

令和元年6月12日現在

機関番号：15301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2018

課題番号：15K09924

研究課題名(和文) 腫瘍内アポトーシス発現の定量評価のための新しい分子画像解析手法の開発

研究課題名(英文) Development of a new molecular image analysis method for quantitative evaluation of intratumoral apoptosis

研究代表者

黒田 昌宏 (Kuroda, Masahiro)

岡山大学・保健学研究科・教授

研究者番号：50225306

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：MRI拡散強調画像をベースとした3T MR装置用のアポトーシス定量撮像法(ASM法)をRESOLVE法を利用して開発した。培養細胞を含むバイオフィantomを使用した実験により、ASM法はアポトーシス小体のような微小な制限拡散を1マイクロメートル程度の高解像度で解析可能であり、Diffusion Kurtosis Imagingと同様に細胞の制限拡散を描出可能であった。ASM法は、アポトーシス小体のような制限拡散の新たな画像化手法として有望である。

研究成果の学術的意義や社会的意義

悪性腫瘍に対して分子標的薬剤などによる治療が有効な場合、腫瘍内に多くのアポトーシスが出現することが知られている。現在臨床で用いられるアポトーシス定量画像化手法はなく、今回、MRI拡散強調画像をベースとした3T MR装置用のアポトーシス定量撮像法(ASM法)を開発した。現在、臨床試験のための専用の画像解析ソフトウェアの開発を開始している。ASM法は、アポトーシス画像化手法として有望であり、今後早期に有用性を確認する臨床試験に入る予定である。

研究成果の概要(英文)：Apoptosis quantitative imaging method (ASM method) for 3T MR device based on MRI diffusion weighted image was developed using RESOLVE method. The experiments using bio-phantoms containing cultured tumor cells clarified that the ASM method can analyze minute restricted diffusion like apoptotic bodies with high resolution on the order of 1 micrometer. The ASM method could visualize restricted diffusion as same as diffusion kurtosis imaging. The ASM method might be promising as a new imaging method for restricted diffusion like apoptotic bodies.

研究分野：放射線医学

キーワード：MRI バイオフィantom ADC アポトーシス

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

臨床での画像診断の技術は、主に臨床疾患例の病理組織と画像との対比を基礎として、経験の積み重ねによる帰納的な手法により発展してきた。従来、腫瘍組織を構成する腫瘍細胞自体を臨床用の画像診断装置を用いて画像化することはほぼ不可能と考えられており、我々が継続してきた培養腫瘍細胞を画像化する手法により新しい画像診断技術を開発する研究は、国内外でも稀でオリジナリティーが高い。

2. 研究の目的

三次元細胞培養を行いながら臨床用画像診断装置で撮像できるように我々が開発したバイオフィantomと細胞の状態を任意に変化させる分子生物技術を併用し、目的達成型、演繹的な新しい研究手法を用いて、悪性腫瘍治療の新しい早期感受性予測法を開発することを全体構想とする。具体的な目的としては、分子標的薬剤や高精度放射線治療など新規腫瘍治療による腫瘍内アポトーシス発現の定量的評価のための新しい分子画像診断手法を開発する。

3. 研究の方法

初年度から4年間かけて、開発したMRI拡散強調画像をベースとした1.5T MR装置用のアポトーシス定量撮像法を、臨床用高磁場3T装置用に改良し、さらに培養細胞を含むバイオフィantomを用いて得られた画像データを、近年研究開発が進んでいる制限拡散の画像化や新しい画像後処理手法を開発し、アポトーシス高感度定量解析の画像化手法を確立した。Fantomに腫瘍細胞を埋込み、撮像画像により精度を評価した。また腫瘍細胞の変化により微小空間の変化を解析し、従来の臨床例や動物実験での画像と病理所見の対比のみでは検討できなかった画像変化のメカニズムと分子病理学的変化との関連に焦点をあてて精密な解析を進めた。最終年度までに論文上で研究を報告した。

4. 研究成果

分子標的薬剤や高精度放射線治療など新規腫瘍治療による腫瘍内アポトーシス発現の定量的評価のための新しい分子画像診断手法を開発することをめざし研究を行った。MRI拡散強調画像をベースとした3T MR装置用のアポトーシス定量撮像法で、高磁場装置での取得信号量の増加により高精度の解析が可能となり、アーチファクトや画像のゆがみを解消するRESOLVE法(High Resolution Diffusion-Weighted Imaging Using Readout-Segmented Echo-Planar Imaging, Parallel Imaging and a Two-Dimensional Navigator-Based Reacquisition)も併用し、さらに、培養細胞を含むバイオフィantomを使用して、アーチファクトや画像のゆがみを改善できることを論文報告にて示した(論文#1)。2017年度に新規導入した3T装置の利用で可能となったDiffusion Kurtosis Imagingおよび拡散時間を調整したRESOLVE法(ASM法)にて、臨床での短時間撮像が可能となるように、シークエンスを改良し、両者による培養細胞を含むバイオフィantom撮像により、新規開発した拡散時間を調整したASM法は、Diffusion Kurtosis Imagingと同様に、細胞の制限拡散を描出可能なことを明らかにした。この研究成果の論文は現在査読過程である(論文#2)。

