

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 30 年 6 月 26 日現在

機関番号：32643

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2017

課題番号：26461621

研究課題名(和文) 小児腎炎の非侵襲的組織診断方法の開発：MRI拡散テンソル画像による組織診断

研究課題名(英文) MRI tensor imaging in kidney : application for diagnosis of nephritis in children

研究代表者

高橋 和浩 (Takahashi, Kazuhiro)

帝京大学・医学部・講師

研究者番号：60297447

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)：腎生検による病理組織診断は腎炎治療に不可欠だが侵襲が大きく合併症リスクも高い。小児では生検に鎮静を要するなど負担が成人よりも大きい。MR拡散テンソル画像(DTI)は生体内水分子の拡散量と方向を画像化する手法である。DTIを用いたTractography(TG)は水分子拡散の異方性を追跡する方法で、中枢神経領域では白質の神経線維走行を可視化できるため、脳外科手術のシミュレーションなどへの応用が進んでいる。本研究では小児腎炎患者でTGを描出し、描出された線維の数と長さは腎の線維化の程度と逆相関する可能性が示唆された。TGは造影剤不要で繰り返し施行可能であり、腎線維化の経時的な追跡に有用と考えられる。

研究成果の概要(英文)：Renal histopathology, the gold standard of diagnosis for kidney diseases, requires biopsy which is invasive and has high risk of complications. Tractography (TG) using diffusion tensor imaging can show moving direction of water molecules in human body non-invasively and has already been using in clinical practice. The aim of the study is to show feasibility of TG to evaluate renal fibrosis in children with nephritis. Thirty children with renal diseases were included in the study. The number and length of TG were computed by publicly available softwares. Renal specimen of each patient was processed by Masson-Trichrome stain, then converted to digital data by image scanner and calculated the percentage of fibrotic part in whole specimen area. There was a negative correlation between percentage of fibrotic area and both number and length of fiber of TG in kidney. Our study suggests we can utilize TG to monitor renal fibrosis, because TG is non-invasive and doesn't require contrast agent.

研究分野：小児科学、腎臓病学

キーワード：腎炎 小児 拡散テンソル画像

1. 研究開始当初の背景

小児の腎炎は思春期以降における小児末期腎不全の主原因の1つである。腎生検による病理組織診断は腎炎の治療に不可欠である一方で、検査による侵襲の大きさが問題である。腎出血・血腫等の重大な合併症の発生頻度も日本腎臓学会の集計で100回あたり約1回と、検査リスクも高い。小児では生検時に必要な息止め等の協力も得にくいことから、多くの症例で全身麻酔等による鎮静を要し、患児の負担は成人よりも大きい。このため特に小児において、腎生検に替わりうるより安全で患児の負担が少ない、かつ組織傷害の検出にすぐれた新たな腎組織の評価方法が必要である。

現在腎生検の代替となりうる一般的な臨床検査法は1)血液生化学検査、2)尿検査、3)画像検査である。血液生化学検査・尿検査は侵襲が低く、繰り返し検査が可能であり、腎機能の変化や疾患再燃の検出感受性も比較的高いという長所を有するが、腎組織の浮腫や線維化といった病変は検出できない。画像診断も低侵襲の反復可能な検査で肉眼解剖レベルでの腎形態異常は検出できるものの、組織病理学レベルの評価は不可能であった。

私どもはこれまでMRI拡散強調画像(DWI)と灌流画像(PI)により「DWIとPIは病原性大腸菌感染後溶血性尿毒症症候群(HUS)患児の腎組織障害の評価に有用であること」を見出していた。

拡散テンソル画像(DTI)はDWIの情報に加え、生体内の水分子の拡散方向の情報であるfractional anisotropy値も得ることができる。また、DTIを用いたTractography(TG)はこの拡散の異方性を追跡する手法で、脳領域では神経線維の走行を可視化し、脳外科術前シミュレーションに活用されているが腎領域ではほとんど研究されていない。腎臓は尿細管や血管の走行に規則性があるため、異方性拡散が生じている可能性が高いと考えられる。私どもは(1)腎の拡散テンソルの方向はネフロン配列を反映し、(2)腎組織傷害でネフロン数が減少すれば、TGで描出される線維の数も減少すると予想して予備調査を行った。そして、腎でTGが描出可能であること、腎機能が低下すると描出される線維数も減少することを確認した。

