

平成 30 年 6 月 14 日現在

機関番号：12102

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K04719

研究課題名(和文) イネ腋芽の成長評価用4次元MRIマイクロスコピーの開発

研究課題名(英文) Development of 4D MRI microscopy for monitoring growth process of rhizome axillary bud

研究代表者

寺田 康彦 (TERADA, Yasuhiko)

筑波大学・数理工学系・准教授

研究者番号：20400640

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、植物試料の成長をMRI観察することができる4次元マイクロイメージングシステムを開発し、イネ地下茎のメリステムの成長機構や環境応答の知見を得た。イネの地下腋芽の切片試料をMRIで観察するために必要な、高周波コイル(信号送受信用)と勾配磁場コイル(位置情報付加用)を開発し、試料の形態情報、NMRスペクトル情報、緩和時間情報を高速に取得できるようになった。さらに、このシステムで地下茎腋芽のメリステムの成長過程をより詳細に観察し、成長機構解析を行った。

研究成果の概要(英文)：We have developed a 4D MRI microimaging system that enables to monitor the grow process of a plant sample, and gained insights into the growth mechanism of the meristem of a rhizome and its environmental response. We designed and implemented the radiofrequency and gradient coils for a cut sample of an axillary bud to obtain information on the morphology, NMR spectrum, and relaxation times at high speed. We also observed and analyzed the grow process of the meristem of the axillary bud.

研究分野：計測工学

キーワード：4次元マイクロイメージング MRI 地下茎腋芽 植物試料 成長過程

### 1. 研究開始当初の背景

イネは、日々の食生活には欠かせない重要な穀物である。イネの成長は、腋芽と呼ばれる葉の付け根に作られている芽の成長に密接に関係している。腋芽は多層構造をもち、何重にもくまられた葉の中心にメリステム（未分化細胞の集まりで幹細胞のこと）が存在し、メリステムから葉や花などの器官を形成する細胞が供給されている。腋芽は、成育環境に応じて、活発に葉を作り続けて伸長するか、逆に休眠して伸びないかを巧みに選択しており、これらの機構は、植物個体全体の形を決める重要な因子となる。栄養条件が良い場合、多くの稲穂を得るためには、腋芽をできるだけ休眠させずに起こして伸長させる方がよい。逆に栄養条件が悪ければ、腋芽は休眠し、エネルギーを節約しようとする。このように、環境に応じて変化する腋芽の伸長や休眠の機構を理解することは、農学的に極めて重要である。

ところが、腋芽は多層構造をもち、成長の鍵を握る内部のメリステムの状態は外側から見ただけではわからないため、生きた植物個体の腋芽を経時的に追って、メリステムがどのように休眠・成長するかを追跡する手段が今まで全くなかった。既存の手法としては、様々な成長段階での腋芽をサンプリングし、固定・切片作成をしてメリステムを染色した後に、光学顕微鏡などで観察するしかなかった。しかしこれでは、同一個体の成長過程の観察は不可能で、腋芽については植物個体全体が、環境の変化に対しどのように応じて成長するかについての本質に迫ることはできない。

一方、MRI (核磁気共鳴イメージング) は、静磁場中における原子核と電磁波との共鳴現象を利用することで、計測対象の内部の水分などの分布を無侵襲で計測する手法であり、特に医学診断分野で広く普及している。ところが、既製の臨床用 MRI は、人体用に最適化されており、医学分野以外に应用するためには、撮像対象に合わせてハードウェアや撮像法を新たに開発し、最適化する必要がある。

### 2. 研究の目的

そこで本研究では、生きたまま植物個体の内部を経時的に観察することができる MRI システムを開発する。さらに、開発したシステムを用いて、イネの地下茎腋芽内にあるメリステムの成長過程を観察し、植物が環境応答でどのように形態を変化させているかを明らかにする。腋芽はイネだけでなく他の植物にも必ず存在するため、本提案手法は他の植物の成長機構解明にも応用可能で、植物界に大きなインパクトを与えることを狙う。

