

C型肝炎ウイルス感染による脳形態的变化の研究
- Surface-based Morphometry を用いた検討 -
(要約)

日本大学大学院医学研究科博士課程

内科系放射線診断学分野専攻

菊田 潤子

修了年 2018 年

指導教員 天野 康雄

1. 緒言

C型肝炎ウイルス (HCV) は中枢神経系に対してヒト免疫不全ウイルス (HIV) と類似したメカニズムが指摘されており、末梢血中では単核球やマクロファージ、B細胞、T細胞などに感染する¹。これらの感染細胞の間でウイルスの遺伝子配列が共有され、血液脳関門においてHCVの侵入が容易となる。HCVは血液脳関門を通過すると、脳内のマクロファージ/ミクログリアやアストロサイトに感染する²。HCV感染患者の剖検例による検討では、脳内にHCVに感染したCD68染色陽性細胞のミクログリアが確認されており、HCVに感染することにより、脳内でのミクログリアの機能障害が起こると考えられている¹。また、*in vitro*では、HCVに感染したマクロファージがtumor necrosis factor- α やinterleukin (IL) -1、IL-6、IL-8などの炎症性サイトカインを誘起するとの報告がある³。さらに、HIVとの混合感染によって、炎症性サイトカインの活性化が促進され、中枢神経障害がより重篤になる^{1,4}。Marslandらは、炎症性サイトカインの病的な活性化により、大脳皮質や白質容積、海馬の容積と表面積の低下が起こると報告している⁵。

慢性C型肝炎患者の半数以上に“brain fog”と呼ばれる易疲労感、記憶障害、集中力障害などの精神神経症状が起こり、約1/3に言語や作業記憶に関する記憶障害が生じる。その他、HCV感染に関連して様々な神経・精神症状や筋障害が起こる²。近年では、Heerenらが、慢性C型肝炎患者における2-deoxy-2- [fluorine-18] fluoro- D-glucose computed tomographyで、上中前頭回、前帯状回、海馬や海馬傍回にグルコースの代謝低下、パーキンソン病やパーキンソン症候群との併発例は除外したにも関わらず、ドパミントランスポーターシンチグラフィで線条体にドパミンの集積低下があったと報告している⁶。また、慢性C型肝炎患者では大脳皮質の脳血流量が低下するとの報告がある⁴。さらに事象関連電位を用いた検討として、Kramerらは慢性C型肝炎患者にP300波の振幅低下やピークの遅延があるとし⁷、側頭-頭頂接合部とその隣接皮質の形態的变化が推測されている⁸。亀井らは、慢性肝炎の重症度が進むに従って、インターフェロン治療により脳波に変化が起きると報告している⁹。しかしこれまで、慢性C型肝炎患者に対して大脳皮質の画像解析を行った報告例は限られている。既報告では、SarmaらがVoxel-based morphometry (VBM) を用いた画像解析を行い、両側大脳

皮質の広範な皮質容積低下を報告しているが¹⁰、Surface-based morphometry (SBM) を用いた調査は本研究が初めてである。

SBM を用いた研究としては、Montoliu らが HCV、B 型肝炎ウイルスあるいはアルコールを原因とした肝硬変を有し、顕性の肝性脳症がない症例に、左上側頭回と右楔前部に皮質厚の減少を観察している¹¹。ただし、彼らの症例では肝障害の原因は様々であり、その程度も重症である。いずれにせよ、その研究で使用した SBM は大脳皮質表面を小さな三角形のメッシュ構造に再構成し、各頂点のタライラッハ座標軸 (X, Y, Z) を元に個々の大脳皮質表面積、皮質厚および皮質容積を計測する方法である。ボクセルごとに統計解析を行う VBM は大脳皮質の形態を丸く変形するので、脳回や脳溝に関する複雑な変化はわからないが、SBM は脳襲の幾何学的な構造上変化を詳細にとらえることができる¹²⁻¹⁴。Query, Design, Estimate, and Contrast (QDEC) 解析法は、一般化線形モデル (General Liner Model : GLM) によりデータが正規分布を示すかどうかに関わらず解析が可能であり、SBM で得られた各頂点の座標軸データを用いて、自動的に統計解析を行うことができる。脳地図には大脳半球を脳回や脳溝に沿って 34 分割した