2. 研究の目的

本研究の目標は、「小児腎炎患者で腎組織病変とDTIの所見が相関すること、組織病変の検出能は血液・尿検査よりもDTIの方が高いことを示すことにより、DTIは腎炎患者の組織を非侵襲的に経過観察しうる有用なツールであること」を明らかにすることである。

3. 研究の方法

(1) 拡散テンソル画像の撮影

帝京大学小児科で腎生検の適応となった

小児の腎炎の症例を対象に、DTIを腎生検1週間後に撮像する。撮像シーケンスはT2強調画像とDTIで、画像データの個人情報すべてを消去した後でDICOM形式のデータとして解析用コンピュータに保存した。

(2) FAマップとTGの描出

はじめにDICOMデータを画像情報処理パイプラインにより前処理(画像データから体動と渦電流の影響を除去)した。この処理はMATLAB®上で作動する画像処理プログラムのSPM8で行った。処理後、画像解析ソフト(TrackVisとDiffusion Toolkit)により腎組織のFAマップとTGを描出した。

(3) 病理標本の作成と腎組織診断

腎生検で得られた腎組織は、大部分をパラフィン包埋し、ヘマトキシリン・エオジン(H-E)染色、Masson-Trichrome(MT)染色、Periodicacid-Schiff(PAS)染色で染色する。1染色あたり、3つの連続切片からなる標本を作成して光学顕微鏡で鏡検するとともに、切片全体を病理組織用スライドスキャナーで画像化して保存した。同時に蛍光抗体(IgG、IgA、IgM、C3、フィブロンネクチン)法用のスライドも作成し、光学および蛍光顕微鏡所見から、原疾患の診断を行った。

(4) 腎組織スライドのデジタル化と腎組織障害のスコアリング

すべての病理スライドをスライドスキャナーでデジタル画像化した。MT染色においてアニリン青で染色されたコラーゲンを染色し、切片全体の面積に占めるMT染色でコラーゲン陽性部分の面積の割合(%)を算出した。

4. 研究成果

(1) TGは腎線維化の指標となりうる可能性

30例の小児(2~16歳)で検討を行った。疾患の主な内訳はIgA腎症7名、微小変化型ネフローゼ症候群5名、紫斑病性腎炎4名、巣状分節性糸球体硬化症3名などであった。M-T染色でコラーゲン線維面積の割合が3%未満のものをA群、コラーゲン線維面積の割合が10%以上のものをB群とした。TGによって描出された線維の長さ・本数はA群のほうがB群よりも有意に長く、本数も多かった。

腎TGは非侵襲的で、造影剤を必要としないため、特に学童期以降で鎮静が不要な症例では腎生検後のフォローの検査として、くり返し施行しうると考えられた。

問題点として、線維化が多いB群はA群に比べて年齢が高く、A群をage matched controlにできなかった。本研究期間内に検討できた症例には線維化が重度の症例が含まれておらず、TGと線維化の程度の相関については十分検討できなかった点が挙げられる。

(2) 腎画像のsegmentation

肝臓ではTGがほぼ描出されないため、右腎のTG描出は容易である一方、脾臓はTGが描出されるため、左腎単独のTGは描出が困

難であった。このため右腎の TG を用いて上記成果を論文として投稿した。reviewer から論文受理のためには両腎で Tractography の所見が一致することを示すことを要求された。

このため、研究期間を 1 年延長し、米国 Stanford 大学および Washington 大学の研究者と左右の腎を周囲組織から自動的に分離する新しいアルゴリズムを開発する共同研究を行い、その結果をもとに、論文を再投稿した。

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 28 件)

Takahashi K, Miyakawa S, Futatsuyama K, Manabe A, Shiraga H, Mimaki M, Ueda N. Increased γ and double negative T cell subsets in children with bacteremia of *Salmonella oranienburg*: an early diagnostic marker for bacteremia. *ADC Letter for Infectious Disease Control*. (査読有) 3 巻 (2017) 1 号 p. 12-15. https://doi.org/10.20814/ad.3.1_12.

Kanda T, Nakai Y, Hagiwara A, Oba H, Toyoda K, Furui S. Distribution and chemical forms of gadolinium in the brain: a review. *Br J Radiol*. (査読有) 2017 ; 90 (1079) : 20170115. DOI: 10.1259/bjr.20170115.