さらに、ASM法の臨床試験のための専用の画像解析ソフトウェアの開発を開始している。今回開発したASM法による新規画像解析手法は、アポトーシス小体のような微小な制限拡散を1マイクロメートル程度の高解像度で解析可能であることが明らかとなった。ASM法は、Diffusion Kurtosis Imagingと同様に、今後の新たなアポトーシス小体のような制限拡散の画像化の手法として有望であり、今後、有用性の確認のための臨床試験に入る予定である。

論文#1の概要

Acta Med. Okayama, 2018
Vol. 72, No. 1, pp. 53-59
Copyright© 2018 by Okayama University Medical School.

Acta Medica
Okayama

Original Article

<http://escholarship.lib.okayama-u.ac.jp/amo/>

The Usefulness of Readout-Segmented Echo-Planar Imaging (RESOLVE) for Bio-phantom Imaging Using 3-Tesla Clinical MRI

Yuuki Yoshimura^{a,b}, Masahiro Kuroda^{a*}, Irfan Sugianto^c, Babatunde O. Bamgbose^c,
Kanae Miyahara^{a,b}, Yuichi Ohmura^a, Akira Kurozumi^{a,d}, Toshi Matsushita^d,
Seiichiro Ohno^d, Susumu Kanazawa^e, and Junichi Asaumi^c

^aRadiological Technology, Graduate School of Health Sciences, Okayama University,
Departments of ^cOral and Maxillofacial Radiology and ^eRadiology, Okayama University Graduate School of Medicine,
Dentistry and Pharmaceutical Sciences, ^dCentral Division of Radiology, Okayama University Hospital, Okayama 700-8558, Japan,
^bRadiology Diagnosis, Okayama Saiseikai General Hospital, Okayama 700-8511, Japan

Readout-segmented echo-planar imaging (RESOLVE) is a multi-shot echo-planar imaging (EPI) modality with k-space segmented in the readout direction. We investigated whether RESOLVE decreases the distortion and artifact in the phase direction and increases the signal-to-noise ratio (SNR) in phantoms image taken with 3-tesla (3T) MRI *versus* conventional EPI. We used a physiological saline phantom and subtraction mapping and observed that RESOLVE's SNR was higher than EPI's. Using RESOLVE, the combination of a special-purpose coil and a large-loop coil had a higher SNR compared to using only a head/neck coil. RESOLVE's image distortion was less than EPI's. We used a 120 mM polyethylene glycol phantom to examine the phase direction artifact. The range where the artifact appeared in the apparent diffusion coefficient (ADC) image was shorter with RESOLVE compared to EPI. We used RESOLVE to take images of a Jurkat cell bio-phantom: the cell-region ADC was $856 \times 10^{-6} \text{ mm}^2/\text{sec}$ and the surrounding physiological saline-region ADC was $2,951 \times 10^{-6} \text{ mm}^2/\text{sec}$. The combination of RESOLVE and the 3T clinical MRI device reduced image distortion and improved SNR and the identification of accurate ADC values due to the phase direction artifact reduction. This combination is useful for obtaining accurate ADC values of bio-phantoms.

Key words: RESOLVE, bio-phantom, 3 tesla MRI, apparent diffusion coefficient, diffusion-weighted imaging

Table 1 RESOLVE and EPI MR imaging conditions, SNR, distortion, phase-direction artifact and bio-phantom

| Parameters | SNR and distortion | | Phase direction artifact | | Bio-phantom |
|--|--------------------|-----------|---|---|---|
| | RESOLVE | EPI | RESOLVE | EPI | RESOLVE |
| TR (msec) | 8000 | 8000 | 8000 | 8000 | 8000 |
| TE (msec) | 80 | 122 | 103 | 98 | 103 |
| ES (msec) | 0.6 | 1.57 | 0.6 | 1.44 | 0.6 |
| FOV (mm) | 120 | 120 | 120 | 120 | 120 |
| Matrix | 162 × 162 | 162 × 162 | 224 × 224 | 120 × 120 | 224 × 224 |
| BW (Hz/pixel) | 386 | 752 | 360 | 758 | 360 |
| Average | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 |
| Segment | 7 | – | 7 | – | 7 |
| Slice thickness (mm) | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 |
| Slice number | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| Phase direction | AP | AP | AP | AP | AP |
| <i>b</i> -value (sec/mm ²) | 1000 | 1000 | 0, 200, 400, 600, 800, 1000, 1100, 1200, 1300 | 0, 200, 400, 600, 800, 1000, 1100, 1200, 1300 | 0, 200, 400, 600, 800, 1000, 1100, 1200, 1300, 1400, 1500, 1700, 2000 |
| Imaging time (h : min : sec) | 7 : 06 | 1 : 14 | 1 : 43 : 30 | 12 : 42 | 1 : 43 : 30 |

TR, repetition time; TE, echo time; ES, echo space; FOV, field of view; BW, band width; AP, antero-posterior.

