

水俣病患者の脳構造の画像解析研究

主任研究者 平井俊範（熊本大学大学院生命科学研究部放射線診断学講座 教授）

研究要旨

水俣病は客観的な診断法の確立が課題となっている。昨年度までの研究で局所脳容積、拡散テンソル画像から抽出した局所拡散指標を機械学習させることで高い診断能が得られた。今回、安静時fMRIを用いた研究で、水俣病患者群で小脳半球やHeschel回（一次聴覚野）を含む側頭葉で機能的結合度の低下、Heschl回（一次聴覚野）をハブとする神経ネットワークの効率の低下がみられた。

キーワード：水俣病、MRI、画像統計解析、機械学習、人工知能、安静時fMRI

研究者協力者

中村政明（国立水俣病総合研究センター臨床部 総合臨床室長）

阿部 修（東京大学大学院医学系研究科生体物理医学専攻 放射線医学講座放射線診断学専攻分野 教授）

戊亥章平（東京大学大学院医学系研究科生体物理医学専攻 放射線医学講座放射線診断学専攻分野 大学院生）

東美菜子（宮崎大学医学部病態解析医学講座放射線医学分野 講師）

服部洋平（宮崎大学医学部病態解析医学講座放射線医学分野 大学院生）

I 研究目的

水俣病問題は公式確認から 60 年が経過しているが、いまだ最終解決に至っていない。このような中、病像の全容を解明するために不知火海沿岸の住民健康調査を実施すべきとの声が挙がっている。しかしながら、これまで確立している診察手法では、60 年を経過した現在において、認められる症候が当時のメチル水銀によるものなのかどうかを判断することは極めて困難であり、住民健康調査の実効性に疑問を生ずることになる。また、平成 21 年に成立した水俣病被害者の救済及び水俣病問題の解決に関する特別措置法（平成 21 年法律第 81 号）において、政府は健康調査研究を行うこととされており、さらに、そのためには、メチル水銀が人の健康に与える影響を把握する調査の手法の開発を図ることとされており、まずは手法開発を進めることが法的にも求められている。

水俣病患者の診断において、現在画像を用いた客観的な診断法が確立されていない。水俣病患者の脳は病理学的に後頭葉や小脳などの特定の部位が侵されやすいことが明らかにされているが、頭部MRIを用い *in vivo* で多数例を標準脳に重ねた統計解析して検討した報告はみられない。昨年度までに、水俣病患者の頭部MRIの3D-T1強調画像から抽出した局所脳容積（110 特徴量、以下 Volume）、拡散テンソル画像から抽出した局所拡散指標(AD: axial diffusivity, RD: radial diffusivity, MD: mean diffusivity, FA: fractional anisotropy, 各 46 特徴量) を特徴量として、サポートベクターマシン(SVM)、ランダムフォレスト(RF)、アダブースト(AdB)による機械学習を行った。その結

果、ADによるRF、SVMを用いたモデルの判別性能が最良であった。また、ADによるRFおよびVolumeによるRFモデルを用いて重要度の高い特徴量を抽出した場合、過去の報告による水俣病の障害部位と合致する特徴量が抽出された。機械学習モデルは水俣病の診断に有用性が高かった。

現在、安静時fMRIを用いた脳神経ネットワーク結合に関する研究が盛んに行われており、本研究にも診断能の向上に応用できるものと期待される。そこで本研究の目的は、水俣病患者とコントロールの安静時fMRIデータを用いて脳神経ネットワーク結合解析の診断への有用性を明らかにすることである。

II 研究方法

2014年10月から2020年8月までの間に国立水俣病総合研究センターで頭部MRIが撮影された水俣病患者14例（成人型6例、小児型5例、胎児型3例）、および年齢をマッチさせた健常者39例を対象とした。水俣病患者は、臨床的に14例のうち小脳障害は10例、聴覚障害は少なくとも5例にみられた。なお、コロナ感染症拡大に伴い、患者MRI撮像等の際には、マスク着用、体温測定等の体調管理の徹底などを行った。

