

労災疾病臨床研究事業費補助金

革新的高次脳機能診断法・治療法の樹立
(14050101-01)

平成28年度 研究報告書

研究代表者 石内 勝吾

平成29(2017)年 3月

目 次

I. 総括研究報告	
革新的高次機能診断法・治療法の樹立に関する研究	1
研究代表者氏名	石内勝吾
II. 分担研究報告	
1. 経頭蓋直流電流刺激による高次脳機能障害の治療の樹立に関する研究	9
分担研究者 4 氏名	西村正彦
分担研究者 1 氏名	菅原健一
分担研究者 2 氏名	渡邊孝
研究代表者 氏名	石内勝吾
2. 革新的高次脳機能治療法の樹立に関する研究	13
—高密度 (256ch) 脳波計を用いた解析—	
分担研究者 5 氏名	土田幸男
分担研究者 4 氏名	西村正彦
研究代表者 氏名	石内勝吾
3. MRスペクトルスコピー(¹ H-MR spectroscopy)を用いた	17
非侵襲的診断法に関する研究	
分担研究者 8 氏名	小林繁貴
研究代表者 氏名	石内勝吾
4. 簡易脳波計測システムを用いた海馬機能解析に関する研究	21
分担研究者 7 氏名	米須諒
分担研究者 4 氏名	西村正彦
研究代表者 氏名	石内勝吾
5. 革新的高次脳機能障害治療患者脳におけるグラフ理論の応用による	25
機能的ネットワーク解析に関する研究	
分担研究者 4 氏名	西村正彦
研究代表者 氏名	石内勝吾
6. 高次脳機能障害患者に対する神経心理学的解析に関する研究	29
分担研究者 5 氏名	土田幸男
分担研究者 4 氏名	西村正彦
7. 高次脳機能障害患者に対する	33
Diffusion Tensor Image (DTI) 解析に関する研究	
分担研究者 6 氏名	宇杉竜一
分担研究者 3 氏名	外間洋平
III. 研究成果の刊行に関する一覧表	39
IV. 研究成果の刊行物・別刷	41

I. 労災疾病臨床研究事業費補助金
(総括) 研究報告書

革新的高次脳機能診断法および治療法の樹立に関する研究
研究代表者 石内 勝吾

研究要旨： 抜本的な高次脳機能障害に対する診断法および治療法の樹立に向けて、大脳・小脳を含む神経回路網の機能的ネットワークの再生と同時に海馬機能の回復が重要とする我々の仮説に基づき、脳機能イメージングの手法を駆使して大規模ネットワーク内での相互作用の解析と同時によりスケールダウンした海馬体に焦点を絞った研究を行った。最終年度は、診断法の汎用化を目的にプロトンスペクトルスコピーを用いた海馬機能評価診断法によるバイオマーカーの同定を行った。また独自に開発した簡易脳波計を用いて海馬歯状回機能を反映する θ 波に着目して時間周波数解析を行い海馬神経新生機能の評価法となりうることを確認した。海馬の subregion 間の機能連関に関して BOLD 反応 (Blood Oxygenation Dependent Level) を時間軸から追跡し動画化することで intrahippocampal pathway の可視化に成功した。平成 28 年度は fMRI による解析を延べ 229 件 (うち健常者 19 名を含む)、このうち fMRI 対応 EEG system (EGI 社) による高密度 EEG 解析は 110 症例 (うち健常者 19 名を含む) 行った。海馬課題解析は 148 件 (うち健常者 15 例を含む) に施行し tDCS(transcranial Direct current stimulation) (DC-STIMULATOR Plus;neuroConn) を用いた加療は 17 症例に施行しグラフ理論から導かれた大規模ネットワーク解析から tDCS 加療は高次脳機能障害を引き起こす大脳皮質間結合を離断し、NMDA 受容体拮抗薬の内服の併用は辺縁系、帯状回、海馬および小脳系モジュールの再構成を促進するという知見が得られた。これ等革新的診断法に基づく革新的治療により誘導された小脳-海馬-帯状回ネットワークの再構成が海馬機能の回復を導きさらには高次脳機能の回復につながることを見出した。

研究分担者氏名・所属研究機関名及び所属研究機関における職名

米須 諒・琉球大学医学部・大学院生
小林 繁貴・琉球大学医学部・大学院生

菅原健一・琉球大学医学部・講師
渡邊孝・琉球大学医学部・講師
外間洋平・琉球大学医学部・助教
西村正彦・琉球大学医学部・助教
土田幸男・琉球大学医学部・特命助教
宇杉竜一・琉球大学医学部・大学院生

A. 研究目的

本研究の目的は労災による 1) 交通事故、転倒・転落事故等によるびまん性軸索損傷、2) 過労により発症した心筋梗塞や脳卒中による低酸素脳症 3) 炭塵爆発

事故による遷延化した一酸化中毒を対象に疾患により引き起こされた高次脳機能障害の革新的な診断法および治療法の確立することで労災補償行政の施策等への活用の道を見出すことを目的とする。

B. 研究方法

本研究では以下の2つの仮説を理論的な背景として解析を進めた。第一の仮説として高次脳機能障害を小脳と海馬および前部帯状回中間部を含む神経回路網のネットワーク障害として捉える (*Cerebellum 2015*)¹。第二の仮説は高次脳機能障害の回復には、海馬機能の回復が必須である。この仮説の検証のための方法論として1) 治療前に高次脳機能障害患者の海馬機能評価および脳内ネットワークの評価をする。2) 海馬機能ことに神経新生能に対して促進的に働きかつ有効な革新的治療剤を同定する。3) 治療効果およびその回復の脳内ネットワーク動態をneuroimagingの手法により可視化する。4) 得られた知見や方法を一般化・汎用化する道を探索する。以上の4点を課題として研究を遂行した。

海馬機能評価については、機能的磁気共鳴画像 (3T Discovery, GE社) による独自に開発したLure taskを用いて海馬パターン分離及びパターン補完を評価する事で神経新生能力を4段階で評価した。様々なneuroimagingの手法を導入し高性能3T MRIを用いて安静時脳活動を評価した神経回路網の形態を拡散テンソル画像を用いて視覚化および定量化(FA値、MD値、AD値、RD値)した。FA値は Fractional Anisotropy 異数性のことで、白質の統合性を示し値が1に近づく程方向性が同一となる。MD値はM

eanDiffusivity の同容で神経回路の障害の程度を示す。AD値はAxial Diffusivity の略で軸索損傷の程度を示し、RD値はRadical Diffusivity の略で髄鞘損傷の程度を示す。これらの基盤情報に基づいて経頭蓋直流電流刺激法と薬物療法を組み合わせる最新のニューロリハビリを施行する事で海馬の神経新生能を促進し、同時に小脳・大脳・脳幹の神経回路網を修復し脳の可塑性を高めることで高次機能の革新的な回復を実現することを目的とした。さらに治療効果は独自に開発した海馬機能評価法を応用して機能的な磁気共鳴画像 (fMRI) を用いてリアルタイムにモニタリングした (特開 2015-195835)²

海馬機能評価法にて海馬新性能低下が判明した場合は脳の可塑性を高める方法として安全性が高く汎用性、効果も高いtDCS(transcranial Direct current stimulation) (DC-STIMULATOR Plus;neuroConn) を用いて1日1回1mA, 30分間まで左側DLPFC(dorsolateral prefrontal cortex)を陽極刺激し右側前額部に陰極電極を留置し1クール5回とし、最大2クール(10 sessions)まで施行した。電極面積は5cm × 7cm で35cm²、患者が情動障害を伴う場合は刺激部位を後方にずらし、中心溝を跨ぐ部位を刺激した。

尚、海馬機能は機能的磁気共鳴画像による独自に開発したLure taskを用いて海馬パターン分離及びパターン補完を評価することで神経新生能力を4段階で評価した。最も重症なのは神経新生能が途絶したGrade IIIで経頭蓋的電気刺激法や薬物による賦活治療の適応となる。これにより神経新生の促進が期待できる。Grade II は神経新生

能の途絶はしていないが機能低下が1ヶ月以上継続している患者で内服薬や経頭蓋的電気刺激法の適応である。**Grade II**は1ヶ月以内の最近の新生機能低下が示唆されライフスタイル等の改善で根本原因を除去するだけで回復が期待できる。**Grade0**は新生機能が正常範囲にあるタイプである。

本研究は患者の脳機能解析・神経心理解析に対して倫理を重んじ患者利益を損ない事の無いよう配慮を行なうとともに琉球大学倫理委員会の承認を受け、患者本人、およびその家族に対して十分な説明を行い書面にて同意を得ている。尚、本研究では非競合的な **NMDA** 受容体拮抗薬 **memantine 5mg** または **10mg** 1日1回の内服を原則とした。

C. 研究結果

平成28年度は **fMRI** による解析を延べ229件(うち健常者19名を含む)、このうち **fMRI** 対応 **EEG system (EGI社)** による高密度 **EEG** 解析は110症例(うち健常者19名を含む)行った。海馬課題解析は148件(うち健常者15例を含む)に施行し **tDCS(transcranial Direct current stimulation) (DC-STIMULATOR Plus;neuroConn)** を用いた加療は17症例に施行した。解析結果の詳細は、各分担研究者の項目を参照していただきたいがここではその概要を総括する。

革新的診断技術確立のための研究結果

¹H-MR spectroscopyによる海馬新生機能バイオマーカー探索

すでに確立した行動課題タスクによる機能的磁気共鳴画像 (functional MRI lure task) から得られるパターン分離能を評価した若年健常者23名(平均年齢24.7±2.6、男性15名、女性8名)に対し、¹H-MR spectroscopyにより両側海馬の各種代謝産物 (Lipid 13a (Lip13a)、N-acetyl-L-aspartate (NAA)、N-acetyl-L-aspartyl-glutamate (NAAG)、Glutamate (Glu)、Creatine (Cr)、Choline (Cho)、Myo-inositol (MyoI) の7種類の各種代謝産物) を測定し、両者の関連性を評価した。その結果右海馬における MyoI/Cr ($r=0.53$, $p<0.05$) で **fMRI** から得られたパターン分離能との有意な正の相関を認めた。また、右海馬における Lip13a/Cr ($r=0.55$, $p<0.05$)、Lip13a/NAA ($r=-0.64$, $p<0.001$)、および Lip13a/tNAA ($r=-0.65$, $p<0.01$) で有意な負の相関を認めた。左側海馬ではすべての指標で相関性は認められなかった。¹H-MR spectroscopyによる右側海馬を標的とした MyoI/Cr, Lip13a/Cr, Lip13a/NAA, 及び Lip13a/tNAA は有用な神経新生能のバイオマーカーとなりうる事が判明した。

高密度脳波計および簡便型脳波計を用いた海馬新生機能バイオマーカー探索

2016年度に高密度脳波計を用いて計測した患者は110例、健常成人は19例、合計129例であった。健常成人19例のうち、機械的問

題による計測の問題を認めた例、これまでの健常成人データ平均の正答率と比べて-2SDを超えた例を除いた15名(女性9名、男性6名、平均年齢28±12歳)を健常者群とした。患者データの詳細な解析結果は分担者

報告を参照願いたい。

海馬パターン分離能をEEG反応から得られたERP (Event Related Response) を解析した。fMRI Lure課題の正答率は45%と、New課題やSame課題に比べて難易度が高いことを反映し反応時間で検証すると、Lure では $1535.73 \pm 234.62\text{ms}$ と New の $1138.70 \pm 229.74 \text{ ms}$ や Same の $1206.48 \pm 226.66 \text{ ms}$ より時間が延長していた。Lure 課題では、前頭部電極のERPは刺激呈示後約1000 msと1400 ms付近に陰性成分を惹起

しいいわゆる曖昧な記憶痕跡を評価する過程と類似している。右・左顔面部位電極からは海馬体の電気活動を取得できそのERPにおいて、Lureは前頭より速い800 ms付近の時

間帯で陰性成分を惹起し時間周波数分析では、記憶活動に関連する θ 帯域 (4~8 Hz) の活動が前頭部では $0.02\mu\text{V}^2$ と弱く検出され、右顔面部位では $0.2\mu\text{V}^2$ と強く同定された。一方、左顔面部位では θ 帯域のパワーは

相対的に弱く顔面部位電極が検出する脳活動は左よりも右海馬において、Lureに対する特異的な反応を示す可能性を示唆している点は興味深い。また高次脳機能障害を持つ患者の評価において海馬パターン分離のERPおよび時間周波数解析から様々な多様性ある高次機能障害患者においても θ 帯域を含めた幅広い帯域の強い活動—海馬機能の過活動が特徴で治療により過活動は収束し安定した脳活動を示す結果が得られている。簡便型脳波計においても(分担項参照)ERPの時間周波数解析にて同様のバイオマーカーが取得できた。

言語流調性に関与する Frontal aslant tract (FAT) のアトラステンプレートの作成

本年度紹介され、Diffusion Tensor Image (DTI) 解析を実施した高次脳機能障害患者は42例 (平均年齢51.5歳±16.4歳、脳腫瘍32名、頭部外傷4名、脳血管障害3名、その他機能的疾患3名) であり神経心理学的検査の各domainから得られた高次脳機能において成績低下を示した割合はpsychomotor speed 75.6%, executive function 79.3%, memory 78%, working memory 74.4%, global cognitive function 70.7%であった。DTIにより高次脳機能障害の原因となる神経線維束の微細なミエリンの脱髄性変化や軸索損傷などの白質変性を定量的にとらえる事ができ、従来の神経心理検査所見を補足補完し治療方針の決定や効果判定に有用であると思われた。DTIで測定した左右12神経線維束(帯状回、海馬傍回、錐体路、前視床放線、上縦束、弓状束、下縦束、前頭後頭束、鉤状束、大鉗子、小鉗子、Frontal aslant tract 以下FAT)の異方性比率 (Fractional anisotropy : 以下FA値) をそれぞれ白質統合性指標とし定量化を試みた。FA値とはDTIデータで取得された水分子の拡散運動の方向性が一方向のみの場合には1となり、逆にランダムな拡散をする場合には0となり、FA値が1に近いほど白質統合性が高い事を示している。解析対象とした12神経線維束の中、FAT以外の11神経線維束はジョンホプキンス大学から提供されたトラクトグラフィアトラスを使用した。残りのFATは提供されている既存のアトラスでは見当たらなかった為、20名の健常被験者のDTIからAutomated Anatomical Labeling (AAL)アトラスからsupplementary

motor area (SMA)とBroca area44の2つのROIを設定し、2点を通過する白質線維をFATと定義し、FSL に実装されているprobabilistic tractography を用いて20名分の平均FATトラクト画像（5%以下の値は除外）を独自のFATアトラスとした。さらに精度の検証を行い公開を予定している。詳細は分担者項を参照されたい。

海馬課題遂行中のintrahippocampal pathwayの可視化

fMRIによる海馬課題遂行中の患者に対して海馬のsubregion間の機能連関に関してBOLD反応 (Blood Oxygenation Dependent Level) を時間軸から追跡し動画化することでintrahippocampal pathwayの可視化に成功し、動画上からもdirect pathway (entorhinal cortex からdirect にCA1 へ入る情報回路)とpolysynaptic pathway (entorhinal cortex からdentate gyrus、CA3 を介しCA1、海馬台へ流れる情報網)を区別しうることを明らかにした。添付資料1に健常者36例のデータと高次脳機能障害患者の治療前後の変動を示す。治療によりpolysynaptic pathwayが機能回復しているのが判る。

革新的治療技術確立のために研究結果

平成28年年度にtDCS治療を受けた症例は17例である。海馬機能評価ではGrade IIIで、海馬機能の重篤な障害を示す症例では海馬新生能が低下し、海馬の機能が著しく障害されているが、tDCS刺激にて左前頭葉を刺激することで、海馬歯状回の血流は改善し、歯状回のBOLD反応は健常者と同様な波形パターンを示し、海馬パターン

分離能も改善された。tDCS刺激は海馬の新生能を促し、海馬のパターン分離、パターン補完機能の改善に有効な治療手段であると思われる。頭部外傷後症候群では脳内の軸索が瀰漫性に損傷され、脳内のネットワークの障害が海馬新生能を阻害し、海馬パターン分離が障害されることで認知機能が低下しており左前頭葉へのtDCS刺激は脳内の機能的ネットワークの再構成を促進させ海馬新生能の改善に寄与している可能性が考えられる。有害事象の発生は無く、我々の手法はグラフ理論および脳機能画像からもその有効性が確認できた（グラフ理論によるネットワーク解析の項参照）。

D. 考察

今回症例を重ね探索した結果、ヒトにおいて海馬歯状回部のシナプス機能の回復が高次脳機能障害の回復に本質的な役割を果たす可能性が示唆されたと同時に機能的な再構成が生じていることをグラフ理論の解析から証明できた。海馬神経新生機能が低下した高次脳機能障害患者のtDCS治療は左側DLPFCを陽極刺激（陰極は前側右側前額部とした）で治療すると全例で海馬神経新生能の回復と高次脳機能の回復が得られたばかりではなく、さらに非競合的なNMDA受容体拮抗薬memantineを用いて薬物療法することでgrade IIIの海馬新生機能の途絶した患者群においてもヒト認知能とりわけ記憶の根幹を形成するパターン分離能の再生を促すことが判明し認知能の機能維持に有効であることが判明した。これ等の知見は、様々な脳疾患で海馬機能に障害を受けている患者においても神経幹細胞を神経前駆細胞へ

動因をする事で海馬機能の回復が図れるばかりではなく高次脳機能の賦活そしてその維持を実現できるという臨床的なエビデンスが得られた。¹H-MR spectroscopyによる海馬新生機能バイオマーカーや高密度脳波計および簡便型脳波計を用いた海馬新生機能バイオマーカーを一般臨床へ応用できれば臨床診断の精度が高まり治療適応を的確に判断できるだろう。

E. 結論

海馬神経新生機能が低下した高次機能障害患者17名にtDCSに左側DLPFCを陽極刺激で治療すると全例で海馬神経新生能の回復と高次脳機能の回復が得られた。非競合的なNMDA受容体拮抗薬memantineは機能維持に重要な役割を果たしている。グラフ理論に基づく解析からヒト脳の機能的再生、神経回路網の機能的再構成に関する知識と理解が深まった。

F. 健康危険情報

研究代表者、研究分担者等本研究事業に参画したものは特に研究環境の安全衛生面での問題はなかった。研究対象者に対しては検査時間の短縮に努めると同時にマイクロホンによる検査施行中の意思疎通に努め、予め承諾を得た上でのテレビカメラによるモニターを行い患者が安全に検査が受けられる環境の形成に努める配慮を行い有害事象の発生はない。

文献

- 1) Shiroma A., et al., *Cerebellum*. 2016; 15: 645-662
- 2) 特開 2015-195835 海馬機能の評価値算出方法、海馬機能の評価値算出システム、

海馬機能の評価方法およびテストアイテムセット

G. 研究発表

1. 論文発表

脳腫瘍学—基礎研究と臨床研究の進歩—IX
脳腫瘍の治療 脳腫瘍の放射線治療法
放射線治療：概論
石内勝吾 日本臨床 74巻 増肝号7 pp570-576 2016

希少疾病ライブラリ

膠芽腫

石内勝吾 CareNet 公開日2017 3月21日

<http://www.carenet.com/report/library/general/rare/gbm.html>

脳腫瘍臨床病理アトラス 第4版 Central neurocytoma, Extraventricular neurocytoma, Cerebellar liponeurocytoma
石内勝吾、鈴木博義 医学書院 2017 *in press*

脳腫瘍病理アトラス 3. 脳腫瘍の臨床 治療 中里洋一編集
石内勝吾 中外医学社 2017 *in press*

A case of high-grade astrocytoma with B RAF and ATRX mutations following a long-standing course over two decades.
Nakata S, Horiguchi K, Ishiuchi S, Yoshimoto Y, Yamada S, Nobusawa S, Ikota H, Hirato J, Yokoo H. *Neuropathology*. 2017 *in press*

ワーキングメモリと学習方法の関連性
土田幸男、室橋春光

教職をめざす人のための発達と教育の心理学 第6章 自己理解とパーソナリティ
土田幸男、富永大介、平田幹夫、竹村明子、金武育子 ナカニシヤ出版 2016.5.15

改訂 生理心理学 第三巻 ワーキングメモリと注意
土田幸男、室橋春光、苧阪満里子
北大路書房 *in press*

ワーキングメモリと学習方法の関連性
土田幸男、室橋春光 子ども発達臨床研究 9号 pp47-55 2017

教職をめざす人のための発達と教育の心理学 コラム3 ワーキングメモリと実行機

能系と脳

土田幸男、富永大介、平田幹夫、竹村明子、
金武育子 ナカニシヤ出版 2016.5.15
2. 講演

グリオーマの最新知見 グリオーマ浸潤性
増殖と治療抵抗性機能性ネットワーク形成

石内勝吾 シンポジウム The 36th Annual
meeting of the Japanese Congress of
Neurological Surgeons
2016 5. 27 大阪国際会議場

高次脳機能障害と関連判例
石内勝吾 教育講演 高次脳機能障害研修
会 沖縄県弁護士会館
2016 7月8日

グリオーマ手術と脳ネットワーク理論
石内勝吾 シンポジウム 臨床脳神経外科
学会 2016 7.23 埼玉・熊谷市

脳科学を基盤とする脳神経外科学の樹立-D
evelopment of Neurosurgery based on
brain science-
石内勝吾 教育講演 Brain tumor in Se
ndai 2016 9.7 仙台市

神経膠芽腫に対する新規認知能治療の開発
石内勝吾 第75回社団法人日本脳神経外科
学会総会 2016 9.26 福岡国際会議場

脳波解析の最先端 機能画増解析を応用し
た脳疾患の診断と治療
石内勝吾 モーニングセミナー 第19回薬
物脳波学会 第4回宮古島神経科学カンフ
ァレンス
2016 11. 12 ホテルブリーズベイマリーナ
宮古島

琉球大学でのロボットスーツHAL研究
石内勝吾 基調講演 第5回日本脳神経HA
L研究会 2016 12 17 京都大学百年記念
館

新規抗てんかん薬Lacosamideの薬理作用
石内勝吾 基調講演 第1回 沖縄ラコサ
ミド研究会 2017 1.17 ラグナガーデン
宜野湾市

脳腫瘍に対する低磁場術中MRIを併用した
画像誘導手術 -Image-guided surgery usin
g low field intraoperative MRI system for
brain tumors-
菅原健一、金城雄生、小林繁貴、外間洋平、
宮城智央、渡邊孝、石内勝吾 ポスター 一

般社団法人日本脳神経外科学会第75回学術
総会 2016.9.29 マリンメッセ福岡

小脳動静脈奇形に対するガンマナイフ治療
9年後の妊娠後期に急激に進行した慢性被
膜下脳内血腫の1例
渡邊孝、長嶺英樹、石内勝吾 ポスター 第
41回日本脳卒中学会総会 2016.4.15

頭蓋内髄膜腫および腫瘍周辺部浮腫の局在
が神経認知機能へ与える影響
渡邊孝、菅原健一、金城雄生、小林繁貴、
長嶺英樹、外間洋平、宮城智央、石内勝吾
一般口演 一般社団法人日本脳神経外科
学会第75回学術総会 2016.9.30 福岡国
際会議場

2016WHO脳腫瘍分類における悪性神経膠
腫に対するbevacizumabを用いた化学療法
の効果 -Efficacy of bevacizumab for high
grade glioma according to the 2016 Wo
rld Health Organization Classification of
Tumors of the Central Nervous System-
渡邊孝、菅原健一、金城雄生、小林繁貴、
外間洋平、宮城智央、石内勝吾 ポスター
第34回日本脳腫瘍学会学術集会 2016.1
2.5甲府富士屋ホテル 甲府市

異なる手術到達法による経鼻的経蝶形骨洞
手術後の鼻腔合併症の比較検討 -Compari
son of sinonasal complications after two d
ifferent surgical approach, transeptal mic
roscopic and binostril endoscopic transsp
henoidal surgery for pituitary lesions.-
渡邊孝、外間洋平、石内勝吾 シンポジウ
ム第27回日本間脳下垂体腫瘍学会 2017.2.
25 日本経済新聞社東京本社ビル

聴神経腫瘍手術におけるDiffusion tensor tr
actographyの有用性
外間洋平、宮城智央、小林繁貴、金城雄生、
菅原健一、渡邊孝、石内勝吾 一般口演 第
25回日本聴神経腫瘍研究会 2016.6.4 興
和株式会社東京支店

放射線障害に対する高気圧酸素療法の神経
保護効果 拡散MRI像を用いた定量解析
外間洋平、小林繁貴、金城雄生、宮城智央、
長嶺英樹、菅原健一、渡邊孝、石内勝吾 ポ
スター 一般社団法人日本脳神経外科学会
第75回学術総会 2016.9.30 福岡国際会
議場

ロボットスーツによる機能訓練は歩行機能
の改善に寄与する。
西村正彦、小林繁貴、金城雄生、長嶺英樹、
菅原健一、石内勝吾 一般口演 第50回日

本作業療法学会 2016.9.10 ホテルさっぽろ芸文館 札幌市

視覚注意スパンのトレーニング効果の検討
土田幸男、宇野智己、米須諒、関あゆみ 一般口演 第2回坂本勉記念神経科学研究会
2017.2.18 大正大学2号館 東京都豊島区

¹H-MRSによるglioblastomaおよびmalignant lymphomaの鑑別

小林繁貴、渡邊孝、菅原健一、金城雄生、長嶺英樹、外間洋平、石内勝吾 一般口演
一般社団法人日本脳神経外科学会第75回学術総会 2016.9.29 マリンメッセ福岡

当院における悪性神経膠腫に対する光線力学療法

小林繁貴、菅原健一、金城雄生、外間洋平、宮城智央、渡邊孝、石内勝吾 一般口演 第125回日本脳神経外科学会九州支部会 2017.3.11 福岡大学医学部RI講義棟

The most advanced neurosurgical simulation

Tomohisa Miyagi, Shigetaka Kobayashi, Yuki Kinjo, Hideki Nagamine, Yohei Hokama, Yukio Tsuchida, Masahiko Nishimura, Kenichi Sugarawa, Takashi Watanabe, Shogo Ishiuchi. Panel The 9th international society for simulation surgery 2017.12.3 Nara Centennial Hall

術中における3DCGを用いたナビゲーションシステムの最先端応用についての臨床経験

宮城智央、小林繁貴、金城雄生、外間洋平、宇杉竜一、土田幸男、西村正彦、菅原健一、渡邊孝、石内勝吾 シンポジウム 第40回日本脳神経CI学会総会 2017.3.3 鹿児島サンロイヤルホテル

術前と術中における立体コンピュータ画像と立体モデルの最先端臨床応用

宮城智央、小林繁貴、金城雄生、長嶺英樹、外間洋平、城間綾乃、宇杉竜一、土田幸男、西村正彦、菅原健一、渡邊孝、石内勝吾 一般口演 一般社団法人日本脳神経外科学会第75回学術総会 2016.10.1 福岡国際会議場

放射線治療による低酸素応答における高気圧酸素療法の影響 -Effect of hyperbaric oxygenation treatment radiotherapy induced cellular hypoxic response in Glioblastoma-

片桐千秋、長嶺英樹、松下正之、石内勝吾
ポスター 第39回日本分子生物学会年会
2016.12.2 パシフィコ横浜

Hyperbaric oxygenation treatment suppresses radiotherapy induced cellular hypoxic response in glioblastoma.

Chiaki Katagiri, Hideki Nagamine, Shogo Ishiuchi. general presentation The 7th international Society of Radiation Neurobiology Conference 2017.2.9 Hotel Futaba

Radiation induced cellular hypoxic response is suppressed by hyperbaric oxygenation treatment.

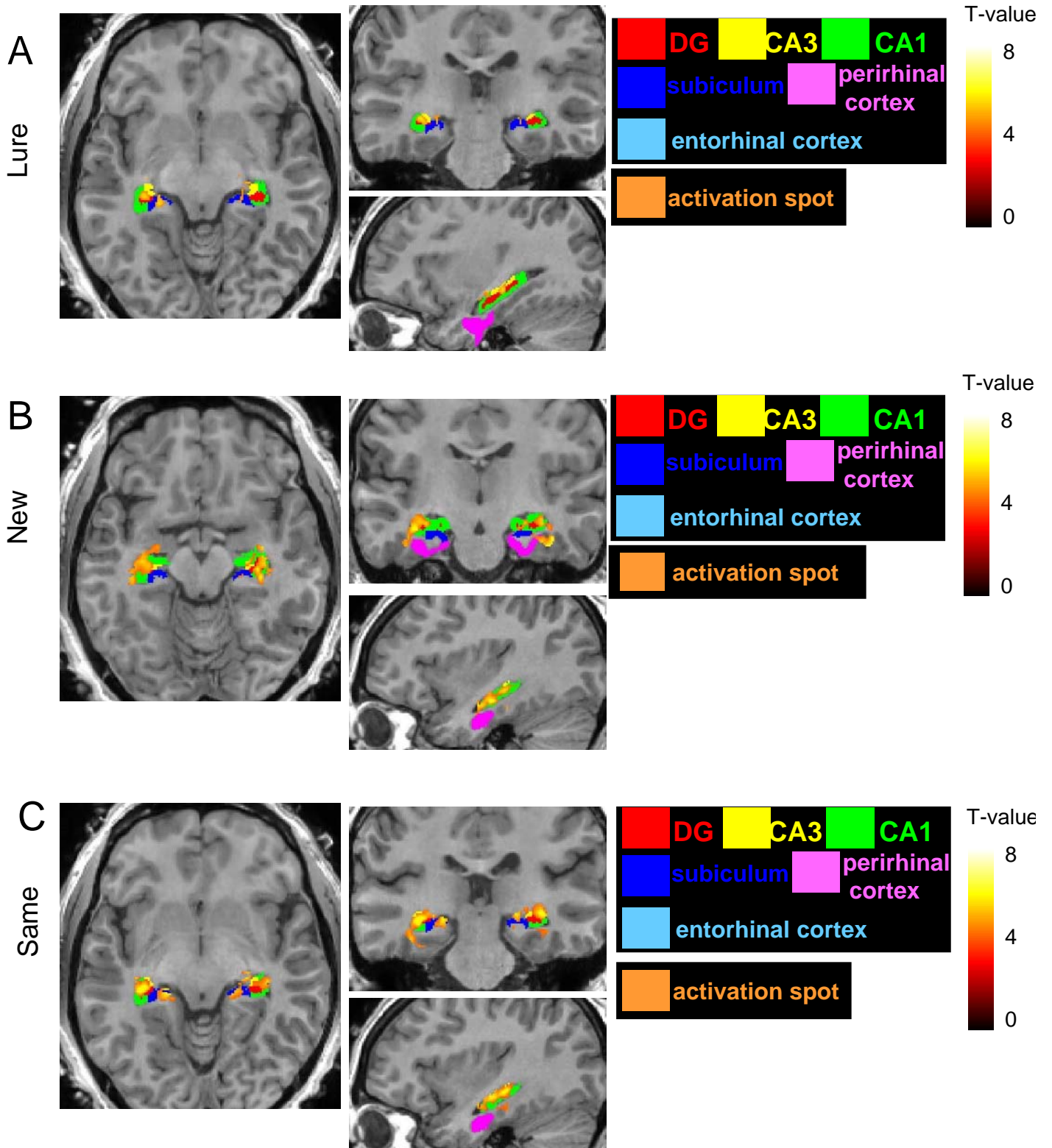
片桐千秋、石内勝吾 ポスター 第94回日本生理学会大会 2017. アクトシティ浜松 静岡県浜松市

早期に再発をきたしたpleomorphic xanthoastrocytoma with anaplastic featuresの一例

金城雄生、菅原健一、渡邊孝、石内勝吾 ポスター 第34回日本脳腫瘍病理学会 2016.5.28 東京コンファレンスセンター・有明

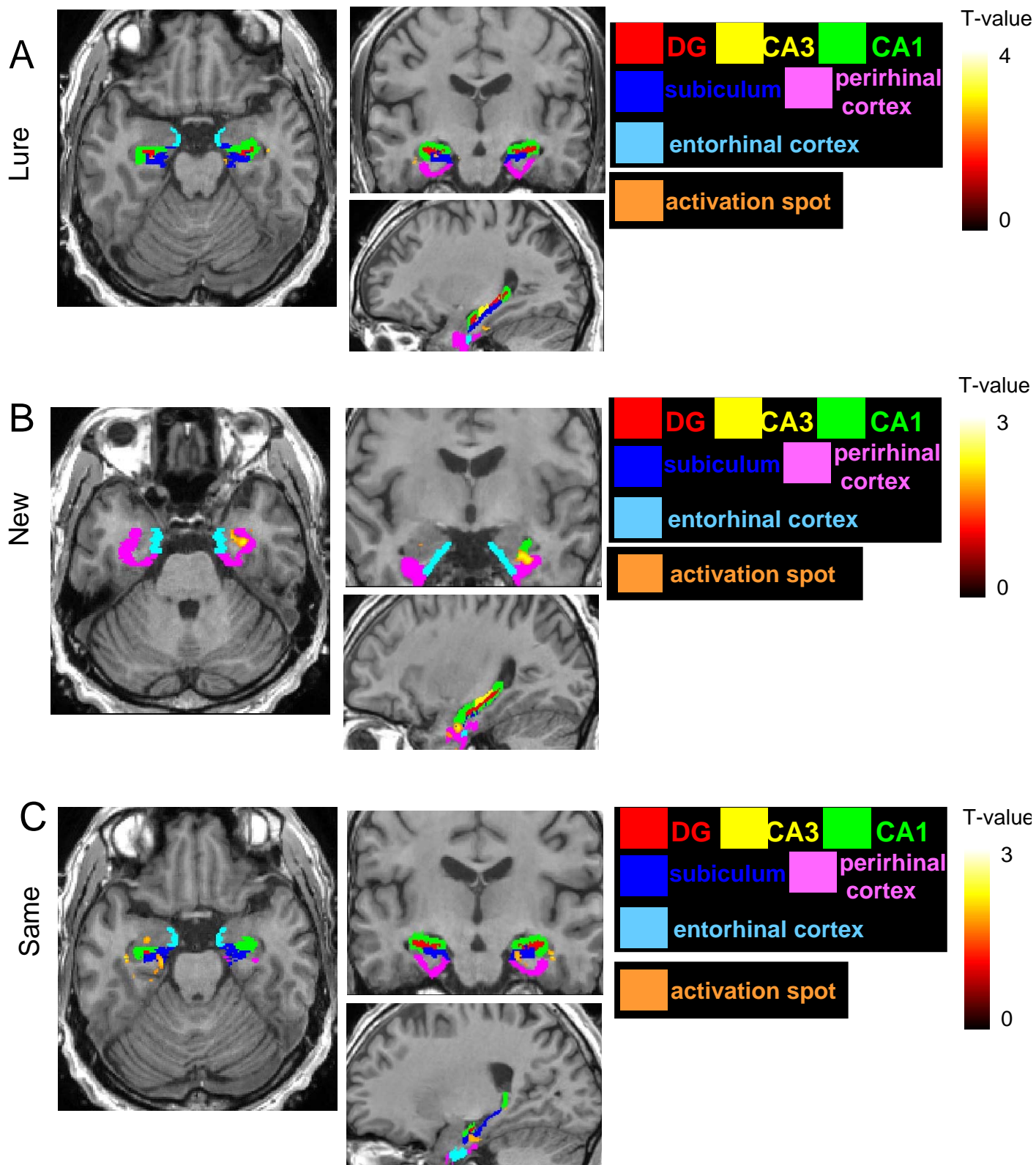
資料1

健常者群 (n = 36) New: $96 \pm 3\%$, Lure: $48 \pm 19\%$, Same: $89 \pm 10\%$
海馬課題 memory processing



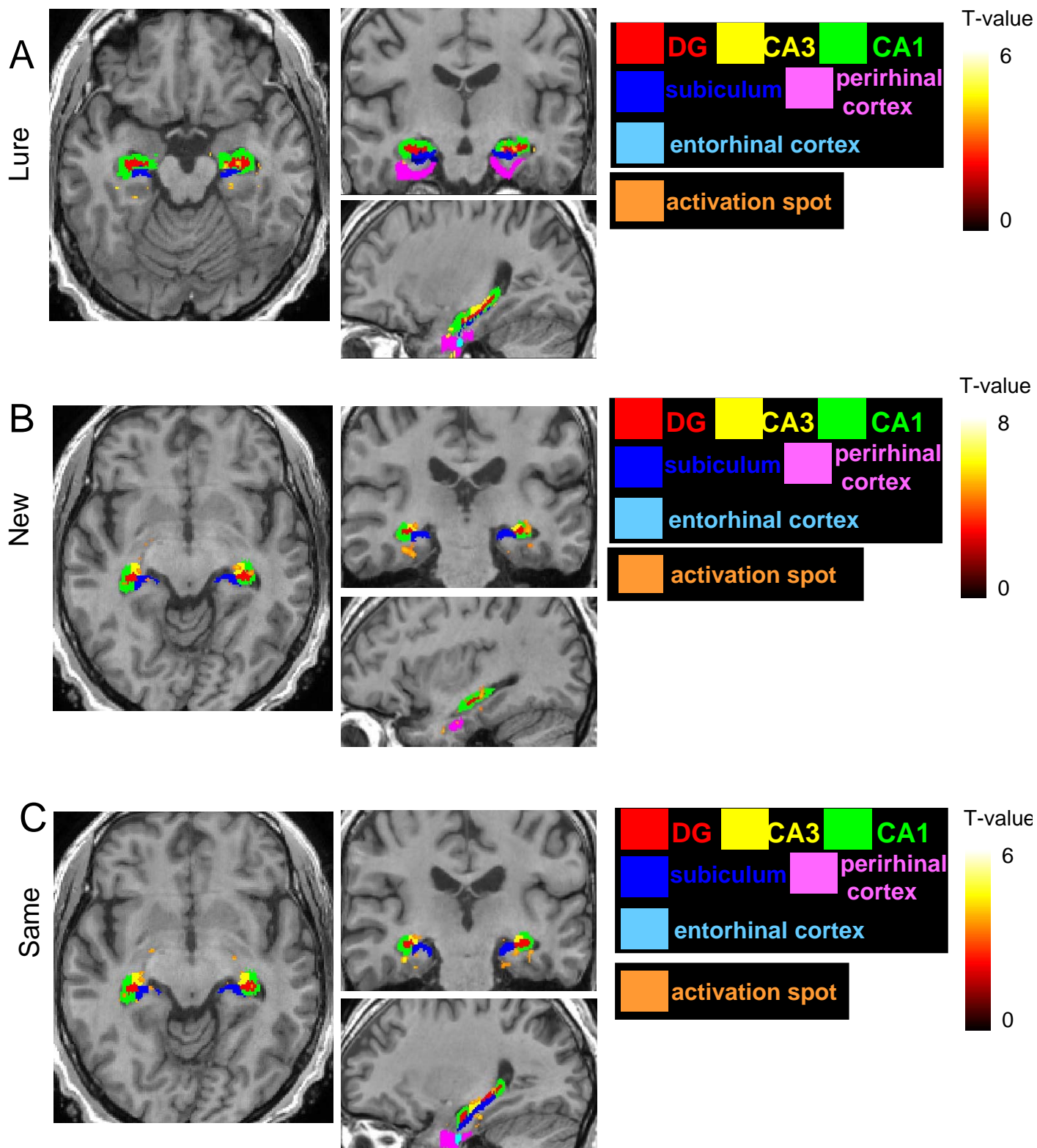
42歳男性 高次脳機能障害患者(交通外傷)