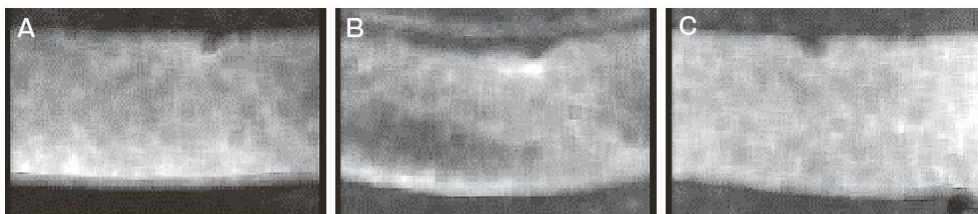


Fig. 1 The SNR map based on the differences in sequences and in the selection of coils. **A**, RESOLVE with the combination of the special-purpose coil and large-loop coil. SNR: 46.2; **B**, EPI with the combination of the special-purpose coil and large-loop coil. The SNR was 21.7; **C**, RESOLVE with the head/neck coil. SNR: 23.5.

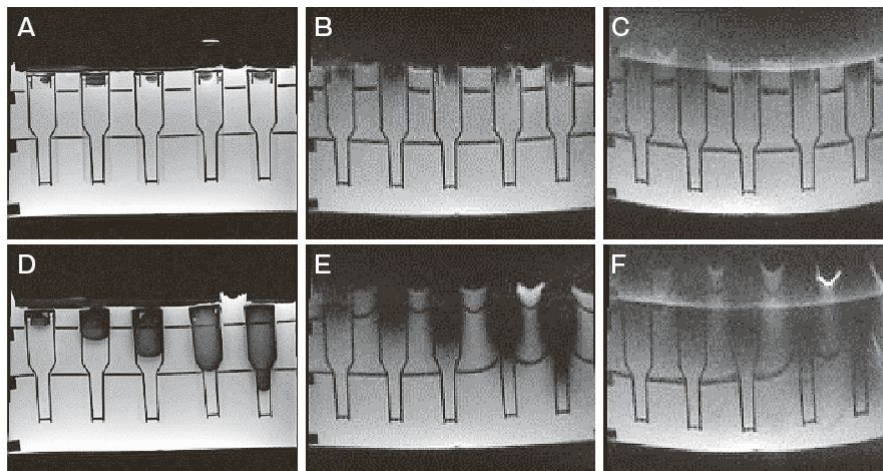


Fig. 2 The distortion of images based on the different sequences and the volume of air in the phantom. **A, D**, T2-weighted images as the control images without distortion; **B, E**, RESOLVE; **C, F**, EPI. **A-C**, No air in the phantom; **D-F**, Different volumes of air in the phantom.

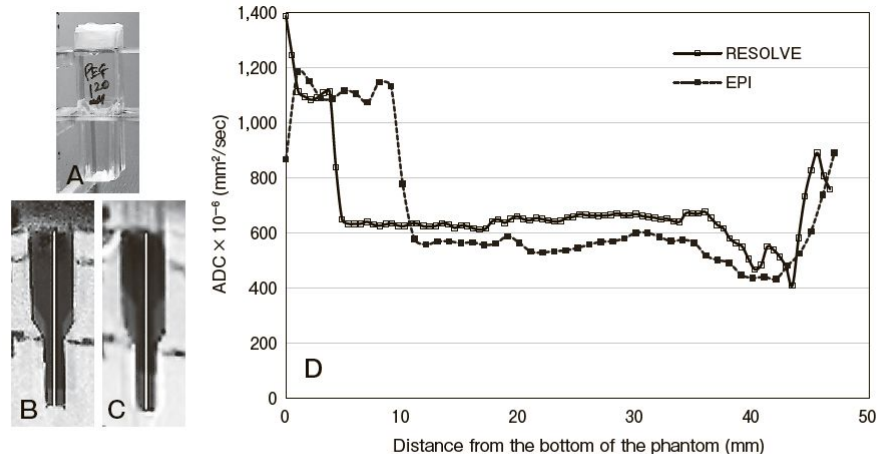


Fig. 3 The phase-direction artifact. A, The phantom containing 120 mM PEG; B, RESOLVE; C, EPI. The longitudinal axis of the phantom represents the phase direction; this is shown as the midline on panels B and C; D, The ADC values calculated along the midline of the longitudinal axis, from the bottom to the top of the phantom. Open square with full line, RESOLVE; Closed square with dotted line, EPI.