### 3. 研究の方法

イネ科植物の中で、地下茎を形成する性質をもち、分子生物学的に扱いやすい *Oryza*

*longistaminata* (Fig. 1) を対象とした。*Oryza longistaminata* の地下茎の節の部分を実約 3cm (または 1cm) 長さに取り切り、両切断面を水を含めた脱脂綿で覆ったのち、試験管 (φ 10mm、長さ 5cm または 2cm) に入れて乾燥を防いだ。この節における腋芽の形態とその成長過程を MRI により観察した。

本研究で使用した磁石は、4.7T (プロトン

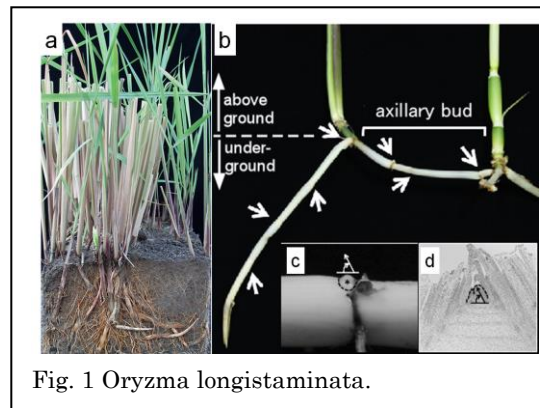


Fig. 1 *Oryza longistaminata*.

共鳴周波数 202MHz、室温ボア開口径 88mm、均一磁場領域約 30mm 球) および 9.4T (プロトン共鳴周波数 400MHz、室温ボア開口径 54mm、均一磁場領域約 10mm 球) 縦型超伝導磁石である (Fig. 2(a, c))。また、開発したソレノイド型 RF プローブを Fig. 2(b, d, e) に示す。4.7T 用 RF コイルは内径 11mm、ターン数 4、Q 値 150、9.4T 用 RF コイルは内径 12mm、ターン数 3、Q 値 134 であった。勾配磁場効率率は 4.7T 用で 46.2(x), 37.8(y), 69.1(z) mT/m/A、9.4T 用で 26.5(x), 26.9(y), 34.6(z) mT/m/A であった。

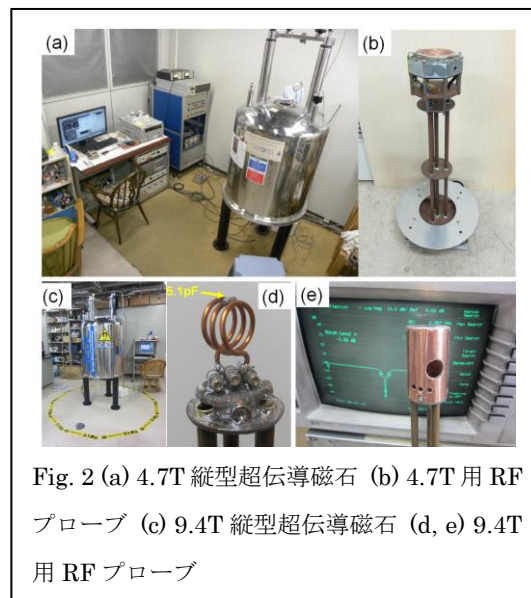


Fig. 2 (a) 4.7T 縦型超伝導磁石 (b) 4.7T 用 RF プローブ (c) 9.4T 縦型超伝導磁石 (d, e) 9.4T 用 RF プローブ

MRI 用コンソールとして、デジタルトランシーバ (MRTechnology 社製 DTRX6)、勾配磁場コイル電源 (MRTechnology 社製、±20A、±20V)、広帯域高周波トランスミッタ (American Microwave Technology 社製、M3205A、300 W) を使用した。

撮像シーケンスは3次元スピネコー法を用いた。典型的なシーケンスパラメータは、4.7TではTE/TR=8/200ms、分解能 $25\mu\text{m}\times 25\mu\text{m}$

