

# 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。以前我々が行った研究で頭部MRIデータのvoxel-based morphometry (VBM)を用いた統計解析にて脳の形態変化を検討したが、症例数が少ないことが課題であった。今回、国立水俣病総合研究センターから新たな水俣病患者、健常コントロールを追加いただき症例数を増やすことができた。その灰白質のVBM解析から、コントロールと比べて小児型と成人型の患者は小脳と烏距野、胎児型患者は視床が有意に小さかった。また、白質のVBM解析から全患者や小児型の患者は脳、小脳、脳幹の白質が有意に小さかった。

キーワード：水俣病、MRI、画像統計解析

## 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）

## 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。以前我々が行った研究で頭部MRIデータのvoxel-based morphometry (VBM)を用いた統計解析にて脳の形態変化を検討したが、症例数が少ないことが課題であった。今回、国立水俣病総合研究センターから新たな水俣病患者、健常コントロールを追加いただき症例数を増やすことができた。本研究の目的は、その症例数を増やした両群の頭部MRI画像データを使用し、VBM解析することに

より水俣病患者の特徴的な脳灰白質と白質の局所的形態変化を明らかにすることである。

## II 研究方法

2014年10月から2021年4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、国の水俣病診断基準に合致した水俣病患者37例と熊本県内で水俣とは離れた地域の住民ボランティア141例を収集した。そのMRI画像（T2強調像、3D SPGR画像）を熊本大学と宮崎大学の神経放射線診断医2名で評価し、患者とコントロールの不適切症例（3D SPGR画像にアーチファクトを有する者、脳梗塞を有する者、Fazekas分類Grade 2以上の白質病変を有する者、水俣病以外の原因と思われる脳萎縮、脳奇形、くも膜嚢胞、水頭症等の器質的異常を有する者）を除外した（図1）。最終的に各々の群で年齢と性別をマッチさせた患者30例（成人型10例、小児型10例、胎児型10例）、および健常者105例を対象とした（表1）。水俣病認定時の患者の神経学的所見のまとめを表に示す（表2a-c）。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MRIは3T MRI装置 (Discovery MR750 3.0T, GE Healthcare)で12-channel head coilを用いた。T2強調像の撮像条件は、TR/TE 7700/102 ms、field of view (FOV) 240 x 240 mm<sup>2</sup>、matrix size 320 x 192、section thickness 4 mm、3D SPGR像は、TR/TE 12.3/5.2 ms、IR-Prep 400ms、FOV 250 x 250 mm<sup>2</sup>、matrix size 256 x 256、section thickness 1.2 mm、scan time 5m56sであった。

MRIデータの解析は東京大学で行い、MATLAB (MATLAB R2021a; uk.mathworks.com/)上でSPM解析パッケージ (SPM12, <http://www.fil.ion.ucl.ac.uk/spm/software/spm12/>)とComputational Anatomy Toolbox for SPM (CAT12, <http://www.neuro.uni-jena.de/cat/>)を使用した。多重比較の補正のため年齢、性別を共変量として、灰白質と白質についてVBM解析を行った。2群間の解析はfamily-wise error (FWE)-corrected P<0.05を有意差ありとした。

