

令和 6 年 5 月 22 日現在

機関番号：12501

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2021～2023

課題番号：21K07694

研究課題名(和文) 網羅的脳MRI解析を用いた巨脳症性疾患の予後予測のための画像バイオマーカーの探索

研究課題名(英文) Exploring imaging biomarkers for prognostic prediction of macroencephalic diseases using comprehensive brain MRI analysis

研究代表者

塩浜 直 (SHIOHAMA, Tadashi)

千葉大学・大学院医学研究院・講師

研究者番号：10737034

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：細胞増殖シグナル(PI3K/AKT経路やヘッジホッグ経路)が過剰だと、脳組織は病的に大きくなる。このような疾患は巨脳症性疾患と総称され、発達の遅れや、てんかん、脳幹圧迫による突然死、脳腫瘍の合併を認める。しかし、既存の遺伝子解析やバイオマーカーからは合併症を予想することはできない。そこで、患者の脳MRIを用いて脳形態を定量的に評価して、予後予測に活用できないかと考えた。この研究では、MRI撮影装置間のバイアスを補正可能な、汎用性の高い小児脳形態の性別・年齢毎の基準値を創出した。巨脳症性疾患の予後に関連する画像バイオマーカーの探索が可能な基盤ができたと考えている。

研究成果の学術的意義や社会的意義

脳MRIは、侵襲なく脳形態の評価ができる優れた検査であり、臨床現場でも定性評価(いわゆる読影)を通して活用されている。その一方で、脳MRIは自動解析プログラムを用いて、微細な脳形態を定量的に評価することが可能である。本研究は日米の多施設共同研究を通じて、846例の脳MRIを集積して、小児の脳構造の年齢別基準値と、撮像機種間の補正法を確立し、巨脳症性疾患などの疾患脳の評価における有用性を示すことができた。今後は、巨脳症の症例数を増やして検討するとともに、出生コホート症例についても脳MRI撮影を行い巨脳症に関連する遺伝子バリエーションが脳形態に与える影響についても検索する。

研究成果の概要(英文)：Hyperactivity in the cell proliferation signals (PI3K/AKT and Hedgehog pathways) leads pathologically brain enlargement, which is termed megalencephaly. Megalencephalic disease commonly presents developmental delays, epilepsy, sudden death due to brainstem compression, and brain tumors. However, complications cannot be predicted from existing genetic analysis or biomarkers. Therefore, we wondered if brain morphology could be quantitatively evaluated using brain MRI of patients and used to predict prognosis. In this study, we created versatile gender- and age-specific reference values for pediatric brain morphology that can correct for bias between MRI imaging systems. We believe that we have created a foundation on which we can search for imaging biomarkers related to prognosis of megalencephalic diseases.

研究分野：小児神経学

キーワード：脳MRI定量解析 巨脳症 PI3K/AKT/mTOR経路 Hedgehog経路

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

先天異常症候群の脳 MRI 画像の解析は、非侵襲的・客観的・定量的に、ヒトの脳形態における特定の遺伝子の働きとのつながる有効な研究手法である。これまでは、読影所見を基にした脳形態評価（定性解析）による知見が主であった。しかしながら、単一遺伝子疾患であっても、粗大な脳奇形を伴うことは稀であり、詳細な脳形態の特徴については、少数の患者剖検例とモデル動物を通して推察されてきた。

近年コンピューターの計算能力の進歩に伴い、脳 MRI の 3D-T1 強調像を用いて脳形態の詳細に定量解析することが可能となり、国内外で精神科領域や軽度発達障害を対象にした研究に活用されている。Voxel-based morphometry 法による各脳領域の体積、Surface-based morphometry 法による脳皮質の厚さ・面積・体積・脳回形成の程度を測定することで、粗大な脳病変を欠く疾患であっても、詳細な脳形態を調べることが可能となった。さらに構造 MRI の撮像機器間のバイアスを、統計学的手法で補正する試みは、アルツハイマー病成人例を対象とした多施設共同研究（米国：ADNI、日本：J-ADNI）を中心として研究されている。