Aoki S, Kanda T, Matsutani N, Seki N, Kawamura M, Furui S, Yamashita H. Examination of the predictive factors of the response to whole brain radiotherapy for brain metastases from lung cancer using MRI. *Oncol Lett*. (査読有) 2017 ; 14 (1) : 1073-1079. DOI: 10.3892/ol.2017.6264.

Awazu M, Arai M, Ohashi S, Takahashi H, Sekine T, Ikeda K. Tubular Dysfunction Mimicking Dent's Disease in 2 Infants Born with Extremely Low Birth Weight. *Case Rep Nephrol Dial*. (査読有) 2017 ; 7 (1) : 13-17. DOI: 10.1159/000455828.

Satoh N, Yamada H, Yamazaki O, Suzuki M, Nakamura M, Suzuki A, Ashida A, Yamamoto D, Kaku Y, Sekine T, Seki G, Horita S. A pure chloride channel mutant of CLC-5 causes Dent's disease via insufficient V-ATPase activation. *Pflugers Arch*. (査読有) 2016 ; 468 (7) : 1183-96. DOI: 10.1007/s00424-016-1808-7.

Sekine T. Renal hypophosphatemia :

pathophysiology and treatment. *Clin Calcium*. (査読有) 2016 ; 26 (2) : 284-94. DOI: 10.1007/s12012-016-0294-2.

Kanda T, Nakai Y, Oba H, Toyoda K, Kitajima K, Furui S. Gadolinium deposition in the brain. *Magn Reson Imaging*. (査読有) 2016 ; 34 (10) : 1346-1350. DOI: 10.1016/j.mri.2016.08.024.

Kitajima K, Doi H, Kanda T, Yamane T, Tsujikawa T, Kaida H, Tamaki Y, Kuribayashi K. Present and future roles of FDG-PET/CT imaging in the management of lung cancer. *Jpn J Radiol*. (査読有) 2016 ; 34 (6) : 387-99. DOI: 10.1007/s11604-016-0546-2

Kanda T, Nakai Y, Aoki S, Oba H, Toyoda K, Kitajima K, Furui S. Contribution of metals to brain MR signal intensity: review articles. *Jpn J Radiol*. (査読有) 2016 ; 34 (4) : 258-66. DOI: 10.1007/s11604-016-0532-8.

Suenaga Y, Kitajima K, Kanda T, Otsuki N, Nibu K, Sasaki R, Itoh T, Sugimura K. [(18)F]-FDG PET/CT imaging for detection of nodal metastases in patients with squamous cell carcinoma of the pharynx and larynx: comparison with CT. *Jpn J Radiol*. (査読有) 2016 ; 34 (3) : 203-10. DOI: 10.1007/s11604-015-0510-6.

Kanda T, Oba H, Toyoda K, Kitajima K, Furui S. Brain gadolinium deposition after administration of gadolinium-based contrast agents. *Jpn J Radiol*. (査読有) 2016 ; 34 (1) : 3-9. DOI: 10.1007/s11604-015-0503-5.

Matsunaga A, Harita Y, Shibagaki Y, Shimizu N, Shibuya K, Ono H, Kato H, Sekine T, Sakamoto N, Igarashi T, Hattori S. Identification of 4-Trimethylaminobutyraldehyde Dehydrogenase (TMABA-DH) as a Candidate Serum Autoantibody Target for Kawasaki Disease. *PLoS One*. (査読有) 2015 ; 10 (5) : e0128189. DOI: 10.1371/journal.pone.0128189.

Kurtz DM, Green MR, Bratman SV, Scherer F, Liu CL, Kunder CA, Takahashi K, Glover C, Keane C, Kihira S, Visser B, Callahan J7, Kong KA, Faham M, Corbelli KS, Miklos D, Advani RH, Levy R, Hicks RJ, Hertzberg M, Ohgami RS, Gandhi MK, Diehn M, Alizadeh AA. Noninvasive monitoring of diffuse large B-cell lymphoma by immunoglobulin

high-throughput sequencing. *Blood*. (査読有) 2015 ; 125 (24) : 3679-87.

DOI: 10.1182/blood-2015-03-635169.

Sekine T, Sakaguchi C, Fukano Y. Investigation by microarray analysis of effects of cigarette design characteristics on gene expression in human lung mucoepidermoid cancer cells NCI-H292 exposed to cigarette smoke. *Exp Toxicol Pathol*. (査読有) 2015 ; 67 (2) : 143-51.

DOI: 10.1016/j.etp.2014.11.002.