治療前 海馬課題 memory processing New: 86 %, Lure: 0 %, Same: 63 %



42歳男性 高次脳機能障害患者(交通外傷)

治療後 海馬課題 memory processing New: 84 %, Lure: 50 %, Same: 94 %



II-1. 労災疾病臨床研究事業費補助金 (分担) 研究報告書

経頭蓋直流電流刺激による高次脳機能障害の治療の樹立に関する研究
研究分担者 西村 正彦、菅原 健一、渡邊 孝、石内 勝吾

研究要旨： 革新的高次脳機能治療法の樹立を目的に高次脳機能障害患者の脳の可塑性を高め、海馬パターン分離能の改善を促進させる方法として経頭蓋直流電流刺激 (transcranial Direct Current Stimulation: 以下 tDCS) を用いて、1mA の電流にて左前頭葉を 30 分間、陽極刺激を施行した。海馬機能検査にて海馬パターン分離能を行った 17 例に海馬パターン分離能の改善が確認された。

A. 研究目的

本研究の目的は労災による 1) 交通事故, 転倒・転落事故等によるびまん性軸索損傷, 2) 過労により発症した心筋梗塞や脳卒中による低酸素脳症 3) 炭塵爆発事故による遷延化した一酸化中毒を対象に疾患により引き起こされた高次脳機能障害の革新的な治療法の確立を目的に経頭蓋直流電流刺激法の有効性について評価することを目的とする。

B. 研究方法

平成 28 年 4 月 1 日～平成 29 年 3 月 31 日の期間で、fMRI 検査を実施した 148 例を対象とした。

海馬パターン分離能を評価するための海馬機能検査 (図 1) を用い、正答率と海馬の BOLD 反応について評価した。

被験者はゴーグルディスプレイ

(Resonance Technologies 社) に表示される写真を見て、検査中に初めて提示された写真 (New) であれば赤ボタンを、提示された写真が前にも提示された写真と同じ

(Same) ならば青ボタンを、提示された写真が前に提示された写真と似て非なる場合

(Lure) は緑ボタンを押すように指示され

た。ボタン装置は非磁性体で製作されたもの (Current Designs 社製) を用い、刺激の提示は Presentation® (Neurobehavioral Systems 社) にて画面上に 2.5 秒間提示され、被験者のボタン反応は刺激提示コンピューターに記録された。

海馬機能検査にて海馬新生能が低下している脳損傷患者に対し、経頭蓋直流電流刺激 (transcranial Direct current stimulation; tDCS) を施行した。tDCS には DC-STIMULATOR Plus (neuroConn 社製) を使用し、左背外側前頭前野上に陽極電極を固定し、陰極電極は右前額に固定し 1 日 1 回 30 分間、1mA の電流量にて左背外側前頭前野を刺激した。治療期間は 1 クール 5 回とした。

C. 研究結果

平成 28 年度 (平成 28 年 4 月 1 日～平成 29 年 3 月 31 日) は延べ 229 件 (うち健常者 19 例) の fMRI 検査を実施した。そのうち、148 件 (うち健常者 15 例) の海馬機能検査を実施した。海馬機能検査を実施した対象の内訳は、脳腫瘍 73 例 (平均年齢 50.5 ± 18.1 歳)、脳血管障害 4 例 (平均年齢 67.3

±4.4 歳)、頭部外傷 5 例 (平均年齢 52.8±22.2 歳)、てんかん疑い 3 例 (平均年齢 32.3±13.3 歳)、慢性疼痛 4 例 (平均年齢 30.3±16.2 歳)、その他 3 例 (くも膜のう胞、認知症疑い、注意多動性障害)、健常者 15 例 (平均年齢 35.1±15.8 歳)であった (図 2)。

海馬機能検査の結果 (表 1)、Lure 課題の平均正答率は脳腫瘍群 24±22%、脳血管障害群 6±9%、頭部外傷群 37±23%、てんかん疑 29±26%、慢性疼痛 45±31%であった。

New 課題の平均正答率は脳腫瘍群 82±29%、脳血管障害群 92±4%、頭部外傷群 77±32%、てんかん疑 84±18%、慢性疼痛 98±2%であった。Same 課題の平均正答率は脳腫瘍群 74±29%、脳血管障害群 89±6%、頭部外傷群 64±38%、てんかん疑 75±27%、慢性疼痛 91±6%であった。健常者群の海馬機能検査の結果、New 正答率 96±3%、Lure 正答率 45±22%、Same 正答率 86±11%であった。Lure 正答率から New、Same 刺激に対して Lure と反応した bias を差分した Lure 正答率は脳腫瘍群 18±18%、脳血管障害群 6±8%、頭部外傷群 0±58%、てんかん疑 25±27%、慢性疼痛 40±29%であった。

平成 28 年 4 月 1 日～平成 29 年 3 月 31 日に tDCS 治療を受けた症例は 17 例であった。一覧を表 2 に示す。case 2 は交通事故による頭部外傷により高次脳機能障害を呈した。case 2 の治療前の海馬機能検査の成績は New 課題正答率 86%、Lure 課題 0%、Same 課題 63%で、Lure 課題の成績だけでなく、New、Same 課題の成績も低下しており海馬新生能途絶した Grade III と

判定された。また、Lure 課題中の海馬歯状回の血流は低下し、BOLD 反応は 1.8 秒で positive peak を示し、次いで 4.8 秒にて undershoot を示した。

case2 は 1 クールの tDCS 刺激を行った。tDCS1 クール後の海馬機能検査の成績は New 課題 84%、Lure 課題 50%、Same 課題 94%、海馬機能検査の正答率は治療前に比べ、成績が向上した。また、Lure 課題中の海馬歯状回の血流は増加した。歯状回の BOLD 反応は 1.7 秒で initial dip を示し、次いで 4 秒にて overshoot を示し、tDCS 刺激前の BOLD の波形とは逆転した波形を示した。

D. 考察

海馬機能検査において、頭部外傷群の Lure 正答率は健常者正答率の 1SD 以内の範囲ではあったが、bias の影響を考慮すると Lure 正答率は 0%と海馬パターン分離能が他の疾患群に比べ極度に障害されていることが分かった。また、頭部外傷群の New、Same 正答率は他の疾患に比べ、極めて低下しており、健常者正答率の 2SD 以下の成績であり、海馬機能評価では Grade III で、海馬機能の重篤な障害を示すことが分かった。これは、海馬新生能が低下し、海馬の機能が著しく障害されていると思われる。tDCS 刺激にて左前頭葉を刺激することで、海馬歯状回の血流は改善し、歯状回の BOLD 反応は健常者と同様な波形パターンを示し、海馬パターン分離能が改善された。tDCS 刺激は海馬の新生能を促し、海馬のパターン分離、パターン補完機能の改善に有効な治療手段であると思われる。頭部外傷後症候群では脳内の軸索が瀰漫性に損傷

され、この脳内のネットワークの障害が海馬新生能を阻害し、海馬パターン分離が障害されることで認知機能が低下していると思われる。左前頭葉への tDCS 刺激は脳内の機能的ネットワークに対して影響を与え、海馬新生能の改善に寄与している可能性が考えられる。

1) Shiroma A., et al., *Cerebellum*. 2016;
15: 645-662

図1 海馬機能検査

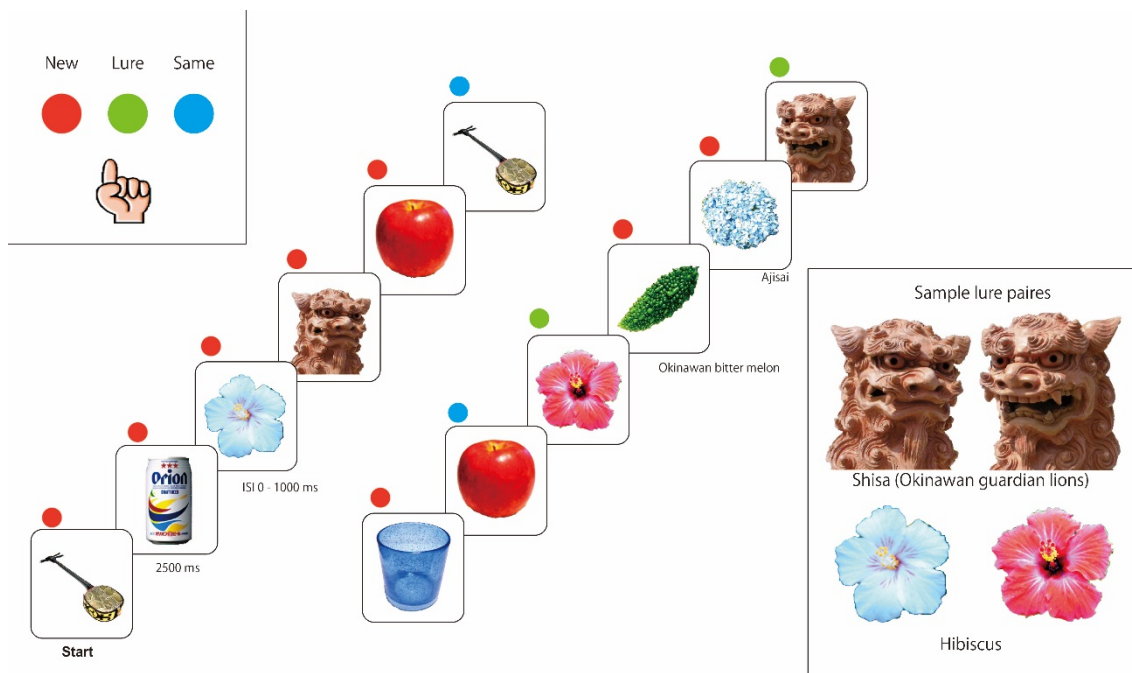
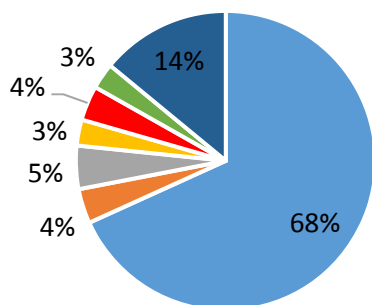


図2 海馬機能検査対象患者 内訳



- 脳腫瘍 (n=73)
- 脳血管障害 (n=4)
- 頭部外傷 (n=5)
- てんかん疑い (n=3)
- 慢性頭痛 (n=4)
- その他 (n=3)
- 健常者 (n=15)

表1 海馬機能検査結果一覧

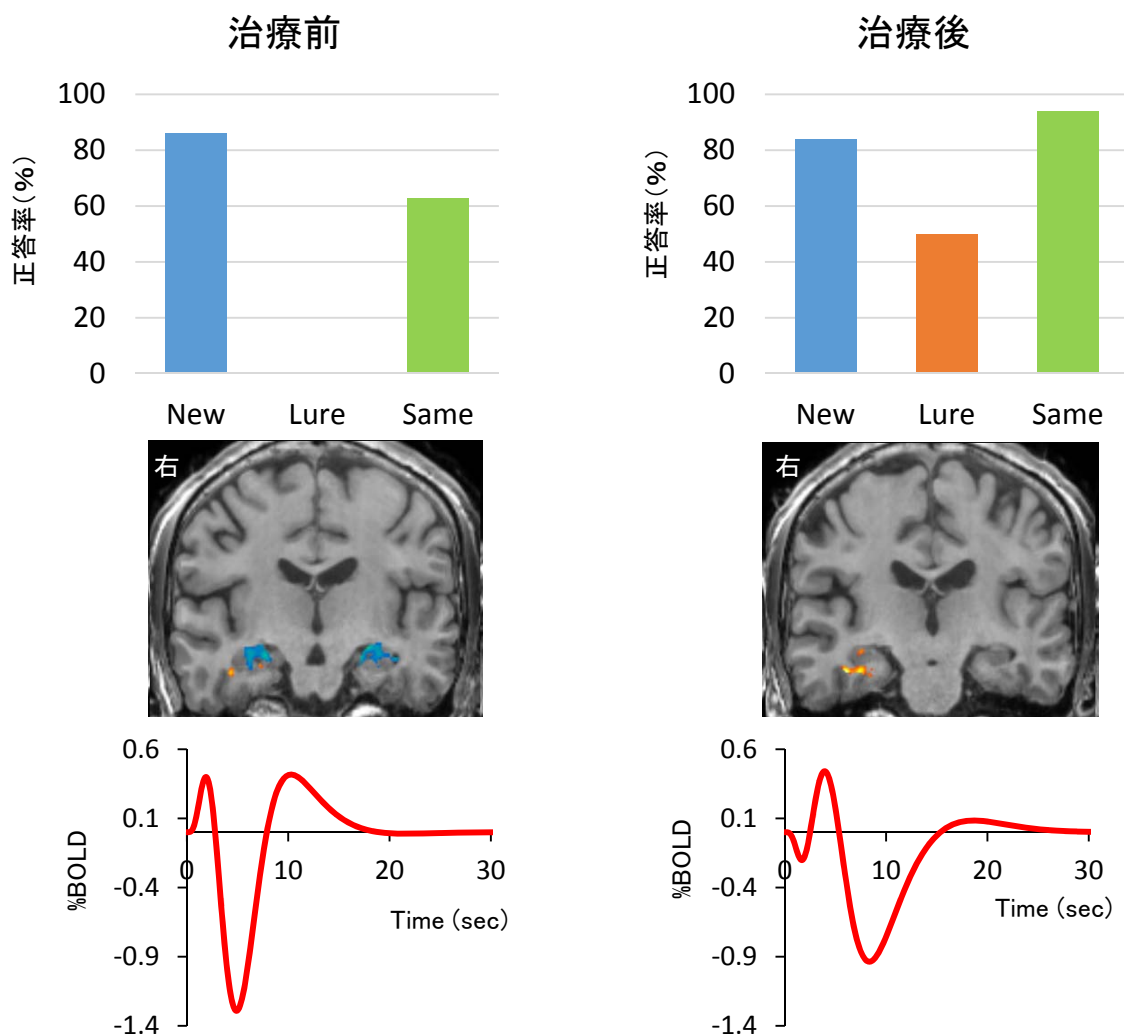
	New課題正答率	Lure課題正答率	Same課題正答率
脳腫瘍(n=73)	82±29%	24±22%	74±29%
脳血管障害(n=4)	92±4%	6±9%	89±6%
頭部外傷(n=5)	77±32%	37±23%	64±38%
てんかん疑い(n=3)	84±18%	29±26%	75±27%
慢性疼痛(n=4)	98±2%	45±31%	91±6%

数値は各課題の平均値及び標準偏差を表す

表2 経頭蓋直流電流刺激治療を実施した症例一覧

	age	性別	臨床診断名
case1	79	M	頰椎症性頭髄症
case2	42	M	頭部外傷
case3	82	F	悪性リンパ腫
case4	57	F	交通事故後慢性頭痛
case5	65	M	キアリ奇形I型
case6	18	F	子宮頸がんワクチン接種後慢性頭痛
case7	43	M	脳出血
case8	15	M	頭部打撲後慢性頭痛
case9	55	F	DM、線維筋痛症
case10	51	M	DM、線維筋痛症
case11	17	F	子宮頸がんワクチン接種後慢性頭痛
case12	11	M	奇形腫
case13	74	F	髄膜腫
case14	37	F	線維筋痛症
case15	63	F	両側三叉神経痛
case16	50	M	被殻出血後中枢性疼痛
case17	29	M	外傷性硬膜下出血

図3 高次脳機能障害患者(case2)のtDCS刺激後の海馬機能検査及び海馬BOLD反応の変化



II-2. 労災疾病臨床研究事業費補助金 (分担) 研究報告書

革新的高次脳機能治療法の樹立に関する研究
—高密度 (256ch) 脳波計を用いた解析—
研究分担者 土田 幸男、西村 正彦、石内 勝吾

研究要旨： 革新的高次脳機能治療法の樹立を目的に、高次脳機能障害の治療的有効性を評価するための指標として高密度脳波計を用いて海馬機能を反映するパターン分離遂行中の脳活動を解析した。健常成人 15 名から海馬パターン分離機能を反映する事象関連電位が得られた。また、時間周波数解析も併せて実施することにより、適切な海馬機能評価が可能となった。この知見を踏まえ、高次脳機能障害患者 2 例における海馬機能について検討した。これにより、高次脳機能障害の治療有効性評価の確立ができるものと思われる。

A. 研究目的

本研究の目的は労災による1)交通事故、転倒・転落事故等によるびまん性軸索損傷、2)過労により発症した心筋梗塞や脳卒中による低酸素脳症、3)炭塵爆発事故による遷延化した一酸化中毒などの疾患により引き起こされた高次脳機能障害について、高密度 (256ch) 脳波計およびfMRIを用いた高次脳機能障害の治療的有効性を評価する脳活動の特定を目的とする。

B. 研究方法

2015 年から 2016 年度に高密度脳波計を用いて計測した患者は 110 例、健常成人は 19 例、合計 129 例であった。健常成人 19 例のうち、機械的問題による計測の問題を認めた例、これまでの健常成人データ平均の正答率と比べて $-2SD$ を超えた例を除いた 15 名 (女性 9 名、男性 6 名、平均年齢 28 ± 12 歳) を健常者群とした。患者データは 2016 年度の症例の中から治療前後の比較が可能で効果が検討できる 2 例を対象とした。

海馬機能を測定するために独自に開発した Lure task 遂行中の脳活動を、高密度センサー脳波と fMRI を用いて同時計測を行った。高密度センサー脳波計測は、EGI HydroCel Geodesic Sensor Net 256-cannel を用いた。fMRI は、GE 3T Discovery を用いた。脳波計測のサンプリング周波数は 1000 Hz、Reference は全電極平均とした。電極インピーダンスはシステム推奨の 50 k Ω 以下とした。計測後、EGI Net Station Tools を用い、0.10Hz の Highpass フィルタを適用、そして MRI 計測に伴うグラディエントノイズと心拍動のノイズを除去した。分析時は SSI EMSE を用いて、0.5–40 Hz の Bandpass、ICA による眼球運動ノイズ除去を適用した。刺激呈示前 100 ms から刺激呈示後 2000 ms の区間を分析区間とし、刺激ごとに加算平均を行い、事象関連電位 (ERP) を算出した。(倫理面への配慮)

研究対象者に対しては検査時間の短縮に努め又随時不安の軽減目的に声かけをしている。高密度脳波型電極の取り付けは、従来のペー

スト法ではなく最新型アレーを用いており軽く水にぬらすのみで装着可能で所要時間の大幅な短縮が得られ可能で入室から30分弱で完了する。またMRI撮像に関しては検査時間の短縮に努めると同時に同時にマイクロホンによる検査施行中の意思疎通に努めている。撮像時間はLure taskが7分、その後安静時脳活動検査を行う事で5分間の休憩ができる。安静時脳活動はこの休憩時に撮像している。この間、緊急時のブザーを用意して常に緊急コールが出来る状態で検査を進めている。予め承諾を得た上でのテレビカメラによるモニターを行い患者が安全に検査を受けられる環境の形成に努める配慮を行っている。現在までのところ有害事象の発生はない。

C. 研究結果

資料1に示したLure task(似ているが細かい部分が異なる対象物の識別能力検査)にて、海馬パターン分離のERPを解析した。資料2に健常者データの平均を示す。Lureの正答率は45%と、先行研究同様にNewやSameに比べて難易度が高いことが示された。反応時間も同様で、Lureでは約1535.73 ± 234.62msとNewの1138.70 ± 229.74 msやSameの1206.48 ± 226.66 msより時間が延長していた。

Lureに対し、前頭部電極のERPは刺激呈示後約1000 msと1400 ms付近に陰性成分を惹起した。昨年度の報告と同様、再認記憶研究で報告されている曖昧な記憶痕跡を評価する過程と類似している¹⁾。海馬体の電気活動を取得できると報告されている右・左顔面部位電極のERPにおいて、Lureは前頭より速い800 ms付近の時間帯で陰性成分を惹起した。時間周波数分析では、

記憶活動に関連する θ 帯域(4~8 Hz)の活動が前頭部では0.02 μV^2 と弱く、右顔面部位では0.2 μV^2 と強く見られた。一方、左顔面部位では θ 帯域のパワーは相対的に弱かった。顔面部位電極の脳活動は左よりも右において、Lureに対する特異的な反応を示す可能性を示唆している。

高次脳機能障害を持つ患者の評価において海馬パターン分離のERPおよび時間周波数解析がどのように活用できるのか、個別データの検討を行った。

症例1(治療前)は交通外傷後の患者である(資料3)。事故直後に脳画像上の異常所見は認められなかったが、職場復帰後に認知機能の低下を自覚している。Lureに対する正答率は0%であった。誤答に対するERPを分析したところ、約1600 msに陰性成分を認め、 θ 帯域を含めた幅広い帯域の強い活動を認めた。脳の機能不全による過活動的な状態が示唆される。症例1(memantine 1日5mgで106日間+tDCS 2mA, 30分間, 10セッション治療直後)では、Lure成績は劇的に改善しており、1000 msに大きな陰性成分が惹起、 θ 帯域活動を認めている。症例1(tDCS治療3ヶ月経過)では、2回目と比べパワーは低いものの1000 ms以降に θ 帯域の活動を認める。過活動が収束し、適切な脳活動になってきていることが示唆される。こうした脳活動の改善は神経心理学的検査においても反映されている(資料4)。言語刺激を用いた記憶検査(HVLT-R)では、以前に記憶した項目に類似した項目との判別を反映する、再認識別指数が治療前では特に低下していた。memantine+tDCS治療直後のERPおよび時間周波数解析では海馬機能の改善が示唆されたが、

HVLT-Rによる言語記憶の再認識別指数は改善していなかった。tDCS治療3ヶ月経過の時点では、大幅な改善が見られた。時間を要して、治療の効果が言語記憶にまで波及したことを反映している。

症例2（術前）は、左前頭葉退形成性上衣腫の患者である（資料5）。Lure 正答率は25%とやや低かった。ERPは脳全体で非常に高振幅となっており、乱れた様相であった。時間周波数解析ではLureに対し、前顔部電極の400 ms付近や1500 ms以降に強いパワーを認めるが、主に3 Hzまでの帯域となっていて、 θ 帯域の活動は弱かった。症例2（術後）は、Lure 正答率は大幅に改善した（56%）。ERPでは700, 1200, そして1800 ms付近に大きな陰性成分が認められた。 θ 帯域の活動も相対的に強くなっていた。術前と比べパワーは低いものの、過活動が収束し、安定した脳活動を示していると考えられる。

D. 考察

15名の健常成人を対象にLure task遂行中の脳波を検討した。先行研究に類似した前頭部の記憶に関連した脳活動が見られるとともに、それに先行する形で海馬体の活動が生じている可能性が示唆された。時間周波数解析では、記憶の活動と密接な関係がある θ 帯域と海馬機能の関連は左よりも右で示唆された。前顔部電極を用いた脳波計測は海馬機能評価に有効であると考えられる。

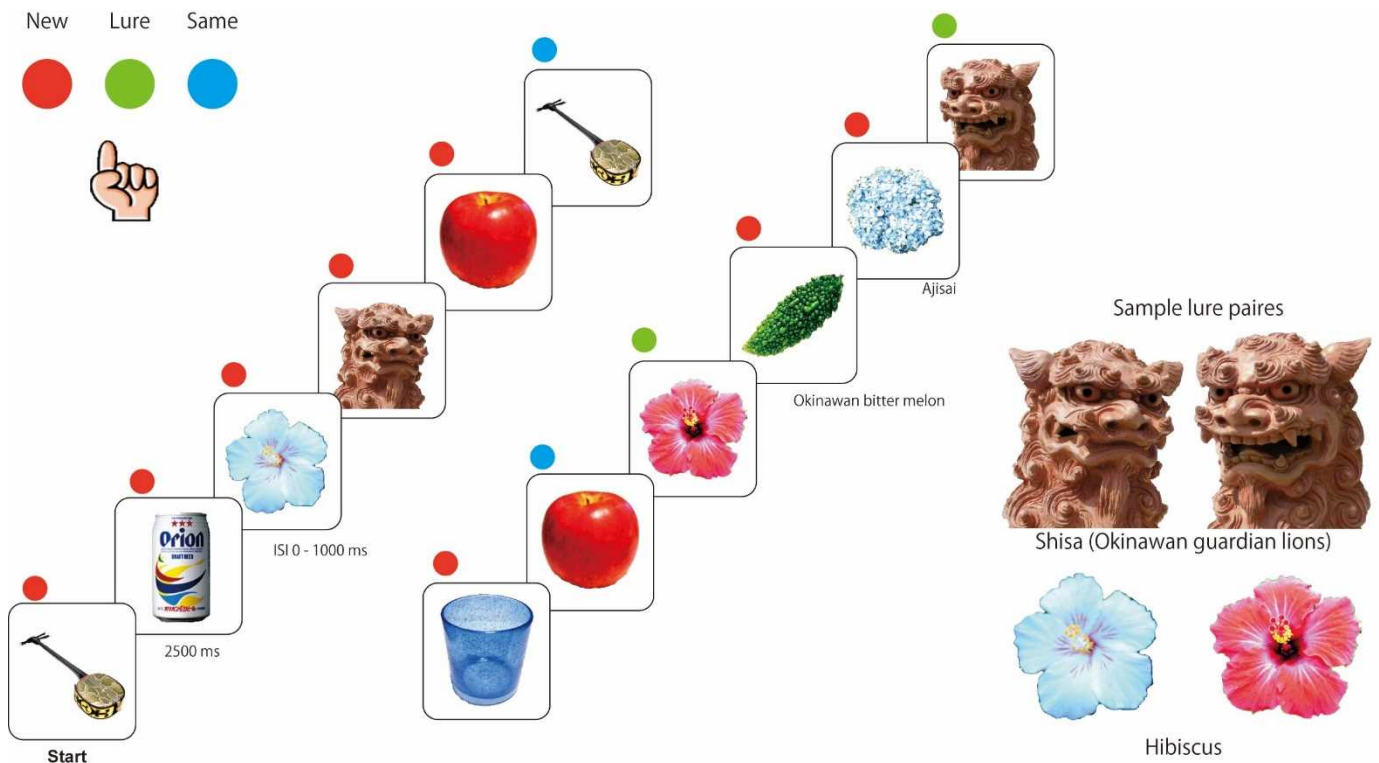
また、高次脳機能障害を持つ患者2名を対象に、治療前後の脳波を検討した。ERPに加え、時間周波数解析を用いて検討することで海馬機能の適切な評価が可能であった。

E. 結論

健常成人15名、患者2名を対象としたERPおよび時間周波数を解析し、前顔部電極の陰性電位が海馬機能の評価に有用である可能性が示唆された。これにより、海馬機能をモニタリングすることで高次脳機能障害の治療有効性評価の確立ができるものと思われる。

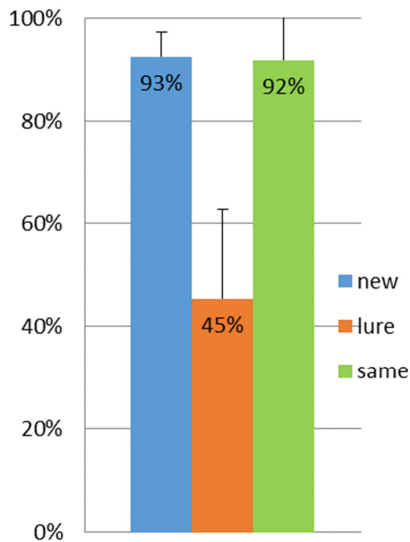
1) Rugg M.D. & Curran T., Trends Cogn Sci. 2007;11:251-257.

資料 1 Lure task—Cerebellum 2015 より引用—

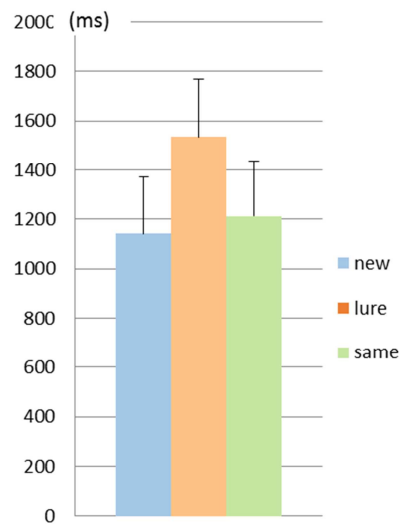


画面に写真を1枚ずつ呈示し、その写真についてボタンを押しを求めた。ボタンは3つあり、初めて見る写真（New）、前に見た写真と同じもの（Same）、前に見た写真と似ているが異なる写真（Lure）を判断し、異なる指でボタン押しを行うように教示した。刺激の呈示時間は2500 ms、刺激間隔は0~1000 msとした。刺激の呈示順序は疑似ランダムとし、New刺激は76個、Same刺激は16個、そしてLure刺激は16個で構成した。

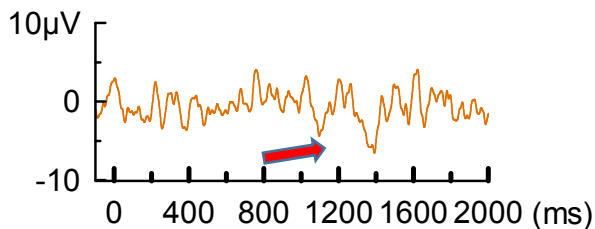
資料 2 健常成人 15 名の平均



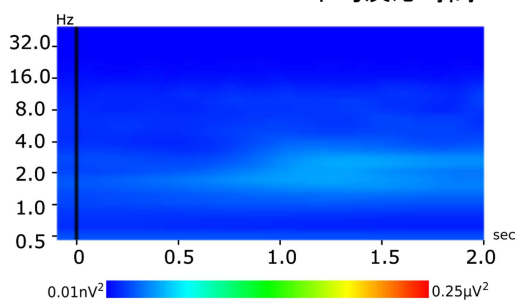
Lure task 平均正答率



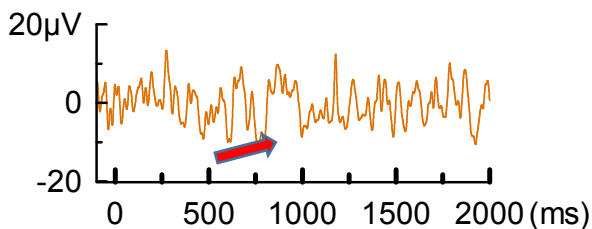
Lure task 平均反応時間



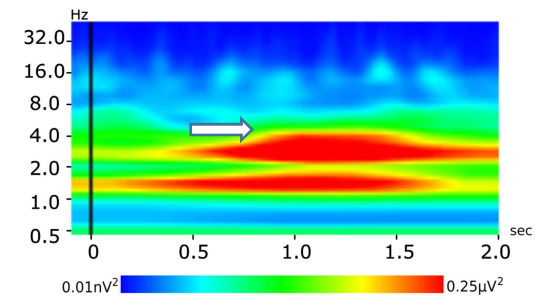
前頭部位電極における Lure task のパターン分離に対する ERP



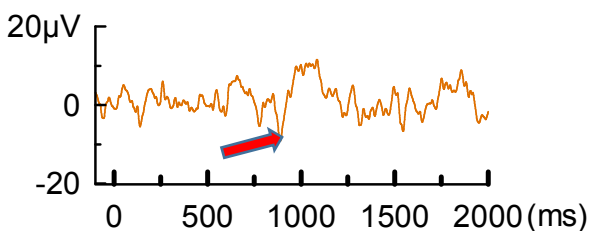
前頭部位電極における Lure task のパターン分離に対する時間周波数分析



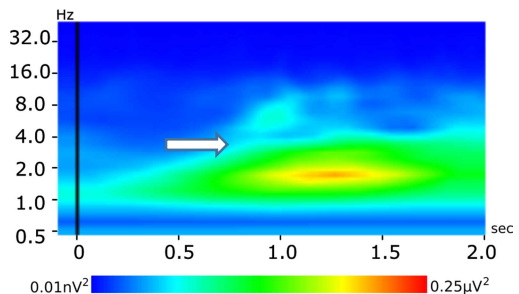
右顔面部位電極における Lure task のパターン分離に対する ERP



右顔面部位電極における Lure task のパターン分離に対する時間周波数分析



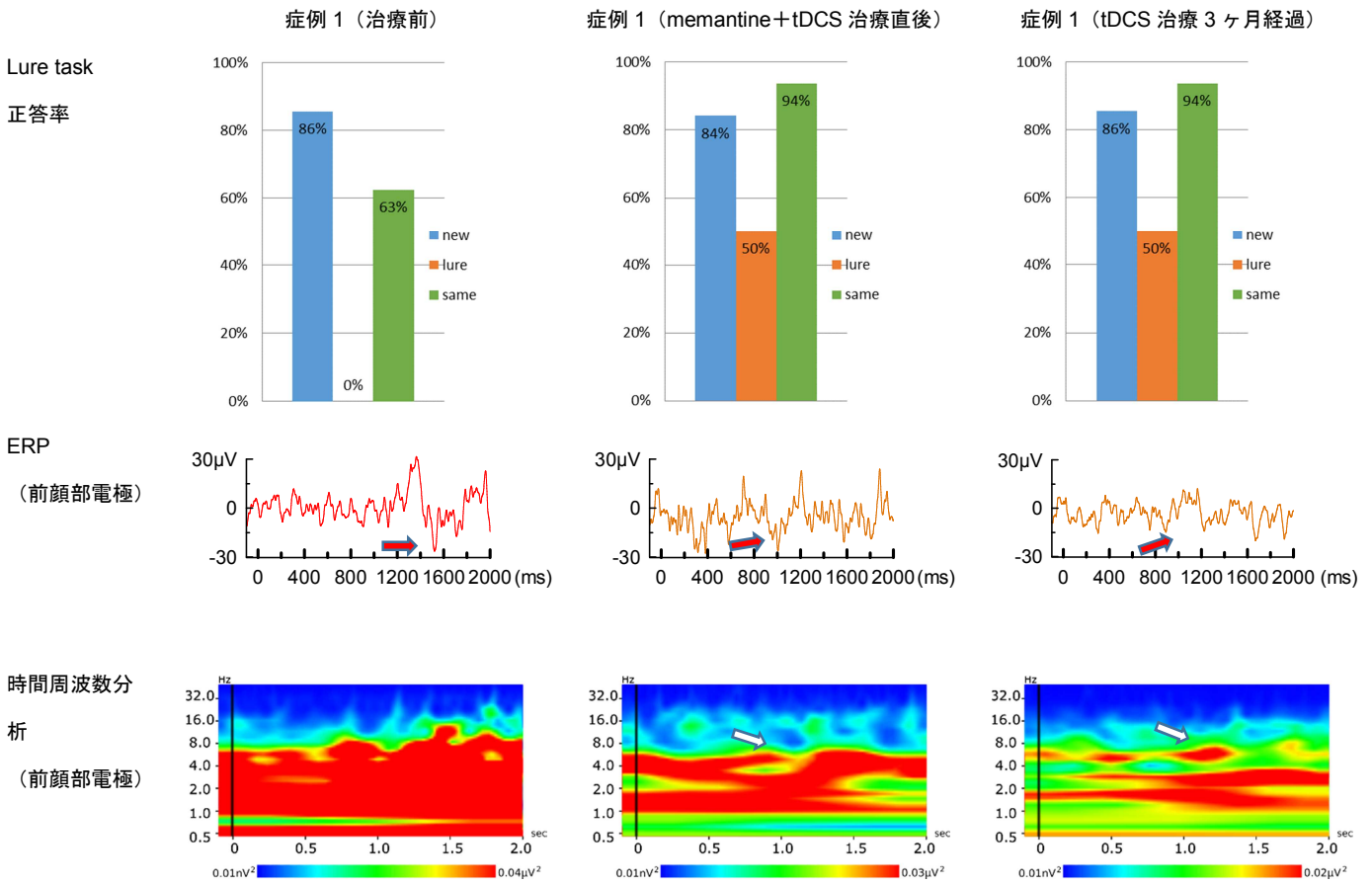
左顔面部位電極における Lure task のパターン分離に対する ERP



左顔面部位電極における Lure task のパターン分離に対する時間周波数分析

Lure に対し、前頭部電極で約 1000 ms 付近と 1400 ms 付近に、右・左顔面部位電極ではより早い 800 ms 付近の時間帯で陰性成分が惹起（左列）。時間周波数分析では、 θ 帯域（4~8 Hz）の活動が前頭部では $0.02\mu V^2$ と弱く、右顔面部位では $0.2\mu V^2$ と強く見られた（右列）。左顔面部位では θ 帯域のパワーは弱かった。

資料 3 症例 1 の Lure task データ



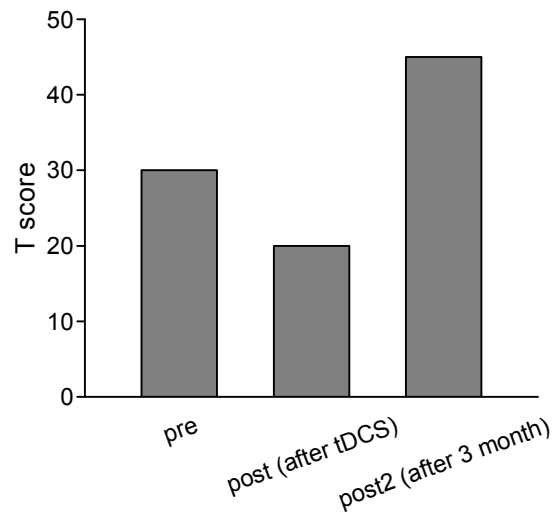
症例 1 (治療前) は、Lure の正答率が 0 であった。誤答に対する ERP を分析、約 1600 ms に陰性成分を認め、 θ 帯域を含めた幅広い帯域の強い活動を認める (一列目)。脳の機能不全による過活動的な状態が示唆される。

症例 1 (memantine+tDCS 治療直後) では、Lure 成績は劇的に改善しており、1000 ms に大きな陰性成分が惹起、 θ 帯域活動を認めている (二列目)。

症例 1 (tDCS 治療 3 ヶ月経過) では、二列目と比べパワーは低いものの 1000 ms 以降に θ 帯域の活動を認める (三列目)。過活動が収束し適切な脳活動になってきていることが示唆される。

