

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 25 年 5 月 16 日現在

機関番号：20101

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2010～2012

課題番号：22591944

研究課題名（和文）高解像度 MRI を用いた視神経疾患における神経内代謝物質の組成解析

研究課題名（英文）Analysis of neural metabolites of optic nerve disease using high-spatial-resolution MRI

研究代表者 橋本 雅人 (HASHIMOTO MASATO)

札幌医科大学・医学部・准教授

研究者番号：90295353

研究成果の概要（和文）：高解像度 MRI 装置を用いて、視神経に対するプロトン MR スペクトロスコピー（¹H-MRS）を試み、ヒトの in vivo における視神経内代謝物質の組成解析を行った。結果として、ヒトの脳視覚領域において ¹H-MRS を用いた生体内代謝物質の濃度測定が可能であった。重度の視神経萎縮患者では、N-アセチルアスパラギン酸（NAA）が低値を示し、緑内障においては視野障害が重症なものほど NAA の減少が著明であった。また緑内障モデルラットを用いた実験から NAA の減少は緑内障発症後期にみられることがわかった。

研究成果の概要（英文）：We investigated the analysis of neural metabolites in optic nerve diseases in vivo by proton magnetic resonance spectroscopy (¹H-MRS) on 3-Tesla high resolution MRI. We could measure the concentration of cortical metabolites in the human visual cortex (V1). The N-acetyl aspartate (NAA) of the V1 in the severe optic atrophy reduced compared with normal control group. In glaucomatous optic atrophy, the reduction of NAA was associated with the severity of visual field defects. In an experimental in vitro study, ¹H-MRS using 7-Tesla MRI revealed reduced NAA in V1 of glaucoma model rats during the chronic disease phase by.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2010 年度	1,300,000	390,000	1,690,000
2011 年度	1,000,000	300,000	1,300,000
2012 年度	1,000,000	300,000	1,300,000
年度			
年度			
総計	3,300,000	990,000	4,290,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・眼科学

キーワード：視神経、MR スペクトロスコピー、緑内障、視中枢

1. 研究開始当初の背景

視神経疾患は、眼科領域だけではなく神経内科や脳神経外科領域においてもしばしば遭遇する中枢神経疾患である。視神経障害は

病態が進行し、視神経の軸索線維が病理学的に萎縮をきたすと、それは不可逆的な視覚障害を引き起こし重篤なものでは永久的失明に至ることもある。従って、我々眼科医にと

って視神経障害の重症度を客観的に臨床評価し把握することは極めて重要なことである。しかしながら、現在の日常臨床の場において視神経の機能を客観的に臨床評価する検査法はないのが現状である。

近年、画像診断技術の著しい進歩により、生体内の代謝物質を分析するMRスペクトロスコピー (MRS) が臨床応用されつつあり、脳内に存在する N-アセチルアスパラギン酸をはじめ、コリンやクレアチニン、乳酸などが画像解析され、脳梗塞や多発性硬化症の重症度評価に用いられている。MRS とは、magnetic resonance spectroscopy の略で日本語にすると「磁気共鳴分光法」となる。これは異なる混合波の信号を分類する方法で、MR 信号で捉えた時間軸の測定データを 1 次元フーリエ変換することによって周波数スペクトルが得られる。得られたスペクトルの各ピークは、分子構造の差 (chemical shift) でほぼ決定される。例えば、乳酸に含まれるメチル基 (CH₃-) の周波数は 1.3 ppm であり、N-アセチルアスパラギン酸 (NAA) に含まれる N-メチル基 (N-CO-CH₃) の 2.0 ppm よりも右側の周波数で現れる。このように、¹H-MRS は生体内代謝物質が持つ chemical shift の差を利用して物質を特定し分離することができるというものである。この方法を臨床応用することで、特定物質の検出による疾患の診断が可能であることや、病態の進展度合いの把握、さらには治療効果の判定に役立たせることができる。

我々は、この分子イメージング法に着目し、解像度の高い 3-Tesla を用いてミリレベルのプロトン MRS (¹H-MRS)を試み、視神経疾患における神経内代謝物質の変化を捉えることが可能ではないかと考え、この手法が視神経疾患の新たな視機能評価法になるのではないかと考えた。

2. 研究の目的

高解像度 3-Tesla MRI 装置を用いて、視神経に対するミリレベルのプロトン MR スペクトロスコピーを試み、ヒトの in vivo における視神経内に存在する生体内代謝物質の組成解析を行う。これに基づき現状では極めて治療困難な視神経疾患の病態評価、重症度判定が可能かどうかを検討する。

