

## 論文審査の結果の要旨

氏名：小野 かおり

博士の専攻分野の名称：博士（獣医学）

論文題名：犬の脳疾患に対する磁気共鳴スペクトロスコピー(MRS)の有用性に関する研究

審査委員：（主査） 教授 亘 敏 広

（副査） 教授 杉 谷 博 士

准教授 北 川 勝 人

教授 中 山 智 宏

近年、人において脳神経疾患の診断技術は飛躍的に発展している。MRIは古くから神経疾患の診断に利用されており、この原理を応用して様々な特殊撮影法が開発されている。その中の1つであるMRSは、非侵襲的に組織内の代謝物質をスペクトル波形として抽出する。MRSにより様々な代謝物質が測定され、特に臨床応用されている代謝物質は、神経細胞の指標であるNAA、細胞膜の構成要素であるCho、細胞におけるエネルギー貯蔵の指標であるCr、低酸素や壊死により出現するLac、特異的な代謝経路を持つ病変で産生されるAla、および炎症や壊死により出現するLipがある。NAA、ChoおよびCrは正常な脳において検出されるが、Lac、AlaおよびLipが検出されることはほとんどない。これら抽出した代謝物質の変化を解析することによって、通常行われるMRI検査では類似した所見を呈する脳疾患を鑑別することができる。例として、人の脳腫瘍における典型的なスペクトルでは、神経細胞障害によるNAAの低下、腫瘍細胞増殖によるChoの上昇、脳もしくは腫瘍組織の壊死によるLacおよびLipの出現といった変化が観察される。このような代謝物質の変化は疾患によって異なるため、人においてMRSは様々な脳疾患に対し鑑別診断法として臨床応用されている。犬の脳疾患には人と同様に脳腫瘍、脳炎などの疾患が多く存在する。本研究では、犬における脳疾患の鑑別診断にMRSが有用となる可能性があると考え検討した。

### 1. 健常犬の脳におけるMRSの基礎的検討

健常な人の脳において、年齢および部位の違いにより代謝物質濃度が変化することが知られている。このような変化を理解しておくことは、MRSの結果を解釈する上で重要である。犬においても年齢および部位による違いが存在すると推測できるが、現在までこの違いについて調査した報告はない。本章では犬の脳疾患を診断する上でMRSを適切に使用するため、健常犬を用いて年齢および部位によるMRS所見の違いについて検討した。検体は神経学的検査、血液検査および頭部MRI検査にて異常が認められなかったビーグル犬15頭を対象とした。年齢による違いを調べるために若齢群（全頭2か月齢）、成犬群（平均4.5歳齢）および老齢群（全頭12歳齢）の3群に5頭ずつ分類した。さらに、部位による違いを調べるために前頭葉、後頭葉および小脳の3か所を測定した。本研究において測定時に示される代謝物質の値は絶対濃度ではなく信号強度であるため、脳疾患が存在していても比較的安定しているCrを内部基準とした比率を測定値とした。評価項目はNAA/Cr、Cho/Cr、Lac・Ala/CrおよびLip/Crの4項目に加え、生存細胞に対する神経細胞の割合を示すNAA/Choの5項目とした。結果の統計解析には、ステップワイズ法を用いた重回帰分析を行なった。年齢による違いにおいて、若齢群のCho/Crは他群と比較して有意に高値であった（ $P < 0.001$ ）。また、若齢群（ $P < 0.001$ ）および老齢群（ $P = 0.04$ ）のNAA/Choは、成犬群と比較して有意に低値であった。若齢群にみられた変化は、生後脳発達に伴う髄鞘化による細胞膜生成および破壊サイクルの亢進に起因するChoの上昇によると考えられる。また、Choは細胞膜の崩壊によっても上昇することがわかっており、老齢犬群にみられた変化は加齢性変化である髄鞘の脱落やグリオシスに伴う細胞膜崩壊に起因するChoの上昇によると考えられる。部位による違いでは、前頭葉において有意なCho/Crの高値（ $P < 0.001$ ）およびNAA/Choの低値（ $P < 0.001$ ）が認められた。この変化は、脳の部位における細胞組成の違いを反映していると考えられる。例えばグリア細胞は神経

細胞と比較して有意に高い Cho を含有しているため、測定部位におけるこれら細胞数の違いは、Cho の含有量に影響を及ぼすと考えられる。小脳において有意な NAA/Cr 比の低値 ( $P = 0.02$ ) が認められた。小脳はエネルギー要求が大きいため、他の部位と比較して Cr 濃度が高かったと考えられる。このため、小脳において代謝物質を対 Cr 比により評価する場合は注意が必要である。本研究で得られた健常犬の MRS では、年齢および部位の違いによる代謝物質の変化を示すことができた。