このような解析手法は主に成人の精神疾患領域を中心に発展してきたが、単一遺伝子病を有する先天性異常症候群の形態評価にも応用が期待される。この分野の学術的発展は、原因遺伝子の異常が脳形態に与える影響を明らかにするとともに、MRI 画像自動診断の基盤形成にもつながると考えた。

### 2. 研究の目的

巨脳症性疾患の原因は、細胞増殖シグナルの亢進と先天代謝異常に大分される。細胞増殖シグナル（PI3K/AKT 経路やヘッジホッグ経路）の亢進による先天異常症候群では、発達遅滞や、てんかん、脳幹圧迫による突然死、脳腫瘍の合併を認める。しかし、遺伝子変異型や既存のバイオマーカーから、合併症を予見する方法は未だ確立していない。

本研究では、脳 MRI の網羅的形態解析により、装置間バイアスを補正可能な、汎用性の高い小児脳形態の性別・年齢毎の基準値を創出し、巨脳症性疾患の予後に関連する画像バイオマーカーの探索を目指した。

### 3. 研究の方法

本研究では、脳 MRI の網羅的形態解析により、装置間バイアスを補正可能な、汎用性の高い小児脳形態の性別・年齢毎の基準値を創出し、巨脳症性疾患の予後に関連する画像バイオマーカーを探索する。正常対照群の症例集積を効率的に進めるために、多施設共同研究（千葉大学医学部病院、千葉大学教育学部、東京女子医科大学八千代医療センター、名古屋大学、ボストン小児病院）で研究を遂行した。また、巨脳症疾患では内分泌的な異常を伴うこともあるため、巨脳症を伴わない小児内分泌疾患についても、同様に解析した。具体的な手順について列挙する。

#### (1) MRI 画像及び臨床情報の集積

初年度は、巨脳症性疾患の小児例、正常発達の正常対照小児例の脳 MRI 画像、年齢、性別、撮像理由、基礎疾患の有無などの臨床情報を前方視・後方視的に集積した。正常対照小児例は、頭痛や発熱の精査などの臨床上の適応のため MRI 撮影された例を対象とし、発達遅滞やてんかんの合併例は除外した。後述する解析プログラムで推奨年齢と鎮静が不要な年齢を勘案し、対象年齢は 6-18 歳とした。

#### (2) MRI 画像の網羅的脳形態解析

3D-T1 強調画像（GE 社：3D-SPGR、Philips 社：3D-IR-TFE、SIEMENS 社：3D-MPRAGE）を NIFI 形式に変換するとともに、匿名化を行う。解析には、カナダマギル大学の開発した CIVET のプログラムを用いて Voxel-based morphometry 由来の 36 項目と Surface-based morphometry 由来で DKT parcellation の区分に従った 192 項目を測定した。局所的な皮質厚は、t 検定値で 3D マップに示し、変化のある部位の統計学的有意性は、Random Field Theory、False Discovery Rate で評価した。

#### (3) 小児脳形態の基準値データベースの構築

各領域毎の脳容量の分布図を作成し、“小児脳形態の基準値データベース”を作成した。

#### (4) 撮像機種間バイアスの補正法の確立

上記の“小児脳形態の基準値データベース”を用いて、脳の各領域の計測値における MRI 撮像機種間のバイアスを、統計学的に克服する。後方視的に集積した MRI 画像にも適応可能なことから、MRI ファントムや Travelling Subjects ではなく、経験的ベイズ法に基づいた Harmonization