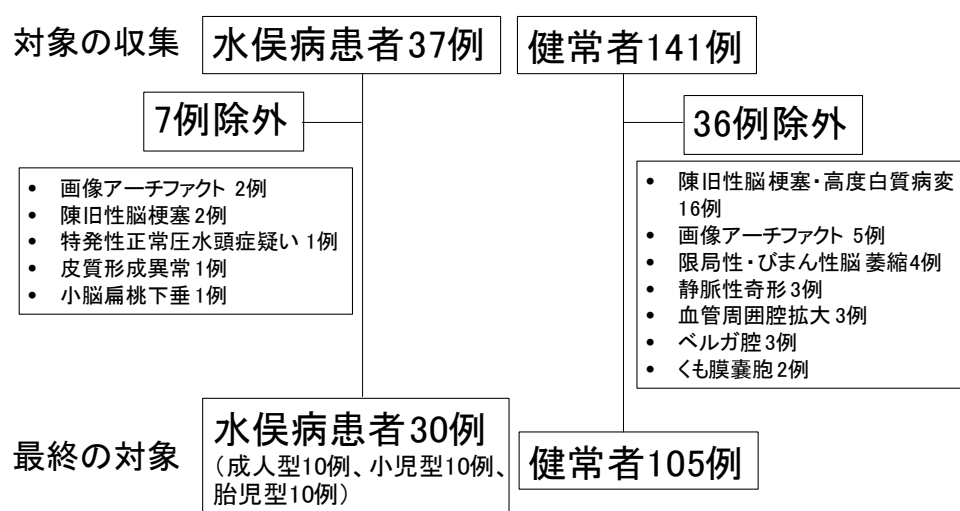


図1. 対象の最終選定

## 表1. 患者とコントロールのマッチング

- 成人型患者10例 vs. コントロール15例 (P=0.43)  
男性6例、女性4例、79-87歳(平均80歳)      男性6例、女性9例、79-85歳(平均81歳)
- 小児型患者10例 vs. コントロール37例 (P=0.0524)  
男性3例、女性7例、65-79歳(平均72歳)      男性13例、女性24例、65-78歳(平均69歳)
- 胎児型患者10例 vs. コントロール53例 (P=0.22)  
男性7例、女性3例、55-63歳(平均57歳)      男性31例、女性22例、50-64歳(平均58歳)
- 全患者30例 vs. 全コントロール105例 (P=0.0345)  
男性16例、女性14例、55-87歳(平均71歳)      男性50例、女性55例、50-85歳(平均65歳)

表2a. 認定時における患者の神経学的所見のまとめ

成人型患者			感覚障害			小脳症状				聴力障害	視野障害
年齢	性別	病型	触覚障害 無:0 四肢の一部 1 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 1 四肢手袋靴 下型を含む: 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 上肢or 下肢=1 上下肢 =2	体幹失調 無=0 有=1	歩行障害 無=0 有=1	つぎ足歩 行障害 無=0 有=1		
82	男	成人	2	2	1	2	1	1	1	1	1
80	女	成人	1	1	0	0	0	0	0	1	1
84	男	成人	2	2	0	2	1	0	1	1	1
87	女	成人	2	2	0	2	0	0	0	1	1
79	男	成人	2	2	0	0	0	0	0	0	1
80	女	成人	検査不能	検査不能	0	1	0	0	0	検査不能	検査不能
80	男	成人	3	3	0	0	0	0	0	0	0
82	男	成人									
80	男	成人	3	3	0	1	0	0	1	0	0
86	女	成人	2	2	0	1	0	0	0	0	0

表2b. 認定時における患者の神経学的所見のまとめ

小児型患者			感覚障害			小脳症状				聴力障害	視野障害
年齢	性別	病型	触覚障害	痛覚障害	ロンベルグ試験	四肢の運動失調	体幹失調	歩行障害	つぎ足歩行障害	聴力障害	視野障害
			無:0 四肢の一部 1 四肢手袋靴 下型を含む: 2 全身(顔+四肢 を含む):3	無:0 四肢の一部 1 四肢手袋靴 下型を含む: 2 全身(顔+四肢 を含む):3							
66	女	小児	0	0	記載なし	1	0	0	0	0	1
71	男	小児	2	2	0	1	0	0	1	0	1
70	女	小児	3	0	0	2	1	0	0	1	1
65	女	小児	評価不能	評価不能	記載なし	2	記載なし	記載なし	記載なし	評価困難	1
76	女	小児									
78	女	小児									
74	女	小児	0	0	0	0	0	0	1	0	0
79	男	小児	2	2	0	2	1	0	0	0	0
71	男	小児	2	2	0	0	0	0	0	0	1
73	女	小児	0	0	0	0	0	0	0	0	0