頭部 3T MRI は安静時 BOLD 画像と 3D-T1 強調画像データを用いた。CONN Toolbox (v.19.c; <https://nitrc.org/projects/conn>)と Matlab R2019b (MathWorks, Natick, MA, USA)を使用し、多重比較の補正のため年齢、性別を共変量として解析した。CONNによる解析は、まず前処理として、体動補正、撮像タイミング補正、解剖学的標準化、平滑化を行い、ノイズを除去し、次に機能的結合解析として、関心領域 (ROI) 解析とグラフ解析を行った。

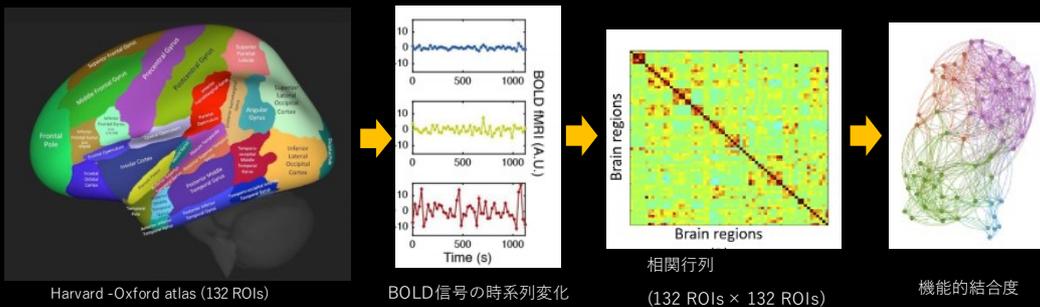
認定時における患者の神経学的所見のまとめ

病型	年齢(歳)	性別	感覚障害			小脳症状				聴覚障害 無=0 有=1	視野障害 無=0 有=1
			触覚障害 無:0 四肢の一部: 四肢(手袋靴 下型を含む)2 全身(顔+四肢 を含む):3	痛覚障害 無:0 四肢の一部: 四肢(手袋靴 型を含む):2 全身(顔+四肢 を含む):3	ロンベル グ試験 陰性=0 陽性=1	四肢の 運動失 調 無=0 四肢or下 肢=1 上下肢 =2	体幹失 調 無=0 有=1	歩行障害 有 =1	つぎ足歩 行障害 無=0 有=1		
成人	82	男	2	2	1	2	1	1	1	1	1
成人	82	女	1	1	0	0	0	0	0	1	1
成人	84	男	2	2	0	2	1	0	1	1	1
成人	87	女	2	2	0	2	0	0	0	1	1
成人	79	男	2	2	0	0	0	0	0	0	1
成人	80	女	検査不能	検査不能	0	1	0	0	0	検査不能	検査不能
小児	66	女	0	0	記載なし	1	0	0	0	0	1
小児	71	男	2	2	0	1	0	0	1	0	1
小児	70	女	3	0	0	2	1	0	0	1	1
小児	65	女	評価不能	評価不能	不検	2	不検	不検	不検	評価困難	1
小児	76	女	不明	不明	不明	不明	不明	不明	不明	不明	不明
胎児	56	男	2	2	1	1	1	0	1	0	1
胎児	63	男	不明	不明	不明	不明	不明	不明	不明	不明	不明
胎児	57	男	2	3	0	1	0	1	0	0	1

Functional MRI (fMRI)による神経ネットワーク解析

脳領域間の機能的結合解析方法① – ROI解析

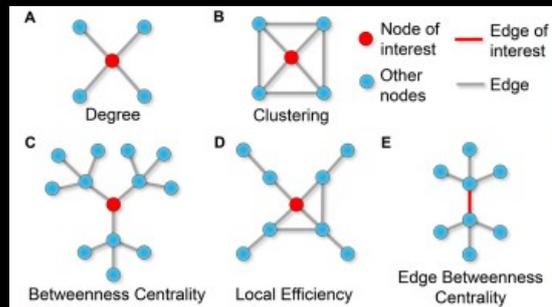
- ROI解析（関心領域に基づく方法）：特定の脳領域が他のどの領域と結合しているかを評価し、その結合が疾患によってどう変化するかを検討する方法
- 各ROI内のBOLD信号の時系列変化をROI間で総当たりに比較して相関係数を計算、相関行列を作成し、そこから各ROI間の機能的結合度を定量化する