資料 4

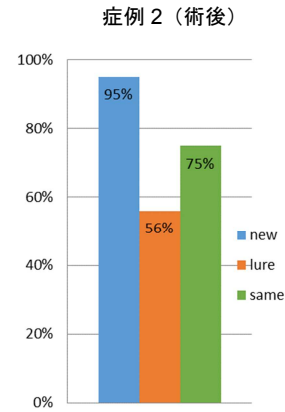
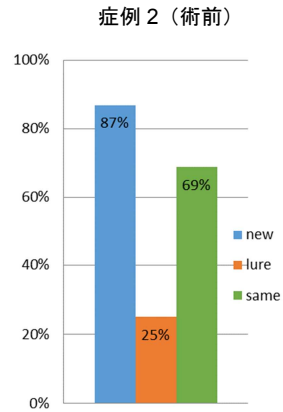
症例 1 の治療経過に伴う HVLt-R 成績の変化



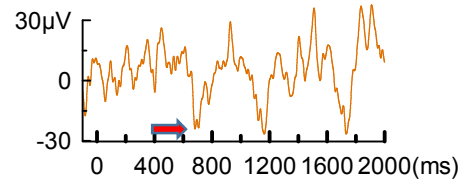
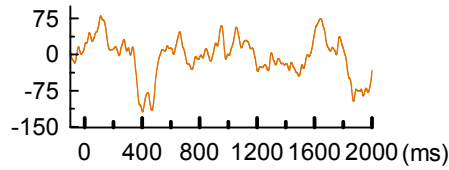
症例 1 は記憶障害を主訴としており、言語刺激を用いた記憶検査（HVLt-R）では、以前に記憶した項目に類似した項目との判別を反映する、再認識別指数が治療前では特に低下していた。memantine+tDCS 治療直後（post）では資料 3 に示した Lure に反映される海馬機能は改善していたが、HVLt-R による言語記憶の再認識別指数は改善していなかった。tDCS から tDCS 治療 3 ヶ月経過（post2）では、大幅な改善が見られた。時間を要して、治療の効果が言語記憶にまで波及したことを反映している。

資料 5

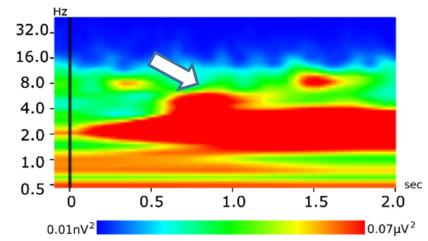
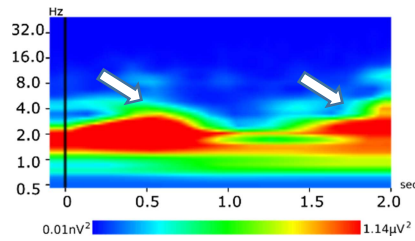
Lure task
正答率



ERP
(前顔部電極)



時間周波数分析
(前顔部電極)



一列目は症例 2 (術前) の各種データを示す。Lure 正答率は 25% でやや低い。ERP は脳全体で非常に高振幅となっていて、乱れた様相となっている。時間周波数解析では Lure に対し、前顔部電極の 400 ms 付近や 1500 ms 以降に強いパワーを認めるが、主に 3 Hz までの帯域となっていて、 θ 帯域の活動は弱い。

術後は Lure 正答率は大幅に改善し (56%)、ERP は正答時は 700, 1200, そして 1800 ms 付近に大きな陰性成分を認め、 θ 帯域の活動を認めている (二列目)。術前と比べパワーは低いものの、過活動が収束し、安定した脳活動を示している。

II-3. 労災疾病臨床研究事業費補助金 (分担) 研究報告書

MR スペクトルスコピー(¹H-MR spectroscopy)を用いた非侵襲的診断法に関する研究
研究分担者 小林繁貴, 石内勝吾

研究要旨： 革新的高次脳機能の診断法の樹立には海馬体における神経新生能の正確な評価が欠かせない。化学シフトを利用したプロトン MR スペクトルスコピー(¹H-MR spectroscopy)は非侵襲的で汎用性も高くその精度が確かなものであれば有用であると思われる。神経新生能の評価として応用可能であるか判定するためにすでに確立した行動課題タスクによる機能的磁気共鳴画像 (functional MRI lure task)から得られるパターン分離能を評価した若年健常者 23 名 (平均年齢 24.7±2.6、男性 15 名、女性 8 名) に対し、¹H-MR spectroscopy により両側海馬の各種代謝産物 (Lipid 13a (Lip13a)、N-acetyl-L-aspartate (NAA)、N-acetyl-L-aspartyl-glutamate (NAAG)、Glutamate (Glu)、Creatine (Cr)、Choline (Cho)、Myo-inositol (MyoI) の 7 種類の各種代謝産物) を測定し、両者の関連性を評価した。その結果右海馬における MyoI/Cr ($r=0.53$, $p<0.05$) で fMRI から得られたパターン分離能との有意な正の相関を認めた。また、右海馬における Lip13a/Cr ($r=0.55$, $p<0.05$)、Lip13a/NAA ($r=-0.64$, $p<0.001$)、および Lip13a/tNAA ($r=-0.65$, $p<0.01$) で有意な負の相関を認めた。左側海馬ではすべての指標で相関性は認められなかった。¹H-MR spectroscopy による右側海馬を標的とした MyoI/Cr, Lip13a/Cr, Lip13a/NAA, 及び Lip13a/tNAA は有用な神経新生能のバイオマーカーとなりうる。

A. 研究目的

革新的高次脳機能の診断法の樹立には海馬体における神経新生能の正確な評価が欠かせない。化学シフトを利用しプロトンに着目した MR スペクトルスコピー(¹H-MR spectroscopy)が応用可能かを判定するために同一被験者群間で確立した行動課題タスクによる機能的磁気共鳴画像 (functional MRI lure task)から得られるパターン分離能と両側海馬における ¹H-MR spectroscopy 解析から得られた各種代謝産物濃度比との関連性を調べた。

B. 研究方法

当院の倫理審査による許諾下(受理 No. 613) 2011 年 6 月～2015 年 7 月 22～31 歳の健常者 23 名 (平均年齢 24.7±2.6、男性 15 名、女性 8 名) を対象として fMRI Lure task を施行し、両側海馬に関心領域 (ROI) を設置して ¹H-MR spectroscopy (以下、MRS) を施行した。得られた MRS (TE 35ms) のデータを LCModel (Version 6.3-1K) で解析を行い、Lipid 13a (Lip13a) (1.24 ppm)、N-acetyl-L-aspartate (NAA) (2.04 ppm)、N-acetyl-L-aspartyl-glutamate (NAAG) (2 ppm)、Glutamate (Glu) (ppm)、Creatine

(Cr) (3.06 ppm), Choline (Cho) (3.25 ppm), Myo-inositol (MyoI) (3.57 ppm) の7種類の各種代謝産物に着目してCr、NAA、total NAA (NAAとNAAGの総和であり、以下tNAA)との濃度比とLure taskとの関連性を調べた。MRIはDiscovery 750 3.0T (GE Healthcare社)を用い、MRSの撮影条件はTR 1500 ms、TE 35 ms、TE 144 ms、PRESS法で行った。統計はSPSS version 22を用いて両側検定を行い、有意水準は $P < 0.05$ とした。Tableは検査に先立ちキャリブレーションに用いたファントム内容物の濃度である。Figure 1は得られたファントム (関心領域を $20 \times 20 \times 20 \text{ mm}^3$ と $10 \times 10 \times 20 \text{ mm}^3$ と振っている)内容物データ、Figure 2は健常者右側海馬のデータである。

C. 研究結果

行動課題Lure taskによるfMRIの正答率と各代謝産物濃度比との関連では、右海馬 ($n=23$)において $\text{MyoI/Cr } 0.90 \pm 0.24$ ($r=0.53$, $P < 0.05$) で有意な正の相関を認めた。また $\text{Lip13a/Cr } 0.34 \pm 0.43$ ($r=0.55$, $P < 0.01$)、 $\text{Lip13a/NAA } 0.25 \pm 0.30$ ($r=-0.64$, $P < 0.005$, $n=22$)、 $\text{Lip13a/tNAA } 0.25 \pm 0.29$ ($r=-0.65$, $P < 0.005$) で有意な負の相関を認めた (Figure 3)。左海馬 ($n=23$)の各代謝産物濃度比とLure taskでは有意な相関は認めなかった (Figure 4)。

D. 考察

本研究ではfMRIを用いた海馬神経新生能を反映する行動課題Lure taskの正答率と $^1\text{H-MR spectroscopy}$ による代謝成分解析を同一健常者において施行し、その結果、右海馬においては MyoI/Cr で有意な正の相

関、 Lip13a/Cr 、 Lip13a/NAA 、 Lip13a/tNAA で有意な負の相関を認めた。

Lip13a (1.28ppm)は脂質の中の多価不飽和脂肪酸 polyunsaturated fatty acids (PUFAs)を反映している。当初、ヒト生体脳 (live brain)の神経前駆細胞を反映するマーカーとして報告されたが¹⁾、議論があるところとなり apoptosisのマーカー²⁾あるいは幹細胞の neurogenic nichesの apoptosis rateを反映するなどの諸説がある³⁾。 NAA (2.02 ppm, 2.6 ppm)は神経細胞内に高濃度に存在し、正常神経細胞密度に相関する。 Glu (2.04ppm, 2.11ppm, 2.35ppm, 3.74ppm)は興奮性シナプスの神経伝達物質である。 NAAG はシナプス小胞内に集中しており、前シナプス細胞膜にある metabotropic GluR3 を介して NAA と Glu へ分解されるのを抑制し、 Glu 放出を抑制している。 Cr (3.03ppm)は基盤的エネルギー代謝に関連し、 Cho (3.22ppm)は細胞膜代謝に関係するリン脂質の材料となる代謝産物で細胞膜代謝の破壊や亢進で変動し細胞密度に相関し MyoI (3.56ppm)はグリア細胞の1型である astrocyteにおいて濃度が高く、astrocyteの増殖と相関する。これらを勘案すると右側海馬において、 MyoI/Cr の亢進は海馬 astrocyteの増殖を、また Lip13a/Cr 、 Lip13a/NAA 、 Lip13a/tNAA の低下は多価不飽和脂肪酸の低下 (消費)を示すのものであり、これらの所見は海馬神経幹細胞 (アストロサイト)の神経新生動態を反映しているものと思われる。PUFAsは brain lipids binding protein (BLBP)のリガンドであり海馬神経幹細胞や神経前駆細胞に多量に発現されており PUFAsはBLBPと結合して神経新生に対して促進的に作用することが知られており⁴⁾

海馬神経幹細胞（アストロサイト）の増殖に伴う Lip13a/Cr の低下（消費）は神経新生能の亢進と理解できるだろう。今後、さらに症例を重ね右側海馬 MyoI/Cr および Lip13a/Cr、Lip13a/NAA が神経新生能や高次脳機能障害のバイオマーカーとして確立されることを目指したい。

E. 結論

¹H-MR spectroscopy にて右側海馬における MyoI/Cr、Lip13a/Cr、Lip13a/NAA、Lip13a/tNAA を測定することで、簡便かつ汎用的に pattern separation ability (神経新生能) を評価できる可能性が開かれた。

文献

- 1) Manganas L.N., et al., Science. 2007;318:980-985
- 2) Ramm P. et al., Stem cells. 2009;27:420-423
- 3) Boesch C. et al., NMR Biomed. 2016; 19:968-988
- 4) Maekawa M. et al., PlosOne 4(4):e5058, 2009

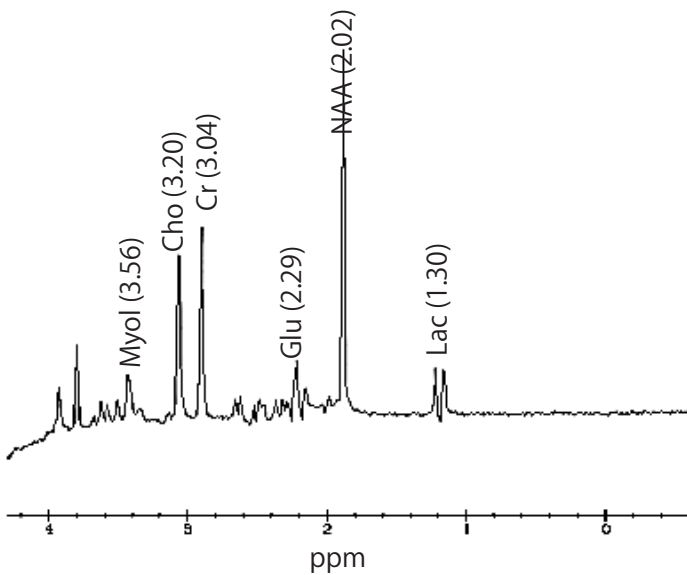
Table 1. The phantom is a 2.7L sphere containing ingredients listed in the table. The pH is adjusted to 7.2. Sodium azide is used as a preservative.



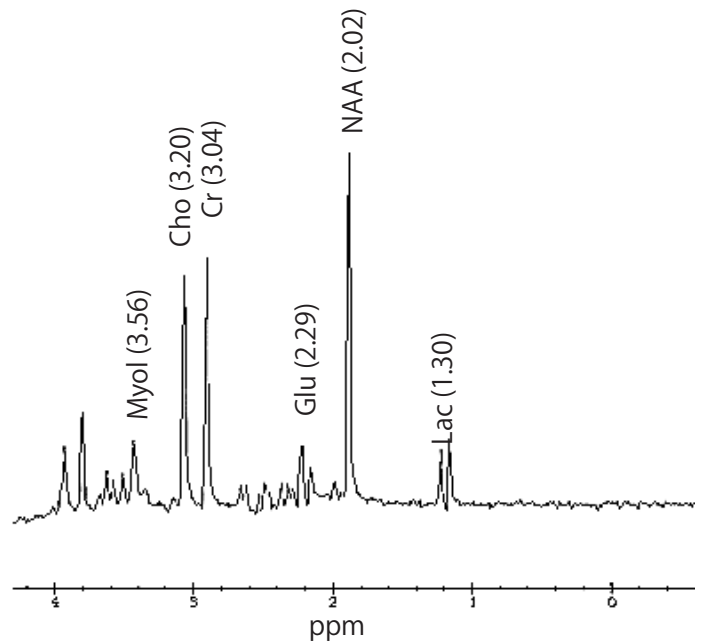
Figure 1. MRS phantom

		Chemical Name	g / 1L	T2
50.0 mM	KH ₂ PO ₄	Potassium phosphate monobasic	6.8	
5.0 mM	NaOH	Sodium Hydroxide	2.25	
12.5 mM	NAA	N-acetyl-L-aspartic acid	2.19	400ms
10.0 mM	Cr	Creatine hydrate	1.5	265 ms
3.0 mM	Ch	Choline chloride	0.5	175 ms
7.5 mM	MI	Myo-inositol	1.35	75 ms
12.5 mM	Glu	L-glutamic acid (monosodium salt)	2.34	
5.0 mM	Lac	DL-lactic acid (lithium salt)	0.5	
0.10%	Azide	Sodium azide	1.0	
0.10%	GdDPTA	Magnavest	1 ml	

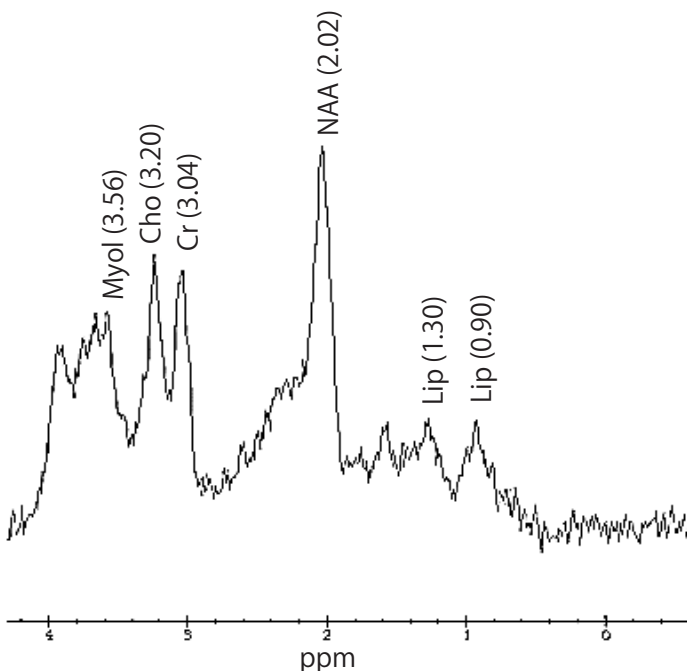
Phantom TE=35 ROI size: 20x20x20 mm³



Phantom TE=35 ROI size: 10x10x40 mm³



Right hippocampus of human TE=35 ROI size: 10x10x40 mm³



Myol	3.56 ppm
Cho	3.20 ppm
Cr	3.04 ppm
Glu	2.29 ppm
NAA	2.02 ppm
Lac	1.30 ppm
Lip	1.30 ppm
Lip	0.90 ppm

Figure 2. The phantom and human hippocampus of 1H MRS spectrums

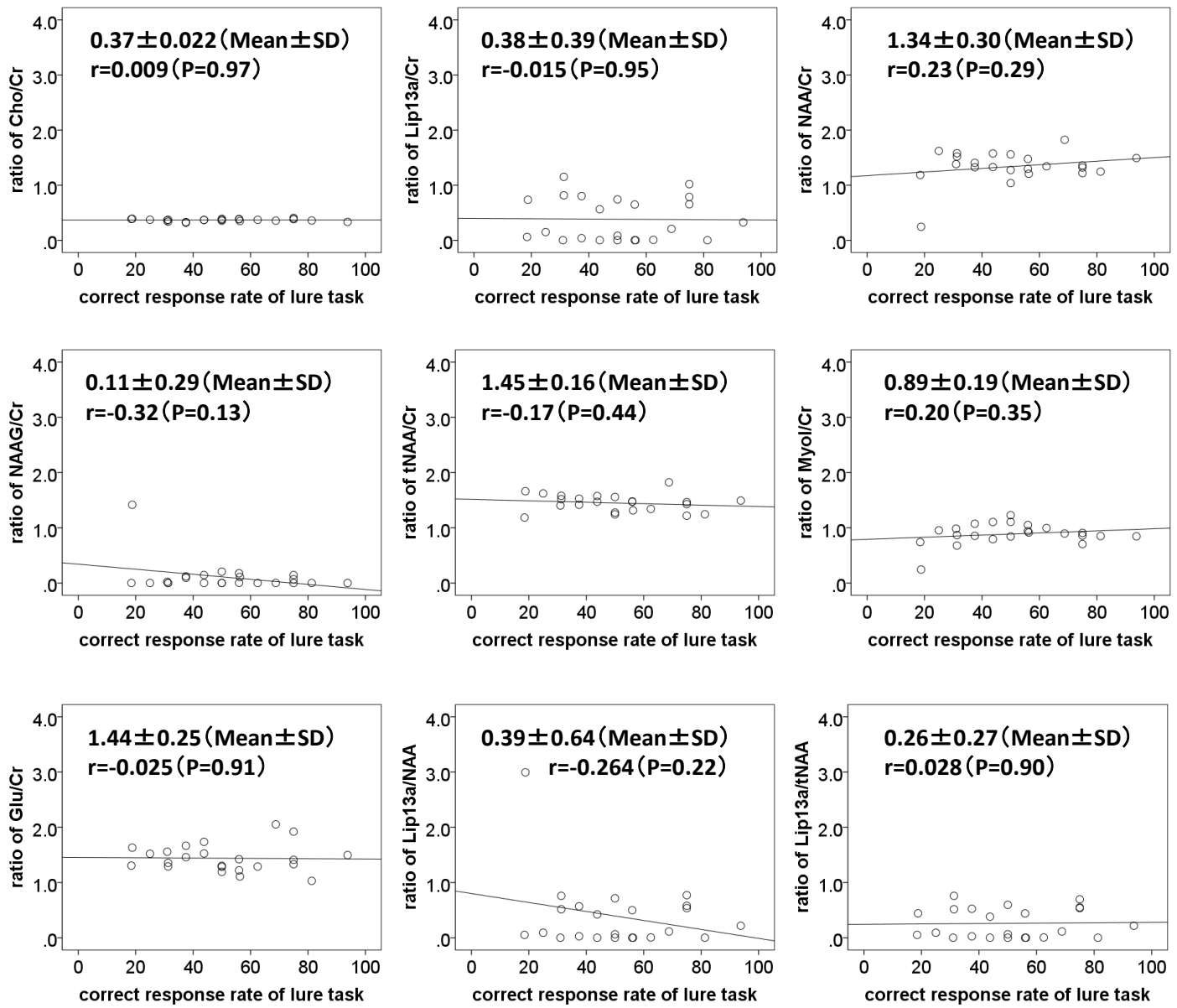


Figure 3. 左海馬における各種代謝産物濃度比とlure点数の関係

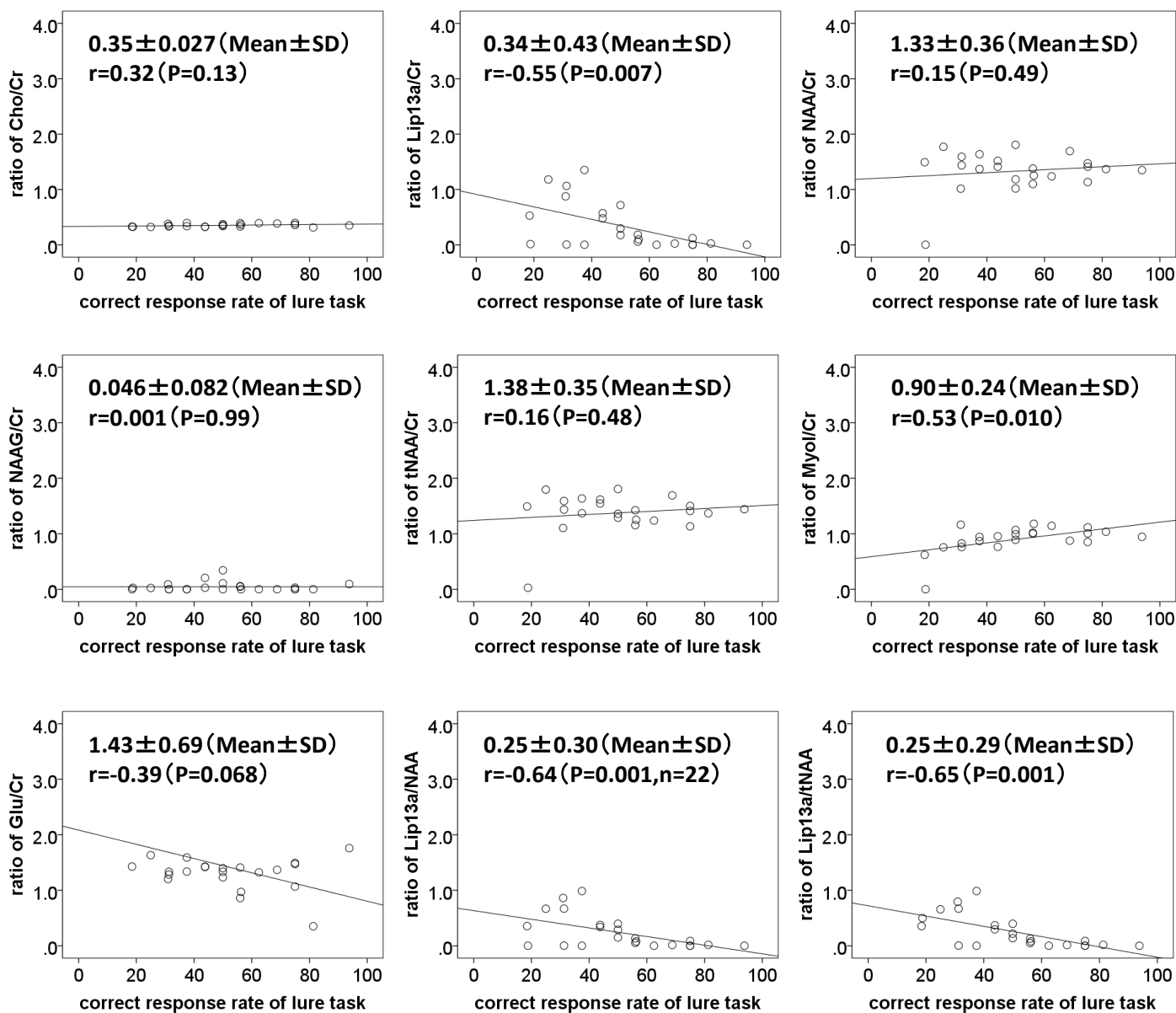


Figure 4. 右海馬における各種代謝産物濃度比とlure点数の関係

II-4. 労災疾病臨床研究事業費補助金 (分担) 研究報告書

簡易脳波計測システムを用いた海馬機能解析に関する研究
研究分担者 米須 諒、西村 正彦、石内 勝吾

研究要旨： 革新的高次脳機能障害診断法および治療法の樹立を目的に、高次脳機能障害の治療的有効性を評価するための指標として簡易脳波計測システムを用いて海馬機能を反映する記憶課題を遂行中の脳活動を解析し、海馬パターン分離能に着目し分析を行った。

簡易脳波計測システムにて検査を実施した健常者 7 名の結果は、海馬パターン分離に関連した 500ms から惹起する特徴的な事象関連電位と θ 波帯域の増強が観察された。簡易型脳波計測システムでの脳活動計測においても、十分に高次脳機能障害患者の海馬機能の評価に応用でき、高密度脳波計と機能的 MRI 同時計測より簡便に検査を実施できると思われる。

A. 研究目的

本研究の目的は労災による 1) 交通事故、転倒・転落事故等によるびまん性軸索損傷、2) 過労により発症した心筋梗塞や脳卒中による低酸素脳症 3) 炭塵爆発事故による遷延化した一酸化中毒を対象に疾患により引き起こされた高次脳機能障害に対する革新的な診断法および治療法の樹立をめざす。予備的実験にて高密度脳波計測において頬骨突起下部の電極が海馬活動を反映することが示唆されたため本研究では脳損傷による海馬機能障害を診断するための簡易脳波計測システムの開発を行ない、健常被験者での検証を行なった。

B. 研究方法

健常成人 7 名（女性 4 名、男性 3 名、平均年齢 23.4 ± 3.9 歳）と両側海馬硬化症疑いの症例（女性、49 歳）を対象とした。海馬機能を評価するために独自に開発した海馬機能検査（図 1）¹⁾ 遂行中の脳活動を、簡易脳波計測システムを用いて、計測した。

簡易脳波計測システムを図 2 に示す。被験者はタッチパネルに表示される写真刺激に対し、検査中に初めて提示された写真 (New) であればパネル下部左の「新」を、提示された写真が前にも提示された写真と同じ

(Same) ならばパネル下部右「同」を、提示された写真が前に提示された写真と似て非なる場合 (Lure) はパネル下部真ん中の「似」をタッチするよう指示された。刺激提示は Presentation® (Neurobehavioral Systems 社) にて制御され、被験者がパネルをタッチした後に新たな刺激が提示されるようにプログラムされた。刺激の種類と刺激が提示された時間及び被験者がパネルにタッチした時間は刺激提示用 PC に記録される。電極は電極接触インピーダンスに左右されにくく、電極コードが揺れても高精度の測定が可能なアクティブ電極を用いた。電極は 10/20 法の Fz、Cz、Pz、左右頬骨突起下部 (Foreface: FF1、FF2) に導出電極を設置し、基準電極は耳朶に設置した (図 3)。また、glabella にアース電極を

設置した。Fz,Cz,Pz はキャップを用いて、白いフォルダに付けた Active 電極にシリンジを用いて電極ジェリーを注入して抵抗を下げた。海馬を含む領域の情報が得られる FF1、FF2 は糊つきディスプレイのアクティブ電極を用いた。脳波計は Polymate II AP2516 (ミユキ技研) を用い、サンプリング周波数 1000Hz で脳波計測を行なった。分析には EMSE®Suite (CORTECH SOLUTIONS, INC) を用いて、0.5-40 Hz の Bandpass フィルターを適用した。刺激呈示前 100 ms から刺激呈示後 2000 ms の区間を分析区間とし、New, Lure, Same 刺激ごとに加算平均を行い、事象関連電位 (ERP) を算出し、さらに wavelet 法による時間周波数解析を行なった。

C. 研究結果

簡易脳波計測における健常被験者 7 名の海馬機能検査の平均正答率は、New 課題正答率 $86 \pm 11\%$ 、Lure 正答率 $45 \pm 20\%$ 、Same 正答率 $89 \pm 11\%$ であった。New 刺激、Same 刺激に対し Lure と反応した Lure 刺激の bias を差分した Lure 正答率は $23 \pm 26\%$ であった。fMRI での海馬機能検査を計測した 19 名 (平均年齢 35.1 ± 15.8 歳) の平均正答率は、New 正答率 $96 \pm 3\%$ 、Lure 正答率 $45 \pm 22\%$ 、Same 正答率 $86 \pm 11\%$ であり、二つの計測方法での Lure 正答率はほぼ同値であった。

図 4 に健常被験者 7 名の Lure 刺激正答時、Same 刺激正答時、New 刺激正答時、それぞれを加算した ERP を示す。Lure 刺激正答時では、FF1 電極及び FF2 電極において 300ms と 500ms 付近に陽性成分の惹起を認めた。FF1 電極では、1000ms 付近

におよそ 500ms 持続する陰性成分の惹起を認めた。FF2 電極では 1000ms 付近に陰性成分を認め、その後陽性成分、陰性成分の振幅を確認できた。Fz 電極では刺激提示後、500ms 付近から緩やかな 1000ms ほど持続する陽性成分が惹起された。

Same 刺激正答時の ERP は、Fz では 800ms 付近での陽性成分の惹起を認めた。Pz 電極の波形では、500ms 付近での陰性成分が確認された。FF1 電極では 800ms 付近での陰性成分の惹起が認められた。FF2 では 500ms での陽性成分と 1000ms での陰性成分の惹起を認めた。New 刺激正答時の ERP は全ての電極において、Lure 刺激、Same 刺激正答時に比べ振幅が小さかった。電極 Fz、FF1 では 1000ms に陰性成分の惹起を認めた。

両側海馬硬化症疑いの症例の海馬機能検査の結果、New 課題正答率 88%、Lure 正答率 31%、Same 正答率 44% であった。New 刺激、Same 刺激に対し Lure と反応した Lure 刺激の bias を差分した Lure 正答率は -17% と健常者群の成績と比べるとかなり低値であった。

両側海馬硬化症疑いの症例の ERP 波形を図 5 に提示する。Lure 刺激正答時は、電極 Fz において 700ms、1000ms にて陽性成分の惹起が認められ、FF1、FF2 電極では 700ms に陰性成分の惹起が観察された。Same 刺激正答時は、電極 Fz、Cz において 700ms にて陽性成分の振幅が確認され、FF1、FF2 では 700ms にて陰性成分の波形が見られた。Lure 刺激正答時の ERP 波形は、健常者群と両側海馬硬化症疑いの症例では異なることが分かった。

次に、健常者の時間周波数解析の結果を図 6 に提示する。Lure 刺激正答時の電極 FF1 では 1300ms から θ 波の増強が観察され、電極 FF2 では 500ms にて θ 波が増強し、1000ms 辺りで θ 波は減弱するが、1500ms にて再度 θ 波は増強した。Same 刺激正答時では、電極 FF1、FF2 ともに 500ms から θ 波と α 波の増強が見られる。FF1 に限って、1000ms 以降の α 波は減弱し、 θ 波の増強は継続した。New 刺激正答では電極 FF1 の 500ms 付近にて θ 波の増強が観察されたが、800ms 辺りで θ 波は減弱した。

海馬硬化症疑いの症例の海馬機能課題時の時間周波数解析の結果を図 7 に提示した。Lure 刺激正答時では、電極 Fz において 500ms から 1500ms の時間帯で θ 波の増強を認め、電極 FF1、FF2 では 500ms 辺りから θ 波と α 波の増強が見られた。Same 正答時の時間周波数解析の結果では、電極 Fz、FF1 において 500ms から 1000ms の時間帯で θ 波から α 波の増強を認めた。電極 FF2 では 100ms から θ 波の増強を認め、1300ms まで継続している。また、500ms 辺りで α 波の増強も観察される。1300ms 付近で θ 波と α 波のパワーは減弱するが、1500ms から θ 波の増強を認める。New 刺激正答時では、特徴的な周波数帯域の増強は確認できなかった。

海馬硬化症疑いの症例の海馬機能課題時の時間周波数解析の結果はどの刺激条件においても、健常者のパターンと異なり FF1 での θ 波の peak の遷時が速くそのパターンは same と区別がつかないことから嗅内野-歯状回(CA4)-CA3-CA1-海馬台という polysynaptic pathway を介さない嗅内野

(III)-CA1-海馬台という direct pathway を介する可能性が示唆された。

D. 考察

簡易脳波計測においても fMRI と同様に海馬機能検査が実施できることが分かった。Lure 正答率が簡易脳波計測において高値であったのは、刺激提示が 2.5 秒と決められた fMRI とは違い、簡易脳波計での検査では被験者が反応するまでパネルの写真が切り替わらないことで、被験者が十分に思考できる時間的猶予があったためと思われる。

Lure 正答時の FF1、FF2 の ERP 波形では 300ms と 500ms の陽性成分が他の刺激条件に比べ、特徴的であった。また、Lure 刺激正答時に観察された 1000ms 付近の波形は Same 正答時のものと似ているが、波形成分の持続時間は Lure 正答時が Same 正答時よりも長かった。時間周波数解析では電極 FF1、FF2 に θ 波の増強が確認され、特に 500ms と 1500ms と周期的に θ 波の増強が見られた右前顔部の FF2 はパターン分離に関連した海馬の活動を反映していると考えられる。これは海馬のパターン分離能は海馬の polysynaptic pathway の情報伝達を反映している可能性が示唆された。

また、健常者と高次機能障害症例の Lure 正答時の ERP 波形、時間周波数解析は異なっていた。症例では健常者に比べ、電極 Fz すなわち、前頭葉での活動が強く、海馬の活動を反映する FF1、FF2 電極では α 波の増強も確認され、健常者の Same 刺激正答時のパターンに似ており、健常者との intrahippocampal pathway の相違が認められ興味深い。

健常者の ERP 波形、時間周波数解析のパターンと大脳病変の患者のそれは異なることが示された。今後はさらに健常被験者の例数を重ね健康な脳での ERP 波形、時間周波数解析にて増強する周波数帯域と増強する時間帯の検討を行ない、さらに多症例の損傷脳での検討を加えることで、異なる領域の脳が持つ機能についての情報が収集でき我々の領野間の理解を深めることができると思われる。

E. 結論

簡易脳波計測での海馬機能検査は、高密度脳波計で観察された頬骨上電極上の 1000ms 付近の陰性成分と同等の波形成分を検出できた。高密度脳波計に比べ、簡便に装着でき、海馬機能検査を実施することが可能である。また、必ず被験者が反応した後新たな刺激が提示されるので、失語症患者や認知症患者のような検査の教示を理解するまでに時間がかかる患者の検査にも応用できるのではないかと考えられる。今後はさらに被験者数を増やし、脳損傷者での検査実績を積み重ね、fMRI 撮像が困難な施設においても海馬機能検査を実施できるよう検討を重ねていく。

