

大脳基底核標本の 21.1 テスラ MRI とその病理対応： レヴィ小体型認知症

藤岡 伸助¹⁾ Melissa E Murray²⁾ Parastou Foroutan³⁾⁴⁾ Katherine J Schweitzer¹⁾⁵⁾
Dennis W Dickson²⁾ Samuel C Grant³⁾⁴⁾ Zbigniew K. Wszolek^{1)*}

要旨：脳実質には鉄、フェリチン、マンガン、および銅などの常磁性物質が存在する。われわれはレヴィ小体型認知症 (DLB) 1 例と正常対照 1 例の固定脳標本大脳基底核における常磁性物質の沈着を、21.1 テスラ MRI をもちいて評価し、さらに同じ検体に Prussian blue 染色をおこない Fe³⁺の沈着を病理学的に評価した。DLB 患者の大脳基底核における信号雑音比と緩和時間は、対照例と比較して全領域で低かった。同検体の Prussian blue 染色性は DLB 症例において対照例よりも高く、組織への Fe³⁺沈着と T₂* 値の低下の間に相関がえられた。この高磁場 MRI の技術が、神経変性プロセスにかかわる Fe³⁺の役割の解明に役立つことが期待される。

(臨床神経 2011;51:603-607)

Key words：レヴィ小体型認知症、高磁場MRI、21.1テスラ、大脳基底核、Prussian blue染色

はじめに

レヴィ小体型認知症 (dementia with Lewy bodies : DLB) は、神経変性性認知症の中でアルツハイマー病について 2 番目に多い疾患であり、全認知症の 20% を占める¹⁾。DLB は変動する認知機能、パーキンソン症候群、鮮明な幻視、抗精神病薬への過敏性などを呈し、その病理所見は、 α -シヌクレインおよび ubiquitin 陽性のレヴィ小体とレヴィ神経突起が、新皮質、皮質下、および脳幹にみられることを特徴とする¹⁾。その原因は α -シヌクレインの機能異常に求められているが、正確なメカニズムはまだ解明されていない。DLB は認知症と運動症状の出現する時期において、認知症をともなうパーキンソン病 (Parkinson's disease dementia : PDD) とは区別されるが、両者ともに新皮質にレヴィ小体を高頻度にとめるなど病理学的にことなる点は少ない。DLB を PDD と、または進行性核上性麻痺やアルツハイマー病などのレヴィ小体をともなわない疾患と鑑別するために様々な臨床検査が試みられてきたが²⁾、確定診断ははまだ病理所見によらざるをえない。

この報告では、21.1 テスラ (900MHz) という、100 μ m よりもさらに精細な評価をおこなうことが可能であり、臨床用 MRI 以上の画像コントラストを生み出すことができる超高

磁場 MRI³⁾⁴⁾で検索した DLB 症例脳標本の大脳基底核を呈示する。われわれは、DLB 症例と正常対照症例間の MRI の信号雑音比 (signal-to-noise ratio : SNR) と緩和時間の相違を定量的に評価し、また Prussian blue 染色をもちいて、その相違における Fe³⁺沈着の役割を検討した。

対象と方法

対象：病理的に診断された DLB 患者と、神経変性疾患の既往がない正常対照患者の大脳基底核を対象検体として採取した。DLB 症例は 87 歳で死亡した男性で、81 歳時には軽度の認知機能障害と筋強剛や運動緩慢などのパーキンソニズムを呈しており、後者に対する抗パーキンソン薬への反応性は乏しかった。また不眠症、幻視、嗅覚障害をみとめた。病状は徐々に進行し、病終期には高度の認知機能障害と運動機能障害を呈した。剖検時の脳重は 1,240g で、肉眼的には前頭葉の軽度萎縮、および黒質と青斑核における色素減弱をみとめた。組織学的には脳幹から大脳皮質にかけてびまん性にレヴィ小体のみとめ、また老人斑を散在性にみとめた。病理学的に、軽度のアルツハイマー型老年性変化をともなった diffuse neocortical type の DLB と診断した。対照症例は、子宮頸部の扁平上皮癌再発に対する手術中および手術後の腹腔内出血によ

*Corresponding author: Department of Neurology, Mayo Clinic Jacksonville (4500 San Pablo Road, Cannaday Bldg 2-E, Jacksonville, FL, 32224)

¹⁾Department of Neurology, Mayo Clinic

²⁾Department of Pathology and Neuroscience, Mayo Clinic

³⁾National High Magnetic Field Laboratory, Florida State University

⁴⁾Department of Chemical & Biomedical Engineering, FAMU-FSU College of Engineering, Florida State University