3. 研究の方法

(1) ¹H-MRS を用いたヒト大脳視覚領 (V1) における代謝物質濃度の定量

MRS の生体応用で最大の課題となるのは関心領域の設定である。測定する局在の組織が不均一であったり、関心領域が小さいと正確な MRS 撮像ができない。眼窩内における球後視神経は関心領域が小さすぎるため、MRS 測定に限界がありこれまで臨床報告例はない。また大脳視覚領域に関する MRS の臨床報告はいくつか散見するが、臨床レベルにおける測定は、動物実験とは異なり撮影時間や臨床機の装置上の限界があるため、正確に大脳視覚領域を測定することは極めて困難である。

我々の研究の最初のステップは、いかにして限りなくヒト大脳視覚中枢 (V1) に近く、なおかつ臨床レベルにおいて妥当な撮影時間内で終了できる関心領域を設定するかである。元来、灰白質と白質では、組織学的構造が異なるため当然 ¹H-MRS の代謝物質濃度が異なる。これまでの報告にもあるように、後頭葉に漠然と V1 に相当する関心領域を設定することはできるが、その関心領域にどの程度の灰白質 (真の V1) が含まれているかの詳細な記載報告はこれまでにない。そこで我々は灰白質の信号強度ヒストグラ

ムを作成するために、後頭葉における髄液、灰白質、白質の MRI 信号強度プロファイルカーブ (図 1) を測定し、そこから灰白質の信号強度ヒストグラムを求めた (図 2)。

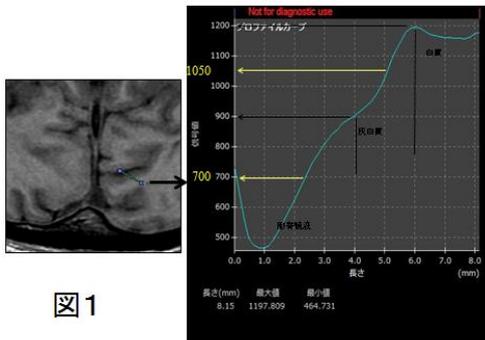
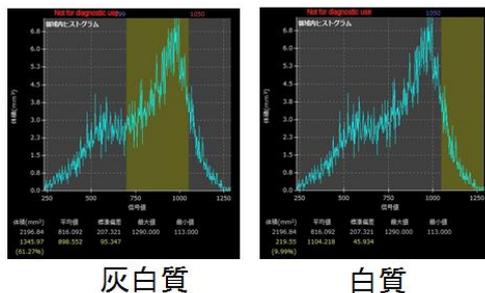


図 1

図 2



このヒストグラムに基づき、臨床レベルで測定可能な V1 領域設定を試みた。

対象：健常者 5 名 (男性 4、女性 1 名、年齢 23~45 歳)

方法：健常者の左右 V1 周囲領域に 7 x 20 x 12 mm³ の関心領域を設定し (図 4)、上記の灰白質ヒストグラムから、灰白質含有率を算出した。

$$\text{灰白質含有率 (\%)} = \frac{\text{灰白質}}{\text{灰白質} + \text{白質}}$$

全例において、この関心領域から平均 88.3% の灰白質含有率を得ることが可能であった。従って、この関心領域を画像診断上 V1 として設定し MRS によって神経内代謝解析を行うこととした。

対象：健常者 29 名 (男性 15 名、女性 14 名、年齢 50~70 歳、平均年齢 64.5 歳) に研究趣旨の同意の下、画像検査を行った。

方法：¹H-MRS を PRESS (point resolved spectroscopy) 法で施行した。代謝物質濃度の定量測定には LC Model (Stephen Provencer Inc) を用いた。

(2) 球後視神経疾患患者の V1 に対する¹H-MRS の施行

対象は、球後視神経障害を発症し視神経萎縮を来した症例でその内訳は、抗アクアポリン 4 抗体陽性視神経炎、レーベル遺伝性視神経症、中毒性視神経症患者であり、研究の趣旨同意の下、V1 の¹H-MRS を施行し代謝解析を行った。

(3) 緑内障性視神経障害の V1 における代謝解析および重症度における変化

近年、緑内障において外側膝状体および V1 における形態学的変化が注目されている。しかしながら、ヒトの V1 における緑内障性変化に対する分子レベルでの研究はほとんどなされていない。そこで前述した正常群に age matching した緑内障患者に対し、研究の趣旨同意の下、V1 の¹H-MRS を施行し代謝物質の解析を行った。

対象：緑内障患者 13 名 (男性 7 名、女性 6 名：平均年齢 67.5 歳)

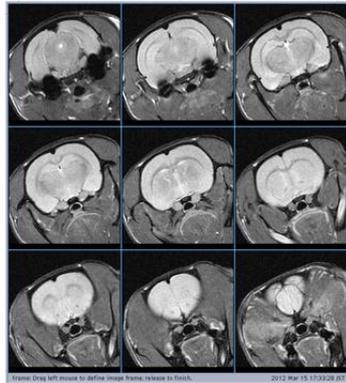
内訳：正常眼圧緑内障 4 名、開放隅角緑内障 3 名、血管新生緑内障 2 名、続発性緑内障 2 名、閉塞隅角緑内障 1 名、偽落屑症候群 1 名、方法：前述した関心領域に対し、¹H-MRS を施行し代謝物質の解析を行った。