(Combat - GAM 法) を選択した。脳の各領域毎に、MRI 機種毎の補正係数を決定した。

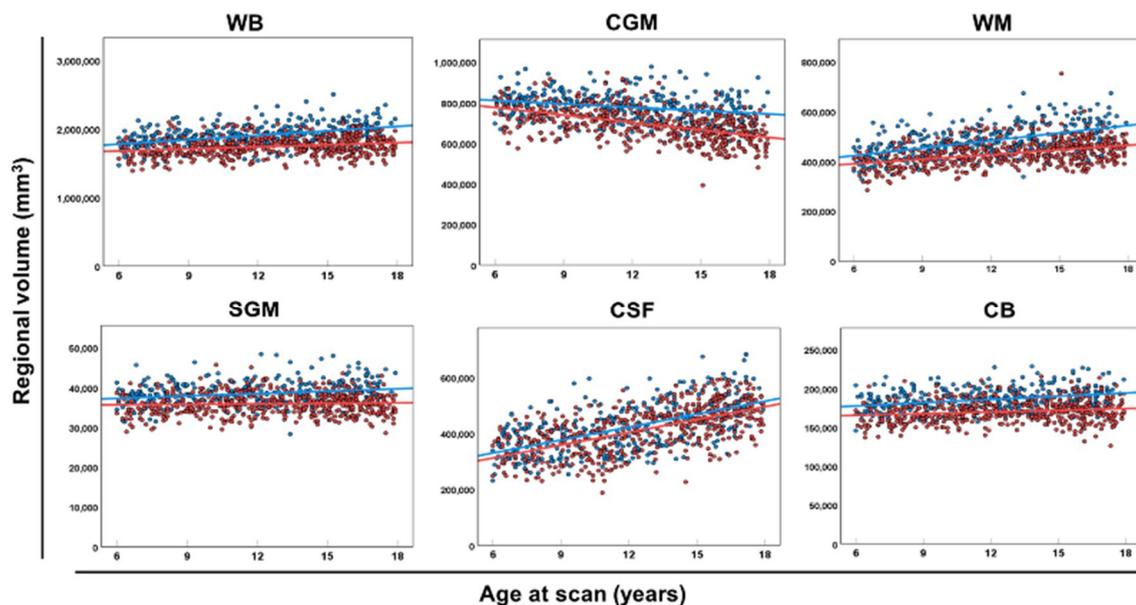
#### 4. 研究成果

##### (1) 脳 MRI 定量解析による小児脳形態の基準値創出

日米 5 施設より 846 画像 (6 歳以上 18 歳未満の正常発達児) を集積した。性別毎の年齢は、男性 (N=339) 11.7±3.3 歳、女性 (N=507) 12.8±3.4 歳だった。優先すべき解析対象として、代表的な 36 領域の脳容量について算出した。多施設共同研究に由来する MRI 撮像機種間のバイアスの発生に対しては、各領域の測定値を年齢と性別を共変量として経験的ベイズ法に基づいて統合することで克服した。6 歳後の小児期では、皮質厚の変化が非線形性を有するため、非線形な GAM モデルである ComBat-GAM 法による Harmonization を用いた。この測定値をもとに年齢・性別毎の平均値と標準偏差を創出した。

補正後の性別毎の脳容量を男・女の順に、平均 [標準偏差] で示す。全脳 1902 [163]・1747 [138] cm<sup>3</sup>; 大脳皮質 778 [71]・692 [80] cm<sup>3</sup>; 大脳白質 481 [62]・432 [51] cm<sup>3</sup>; 基底核/脳弓 38[3]・36[3] cm<sup>3</sup>; 脳室系 419 [90]・416 [83] cm<sup>3</sup>; 小脳/脳幹 185 [15]・170 [14] cm<sup>3</sup>。また各領域の左右差について Laterality index として算出したが、側脳室、視床下核、後頭葉皮質・白質を除き、強い対称性を認めた。

補正後の脳各領域の脳容量について、3 歳毎に層別化して、性別毎の平均値と標準偏差を創出した。補正式及び創出した基準値の妥当性を評価するために、巨脳症症例 8 例 (Gorlin 症候群 3 例、Sotos 症候群 1 例、PTEN hamartoma tumor 症候群) Rett 症候群 4 例、正常対照例 4 例について脳容量変化の特徴をスパイダーチャートで示した。Gorlin 症候群では、他の巨脳症性疾患とは異なり、白質の容量増加が乏しい傾向が見られた (Shiohama et al., Diagnostics 2023)。今後は、巨脳症の症例数を増やして検討するとともに、出生コホート症例についても脳 MRI 撮像を行い巨脳症に関連する遺伝子バリエーションが脳形態に与える影響についても検索する。