Desikan-Killiany atlas が用いられ、34 領域における大脳皮質の脳表面積値や皮質厚値、皮質容積値などの群間比較ができる。以上の手法をもとに、今回我々は、日常臨床で使用している頭部 MRI 画像を SBM で統計解析することで、HCV 感染に関連した症例の大脳皮質の形態的变化を検討した。

2. 対象および方法

[対象] 本研究は後ろ向き研究として、日本大学医学部附属板橋病院に設置された倫理委員会の審査と承認を得て行った (No.RK-160614-7)。日本大学医学部附属板橋病院で、2007 年 1 月 1 日から 2013 年 12 月 31 日までに頭部 MRI の高分解能 3 次元 T1 強調矢状断像 (以下 3D 画像) が撮像されていた 1625 人の患者のうち、以下の基準で疾患群と対照群を選別した。

疾患群の選択基準は、1) 慢性 C 型肝炎の者、2) 抗ウイルス薬治療の既往がない、3) West Haven Criteria に基づいて顕性の肝性脳症は認めない、とした。除外基準は疾患群、対照群共に 1) HIV 陽性、2) 頭蓋内の器質的疾患 (脳腫瘍、脱髄性疾患、神経変性疾患、炎症性疾患など) の存在、3) 精神神経疾患の既往のある者、4) 脳形態に影響のある全身性疾患 (Wilson 病、アルコール多飲歴、内分

泌疾患など)の既往のある者、とした。以上の基準を満たす慢性 C 型肝炎患者 11 人 (年齢 73.4 ± 9.4 歳、男性 2 人、女性 9 人、Child-Pugh 分類 A/B 10/1 人) を疾患群、対照群は B 型及び C 型肝炎ウイルス非感染者 18 人 (69.2 ± 7.6 歳、男性 11 人、女性 7 人) を研究対象とした。

[MRI 撮像] 撮像装置は 1.5 Tesla MRI (MAGNETOM Symphony, Siemens, Erlangen, Germany) で、受信コイルは Circular polarized head array coil であった。撮像条件は以下の通りであった：

繰り返し時間 = 11.08 msec, エコー時間 = 4.30 msec, 反転時間 = 300 msec, フリップ角 = 15° , 撮像視野 = $250 \times 250 \text{ mm}^2$, スライス厚 = 2 mm, acquisition matrix 512×224 , スライス間隔 -1mm, ボクセルサイズ = $0.48 \times 1.12 \times 2.0 \text{ mm}^3$ 。

[画像再構成] 疾患群と対照群の頭部 3D 画像 (DICOM 画像) を Linux workstation (CentOS6.5, 64bit, Intel® Xeon® Processor X5680, 48 G RAM) に転送した。本研究の画像処理や統計解析で用いた FreeSurfer (<http://surfer.nmr.mgh.harvard.edu/>) は、SBM の一つで、Massachusetts General Hospital の研究グループが開発し

たソフトウェアである¹⁵⁻¹⁷。まず、**Reconstruction processing**で画像の補正を行い、大脳以外の頭蓋骨、脳幹部、小脳を除外した。さらに、大脳の表面を三角形のメッシュ構造に再構成し、各頂点のタライラッハ座標軸を元に個々の大脳皮質表面積、皮質厚および皮質容積を算出した。

[統計解析] FreeSurfer の QDEC (1.5 version) を使用し、Desikan-Killiany atlas に基づいた大脳皮質 34 領域における疾患群と対照群の二群間比較を行った。性別と年齢を共変量とし、Full width at half maximum kernel は 10 mm で平滑化、False discovery rate は有意水準 $P < 0.05$ として多重比較補正をした。QDEC における Significant P 値は $-\log_{10}(P \text{ 値})$ を意味し、Significant P 値=3 の場合は $P=0.001$ 、Significant P 値=4 の場合は $P=0.0001$ となる。本研究では、脳表面積は両側 Significant P 値 < 5.50 、両側 Significant P 値の閾値は 2.75、皮質厚は両側 Significant P 値 < 7.01 、両側 Significant P 値の閾値は 3.50 に設定された。そして、疾患群と対照群の間で有意差のあった領域の皮質表面積や皮質厚の平均値と標準偏差を算出した。