表2c. 認定時における患者の神経学的所見のまとめ

胎児型患者			感覚障害			小脳症状				聴力障害	視野障害
年齢	性別	病型	触覚障害	痛覚障害	ロンベルグ試験	四肢の運動失調	体幹失調	歩行障害	つぎ足歩行障害	聴力障害	視野障害
			無:0 四肢の一部 1 四肢手袋靴 下型を含む: 2 全身(顔+四肢 を含む):3	無:0 四肢の一部 1 四肢手袋靴 下型を含む: 2 全身(顔+四肢 を含む):3							
56	男	胎児	2	2	1	1	1	0	1	0	1
63	男	胎児									
57	男	胎児	2	3	0	1	0	1	0	0	1
59	男	胎児									
58	男	胎児	2	2	記載なし	2	0	1	0	1	1
55	女	胎児	2	2	記載なし	1	0	0	記載なし	0	0
56	男	胎児									
53	男	胎児	1	3	0	2	1	1	1	0	0
59	女	胎児	評価不能	評価不能	1	2	1	1	検査不能	0	0
58	女	胎児	3	3	記載なし	2	1	1	1	0	1

(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

灰白質のVBM解析から、コントロールと比べて小児型と成人型の患者は小脳、烏距野、胎児型患者は視床が有意に小さかった（表3a、図2a-c）。全患者では全コントロールと比べて小脳、烏距野、視床が有意に小さかった（表3a、図2d）。一方、白質のVBM解析から、コントロールと比べて小児型の患者は烏距野白質、前頭葉白質、側頭葉白質、小脳白質、胎児型患者は脳幹が有意に小さかった（表3b、図3a）。全患者では全コントロールと比べて脳梁、脳幹、側頭葉白質が有意に小さかった（表3b、図3b）。

表3a. 灰白質のVBM解析結果

Region	p (FWE)	T value	k	MNI coordinates <sup>↵</sup>		
				x	y	z <sup>↵</sup>
(Fetal type) <sup>↵</sup>						
Left thalamus	0.000	5.22	2060	-10	-26	18 <sup>↵</sup>
↵						
(Pediatric type) ↵						
Right calcarine	0.001	6.76	1737	12	-69	15 <sup>↵</sup>
Left cerebellum	0.000	6.06	18174	-28	-66	-51 <sup>↵</sup>
↵						
(Adult type) ↵						
Right calcarine	0.003	6.20	1232	10	-69	14 <sup>↵</sup>
Right cerebellum	0.038	4.55	695	9	-82	-32 <sup>↵</sup>
↵						
(All patients) <sup>↵</sup>						
Left thalamus	0.000	6.73	6876	-14	-14	16 <sup>↵</sup>
Right cerebellum	0.000	6.48	28588	28	-70	-45 <sup>↵</sup>
Right calcarine	0.000	5.67	2986	12	-70	14 <sup>↵</sup>

Abbreviations: FWE = familywise error correction; k = voxel size; MNI =Montreal Neurological Institute.<sup>↵</sup>

表3b. 白質のVBM解析結果

Region	p (FWE)	T value	k	MNI coordinates <sup>Ⓔ</sup>		
				x	y	z <sup>Ⓔ</sup>
(Fetal type) <sup>Ⓔ</sup>						
Brainstem	0.000	4.34	2482	0	-15	-6 <sup>Ⓔ</sup>
<sup>Ⓔ</sup>						
(Pediatric type) <sup>Ⓔ</sup>						
Left calcarine WM	0.000	5.91	3931	-12	-70	16 <sup>Ⓔ</sup>
Left frontal WM	0.001	4.81	1624	-14	-16	52 <sup>Ⓔ</sup>
Left temporal WM	0.005	4.66	1253	-36	-27	3 <sup>Ⓔ</sup>
Right frontal WM	0.000	4.49	2458	36	-15	42 <sup>Ⓔ</sup>
Right frontal WM	0.000	4.30	2241	18	21	10 <sup>Ⓔ</sup>
Left cerebellar WM	0.000	4.29	2339	-24	-34	-40 <sup>Ⓔ</sup>
Right cerebellar WM	0.000	4.07	2268	12	-32	-22 <sup>Ⓔ</sup>
<sup>Ⓔ</sup>						
(All patients) <sup>Ⓔ</sup>						
Corpus callosum	0.000	6.59	46203	15	-34	14 <sup>Ⓔ</sup>
Brainstem	0.000	5.16	13269	2	-15	-6 <sup>Ⓔ</sup>
Left temporal WM	0.007	5.13	1509	-27	-32	-6 <sup>Ⓔ</sup>