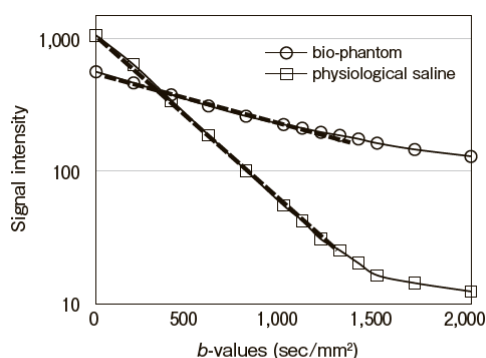
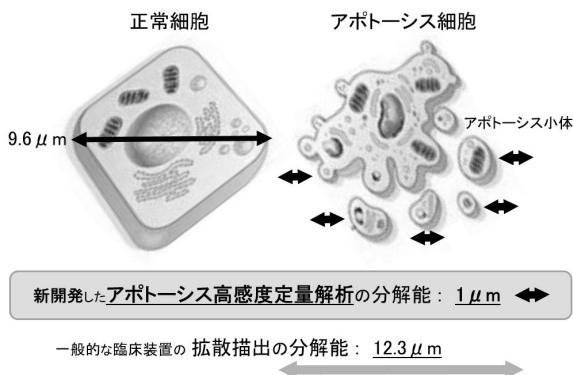


Fig. 4 Calculation of the ADC values of the bio-phantom. The signal intensity of the ROIs on the RESOLVE images was plotted as the function of the b -values. Open circles and squares represent the signal intensity of the ROIs in the bio-phantom and physiological saline, respectively. The straight lines represent regression lines calculated with the least square method for the b -values between 0 and 1,300 sec/mm^2 .

論文#2 の概要

ASM 法を用いた制限拡散可視化のための新しい画像解析手法の開発

有効拡散時間の異なる 2 種類の RESOLVE 法を用いた拡散強調画像撮像シーケンスを利用した ASM 法と呼ばれる新しい画像解析手法を開発し、それを拡散尖度イメージング (DKI) と比較した。生理食塩水および Jurkat 細胞を用いた低細胞密度および最高細胞密度の 3 種のバイオファントムを用いて検討した。各ファントムの ADC 値の平均値と標準偏差 (SD) は、それぞれ $2.95 \pm 0.08 \times 10^{-3}$, $1.90 \pm 0.35 \times 10^{-3}$ and $0.79 \pm 0.05 \times 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{sec}$ であった。DKI の平均尖度値と SD は、それぞれ 0.04 ± 0.01 , 0.44 ± 0.13 and 1.27 ± 0.03 であり、ASM 値の平均値と SD は、それぞれ $0.25 \pm 0.20 \times 10^4$, $0.51 \pm 0.41 \times 10^4$ and $4.80 \pm 4.51 \times 10^4 (\text{sec}/\text{mm}^2)^2$ であった。バイオファントムを用いた研究により、DKI が主に制限拡散を反映することを実証し、同様に、ASM 法は主に細胞外空間における制限拡散の程度を画像化できることが明らかとなった。ASM 法では、アポトーシス小体のような $1 \mu\text{m}$ 程度の微小空間の制限拡散を画像化できることが明らかとなった。



5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計1件)

Yuuki Yoshimura, Masahiro Kuroda, Irfan Sugianto, Babatunde O. Bamgbose, Kanae Miyahara, Yuichi Ohmura, Akira Kurozumi, Toshi Matsushita, Seiichiro Ohno, Susumu Kanazawa, and Junichi Asaumi

The Usefulness of Readout-Segmented Echo-Planar Imaging (RESOLVE) for Bio-phantom Imaging Using 3-Tesla Clinical MRI

Acta Med. Okayama 72 53-59 2018, 18926/AMO/55663 査読 有

〔学会発表〕(計1件)

大会名 第44回日本放射線技術学会秋季学術大会

会期 平成28年10月13日(木)~15日(土)

会場 大宮ソニックシティ 〒330-8669 埼玉県さいたま市大宮区桜木町1-7-5

募集期間 平成28年4月21日(木)から平成28年6月1日(水)正午まで

演題名 RESOLVEを用いた臨床用3テスラMRIによるバイオフィantom撮像の有効性

演者 吉村祐樹(岡山大学大学院 保健学研究科 放射線技術科学分野)

黒田昌宏(岡山大学大学院 保健学研究科 放射線技術科学分野)

Irfan Sugianto (岡山大学大学院 医歯薬学総合研究科 歯科放射線学分野)

6 . 研究組織

該当なし