Hibino S, Sasaki H, Abe Y, Hojo A, Uematsu M, Sekine T, Itabashi K. Renal function in angiotensinogen gene-mutated renal tubular dysgenesis with glomerular cysts.

Pediatr Nephrol. (査読有) 2015 ; 30 (2) : 357-60.

DOI: 10.1007/s00467-014-3007-0.

Kanda T, Matsuda M, Oba H, Toyoda K, Furui S. Gadolinium Deposition after Contrast-enhanced MR Imaging. *Radiology*.

(査読有) 2015 ; 277 (3) : 924-5.

DOI: 10.1148/radiol.2015150697.

Kanda T, Fukusato T, Matsuda M, Toyoda K, Oba H, Kotoku J, Haruyama T, Kitajima K, Furui S. Gadolinium-based Contrast Agent Accumulates in the Brain Even in Subjects without Severe Renal Dysfunction: Evaluation of Autopsy Brain Specimens with Inductively Coupled Plasma Mass Spectroscopy. *Radiology*. (査読有) 2015 ; 276 (1) : 228-32.

DOI: 10.1148/radiol.2015142690.

Kitajima K, Suenaga Y, Ueno Y, Maeda T, Ebina Y, Yamada H, Okunaga T, Kubo K, Sofue K, Kanda T, Tamaki Y, Sugimura K.

Preoperative risk stratification using metabolic parameters of (18)F-FDG PET/CT in patients with endometrial cancer. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. (査読有) 2015 ; 42 (8) : 1268-75.

DOI: 10.1007/s00259-015-3037-2.

Kanda T, Kiritoshi T, Osawa M, Toyoda K, Oba H, Kotoku J, Kitajima K, Furui S. The incidence of double hypoglossal canal in Japanese: evaluation with multislice computed tomography. *PLoS One*. (査読有) 2015 ; 10 (2) : e0118317.

DOI: 10.1371/journal.pone.0118317.

Kanda T, Osawa M, Oba H, Toyoda K, Kotoku J, Haruyama T, Takeshita K, Furui S. High Signal Intensity in Dentate Nucleus on Unenhanced T1-weighted MR Images: Association with Linear versus Macrocyclic Gadolinium Chelate Administration. *Radiology*. (査読有) 2015 ; 275 (3) : 803-9.

DOI: 10.1148/radiol.14140364.

⑳ Nakamura A. Genotypes of the renin-angiotensin system and glucocorticoid complications. *Pediatr Int*. (査読有) 2015 ; 57 (1) : 72-8.

DOI: 10.1111/ped.12434.

㉑ Sirachainan N, Komwilaisak P, Kitamura K, Hongeng S, Sekine T, Kunishima S. The first two cases of MYH9 disorders in Thailand: an international collaborative study. *Ann Hematol*. (査読有) 2015 ; 94 (4) : 707-9.

DOI: 10.1007/s00277-014-2234-6.

㉒ Saida K, Kamiyo Y, Matsuoka D, Noda S, Hidaka Y, Mori T, Shimojo H, Ehara T, Miura K, Takita J, Sekine T, Igarashi T, Koike K. A case of adult Dent disease in Japan with advanced chronic kidney disease. *CEN Case Rep*. (査読有) 2014 ; 3 (2) : 132-138.

DOI: 10.1007/s13730-013-0102-1.

㉓ Morisada N, Sekine T, Ishimori S, Tsuda M, Adachi M, Nozu K, Nakanishi K, Tanaka R, Iijima K. 16q12 microdeletion syndrome in two Japanese boys. *Pediatr Int*. (査読有) 2014 ; 56 (5) : e75-8.

DOI: 10.1111/ped.12426.

㉔ Tsurumi H, Harita Y, Kurihara H, Kosako H, Hayashi K, Matsunaga A, Kajiho Y, Kanda S, Miura K, Sekine T, Oka A, Ishizuka K, Horita S, Hattori M, Hattori S, Igarashi T. Epithelial protein lost in neoplasm modulates platelet-derived growth factor-mediated adhesion and motility of mesangial cells. *Kidney Int*. (査読有) 2014 ; 86 (3) : 548-57.

DOI: 10.1038/ki.2014.85.

㉕ Kunishima S, Kitamura K, Matsumoto T, Sekine T, Saito H. Somatic mosaicism in MYH9 disorders: the need to carefully evaluate apparently healthy parents. *Br J Haematol*. (査読有) 2014 ; 165 (6) : 885-7.