⁵⁾Center of Neurology, Department of Neurodegeneration and Hertie Institute of Clinical Brain Research, University of Tübingen (受付日 : 2011 年 1 月 24 日)

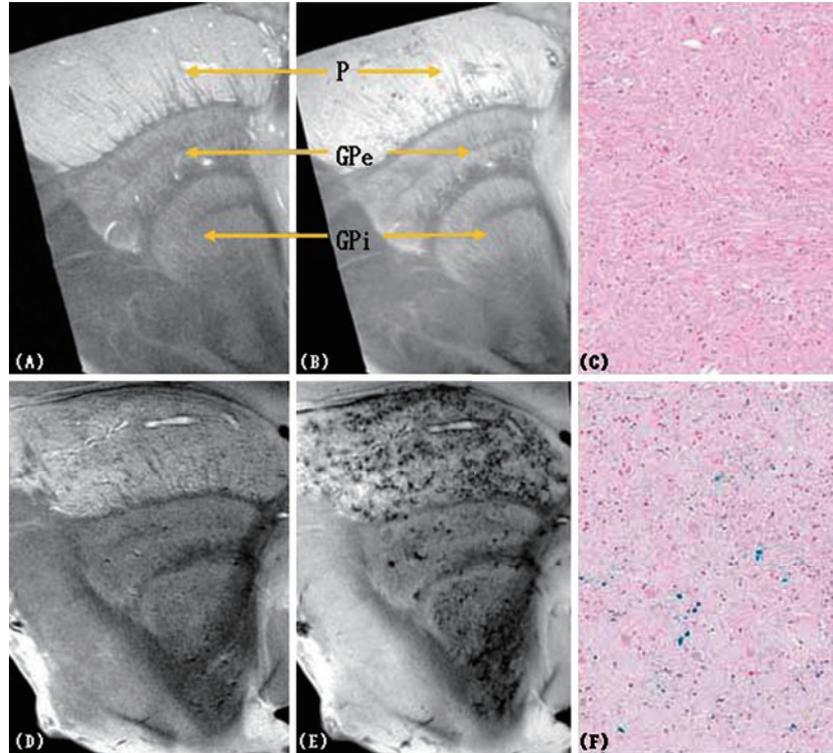


Fig. 1 MRI and pathological findings of a DLB and a neurologically normal control case. T_2 weighted images (MSME sequence acquired at 21.1 T: TR=2.5 s; TE=7.9ms; resolution=100×100×550 μ m) of the basal ganglia (BG) of a control case (A) and a DLB case (D). T_2^* weighted images (MGE sequence acquired at 21.1 T: TR=750 ms; TE=3.5 ms; resolution=100×100×550 μ m) of the basal ganglia (BG) of a control case (B) and a DLB case (E). Compared to the control case, there are diffuse and patchy lower signal intensity regions in the BG of the DLB case, which is more remarkable in the T_2^* weighted images. Corresponding Prussian blue staining of globus pallidus internal (GPi) of the control case (C) and DLB case (E) (magnification ×10). There are several blue areas indicating the existence of iron diffusely in the GPi of the DLB case while there are less of these blue regions present in the BG of the control case.

り65歳で死亡した女性で、神経変性疾患の既往はなかった。脳重は1,200gで、肉眼的、組織学的に有意な異常所見はみられなかった。

方法：淡蒼球内節 (globus pallidus internal : GPi)、淡蒼球外節 (globus pallidus external : GPe) および被殻 (putamen : P) をふくむ大脳基底核を剖検脳から採取して使用した。検体はリン酸緩衝食塩水 (phosphate-buffered saline : PBS) で固定後、専用のプラスチックカセットにいれ4℃で保管した。MRI施行直前に検体をPBSで洗浄し、また室温でフロリネートに45分間漬けることにより標本の表面や亀裂部位に付着した気泡を除去した。Bruker Avance III spectrometer (Bruker Biospin, Billerica, MA) と RRI microimaging gradients (Resonance Research, Inc., Billerica, MA) をもちいて、この検体にMRI T_2 および T_2^* 強調撮像をおこなった。 T_2 weighted multi-slice multi-echo sequences (MSME) はくりかえし時間 (Repetition Time : TR) が2.5s、エコー時間 (Echo time : TE) が7.9~94.8msの範囲で、100×100×500 μ mの解像度をえた。このスピネコー変法は、このTEの範囲で12