機能的に強く結合している脳領域は似たようなBOLD信号変化を示すはず！

脳領域間の機能的結合解析方法② – グラフ解析

- グラフ理論：ネットワークをノード（点）とそれらを接続するエッジ（線）の集合（グラフ）として捉え、その幾何学的性質を検討する方法
- 各ROIがノード（点）、機能的（あるいは解剖学的）結合がエッジ（線）に相当する
- ネットワーク全体の効率性の検討やハブとして機能する領域の抽出を目的とする



グラフ理論に基づいた特徴量の例

NeuroimagClin N Am 2017;27:593607

(倫理面への配慮)

① 研究等の対象となる個人の人権の擁護

本研究は、「ヘルシンキ宣言」及び「人を対象とする医学系研究に関する倫理指針」に遵守し

て実施する。

② 倫理審査委員会に倫理審査を依頼して、承認を得る。（令和2年9月1日付での主任研究者の所属変更により、新たに倫理審査委員会に申請し、倫理審査委員会にて令和2年9月1日開始で承認されている。）

③ 個人情報保護の体制

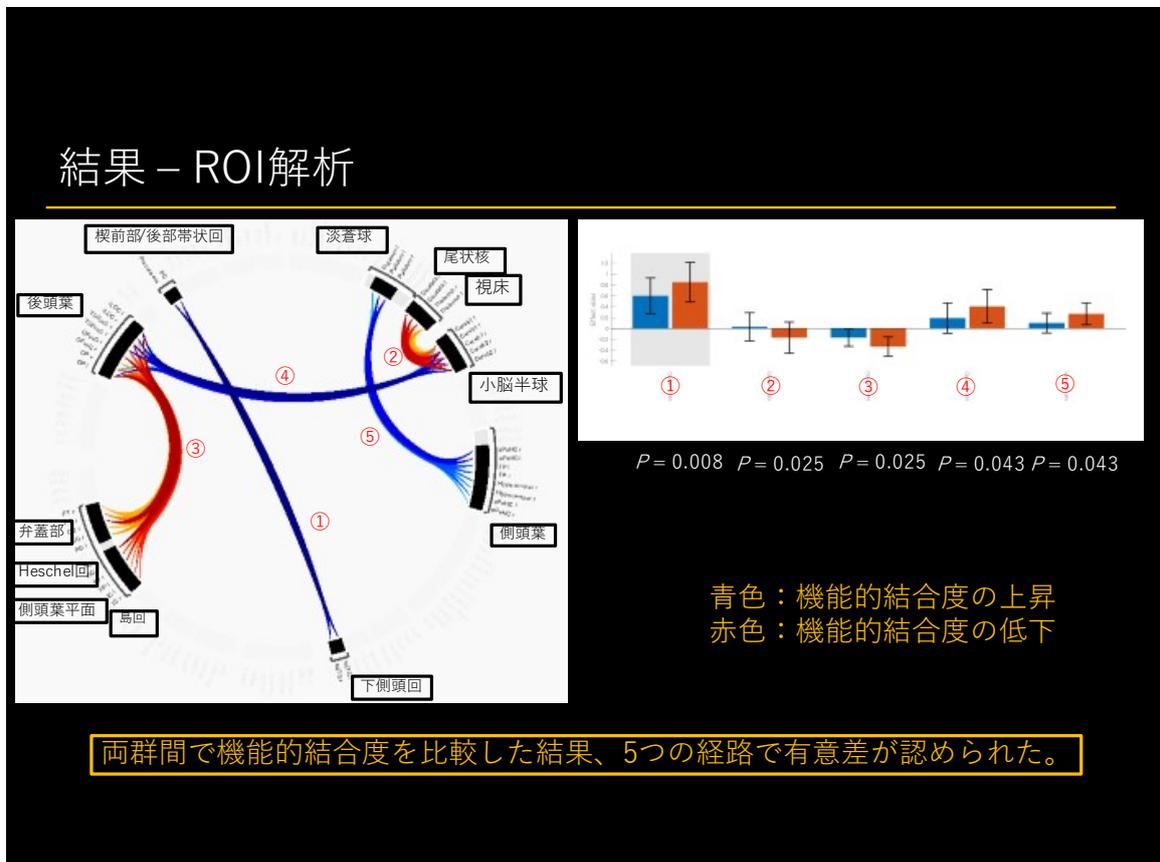
研究実施にかかわる資料・試料などを取り扱う際は、連結可能匿名化とし、被験者の個人情報とは無関係の番号を付して管理し被験者の秘密保護に十分配慮する。