DOI: 10.1111/bjh.12797.

㉖ Kitajima K, Suenaga Y, Kanda T,

Miyawaki D, Yoshida K, Ejima Y, Sasaki R, Komatsu H, Saito M, Otsuki N, Nibu K, Kiyota N, Minamikawa T, Sugimura K. Prognostic value of FDG PET imaging in patients with laryngeal cancer. PLoS One. (査読有) 2014 ; 9 (5) : e96999. DOI: 10.1371/journal.pone.0096999.

⑳ Kitajima K, Suenaga Y, Ueno Y, Kanda T, Maeda T, Deguchi M, Ebina Y, Yamada H, Takahashi S, Sugimura K. Fusion of PET and MRI for staging of uterine cervical cancer: comparison with contrast-enhanced (18)F-FDG PET/CT and pelvic MRI. Clin Imaging. (査読有) 2014 ; 38 (4) : 464-469. DOI: 10.1016/j.clinimag.2014.02.006.

〔学会発表〕(計 11 件)

高橋和浩、神田知紀、古井滋、三牧正和。腎 MRI 拡散テンソル画像:逆流性腎症におけるネフロン数減少検出の試み。第 60 回日本腎臓学会学術総会。2017 年

久野正貴、高橋和浩、服部元史。腹膜透析液貯留は下大静脈を虚脱させ、心機能を低下させる可能性。日本透析医学会学術集会。

澁谷義彰、高橋和浩、星野英紀、景山秀二、蔵本怜、三重野孝太郎、三牧正和。フローサイトメトリーの有用性が示唆された非チフス性サルモネラ菌血症の 1 例。日本小児科学会学術集会。2017 年

嶋田怜士、高橋和浩、佐藤恭弘、中村こずえ、小山隆之、三牧正和。腎臓における MRI 拡散テンソル画像:腎実質減少疾患におけるネフロン数減少検出の試み。日本小児科学会学術集会。2017 年

高橋和浩、神田知紀、関根孝司、中村明夫、古井滋、三牧正和、Sandy Napel、Paul Grimm。小児腎炎における非侵襲的組織診断法の開発 -MRI 拡散テンソル画像による腎組織評価の試み-。日本小児腎臓病学会学術集会。2017 年

久野正貴、高橋和浩、服部元史。小児腹膜透析患者の血管硬化度と biomarker -カルボニルストレスと炎症の影響-。第 38 回日本小児腎不全学会。2016 年

久野正貴、高橋和浩、服部元史。小児腹膜透析患者の血管硬化度と biomarker。日本透析医学会学術集会。2016 年

高橋和浩、神田知紀、中井まりえ、山本美佳智、佐藤恭弘、影山秀二、片山大河、小山哲、小山隆之、豊田彰史、中村こずえ、三牧正和、中村明夫、古井滋。MRI による腎外傷診断に T2 BLADE 画像が有用である可能

性。日本小児腎臓病学会学術集会。2015 年

門脇弘子、高橋和浩、中村こずえ、小川英伸、高瀬暁、岡崎啓明。高度の脂質異常症が抗リン脂質抗体症候群疑いであった一小児例。日本内分泌学会。2015 年

香坂隆夫、中村明夫。母と子に認められた低 C3 血症と MPGNtype1 の発症機序。日本小児腎臓病学会学術集会。2015 年

高橋和浩、黒崎くみ子、江崎崇、菊地陽、小堀勝充、田島剛、新実了、中村明夫。副腎ステロイド薬による体重変化とアンギオテンシノーゲン遺伝子多型との関係 小児ネフローゼ症候群における検討。日本小児腎臓病学会学術集会。2014 年

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

取得状況(計 0 件)

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

高橋 和浩 (TAKAHASHI, Kazuhiro)
帝京大学・医学部・講師
研究者番号: 6 0 2 9 7 4 4 7

(2) 研究分担者

中村 明夫 (NAKAMURA, Akio)
帝京大学・医学部・講師
研究者番号: 7 0 2 6 6 2 8 7

古井 滋 (FURUI, Shigeru)
帝京大学・医療技術学部・教授
研究者番号: 7 0 2 6 6 2 8 7

神田 知紀 (KANDA, Tomonori)
神戸大学・医学部・助教
研究者番号: 3 0 5 1 4 7 8 1

関根 隆司 (SEKINE, Takashi)
帝京大学・医学部・教授
研究者番号: 5 0 2 5 5 4 0 2