文献

- 1) Shiroma A., et al., Cerebellum. 2016; 15: 645-662

図1 海馬機能検査

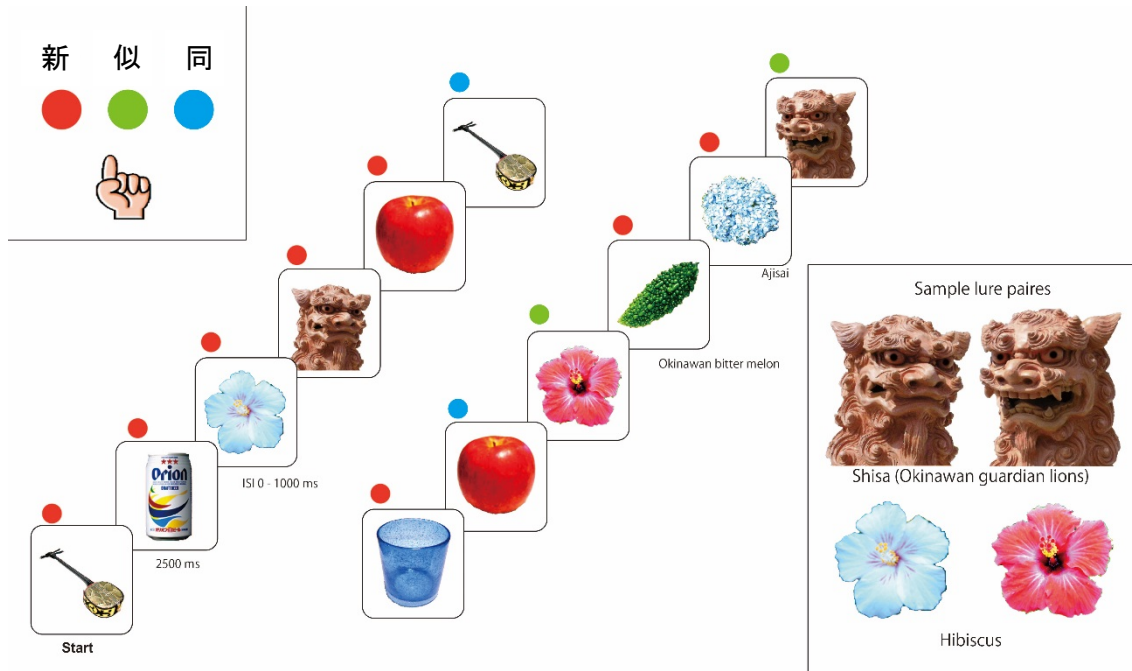


図2 簡易脳波計測システム

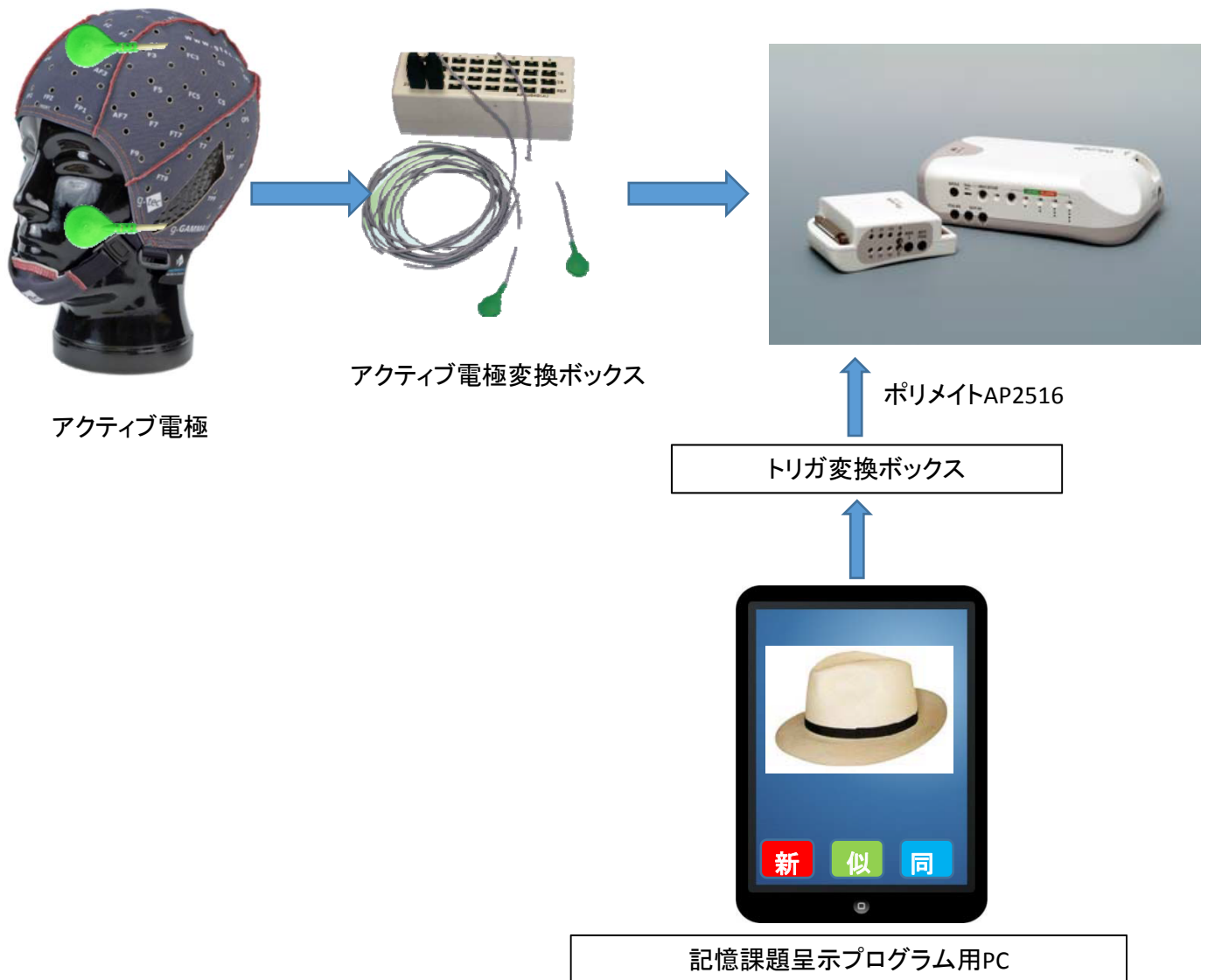
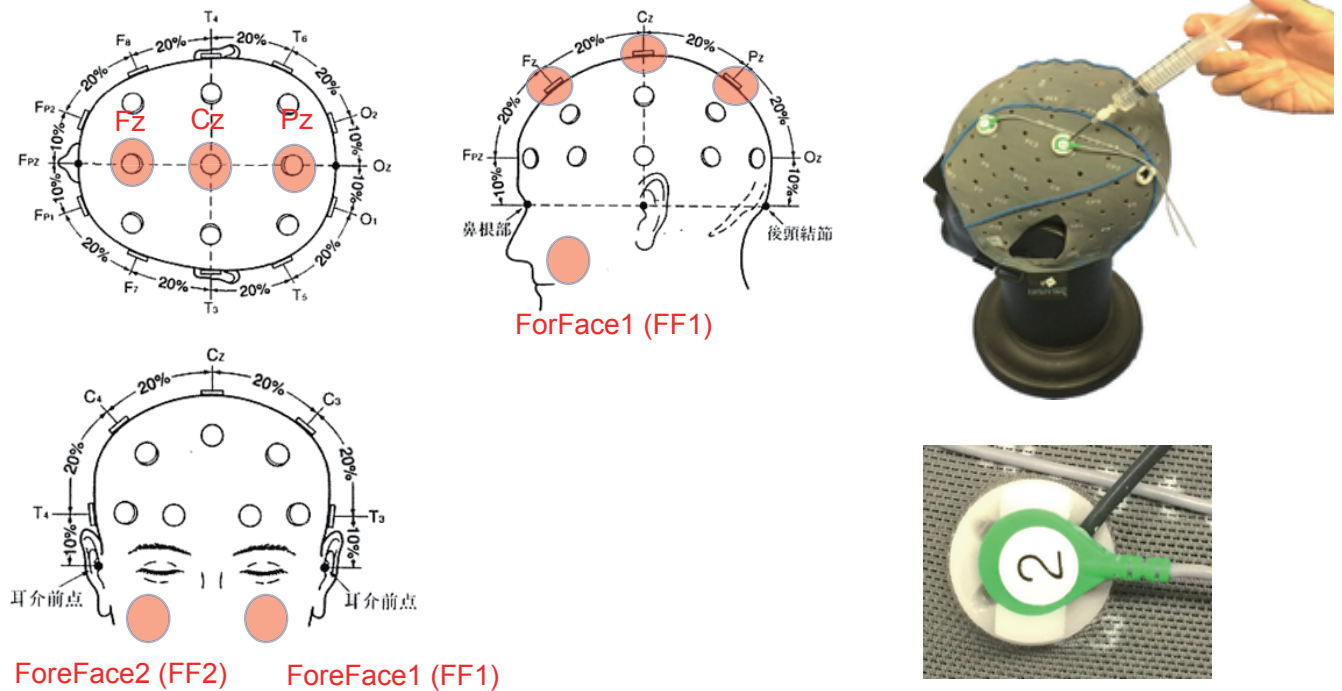
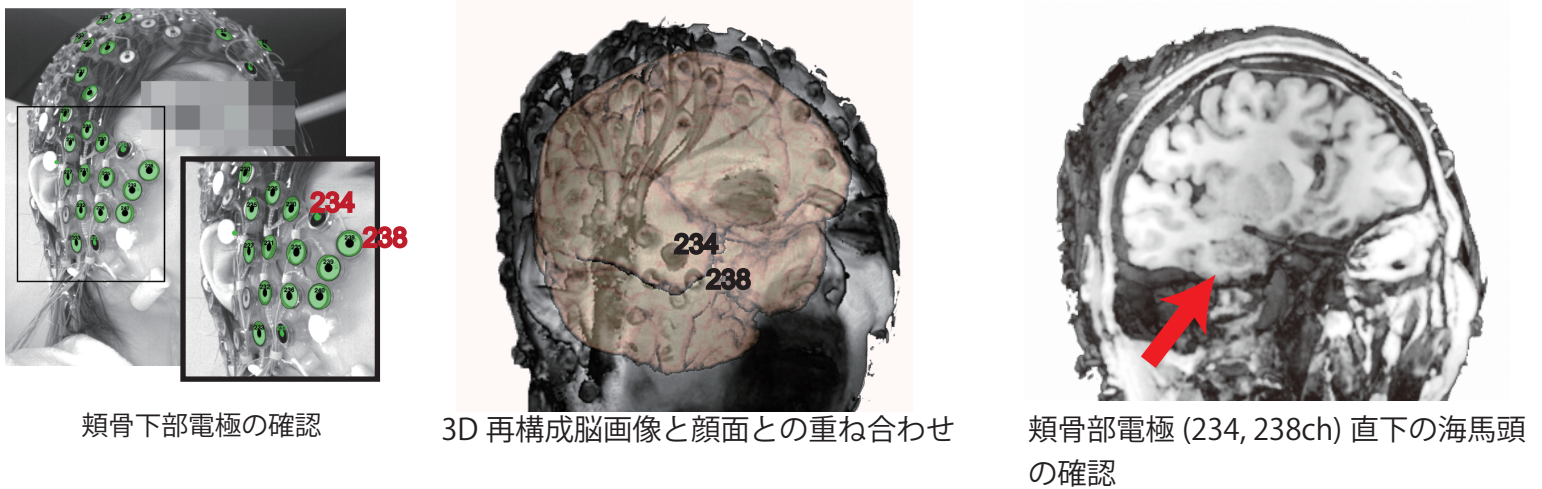


図3 電極配置



Dens-array EEG と 3D T1 強調画像により FF1, FF2 が海馬頭直上に位置することを確認した。



頬骨下部電極の確認

3D 再構成脳画像と顔面との重ね合わせ

頬骨部電極 (234, 238ch) 直下の海馬頭の確認

表 2 健常者 海馬機能検査 課題正答率及び反応時間一覧

	年齢	性別	課題正答率			反応時間		
			New	Lure	Same	New	Lure	Same
No.1	32	男	97%	69%	100%	0.81	1.3	1.15
No.2	21	女	72%	56%	100%	1.16	1.5	1.43
No.3	23	女	95%	38%	75%	0.83	1.32	1.04
No.4	23	女	97%	69%	75%	1.16	1.57	1.37
No.5	21	男	71%	25%	94%	1.72	2.66	1.59
No.6	21	女	89%	31%	88%	0.96	1.25	1.27
No.7	23	男	83%	25%	94%	1.52	1.8	1.22
平均	23.4		86%	45%	89%	1.17	1.63	1.30
標準偏差	3.9		11%	20%	11%	0.35	0.49	0.18

図4 健常者群 ERP (n = 7)

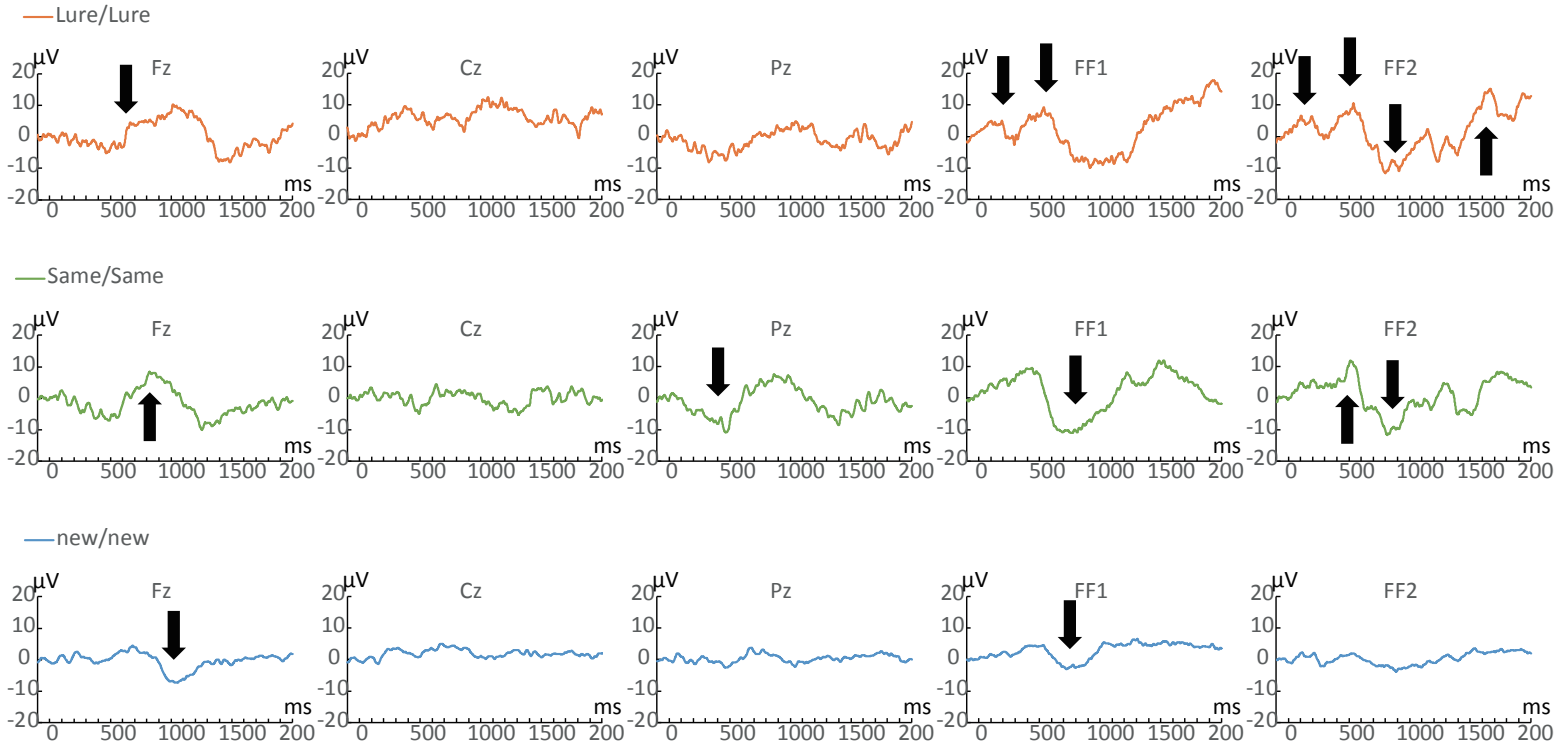


図5 症例 ERP 両側海馬硬化症疑い

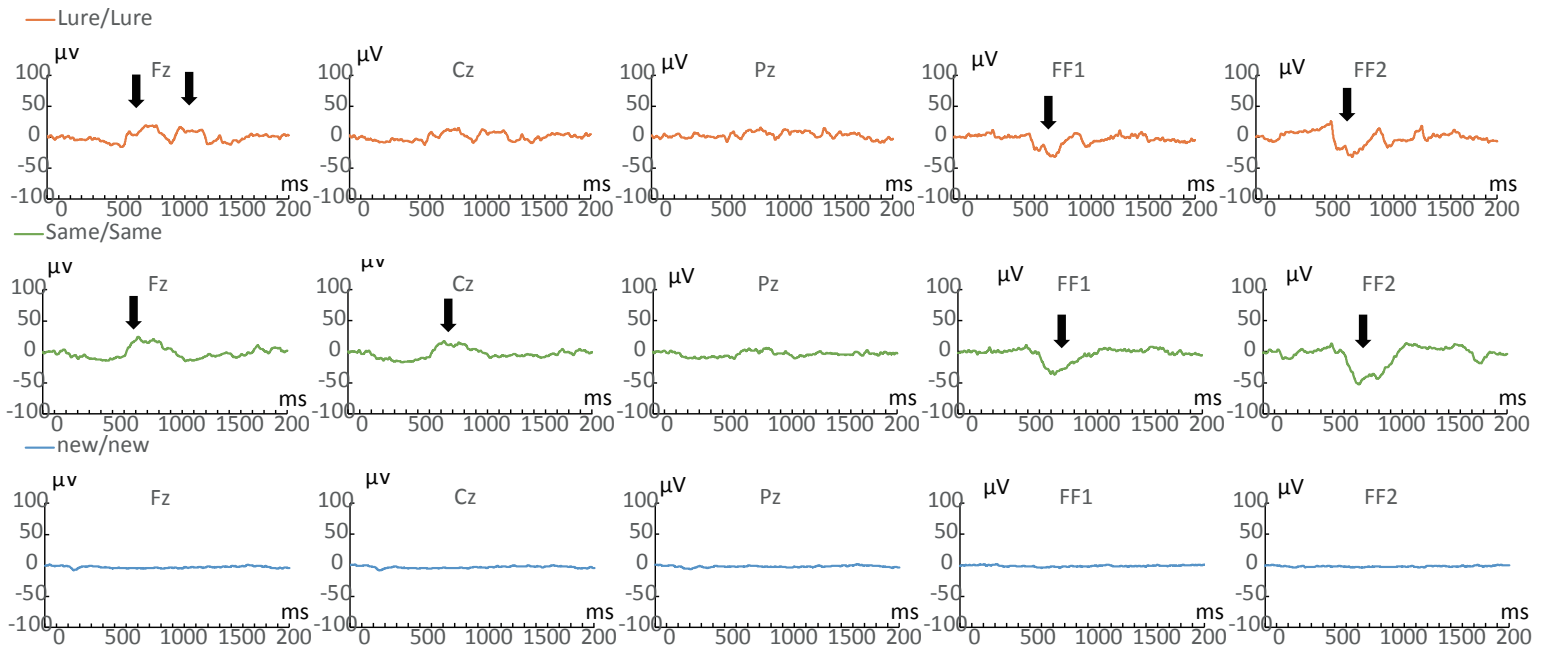
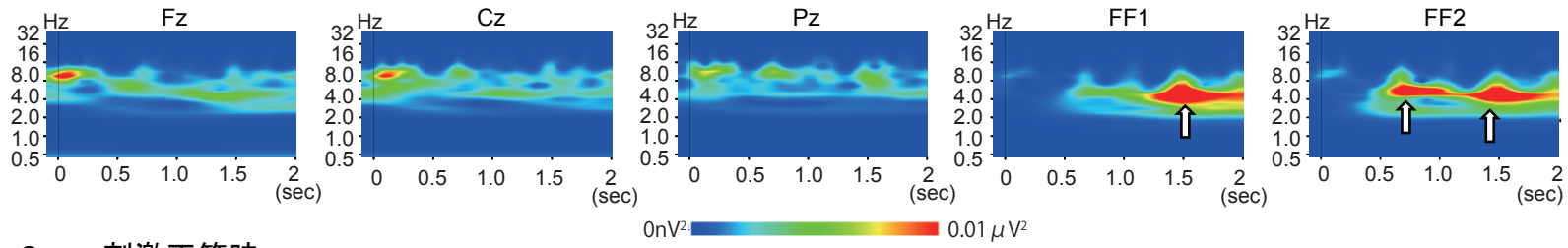
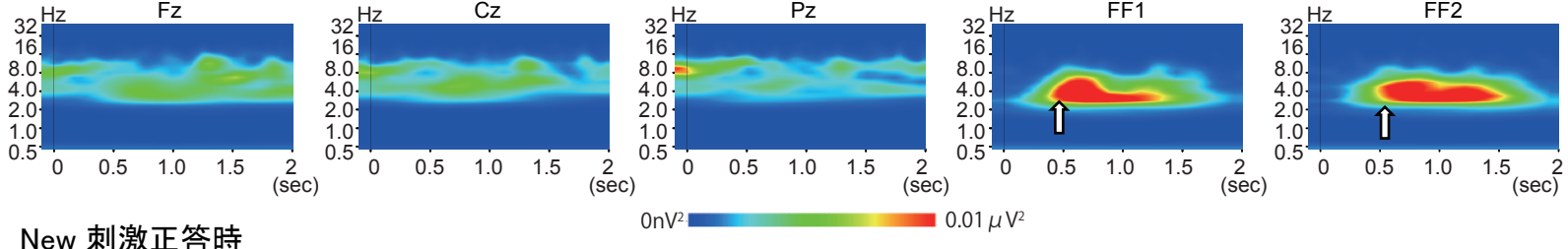


図6 時間周波数解析 健常者(No.5)

Lure 刺激正答時



Same 刺激正答時



New 刺激正答時

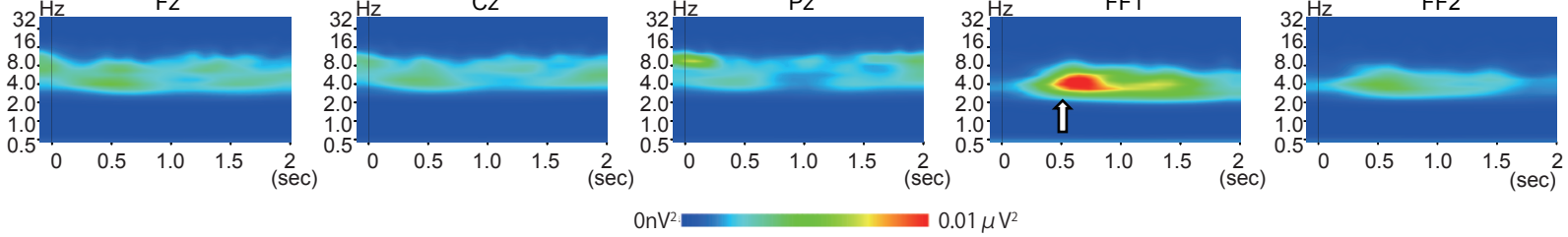
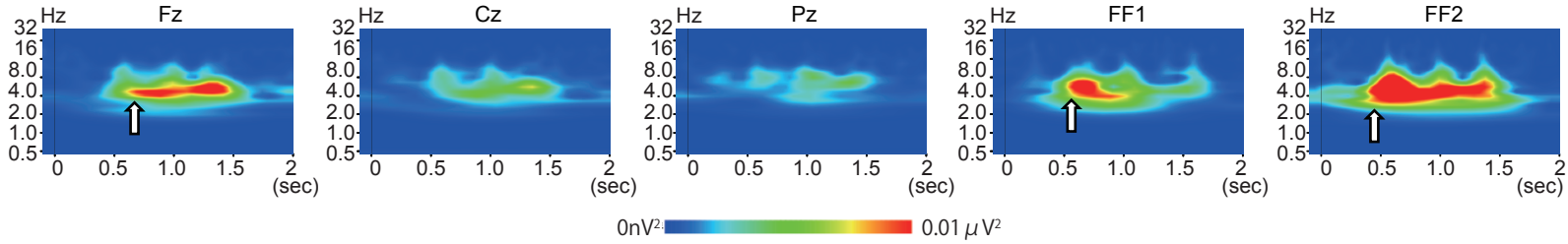
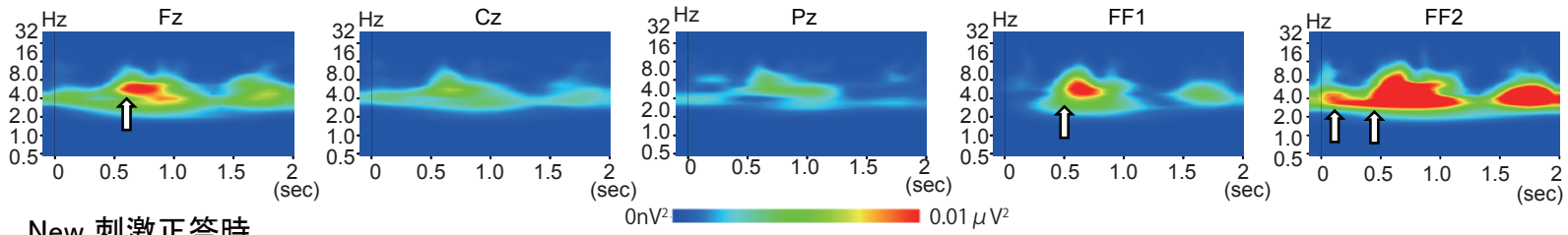


図7 時間周波数解析 症例(海馬硬化症疑い)

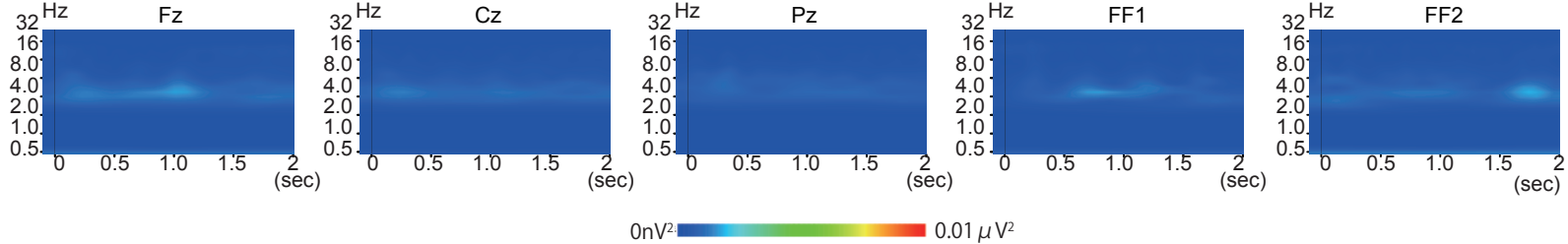
Lure 刺激正答時



Same 刺激正答時



New 刺激正答時



II-5. 労災疾病臨床研究事業費補助金
(分担) 研究報告書

革新的高次脳機能障害治療患者脳におけるグラフ理論の応用による
機能的ネットワーク解析に関する研究
研究分担者 西村 正彦、石内 勝吾

研究要旨： 革新的高次脳機能治療法の樹立を目的に高次脳機能障害患者に経頭蓋直流電流刺激 (transcranial Direct Current Stimulation: 以下 tDCS) を用いて、1mA の電流にて左前頭葉を 30 分間、陽極刺激を施行した。tDCS 治療の前後に海馬機能検査にて海馬機能の評価を行った症例の安静時脳活動を利用し、海馬パターン分離能との関連が示唆されている小脳 Crus、海馬、中部帯状回に着目し、グラフ理論を応用したネットワーク解析を行った。tDCS 治療の経過とともにネットワークの改変が観察された。

A. 研究目的

本研究の目的は労災による 1) 交通事故、転倒・転落事故等によるびまん性軸索損傷、2) 過労により発症した心筋梗塞や脳卒中による低酸素脳症 3) 炭塵爆発事故による遷延化した一酸化中毒を対象に疾患により引き起こされた高次脳機能障害に対する革新的な治療法の樹立をめざす。本研究では高次脳機能障害を小脳と海馬及び帯状回における神経回路網のネットワーク障害として捉え、高次脳機能障害に対する治療介入が海馬機能と機能的ネットワークへ及ぼす影響について評価した。

B. 研究方法

本研究では交通事故により瀰漫性軸索損傷を起こし、高次脳機能障害を呈した患者 (40 歳代、男性) に対し tDCS とメマンチン酸塩を用いた治療を行なった。tDCS は 1 日 1 回 30 分間、1mA 電流量にて刺激を行なった。左側 DLPFC(dorsolateral prefrontal cortex)を刺激できるよう 10/20 法 F3 上に陽極電極を配置し、対側右眉上に

陰極電極を配置し、直流電流刺激を施行した。tDCS は 5 回 1 クール実施した。メマンチン酸塩は tDCS 治療の開始とともに 1 日 5mg の内服を開始し、tDCS 治療終了後も内服を継続した。認知機能の評価には海馬機能検査¹⁾を用い、治療前、tDCS 治療直後、治療 3 ヶ月後に評価した。

海馬機能検査と同時期に安静時脳活動を fMRI にて取得した。安静時 fMRI の解析は、画像前処理、関心領域間の相関係数の算出、グラフ理論に基づく各関心領域の機能結合変数の算出を行った。画像前処理には MATLAB 上で動作する SPM12 (Wellcome Trust Centre for Neuroimaging, University College London)を用い、体動補正、スライスタイミング補正、脳画像の標準化と平滑化処理を行なった。ついで、SPM ツールボックスの conn toolbox²⁾を用い、116 の皮質、皮質下、小脳の関心領域 (AAL ROI³⁾)間の相関係数 (r) を算出し、さらに FisherZ 変換にて r 値を標準化 (Z 値) し、関心領域間の機能的結合マトリクスを作図した (図 1)。グラフ理論に基づく

各関心領域の機能結合変数は、Brain connectivity toolbox⁴⁾を用い、Degree、Betweenness centrality、Average path length を算出し、海馬パターン分離能の関与が示唆されている小脳 Crus1、海馬及び中部帯状回の機能的ネットワークについて評価した。

Degree はある関心領域がもつネットワーク数であり、機能結合の強度を表す。

Betweenness centrality はある関心領域が他の関心領域間を繋ぐ Hub としての数値を表す。Average path length は各皮質間の平均経路長であり、値が小さいほど近接する領域との機能結合を持つ。

C. 研究結果

治療前の海馬機能検査の結果は、New 課題正答率 86%、Lure 正答率 0%、Same 正答率 63%と、海馬パターン分離能、パターン補完能が障害されていた。tDCS 刺激 1 クールとメマンチン酸塩 5mg 内服後の海馬機能検査では、New 課題正答率 84%、Lure 正答率 50%、Same 正答率 94%と海馬パターン分離能とパターン補完能は改善を示した。tDCS 治療後、メマンチン酸塩 5mg 内服を継続し、3 ヶ月後の海馬機能検査の成績は New 課題正答率 86%、Lure 正答率 50%、Same 正答率 94%と、海馬機能は維持されていた。

各検査時期の機能的ネットワークをサークルグラフに表した (図 2)。治療前は、皮質領域間の結合が多く観察され、前頭皮質に比べ小脳皮質のネットワーク数が多く観察された。tDCS 治療直後では、小脳皮質のネットワーク数は減少し、帯状回のネットワーク数、前頭皮質内のネットワーク数

が増加した。tDCS 治療 3 ヶ月後メマンチン酸塩 5mg 3 ヶ月間内服の時期では、tDCS 治療直後に比べ、帯状回のネットワーク数は減少し、小脳皮質のネットワークが増加した。

図 3 に Degree と Betweenness centrality の値の上位 10%の関心領域と、Average path length の値の下位 10%の関心領域の棒グラフを示す。黄色のバーは海馬機能のネットワークの中心的役割を果たしていると考えられる中部帯状回、海馬、小脳 CrusI を表す。治療前の小脳 CrusI は degree 及び Betweenness centrality で高値を示し、Average path length では低値であった。治療前の小脳 CrusI は近接する領域間の hub として機能していた可能性がある。また、中部帯状回は Betweenness centrality で高値を示したが、Average path length では低値をしめさなかった。治療前の中部帯状回は遠隔脳領域との hub として機能していたことが伺える。tDCS 治療直後の中部帯状回は Degree と Betweenness centrality が高値を示し、Average path length は低値を示した。中部帯状回は近接領域間の hub 機能が增強したと思われる。対して、小脳 CrusI は Betweenness centrality で高値を示し、Average path length で低値を示しめさず、遠隔領域との hub に変化した。

tDCS 治療 3 ヶ月後では、小脳 CrusI は degree 及び Betweenness centrality で高値を示し、Average path length では低値を示した。メマンチン酸塩内服での維持療法 (5mg/日) では帯状回の hub 機能は軽減され、小脳 crusI の近接領域間の hub 機能が增強された。

小脳 Crus1、海馬及び中部帯状回の機能的ネットワークの治療経過における変化

(図 4) を見てみると、海馬パターン分離能の改善とともに各脳領域内での機能モジュールの形成と小脳-海馬間のネットワークが形成されることが分かった。ネットワークの変化について詳細に見ていくと、治療前は帯状回、海馬はそれぞれ、側頭葉や後頭葉、前頭葉といった他の脳領域間との遠隔なネットワークを形成していた。小脳 CrusI は頭頂葉や側頭葉、後頭葉との遠隔ネットワークを持ちながらも、小脳領域内でのネットワークも形成されていた。

tDCS 治療直後は、小脳 CrusI は小脳モジュール内での小さなネットワークへと変化した。海馬、中部帯状回は後頭葉や前頭葉とのネットワークを持つが、中部帯状回は前部帯状回とのネットワークも形成されモジュール化が進んだ。治療 3 ヶ月後では中部帯状回は前部・後部帯状回、楔前部との機能モジュールを形成した。海馬は海馬領域内での機能的ネットワークを、小脳 CrusI は小脳領域内でのネットワークを形成しながら、小脳虫部を介して小脳-海馬間のネットワークを形成している。

D. 考察

本研究の結果から、tDCS による微弱な直流電流刺激とメマンチン酸塩によって機能的ネットワークの改変が促進され、海馬パターン分離能の改善に関連することが示唆された。

治療前は機能モジュール内での連結が弱かった海馬及び中部帯状回のネットワークは、tDCS 刺激によってモジュール化が促進された。瀰漫性軸索損傷により障害されてい

た脳領域モジュール内のネットワークが持続的な低電流刺激は分断されていた領域間を結ぶ軸索の膜電位に影響し、軸索の活動電位の発生を促進したのではないと推論される。tDCS 治療後 3 ヶ月間のメマンチン酸塩の内服は、軸索の髄鞘化を進め、脳領域間の機能モジュールの形成をさらに進めたと思われる。これらの仮説は動物実験による検証が必要であるが、機能モジュール間のネットワークの評価は高次脳機能障害患者の認知機能回復を判断するバイオマーカーになりうると思われる。

E. 結論

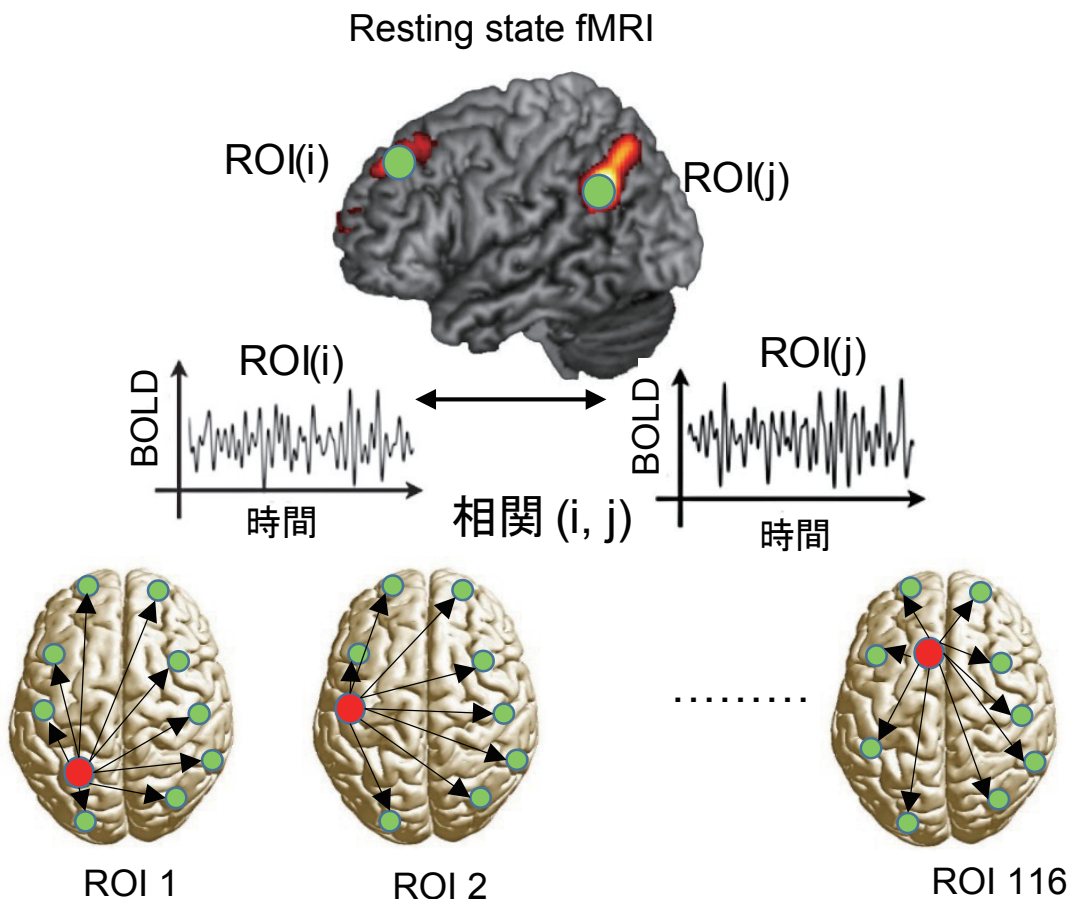
tDCS 刺激は脳内機能的ネットワークの改変を促進し、メマンチン酸塩によるメンテナンス治療は回復したネットワークの維持と機能モジュール化の促進に関係していることが示唆された。グラフ理論を基にした高次脳機能障害患者の機能的ネットワーク解析は、高次脳機能障害の回復、障害を判定するための評価の一つとして有用であると思われる。

- 1) Shiroma A., et al., *Cerebellum*. 2016; 15: 645-662
- 2) Whitfield-Gabrieli S., et al., *Brain Connect*. 2012; 2: 125-141
- 3) Tzourio-Mazoyer N., et al., *Neuroimage*. 2002; 15: 273-289
- 4) Rubinov, M., et al., *Neuroimage*. 2010; 52: 1059-1069

図1 安静時fMRIを用いた機能的ネットワーク解析

機能的ネットワーク解析では、脳の関心領域 (Region of interest: ROI) 間の結合を安静時 fMRI で得られる全脳の BOLD 反応の時間的変化を用いて解析する。