個のエコーを生み出すために、180度ラジオ波パルス (Radiofrequency pulse ; RF) と、7.9msという最小限の内部エコー間隔を利用した。 T_2^* weighted multiple gradient echo (MGE) は、TR=0.75s、TEが3.5~45.5msの範囲で画像をえた。MGEは、60度のexcitation flip angleをもちいることにより、変動するgradient pulseと前述したTE範囲で7msの内部エコー間隔により作り出された。また T_2 および T_2^* 緩和時間は、各構造に手動で描いた関心領域 (range of interest : ROI) と、常磁性物質マッピングのためのpixel-by-pixelの解析をもちいて、一つの指数回帰モデルにより調整した。 T_2 および T_2^* 強調画像の信号強度は、病理組織とコントロールの組織間でのSNRを比較するためにもちいた緩和時間測定のためのROIと同じROIをもちい、背景のnoiseに応じて定量化した。

MRI検査後の検体をパラフィンで固定、5 μ m厚でスライスし、 Fe^{3+} の検出を目的とするPrussian blue染色をおこなった⁹⁾。ScanScope (Aperio, Vista, CA) にてスライドの画像をコンピューターに取り込み、MRIと同様にROIを設定し、そ

Table 1A Quantitative MRI Comparing DLB to Control.

Region	Signal-to-Noise Ratios		Relaxation times	
	MSME	MGE	T ₂	T ₂ *
P	- 30.20%	- 33.70%	- 33.50%	- 66.50%
GPe	- 30.20%	- 30.50%	- 36.40%	- 62.20%
GPI	- 25.80%	- 37.90%	- 35.00%	- 58.10%

The relative magnetic resonance signal-to-noise ratios and relaxation times for T₂ and T₂* weighted datasets between DLB and control samples.

P: putamen, GPe: globus pallidus external, GPI: globus pallidus internal, MSME: multi-slice multi-echo, MGE: multiple gradient echo.

の範囲内の染色性を Aperio Image Scope で定量した。この研究は、メイヨクリニックの IRB (Institutional review board) 委員会から承認をえた。

結 果

21.1 テスラ 超高磁場 MRI の T₂ および T₂* 強調画像によって、固定した脳標本の 大脳基底核のそれぞれの領域 (GPI, GPe, P) は明確に識別され、淡蒼球と被殻を連絡する線維 (pencil fiber tracts) を確認できる高解像度の画像をえることができた (Fig. 1A, B, D, E)。正常対照症例 (Fig. 1A, B) と比較して、DLB 症例の大脳基底核にはびまん性の散在性低信号斑がみとめられ (Fig. 1D, E)、その所見は T₂* 強調画像において顕著であった。この T₂ および T₂* 強調画像で検出された SNR と緩和時間を DLB 症例と正常対照例で比較した (Table 1A)。DLB 症例の SNR と緩和時間は、コントロール症例と比較して基底核内の全領域で低く、緩和時間は T₂* 強調画像でより短い傾向がみられた。

Fig. 1C, F は、それぞれ DLB 症例とコントロール症例 GPI の Prussian blue 染色による病理所見である。DLB 症例では Fe³⁺ の存在を示す青色の染色部位をびまん性にみとめた。AIS による評価では、大脳基底核内のすべての領域において、Prussian blue 染色陽性部位の割合は DLB が正常対照よりも高かったが、もっとも陽性率が高い領域は GPI であった。GPI より程度は低いものの、GPe, P においても Fe³⁺ の含量は増加していた (Table 1B)。

考 察

今回のパイロット研究で、われわれは正常対照例と DLB 症例の大脳基底核を、まったく同じ条件と方法の下で 21.1 テスラ MRI によって分析した。それぞれの組織は、プロトン化されていないフッ素化炭素の溶液に浸すことで、RF コイルの負荷と B0 field の不均一さを軽減した⁵⁾。また両サンプルともに、同じ RF コイルとマグネットシステム、およびパルスシーケンスをもちいて分析した。これらの条件下では、T₂ および T₂* 強調画像における信号強度と、さらに重要となる SNR を正確に定量することができる⁶⁾。

Table 1B Prussian blue in DLB.

Region	DLB	Control	DLB/Control
P	1.42	0.29	390%
GPe	3.43	0.41	737%
GPI	4.87	0.47	936%

Histological data of Prussian Blue (PB) staining. Percentage of positive area for PB staining in each lesion in a DLB case and a control case and the relative histological datasets between the two cases.

DLB: dementia with Lewy bodies, P: putamen, GPe: globus pallidus external, GPI: globus pallidus internal, MSME: multi-slice multi-echo, MGE: multiple gradient echo.