Abbreviations: FWE = familywise error correction; k = voxel size; MNI =Montreal Neurological Institute.<sup>Ⓔ</sup>

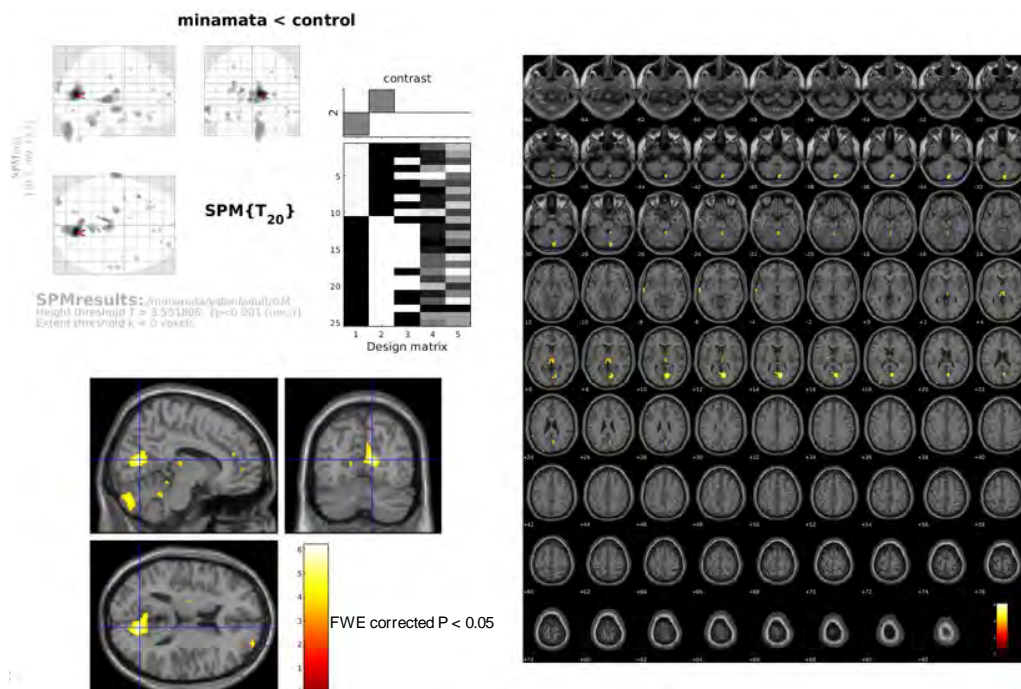


図2a. 成人型患者群(n=10) vs. コントロール群(n=15)