全脳 116 の領域に割り当てられた ROI (AAL template³⁾) の BOLD 反応の時間的相関関係 (相関係数 r) を算出する。



相関係数マトリクス

r 値

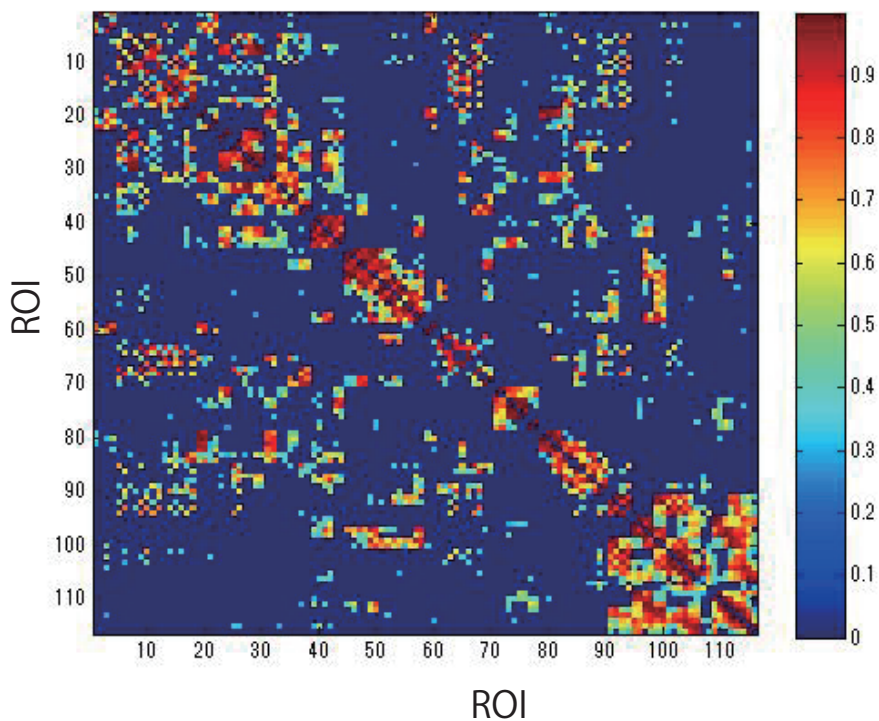
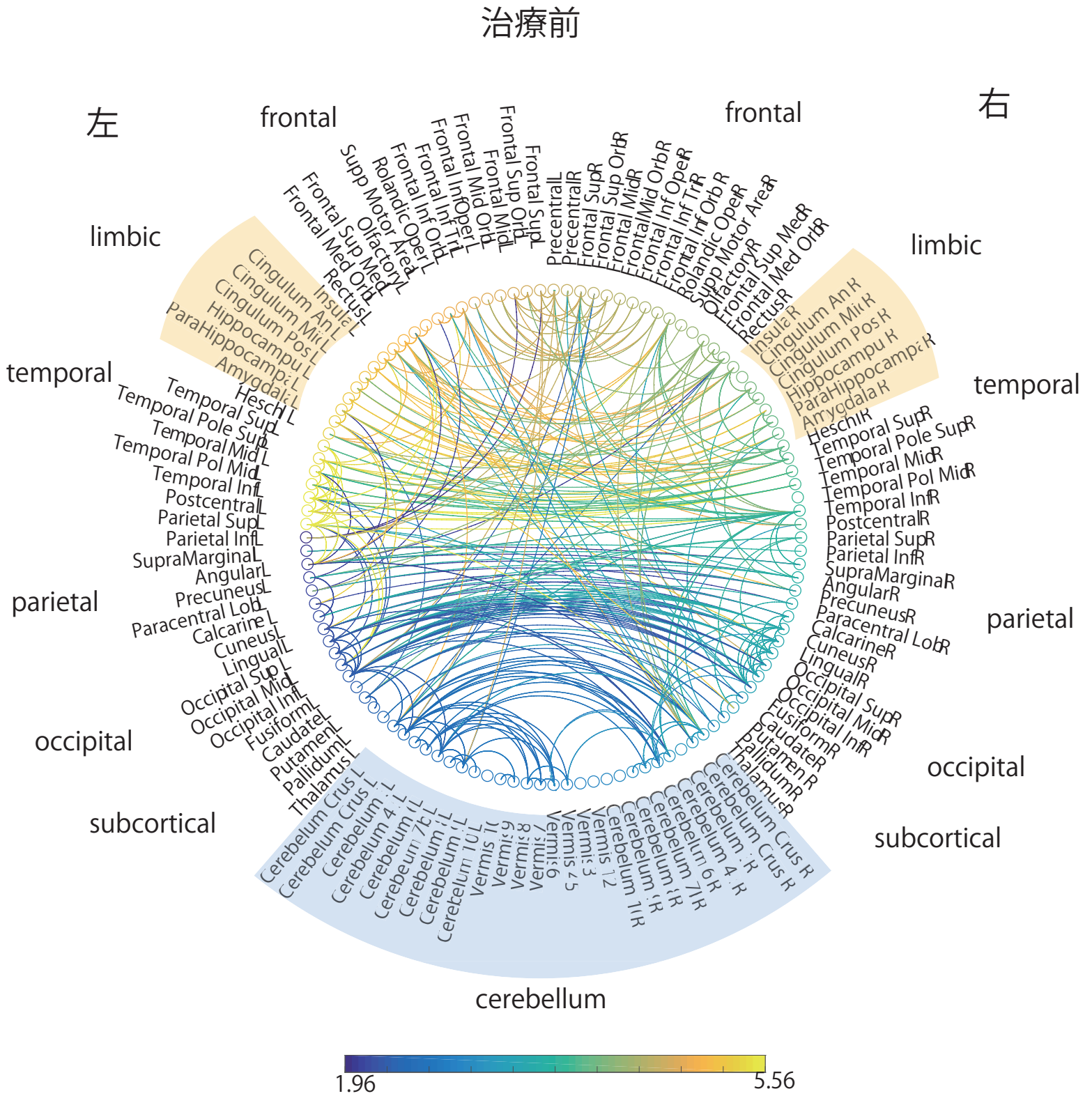
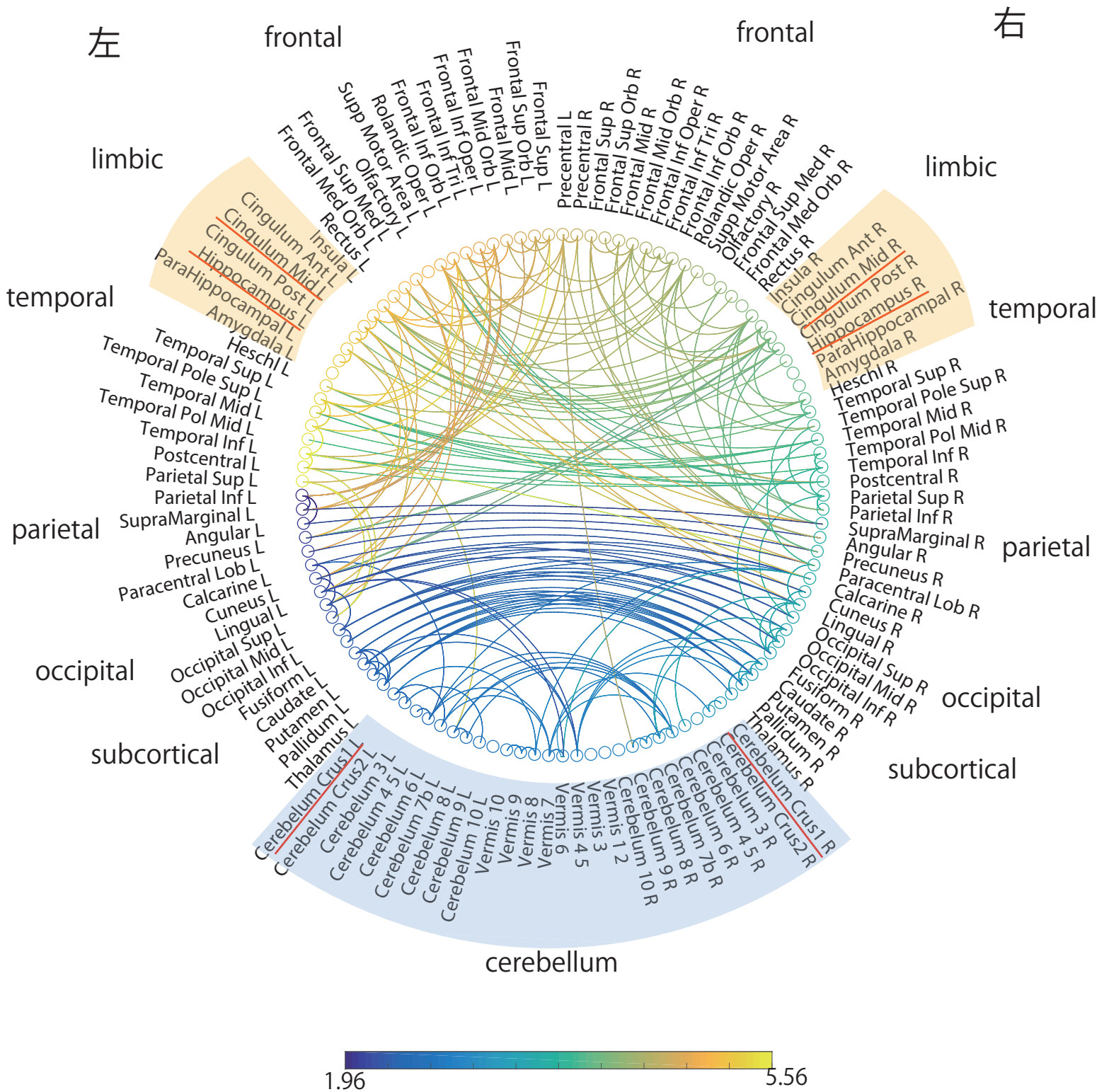


図2 治療介入における全脳機能的ネットワークの変化



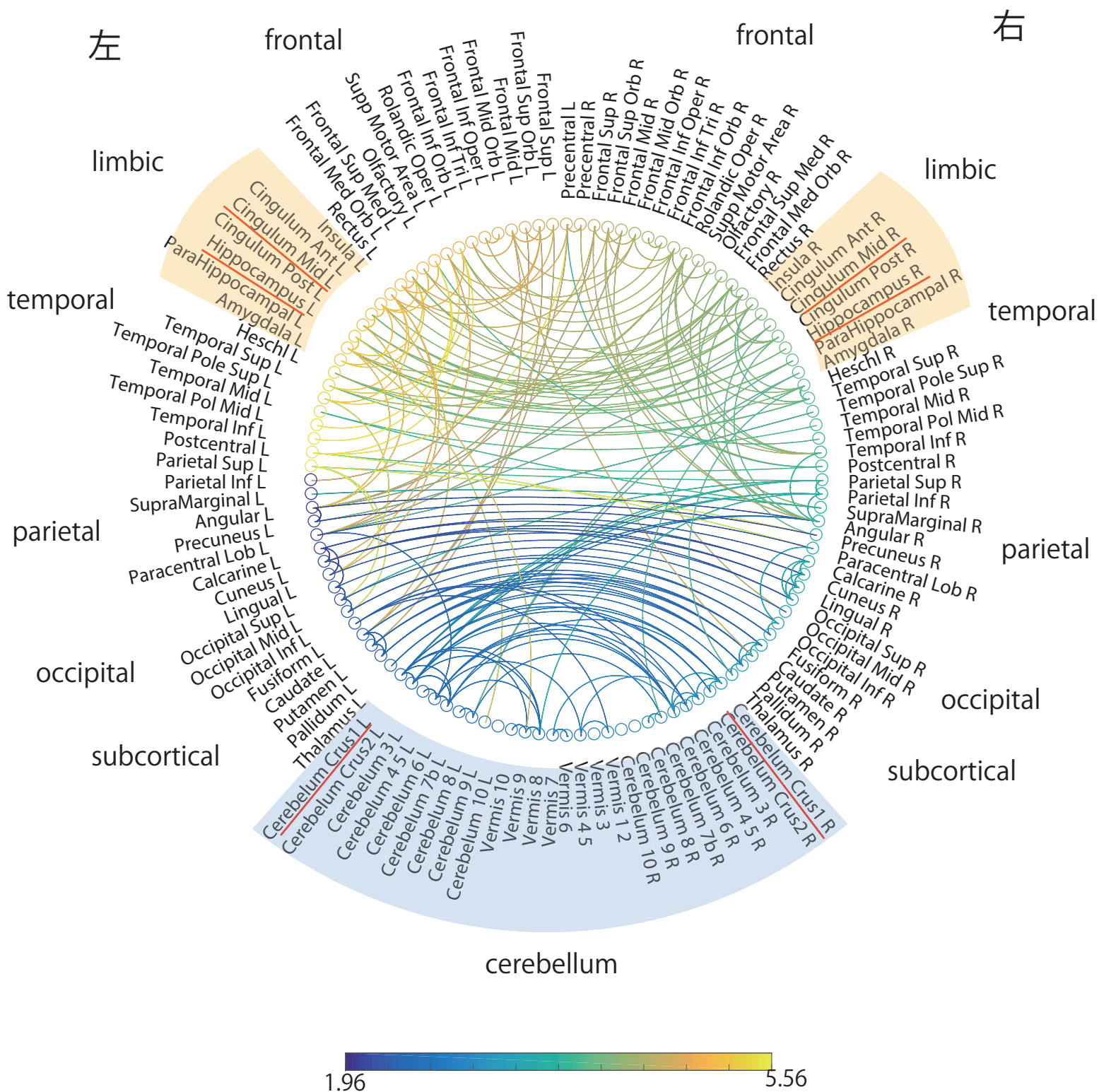
各領域間を結ぶ線の色はZ値にて定義される。
暖色ほど領域間の結合の強さを表す。

tDCS治療直後



各領域間を結ぶ線の色はZ値にて定義される。
暖色ほど領域間の結合の強さを表す。

tDCS治療3ヶ月後



各領域間を結ぶ線の色はZ値にて定義される。
暖色ほど領域間の結合の強さを表す。

図3 機能結合変数の変化

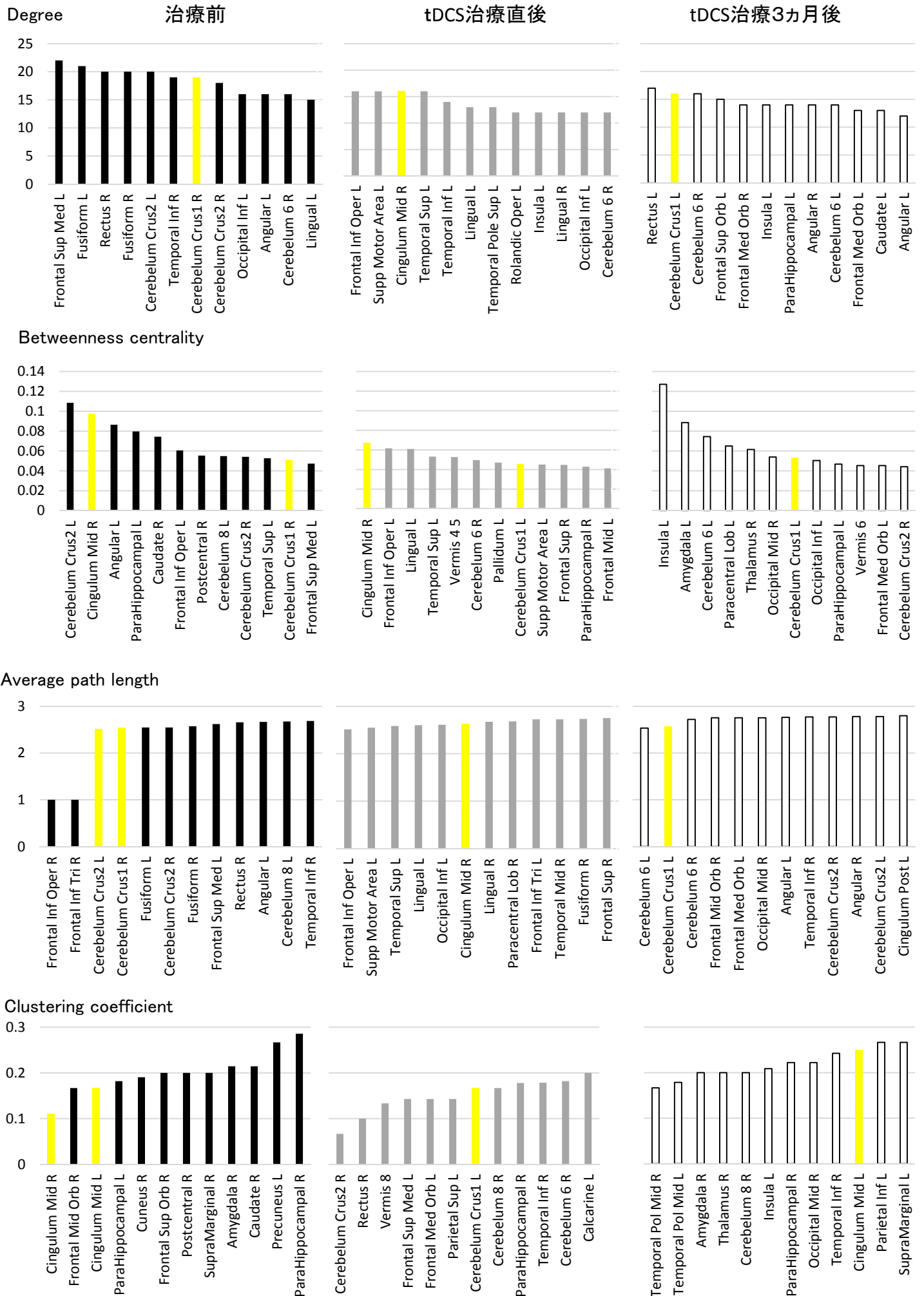
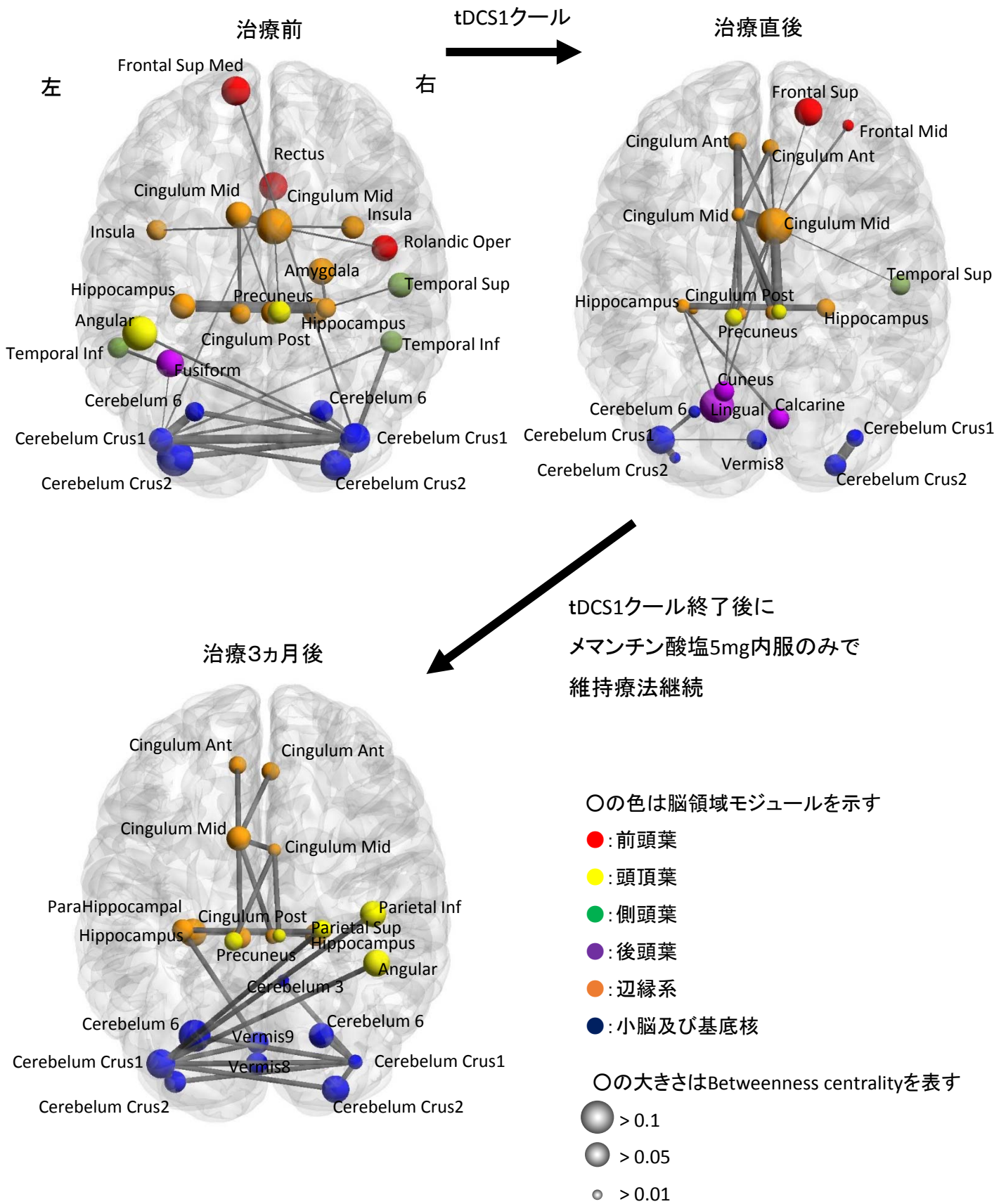


図4 帯状回、海馬及び小脳の機能的ネットワークの変化



II-6. 労災疾病臨床研究事業費補助金
(分担) 研究報告書

高次脳機能障害患者に対する神経心理学的解析に関する研究

研究分担者 土田 幸男、西村 正彦

研究要旨: 平成 28 年度で対象とした頭部外傷による高次脳機能障害患者は 7 例であった。神経心理学的検査により、中等度の記憶障害や、情報処理速度の低下といった認知機能障害を示し、復職に問題を認めた症例に tDCS を施行し、海馬機能の改善が認められた。一方、神経心理学検査の一部では機能低下の残存を認めた。頭部外傷による高次脳機能障害は器質的病変の多様性や重篤性は症例ごとに様々であり、神経心理学的検査による患者の認知様相の評価は重要であると考えられる。

A. 研究目的

本研究の目的は労災による 1) 交通事故、転倒・転落事故等によるびまん性軸索損傷、2) 過労により発症した心筋梗塞や脳卒中による低酸素脳症 3) 炭塵爆発事故による遷延化した一酸化中毒などの疾患により引き起こされた高次脳機能障害の神経心理学的評価を目的とする。

B. 研究方法

本研究ではスクリーニング検査として、全般的認知機能評価に MMSE (Mini-mental state examination)、記憶機能評価に HDS-R (長谷川式簡易知能評価スケール) を使用している。また、より具体的な認知機能領域の評価として以下の検査を実施している。情報処理速度評価に WAIS-R の Digit symbol test (DST)、注意・作業記憶の評価に WAIS-R の Digit span test、遂行機能の柔軟性の評価に Trail Making Test (TMT)、遂行機能の抑制の評価に Stroop test (ST)、そして視空間構成機能評価に WAIS-R の Block test を使用している。これらの検査で全体的な認知様相を把握した

後、スクリーニング検査では把握しきれない記憶機能のような、より詳細な評価が必要な患者には Hopkins Verbal Learning Test-Revised (HVLRT-R) 等を実施している。

高次脳機能障害患者には認知リハビリテーションの介入が望まれるが、当科ではニューロリハビリテーションの一環として transcranial direct cortical stimulation (tDCS) を実施している。その際、tDCS による治療介入前後の認知機能の評価した。

C. 研究結果

【平成 28 年度】

平成 28 年度で神経心理検査を実施した総数は 200 名 (Figure 1A)、このうち再検査を除いた患者実数は 146 名であった

(Figure 1B)。患者の内訳は、脳腫瘍が 87 名 (60%) と最も多く、頭部外傷が 7 名 (5%)、脳梗塞/脳血管障害が 17 名 (12%) と続いている。これらの中で高次脳機能障害と考えられる、神経心理検査の結果が同年齢平均より $-2SD$ 以上低下している、あるいはカットオフ値を越えた症例が発生する頻度

を Figure2 に示す。16 歳未満は基準が存在しないため除いている。遂行機能—柔軟性—の障害が最も多く、続いて記憶領域の障害で発生が多い結果となっている。

このうち、tDCS による治療介入により神経科学的に改善を認めたものの、認知機能の改善は必ずしも対応していなかった症例について報告する。

【症例 1】42 歳男性、交通外傷後、高次脳機能障害の症例である。オートバイに乗車中、右折車と衝突し、右側上顎骨陥没骨折。事故直後に脳画像上の異常所見は認められなかったが、職場復帰後に認知機能の低下を自覚している。Memantine (5mg/日) による治療を開始したが、効果の自覚に乏しく、tDCS (2mA, 30 分間, 10 セッション) による治療を開始。

【主訴】言葉がうまく出てこない、会話がスムーズではない、また、記銘力の低下を自覚している。

【Lure Task 評価】海馬機能を測定する Lure Task を tDCS 治療前、tDCS 治療直後、そして tDCS 治療 3 ヶ月後において実施した (Figure 3A)。tDCS 治療前では Same の成績が 63%と低く、特に海馬の DG/CA3 が関与するパターン分離機能を反映する Lure の成績は 0%であった。交通外傷により海馬機能が低下していることが示唆された。tDCS 治療後では Lure の成績は 50%と改善し、tDCS 治療 3 ヶ月後においても同様で、改善した機能が維持されている。

【神経心理学的評価】tDCS 治療前：スクリーニング検査である MMSE は 28/30, HDS-R は 29/30 と極軽度の低下が認められ

た (Figure 3B)。ある程度機能が保たれている者の場合、スクリーニング検査では詳細な記憶機能の評価が困難である。このため、年齢群ごとに標準化された記憶検査である HVLT-R を実施した。その結果、再認識別指数が -2SD を下回る水準であった

(Figure 3C)。以前に記憶した項目に類似した項目との判別を特に苦手としており、高次脳機能障害診断ガイドライン¹⁾における中等度の記憶障害が示唆された。また、精神運動速度の低下も生じている (Figure 3D)。

tDCS 治療直後：MMSE は 27/30, HDS-R は 26/30 と遅延再生の低下が残存している。精神運動速度はやや改善を認めるが、記憶検査の HVLT-R では前回よりも成績が低下しており、tDCS の即時効果は神経心理学検査上明らかではなかった。

tDCS 治療 3 ヶ月後：MMSE は 28/30, HDS-R は 29/30 と改善を認めている。

HVLT-R では再生合計などの項目では -1SD の低下が残存しているが、再認識別指数は正常範囲となり、治療前より改善が認められた。DST による精神運動速度は治療前が 7/10 点と -1SD の低下であったが、治療後は 8/10 と正常範囲と改善を認めた。一方、遂行機能では治療前が TMT で 9/10 点, ST で 10/10 点と正常域であったものが、治療後では TMT と ST どちらも 7/10 点となり、-1SD の低下が認められた。

【ワーキングメモリ評価】神経心理学的検査として通常行っているワーキングメモリ評価は Digit span test であるが、この検査は聴覚性のワーキングメモリに限定される。ワーキングメモリは 3 つのコンポーネントで構成されており、聴覚性以外にも視空間

性と実行系のものが存在する²⁾。これらのワーキングメモリ容量は独立しており、特に実行系の容量は学習や推論などの高次認知課題と強い関係がある。視空間ワーキングメモリとしてVSPAN³⁾、実行系のワーキングメモリとしてリーディングスパンテスト⁴⁾(RSPAN)を実施した。治療を通じて一貫してVSPANは健常成人平均と同水準であったが(Figure 4A)、RSPANは健常成人平均を下回っていた(Figure 4 B)。本症例の経歴・生活歴からは、事故以前の成績は平均かそれ以上であることが予測され、患者自身も以前ならもう少しできたと思うと報告している。RSPANの成績の低さは本症例が未だ就労場面での作業に支障を来す可能性を示唆している。

【治療経過】治療に伴い不安が強かった表情が和らぐなど、外見上は落ち着きが増している。tDCS治療3ヶ月後に実施したPOMS2では「緊張-不安」や「抑うつ-落込み」など、いずれの気分尺度も平均域にあることが示されている(Figure 4C)。記憶障害については治療後も低下は残存するものの、明らかな改善を認めた。一方、軽度の遂行機能障害を認めており、RSPANの成績が改善しないなど、患者が望んでいる水準での社会復帰には至っておらず、事故前の業務から別業務へと異動となっている。本症例は継続的なフォローが必要と考えられ、Memantineに人参養栄湯を追加し、現在も治療を継続している。

D. 考察

本症例は治療的介入により、神経科学的改善を認めたものの、神経心理学的には一部で機能低下の残存を認めたものである。頭部外傷による高次脳機能障害では、器質

的病変の多様性や重篤性は症例ごとに様々である。高次脳機能障害における社会復帰には病前の認知機能、生活環境により求められる水準・対応が異なってくる。患者のQOLを高めるためにも、tDCSのような治療的介入に加え、心理社会的な特性の把握が必要となる。その際は、ルーチンとして実施する検査に加えて、多様な病相に対応し、患者ごとに調整された神経心理検査バッテリーの使用が望まれる。神経科学的な治療に加え、心理社会的な評価を行うことで適切なフォローが可能となるであろう。

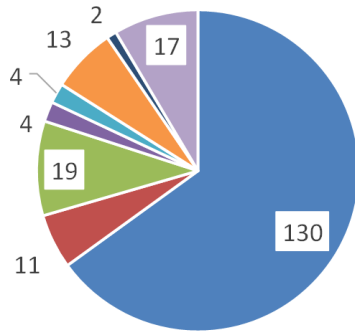
E. 結論

中等度以上の認知機能障害が示唆され高次脳機能障害を呈した患者にtDCSで治療を施行した症例で、海馬機能は回復を認めたが、神経心理学的評価は必ずしも対応していなかった。高次脳機能障害の評価には、患者の特性を踏まえた多面的な評価が必要である。

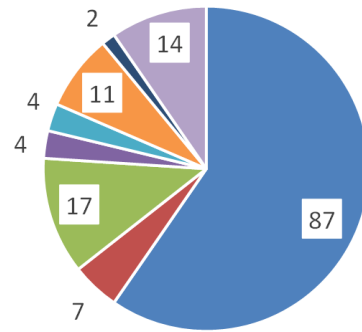
文献

- 1) 厚生労働省社会・援護局障害保健福祉部 国立障害者リハビリテーションセンター,
http://www.rehab.go.jp/brain_fukyu/data/, 2008.
- 2) Baddeley, A. D. Working memory. Oxford University Press, Oxford 1986.
- 3) 土田幸男・室橋春光 認知心理学研究 2009; 7:67-73.
- 4) Osaka, M. & Osaka, N. Bulletin of the Psychonomic Society 1992;30:287-289

A.



B.



- 脳腫瘍
- 脳梗塞/脳血管障害
- 認知症
- HAND疑い
- 頭部外傷
- 水頭症
- HANS疑い
- その他

Figure 1 平成 28 年度の神経心理検査 における患者人数内訳

A : 神経心理検査実施総数, B : 再検査を除いた患者実施総数

HANS: 子宮頸がんワクチン関連神経免疫異常症候群, HAND: ヒト免疫不全ウイルス関連神経認知障害, その他の内訳(脳炎疑い, 変性疾患疑い, 多発性硬化症等).

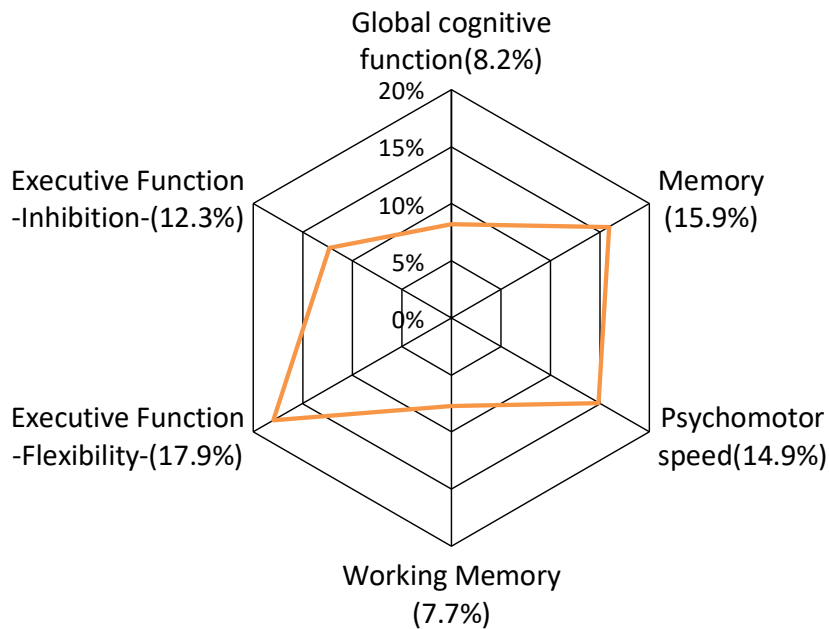


Figure 2 高次脳機能障害患者における神経心理検査結果

Global cognitive function: MMSE, Memory: HDS-R, Psychomotor speed: Digit symbol test, Working Memory: Digit span test, Executive function -Flexibility-: Trail making test, Executive function -Inhibition-: Stroop test.

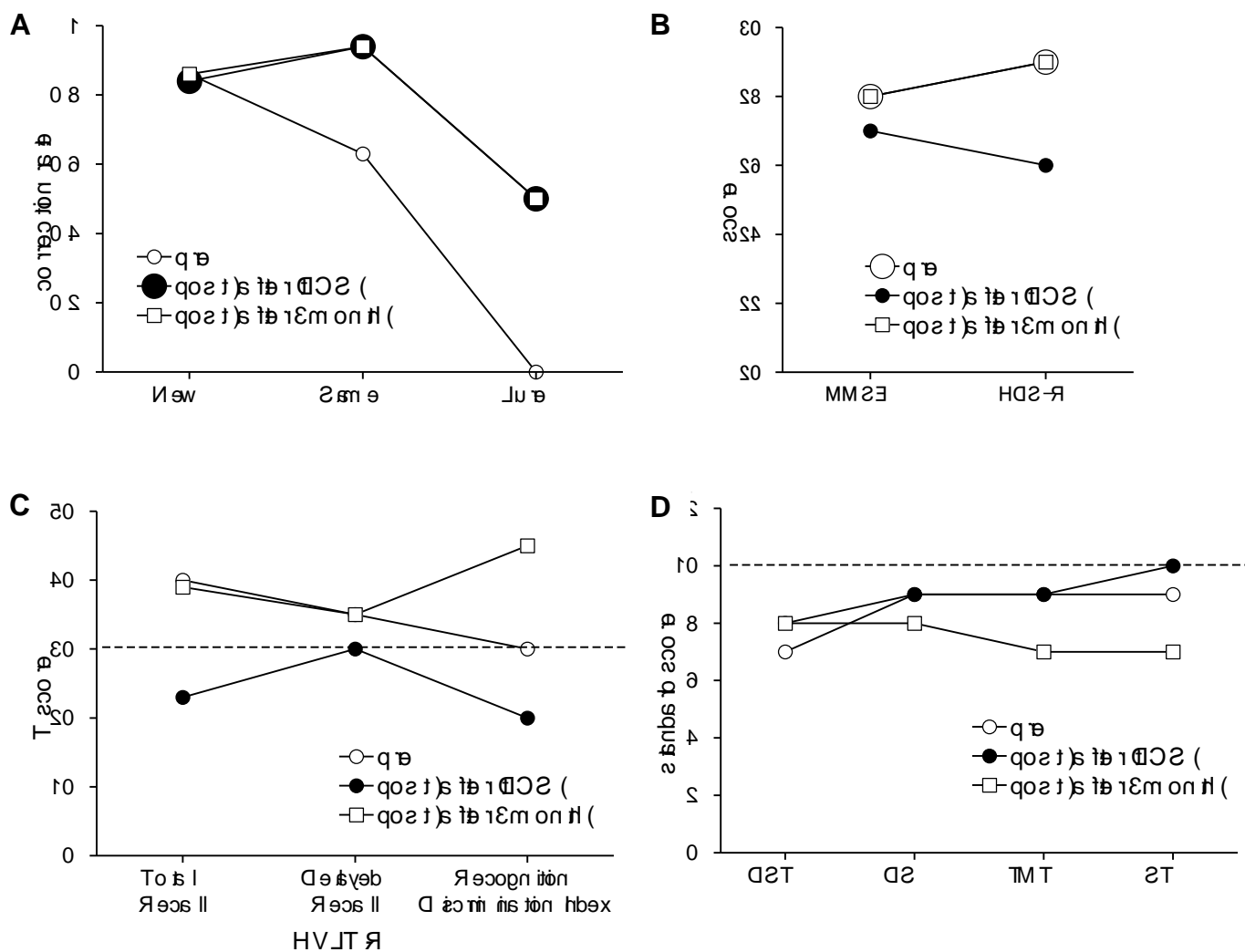


Figure 3

- A.** The vertical axis shows correction rate, and the horizontal axis shows each stimulus in Lure Task. Lure Task had an explicit 3-alternative forced choice task, including novel (New), repeated (Same) and similar (Lure) stimuli.
- B.** The vertical axis shows score and the horizontal axis shows each subtest. MMSE: Mini Mental State Examination (Global cognitive function), HDS-R: Hasegawa's Dementia Scale for Revised (Memory).
- C.** The vertical axis shows T score and the horizontal axis shows each sub score in HVLTR. Thirty points are minus 1 SD values in the same age group (broken line).
- D.** The vertical axis shows standardized points, and the horizontal axis shows each subtest. DST: Digit Symbol Test (Psychomotor speed), DS: Digit Span (Attention), TMT: Trail Making Test (Executive function-flexibility-), ST: Stroop Test (Executive function-inhibition-). Ten points are average values in the same age group (broken line).

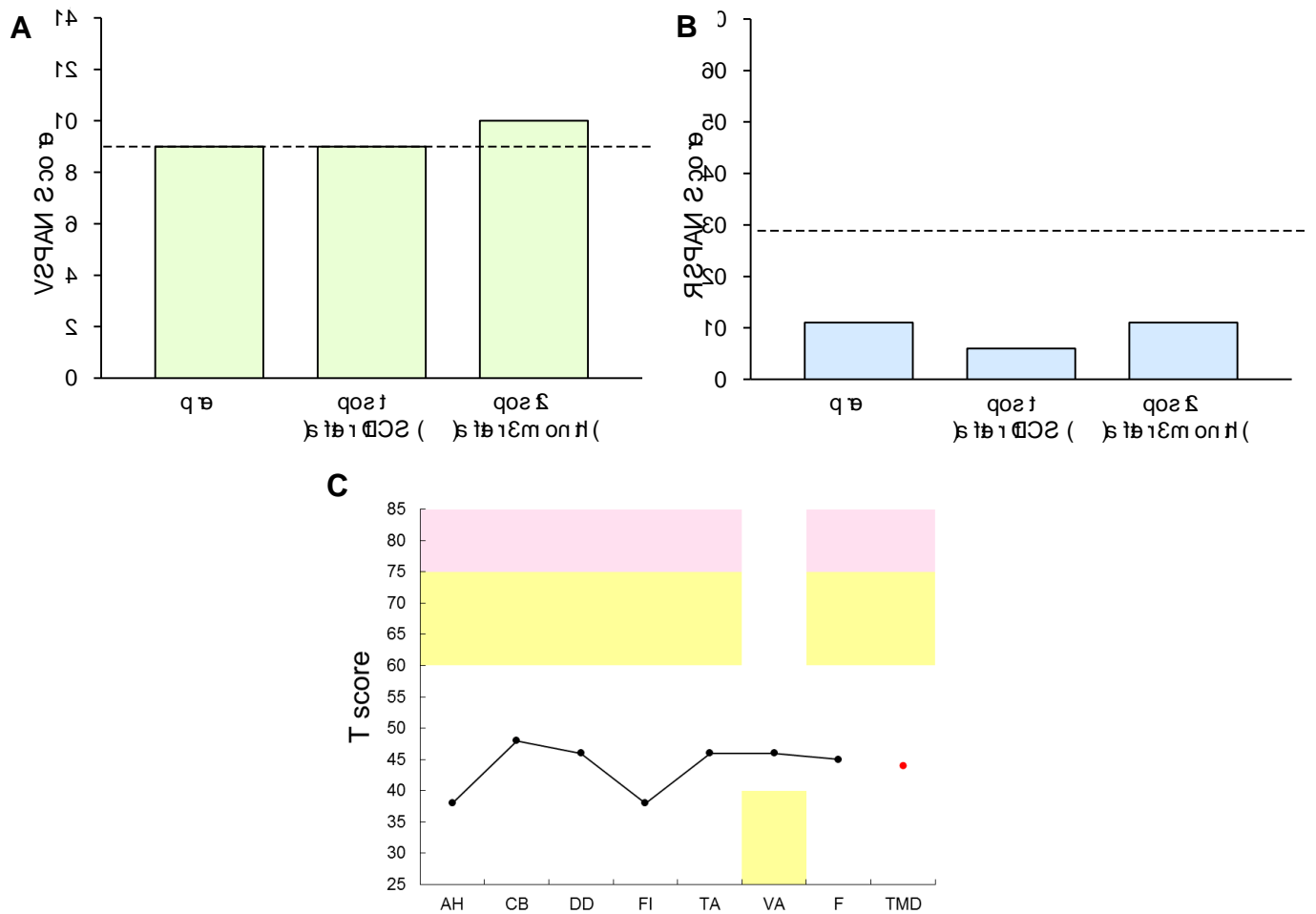


Figure 4

- A.** The vertical axis shows score in the visuo-spatial span test (VSPAN). Nine points are average values in the control group (broken line).
- B.** The vertical axis shows score in the reading span test (RSPAN). Twenty-eight points are average values in the control group (broken line).
- C.** The vertical axis shows T score, and the horizontal axis shows each scale in the Profile of Mood States 2nd Edition (POMS2). AH: Anger-Hostility, CB: Confusion-Bewilderment, DD: Depression-Dejection, FI: Fatigue-Inertia, TA: Tension-Anxiety, VA: Vigor-Activity, F: Friendliness, TMD: Total Mood Disturbance.

