

MR spectroscopy 計測系の構築

研究分担者 山口 雅之 独立行政法人国立がんセンター東病院 臨床開発センター
機能診断開発部 機能画像室長

研究要旨 がん化学療法後長期にわたり注意力・集中力の低下を自覚する、いわゆる”Chemo-brain”において、脳内の神経伝達物質と病態との関連を調査するため、乳がんで補助化学療法を施行予定の患者と対照患者の脳内においてグルタミン酸 (Glu)、 γ アミノ酪酸 (GABA) を含む低分子量代謝物の含有量を、3テスラ MRI 装置を用いて非侵襲的に計測する臨床研究を開始した。解析が終了した合計 12 例では、N-アセチルアスパラギン酸と N-アセチルアスパルチルグルタミン酸、グリセロリン酸コリンとリン酸コリン、Glu とグルタミンの混合信号、ミオイノシトールの信号、GABA の C4 メチレンプロトン信号の計測が可能であった。今後、患者登録数を増し、化学療法施行前後において、経時的な MRS 観測データを蓄積することにより、”Chemo-brain” 診断に対する MRS の有用性を明らかにする必要がある。

A. 研究目的

がん化学療法後長期にわたり注意力・集中力の低下を自覚する、いわゆる”Chemo-brain”の病態解明や診断法確立をめざし、ヒト脳内の神経伝達物質と病態との関連を調べるため、強磁場 MRI 装置を用い、ヒト脳内において代表的な抑制性神経伝達物質である GABA を含む低分子量代謝物の含有量を、MRS 法にて非侵襲的に計測する実験系の構築を目的とした。

B. 研究方法

MRS 計測には、3テスラ強磁場 MRI 装置と高感度信号検出コイルを用いた。手術が予定されている乳がん患者ボランティアをリクルートし、治療前に MRS 計測を実施した。患者は、術後に補助化学療法を受ける患者群と受けない患者群とに分かれ、前者は、補助化学療法終了直後、及びその 6 カ月後に、また後者は、手術直後、及びその 6 カ月後に、それぞれ MRS 検査を実施する。被検者の脳（後頭葉の正中中部、 $2.5 \times 2.5 \times 2.5 \text{ cm}^3$ の領域）において、point resolved spectroscopy (PRESS) 法及びスペクトル編集法 (MEGA-PRESS 法) により MRS 測定を行った。PRESS 法にて得られた N-acetylaspartate (NAA) と N-acetyl aspartylglutamate (NAAG)、glycero-phosphocholine (GCh) と phosphocholine

(PCh)、glutamate (glu) と glutamine (Gln) の混合ピーク、myo-inositol (mI) のピーク、及び MEGA-PRESS 法で得られた、GABA の C4 メチレンプロトン信号を LC (linear combination) model ソフトウェアを用いて解析し、creatine (Cr) および NAA 信号に対する相対濃度を算出した。

(倫理面への配慮)

ボランティア患者に対する MRI 計測は、国立がん研究センター倫理審査委員会にて承認されたプロトコルに基づき、被験者から十分なインフォームドコンセントを得た上で、実施した。

C. 研究結果

12 例について MRS 計測及び解析が終了した。NAA+NAAG、GPC+PCh、MI、Glu+Gln の Cr に対する濃度比はそれぞれ 1.45 ± 0.08 、 0.15 ± 0.01 、 0.73 ± 0.07 、 1.76 ± 0.23 (平均 \pm 標準偏差) であった。GABA の NAA に対する濃度比は、 0.12 ± 0.07 であった。LC モデルにおけるフィッティング精度の指標である Cramer-Rao lower bounds (CRLB) 値は、NAA+NAAG、GPC+PCh、MI、Glu+Gln では、それぞれ 2.3 ± 0.5 、 4.1 ± 0.5 、 5.3 ± 0.6 、 6.9 ± 0.9 (12 例、平均 \pm 標準偏差) と、推奨

の 20%未満であり、計測精度は高いと判定した。一方、GABA の CRLB 値は、21- 65(38.2 ± 14.9、平均 ± 標準偏差)であった。なお、MRI 検査に伴う有害事象は認められなかった。