DLB 症例の大脳基底核は正常対照例と比較して、T₂ および T₂* 強調画像で信号強度および SNR の低下をみとめた。同標本の Prussian blue 染色では、DLB 症例において Fe³⁺ の沈着が示された。組織への鉄の沈着は、フェリチンにより生じる局所の磁気勾配を通じた水分子の拡散を介して信号減衰をひきおこす⁷⁾。鉄は正常脳実質において、とくに淡蒼球、赤核、黒質、被殻、および尾状核に高濃度に存在し、基底核への鉄沈着は一般的に年齢とともに増加する⁸⁾。生理的な量の鉄は、tyrosine hydroxylase のような神経伝達物質合成酵素の補助因子として働き、脳の発達とその機能の維持のために必須である⁹⁾¹⁰⁾。一方、過剰な鉄、とくに不安定鉄は酸化ストレスを増幅するため¹¹⁾、パーキンソン病をふくむ神経変性疾患の発症に関与する可能性が高いと考えられている¹²⁾。組織中の鉄は遊離鉄だけではなく、フェリチン、ヘモシデリン、βアミロイドプラーク、α-シヌクレインなどにふくまれる形で存在する⁹⁾。

1986 年以来、脳実質内に蓄積する鉄検出のために多くの MRI 研究がおこなわれてきた¹³⁾。しかし、DLB における鉄の変化についての報告は非常に少ない。DLB は、レヴィ小体病理に関連するいくつかの特徴をパーキンソン病と共有しており、酸化ストレスにおいてもパーキンソン病と同様の研究結果がえられている¹⁴⁾。したがって、鉄の蓄積や代謝に関しても、DLB とパーキンソン病は類似点を持っている可能性がある。われわれは、今回の MRI における DLB 症例と正常対照例間の信号強度の相違は、DLB における大脳基底核内の Fe³⁺ の集積を反映している可能性があると考えている。同標本の Prussian blue 染色による鉄の陽性率は DLB 症例において正常対照例よりも高く、この見解を支持している。

しかし大脳基底核を GPI, GPe, および P の領域ごとに比較すると、定量化した SNR および T₂ 緩和に関しては領域差をみとめないのに対して、Prussian blue の染色性は GPI でもっとも高く、両者の間に良好な相関はえられなかった。これは、組織内における鉄の存在形態、あるいはフェリチン、マンガ、銅など、鉄以外の常磁性の物質が信号強度と緩和時間に影響している可能性も考えられる¹⁵⁾¹⁶⁾。また、Prussian blue 染色が、組織中のすべての鉄を検出できるほど十分な感度を持たない可能性も否定できない。しかし、基底核の 3 領域におい

て、 T_2^* 緩和と組織学的に確認された Fe^{3+} の沈着の間には強い線形相関($R^2=0.98$)がえられた。このことから、DLB症例の大脳基底核においては、 Fe^{3+} の負荷が、非常に高い磁場と、磁場を貫く感受性ベースの超常磁性を形成する主な要因と考えられる。しかしながら、現時点では、フェリチン、ヘモシデリン、 β アミロイドプラーク、 α -シヌクレインなどの、特定の物質内に存在する Fe^{3+} が生み出すコントラストや緩和の変化に関する情報がなく、組織をもちいたより大きなコホート研究が必要と考えられる。

われわれは、観察されたMRIの変化の本質を理解し、さらに疾患の持つ特有性を立証するために、DLBをふくめた神経変性疾患に対してこの放射線学的病理学的解析を進めているところである。