II-6. 労災疾病臨床研究事業費補助金 (分担) 研究報告書

高次脳機能障害患者に対するDiffusion Tensor Image (DTI)解析に関する研究
研究分担者 宇杉 竜一、外間 洋平

研究要旨： 本年度紹介され、Diffusion Tensor Image (DTI)解析を実施した高次脳機能障害患者は42例(平均年齢51.5歳±16.4歳、脳腫瘍32名、頭部外傷4名、脳血管障害3名、その他機能的疾患3名)であった。神経心理学的検査の各domainにおいて何らかの成績低下を示した割合はpsychomotor speed 75.6%, executive function 79.3%, memory 78%, working memory 74.4%, global cognitive function 70.7%であった。DTIにより高次脳機能障害の原因となる神経線維束の微細なミエリンの脱髄性変化や軸索損傷などの白質変性を定量的にとらえる事ができ、治療方針の決定や効果判定に有用であると思われた。

A. 研究目的

本研究の目的は労災による1)交通事故、転倒・転落事故等によるびまん性軸索損傷、2)過労により発症した心筋梗塞や脳卒中による低酸素脳症、3)炭塵爆発事故による遷延化した一酸化中毒を対象に疾患により引き起こされる高次脳機能障害と神経線維束の関連性を明らかにすることを目的とした。

B. 研究方法

対象：平成28年4月1日から平成29年3月31日までに当科で、DTI解析を実施した症例の内、同時期に神経心理学的検査が実施された脳疾患を有する42例(平均年齢51.5歳±16.4歳、男性24名、女性18名、脳腫瘍32名、頭部外傷4名、脳血管障害3名、その他機能的疾患3名)、健常被験者20名(平均年齢38.6歳±16.9歳、男性10名、女性10名)を対象とした。脳疾患症例42名の内、脳腫瘍症例32名(平均年齢52.9歳±14.7歳、男性17名、女性15名)は高次機能と神経線維束の相関を検討した。頭部外傷後4症例(平均年齢53.2歳±23歳、男

性4名)の内、tDCS(transcranial Direct Current Stimulation 経頭蓋直流刺激)治療前後にかけて高次機能の経過を追った2例は縦断的に解析を実施した。

方法：神経心理学的指標：琉大式簡易神経心理学的検査バッテリー(Ryudai's Neuro psychological Test Battery:RBNB)を実施した。全般的な認知様相を示すと言われるModified Mini-mental test(3MS)を全般的認知機能の指標とした。またDigit symbol test(DST)を処理速度の指標とした。Digit symbol testは90秒間に出来るだけ早く数字に対応した符号を所定の用紙に記入していくという運動、認知、視覚水準を含む脳全体の機能を反映している。実行機能の指標としてTMT混合の遂行時間とした。TMT混合とはランダムに記載された平仮名と数字を交互に順序良く線で結ぶ課題で視覚的な実行機能の低下に鋭敏に反応するといわれている。言語流暢性指標は語想起課題(野菜)とした。1分以内にできるだけ多くの野菜の名前を言う課題で1分間に10語未満の低下群を分析対象として解析を行っ

た。また臨床上明らかな失語症状を呈した症例は除外した。

白質統合性指標：DTIで測定した左右12神経線維束(帯状回、海馬傍回、錐体路、前視床放線、上縦束、弓状束、下縦束、前頭後頭束、鉤状束、大鉗子、小鉗子、Frontal aslant tract 以下FAT, Catani, 2012)の異方性比率 (Fractional anisotropy : 以下FA値) をそれぞれ白質統合性指標とした。FA値とはDTIデータで取得された水分子の拡散運動の方向性が一方向のみの場合には1となり、逆にランダムな拡散をする場合には0となり、FA値が1に近いほど白質統合性が高い事を示している。

MRI撮像条件：GE 3T Discoveryを用いパラメータとしてsingle-shot spin-echo EPI sequence, TE=82.4, TR=9500ms, FOV=240mm, matrix size128*128, slice thickness=2mm, no spacing, NEX=1, MPG=29direction, b-value=1000s/mm² にて撮像した。

DTI 解析方法：前処理として、解析ソフトFSL(<https://www.fmrib.ox.ac.uk/fsl>)を使用し、渦電流歪み補正を実施した後、個人のFA画像を作成した。個人のFA画像に対してTract-Based Spatial Statistics (TBSS Smith, 2006)を用いて、Montreal Neurological Institute (MNI) 座標に標準化させた個人の主要な白質の skeleton 画像を作成した。この skeleton 画像を用いて、標準化されたFA画像のピーク値を skeleton に投射した。TBSSでは、従来から指摘されていた解剖学的標準化のエラーや脳室の膨大などの形態変化を補正エラーの問題を解決している。MNI座標上に標準化

された skeleton 画像に対してトラクトグラフィアトラスを用いて左右各12神経線維束のFA値を算出した。上記のながれは全てコマンドラインでの自動解析とした。12神経線維束の中、FAT以外の11神経線維束はジョンホプキンス大学から提供されたトラクトグラフィアトラスを使用した。残りのFATは提供されている既存のアトラスでは見当たらなかった為、20名の健常被験者のDTIからAutomated Anatomical Labeling (AAL)アトラスから supplementary motor area (SMA)とBroca area44の2つのROIを設定し、2点を通る白質線維をFATと定義(Catani, 2012)し、FSLに実装されているprobabilistic tractographyを用いて20名分の平均FATトラクト画像(5%以下の値は除外)を独自のFATアトラスとした(図1)。

平成27年度はマニュアル2ROI法を用いて、各神経線維束のトラクトグラフィアを作成しFA値等を算出していたが、解析者が手作業(マニュアル)でROIを書く為、解析時間が長く、恣意性があり、再現性の問題があった。従来のmedinriaソフトウェアを使用したマニュアル2ROI法と本年度から実施したFSL_TBSSを用いて標準化した後にアトラスROIでTract specific analysis (TSA)を自動で解析する方法で測定された健常者群の左右錐体路FA値の相関について検討した。2つの方法で有意な相関係数が確認された。(図2, 左錐体路 $r=0.76$ $p<0.0001$, 右錐体路 $r=0.85$, $p<0.00001$)

統計学的解析：左右12神経線維束のFAをそれぞれ測定し、神経心理学的指標との関連をスピアマン相関で算出した。また年齢

の影響を考慮するために年齢と神経線維束の相関も算出した。神経線維束は両側検定で危険率 5%以下を有意とした。統計学的検索には R3.0.2

(<http://www.R-project.org>) を使用した。

C. 研究結果

1) 脳疾患を有する42例 (平均年齢51.5歳±16.4歳、脳腫瘍32名、頭部外傷4名、脳血管障害3名、その他機能的疾患3名) のFA値と年齢との相関

年齢とFA値との有意な相関が見られたのは、左FAT ($r=-0.32$)、右FAT ($r=-0.38$)、左下縦束 ($r=-0.52$) であった。

2) 脳腫瘍症例32名 (平均年齢52.9歳±14.7歳 男性17名、女性15名) のFA値と認知機能との相関

《全般性認知機能》

全般性認知機能とFA値との有意な相関が見られたのは、高い順から、左下縦束 ($r=0.62$)、大鉗子 ($r=0.47$)、左前頭後頭束 ($r=0.45$)、小鉗子 ($r=0.45$)、右下縦束 ($r=0.42$)、右帯状回 ($r=0.42$)、左海馬傍回 ($r=0.4$)、左上縦束 ($r=0.39$) であった。左下縦束は偏相関により年齢の影響を除去しても相関 $r=0.44$ 、 $p=0.008$ と有意な関連がみられた。追加解析として、全般性認知機能が最も低かった症例 (GBM、49歳、男性) と最も高かった症例 (anaplastic astrocytoma 24歳、女性) の左下縦束と大鉗子の神経線維をマニュアル2ROI法によるトラクトグラフィ解析 (Wakana, 2007 #1145) を実施した (図4)。前者は下縦束、大鉗子の神経線維束の描写が乏しく、FA値も低い値を示した。

《処理速度》

Digit symbol testでの処理速度指標とFA値との相関がみられたのは、左下縦束 ($r=0.5$)、小鉗子 ($r=0.5$)、右帯状回 ($r=0.47$)、左前頭後頭束 ($r=0.44$)、左上縦束 ($r=0.44$)、大鉗子 ($r=0.43$)、左鉤状束 ($r=0.42$)、左海馬傍回 ($r=0.38$)、右下縦束 ($r=0.37$)、左前視床放線 ($r=0.35$) であった。左下縦束は偏相関により年齢の影響を除去しても相関 $r=0.43$ 、 $p=0.01$ と有意な関連がみられた。

《実行機能》

TMT 混合時間とFA値との相関 (図5 N=29 3名は実施不可) がみられたのは、左前頭後頭束 ($r=0.51$)、左鉤状束 ($r=0.43$)、左上縦束 ($r=0.42$)、左前視床放線 ($r=0.42$)、左下縦束 ($r=0.42$) であった。左下縦束は偏相関により年齢の影響を除去すると有意差はみられなかった。

《語想起》

脳腫瘍症例32名の内、臨床上明らかな重度失語症状を呈した症例1名以外を除外した上で、語想起の低下を示した症例は14名 (平均年齢55.3歳±14.1歳) で1分間の野菜カテゴリーの語想起数は平均7.5語±1.3語であった。語想起低下群の語想起数と各神経線維束のFA値との間に有意な相関がみられたのは小鉗子 ($p=0.0025$ $r=0.74$) のみであった。症例の腫瘍部位は右前頭葉4例 (背外側前頭前野3例、前頭極1例)、左前頭葉4例 (背外側前頭前野2例、前頭極1例、眼窩野1例)、左側頭葉1例 (後下部)、その他5例 (左被殻病変、右小脳後下部、脳梁部病変、鞍上部) であった。

《頭部外傷後の2症例の経過》

症例 交通外傷後の右急性硬膜下出血（29歳、男性）

初回より全般性認知機能、記憶、ワーキングメモリー、実行機能の能力は年齢相応の成績であったが、処理速度を反映するDigit symbol testでは同年齢群と比較し2SD以下の機能低下があり、注意集中力と持続性の問題を示した。tDCS治療後ではDigit symbol testのスコアが1SD以下の低下となり、課題実施時の注意集中、持続性が向上していた。DTI解析による神経線維束の統合性指標ではtDCS治療前は健常群と比較し1.5SD以下の神経線維束が右海馬傍回、右鉤状束、右FATであったが、治療後はFAの上昇があり、右海馬傍回は健常群内の値となった。（図）。

症例 42歳 交通外傷（42歳、男性）

事故直後に脳画像上の異常所見は認められなかったが、症例は認知機能の低下を自覚していた。DTIによる詳細な白質定量評価とtDCSの治療を開始した。神経心理学的検査では初回3MS95点で遅延再生の低下がみられ、記憶障害が示唆された。tDCS治療3ヶ月後には3MS99点となり、記憶項目の改善がみられた。DTIによる解析ではtDCS治療前は左海馬傍回のみFA値が健常者群と比較し1.5SD以下と低下を示していた。治療後は左海馬傍回FA値が上昇し、健常範囲内となった（図）。

D. 考察

脳疾患症例の内、脳腫瘍症例と頭部外傷症例を対象に神経心理学的指標と神経線維束との関連を検討した。また脳疾患症例の年齢と神経線維束との相関も分析し、相関がみられた神経線維束は偏相関により、年齢の影響を除外した。

全般性認知機能との関連性について、アルツハイマー病やMild cognitive impairment (MCI) 症例では側頭葉内側面、後部帯状回、脳梁膨大部などの様々な領域のFA値の低下が報告されている（Persson, 2006）。脳腫瘍の症例においても側頭葉内側面（両側下縦束、左海馬傍回）、脳梁膨大部（大鉤子）、膝部帯状回（小鉤子）に加え、注意に関連すると言われる帯状回領域のFA値と全般性認知機能との関連がみられた事は先行報告と概ね一致していると思われる。その他、左上縦束、左前頭後頭束は言語機能との関連が報告されている。全般性認知機能検査は言語に依存した検査バッテリーであることから言語処理に困難を呈する症例が課題成績の低下を示したためと考えた。

処理速度と関連がみられた神経線維束は、前頭葉領域（小鉤子、右帯状回、左前視床放線、左前頭後頭束）、側頭葉領域（左右下縦束、左鉤状束、左海馬傍回）、頭頂葉領域（左上縦束）、後頭葉領域（大鉤子）と広い領域に分布していた。処理速度とDTIで測定可能な定量値との関連性については報告がみられない。処理速度の指標としてDigit symbol testを実施したが、この検査では視覚、運動、視空間的な処理を要することから特定の神経回路との関連を示すことが困難であると思われる。fMRI研究ではDigit symbol test実施中に前部帯状回に有意な血流増加が報告されており、前部帯状回の髄鞘化をDTIの定量値である、Radial Diffusivityを用いて探索的に解析していく必要があると思われる。

実行機能と関連がみられた神経線維束は、前頭葉領域（左前視床放線、左前頭後頭束）、側頭葉領域（左鉤状束、左鉤状束）、頭頂葉

領域（左上縦束）、左半球領域に分布していた。TMT 混合とは図版上にランダムに配置された数字と仮名文字を交互に順序良く線で結ぶ課題であり、視空間ワーキングメモリー、言語性ワーキングメモリー、実行機能、視覚運動協調能力などが要求される。数字や仮名文字の処理に関して左後頭葉から側頭葉、頭頂葉、前頭葉にかけて広いネットワークが必要になるとおもわれる。

語想起課題と関連がみられた神経線維束は両側前頭葉領域の小鉗子であった。語想起課題は一定の時間内に産出される単語項目数を指標とした、長期記憶に基づく語彙検索課題であり、前頭葉機能検査として使用されてきている。語想起低下を示した症例の検討では左前頭葉内側面との関連が報告されている。前頭葉内側面は FAT が通過する領域であり、外科手術後に一過性の発話障害、語想起の低下が出現することが報告されている (Kinoshita, 2015)。今回の検討では FA 値と FAT と語想起との有意な相関関係はみられなかった。しかし語想起低下を示した症例 14 例の中で左 FAT を損傷していた症例は 5 例あり、その他は前頭葉背外側野、眼窩野、小脳後下部、右被殻病変、鞍上部、側頭葉後下部と多岐にわたっていた為、統計学的な差異として検出されなかったと考えられる。

頭部外傷後の 2 症例は tDCS 治療を行い、治療前後で認知機能の改善がとともに神経線維束の FA 値の改善を捉えることができた。症例 A. N は交通外傷後に通常臨床上的ルーチン MRI では画像変化を捉えることは出来なかったが、DTI 解析により、左海馬傍回の FA 値の低下を発見し、治療の継次的な変化を追うことが出来た。

今回解析で使用した DTI 解析は臨床場面での使用を想定し、コマンドラインでの自動解析で行えるように変更を行った。解析者の技術や経験が無くとも、20 分程度で解析が可能である為、臨床場面での使用も可能になった。健常者データが少なく、年齢群別のデータベースの作成が今後の課題である。

労災による交通事故、転倒・転落事故等によるびまん性軸索損傷、過労により発症した心筋梗塞や脳卒中による低酸素脳症、炭塵爆発事故による遷延化した一酸化中毒などから引き起こされる高次脳機能障害の原因となる神経線維束の微細なミエリンの脱髄性変化や軸索損傷などの白質変性を定量的にとらえる事ができ、治療方針の決定や効果判定に有用であると思われた。

E. 結論

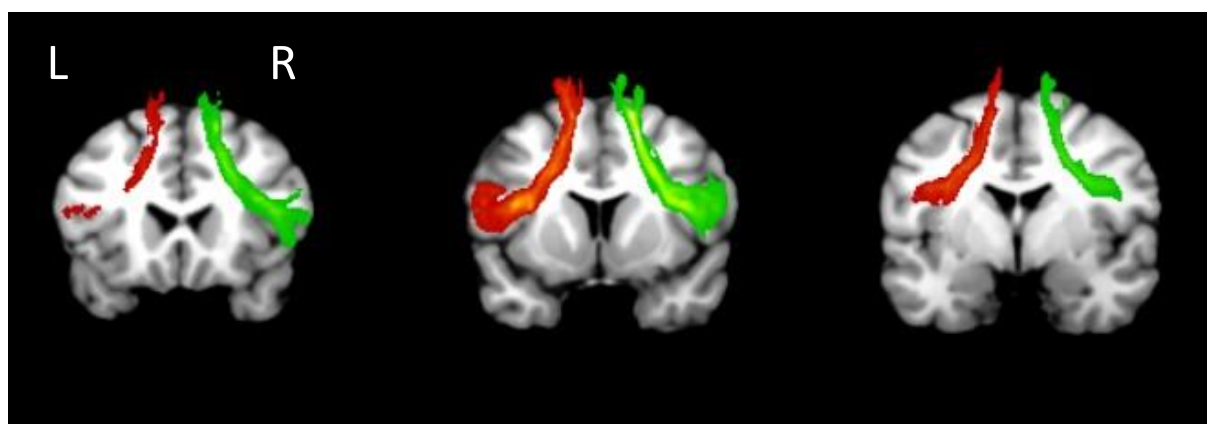
多様な脳疾患により、様々な高次脳機能障害が出現する。神経線維束の白質統合性の低下と機能障害との関連を定量的に測定することが可能となった。今後、高次脳機能障害患者における多様な症状と白質の統合性との関連を大規模なネットワークとして捉え、グラフ理論の手法を用いて解析することでヒト脳機能の統合性に関する理解が深まるものと思われる。

文献

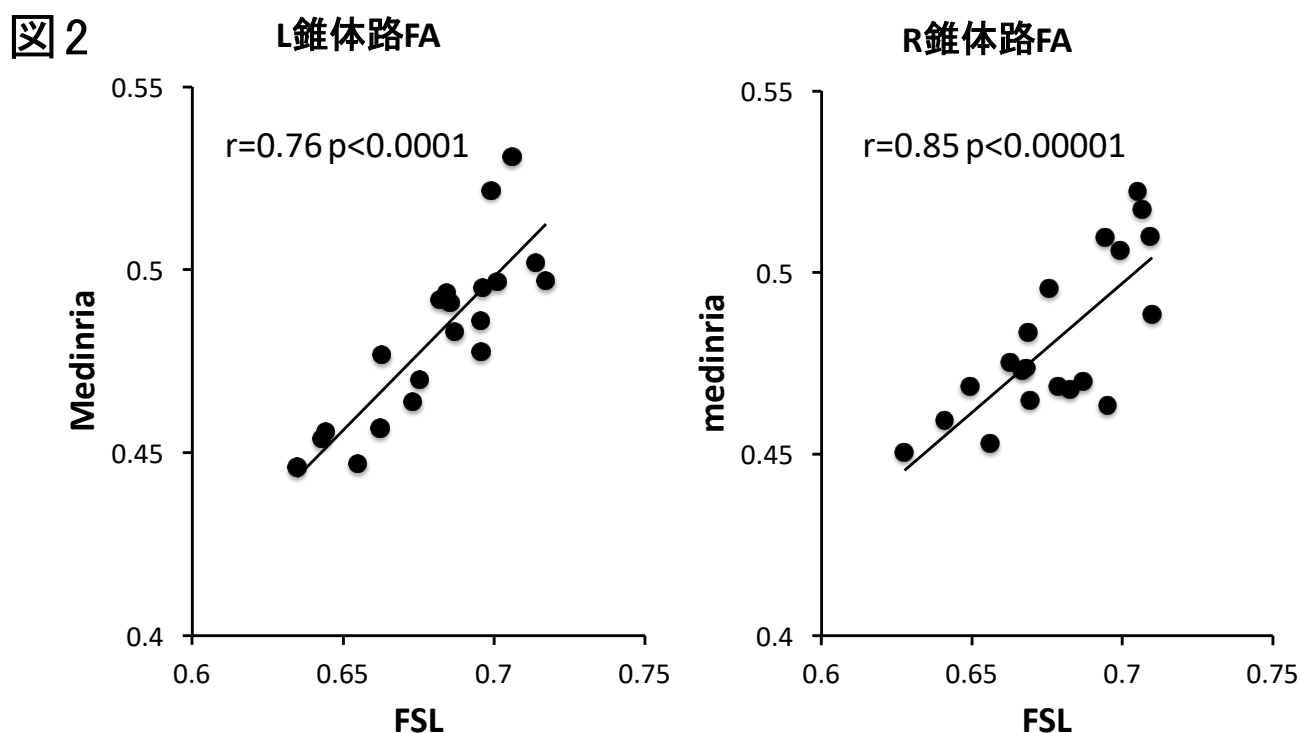
- Catani M. et al., *Cortex* 2012; 48(2), 273-291.
- Smith SM. et al., *Nature protocols* 2007; 2(3), 499-503.
- Wakana S. et al., *Neuroimage* 2007; 36(3), 630-644.

Kinoshita M. et al., Brain Struct Funct 2015;
220(6):3399-412.

図1 健常者20名の平均Frontal Aslant Tract (FAT)
(平均年齢38.6歳 ±16.9歳 男性10名,女性10名)



Automated Anatomical Labeling (AAL)アトラスのSMAとArea44の2点
を通過するFiber tract をprobabilistic tractographyで健常被験者20名
分それぞれ描写し、神経線維の平均的な画像をMNI座標上に標準
化し、独自のFATアトラスとして使用した。



Medinria によるマニュアル2ROI法とFSL_TBSSで標準化後に特定の
アトラスROIを用いたTSA(Tract specific analysis)法の分析間の相関を
健常被験者20名の錐体路FA値で解析。有意な相関が見られた。

図3. 全般的認知機能(3MS)とFA値との相関(脳腫瘍32名)

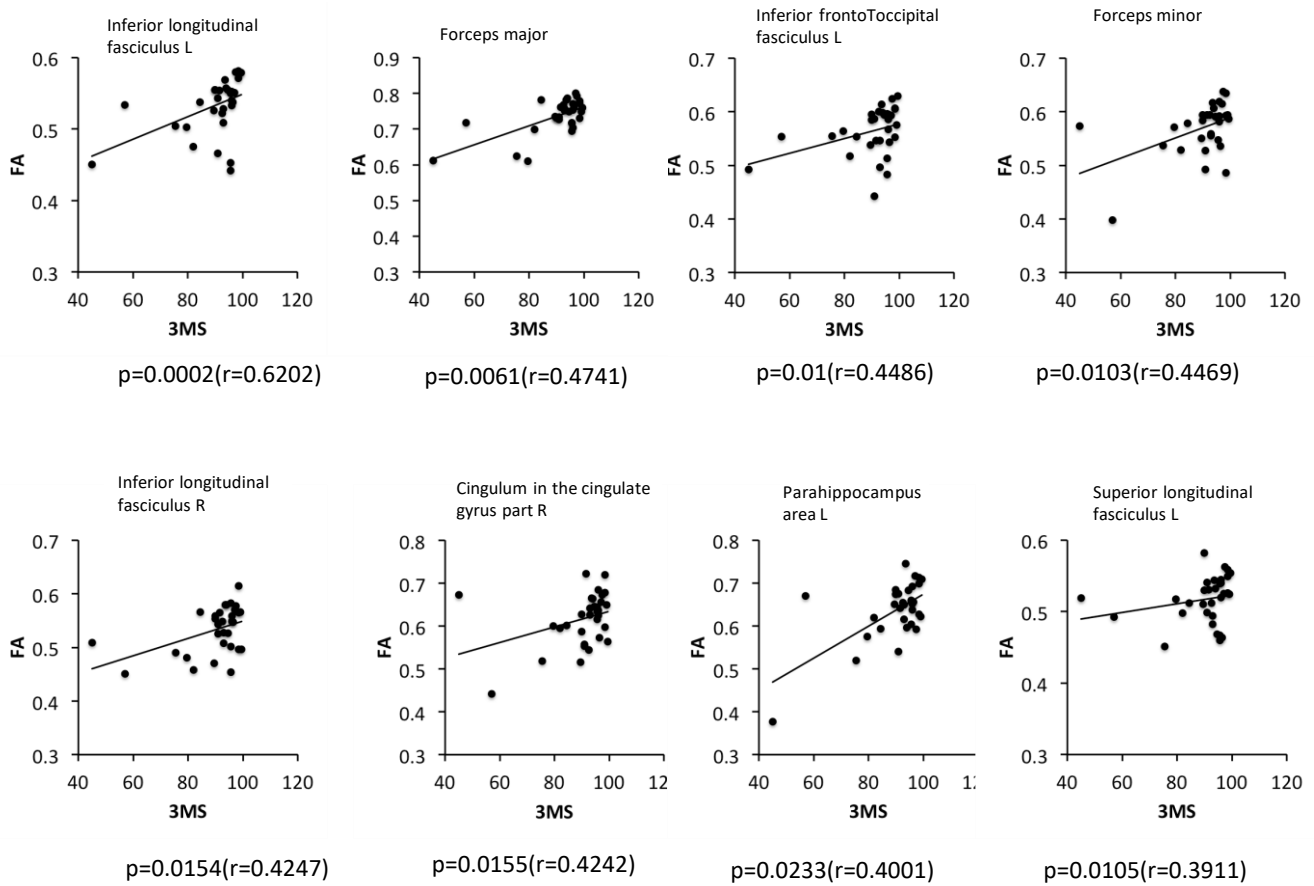
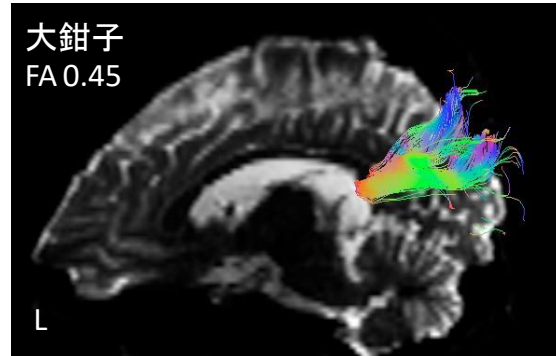
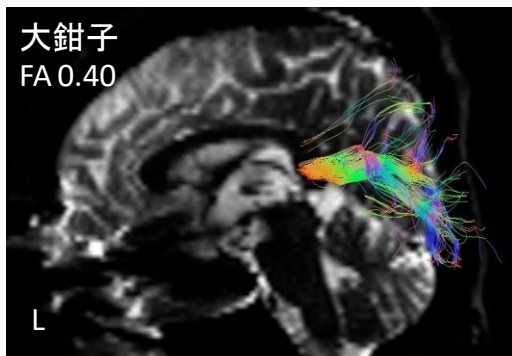
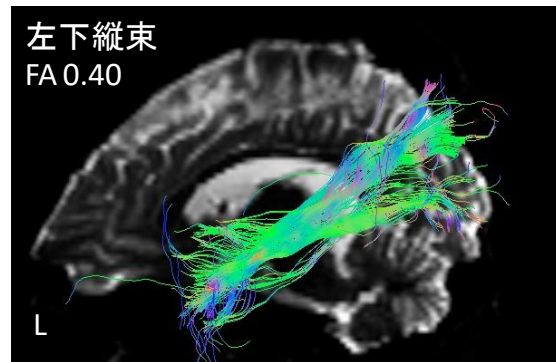
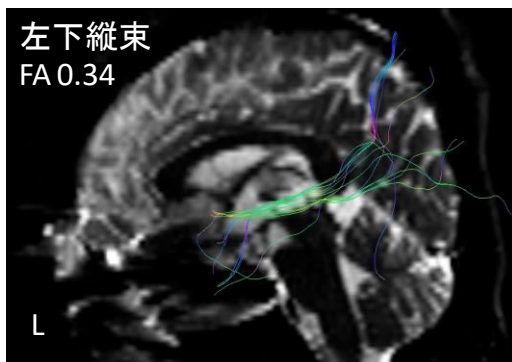


図4. 左下縦束、大鉗子のトラクトグラフィー(脳腫瘍症例)

認知機能障害症例(Glioblastoma 49y male)
 3MS: 45/100+ Disit symbol:8 TMT(mix):不可

認知機能保存症例(anaplas;c astrocytoma 24y female)
 3MS: 99.5/100+ Disit symbol:51 TMT(mix):29sec



全般的認知機能が低下したU.Tの下縦束、大鉗子は神経描写が乏しく、白質統合性を示すFA値も低い値を示した。

図5. Digit symbol testとFA値との相関(脳腫瘍32名)

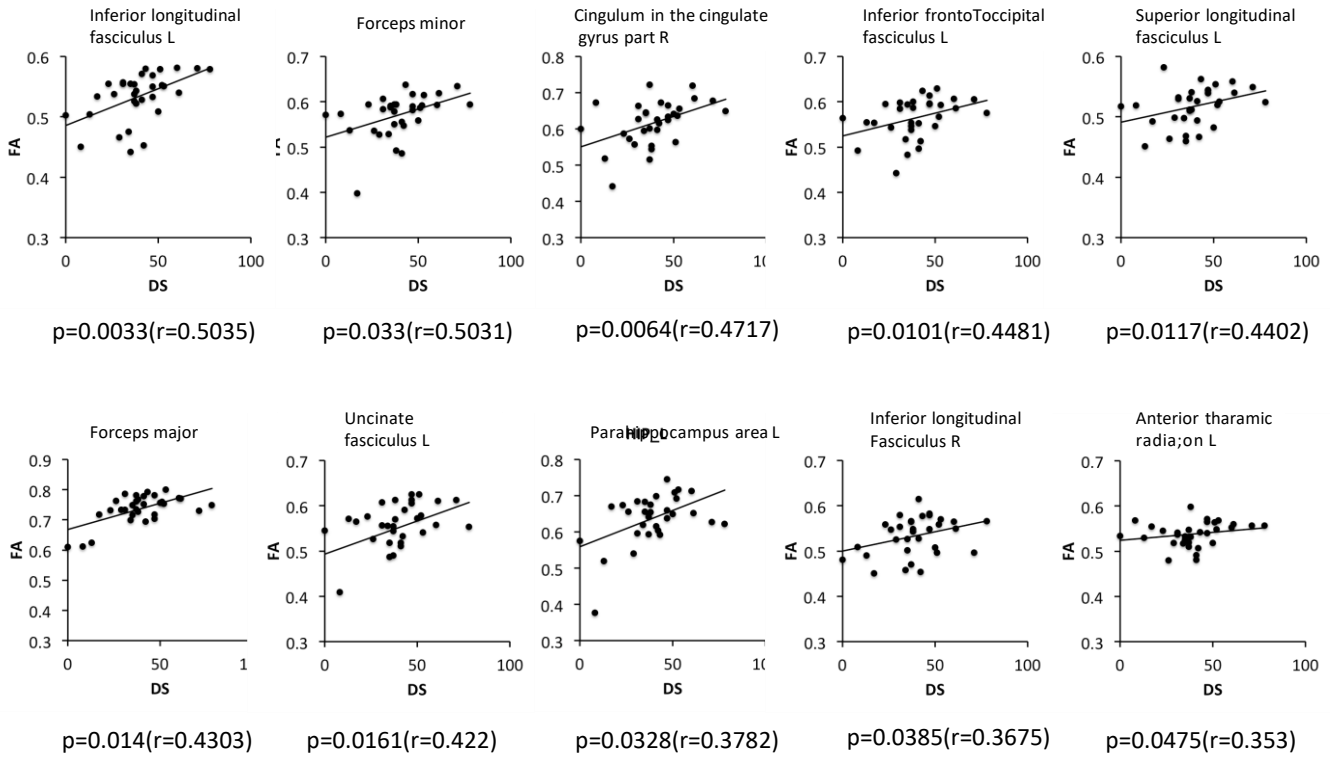


図6. Trail Making Test (混合)とFA値との相関(脳腫瘍29名)

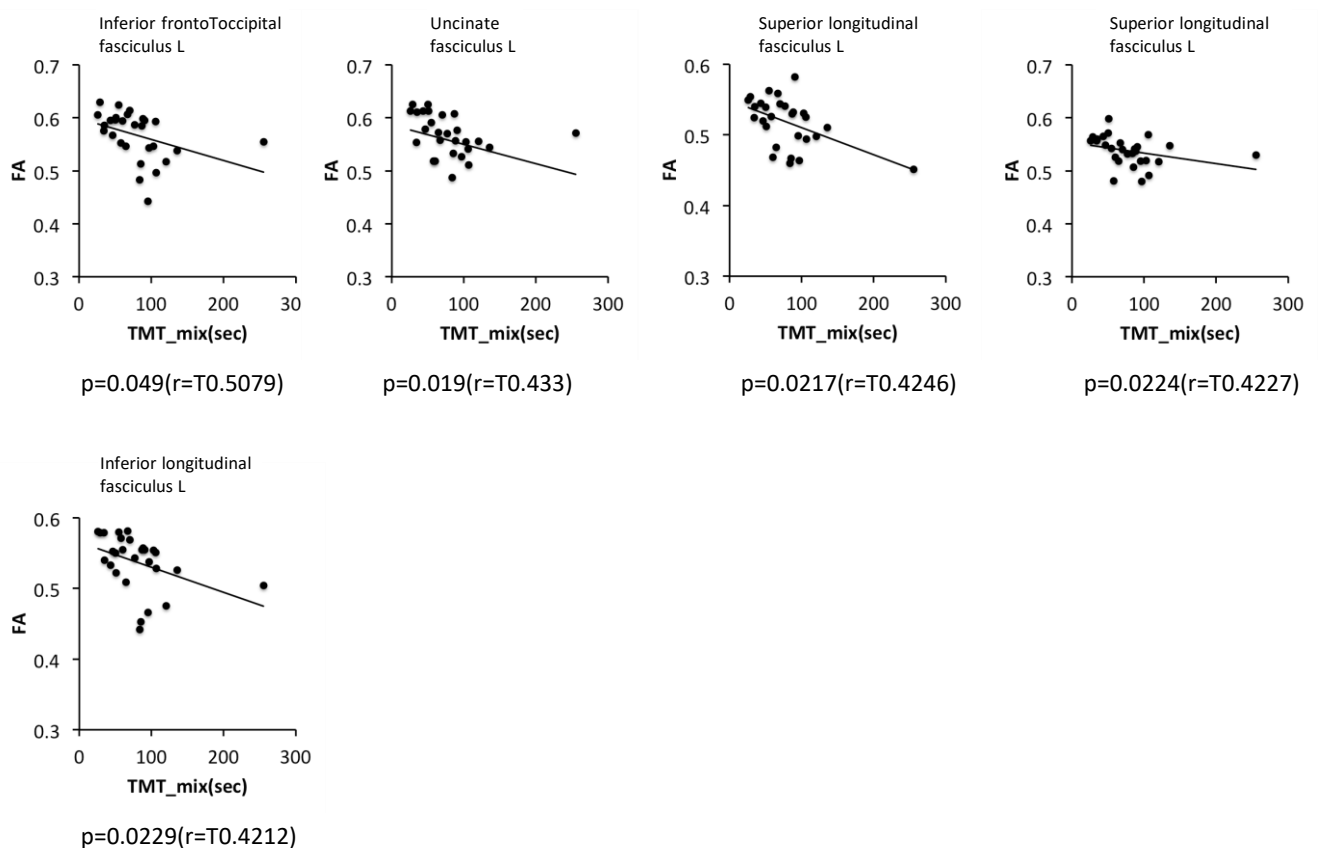
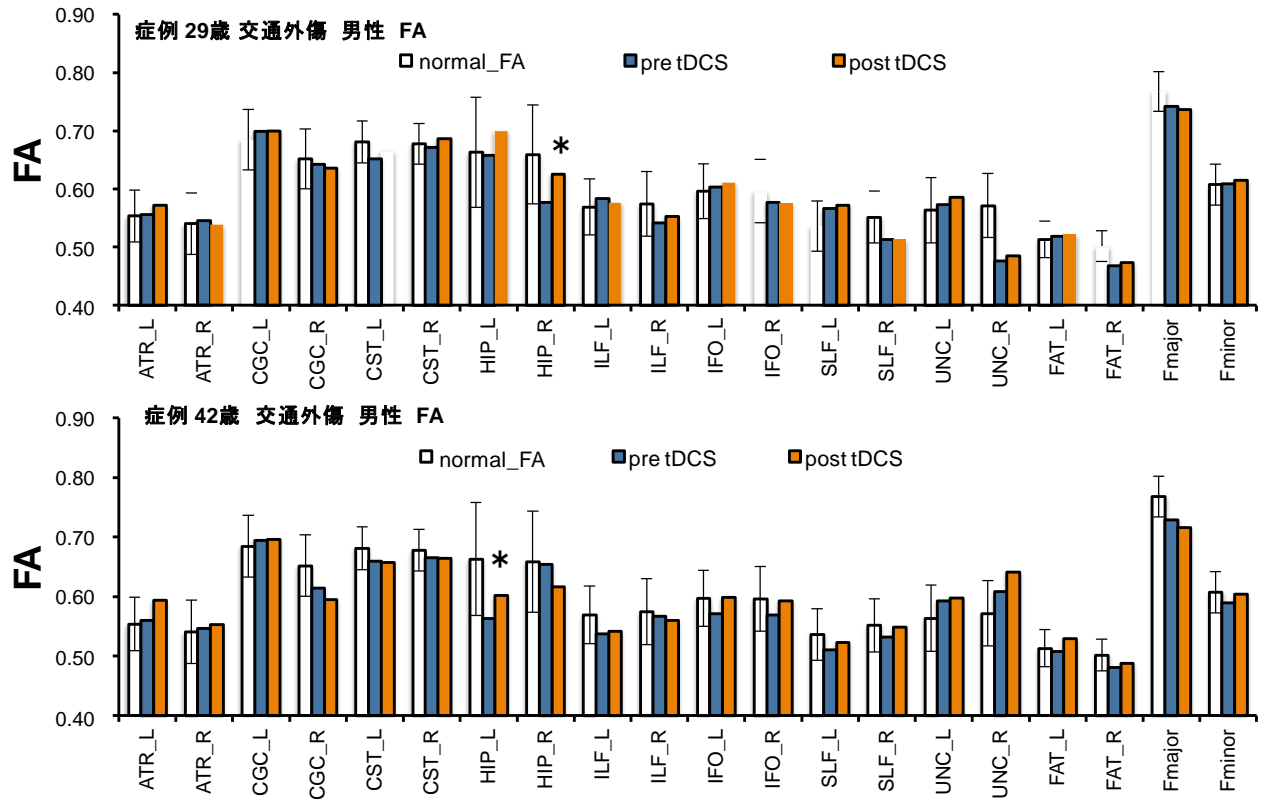