3. 結果

疾患群では対照群と比較して、左中側頭回 (Significant P 値 = -4.91, $P < 0.001$)、左上前頭回 (Significant P 値 = -3.77, $P < 0.001$)、左上側頭回 (Significant P 値 = -3.61, $P < 0.001$)、右中心後回 (Significant P 値 = -5.51, $P < 0.001$) に大脳皮質表面積の有意な低下を認めた。また、疾患群では右下頭頂小葉の皮質厚に有意な増加を認めた (Significant P 値 = 5.46, $P < 0.001$)。

4. 考察

HCVはHIVと同様に、脳内のミクログリアやマクロファージに感染し、これらの細胞や炎症性サイトカインの活性化などにより、直接的、間接的に中枢神経系を障害する¹。慢性C型肝炎患者に対する頭部画像解析例は少なく、本研究では日常臨床で使用しているMRI画像を用いて脳形態的変化の評価を試み、特異的な大脳皮質の変化を見出すことができた。慢性C型肝炎患者に対する大脳皮質の形態的変化については、SarmaらがVBM解析を行い、両側大脳皮質の広範な皮質容積低下を報告している¹⁰。しかし本研究では、大脳皮質全体の容積低下は認めなかった。その理由として、まずはHCV感染後の罹病期間や重症度分類、臨床症状の違いが影響していることが推察される。さらに、既報告の統計解析では多重比較補正を行っ

ていないが、本研究は多重比較補正を行っており、検定がより厳密になったためと考えられる。

本研究で解析したSBMの脳表面積は、大脳皮質内の情報処理の最小機能単位と考えられている皮質カラムの数を反映すると推測されている^{14,18}。皮質カラムは直径300~500 μm 程度の円柱状構造で、皮質の6層構造の中を垂直に伸びている。脳表に沿って並列しており、皮質のしゅう曲に関連していると考えられる。そして、皮質カラムの集合体はその局在に対応して機能が分化している。例えば、左中側頭回は顔や言語の認知を司り、会話やコミュニケーション能力に関連する¹⁹。左上側頭回はウェルニッケ野を含んでおり、聴覚からの短期記憶や言語理解に関与する²⁰。また、左上前頭回は作業記憶に関係し²¹、右中心後回は一次体性感覚野である²²。従って、今回の疾患群の左中側頭回、左上側頭回、左上前頭回、右中心後回の脳表面積低下は、皮質カラム数の減少を示唆し、その部位の機能障害が推測された。さらに、本研究の慢性肝炎例は、顕性の肝性脳症やその他の精神神経症状は見られず、前臨床段階と考えられる。より精神神経症状が進行した慢性肝炎例では、皮質表面積の低下だけでなく、皮質容積の低下も現れる可能性がある。

皮質厚は個々の脳表頂部と皮髄境界の距離の平均で算出され、皮質の層構造にある神経細胞やグリア細胞の数を反映している^{14,18}。従って、本研究での右下頭頂小葉の皮質厚の増加は、炎症性サイトカインやグリア細胞などの異常活性や増加などにより、作業注視や空間認識に関連したこの領域の障害を示唆するものと考えられた²³。

本研究の限界は4つある。一つは後ろ向き研究であった点である。そのために HCV のマーカーである遺伝子タイプや RNA 量、易疲労感、うつ、記憶障害の程度を判定する精神神経学的検査の The Word Figure Memory test、Beck's Depression Inventory や Hospital Anxiety and Depression Scale、Fatigue Impact Scale、利き手などのデータが得られなかった。このため、本研究ではこれらの臨床所見と大脳皮質の形態的变化との関連性を評価できず、今後の検討課題である。2 つ目は、疾患群の脳内にあるミクログリアやマクロファージが HCV に感染しているか否かは、実際に剖検を行っていないため、組織的な裏付けはない。3 つ目は、統計解析に用いた QDEC は有意差のある領域しか P 値が出ず、有意でない領域に関しては評価できない点である。4 つ目は、疾患群と対照群の

男女比がマッチされていない点である。5 つ目は、症例数が少ない点であり、将来的にはさらに症例数を増やし、大脳皮質面積が変化した領域と臨床経過との検討が必要と思われる。

5. 結語

本研究では、慢性C型肝炎患者において言語領域を主体とした大脳皮質の形態的变化が認められた。これらの変化はHCV感染によって惹起された中枢神経障害の影響が考えられた。