WB, whole brain; CGM, cortical gray matter; WM, white matter; SGM, subcortical gray matter; CSF, cerebral spinal fluid; CB, cerebellum and brainstem; 赤丸, female; 青丸, male

##### (2) 内分泌疾患が脳形態に与える影響

巨脳症における脳形態への影響を考察する上で、巨脳症で合併しうる内分泌異常が脳形態に与える影響も考慮が必要である。そのため、巨脳症を伴わない小児内分泌疾患 (思春期早発症と SGA 症) についても、脳形態解析を行った。

思春期早発症: 思春期早発症の女兒 (N=15) と正常対象女兒 (N=13) の脳 MRI の定量解析値を年齢の影響を調整して比較したところ、右楔前部の皮質が厚い傾向を認めた。エピソード記憶、自発性に関わっており、思春期特有の精神的葛藤を説明する脳回路かもしれない (Yoshii et al., Front Neurosci 2023)。

在胎不当過小児: 脳 MRI 解析により、在胎不当過小児 (N=8) では、特発性低身長の子 (N=16) と比較して、左前帯状皮質、右舌上回、右上前頭回の皮質は厚く、左島回、左紡錘状回、右下頭頂回、両側側頭極の皮質が薄かった。特に左島回は皮質体積の低下も伴っており、信頼性が高い所見と考える。左島回は、外部環境への注意力や自己認知に関連しており、在胎不当過小児の知

的発達特性に関連していると考え( Takatani et al., 投稿準備中)。

<参考文献>

- Shiohama T, Maikusa N, Kawaguchi M, et al. A Brain Morphometry Study with Across-Site Harmonization Using a ComBat-Generalized Additive Model in Children and Adolescents. *Diagnostics (Basel)*. 2023 Aug 27;13(17):2774. doi: 10.3390/diagnostics13172774.
- Yoshii S, Takatani T, Shiohama T, et al. Brain structure alterations in girls with central precocious puberty. *Front Neurosci*. 2023 Jul 20;17:1215492. doi: 10.3389/fnins.2023.1215492.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計7件（うち査読付論文 7件/うち国際共著 4件/うちオープンアクセス 4件）

1. 著者名 Tsujiura Keita, Shiohama Tadashi, Takahashi Emi	4. 巻 12
2. 論文標題 microRNA Biology on Brain Development and Neuroimaging Approach	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Brain Sciences	6. 最初と最後の頁 1366 ~ 1366
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/brainsci12101366	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 該当する
1. 著者名 Shiohama Tadashi, Stewart Natalie, Nangaku Masahito, et al.	4. 巻 32
2. 論文標題 Identification of association fibers using ex vivo diffusion tractography in Alexander disease brains	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of Neuroimaging	6. 最初と最後の頁 866 ~ 874
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/jon.13040	査読の有無 有
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 該当する
1. 著者名 Hagiwara Sho, Shiohama Tadashi, Ogi Tomoo, et al.	4. 巻 64
2. 論文標題 Subtle infantile spasms presenting as hyperirritability in CK syndrome	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Pediatrics International	6. 最初と最後の頁 e15335
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/ped.15335	査読の有無 有
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 塩浜 直	4. 巻 125
2. 論文標題 日本小児神経学会推薦総説 脳MRI定量解析の臨床応用への展望	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 日本小児科学会雑誌	6. 最初と最後の頁 1644-1654
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 有
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 Tadashi Shiohama, Keita Tsujimura	4. 巻 16
2. 論文標題 Quantitative Structural Brain Magnetic Resonance Imaging Analyses: Methodological Overview and Application to Rett Syndrome	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Frontiers in Neuroscience	6. 最初と最後の頁 835964
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fnins.2022.835964	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 該当する

1. 著者名 Shiohama Tadashi, Maikusa Norihide, Kawaguchi Masahiro, et al.	4. 巻 13
2. 論文標題 A Brain Morphometry Study with Across-Site Harmonization Using a ComBat-Generalized Additive Model in Children and Adolescents	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Diagnostics	6. 最初と最後の頁 2774 ~ 2774
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/diagnostics13172774	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 該当する