図7 tDCS治療前後のFA値(交通外傷2名)



* 健常者群(20名)T1.5SDからtDCS治療後に健常範囲内に上昇した神経線維束(症例M.KIは右海馬傍回、症例A.NIは左海馬傍回)。エラーバーは1.5SD
 ATR=anterior tharamic radiation CGC=cingulum in the cingulate gyrus part CST=corticospinal tract HIP=parahippocampus area
 ILF=inferior longitudinal fasciculus IFO=inferior fronto-occipital fasciculus SLF=superior longitudinal fasciculus UNC=uncinate
 fasciculus FAT=frontal aslant tract Fmajor=forceps major Fminor=forceps minor

Ⅲ. 研究成果の刊行に関する一覧表

書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書 籍 名	出版社名	出版地	出版年	ページ
石内 勝吾	脳腫瘍の放射線治療法 放射線治療：概論	若林 俊彦	日本臨牀 74巻 増刊号7 脳腫瘍学 -基礎研究と臨床研究の進歩-	日本臨牀社	日本	2016	570-576
石内 勝吾	膠芽腫		希少疾病ライブラリ	株式会社ケアネット	日本	2017	-
石内 勝吾 鈴木 博義	Central neurocytoma. Extraventricular neurocytoma, Cerebellar liponeurocytoma		脳腫瘍臨床病理カラーアトラス 第4版	医学書院	日本		
石内 勝吾	脳腫瘍の臨床	中里 洋一	脳腫瘍病理アトラス	中外医学社	日本		

雑誌

発表者名	論文タイトル名	発表雑誌	巻号	ページ	出版年
Nakata S, Horiguchi K, Ishiuchi S, Yoshimoto Y, Yamada S, Nobusawa S, Ikota H, Hirato J, Yokoo H	A case of high-grade astrocytoma with BRAF and ATRX mutations following a long-standing course over two decades. <i>in press</i>	Neuropathology	-	-	-

IV.研究成果の刊行物・別刷

IX. 脳腫瘍の治療

脳腫瘍の放射線療法 放射線療法：概論

Radiotherapy for the patients with brain tumours

石内勝吾

Key words : 脳腫瘍, 放射線治療, 海馬, 神経新生, neurocognition

はじめに

放射線は固形がんの治療において、重要な治療手段である。純型胚細胞腫のように放射線と化学療法を組み合わせることで治癒しうる疾患から、腫瘍塊に90 Gy相当以上の照射を施行しても、照射野内外での腫瘍の再発がしばしば起こる神経膠芽腫に代表される悪性脳腫瘍においても大切な治療手段であることに変わりない¹⁻³⁾。技術革新の進歩により従来型のライナックによる外照射のみならずガンマナイフやサイバーナイフを組み合わせ高精度放射線治療を施行するなどの工夫、ホウ素中性子補足療法のような浸潤最先端の腫瘍細胞を標的とする新規治療法も臨床応用されている。とりわけ悪性度の高い神経膠芽腫については、様々な試みが施行されているが、長期の質を維持した生存期間を得る症例は依然少数にとどまる。次世代の放射線治療として期待されている粒子線は質量をもつ放射線であり陽子線(¹H)、ヘリウムイオン(⁴He)、中間子、中性子、重イオン(炭素¹²C、ネオン²⁰Ne、アルゴン⁴⁰Ar)に大別され、質量をもたない光子(X線、 γ 線)や電子線と区別される⁴⁾。粒子線の物理特性で最も重要なことは線量

分布が深部でピーク(Bragg peak)をもつことである。これにより良好な空間線量分布を得ることができ、正常組織への被曝を極力抑えることが可能となる。またX線、 γ 線が単位長あたりに付与するエネルギー(linear energy transfer: LET)が低い低LET放射線であるのに対して、粒子線は高LET放射線であり生物学的効果比(relative biological effectiveness: RBE)が高いことも重要な特性である。RBEに関しては陽子線はX線とほぼ同様の1.1であるが炭素線は3であり、同等の生物学的効果を起こすのにX線が物理線量で3 Gy必要なら炭素線は1 Gy、陽子線は2.7 Gy照射すればよいことになる。小児脳腫瘍と手術不能な骨軟部腫瘍は保険収載された。炭素線を用いた治療システムは本邦が世界に先駆けて開発しているがん細胞をその形状に沿って攻撃する高速3Dスキヤニングによる方法や正常組織を回避して選択的に腫瘍を殺傷する回転ガントリーの導入など、今後実臨床の場でのその成果の検証が期待されている。

本稿では悪性脳腫瘍を中心に放射線治療の適応を概説し、また最近注目されている放射線がヒト認知能に及ぼす影響や患者の生活 quality of life(QOL)を高めるための試みについても言

及したい。

1. 神経膠芽腫に対する放射線治療

放射線治療計画に関わる標的体積にはMRI造影領域として肉眼的腫瘍体積(gross tumor volume: GTV)にMRI T2強調画像での高吸収域+2cmまたはMRI FLAIR画像での高吸収域+2cmの領域にメチオニンPETなどを参考に臨床標的体積(clinical target volume: CTV)を設定しこれらに基づいて計画標的体積(planning target volume: PTV)を決定する。1p19qの遺伝子共欠失がないIDH1/2野生型の原発性神経膠芽腫ではCTVにIMRT(intensity-modulated radiation therapy)にて40Gyを、ついでGTVに20Gyのブーストをtemozolomide(TMZ)内服下(75mg/m²)に行うのが標準治療である⁹⁾(図1)。腫瘍塊部を放射線単独でアポトーシスを引き起こすためには90Gy程度の高線量照射が必要とされるが、過去の臨床治験の成績からは高線量放射線では放射線壊死が必発であり患者のQOLを維持できない¹⁾。また生存するに従い遠隔転移率が60Gyの標準治療と比較して増加する^{2,3)}。分子基盤に基づいてMGMT非メチル化症例でTMZに反応を示さない症例には今後免疫療法や免疫チェックポイント阻害剤の応用が取り入れられるであろう。これらの治療には腫瘍ペプチドワクチン療法WT1やさらに百日咳菌体をアジュバントしたWT1-W10、メラノーマの臨床治験で効果を上げている抗PD-1(programmed cell death-1)抗体療法などT細胞の免疫応答にかけられたブレーキを解除することでT細胞の活性化状態を維持しがん細胞を細胞死に追いやる試みである。同じくT細胞の表面に発現する抑制性因子CTLA-4(cytotoxic T-lymphocyte-associated antigen-4)に対する抗体の併用も期待されている。

2. Lower-grade glioma の治療

1p19q共欠失を認めIDH1が変異型のLower-grade gliomaでは、全摘出可能であった症例で

は放射線化学療法は行わずしばらく経過を見てもよいだろう。浸潤部位や残存がある症例では46-54Gy程度の放射線治療をIMRTで併用する。術直後から併用しても再燃・増悪時に併用してもoverall survivalには有意差はないが(OS: 7.2年 vs 7.4年)初回から併用したほうが制御率は向上する(PPF: 5.3年 vs 3.4年)⁶⁾。従来diffuse astrocytomaあるいはanaplastic astrocytomaと診断された症例の遺伝子異常に着目した分類が最近報告された⁷⁾。grade II, IIIのグリオーマを分子表現型によりType I, II, IIIa, IIIbに分けるものである。Type IはIDH変異があり同時に1p19q共欠失がありTERT変異を併発(テロメラーゼ活性が高くテロメア伸長機能が亢進)する従来のgrade II/III oligodendrogliomaに相当する。Type IIはIDH変異があるが1p19q共欠失なくATRX変異(クロマチン修復に関連)を併発するタイプで従来の星細胞腫に相当する腫瘍群であり、Type IIIはIDHの変異はなく、組織悪性度がgrade II相当のType IIIaと、組織悪性度grade III相当のType IIIbで従来のanaplastic astrocytomaに相当する。今後はこれら分子マーカーも参考にした放射線化学療法の差別化が行われることになろう。

3. 毛様性星細胞腫, 上衣腫, 胚細胞腫, 髄芽腫

1) 毛様性星細胞腫(pilocytic astrocytoma: PA)

小脳に好発する良性(grade I)の星細胞腫では、全摘出できれば放射線化学療法の必要はない。視床下部や視交叉に発生したものでは進行すると大脳基底核に浸潤する。延髄下部や橋など脳幹実質に浸潤している症例では全摘出は困難でIMRT照射45-56Gyを施行する。カルボプラチン、ビンクリスチンを用いた化学療法は約半数で有効である。小脳PAではtandem duplicationによるBRAF遺伝子との癒合が、テント上のPAではV600Eの点変異の症例が認められるが、悪性黒色腫で保険適応化されたBRAF阻害剤の有効性は今後の検討課題である⁸⁾。

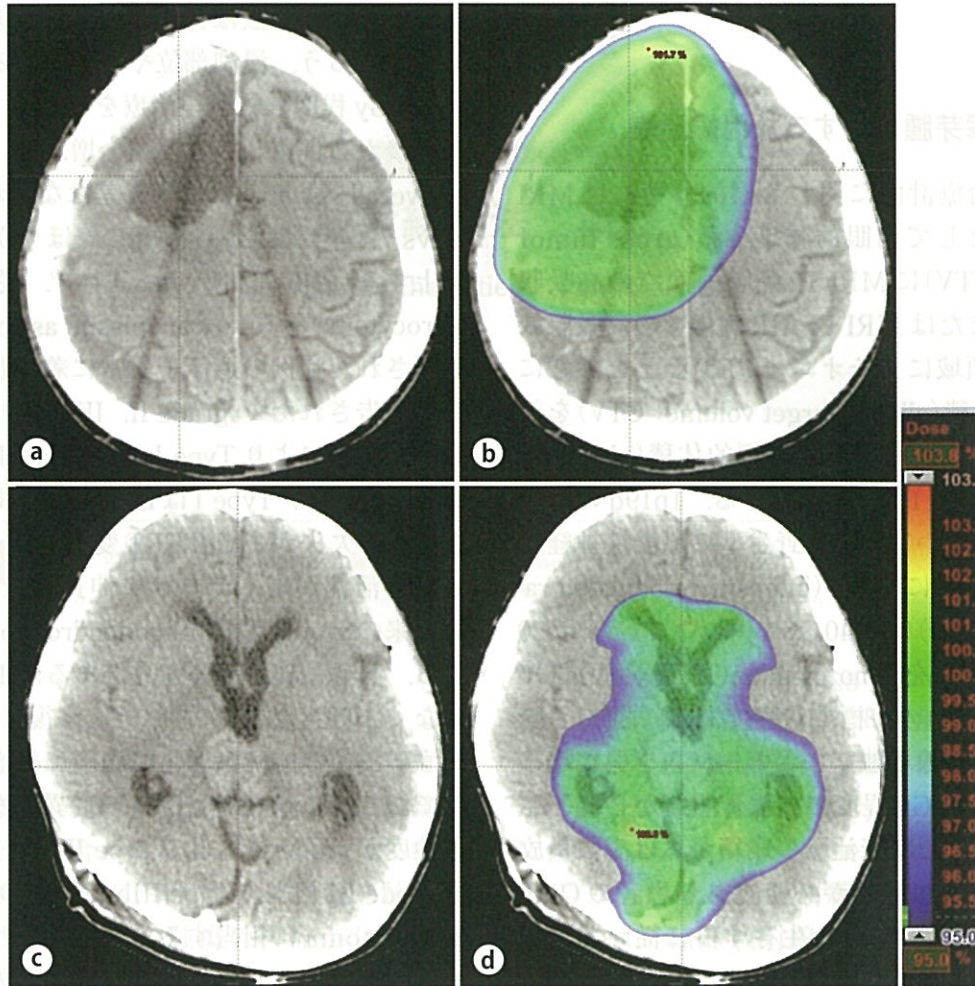


図 1 IMRT を用いた悪性脳腫瘍の線量計画

- 右側前頭葉神経膠芽腫術後の CT 画像。
 - FLAIR 画像の摘出腔から 2 cm のマージンをとった planning target volume (PTV) に 40 Gy (2 Gy×20 fractions), その後摘出腔に 20 Gy (2 Gy×10 fractions) のブースト照射を施行。
 - 松果体胚細胞腫の術前の CT 画像。
 - PTV は脳室を含む領域に 27 Gy (1.8 Gy×15 fractions), その後腫瘍塊に 18 Gy (1.8 Gy×10 fractions) ブースト照射を施行。
- 手術は生検を施行し線量計画は術前画像を用いている。

2) 上衣腫

原発性脳腫瘍に占める (2001-2004 年全国脳腫瘍統計第 13 版) 上衣腫, 退形成性上衣腫の頻度および 5 年生存率はそれぞれ 0.5%, 0.4% および 88.5%, 58.1% である。小児では後頭蓋窩腫瘍が多く, 脊髄, 大脳にも発生する。Radial glial cells を発生起源とする説がある。その発育形式は浸潤性格を有するが神経膠芽腫ほどではなく, 可塑性を有する発育態度はしばしばルシカ孔を超えて外側へも進展し, 外科的摘出を困難にする。テント上の症例でマージンをと

り全摘出を達成できた症例の予後は良好である。grade III, あるいは脳幹浸潤などで全摘出できない場合は白金錯体であるカルボプラチンやシスプラチンにエトポシドを併用した化学療法に IMRT による 46-54 Gy 程度の放射線化学療法を併用する。髄液播種が認められた場合は全中枢神経系照射を施行する。本邦では上衣腫の頻度が低いために遺伝子診断は確立されておらず, また予後を規定するバイオマーカーも実用化されていない。grade II で残存が疑われる症例と退形成性上衣腫に対しては 50 Gy 以上の放射線

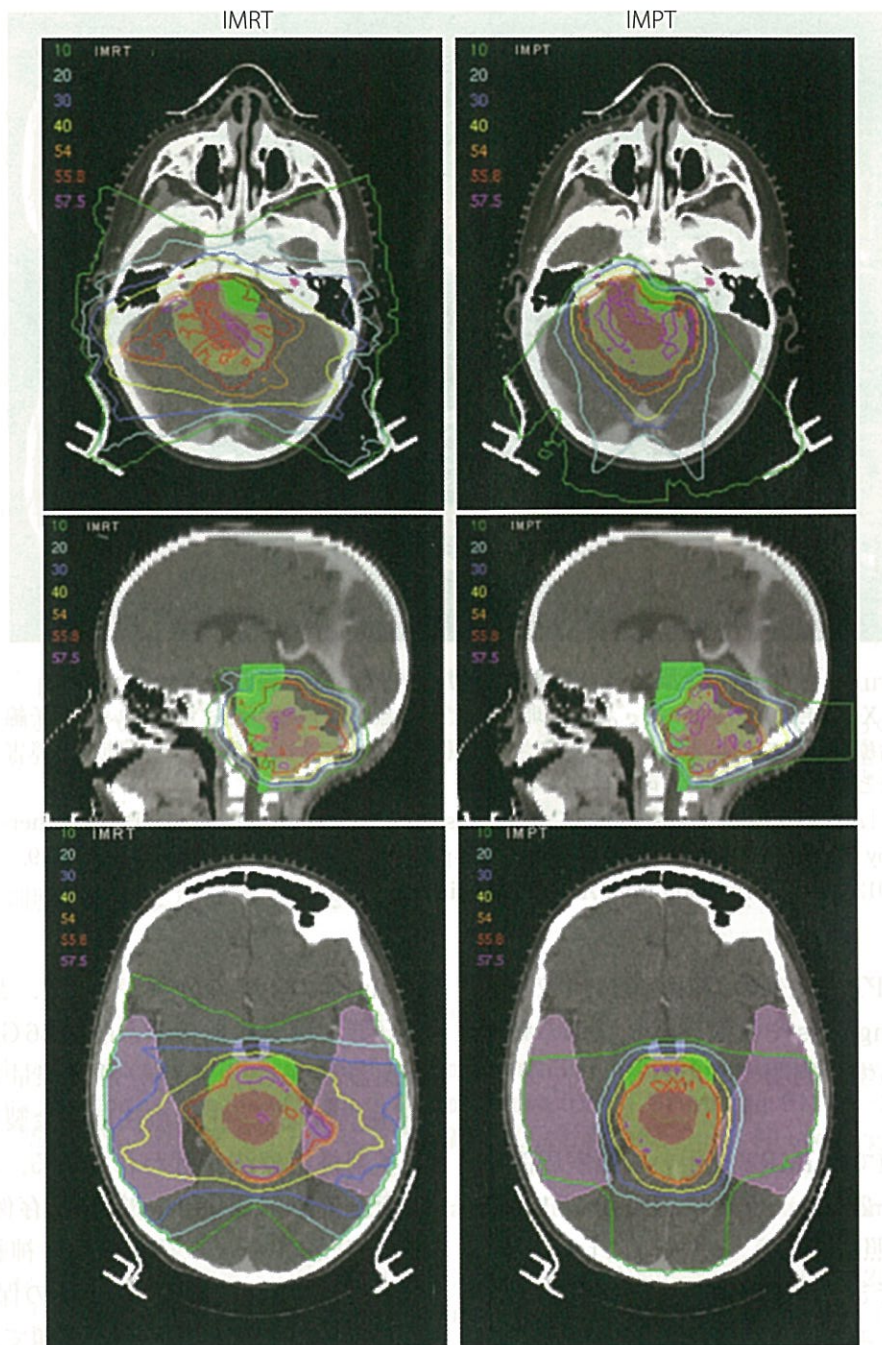


図2 IMRTとIMPT

後頭蓋窩ependymoma症例のaxial, sagittal dosimetryを上段と中段に、テント上ependymomaの線量計画を下段axial viewに示す。IMPTはIMRTに比較して蝸牛神経、脳幹、脳下垂体および側頭葉の被曝を防ぐことができる。

[Reprinted from International Journal of Radiation Oncology, Biology, Physics, 71, MacDonald SM, et al. Proton radiotherapy for childhood ependymoma: initial clinical outcomes and dose comparisons, p979-986, Copyright(2008), with permission from Elsevier.]

治療を併用する。小児のependymomaにおいては放射線治療は必須であるためプロトンビームを用いたIMPT(intensity modulated proton beam radiation therapy)と従来型のIMRTとの

比較検証が行われている(図2)。IMPTの応用により蝸牛神経、脳下垂体、小脳、側頭葉などの正常脳組織のスペアリングがより改善され治療線量計画に優れ正常組織の保護がより細密に

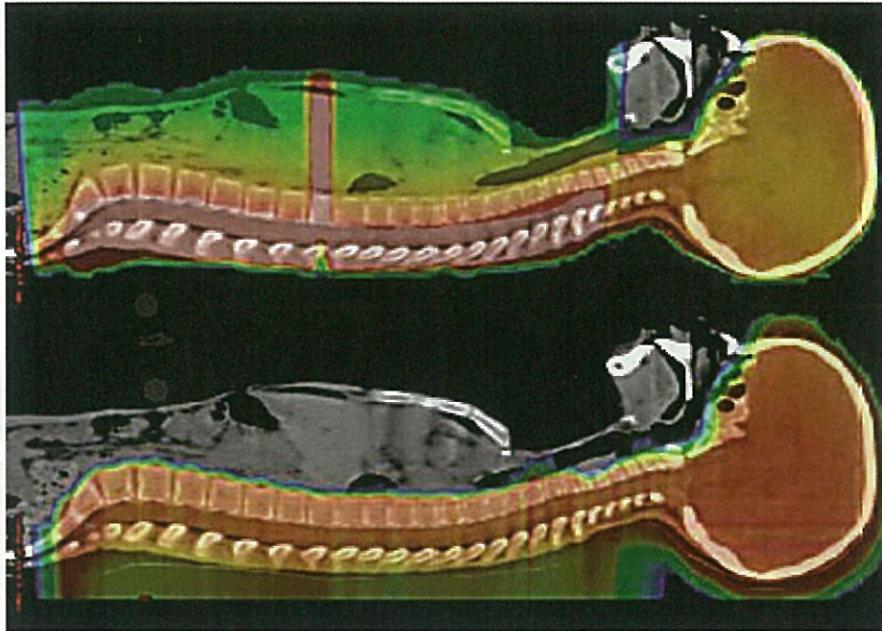


図3 全脳全脊髄照射におけるX線と陽子線の線量分布

X線(上段)では心・肺・胃腸・卵巣などへの無駄な被曝が避けられないが陽子線治療(下段)では必要部位への限定された照射が可能で2次性発がんや心肺機能障害などのリスクが下がる可能性がある。

[Adapted from Translational Cancer Research, 1, Dinh JQ, et al, Particle therapy for central nervous system tumors in pediatric and adult patients, p137-149, 2012, with permission from AME Publishing Company.]

なる⁹⁾。今後IMPTが従来のX線治療に比較してどの程度 hearing loss や放射線誘発腫瘍の頻度の低下をもたらすか判明するだろう。

3) 胚細胞腫

純型胚細胞腫ではIMRTを用いて脳室周囲を含む領域に24-27 Gy, さらに腫瘍塊に12-18 Gyのブースト照射を行う。生検時にteratomaの成分が確認できれば全摘出を行う(図1)。カルボプラチンとエトポシドによる化学療法は放射線治療をはさむ形で放射線治療前と治療後に行う。さらに放射線治療終了後に3クール施行し地固めをする。播種がある場合のみ脊髄照射を併用する。純型胚細胞腫は化学放射線療法で治癒しうる疾患であるが成人後の神経内分泌機能障害や2次性発がんのリスクを下げる線量計画や化学療法の工夫が必要となる(図2)。

4) 髄芽腫

Molecular subgroupとして予後の良いWNT medulloblastoma, 最も予後の悪いGroup 3, intermediate-prognosisのSonic hedgehog (SHH),

Group 4の4型の分類がある¹⁰⁾。悪性群および良好群では全中枢神経系照射36 Gy, 23.6 Gy, 後頭蓋窩36 Gy, 36 Gy, 腫瘍線量55.8 Gy, 55.8 Gy施行する¹¹⁾。化学療法は白金製剤を中心とする多剤併用療法が行われている。5年生存率は手術全摘出例で93%, 術後残存例で56%, 播種例で38%である。脳神経, 神経内分泌器官への放射線量の低減, 認知能の保護や改善, 2次性腫瘍のリスクの回避が課題である。X線に代わり陽子線治療を応用することで全脳全脊髄照射による心, 肺, 胃腸, 卵巣などの被曝を避けられるのは大きなアドバンテージといえるだろう¹²⁾(図3)。

4. 放射線治療の認知能に対する影響

中枢神経系に対して全脳照射治療後半年を経た患者の50-90%に認知能障害が認められる¹³⁾。記憶障害(spatial memory, and verbal memory), 注意障害および新規課題に関する解決能

力の低下が顕著となる。放射線は多種類の脳の構成細胞に影響を与える。放射線による脳機能障害は血管内皮障害に起因する vasculopathy と微小環境における栄養不全、星細胞に由来する astrocytosis と栄養障害、希突起細胞の障害から起こる白質障害と神経伝達障害、神経細胞に対しては maturation deficiency とシナプス機能の変質、microglia による neuroinflammation などが相互に関連しながら引き起こされる現象である。とりわけ海馬歯状回部の神経新生能低下は患者の記憶と学習能力を大きく阻害する。両側海馬の40%の領域に7.3 Gy以上の線量があたると認知障害が引き起こされるとの報告がある¹⁴⁾。今後は放射線治療患者の認知能障害を防御する第一歩としてfMRIを用いて海馬神経新生能を反映する pattern separation task を応用し放射線治療中の患者の海馬の機能を非侵襲的にモニタリングする必要がある¹⁵⁾。

おわりに

細胞起源、細胞形態および組織構築に着眼す

る従来の病理診断から、近年の分子生物学的解析の成果を取り入れた新しいWHO分類では予後診断の精度が高まった分類が作成された。さらに最新の研究からは腫瘍内の遺伝子変化の多様性や悪性転換の様相の一部が明らかにされつつある。その一方でIMRTによる放射線治療に temozolomide や bevacizumab を用いた現行の治療法では予後の大きな改善が認められないばかりか、一時的な寛解後に起こる急速な浸潤性増殖の悪化という従来とは異なる再燃像が認められるようになってきた。放射線治療を基盤とした悪性グリオーマに対する根本治療を創出して患者QOLを高めるために今後行われなければならない課題は以下の3つに集約できよう。①浸潤性増殖の分子機構の解明、②放射線抵抗性の機序の解明、③患者 neurocognition の評価と治療の3点である。これらの課題を踏まえて精力的に臨床研究と基礎研究を推進することが肝要である。

文献

- 1) Fitzek MM, et al: Accelerated fractionated proton/photon irradiation to 90 cobalt gray equivalent for glioblastoma multiforme: results of a phase II prospective trial. *J Neurosurg* 91: 251-269, 1999.
- 2) 井内俊彦, 幡野和男: 悪性グリオーマに対する高精度放射線治療. *Jpn J Neurosurg* 21: 207-215, 2012.
- 3) Tanaka M, et al: High-dose conformal radiotherapy for supratentorial malignant glioma: a historical comparison. *Lancet Oncol* 12: 953-960, 2005.
- 4) 石内勝吾: 粒子線治療の脳腫瘍への臨床応用と将来展望. *Jpn J Neurosurg* 22: 117-124, 2013.
- 5) Fuller CD, et al: Standard fractionation intensity modulated radiation therapy(IMRT) of primary and recurrent glioblastoma multiforme. *Radiat Oncol* 2: 26-32, 2007.
- 6) van den Bent MJ, et al: Long-term efficacy of early versus delayed radiotherapy for low grade astrocytoma and oligodendroglioma in adults: the EORTC 22845 randomised trial. *Lancet* 366: 985-990, 2005.
- 7) Suzuki H, et al: Mutational landscape and clonal architecture in grade II and III gliomas. *Nat Genet* 47: 458-468, 2015.
- 8) Jones DT, et al: Tandem duplication producing a novel oncogenic BRAF fusion gene defines the majority of pilocytic astrocytomas. *Cancer Res* 68: 8673-8677, 2008.
- 9) MacDonald SM, et al: Proton radiotherapy for childhood ependymoma: Initial clinical outcomes and dose comparisons. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 71: 979-986, 2008.
- 10) Northcott PA, et al: Molecular subgroups of medulloblastoma. *Expert Rev Neurother* 12: 871-884, 2012.
- 11) Rutkowski S, et al: Treatment of early childhood medulloblastoma by postoperative chemotherapy alone. *N Eng J Med* 352: 978-986, 2005.

- 12) Dinh JQ, et al: Particle therapy for central nervous system tumors in pediatric and adult patients. *Transl Cancer Res* 1: 137-149, 2012.
- 13) Greene-Schloesser D, et al: Radiation-induced brain injury: a review. *Front Oncol* 2: 1-14, 2012.
- 14) Gondi V, et al: Hippocampal dosimetry predicts neurocognitive function impairment after fractionated stereotactic radiotherapy for benign or low-grade adult brain tumors. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 83: 487-493, 2012.
- 15) Shiroma A, et al: Cerebellar contribution to pattern separation of human hippocampal memory circuits. *Cerebellum*, 2015 Oct 6: 1-18.



膠芽腫〔GBM: glioblastoma multiforme〕

公開日：2017/03/21

企画・制作 ケアネット

[■インデックスページへ戻る](#)

このコンテンツでは、希少疾病に関する基本情報・診断・治療などを解説していきます。
今後も随時、追加・更新していきますので、ぜひご利用ください。

希少疾病
ライブラリ

講師紹介

石内 勝吾（いしうちしょうご）氏
琉球大学医学部 脳神経外科学 教授

- 1 疾患概要
- 2 診断
- 3 治療
- 4 今後の展望
- 5 主たる診療科
- 6 参考になるサイト（公的助成情報、患者会情報など）

1 疾患概要

■ 概念・定義

膠芽腫（glioblastoma multiforme: GBM）は、悪性脳腫瘍の中で最も頻度が高く、かつ生物学的にもっとも未分化な予後不良の悪性新生物（brain cancer）である。高齢者の大脳半球、ことに前頭葉と側頭葉に好発し、浸潤性増殖を特徴とする。

病理学的に腫瘍細胞は異型性が強く、未分化細胞、類円形細胞、紡錘形細胞、多角細胞および多核巨細胞より構成され、壊死を取り囲む偽柵状配列を特徴とする（pseudopalisading necrosis）。

WHO grade IVに分類され5年生存率は10%、平均余命は15カ月。分子生物学的特徴から2型に分類される。イソクエン酸脱水素酵素（IDH1: isocitrate dehydrogenase 1）遺伝子のコドン132のアルギニン（R）がヒスチジン（H）に点変異を有することにより、分化度の高いWHO grade II、IIIの星細胞腫から悪性転換（malignant transformation）した続発性膠芽腫（secondary GBM）とIDH1の変異を伴わない原発性膠芽腫（primary GBM）とに区別される。両者ともGBMとしての予後に差異はなく、半年から1年程度である（表）。

前者では、TP53 mutation（>65%）、ATRX mutation（>65%）に続いてLOH 19q（50%）、LOH 10q（>60%）、TERT mutation（30%）が引き起こされる。一方、後者の遺伝子異常とその頻度はTERT mutation（70%）、EGFR amplification（35%）、TP53 mutation（30%）、PTEN mutation（25%）、LOH 10p（50%）、LOH 10q（70%）である。

表 グリオーマ組織型と予後および遺伝子表現型

WHO grade	組織型	予後	遺伝子変化
Grade I	毛様細胞性星細胞腫	良 性	<i>BRAF</i> 遺伝子の融合 (<i>KIAA1549</i>) または点変異 (<i>V600E</i>) を認める <i>IDH1</i> は野生型
Grade II	びまん性星細胞腫	中 間	<i>IDH1/IDH2</i> 点変異 <i>ATRX</i> の変異、 <i>TP53</i> 点変異あり 脳幹、視床、脊髄に発症するものは Diffuse midline gliomaと定義され、 <i>H3 K27M</i> の変異を伴い悪性度は WHO grade IV
	希突起膠細胞腫	中 間	<i>1p19q</i> co-deletionかつ <i>IDH1</i> の変異型 は予後良好
Grade III	退形成性星細胞腫	悪 性	<i>IDH</i> 変異型で多くは <i>ATRX</i> 、 <i>TP53</i> 変異型を伴う
	退形成性希突起膠細胞腫	悪 性	<i>IDH</i> 変異型で <i>1p19q</i> co-deletionを伴 い多くはG-CIMP+でMGMT プロモーターはメチル化されている 症例の予後良好
Grade IV	神経膠芽腫	きわめて 悪性	<i>IDH</i> 野生型でG-CIMP-は予後不良

□ 画像を拡大する

- Grade IIは、小児に多い分化型腫瘍で予後が良い（10年生存は80%以上）。
- Grade II、IIIは、1年から数年でGrade IVに悪性転換する。
これとは別に、初発から神経膠芽腫として発症するタイプがある。
いずれの神経膠芽腫も予後はきわめて悪い（5年生存率10%）。
- *BRAF*: B-Raf proto-oncogene、serine/threonine kinaseでRAS/RAF/MEK/MAPKシグナル伝達の主要な役割を担う。
- *TP53*: p53をコードする遺伝子
- G-CIMP: CpG island methylation phenotype DNA修復酵素MGMTのプロモーター領域のメチル化を示す表現型。
この表現型ではMGMTの蛋白発現は抑制されるため、予後良好のマーカーとなる。
GBM患者でCIMP+は若年者、腫瘍の遺伝子表現型がproneural typeに多く全生存期間の延長に寄与する。
- *ATRX*: alpha-thalassemia/mental retardation syndrome x-linked geneで、この遺伝子の変異は、テロメアの機能異常からテロメアの伸長（alternative lengthening of telomeres: ATL）を来す。

なお、遺伝子表現型とグリオーマ予後との関連は、次の文献を参考にした。

Siegel T. J Clin Neurosci. 2015;22:437-444.

欧州で施行された臨床試験においてテモゾロミド（TMZ[商品名:テモダール]）併用群（2年生存率26.5%、平均全生存期間14.6カ月）が、放射線治療（RT）単独治療群（2年生存率10.4%、平均全生存期間12.1カ月）に比して、有意差をもって生存期間の延長が認められ、TMZ + RTがGBMの標準治療とされている。

GBMは、このように予後不良で“がんの中のがん”といい得るため、創薬の対象となり、さまざまな臨床試験や新規治療薬が開発されている。GBMの根本治療の創出が今後の大きな課題である。

■ 疫学

国内における原発性脳腫瘍患者（年間2万人、人口10万人につき14人）のうち、GBMは2,220人で、悪性脳腫瘍の中で最も多く、11.1%を占める。

大脳半球白質に好発し（前頭葉35%、側頭葉25%、頭頂葉18%、後頭葉6%）、時に脳梁を介して対側半球へ浸潤する。平均発症年齢は60歳、45～75歳の中高年に多く、原発性膠芽腫が9割を占め、その平均発症年齢は62歳、続発性膠芽腫は平均45歳と若い。男性が女性の1.4倍多く、小児ではまれであり、成人と異なり脳幹部、視床、基底核部に好発する。

■ 病因

発生起源細胞の同定および腫瘍形成の分子機構は解明されていない。

BaileyとCushing（1926年）は、組織発生を念頭に起源細胞に基づいた組織分類を提唱し、脳腫瘍を16型に分類し、glioblastomaの起源細胞をbipolar spongioblast（双極性突起を持つ紡錘型細胞）とした。

WHO脳腫瘍分類に貢献した群馬大学の石田陽一は、膠芽腫を星細胞腫とともに星形グリアの腫瘍と定義した¹⁾。石田の正常な星形グリアとグリオーマの電顕像での詳細な観察によると、血管壁まで伸び足板を壁におく太い細胞突起には、8～9nmの中間径フィラメントと少量の20～25nmの微小管とグリコーゲン顆粒を有する星形グリアとしての形質が、分化型の星細胞種でよく保たれており、膠芽腫でも保持されていることから、グリオーマを腫瘍性グリアと考察した。さらに星芽細胞腫（astroblastoma）は、腫瘍細胞が血管を取り囲んで放射冠状に配列されていることから、血管足が強調された腫瘍型とした。このように多くの病理学者が、星細胞腫をアストロサイトの脱分化した腫瘍と定義している。

発生学的には、げっ歯類の観察から、成体脳においても脳室周囲の脳室下帯（SVZ）や海馬歯状回（DG）において、neural stem cell/glial progenitorの活発な嗅球や顆粒細胞層へのmigrationが確認されていた。James E Goldmanらは、グリオーマ細胞の特性である高い遊走能は、neural stem cell/glial progenitorの特性を反映していると推察している²⁾。Fred H Gageらは、プロモデオキシウリジンをヒトに投与することで、高齢者においてもSVZとDGではDNA合成するNeuN陽性細胞を同定し、neural stem cell/neural progenitorの存在を確認したと報告した³⁾。Sanai Nらは、ヒトSVZ生検材料を用いた培養系の研究から、脳室壁ependyma直下のastrocyteが、neural progenitorであると判定した⁴⁾。状況証拠的には、現時点で直接証明はなされていないがneural stem cell/glial progenitorが、グリオーマ細胞の起源細胞の有力な候補であると思われる。さらに原発性GBMと続発性GBMでは、前述したように遺伝子異常のパターンが異なるため、起源細胞が異なる可能性も示唆される^{5、6)}。

以上のほか、歴史的にグリオーマの病因としては、グリア（アストロサイト）の脱分化とする考えと、前駆細胞のmaturation arrestとする説がある。

近年、携帯電話の普及に伴い、公衆衛生学的観点からは、ラジオ波電磁界の発がん性の懸念が提起されている。山口によると⁷⁾、携帯電話と神経膠腫に関する疫学調査では、デンマークの前向きコホート調査が実施されたが、10年以上の長期契約者でもリスクの上昇を認めなかった。スウェーデンにおける症例対照研究では、10年を超えて携帯電話端末を使用した群では、非使用群と比較して2.6倍のリスクが指摘された。日本も参加した国際共同研究「INTERPHONE研究」では、累積使用時間が1,640時間以上でオッズ比1.4倍と、有意な上昇を示した。

以上から、携帯電話は人にがんを生じさせる可能性があるかと判定されている。

■ 症状

腫瘍塊周囲に脳浮腫を伴いながら急速に浸潤性に増殖するため、早ければ週単位で、少なくとも月単位で症状が進行する。初発症状としては頭痛（31%）が最も多く、次いで痙攣（18%）、性格変化（16%）や運動麻痺（13%）などの巣症状が多い。

症状は、腫瘍の発生した場所の脳機能の障害を反映するのが基本である。また、病変が進行し、広範に浸潤すると症状は顕著となる。たとえば両側前頭葉に浸潤する症例では、性格変化、意欲低下、尿失禁、下肢の麻痺が出現する。一側では、初期には徴候は目立たず、徐々に腫瘍塊を形成し、脳浮腫が顕著になると具現化する。側頭葉腫瘍では、優位半球の病変では失名詞などの失語症状や4分の1半盲などが出現しやすい。また、視野症状に、患者自身が気付いていないことが多い。

前述したように、腫瘍局在に応じた神経学的局在症状の出現が基本であるが、たとえば前頭葉に局在する腫瘍でも神経回路網（frontal-parietal networks）を介して、頭頂葉の症候が認められることがあるので注意しなければならない。

具体例として、右側前頭葉病変ではいつも通りに職場へ通勤できなくなるなどの空間認知能の低下や、左側前頭葉腫瘍では失書・失算や左右失認など優位半球頭頂葉症状としてのゲルストマン症状が認められるなどの例が挙げられる。このような症例では、画像検査で大腦白質を介する脳浮腫が顕著である場合が多い。

小児や若年者では、ひとたび頭痛や吐気などの頭蓋内圧亢進症状が出現すると、急速に脳ヘルニアへと進行し、致命的な事態になるので、時期を逸せず迅速に対応することが重要となる。時として脳腫瘍患者は、内科・小児科、精神科において感冒、インフルエンザ、下痢・嘔吐症、認知症、精神疾患として誤診されている場合もある。たまたま下痢・嘔吐症が、流行する時期に一致すると、症状のみの診断では見逃される可能性が高くなりやすい。

そのため、器質的な疾患が強く疑わしい症例に限定して画像検査（MRI）を施行するのではなく、症状が軽快せず、進行・悪化している場合には、致命的な見逃しをなくすため、また、器質的な疾患をスクリーニングするためにも、脳画像検査を診療の早期に取り入れる視点が大切であろう。これによりカタストロフィックな見逃しは回避でき、患者の生命および機能予後の改善につなげることができるからである。強く疑わしい症例でなくとも、鑑別診断をするために、脳神経外科を紹介しておく心がけも重要である。

