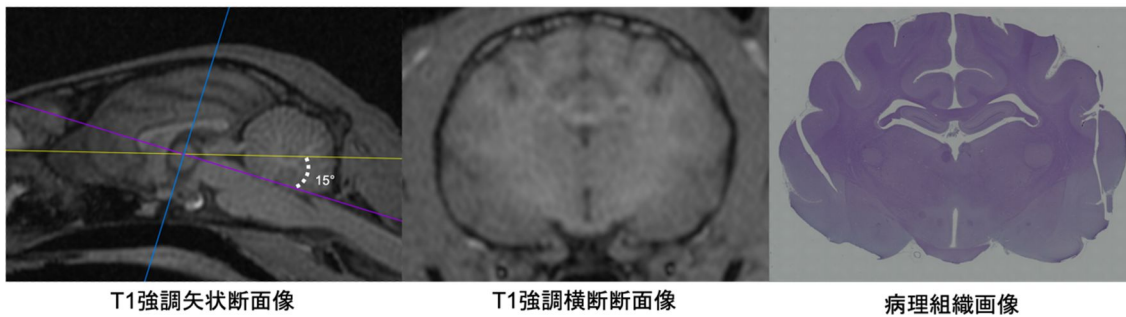
Figure 2 頭頂葉皮質を中心とした減少を示した局所解析



(2) 病理学的位置情報をもつ標準脳の作成

病理組織切片とMRIを比較した場合に、矢状断面像において前交連-後交連ラインから約 15° のずれが発生した (Figure 3)。Voxel-based morphometry解析では前交連を原点とし、前交連-後交連ラインからx軸,y軸,z軸の座標を知ることによって解剖学的位置情報を知ることができる。しかしながら、本研究の病理学的位置情報では前交連-後交連ラインのいち合わせでは座標に大きなズレが生じることが予想される。また、ホルマリン固定において大脳縦裂などの空隙に空間ができたため、本病理学的情報は厳密な座標表記ではなく、解剖学的に類似する領域を同定することにとどまるものと考えられる。頭蓋骨も含めて固定するなどの条件が今後必要となるかもしれない。

Figure 3 猫の脳 MRI と病理切片の比較



(3)安静時機能的 MRI 解析

本研究において海馬・扁桃体とつながるコネクティビティは観察できなかった。海馬・扁桃体は辺縁系の一部であり、様々な領域とのネットワークを形成している。そのため、本研究で採用した CONN におけるプログラム作成を評価する必要がある。SPM12 を始めとする脳解析ソフトウェアは主に人を対象としたものであることや猫を対象とした研究がほとんどないことからエラーとなった可能性が高い。そのため、猫に最適化されたシーケンスを発見することが必要になる。

引用文献

1. Lüders HO, Najm I, Nair D, Widdess-Walsh P, Bingman W. The epileptogenic zone: general principles. *Epileptic Disord.* 2006;8 Suppl 2:S1–9.
2. Chambers JK, Tokuda T, Uchida K, Ishii R, Tatebe H, Takahashi E, Tomiyama T, Une Y, Nakayama H. The domestic cat as a natural animal model of Alzheimer's disease. *Acta Neuropathol Commun.* 2015;3:78. doi: 10.1186/s40478-015-0258-3.
3. Hasegawa D, Yayoshi N, Fujita Y, Fujita M, Orima H. Measurement of interthalamic adhesion thickness as a criteria for brain atrophy in dogs with and without cognitive dysfunction (dementia). *Vet Radiol Ultrasound.* 2005;46(6):452–457. doi: 10.1111/j.1740-8261.2005.00083.x.
4. Tapp PD, Head K, Head E, Milgram NW, Muggenburg BA, Su MY. Application of an automated voxel-based morphometry technique to assess regional gray and white matter brain atrophy in a canine model of aging. *Neuroimage.* 2006;29(1):234–244. doi: 10.1016/j.neuroimage.2005.07.043.
5. Ashburner J and Friston KJ. Voxel-based morphometry--the methods. *Neuroimage.* 2000;11(6 Pt 1):805–821. doi: 10.1006/nimg.2000.0582.
6. Hamamoto Y, Hasegawa D, Yu Y, Asada R, Mizoguchi S, Kuwabara T, Wada M, Fujiwara-Igarashi A, Fujita M. Statistical Structural Analysis of Familial Spontaneous Epileptic Cats Using Voxel-Based Morphometry. *Front Vet Sci.* 2018;5:172. doi: 10.3389/fvets.2018.00172.
7. Stolzberg D, Wong C, Butler BE, Lomber SG. Atlas: An magnetic resonance imaging-based three-dimensional cortical atlas and tissue probability maps for the domestic cat (*Felis catus*). *J Comp Neurol.* 2017;525(15):3190-3206. doi: 10.1002/cne.24271.
8. Kuwabara T, Hasegawa D, Ogawa F, Kobayashi M, Fujita M, Suzuki H, Matsuki N, Orima H. A familial spontaneous epileptic feline strain: a novel model of idiopathic/genetic epilepsy. *Epilepsy Res.* 2010;92(1):85-8. doi: 10.1016/j.eplepsyres.2010.08.010.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 濱本裕仁	4. 巻 46(2)
2. 論文標題 安静時機能的MRIを用いたてんかん猫のfunctional deficit zoneの検出	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Medical science Digest	6. 最初と最後の頁 54 55
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Hamamoto Y, Yu Y, Asada R, Mizuno S, Hasegawa D.	4. 巻 9
2. 論文標題 Age-related brain atrophy in cats without apparent neurological and behavioral signs using voxel-based morphometry	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Frontiers in Veterinary Science	6. 最初と最後の頁 1071002
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3389/fvets.2022.1071002.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 （ローマ字氏名） （研究者番号）	所属研究機関・部局・職 （機関番号）	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------