④ 研究等の対象者に理解を求め同意を得る方法

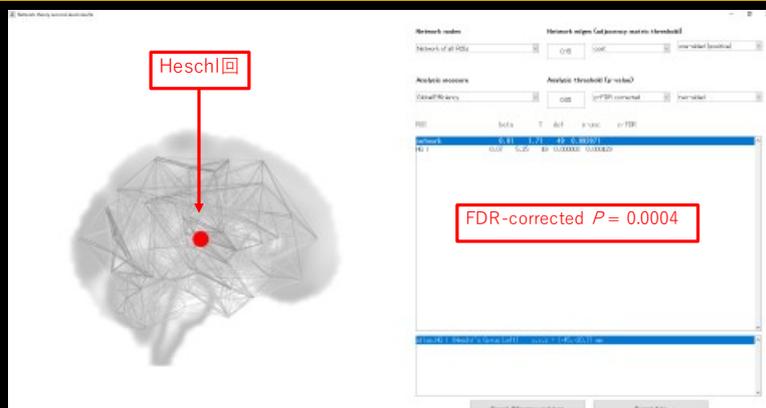
本研究では、既存の情報については、後方視的研究となるため被験者からインフォームド・コンセントを受けることは難しい。そのため、当該臨床研究の目的を含む研究の実施についての情報を公開する。これから対象となる被験者からは、インフォームド・コンセントを受けることとする。

III 研究結果

安静時fMRIを用いた脳神経ネットワーク結合探索に関するROI解析にて、水俣病患者と健常者の両群間で機能的結合度を比較した結果、5つの経路で有意差が認められた。水俣病患者群の機能的結合度は、①楔前部/後部帯状回-下側頭回で有意に上昇、②尾状核/視床-小脳間で有意に低下、③後頭葉-側頭葉(Heschl回含む)で有意に低下、④小脳半球-後頭葉で有意に上昇、⑤側頭葉-淡蒼球間で有意に上昇していた。また、グラフ解析では水俣病群において、Heschl回（一次聴覚野）をハブとするネットワークの効率や中心性が低下していた。



結果 – グラフ解析: Global Efficiency



水俣病患者群において、Heschl回（一次聴覚野）をハブとするネットワークの効率が低下していた。

IV 考察

ROI解析では、水俣病群で小脳半球やHeschl回（一次聴覚野）を含む側頭葉で機能的結合度が低下していた。またグラフ解析では、Heschl回（一次聴覚野）をハブとする神経ネットワークの効率が低下していた。成人型および小児型水俣病患者の脳は病理学的に後頭葉鳥距野、中心前・後回、および側頭葉横側頭回（Heschl回）が最も障害されやすい部位であり、過去の病理学的所見に合致している。臨床的に14例のうち聴覚障害は少なくとも5例（2例は評価困難）に認められており、機能的結合度の低下は臨床症状を説明し得ると考えられた。ROI解析で有意差がみられた他の経路は、胎児型や小児型など広範な脳障害をきたす亜型の変化を反映したものである可能性がある。今後さらに症例数を増やして、亜型（胎児型、小児型、成人型）ごとの解析が望まれる。