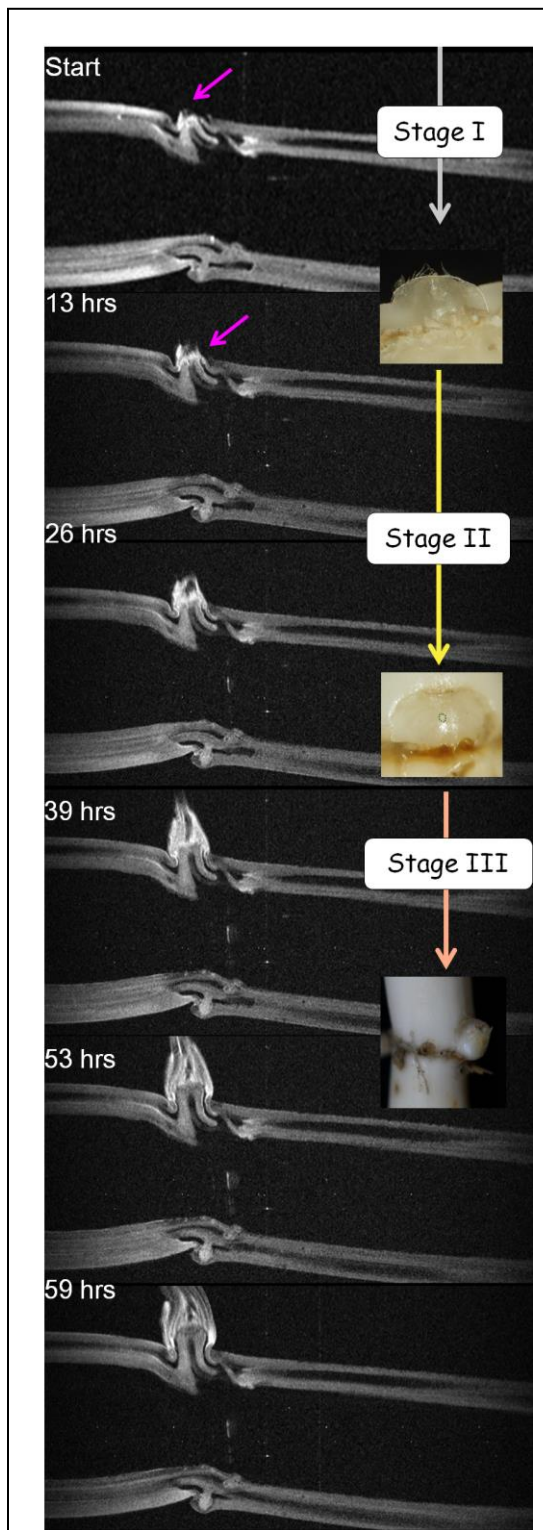


Fig. 3 地下茎腋芽の成長過程のMR画像。4.7Tで撮像。ほぼ同じ成長段階にある別の腋芽の光学顕微鏡も示している。面内分解能は $25\mu\text{m}\times 25\mu\text{m}$ 。13時間30分おきに撮像。

$\mu\text{m}\times 100\mu\text{m}$ 、撮像視野(FOV) $12.8\text{mm}\times 6.4\text{mm}\times 6.4\text{mm}$ 、積算回数(NEX)15、撮像時間13時間30分、9.4TではTE/TR=8/200ms、分解能 $30\mu\text{m}\times 30\mu\text{m}\times 120\mu\text{m}$ 、撮像視野(FOV) $30.7\text{mm}\times 30.7\text{mm}\times 7.8\text{mm}$ 、積算回数(NEX)8、撮像時間7時間40分であった。