D. 考察

PRESS 法測定によってグルタミン酸・グルタミンを含む 4 つの代謝物信号を高精度に計測でき、得られた対 Cr 濃度比は、正常ボランティアの脳を対象とした MRS 計測の文献値と比較して、妥当な値であった。今回解析したデータは、化学療法施行前に得られたため、健常人と同等の代謝物濃度であった可能性が高い。一方、MEGA-PRESS 法により計測した GABA/NAA 信号比は、CRLB 値が推奨値より高く、計測精度が低かった。PRESS 法と MEGA-PRESS 法とを比較して、計測における信号雑音比には、大きな差が認められなかった(データ非提示)。従って、PRESS 法および MEGA-PRESS 法間にて、得られた代謝物の計測精度が異なる原因は、LC モデルフィッティングにおける何らかの条件差から生じた可能性がある。フィッティングの際に利用する、基本データ(basis-set)の再構築を行うことで、GABA 計測値の精度が向上する可能性もあり、今後検討が必要である。

乳がん患者脳内の代謝物変動が、ケモブレインの診断に有用か否かは、臨床研究を開始した直後の現状では、結論を引くことができない。今後、患者登録数を増し、化学療法施行前後において、経時的な MRS 観測データを蓄積する必要がある。

E. 結論

強磁場 MRI 装置を用い、ヒト脳内において代表的な抑制性神経伝達物質である GABA を含む低分子量代謝物の含有量を、MRS 法にて非侵襲的に計測する実験系を構築し、非侵襲的に、乳がん患者脳内の代謝物計測が可能となった。

F. 健康危険情報

特記事項なし

G. 研究発表

論文発表

1. Fukaya R, Yamaguchi M, et al: Isolation of cancer stem-like cells from a side population of a human glioblastoma cell line, SK-MG-1. *Cancer Lett* 29: 150-157, 2010
2. Furuta T, Yamaguchi M, et al: In Vivo Evaluation of Exocytic Activity in Kupffer Cells Using Superparamagnetic Iron Oxide-Enhanced Magnetic Resonance Imaging; an Experimental Study on Gadolinium Chloride-Induced Liver Injury in Rats. *Proc Intl Soc Mag Reson Med* 18: 2625, 2010
3. Yamaguchi M, et al: In Vivo Prediction of Spermatogenesis in Seminiferous Tubules Using High-Resolution Magnetic Resonance Imaging and Machine-Learning Techniques in Combination. *Proc Intl Soc Mag Reson Med* 18: 2690, 2010
4. Nabetani A, Yamaguchi M, et al: Multiple-Animal MR Imaging Performed Using a 3-Tesla Whole-Body Scanner: A Feasibility Study Using a 16-Channel Array Coil. *Proc Intl Soc Mag Reson Med* 18: 1488, 2010
5. Yamaguchi M, et al: Precise Co-Registration of SPECT and MRI for Small Animal Imaging Using a Common Animal Bed with External References: Visualization of Macrophage Distribution Within Inflammatory Lymph Nodes. *Proc Intl Soc Mag Reson Med* 18: 3963, 2010
6. Nakagami R, Yamaguchi M, et al: Small Animal MR Imaging Using a 3.0 Tesla Whole Body Scanner: Rapid B1+ Field Mapping for Quantitative MRI. *Proc Intl Soc Mag Reson Med* 18: 2846, 2010
7. 藤井博史、山口雅之: 分子イメージングの進歩 *小児外科* 42: 585-591, 2010

学会発表

1. Furuta T, Yamaguchi M, et al: In vivo Evaluation of Exocytic Activity in Kupffer Cells using Superparamagnetic Iron Oxide-Enhanced Magnetic Resonance Imaging; an Experimental Study on Gadolinium Chloride-Induced Liver Injury in Rats. ISMRM-ESMMB