1. 著者名 Yoshii Shoko, Takatani Tomozumi, Shiohama Tadashi, Takatani Rieko, Konda Yutaka, Hattori Shinya, Yokota Hajime, Hamada Hiromichi	4. 巻 17
2. 論文標題 Brain structure alterations in girls with central precocious puberty	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Frontiers in Neuroscience	6. 最初と最後の頁 1215492
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fnins.2023.1215492	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10件 (うち招待講演 2件 / うち国際学会 1件)

1. 発表者名 塩浜 直, Ortug A, Alatorre WJ L, Valli B, Levman J, Faja SK., 辻村 啓太, Maunakae AK, 高橋 恵美
2. 発表標題 脳MRI定量解析を用いた自閉スペクトラム症児の発症予測
3. 学会等名 第125回日本小児科学会学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 塩浜直, Natalie Stewart, 南学正仁, Andre J.W. van der Kouwe, 高橋恵美.
2. 発表標題 Alexander病患者の剖検脳における連合線維の同定
3. 学会等名 第16回小児神経放射線研究会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 塩浜 直、内田智子、澤田大輔、吉井祥子、萩原翔、齋藤千尋、岩瀬由紀子、濱田洋通
2. 発表標題 小児脳MRI の基準値創出を目指した取り組み
3. 学会等名 第33回千葉県小児神経懇話会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 塩浜 直
2. 発表標題 脳MRI定量解析から診る小児神経疾患 - Next Generation Brain Phenotypingをめざして - (2021年6月13日)
3. 学会等名 第219回日本小児科学会千葉地方会(招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 塩浜 直
2. 発表標題 脳MRI画像を用いた自閉スペクトラム症の早期診断の試み
3. 学会等名 第32回千葉県小児神経懇話会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 塩浜 直
2. 発表標題 多彩な合併症を有する児の在宅移行：巨脳症・毛細血管奇形症候群の乳児例での実践例（2021年9月12日）
3. 学会等名 第220回日本小児科学会千葉地方会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 塩浜 直, 舞草 伯秀, 川口 将宏, 夏目 淳, 平野 好幸, 齋藤 慶斗, 高梨 潤一, Levman Jacob, 高橋 恵美, 松本 浩史, 服部 真也, 横田 元, 辻村 啓太, 澤田 大輔, 内田 智子, 高谷 具純, 佐藤 典子, 濱田 洋通.
2. 発表標題 MRI 機種間補正が可能な小児脳容量の基準値の創出
3. 学会等名 第126回日本小児科学会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 塩浜 直, 舞草伯秀, 川口将宏, 夏目淳, 平野好幸, 齋藤慶斗, 高梨潤一, Jacob Levman, 高橋恵美, 松本浩史, 服部真也, 横田元, 辻村啓太, 澤田大輔, 内田智子, 高谷具純, 藤井克則, 長縄伸二, 佐藤典子, 濱田洋通.
2. 発表標題 小児脳における脳局所容量と左右差の検討
3. 学会等名 第17回小児神経放射線研究会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Shiohama T, Maikusa N, Kawaguchi M, et al.
2. 発表標題 Across-site harmonization of brain morphometry in children and adolescents
3. 学会等名 The 18th congress of Asian Society for Pediatric Research (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 塩浜 直
2. 発表標題 シンポジウム16神経放射線医学の最先端と小児. 小児科領域における脳MRI定量解析の臨床応用
3. 学会等名 第65 回日本小児神経学会(招待講演)
4. 発表年 2023年

〔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
研究分担者	高梨 潤一 (Takanashi Jun-ichi)  (00302555)	東京女子医科大学・医学部・教授  (32653)	
研究分担者	横田 元 (Yokota Hajime)  (20649280)	千葉大学・大学院医学研究院・講師  (12501)	
研究分担者	松本 浩史 (Matsumoto Koji)  (60745230)	千葉大学・医学部附属病院・主任診療放射線技師  (12501)	
研究分担者	舞草 伯秀 (Maikusa Norihide)  (80631069)	東京大学・大学院総合文化研究科・特任助教  (12601)	

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		
米国	Boston Children's Hospital	Massachusetts General Hospital	