引用文献

1. Tomasz L, Marek R, Debra M, et al. Emerging evidence of hepatitis C virus neuroinvasion. *AIDS*. 2005; 19(3): 140-144.
2. Monaco S, Ferrari S, Gajofatto A, et al. HCV-related nervous system disorders. *Clin Dev Immunol*. 2012; 236148.
3. Cacciarelli TV, Martinez OM, Gish RG, et al. Immunoregulatory Cytokines in Chronic Hepatitis C Virus Infection: Pre- and Posttreatment With Interferon Alfa. *Hepatology*. 1996; 24(1): 6-9.
4. Yarlott L, Heald E, Forton D. Hepatitis C virus infection, and neurological and psychiatric disorders - A review. *J Adv Res*. 2017; 8: 139-148.
5. Marsland AL, Gianaros PJ, Kuan DC, et al. Brain morphology links systemic inflammation to cognitive function in midlife adults. *Brain Behav Immun*. 2015; 48: 195-204.
6. Heeren M, Weissenborn K, Arvanitis D, et al. Cerebral glucose utilisation in hepatitis C virus infection-associated encephalopathy. *J Cereb Blood Flow Metab*. 2011; 31: 2199-2208.
7. Kramer L, Bauer E, Funk G, et al. Subclinical impairment of brain

- function in chronic hepatitis C infection. *Journal of Hepatology*. 2002; 37: 349-354.
8. 入戸野宏. P300 応用 : 認知科学の立場から. *臨床神経生理*. 2015; 41(2): 86-92.
 9. Kamei S, Morita A, Tanaka N, et al. Relationships between Quantitative Electroencephalographic Alterations and the Severity of Hepatitis C Based on Liver Biopsy in Interferon- α Treated Patients. *Internal Medicine*. 2009; 48: 975-980.
 10. Sarma MK, Nagarajan R, Hinkin CH, et al. Voxel-Based Morphometric Analysis of Brain Volumetry and Diffusivity in Hepatitis C. *Proc. Intl. Soc. Mag. Reson. Med*. 2010; 18: 2426.
 11. Montoliu C, Gonzalez-Escamilla G, Atienza M, et al. Focal cortical damage parallels cognitive impairment in minimal hepatic encephalopathy. *Neuroimage*. 2012; 61: 1165-1175.
 12. Voets NL, Hough MG, Douaud G, et al. Evidence for abnormalities of cortical development in adolescent-onset schizophrenia. *Neuroimage*. 2008; 43: 665-675.
 13. Worker A, Blain C, Jarosz J, et al. Cortical thickness, surface area and volume measures in Parkinson's disease, multiple system atrophy and progressive supranuclear palsy. *PLoS One*. 2014; 9: e114167.
 14. Riccelli R, Toschi N, Nigro S, et al. Surface-based morphometry reveals the neuroanatomical basis of the five-factor model of personality. *Soc Cogn Affect Neurosci*. 2017; 12(4): 671-684.
 15. Dale AM, Fischl B, Sereno MI. Cortical surface-based analysis I: Segmentation and surface reconstruction. *Neuroimage*. 1999; 9(2): 179-194
 16. Fischl B, Sereno MI, Dale AM. Cortical surface-based analysis II: Inflation, Flattening, and a surface-based coordinate system. *Neuroimage*. 1999; 9: 195-207
 17. Fischl B, Dale AM. Measuring the thickness of the human cerebral cortex from magnetic resonance images. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2000; 97: 11050-11055.
 18. Rakic P. Evolution of the neocortex: a perspective from developmental biology. *Nat Rev Neurosci*. 2009; 10: 724-735.

19. Yun JY, Kim JC, Ku J, et al. The left middle temporal gyrus in the middle of an impaired social-affective communication network in social anxiety disorder. *J Affect Disord.* 2017; 214: 53-59.
20. Leff AP, Schofield TM, Crinion JT, et al. The left superior temporal gyrus is a shared substrate for auditory short-term memory and speech comprehension: evidence from 210 patients with stroke. *Brain.* 2009; 132: 3401-3410.
21. Boisgueheneuc F, Levy R, Volle E, et al. Functions of the left superior frontal gyrus in humans: a lesion study. *Brain.* 2006; 129: 3315-3328.
22. Ogino Y, Nemoto H, Goto F. Somatotopy in human primary somatosensory cortex in pain system. *Anesthesiology.* 2005; 103: 821-827.
23. Singh-Curry V, Husain M. The functional role of the inferior parietal lobe in the dorsal and ventral stream dichotomy. *Neuropsychologia.* 2009; 47: 1434-1448.