- Joint Annual Meeting 2010. Poster Session. 2010. 5, Stockholm, Sweden
2. Nabetani A, Yamaguchi M, et al: Multiple-Animal MR Imaging Performed using a 3-Tesla Whole-body Scanner: A Feasibility Study using a 16-Channel Array Coil. ISMRM-ESMMB Joint Annual Meeting 2010. Poster Session. 2010. 5, Stockholm, Sweden
 3. Nakagami R, Yamaguchi M, et al: Small Animal MR Imaging using a 3.0 Tesla Whole Body Scanner: Rapid B1+ Field Mapping for Quantitative MRI. ISMRM-ESMMB Joint Annual Meeting 2010. Poster Session. 2010. 5, Stockholm, Sweden
 4. Yamaguchi M, et al: In vivo Prediction of Spermatogenesis in Seminiferous Tubules using High-Resolution Magnetic Resonance Imaging and Machine-Learning Techniques in Combination. ISMRM-ESMMB Joint Annual Meeting 2010. Poster Session. 2010. 5, Stockholm, Sweden
 5. Yamaguchi M, et al: Precise Co-registration of SPECT and MRI for Small Animal Imaging using a Common Animal Bed with External References: Visualization of Macrophage Distribution within Inflammatory Lymph Nodes. ISMRM-ESMMB Joint Annual Meeting 2010. Poster Session. 2010. 5, Stockholm, Sweden
 6. Suzuki D, Yamaguchi M, et al: SPECT-MRI co-registration for lymph node imaging: a feasibility study using a lymphadenitis animal model. ISNS2010. Poster Session. 2010. 11, Yokohama
 7. 山口雅之: 臓器の機能を in vivo 診断する技術: Magnetic resonance (MR) imaging と MR spectroscopy. 東京大学バイオイメージングセンターセミナー. 口演 2010年1月, 柏
 8. 中神龍太郎, 山口雅之, 他: 実験用小動物の複数同時MRI装置の開発. 平成21年度厚生労働省科学研究費補助金第3次対がん総合戦略研究事業発表会. ポスター展示. 2010年2月, 東京
 9. 三津田 実, 山口雅之, 他: 3T 全身用装置と 16 チャンネルアレイコイルを用いた、担がんマウスの複数同時MRI撮影. 第38回日本磁気共鳴医学会大会. ポスター展示. 2010. 9, つくば
 10. 中神龍太郎, 山口雅之, 他: ヒト用3 Tesla MRI装置を用いた180° signal minimum法による高速B1mapの小動物micro imagingへの応用. 第38回日本磁気共鳴医学会大会. ポスター展示. 2010. 9, つくば
 11. 古田 寿宏, 山口雅之, 他: クッパー細胞の消化能とSPIO造影MRI: 塩化ガドリニウム投与ラット肝での実験的検討. 第38回日本磁気共鳴医学会大会. ポスター展示. 2010. 9, つくば
 12. 鈴木大介, 山口雅之, 他: SPECT-MRI融合画像を用いたリンパ節内部性状の画像診断: 実験的検討. 第12回SNNS研究会学術集会, 口演, 2010. 11, 横浜
- H. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む。)
1. 特許取得
なし
 2. 実用新案登録
なし
 3. その他
なし

厚生労働科学研究費補助金（がん臨床研究事業）
分担研究報告書

がん性疼痛・がん悪液質の動物モデルの確立と脊髄・脳内の変化の解析

研究分担者 落合 淳志 独立行政法人国立がんセンター東病院 臨床開発センター
臨床腫瘍病理部 部長

研究要旨 進行膵がんにおける臨床所見の特徴の一つはがん性疼痛であり、また終末期には多くの膵がん患者は悪液質になる。一方、病理形態学的特徴の検討により、膵がんのほぼ全例で神経浸潤を認め、原発巣からの神経浸潤の進展距離は患者予後と悪液質と相関することを明らかにしてきた。この分子機構の解明のためにヒト膵がん細胞株を免疫不全マウスの坐骨神経に移植し、ヒト膵臓がん神経浸潤モデルを作製し、がん性疼痛および悪液質への影響を検討した。ヒト膵臓がん神経浸潤モデルではマウスの食餌量減少を伴わない体重減少をきたし、悪液質に対応するモデルができた。神経浸潤モデルの脊髄内ならびに脳内に起こる分子変化を検索し、これら変化とがん性疼痛および悪液質に関わる分子変化を検討した。

A. 研究目的

膵臓がんの臨床的特徴としてがん性疼痛および悪液質がある。また、病理学的特徴として神経浸潤があるが、この神経浸潤ががん性疼痛および悪液質に関わる分子基盤に関してはこれまで十分に検討されていない。我々は、ヒト膵臓がん細胞株を免疫不全マウスの坐骨神経に移植し、神経浸潤モデルを作製し、このモデルにおけるがん性疼痛（異痛）の程度を検索するとともに、食餌量および体重減少そして生体内で起こっている代謝変化を検索したところ、本モデルでは、神経浸潤を引き起こした反対側（健常側）の知覚に変化が来て、疼痛を感じやすくなっていることを示せた。また、神経浸潤が進展すると、食餌量の減少を伴わない体重減少が認められ、がん性悪液質が引き起こされたと考えられた。本年度は、動物もでるにおけるがん性疼痛と悪液質の変化が、脊髄におけるレベルでの変化であることを代謝や遺伝子発現により検討し、脊髄および脳内に起こっている変化を明らかにすることを目的とする。

B. 研究方法

重症免疫不全（Severe combined immunodeficient: SCID）マウスの坐骨神経にヒト膵臓がん細胞株 Capan-1 を移植し、その後経過観察により、食餌量、体重変化、腫瘍堆