文 献

- 1) McKeith IG, Galasko D, Kosaka K, et al. Consensus guidelines for the clinical and pathologic diagnosis of dementia with Lewy bodies (DLB): report of the consortium on DLB international workshop. *Neurology* 1996;47:1113-1124.
- 2) Small GW, Bookheimer SY, Thompson PM, et al. Current and future uses of neuroimaging for cognitively impaired patients. *The Lancet Neurology* 2008;7:161-172.
- 3) Schepkin VD, Brey WW, Gor'kov PL, et al. Initial in vivo rodent sodium and proton MR imaging at 21.1 T. *Magnetic Resonance Imaging* 2010;28:400-407.
- 4) Schweitzer KJ, Foroutan P, Dickson DW, et al. A novel approach to dementia: High Resolution 1H MRI of the Human Hippocampus Performed at 21.1 T. *Neurology* 2010;74:1654.
- 5) Ma Y, Hof PR, Grant SC, et al. A three-dimensional digital atlas database of the adult C57BL/6J mouse brain by magnetic resonance microscopy. *Neuroscience* 2005;135:1203-1215.
- 6) Tyszka JM, Fraser SE, Jacobs RE. Magnetic resonance microscopy: recent advances and applications. *Current Opinion in Biotechnology* 2005;16:93-99.
- 7) Schuff N. Potential role of high-field MRI for studies in Parkinson's disease. *Movement Disorders* 2009;24 Suppl 2:S684-690.
- 8) Aquino D, Bizzi A, Grisoli M, et al. Age-related iron deposition in the basal ganglia: Quantitative analysis in healthy subjects. *Radiology* 2009;252:165-172.
- 9) Zecca L, Gallorini M, Schunemann V, et al. Iron, neuromelanin and ferritin content in the substantia nigra of normal subjects at different ages: consequences for iron storage and neurodegenerative processes. *Journal of Neurochemistry* 2001;76:1766-1773.
- 10) Oka K, Kato T, Takita T, et al. Inhibition of tyrosine hydroxylase, a Fe (II)-stimulated monooxygenase, by bleomycin. *The Journal of Antibiotics* 1980;33:1043-1047.
- 11) Wypijewska A, Galazka-Friedman J, Bauminger ER, et al. Iron and reactive oxygen species activity in parkinsonian substantia nigra. *Parkinsonism & Related Disorders* 2010;16:329-333.
- 12) Gutteridge JM. Iron and oxygen radicals in brain. *Annals of Neurology* 1992;32 Suppl:S16-21.
- 13) Drayer B, Burger P, Darwin R, et al. MRI of brain iron. *American Journal of Roentgenology* 1986;147:103-110.
- 14) Castellani RJ, Perry G, Siedlak SL, et al. Hydroxynonenal adducts indicate a role for lipid peroxidation in neocortical and brainstem Lewy bodies in humans. *Neuroscience Letters* 2002;319:25-28.
- 15) Schenck JF. Magnetic resonance imaging of brain iron. *Journal of the Neurological Sciences* 2003;207:99-102.
- 16) Jomova K, Vondrakova D, Valko M. Metals, Oxidative stress and neurodegenerative disorders. *Molecular and Cellular Biochemistry* 2010;345:91-104.

Abstract**Magnetic resonance imaging with 21.1 T and pathological correlations—diffuse Lewy body disease**

Shinsuke Fujioka, M.D.¹⁾, Melissa E Murray, Ph.D.²⁾, Parastou Foroutan, M.S.³⁾⁴⁾, Katherine J Schweitzer, M.D.¹⁾⁵⁾,
Dennis W Dickson, M.D.²⁾, Samuel C Grant, Ph.D.³⁾⁴⁾ and Zbigniew K. Wszolek, M.D.¹⁾

¹⁾Department of Neurology, Mayo Clinic

²⁾Department of Pathology and Neuroscience, Mayo Clinic

³⁾National High Magnetic Field Laboratory, Florida State University

⁴⁾Department of Chemical & Biomedical Engineering, FAMU-FSU College of Engineering, Florida State University

⁵⁾Center of Neurology, Department of Neurodegeneration and Hertie Institute of Clinical Brain Research,
University of Tübingen

We investigated fixed basal ganglia specimens, including globus pallidus and putamen, with 21.1-Tesla MRI allowing us to achieve a microscopic level resolution from a patient with pathologically confirmed dementia with Lewy bodies (DLB) and a neurologically normal control case. We acquired T_2 and T_2^* weighted images that demonstrated diffuse and patchy lower intensities in the basal ganglia compared to control. There are several paramagnetic substances in brain tissue that could potentially reduce both T_2 and T_2^* relaxation times, including ferritin, iron (Fe^{3+}), manganese, copper and others. Because iron is most abundant, low intensities on T_2 and T_2^* weighted images most likely reflect iron deposition. Iron, especially Fe^{3+} , deposition was visible in the pathological specimens stained with Prussian blue after images were obtained. Although radiological-pathological comparisons are not straightforward with respect to either the MRI signal or relaxation quantification, there appears to be a correlation between the relative increase in iron as assessed by Prussian blue staining and the decrease in T_2^* value between the DLB and control specimens. As such, this exceptionally high field MRI technique may provide details about the role that iron deposition plays either directly or indirectly as a biomarker in neurodegenerative processes.

(Clin Neurol 2011;51:603-607)

Key words: Lewy body disease, high-field MRI, 21.1T, basal ganglia, Prussian blue