## 2. 脳腫瘍罹患犬における MRS の有用性の検討

人では様々な脳腫瘍に対して MRS を臨床応用しており、腫瘍ごとの特徴的所見が明らかになってきている。犬の脳腫瘍において、比較的発生頻度が高い髄膜腫とグリオーマは、通常行なわれる MRI 検査により鑑別できる場合が多い。しかし、転移性腫瘍は髄膜腫とグリオーマのどちらにも類似した所見を呈することがあるため鑑別が困難である。本章では犬の脳腫瘍に MRS を行ない各腫瘍における代謝物質の変化を解析することにより、脳腫瘍の鑑別における MRS の有用性を検討した。腫瘍症例の内訳は、前頭葉から側頭葉にかけて腫瘍が発生している髄膜腫 7 例、グリオーマ 5 例、転移性腫瘍 4 例であった。症例の平均年齢が 9.7 歳齢であるため、健常群として第 1 章で得られた老齢群の前頭葉データを用いた。結果の統計解析はクラスカル・ウォリス検定を行なった。髄膜腫群では他群と比較して代謝物質比に有意差は認められなかった。本研究において検査した髄膜腫症例は腫瘍が脳の辺縁に発生しており、ボクセル内の半分程度が周囲の脳組織であった。このため、髄膜腫群では健常群に近い結果が示されたと考えられる。一方で、ボクセルに腫瘍を多く含めることができたグリオーマ群および転移性腫瘍群では、有意な代謝物質の変化が認められた。グリオーマ群において Lac・Ala が検出されたのに対し、転移性腫瘍群では Lip が検出された。本研究の症例におけるグリオーマは中心部に大きな壊死巣を形成しており、この部分をとらえたことにより Lac が上昇したと考えられる。一方で、人の転移性腫瘍では、細胞障害やストレス刺激に対する細胞応答によって Lip が出現することが知られている。本研究の症例においても、同様の理由から Lip が検出されたと考えられる。さらに転移性腫瘍では NAA/Cho が健常群と比較して有意に低値 ( $P = 0.039$ ) であった。転移性腫瘍は神経組織由来ではないため、ボクセル内の腫瘍細胞に対する神経細胞の割合が少ないことから NAA/Cho が低値を示したと考えられる。グリオーマにおける Lac・Ala、転移性腫瘍における Lip の検出は 2 つの腫瘍を鑑別する助けになると考えられる。以上のことから、腫瘍の大きさや発生部位により正確な代謝物質を測定できない場合はあるが、犬の脳腫瘍における診断および鑑別に MRS は有用である可能性が示唆された。

## 3. 脳炎罹患犬における MRS の有用性の検討

犬の脳炎は感染性と非感染性に分類される。代表的な非感染性脳炎には NME、NLE および GME などがある。これらの脳炎の診断は MRI と脳脊髄液検査により行なわれるが、各種脳炎の鑑別、特に非感染性脳炎を鑑別することは困難な場合がある。さらに、犬の脳炎における MRI 所見はグリオーマと類似していることがあり、この 2 つの疾患は治療法および予後が異なるため適切な診断が重要である。人では脳炎の診断や、ウイルス性と自己免疫性といった異なる病態による脳炎の鑑別に、さらには腫瘍と脳炎などの鑑別に MRS が有用であるという報告がある。本研究では犬の脳炎における代謝物質の変化を解析し、病態別に群分けしてグリオーマと比較することで MRS が脳炎の診断および鑑別に有用であるかを検討した。犬の感染性脳炎は脳脊髄液による確定診断が可能である場合が多いため、本研究では非感染性脳炎の診断および鑑別に注目して調査を行なった。症例の内訳は、病変の中心が前頭葉に存在する壊死性髄膜脳炎 (NME) 3 例、壊死性白質脳炎 (NLE) 6 例、肉芽腫性髄膜脳脊髄炎 (GME) 3 例であった。症例の平均年齢が 4.4 歳齢であったため、健常群として第 1 章で得られた成犬群の前頭葉データを用いた。また、グリオーマ群として第 2 章で得られたグリオーマ症例のデータを用いた。結果の統計解析にはクラスカル・ウォリス検定を用いた。NME 群において Lip が検出されたのに対し、他群では認められなかった。NME および NLE はどちらも壊死巣を形成するにもかかわらず、NME 群のみ Lip が検出された理由として、壊死の程度の違いが考えられた。MRI 所見では NME 群において壊死巣が顕著であり、一方で NLE 群では壊死巣が大きな症例は 1 例のみであった。Lip は組織障害により非特異的に上昇することから、より重度の NLE や GME では検出される可能性がある。全ての代謝物質比において NLE 群および GME 群では健常群と有意差が認められなかった。これは組織破壊が少ないことを示す。しかし、第 2 章の髄膜腫と同様に炎症病変周囲の正常部分を含んだことが影響していることも考えられる。グリオーマ群では Cho/Cr の高値および NAA/Cho の低値を示す傾向がみられたのに対し、各脳炎群では 2 つの代謝物質比は健常群と近似値を示した。この違いは、脳炎では腫瘍と異なり、著しい細胞増殖が起こっていないため Cho が上昇していなかったことに起因すると考えられる。NME 群と比較してグリオーマ群では

Lac・Ala/Cr の有意な高値 ( $P=0.006$ ) が認められた。グリオーマの中心部は壊死に先行して血流が乏しいことに起因する低酸素により嫌気解糖が起こる。これにより大量の Lac が産生・貯留されたため、Lac・Ala/Cr が高値を示したと考えられる。しかしながら、Lac も Lip と同様に組織破壊によって非特異的に上昇するため、重度の壊死を示す脳炎との比較では有意差がなくなる可能性がある。ただし、脳炎群とグリオーマ群において、グリオーマ群は Cho の上昇所見が認められた。以上のことから、現段階では MRS により犬の脳炎の病態ごとの鑑別はできなかったものの、グリオーマとの鑑別ができる可能性が示唆された。

#### 総括

本研究では、犬の脳における生化学的変化を非侵襲的に測定する方法として MRS に着目し検討した。健常犬の脳において、年齢および部位の違いによる代謝物質の変化が存在することを明らかにできた。犬の脳腫瘍では、Lac・Ala および Lip の出現を観察することでグリオーマおよび転移性腫瘍を鑑別できる可能性を示すことができた。一方、犬の脳炎において現段階では MRS が脳炎の分類に有用であることを示すことができなかった。しかし、Cho/Cr を観察することで脳炎とグリオーマを鑑別できる可能性が示唆された。以上のことから、MRSは犬の脳疾患における鑑別診断方法の 1つとして利用できることが示唆された。

よって本論文は、博士（獣医学）の学位を授与されるに値するものと認められる。

以 上

平成 26 年 2 月 7 日