積の測定を行うとともに、Von Frey テストによる疼痛変化を検索した。また、腫瘍移植後6週後に坐骨神経の入っている腰髄の組織および大脳組織を採取後、固定し病理組織学的に検索するとともに、直後凍結した組織からメタボローム解析および遺伝子発現解析を行った。

（倫理面への配慮）

動物を用いた実験を行うに当たり、国立がん研究センターの動物実験指針および管理規定に則り、研究計画を動物実験倫理審査に提出し、許可を得たのちに行った。

C. 研究結果

膵臓がんの神経進展につれて、健康側の疼痛に対する反応は強くなり異痛が確認できた。これは、これまで使われていたがん性疼痛モデルとは異なる、新しい疼痛モデルと考えられる。また、本モデルの経過を4週以上観察すると、食餌摂取量の減少を伴わない体重減少が確認できた。特に、脂肪組織量の委縮、筋肉量の委縮が認められ、ヒト膵臓がん患者における悪液質の状態を模倣するモデルであることが確認できた。組織学的に脊髄組織を確認すると、坐骨神経に対応する脊髄レベルにおいてグリア細胞の活性化が引き起こされていることが確認できた。

また、凍結した脊髄および大脳組織のメタボローム解析ならびに遺伝子発現解析では、脊髄における炎症性変化の存在を確認できた。

D. 考察

膵がん患者に特徴的ながん性疼痛と悪液質を模倣する、神経浸潤マウスモデルができた。神経浸潤はヒト膵がん組織の形態学的特徴であり、ほぼ全例に認められる。本モデルでは、形態学的にもヒト膵がん神経浸潤と同じ形態像を示しており、ヒト膵がんのモデルとして妥当と考えられる。本モデルで明らかになった点の一つは、神経浸潤を示している領域の脊髄では、グリア細胞の活性化が認められており、これらの脊髄における炎症性変化が、がん患者に特徴的ながん性疼痛（異痛）の原因になっている可能性が示された。今回目指した脊髄や脳に特徴的な変化が可視化出来れば、ヒト膵がん神経浸潤とその神経に対する脊髄や脳に対する影響を可視化することが可能になり、ひいてはヒト膵がん患者の新しい診断・治療に貢献できると考えられる。

E. 結論

今回作製した動物モデルはヒト膵臓がんの神経浸潤とがん性疼痛だけでなく、悪液質モデルとして世界で初めてになるモデルが作製されたと考えられる。膵臓がん患者では、本モデルで確認されたように、がん浸潤に関わる脊髄レベルにおけるグリア細胞の活性化が引き起こされ、その結果、がん患者に特徴的な疼痛が引き起こされている可能性が示された。また、今後、脳内分子の悪液質に関わる変化を代謝分子レベルで可視化出来るように、MRを用いて分子可視化の可能性について検討する意義が十分にあると考えられる。

F. 健康危険情報

特記すべきことなし。

G. 研究発表

論文発表

1. Mitsunaga S, Fujii S, Ishii G, Kinoshita T, Hasebe T, Aoyagi K, Sasaki H, Ochiai A. Nerve invasion distance is dependent on laminin gamma2 in tumors

of pancreatic cancer. Int J Cancer. 127(4):805-19, 2010.

学会発表

なし。

H. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む)

1. 特許取得
なし。
2. 実用新案登録
なし。
3. その他
特記すべきことなし。

Ⅲ. 研究成果の刊行に関する一覧表

研究成果の刊行に関する一覧表

書籍（日本語）

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
小川朝生	心のケアの考え方 精神心理的苦痛のアセスメント	小川朝生, 内富庸介	精神腫瘍学ポケットガイド これだけは知っておきたい がん医療における心のケア	創造出版	東京	2010	36-52
小川朝生	せん妄への対応	小川朝生, 内富庸介	精神腫瘍学ポケットガイド これだけは知っておきたい がん医療における心のケア	創造出版	東京	2010	61-80
小川朝生	認知症への対応	小川朝生, 内富庸介	精神腫瘍学ポケットガイド これだけは知っておきたい がん医療における心のケア	創造出版	東京	2010	81-90
小川朝生	コンサルテーションの基本	大西秀樹	専門医のための精神科臨床 リュミエール24 サイコオンコロジー	中山書店	東京	2010	13-25
和田徳昭, 他	3. 外科治療 Q4	伊藤良則, 岩瀬拓士	乳癌診療 こんなときどう する Q&A	中外医学社	東京	2010	137-139