#### 4. 研究成果

Fig. 3に示すのは、4.7Tで測定した、成長している地下茎腋芽の連続MR画像である。自然環境下で成長する腋芽と同じような3つの成長段階を経ていることが分かる。ステージIでは腋芽は小さく、平坦で地下茎に付いているが、伸張に先立ち、丸い形状になっていた。これは空中茎の腋芽とは異なる特徴であった。その後、ステージIIでサイズが大きくなり、最終的にステージIIIでかさ高い形状となっていた。腋芽の成長角度にも特徴があった。ステージIでは、腋芽の先端は地下茎の軸方向に沿っていたが、ステージII以降では軸と垂直な方向へと向き始め、それに伴って葉の数が急速に増加しながら全体が大きくなっていた。これらの特徴は、腋芽切片の光学顕微鏡画像でも確かめられた(Fig. 4)。

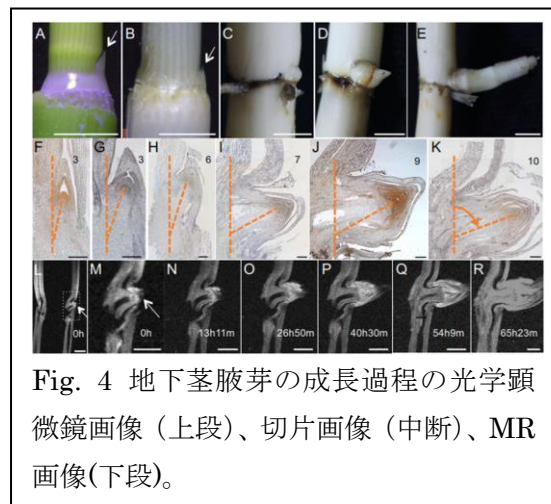


Fig. 4 地下茎腋芽の成長過程の光学顕微鏡画像(上段)、切片画像(中断)、MR画像(下段)。

9.4Tでは、高い信号対雑音比が得られたので、4.7Tとほぼ同じ面内分解能ながら、撮像時間はほぼ半分の7時間40分での撮像ができた(Fig. 5)。この結果では、地下茎が休眠状態から成長し始める段階への切り替わりが観測された。

続いて化学シフトイメージングの実装を試みた。位置分解用のエンコードパルス印加の際に生じる渦電流磁場の影響が大きいため、漏れ磁場シールド用の勾配磁場コイルを開発した。このシールド付き勾配磁場コイルを使い、さらに撮像の高速化のために圧縮センシング技術を組み合わせて、化学シフトイメージング用のシーケンスを開発した。この撮像シーケンスを使ってピリジン(A)、エチルベンゼン(B)、エタノール(C)、トルエン(D)の4種類のキャピラリファントムに対

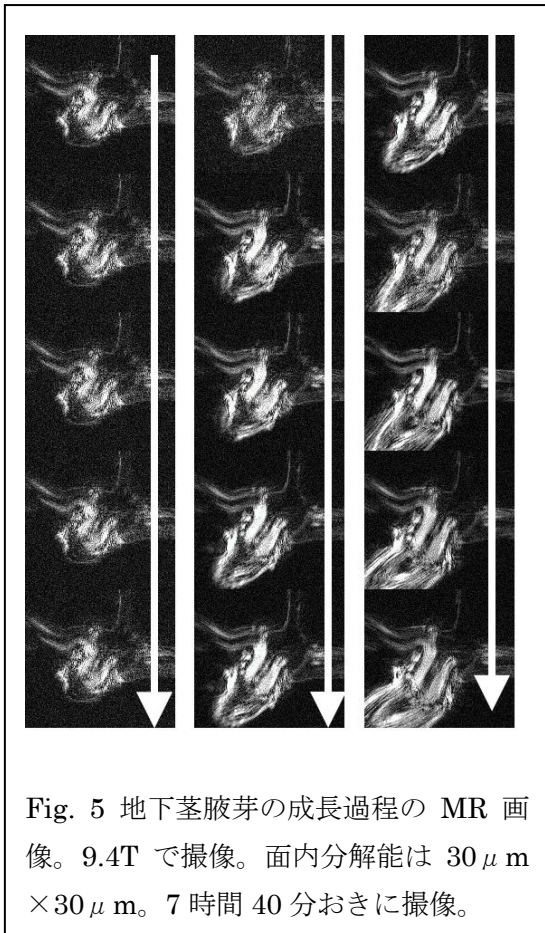


Fig. 5 地下茎腋芽の成長過程の MR 画像。9.4T で撮像。面内分解能は  $30\ \mu\text{m} \times 30\ \mu\text{m}$ 。7 時間 40 分おきに撮像。