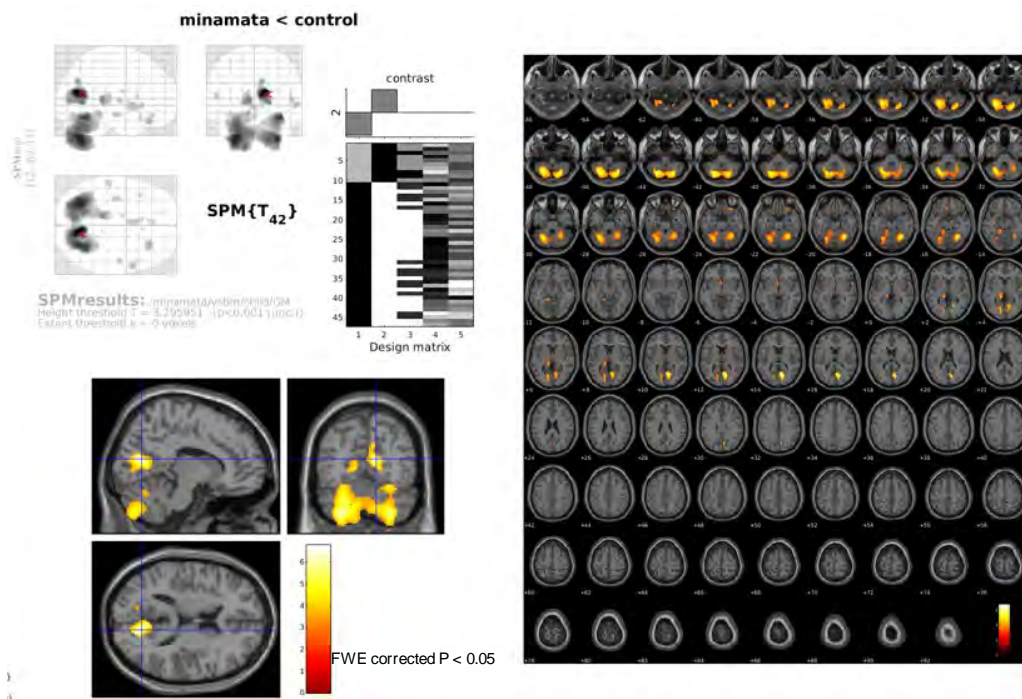


図2b. 小児型患者群 (n=10) vs. コントロール群 (n=37)

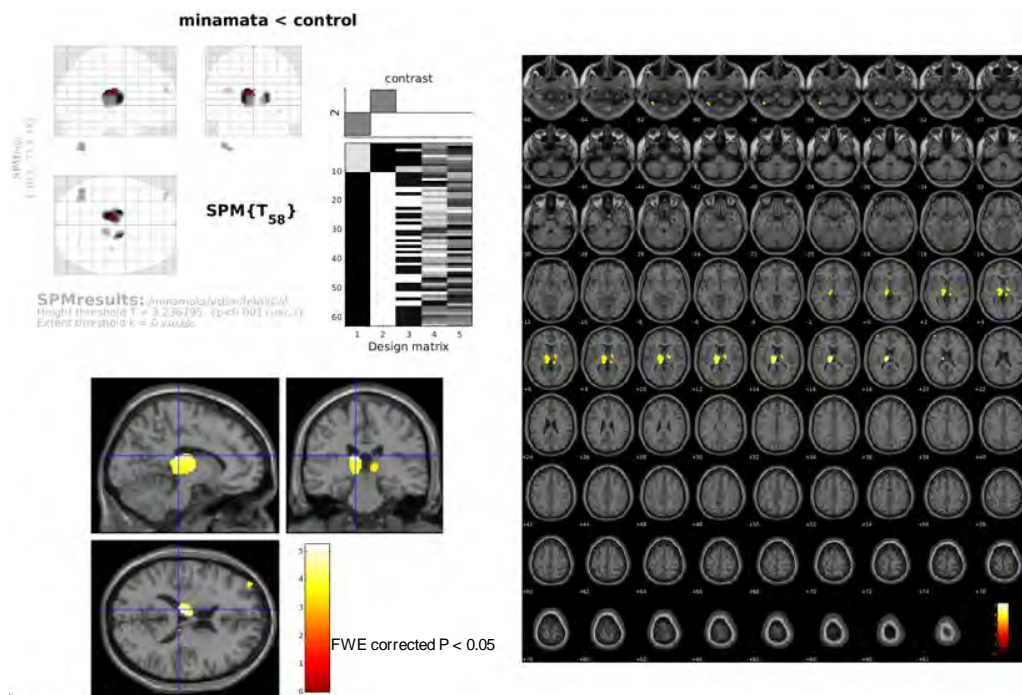


図2c. 胎児型患者群 (n=10) vs. コントロール群 (n=53)