雑誌（外国語）

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Shimizu K, Ogawa A, et al	Feasibility and usefulness of the 'Distress Screening Program in Ambulatory Care' in clinical oncology practice	Psychooncology	19	718-725	2010
Asai M, Ogawa A, Shimizu K, et al	Psychiatric disorders and stress factors experienced by staff members in cancer hospitals: a preliminary finding from psychiatric consultation service at National Cancer Center Hospitals in Japan	Palliat Support Care	8	291-295	2010
Ogawa A, Shimizu K, et al	Involvement of a psychiatric consultation service in a palliative care team at the Japanese cancer center hospital	Jpn J Clin Oncol	40	1139-1146	2010
Matsumoto Y, Shimizu K, et al	Suicide associated with corticosteroid use during chemotherapy: case report.	Jpn J Clin Oncol	40	174-176	2010

Akechi T, <u>Shimizu K</u> , et al	Gender differences in factors associated with suicidal ideation in major depression among cancer patients.	Psychooncology	19	384-389	2010
Yamauchi C, <u>Wada N</u> , et al	E-cadherin expression on human carcinoma cell affects trastuzumab-mediated antibody-dependent cellular cytotoxicity through KLRG1 on NK cells	Int J Cancer	29	91-99	2010
Fukaya R, <u>Yamaguchi M</u> , et al	Isolation of cancer stem-like cells from a side population of a human glioblastoma cell line, SK-MG-1.	Cancer Lett	29	150-157	2010
Furuta T, <u>Yamaguchi M</u> , et al	In Vivo Evaluation of Exocytic Activity in Kupffer Cells Using Superparamagnetic Iron Oxide-Enhanced Magnetic Resonance Imaging; an Experimental Study on Gadolinium Chloride-Induced Liver Injury in Rats	Proc Intl Soc Mag Reson Med	18	2625	2010
<u>Yamaguchi M</u> , et al	In Vivo Prediction of Spermatogenesis in Seminiferous Tubules Using High-Resolution Magnetic Resonance Imaging and Machine-Learning Techniques in Combination	Proc Intl Soc Mag Reson Med	18	2690	2010
Nabetani A, <u>Yamaguchi M</u> , et al	Multiple-Animal MR Imaging Performed Using a 3-Tesla Whole-Body Scanner: A Feasibility Study Using a 16-Channel Array Coil	Proc Intl Soc Mag Reson Med	18	1488	2010
<u>Yamaguchi M</u> , et al	Precise Co-Registration of SPECT and MRI for Small Animal Imaging Using a Common Animal Bed with External References: Visualization of Macrophage Distribution Within Inflammatory Lymph Nodes	Proc Intl Soc Mag Reson Med	18	3963	2010
Nakagami R, <u>Yamaguchi M</u> , Hirayama A, et al	Small Animal MR Imaging Using a 3.0 Tesla Whole Body Scanner: Rapid B1+ Field Mapping for Quantitative MRI	Proc Intl Soc Mag Reson Med	18	2846	2010
Mitsunaga S, <u>Ochiai A</u> , et al	Nerve invasion distance is dependent on laminin gamma2 in tumors of pancreatic cancer.	Int J Cancer.	127	805-819	2010

雑誌（日本語）

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
高橋真由美, <u>小川朝生</u> , 他	【うつを診る】 各領域におけるうつ病診療とその対策の実際 緩和ケア領域におけるうつ病	総合臨床	59	1224-1230	2010
<u>小川朝生</u>	精神科医への期待 いま進められている事業から	精神神経学雑誌	112	1010-1017	2010
大谷恭平, <u>小川朝生</u> , 他	サバイバーにおける認知機能障害	腫瘍内科	5	202-210	2010
<u>小川朝生</u>	在宅ケア各論 第5回	温	5	13-15	2010
<u>小川朝生</u>	【がんの告知と看護師の役割 看護師のコミュニケーション技術】医療者間のコミュニケーション	がん看護	15	50-52	2010
白井由紀, <u>小川朝生</u> , 他	がん治療中の患者の精神症状	エビデンスにもとづいた Oncology Nursing	総集編	163-167	2010
白井由紀, <u>小川朝生</u>	がんチーム医療におけるコミュニケーション・スキル	Oncology Nursing	1	22-25	2010
清水 研	がん患者の精神症状とそのスクリーニング	臨床精神薬理	13	1287-1294	2010
清水 研	サバイバーとサバイバーシップ	腫瘍内科	5	95-99	2010
清水 研	がん患者に合併する抑うつ-臨床の実際	分子精神医学	11	81-83	2011
藤井博史, <u>山口雅之</u> , 他	分子イメージングの進歩	小児外科	42	2010-2016	2010