■ 予後

標準治療、すなわち外科的な切除後にTMZを内服併用した放射線化学療法施行患者の全生存期間（OS）は、15カ月程度である。IDH1野生型で9.9カ月、IDH1変異型で24.0カ月である。ヒト化モノクローナル抗体のベパシズマブ（商品名：アバスチン）やインターフェロンの併用は、OSには寄与しない。組織学的にglioblastoma with oligodendroglioma component、giant cell GBM、cystic GBMは悪性だが、古典的なGBMよりやや予後が良い傾向にある。分子基盤に基づいてMGMT非メチル化症例やIDH1野生型の予後不良例では、TMZに反応を示さない場合が多く、今後免疫療法や免疫チェックポイント阻害剤の応用が取り入れられるであろう。これらの治療には、腫瘍ペプチドワクチン療法WT1やさらに百日咳菌体をアジュバントしたWT1-W10、抗PD-1（Programmed cell death-1）抗体療法などT細胞の免疫応答にかけられたブレーキを解除することでT細胞の活性化状態を維持し、がん細胞を細胞死に追いやる試みである。

同じくT細胞の表面に発現する抑制性因子CTLA（Cytotoxic T-lymphocyte-associated antigen 4）に対する抗体の併用も期待されている。

2 診断 (検査・鑑別診断も含む)

■ 検査

造影MRI、脳血管撮影、MRS、PET (methionine、FDG) などの検査と合わせ、総合的に判断する。

■ 鑑別診断

造影MRIや造影CTでは、不規則なリング状の造影効果を示す。GBM、転移性脳腫瘍、脳膿瘍との鑑別が必要である。GBMでは、造影部分は壊死を取り囲む血管新生を反映するので、より不規則なリング状になる。それに比べ脳膿瘍のリングは、円形でよりスムーズである。転移性脳腫瘍は、GBMと脳膿瘍の間を取るのを目安になるが、さらに拡散強調MRIやMRスペクトルスコピーなど多種類の検査で、総合的に判断することが重要である。

術中迅速診断では、壊死を取り囲む偽柵状配列が明らかでないHGG (high grade glioma) と診断されるので、確定診断は永久標本によることになる。摘出腔内にカルムスチン (脳内留置用徐放性製剤: BCNUウェハー[商品名: ギリアデル]) の使用を予定するときは、時に悪性リンパ腫との鑑別が問題となる。

悪性リンパ腫では、血管中心性の腫瘍細胞の集簇に注目して診断するが、LCA、GFAP、MIB-1など免疫組織学的検査では、迅速標本の作成が必要となる症例もある。

転移性脳腫瘍との組織上の鑑別は容易であるが、きわめてまれにadenoid glioblastomaの症例で腺腔形成や扁平上皮性分化を示すので、注意が必要である。

■ [ページTOPへ](#)

3 治療（治験中・研究中のものも含む）

■ 基本治療

腫瘍容量の減圧と確定診断を目的に、まず外科治療を行う。近年、ナビゲーションと術中MRIを用いた画像誘導による外科手術が、一般的となってきている。グリオーマの外科手術の目標は、機能を損なうことなく最大限の摘出をすることにある。

MRI Gd (Gadolinium) -DTPAにて造影された腫瘍塊が、全部摘出された症例の予後では期待でき、腫瘍摘出度が高いほど予後の改善に結び付くと、複数の報告がなされている。

次いで確定診断後には、TMZ併用の化学放射線療法が標準治療である。放射線療法は、拡大局所にtotal 60Gy (2Gy×30 fractions) を週5回、6週間かけて行うのが標準である。

最近では、周囲脳の保護を目的に強度変調放射線治療 (Intensity Modulated Radiation Therapy: IMRT) を行うことが多い。

初期治療終了後には、TMZの内服を月5日間行う。再発時にはインターフェロンβの併用や、血管内皮増殖因子に対するベバシズマブの併用などが行われている。

■ その他の治療

手術前日にタラポルフィンナトリウム（商品名：レザフィリン）を投与し、病巣部位に集積させ、手術により最大限の摘出後にレーザー光を照射する摘出断端の浸潤部位に対する光線力学的療法やカルムスチンの摘出腔留置などがある。

■ ページTOPへ

4 今後の展望

陽子線、炭素線やホウ素中性子補足療法などの、新しい線源を用いた悪性脳腫瘍への応用やウイルス療法、脳内標的部位への薬剤分布を高める技術として開発された convection-enhanced delivery (CED)、免疫療法などがある。

免疫療法には、がん免疫に抑制性に働くものに対する解除を目的とする、T細胞活性化抑制抗原に対する抗PD-1抗体による治療やがん遺伝子WT1 (Wilms tumor 1) を抗原標的として、自己のTリンパ球にがん細胞を攻撃させるWT1ペプチドワクチン療法がある。後者は、脳腫瘍の最新治療法として安全性や有効性が確立されつつあり、ランダム化比較試験の結果が期待される。

■ ページTOPへ

5 主たる診療科

•脳神経外科

※ 医療機関によって診療科目の区分は異なることがあります。

[■ページTOPへ](#)

6 参考になるサイト（公的助成情報、患者会情報など）

•診療、研究に関する情報

- ☞国立がん研究センター がん対策情報センター がん情報サービス
（一般利用者向けと医療従事者向けのまとまった情報）
- ☞一般社団法人 日本脳神経外科学会、日本脳神経外科コンgres 脳神経外科疾患情報ページ
（一般利用者向けと医療従事者向けのまとまった情報）

[■ページTOPへ](#)

参考文献

- 1) 石田陽一. 北関東医. 1990;40:355-361.
- 2) Cayre M, et al. Prog Neurobiol. 2009;88:41-63.
- 3) Eriksson PS,et al. Nat Med. 1998;4:1313-1317.
- 4) Sanai N, et al. Nature. 2004;427:740-744.
- 5) Louis DN, et al. WHO Classification of Tumours of the Central Nervous System. Revised 4th Edition.Lyon;IARC Press:2016.pp52-56.
- 6) Louis DN, et al. Acta Neuropathol. 2016;131:803-820.
- 7) Yamaguchi N. Clin Neurosci. 2013;31:1145-1146.

公開履歴

初回 2015年02月27日

更新 2017年03月21日

脳神経外科関連の希少疾病ライブラリ

- ▶ 脊髄空洞症
- ▶ 常染色体優性多発性嚢胞腎
- ▶ 膠芽腫
- ▶ もやもや病

[■インデックスページへ戻る](#)

Case Report

A case of high-grade astrocytoma with *BRAF* and *ATRX* mutations following a long-standing course over two decades

Satoshi Nakata,^{1,2} Keishi Horiguchi,² Shogo Ishiuchi,³ Yuhei Yoshimoto,² Seiji Yamada,¹
Sumihito Nobusawa,¹ Hayato Ikota,¹ Junko Hirato⁴ and Hideaki Yokoo¹

Departments of ¹Human Pathology, and ²Neurosurgery, Gunma University Graduate School of Medicine, and ⁴Department of Pathology, Gunma University Hospital, Maebashi and ³Department of Neurosurgery, University of the Ryukyus Graduate School of Medicine, Nishihara-cho, Okinawa, Japan

Pediatric high-grade gliomas are rare and occasionally hard to classify. These tumors often feature a well-demarcated histology and are expected to have a better outcome than ordinary diffuse high-grade gliomas in adults. We herein report a case of circumscribed high-grade glioma that showed a distinct molecular profile and followed an excellent course for 26 years. The patient, a 3-year-old boy at onset, presented with a contrast-enhancing mass in the right temporal lobe and underwent resection. Histologically, the tumor mainly consisted of compact bundles of GFAP-positive spindle cells. With its malignant features including brisk mitotic activity and pseudopallisading necrosis, a diagnosis of high-grade astrocytoma was made and adjuvant chemoradiotherapy was administered. After a disease-free period of two decades, the tumor recurred locally. The resected tumor was histologically identical to the primary tumor and additionally contained pleomorphic cells, but lacked eosinophilic granular bodies and reticulin networks. The primary and recurrent tumors both harbored the *BRAF* V600E mutation, and the recurrent tumor was immunonegative for *ATRX*. Combined *BRAF* and *ATRX* mutations are rare in gliomas, with only a pediatric case of glioblastoma being reported in the literature. However, our case cannot be regarded as glioblastoma because of its well-demarcated histology and excellent course. The distinction of either a diffuse or localized nature in gliomas is important, particularly in children, for predicting prognoses and selecting adjuvant therapies that consequently affect life-long health care. The present case provides novel insights into pediatric high-grade astrocytomas.

Key words: *ATRX*, *BRAF* V600E, diffuse glioma, pediatric, pleomorphic xanthoastrocytoma.

INTRODUCTION

Pediatric and young adult gliomas are variegated, with some being histologically hard to classify in the setting of malignant features. In addition to grades III and IV diffuse astrocytic and oligodendroglial tumors in the revised 4th edition of the WHO classification,¹ anaplastic variants of pleomorphic xanthoastrocytoma (PXA) and pilocytic astrocytoma (PA) occur in this population.^{2–4} Despite their strong proliferative activities, anaplastic PXA/PA generally follow less aggressive courses than diffuse high-grade gliomas,^{2,3} and this may be due to their less invasive nature into the brain parenchyma. If a given glioma harbors anaplastic features such as brisk mitotic activity, microvascular proliferation and necrosis, but lacks the typical features of PXA/PA, a diagnosis of diffuse high-grade glioma is initially proposed. Under these conditions, the distinction between a diffuse and circumscribed nature is important, particularly in children, for predicting prognoses and selecting adjuvant therapies, including the timing and field of radiotherapy, which consequently affect life-long health care.⁵ However, it is challenging for pathologists to accurately evaluate the invasiveness of each glioma.

We herein present a case of pediatric high-grade astrocytoma predominantly composed of compact bundles of spindle cells devoid of the features of PXA/PA. This case followed an excellent clinical course and recurred locally after a long-term latency of more than two decades.

CLINICAL SUMMARY

A 3-year-old boy with impaired consciousness was admitted to a hospital. Computed tomography revealed a hemorrhagic mass in the right temporal lobe, which was

Correspondence: Satoshi Nakata, MD, Department of Human Pathology, Gunma University Graduate School of Medicine, 3-39-22, Showa-machi, Maebashi, Gunma, 371-8511, Japan. Email: nakata3104@gmail.com

Received 29 November 2016; revised and accepted 12 January 2017.

heterogeneously enhanced and was considered to be a malignant glioma (Fig. 1A). The tumor was completely resected, and extended focal radiotherapy of 33 Gy and platinum-based concomitant and maintenance chemotherapy were administered based on the pathological diagnosis of high-grade astrocytoma.

Although slight enhancement around the surgical cavity persisted in the subsequent 20 years, no evidence of recurrence was detected (Fig. 1B). However, the patient visited the hospital with a worsening headache at the age of 26 years. MRI revealed the recurrence of a large tumor. Despite the large size (7×5 cm) of the enhanced mass (Fig. 1C), the volume of surrounding edema on T2-weighted images was limited (Fig. 1D). The recurrent tumor was resected and histopathologically confirmed to be identical to the primary tumor. The patient received chemotherapy with temozolomide and bevacizumab and has maintained his quality of life without further recurrence for more than 2 years.

MATERIALS AND METHODS

Tissue specimens were fixed in 10% formalin and embedded in paraffin. Paraffin blocks were cut at a thickness of 2.5 μ m and stained with HE. An immunohistochemical examination was performed on paraffin-embedded sections using

the biotin-streptavidin immunoperoxidase method (Histofine Kit, Nichirei, Tokyo, Japan). Primary antibodies against the following antigens were used: GFAP (polyclonal, 1:5000; our own), Olig2 (polyclonal, 1:100; IBL, Takasaki, Japan), nestin (monoclonal, 1:200; Merck Millipore, Tokyo, Japan), neurofilament (RMd0-20; 1:100; Invitrogen, Camarillo, CA, USA), CD34 (NU-4A1; 1:200; Nichirei), p53 protein (monoclonal, 1:50; Leica Microsystems, Wetzlar, Germany), ATRX (polyclonal, 1:500; Sigma, St. Louis, MO, USA), and Ki-67 (MIB-1; 1:100; Dako, Glostrup, Denmark). After visualization with diaminobenzidine, tissue sections were briefly counterstained with hematoxylin.

In direct DNA sequencing, genomic DNA was extracted from the primary and recurrent tumors, then amplified by PCR and sequenced using primers for *BRAF*, the telomerase reverse transcriptase (*TERT*) promoter, and isocitrate dehydrogenase-1/2 (*IDH1/2*), as previously described.⁶

This study was approved by our Institutional Review Board.

RESULTS

In the first tumor, intersecting bundles of spindle cells formed a compact, polynodular mass that entrapped a medium-sized muscular artery presumably in the

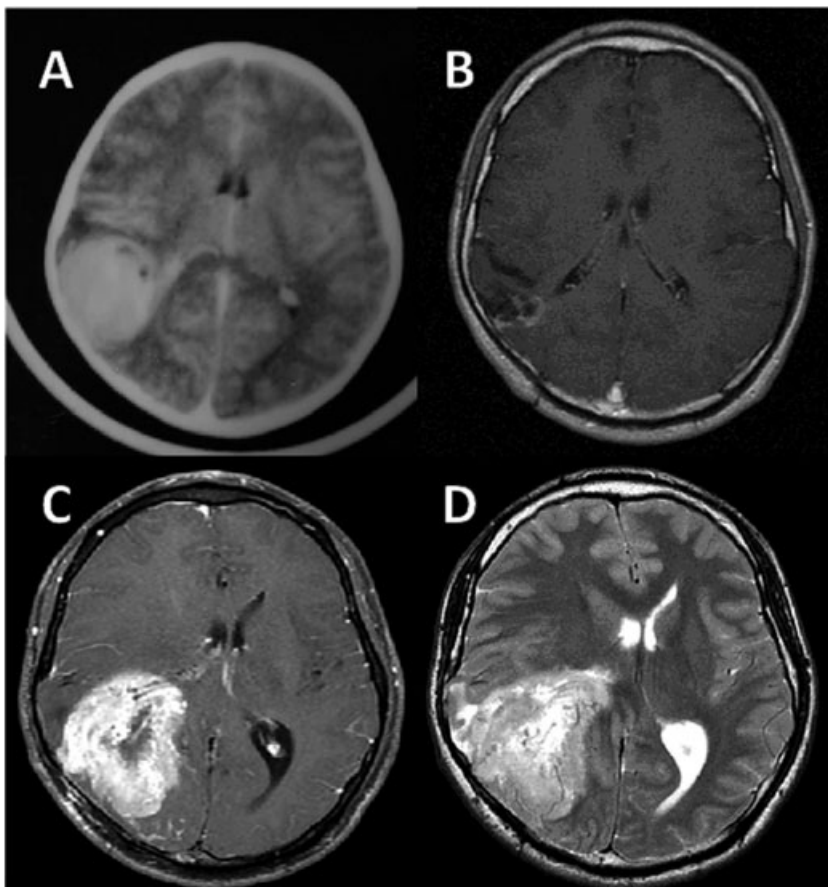


Fig. 1 Axial CT and MRIs. **(A)** Contrast-enhanced CT image at the onset showing a hemorrhagic mass within the right temporal lobe. **(B)** On a gadolinium-enhanced T1-weighted image (Gd-T1WI) when the patient was 22 years old, slight enhancement around the surgical cavity remained unchanged. **(C)** Gd-T1WI at recurrence shows a solid heterogeneously enhanced mass that is 7×5 cm in size in the same region. **(D)** On the T2-weighted image at recurrence, surrounding edema is limited despite the volume of the tumor.

subarachnoid space. Malignant features including pseudopalisading necrosis (Fig. 2A) and high mitotic activity (Fig. 2B) with up to 4/10 high-power fields were observed. In the adjacent brain parenchyma, tumor cells partly intermingled with normal glial cells and neurons, whereas the subpial and perineuronal accumulation of tumor cells was not detected, which is in contrast to that in diffuse gliomas (Fig. 2C). Tumor cells showed moderate cellular pleomorphism and xanthic changes, which indicated

PXA. Furthermore, lower-grade areas that consisted of loosely textured bipolar or multipolar cells (Fig. 2D) and frequent hyalinized vessels (Fig. 2E) appeared to be analogous to PA. However, neither Rosenthal fibers nor eosinophilic granular bodies (EGBs) were observed and reticulin fibers were poor (Fig. 2F). In immunohistochemistry, tumor cells were partially positive for GFAP (Fig. 2G), diffusely positive for Olig2 and nestin, and negative for CD34. Rare plump tumor cells were immunoreactive for neurofilaments;

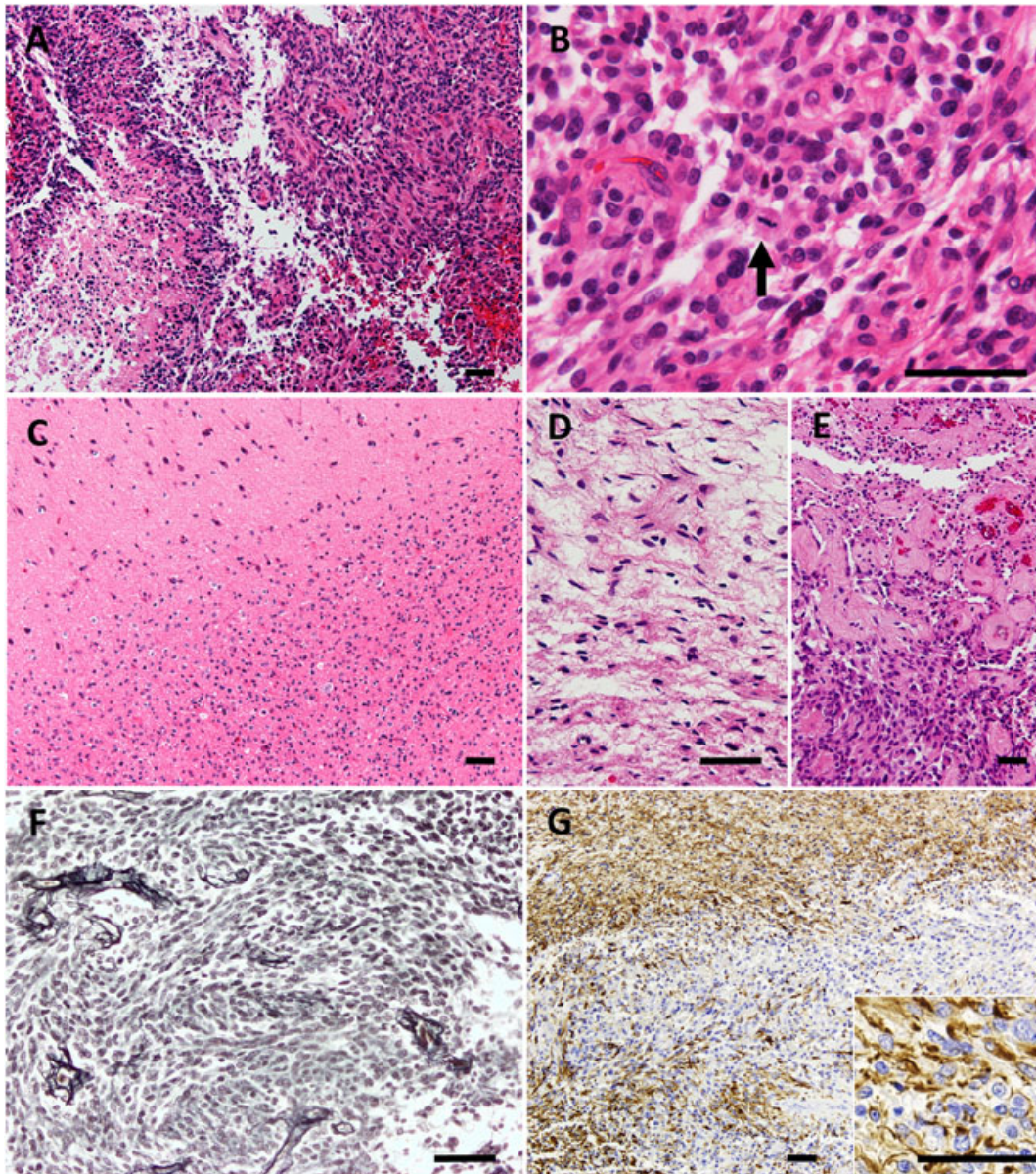


Fig. 2 Histological findings of the primary tumor. (A) The tumor is predominantly composed of spindle cells forming a compact, polynodular mass. Necrosis and palisading tumor cells are also present. (B) The dense proliferation of atypical spindle cells with frequent mitosis is shown. High mitotic activity with up to 4/10 high-power fields is observed. (C) Although tumor cells partly infiltrate into the brain parenchyma, the border is fairly clear. Subpial and perineuronal concentrations similar to those in diffuse gliomas are not present. (D) A lower-grade area with loose-textured piloid cells is shown. (E) Thick-walled hyalinized vessels are shown, which indicate a precursor lesion. (F) Reticulin fibers are limited around vessels. (G) Tumor cells are partially positive for GFAP. The boundary between the tumor (bottom) and brain parenchyma (upper) is clearly observed. Original magnification: A, $\times 100$; B, $\times 400$; C, $\times 100$; D, $\times 200$; E, $\times 100$; F, $\times 200$; G, $\times 100$, inset, $\times 400$. Bar = 50 μm .

however, normal neurons or neurites were not entrapped in the tumor mass. Immunostaining for p53, ATRX and Ki-67 could not be evaluated due to sample deterioration over time.

The recurrent tumor was similar to the primary tumor, but showed a more circumscribed pattern. Spindle cells became thicker and a hyaline-like cytoplasm was more evident than in the first tumor (Fig. 3A). A limited number of xanthic cells and eosinophilic hyaline droplets (not EGBs) was detected, whereas reticulin fibers did not increase.

Malignant features including pseudopallisading necrosis, increased mitotic activity (Fig. 3B) with up to 12/10 high-power fields, and microvascular proliferation were observed. The border between the tumor and adjacent brain parenchyma was clear (Fig. 3C). Lower-grade areas and hyalinized vessels co-existed, similar to the primary tumor (Fig. 3D). In immunohistochemistry, tumor cells were positive for glial markers. Notably, tumor cells were positive for p53 (Fig. 3E) and negative for ATRX (Fig. 3F). The Ki-67 LI was approximately 20%.

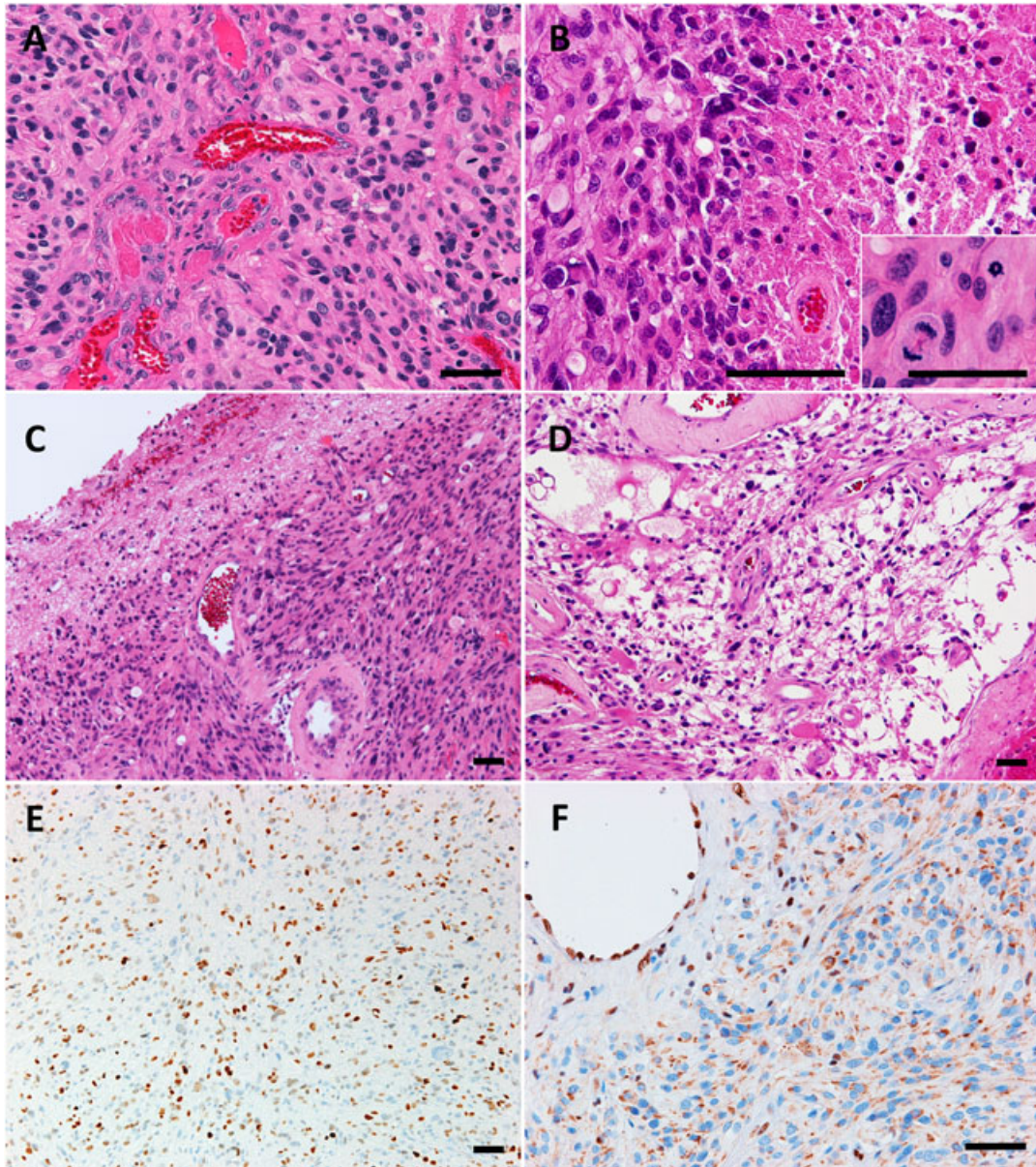


Fig. 3 Histological findings of the recurrent tumor. (A) Thick spindle cells with cellular pleomorphism form compact bundles. Microvascular proliferation is also observed. (B) Necrosis and the dense proliferation of pleomorphic tumor cells with frequent mitosis (inset) are shown. (C) The tumor (right bottom) is well-demarcated from the adjacent brain parenchyma (upper left). (D) A lower-grade area with frequent hyalinized vessels is shown. (E) Approximately 20% of tumor cells are immunopositive for p53. (F) The loss of ATRX nuclear expression is noted, whereas endothelial cells retain their expression. Original magnification: A, $\times 200$; B, $\times 400$, inset $\times 400$; C, $\times 100$; D, $\times 100$; E, $\times 100$; F, $\times 200$. Bar = 50 μm .

In DNA sequencing, the primary and recurrent tumors both harbored the mutation of a valine to glutamic acid substitution at position 600 of *BRAF* (*BRAF* V600E, Fig. 4). The *TERT* promoter and *IDH1/2* were intact.

DISCUSSION

In this case, based on the proliferation of atypical astrocytes and malignant features including pseudopallisading necrosis, brisk mitotic activity and microvascular proliferation, GBM was primarily considered for the differential diagnosis. Although GBMs are typically infiltrative, some are partially well-demarcated and their dense proliferation mimics a compact tumor mass.⁷ In the present case, the absence of intervening neurites in compact areas and the lack of the secondary structures of Scherer suggested a more circumscribed tumor.

In the current WHO classification, anaplastic PXA⁸ and PA with anaplastic features⁹ are described as localized high-grade astrocytomas; however, not all circumscribed high-grade astrocytomas clearly fit into either of these.^{2,9} In our case, PXA-like thick spindle cells with a cellular polymorphism and partly xanthic changes were detected at recurrence. However, the present case lacked some classical characteristics of PXAs, such as reticulin fibers, frequent EGBs and CD34-positive tumor cells.^{2,8} In addition, immunohistochemical results for p53 and *ATRX*, which strongly suggest both mutations,^{10–12} are common in pediatric GBM¹³ and extremely rare in PXA; *p53* mutations have only been detected in 6% of PXA,⁸ and *ATRX*-mutated PXA has never been reported; one case of diffuse glioma with a combined PXA-like component was described elsewhere.¹⁴

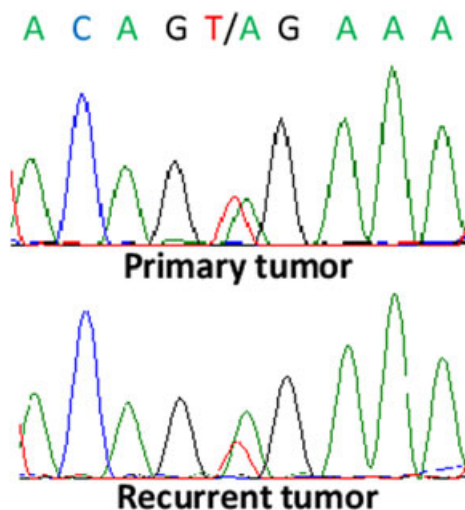


Fig. 4 Direct DNA sequencing for the encoded valine-to-glutamic acid substitution at position 600 of the serine/threonine-protein kinase *BRAF* (*BRAF* V600E). *BRAF* V600E is detected in the primary tumor (upper) and recurrent tumor (lower).

The *BRAF* V600E mutation has been reported in 60–70% of PXA,^{2,15} but in only 2–3% of conventional GBM.^{15,16} Additionally, recent studies revealed a subset of pediatric and young adult GBM showing a higher percentage of the *BRAF* V600E mutation and taking less malignant courses.^{17–19} Korshunov *et al.* reported a subgroup of pediatric GBM with PXA or PA-like genome methylation profiles, 40% of which harbored the *BRAF* V600E mutation, which followed significantly longer courses.¹⁷ Zhang *et al.* and Matthew *et al.* also reported that 16 out of 107 cases of young adult GBM and five out of 10 cases of pediatric secondary GBM exhibited the *BRAF* V600E mutation and had better prognoses.^{18,19} Although detailed histology was not provided, these cases of pediatric GBM with a PXA-like methylation pattern appear to resemble our case.¹⁷

It currently remains unknown whether concurrent *BRAF* V600E and *ATRX* mutations are associated with a specific glioma subtype or clinical course. We searched a public database (cBioPortal for Cancer Genomics: <http://www.cbioportal.org>^{20,21}) to investigate cases concurrently showing these mutations. In 812 samples of grades II to IV gliomas in The Cancer Genome Atlas (TCGA) project,²² the *BRAF* V600E and *ATRX* mutations were detected in 0.9% and 26% of samples, respectively, but were not concurrent. In other case series, one adult case of grade II diffuse glioma and one pediatric case of GBM harbored these mutations together; however, detailed histology and clinical courses were not reported.^{23,24} Our case cannot be regarded as ordinary diffuse glioma or glioblastoma due to its well-demarcated histology and excellent course.

We previously reported a case of epithelioid GBM that concurrently harbored the *TERT* promoter and *BRAF* V600E mutation.⁶ Epithelioid GBM is a rare aggressive subtype of GBM, with 50% of cases harboring the *BRAF* V600E mutation.²⁵ *TERT* promoter and *ATRX* mutations are both associated with abnormal telomere maintenance; the former is mediated by activated telomerase²⁶ and the latter by the alternative lengthening of telomeres.²⁷ These mutations are nearly mutually exclusive in gliomas and associated with certain histological subtypes.^{22,28} The combinatory features of these mutations may be connected with some histological types and clinical behaviors.

The limitation of this study is the lack of evidence of *ATRX* mutation in the primary tumor. A possibility remains that the primary tumor harbored only *BRAF* V600E mutation, and subsequent acquisition of *ATRX* mutation caused the late recurrence and progression. Further studies are needed to uncover the significance of concurrent *BRAF* V600E and *ATRX* mutations.

In conclusion, our case illustrates the excellent prognosis of localized high-grade astrocytoma. This case cannot be categorized into a specific subtype based on histological

features and molecular profiles, and further suggests the presence of unclassified variants of pediatric localized high-grade astrocytoma in addition to anaplastic PXA/PA. More of these cases need to be identified and their histological and molecular characteristics assessed, and this will ultimately contribute to a more robust diagnosis and appropriate risk stratification.

ACKNOWLEDGMENTS

We thank Ms. Machiko Yokota and Mr. Tatsuya Yamazaki (Gunma University) for their excellent technical assistance.

REFERENCES

- Louis DN, Perry A, Reifenberger G *et al.* The 2016 World Health Organization Classification of Tumors of the Central Nervous System: a summary. *Acta Neuropathol* 2016; **131**: 803–820.
- Ida CM, Rodriguez FJ, Burger PC *et al.* Pleomorphic xanthoastrocytoma: natural history and long-term follow-up. *Brain Pathol* 2015; **25**: 575–586.
- Rodriguez FJ, Scheithauer BW, Burger PC, Jenkins S, Giannini C. Anaplasia in pilocytic astrocytoma predicts aggressive behavior. *Am J Surg Pathol* 2010; **34**: 147–160.
- Cykowski MD, Allen RA, Kanaly AC *et al.* The differential diagnosis of pilocytic astrocytoma with atypical features and malignant glioma: an analysis of 16 cases with emphasis on distinguishing molecular features. *J Neurooncol* 2013; **115**: 477–486.
- Vern-Gross TZ, Schreiber JE, Broniscer A *et al.* Prospective evaluation of local control and late effects of conformal radiation therapy in children, adolescents, and young adults with high-grade glioma. *Neuro Oncol* 2014; **16**: 1652–1660.
- Matsumura N, Nakajima N, Yamazaki T *et al.* Concurrent TERT promoter and BRAF V600E mutation in epithelioid glioblastoma and concomitant low-grade astrocytoma. *Neuropathology* 2016. DOI:10.1111/neup.12318.
- Burger PC, Scheithauer BW. Glioblastoma. In: *AFIP Atlas of Tumor Pathology* Fourth Series, Fascicle 7, Tumors of the Central Nervous System. Washington DC: Armed Forces Institute of Pathology, 2007; 55–77.
- Giannini C, Paulus W, Louis DN, Liberski PP, Figarella-Branger D, Capper D. Pleomorphic xanthoastrocytoma. In: Louis DN, Ohgaki H, Otmar D *et al.*, eds. *World Health Organization classification of Tumours of the Central Nervous System*, Revised 4th edn. Lyon: IARC Press, 2016; 94–97.
- Collins VP, Tihan T, VandenBerg SR *et al.* Pilocytic astrocytoma. In: Louis DN, Ohgaki H, Otmar D *et al.*, eds. *World Health Organization classification of Tumours of the Central Nervous System*, Revised 4th edn. Lyon: IARC Press, 2016; 80–89.
- Takami H, Yoshida A, Fukushima S *et al.* Revisiting TP53 mutations and immunohistochemistry - A comparative study in 157 diffuse gliomas. *Brain Pathol* 2015; **25**: 256–265.
- Ikemura M, Shibahara J, Mukasa A *et al.* Utility of ATRX immunohistochemistry in diagnosis of adult diffuse gliomas. *Histopathology* 2016; **69**: 260–267.
- Hewer E, Vajtai I, Dettmer MS, Berezowska S, Vassella E. Combined ATRX/IDH1 immunohistochemistry predicts genotype of oligoastrocytomas. *Histopathology* 2016; **68**: 272–278.
- Wu G, Diaz AK, Paugh BS *et al.* The genomic landscape of diffuse intrinsic pontine glioma and pediatric non-brainstem high-grade glioma. *Nat Genet* 2014; **46**: 444–450.
- Yamada S, Kipp BR, Voss JS, Giannini C, Raghunathan A. Combined “infiltrating astrocytoma/pleomorphic xanthoastrocytoma” harboring IDH1 R132H and BRAF V600E mutations. *Am J Surg Pathol* 2016; **40**: 279–284.
- Schindler G, Capper D, Meyer J *et al.* Analysis of BRAF V600E mutation in 1,320 nervous system tumors reveals high mutation frequencies in pleomorphic xanthoastrocytoma, ganglioglioma and extra-cerebellar pilocytic astrocytoma. *Acta Neuropathol* 2011; **121**: 397–405.
- Knobbe CB, Reifenberger J, Reifenberger G. Mutation analysis of the Ras pathway genes NRAS, HRAS, KRAS and BRAF in glioblastomas. *Acta Neuropathol* 2004; **108**: 467–470.
- Korshunov A, Ryzhova M, Hovestadt V *et al.* Integrated analysis of pediatric glioblastoma reveals a subset of biologically favorable tumors with associated molecular prognostic markers. *Acta Neuropathol* 2015; **129**: 669–678.
- Zhang R, Shi Z, Chen H *et al.* Biomarker-based prognostic stratification of young adult glioblastoma. *Oncotarget* 2016; **7**: 5030–5041.
- Mistry M, Zhukova N, Merico D *et al.* BRAF Mutation and CDKN2A deletion define a clinically distinct subgroup of childhood secondary high-grade glioma. *J Clin Oncol* 2015; **33**: 1015–1022.
- Cerami E, Gao J, Dogrusoz U *et al.* The cBio cancer genomics portal: An open platform for exploring multidimensional cancer genomics data. *Cancer Discov* 2012; **2**: 401–404.
- Paugh BS, Qu C, Jones C *et al.* Integrated molecular genetic profiling of pediatric high-grade gliomas reveals key differences with the adult disease. *J Clin Oncol* 2010; **28**: 3061–3068.

22. Ceccarelli M, Barthel FP, Malta TM *et al*. Molecular profiling reveals biologically discrete subsets and pathways of progression in diffuse glioma. *Cell* 2016; **164**: 550–563.
23. Johnson BE, Mazar T, Hong C *et al*. Mutational analysis reveals the origin and therapy-driven evolution of recurrent glioma. *Science* 2014; **343**: 189–193.
24. Bettegowda C, Agrawal N, Jiao Y *et al*. Exomic sequencing of four rare central nervous system tumor types. *Oncotarget* 2013; **4**: 572–583.
25. Kleinschmidt-DeMasters BK, Aisner DL, Foreman NK. BRAF VE1 immunoreactivity patterns in epithelioid glioblastomas positive for BRAF V600E mutation. *Am J Surg Pathol* 2015; **39**: 528–540.
26. Horn S, Figl A, Rachakonda PS *et al*. TERT promoter mutations in familial and sporadic melanoma. *Science* 2013; **339**: 959–961.
27. Heaphy CM, de Wilde RF, Jiao Y *et al*. Altered telomeres in tumors with ATRX and DAXX mutations. *Science* 2011; **333**: 425.
28. Eckel-Passow JE, Lachance DH, Molinaro AM *et al*. Glioma groups based on 1p/19q, IDH, and TERT promoter mutations in tumors. *N Engl J Med* 2015; **372**: 2499–2508.