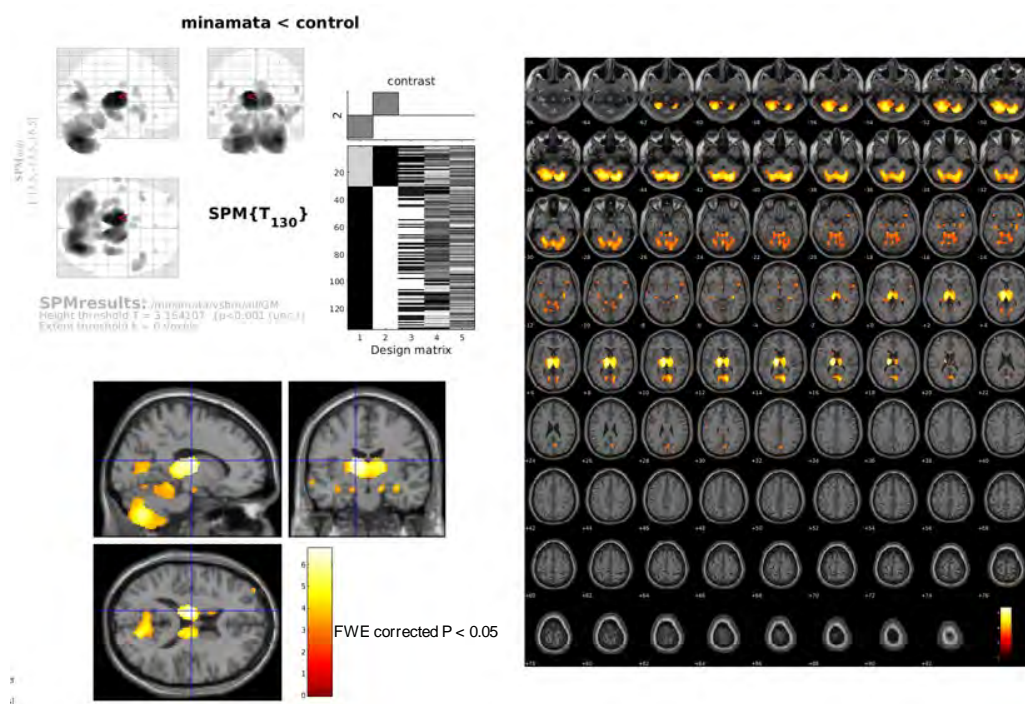


図2d. 全患者群 (n=30) vs. 全コントロール群 (n=105)

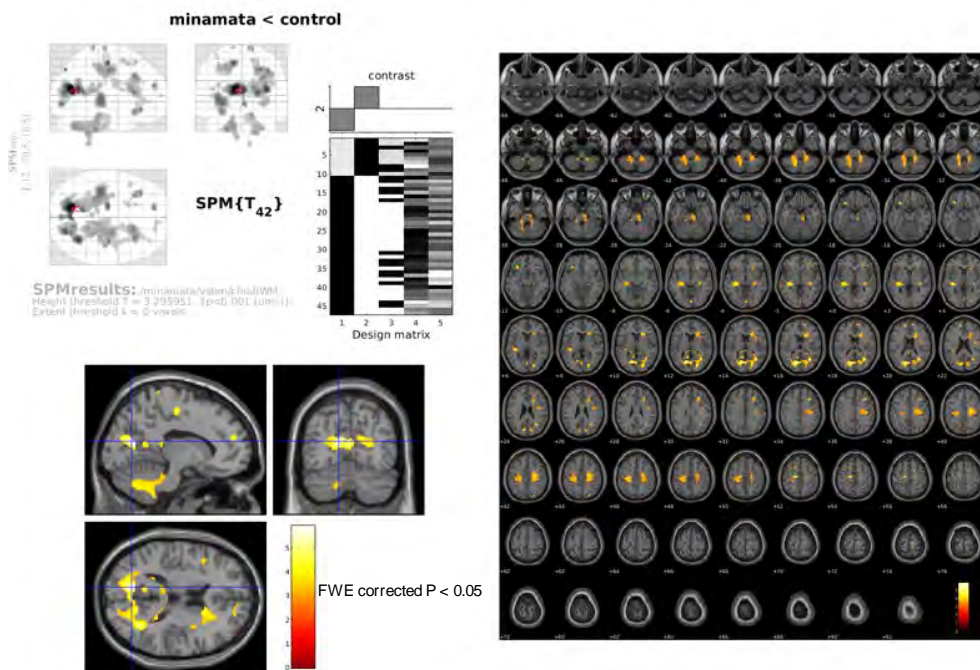


図3a. 小児型患者群 (n=10) vs. コントロール群 (n=37)