して化学シフトイメージングを行った結果を Fig. 6 に示す。撮像時間は約 17 分であった。4 つの試料のスペクトルが位置分解できていることを示している。今後は地下茎腋芽でテストする予定である。

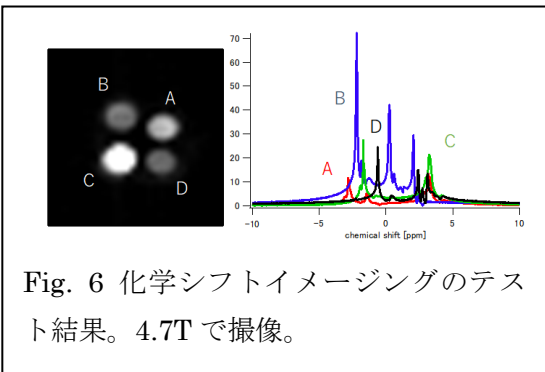


Fig. 6 化学シフトイメージングのテスト結果。4.7T で撮像。

## 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計 5 件)

(1) Andrew L. Chang, Hon J. Yu, Donald von Borstel, Taiki Nozaki, Saya Horiuchi, Yasuhiko Terada and Hiroshi Yoshioka, *Advanced Imaging Techniques of the Wrist*, *Am J Roentgenol*, 209, 497-510 (2017). 査読有

(2) Koki Matsuzawa, Mitsushi Abe, Katsumi Kose, Yasuhiko Terada, *Oval gradient coils for an open magnetic resonance imaging system with a vertical magnetic field*, *J Magn Reson* 278, 51-59 (2017). 査読有

(3) Akiko Yoshida, Yasuhiko Terada, Taiyo Toriba, Katsumi Kose, Motoyuki Ashikari and Junko Kyojuka, *Analysis of Rhizome Development in Oryza longistaminata, a Wild Rice Species*, *Plant Cell Physiol* 57, 2213-2220 (2016). 査読有

(4) Akiyoshi Nagata, Katsumi Kose, Yasuhiko Terada,

*Development of an outdoor MRI system for measuring flow in a living tree*, *J Magn Reson* 265, 129-138 (2016). 査読有

(5) Yasuhiko Terada, Daiki Tamada, Katsumi Kose, Taiki Nozaki, Yasuhito Kaneko, Ryo Miyagi and Hiroshi Yoshioka, *Acceleration of skeletal age MR examination using compressed sensing*, *Journal of Magnetic Resonance Imaging* 44(1), 204-211 (2016). 査読有

〔学会発表〕(計 27 件)

(1) 小林 優太, 寺田 康彦  
T 2 error originating from diffusion in MRF-FISP MRF-FISP における拡散に起因する T 2 推定値の定量誤差  
平成 29 年 9 月 15 日, 第 45 回日本磁気共鳴医学会大会, 宇都宮, P2-A4-016 (p306)

(2) 佐々木 椋一, 小林 優太, 寺田 康彦  
Musculoskeletal MR Fingerprinting using a 1.5T/280mm small-bore MRI 1.5T/280mm スモールボア MRI を用いた骨軟部への MR Fingerprinting の応用  
平成 29 年 9 月 15 日, 第 45 回日本磁気共鳴医学会大会, 宇都宮, P2-B5-160 (p378)

(3) 坂口 和也, 松澤 晃樹, 巨瀬 勝美, 寺田 康彦  
特異値分解法と遺伝的アルゴリズムを組み合わせた勾配磁場コイル性能の最適化手法の開発

平成 29 年 9 月 15 日, 第 45 回日本磁気共鳴医学会大会, 宇都宮, P2-B2-186 (p391)