(4) 緑内障モデルラットを用いた V1 における神経代謝物質変化の経時的変化

次に緑内障における V1 の NAA 変化を経時的

的に見る目的で、緑内障モデルラットに対し実験用 7-Tesla MRI 装置を用いて V1 における $^1\text{H-MRS}$ を施行し、NAA の経時的変化を検討した。シーケンスには 1mm 厚の T2 強調画像を用い、左 V1 が撮像面に平行になるような傾斜水平断で撮像した (図 3)。

図 3



対象及び方法：生後 4 週の雌ウイスターラット (BW=100g) に対し、硝子体内に 20mmol(3 マイクロリットル) の N-methyl D aspartate (NMDA) を角膜輪部から 1mm 後極側の強膜より 33 ゲージ針にて注入し、緑内障モデルラット (視神経挫滅モデル、NMDA 網膜神経節傷害) を作成した。飼育中は室温を 22~23°C に保ち、照明は 12 時間ごとの明暗サイクル (明：8 時~20 時、暗：20 時~8 時) とし、食餌及び水は自由に摂取できるようにした。

NMDA 注入前、注入後 12 週、33 週に実験用 7-Tesla MRI を用いて MRS を施行した。麻酔はペントバルビタールを 0.05 cc ラットの腹腔内に注射し全身麻酔下にて行った。また正常なラットにも同様な手法で V1 の MRI 解析を施行した。

4. 研究成果

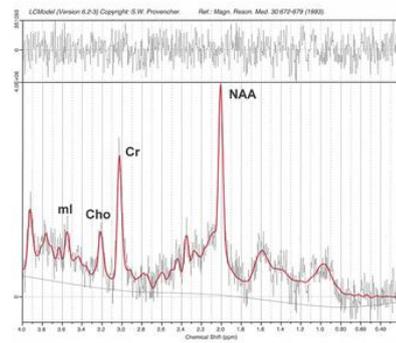
本研究より、以下の 3 点が結果として明らかになった。

(1) $^1\text{H-MRS}$ を用いたヒト大脳視覚領 (V1) における代謝物質濃度の定量

健康人全例において、V1 領域における

$^1\text{H-MRS}$ が測定可能であった (図 4)。

図 4



これらのデータの解析によって表 2 に示すように NAA、クレアチン (Cr)、コリン (Cho)、ミオイノシトール (ml) がそれぞれ 9.84 ± 1.60 , 7.26 ± 0.82 , 1.09 ± 0.27 , 4.97 ± 0.97 mM であり、V1 の代謝物質同定及び濃度定量が可能であった (表 1)

表 1: 正常者 28 名の V1 における生体内代謝物質濃度

NAA:	9.84 ± 1.60 mM
Creatine:	7.26 ± 0.82 mM
Choline:	1.09 ± 0.27 mM
Myo-Inositol:	4.97 ± 0.97 mM

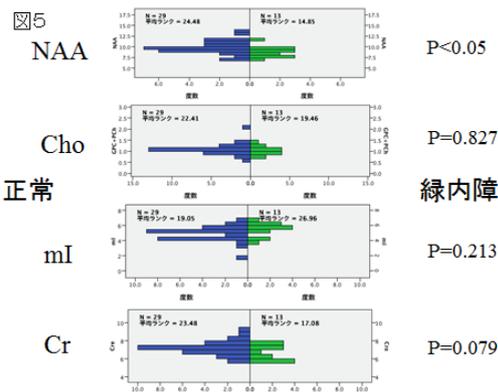
(2) 視神経疾患患者の V1 における代謝変化

両眼の視力が 0.1 未満の重度視覚障害を示す症例では、疾患に関わらず NAA が正常群と比べて低い結果であった。

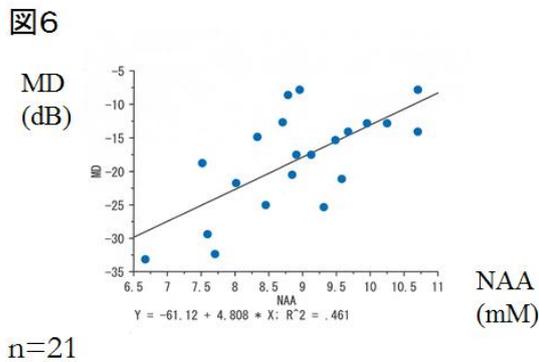
(3) 緑内障性視神経障害の V1 における代謝解析および重症度における変化

図 5 に示すように代謝物質の中で NAA が緑内障群で有意に低下しており、それ以外の

代謝物質では有意差はみられなかった。



更に緑内障群の数を増やし (n=21)、V1 の NAA 濃度と視野障害の重症度 (両側の Humphrey 静的視野検査における MD 値の平均値) を比較したところ、 $R=0.679$ で相関を認めた (図 6)。従って、緑内障では正常人に比べて V1 内の NAA が減少しており、重症例ほど V1 内の NAA 濃度は減少していることが推定された。