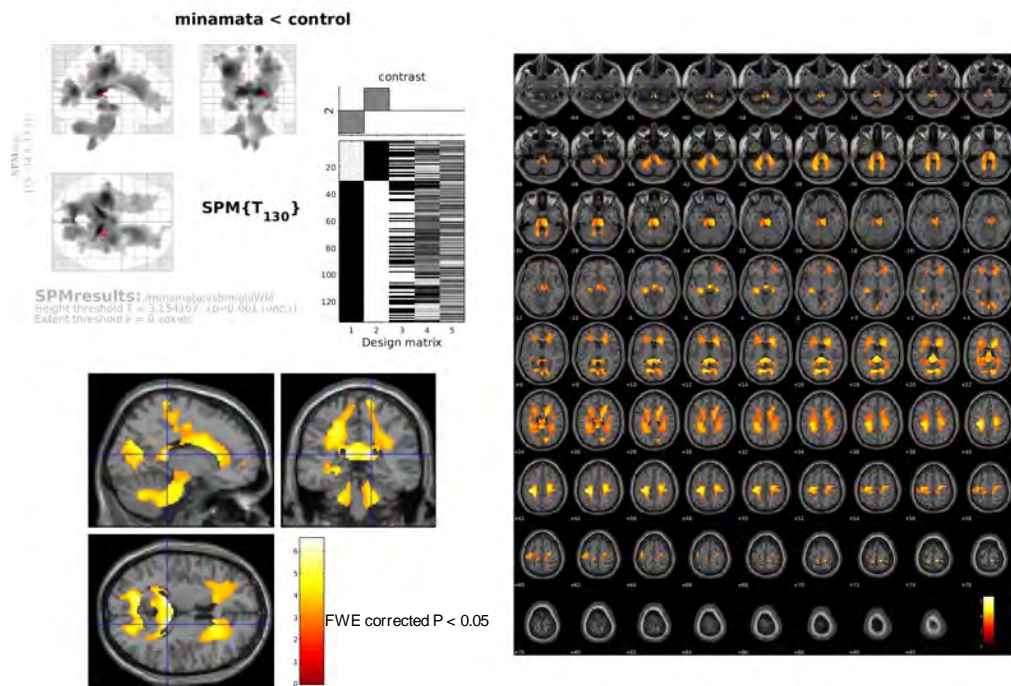


図3b. 全患者群 (n=30) vs. 全コントロール群 (n=105)

#### IV 考察

今回の灰白質のVBM解析から、コントロールと比べて小児型と成人型の患者は小脳、烏距野、胎児型患者は視床が有意に小さかった。過去の慢性期患者の病理学的検討では、小児型と成人型の患者は特に小脳、烏距野に病変が一貫してみられやすく、中心前・後回、横側頭回にも好発するが病変の程度は軽い傾向にある。これに対して胎児型では障害部位は非特異的とされる。今回の萎縮がみられた部位は過去の病理学的所見と一致していた。患者群で視床が小さくなる理由として、水俣病では感覚野が侵されやすく、その二次変性として視床が萎縮した可能性がある。

今回の白質のVBM解析から、コントロールと比べて、小児型の患者は烏距野、前頭葉白質、側頭葉白質、小脳、胎児型患者は脳幹が有意に小さかった。過去の慢性期患者の病理学的検討では、大脳皮質病変からの二次変性として両側の錐体路、大脳白質（中央部）、視放線（内部矢状層）が侵されるとされる。今回の萎縮がみられた部位は過去の病理学的所見と類似していた。患者群で脳梁が小さくなる理由として、水俣病では両側の大脳白質がびまん性に侵されやすく、慢性期患者においてその二次変性として脳梁が萎縮した可能性がある。

今後は脳白質変化をより鋭敏に捉える拡散テンソル解析、脳の機能的結合度を評価するfMRI解析のほか機械学習を用いた解析も有効な手段と考えられ検討する必要がある。

#### V 結論

SPMを用いた灰白質のVBM解析にて、小児型と成人型の患者は小脳、烏距野、胎児型患者は視床に有意な萎縮がみられた。また、白質のVBM解析にて全患者群や小児型群は大脳白質、脳梁、脳幹に有意な萎縮がみられた。今後、新たな統計手法による解析が必要と思われた。