(4) 寺田 康彦, 拝師 智之  
MRF による麻酔下マウス/ラットの緩和時間  
/ADC マッピングの初期検討  
平成29年9月15日, 第45回日本磁気共  
鳴医学会大会, 宇都宮, P2-B6-191(p394)

(5) 松崎 淳平, 拝師 智之, 巨瀬 勝美,  
寺田 康彦  
A new method for fabricating gradient  
coils using printed circuit boards プリ  
ント基板を用いた円筒型勾配磁場コイルの  
開発  
平成29年9月15日, 第45回日本磁気共  
鳴医学会大会, 宇都宮, P2-B2-185(p391)

(6) 小林 優太, 巨瀬 勝美, 寺田 康彦  
Development of a field camera system for  
a 1.5T/280mm superconducting magnet  
system and application to fast imaging  
method 1.5T/280mm 超伝導磁石における  
field camera システムの開発と高速撮像法へ  
の応用  
平成29年9月14日, 第45回日本磁気共  
鳴医学会大会, 宇都宮, 01-91(p214)

(7) 寺田 康彦  
non-Cartesian trajectory imaging  
平成29年9月14日, 第45回日本磁気共  
鳴医学会大会, 宇都宮, KJS1-1(p50)

(8) 寺田 康彦  
Fundamentals and recent developments in  
compressed sensing 圧縮センシングの基礎  
と最新動向  
平成29年9月15日, 第45回日本磁気共  
鳴医学会大会, 宇都宮, S2-1(p43)

(9) Yasuhiko Terada,  
Initial implementation of magnetic  
resonance fingerprinting on a preclinical  
14.1 T scanner,  
26 April, 2017, 25th Annual Meeting &  
Exhibition (ISMRM), Honolulu. (5220)

(10) Yasuhiko Terada, Yuta Kobayashi,  
Effect of diffusion weighting due to  
spoiler gradients in MR Fingerprinting.  
26 April, 2017, 25th Annual Meeting &  
Exhibition (ISMRM), Honolulu. (0940)

(11) Koki Matsuzawa, Katsumi Kose,  
Yasuhiko Terada,  
Oval gradient coils for a vertical  
magnetic field MRI.  
25 April, 2017, 25th Annual Meeting &  
Exhibition (ISMRM), Honolulu. (4337)

(12) Koki Matsuzawa, Katsumi Kose,  
Yasuhiko Terada,  
A new method for optimizing performances  
of gradient coils based on singular value  
decomposition and genetic algorithm.  
25 April, 2017, 25th Annual Meeting &  
Exhibition (ISMRM), Honolulu. (4336)

(13) 山田 諒太, 寺田 康彦, 巨瀬 勝美  
「円筒型マルチサーキュラーシムコイルを  
用いたダイナミックシミングシステムの開  
発」

平成28年11月18日, 第55回NMR討  
論会, 広島 P95 (p324-325)

(14) 松澤晃樹, 阿部充志, 巨瀬勝美, 寺田  
康彦  
「楕円筒形勾配磁場コイルの開発と小児骨  
年齢計測への応用」  
平成28年11月16日, 第55回NMR討  
論会, 広島 P80 (p286-287)

(15) 寺田 康彦  
「Introduction to MR Fingerprinting  
MR fingerprinting 入門」  
平成28年9月10日, 第44回日本磁気共  
鳴医学会大会, 大宮 EL9-1

(16) 寺田 康彦  
「MR microscopy accelerated by MR  
Fingerprinting  
MR 指紋法によるNMRマイクロコピーの高速  
化」  
平成28年9月10日, 第44回日本磁気共  
鳴医学会大会, 大宮 0-2-076 (p218)

(17) 小林優太, 巨瀬勝美, 寺田 康彦  
「Development of field monitoring system  
using field cameras for a 1.5 T  
superconducting magnet system  
1.5T 超伝導磁石における Field Camera を用  
いた磁場モニタリングシステムの開発」  
平成28年9月10日, 第44回日本磁気共  
鳴医学会大会, 大宮 P-2-035 (p278)