(4) 緑内障モデルラットを用いた V1 における神経代謝物質変化の経時的変化

NMDA 硝子体内注入後 12 週の正常ラットと緑内障ラットでは、注入前に比べて NAA/Cr 比に変化は見られなかったが、注入後 33 週では緑内障ラットにおいて NAA/Cr 比の減少が見られた (図 7)。

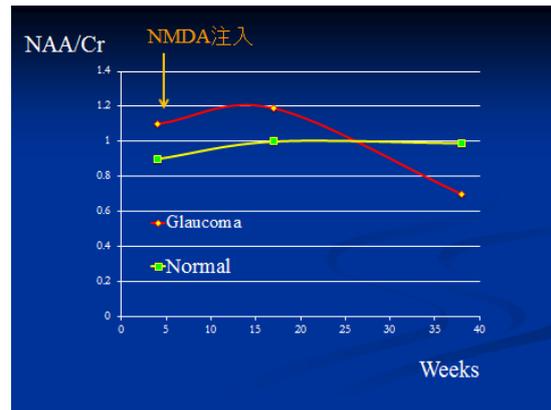


図 7

従って、緑内障モデルラットを用いた動物実験より、緑内障における V1 の NAA 減少は発症後期にみられることが示唆された。

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 4 件)

1. 橋本雅人 高解像度 MRI を用いた神経眼科疾患の病態解明 神経眼科、査読無、30, 2013:30-42
2. 橋本雅人 神経眼科のための MRI 画像診断 神経眼科、査読無、29, 2012:325-339
3. 橋本雅人 : 眼科医の知っておくべき頭部、眼窩画像診断. 眼科、査読無、12, 2011:1739-1747
4. 橋本雅人 : つけよう！神経眼科力(19) 「画像による視路の局所診断」 臨床眼科、査読無、65, 2011 : 1576-1582.

[学会発表] (計 7 件)

1. 橋本雅人 : 高解像度 MRI を用いた神経眼科疾患の病態解明. 日本神経眼科 50 周年記念講演会シンポジウム「ニューロサイエンスと神経眼科」第 50 回日本神経眼科学会総会. 平成 24 年 11 月 16-18 日, 京都テルサ
2. 橋本雅人 : 視神経疾患の画像診断. 第

116 回日本眼科学会総会サブスペシャ
リティサウンダー4「緑内障・視神経 鑑
別 視神経疾患・最近の知見を踏まえ
て」平成 24 年 4 月 5-8 日, 東京国際
フォーラム

3. 橋本雅人: 教育講演「神経眼科のため
の MRI 画像診断」第 49 回日本神経眼
科学会総会. 平成 23 年 11 月 25-27 日,
神戸国際会議場
4. 原田邦明、橋本雅人、長濱宏史、櫻井
祐樹、平野 透. 一次視覚野の proton
MR spectroscopy 第 39 回日本磁気共鳴
医学会 2011 年 9 月 30 日～10 月 1 日、
小倉市
5. 橋本雅人: 「見て覚える神経眼科のため
の MRI 画像診断」第 115 回日本眼科学
会総会教育セミナー10 「見て覚えよ
う！神経眼科疾患」平成 23 年 5 月 12-15
日, 東京国際フォーラム
6. 橋本雅人: 「神経眼科：背景全身疾患模
索へのチャレンジ. 中枢性視覚障害」第
64 回日本臨床眼科学会. 平成 22 年 11 月
11 日, 神戸国際会議場
7. Hashimoto M, Harada K, Ohguro
H. : Vascular compressive cranial
neuropathy disclosed by 3-Tesla
MRI with FIESTA-C sequence. 第
18 回国際神経眼科学会, June15-18,
2010, Lyon, France

[図書] (計 1 件)

1 橋本雅人: 中山書店、視神経疾患の画像の
オーダー法. 「専門医のための眼科診療クオリ
ファイ⑦視神経疾患のすべて」2011, p17-21

6. 研究組織

(1) 研究代表者

橋本 雅人 (HASHIMOTO MASATO)
札幌医科大学・医学部・准教授

研究者番号：90295353

(2) 研究分担者

大黒 浩 (OHGURO HIROSHI)
札幌医科大学・医学部・教授
研究者番号：30203748

(3) 連携研究者

()

研究者番号：

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：