V 結論

安静時fMRIによる脳機能解析は、水俣病における機能的結合度の変化を探索するために有用である可能性がある。今後さらに症例数を増やして、亜型（胎児型、小児型、成人型）ごとの解析が望まれる。

VI 次年度以降の計画

今回、コロナ感染症拡大の影響で水俣病患者、健常者の症例数の増やすことにやや難点があった。次年度以降は、水俣病の更なる診断能の向上を目指し、症例数を増やすと同時に、脳形態、白質情報、機能的結合度を総合的に加味した人工知能を用いた画像統計解析を行いたい。

本研究に関する現在までの研究状況、業績

Hirai T, Abe O, Nakamura M, Azuma M, Kadota Y, Hattori Y. Human Brain Structural Change Related to Chronic Methylmercury Poisoning. 25th Annual Meeting of the Organization for Human Brain Mapping. Roma 2019

引用文献

- 1) Eto K. Pathology of Minamata Disease, Toxicologic Pathology 1997; 25: 614-623.
- 2) Takeuchi T, Eto K. The Pathology of Minamata Disease, Fukuoka: Kyushu University Press, 1999; 53-78.

Evaluation of Resting-state Functional Connectivity in Chronic Methylmercury Poisoning (Minamata disease)

Toshinori Hirai*1, Masaaki Nakamura*2, Osamu Abe*3, Shohei Inui*3, Minako Azuma*4, Yohei Hattori*4

**1 Department of Diagnostic Radiology, Faculty of Life Sciences, Kumamoto University*

**2 Department of Clinical Medicine, National Institute for Minamata Disease*

**3 Department of Radiology, Graduate School of Medicine, University of Tokyo*

**4 Department of Radiology, Faculty of Medicine, University of Miyazaki*

Keywords: functional MRI; Minamata disease; functional connectivity

Abstract

This study aimed to investigate resting-state functional connectivity (FC) alterations in patients with organic mercury poisoning (Minamata disease: MD). We included 14 MD patients (6 adult-type, 5 child-type, and 3 fetal-type) and 39 healthy control subjects. All patients were certified as MD officially based on the diagnostic guidelines issued by the Ministry of the Environment. Cerebellar disturbance was observed in 10 of 14 MD patients and auditory disturbance in at least 5 of 14. 2D-echo-planar based-blood oxygen level dependent (BOLD) and 3D-T1-weighted spoiled gradient recalled echo (SPGR) sequences were acquired using a 3.0-T imager (Discovery MR 750; GE healthcare, Milwaukee, WI, USA). Images were processed using the functional connectivity Toolbox (CONN-Toolbox v.19.c) for Matlab R2019b (MathWorks, Natick, MA, USA). ROI-to-ROI analysis based on 132 ROIs and graph analysis were performed on temporally concatenated data of the whole subject. ROI-to-ROI FC and graph parameters were compared between two groups using independent t-tests with age and gender as covariates (p -FDR <0.05). There was no statistical significance in age and gender between the two groups. ROI-analysis showed FC alterations in the following pathway; decrease in caudate nucleus/hippocampus—cerebellum pathway and occipital lobe—temporal lobe (including Heschel gyrus) pathway; and increase in cerebellar hemisphere—occipital lobe pathway and temporal lobe—globus pallidum pathway in the MD group. Graph analysis showed an increase in average path length and decrease in global efficiency, degree, and cost based on the Heschel gyrus (primary auditory area) as hub node in the MD group. Alterations in FC involving the cerebellum and temporal gyrus including the Heschel gyrus (primary auditory area) were observed in MD patients. Functional disruption observed on resting-state fMRI may be associated to the clinical manifestations.