(18) 山田 諒太, 巨瀬勝美, 寺田 康彦  
「Development of a multi-circular  
shimming system for a 1.5 T/280 mm  
horizontal bore superconducting magnet  
1.5T/280mm 水平ボア超伝導磁石のためのマ  
ルチサーキュラーシムシステムの開発」  
平成28年9月9日, 第44回日本磁気共鳴  
医学会大会, 大宮 0-1-046 (p147)

(19) 松澤晃樹, 阿部充志, 巨瀬勝美, 寺田  
康彦  
「Design of oval gradient coils using  
current potential and singular value  
decomposition  
特異値分解法を用いた楕円筒型勾配磁場コ  
イルの設計」  
平成28年9月9日, 第44回日本磁気共鳴  
医学会大会, 大宮 0-1-044 (p146)

(20) Yasuhiko Terada,  
3D Magnetic resonance fingerprinting  
microscopy using a vertical wide bore  
superconducting magnet.  
10 May, 2016, 24th Annual Meeting &  
Exhibition (ISMRM), Singapore. (3287)

(21) Ryota Yamada, Makoto Tsuda, Katsumi  
Kose, and Yasuhiko Terada  
Planar-type multi-circular shimming for a  
1.0 T permanent magnet.  
10 May, 2016, 24th Annual Meeting &  
Exhibition (ISMRM), Singapore. (2199)

(22) Yasuhiko Terada, Akiko Yoshida,  
Katsumi Kose, Jyunko Kyojuka  
NMR microimaging of growth process of

rhizome axillary bud  
3 Aug, 2015, 13th International Conference  
on Magnetic Resonance  
Microscopy, Munich, Germany (P-112)

(23) 寺田康彦, 玉田大輝, 石圭一郎, 巨瀬勝美, 野崎太希, 金子康仁, 宮城亮, 吉岡大

「小児骨年齢計測のための CS サンプリング  
パターンの最適化」

平成27年9月11日, 第43回日本磁気共  
鳴医学会大会, 東京 (P-2-038) p371

(24) 松澤晃樹, 寺田康彦, 巨瀬勝美

「DUCAS (Design tools Using Current  
potential And SVD) を用いたグラジエント  
コイル用 GUI 設計ソフトウェアの開発」

平成27年9月11日, 第43回日本磁気共  
鳴医学会大会, 東京 (P-2-011) p358

(25) 山田諒太, 寺田康彦, 巨瀬勝美

「平面型マルチサーキュラーシムコイルシ  
ステムの開発」

平成27年9月11日, 第43回日本磁気共  
鳴医学会大会, 東京 (P-2-008) p356

(26) 松澤晃樹, 寺田康彦, 巨瀬勝美

「PC-MRI コントローラーを用いた渦電流制  
御手法の開発」

平成27年9月11日, 第43回日本磁気共  
鳴医学会大会, 東京 (P-2-006) p355

(27) 寺田康彦, 石澤一憲, 巨瀬勝美

「Artificial bee colony アルゴリズムを用  
いた勾配磁場コイルの設計」

平成27年9月10日, 第43回日本磁気共  
鳴医学会大会, 東京 (0-1-083) p204

[その他]

ホームページ等

<http://www.bk.tsukuba.ac.jp/~mrlab/index.html>

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

寺田康彦 (TERADA) Yasuhiko  
筑波大学・数理物質系・准教授  
研究者番号: 20400640

### (2) 研究分担者

なし

### (3) 連携研究者

巨瀬勝美 (Kose) Katsumi  
筑波大学・数理物質系・教授  
研究者番号: 60186690

経塚淳子 (Kyoduka) Jyunko  
東北大学・大学院生命科学研究科・教授  
研究者番号: 90273838

吉田 明希子 (Yoshida) Akiko  
横浜市立大学・国際総合科学部・助教

研究者番号: 00718174

(4) 研究協力者  
なし