## 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

1. 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, Italy, 2019
2. Inui S, Nomura Y, Nakamura M, Hirai T, Abe O. Application of machine Learning to multiparametric MRI in Organic Mercury Poisoning (Minamata disease). ASFNR 2019 13th Annual Meeting of the American Society of Functional Neuroradiology, San Francisco, USA, 2019
3. Inui S, Nakamura M, Hirai T, Abe O. Exploring resting-state functional connectivity in organic mercury poisoning (Minamata disease): A preliminary study. AOCNR 2021 13th Asian-Oceanian Society of Neuroradiology and Head & Neck Radiology, Seoul, Korea, 2021

### 引用文献

1. Hunter D, Russell DS. Focal cerebellar and cerebellar atrophy in a human subject due to organic mercury compounds. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 1954;17(4):235–241
2. Tokuomi H, Okajima T, Kanai J, et al. Minamata disease—an unusual neurological disorder occurring in Minamata, Japan. *Kumamoto Med J* 1961;14:47–64
3. Matsumoto H, Koya G, Takeuchi T. Fetal Minamata disease. A neuropathological study of two cases of intrauterine intoxication by a methyl mercury compound. *J Neuropathol Exp Neurol*. 1965;24(4):563-74.
4. Takeuchi T. Pathology of Minamata disease. With special reference to its pathogenesis. *Acta Pathol Jpn* 1982;32 Suppl 1:73–99.
5. Takeuchi T, Eto K. The Pathology of Minamata Disease. A Tragic Story of Water Pollution. Fukuoka: Kyushu University Press Inc., 1999.
6. Matsumoto SC, Okajima T, Inayoshi S, Ueno H. Minamata disease demonstrated by computed tomography. *Neuroradiology*. 1988;30(1):42-6.
7. Korogi Y, Takahashi M, Shinzato J, Okajima T. MR findings in seven patients with organic mercury poisoning (Minamata disease). *Am J Neuroradiol*. 1994;15:1575-1578.
8. Director General of Environmental Health Department. Diagnostic Guidelines for Minamata Disease: Recent Advances in Minamata Disease Studies. In: T. Tsubaki, H. Takahashi 1986, 207-210, Kodansha, Tokyo

# Brain Structural Changes in Chronic Patients with Methylmercury Poisoning (Minamata disease)

Toshinori Hirai\*1, Masaaki Nakamura\*2, Osamu Abe\*3, Shohei Inui\*3, Minako Azuma\*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; brain structural change; VBM

## Abstract

This study aimed to identify the neuroanatomical differences between chronic patients with methylmercury poisoning and healthy volunteers. MR imaging data of 30 chronic patients (fetal type, 10; pediatric type, 10; adult type, 10) with methylmercury poisoning and the corresponding 105 age- and sex-matched healthy volunteers were included in this study. A whole-brain voxel-based morphometry (VBM) analysis was performed to determine volumetric gray- and white matter (GM and WM) differences in chronic patients with methylmercury poisoning. Three-dimensional T1-weighted spoiled gradient recalled echo (SPGR) sequences were acquired using a 3.0-T imager. For structural MRI data processing, we used the Statistical Parametric Mapping analysis package (SPM12) together with the Computational Anatomy Toolbox for SPM (CAT12) on a MATLAB platform (MATLAB R2021a). All results were familywise error (FWE) corrected for multiple comparisons to  $p < 0.05$  using the Gaussian random field theory on the basis of cluster extent. Participant age and sex were added as covariates in our model. Compared with controls, GM reduction on VBM for pediatric- and adult-type cases was found in the cerebellum and calcarine area, whereas for fetal-type cases in the thalamus. Decreased WM volume was seen in cerebral and cerebellar WM and brainstem, especially in pediatric-type patients. Our VBM study in chronic patients with MeHg poisoning showed GM volume reduction in the calcarine and cerebellum for pediatric- and adult-type patients and in the thalamus for fetal-type patients. The morphologic changes in GM and WM may depend on the timing of methylmercury exposure.