

令和 3 年 6 月 23 日現在

機関番号：81404

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2020

課題番号：17K10422

研究課題名(和文)MRIにおける血管径計測方法の開発

研究課題名(英文)Development of blood vessel diameter measurement method in MRI

研究代表者

中村 和浩 (Nakamura, Kazuhiro)

秋田県立循環器・脳脊髄センター(研究所)・放射線医学研究部・主任研究員

研究者番号：10312638

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：本研究ではMRI血管径画像法に利用する造影剤を検討した後、2光子顕微鏡で測定した血管径の実測値とMRI血管径画像法で得られた値を比較した。その結果、2光子顕微鏡観察領域内の平均血管半径は約15 μm であり、血管体積はおよそ2%であった。MRI血管径画像法で得られた血管直径に相当する値は、2光子顕微鏡による観察領域内で約45 μm であり、おおむね一致する結果が得られた。また新たなMRI血管径画像法として拡散強調画像法を使う方法を提案し、その方法を検証することができた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究で検証されたMRI血管径画像法は、MRAなどで計測できる大血管ではなく、細動脈、毛細血管レベルの細い血管の血管径の分布である。非侵襲でこうした細い血管径を測定する手法はこれまで妥当性を検証されておらず、本研究においてその結果が確認できた点に学術的意義がある。脳梗塞患者や脳腫瘍患者において血管径の変化を測定することにより、重症度のステージ判定や治療法の選択に寄与する可能性があるなどの社会的な意義がある。

研究成果の概要(英文)：In this study, we validated commercially available ultra-superparamagnetic contrast agents for vessel size imaging in MRI (VSI). The blood vessel diameter measured with a two-photon microscope is compared with the values obtained by VSI. As a result, the average blood vessel diameter in the two-photon microscope was about 15 μm , and the blood vessel volume was about 2%. The value obtained by VSI was about 45 μm . The results were generally in agreement. We also proposed a method using diffusion-weighted imaging as a new method for MRI blood vessel size imaging. And we could validate the new method.

研究分野：磁気共鳴画像解析

キーワード：MRI 拡散強調画像 血管径計測法 磁化率強調画像

1. 研究開始当初の背景

磁気共鳴画像(MRI)を用いた手法において、磁性体造影剤を導入した被験体の血管径を推定する血管径画像法(VSI)が提案されている。このVSIは太い血管ではなく、細動脈や毛細血管レベルの細い血管径を測定するために提案された手法であり、ラットによる実験手技の提案だけでなく、ヒトに適用した結果についてもいくつかの報告がある。とはいえ、VSIは常磁性体の磁化率効果が血管径によって異なることに着目し、磁化率変化の画像から血管径を推定する手法であるため、磁化率変化画像から血管径を正しく推定できるかどうかについて疑念がある。特に被験体の病変部では、磁性体造影剤以外にも磁化率効果に影響を与える要因が複数あることも課題である。シミュレーションによる検討から血管径とVSIの対応を検証している報告はあるが、実際に顕微鏡撮像下の血管径との比較は行われていない。一方、2光子励起を用いた共焦点蛍光顕微鏡は、近赤外光レーザーを利用し一般的な共焦点顕微鏡より深部の血管を観察することができる。この2つの手法を組み合わせることでVSIの値を検証することを考えた。

2. 研究の目的

本研究課題の第一の目的は、磁性体造影剤の導入により得られるVSIで推定された血管径の妥当性を検討するため、2光子顕微鏡で測定した血管径の実測値と血管径画像で得られた値を比較することである。健常ラットおよび、病態モデルラットの双方を利用し、酸素代謝の異なる患側でも正しい値が推定できるかどうかも検討する。

第二の目的は、磁化率を反映する拡散強調画像を用いて、磁性体造影剤を用いない血管径計測法を開発することである。単一収束型スピンエコー法のDWI(SRSE-DWI)に加え、2回の180度パルスを加える2回収束型スピンエコー法のDWI(TRSE-DWI)を合わせて取得することで、磁性体造影剤を用いない血管径計測法を開発することを目的とした。

3. 研究の方法

本研究では、血管径計測法の妥当性について炭酸ガス負荷ラットで2光子顕微鏡による実測により検証する。また、臨床研究では、拡散強調画像を用いた手法を同意の得られた8名の脳血管障害患者において測定を行った。

(1)炭酸ガス負荷ラットを用いた検証実験では、雄性SDラットを実験に用いた。イソフルラン全身麻酔下でラットの左頭頂骨に骨窓を作成した後、5mm径のカバーガラスを光重合型歯冠用硬質レジンで固定した。rhodamindextran(10mg/ml 0.2ml)を静脈内投与することで血漿成分を蛍光標識し、2光子共焦点顕微鏡を用いて脳表血管を観察した。また、人工呼吸器の換気量を調整することで、血中炭酸ガス分圧を通常値に維持管理した後、人工呼吸器の喚起量に対して0.4、0.8%の炭酸ガス負荷をおこなった。蛍光励起波長は850nmとし、575 - 630 nmの蛍光を観察した。0.994 μ m/pixelの解像度で、512 \times 512pixel、深さ分解能10 μ mの3次元画像をそれぞれの炭酸ガス負荷濃度で取得した。顕微鏡画像解析はImageJを用い、血管径の計測はVessel Analysis Pluginを利用した。

VSIについては、4.7T動物用MRI装置によりグラジエントエコー法(TR/TE=200/10,20,40ms, FA 30°, FOV 25 \times 25mm, Matrix128 \times 128)および、スピンエコー法(TR/TE=800/15,80ms, FOV 25 \times 25mm, Matrix128 \times 128)を撮像した。TEの異なる画像から対数近似によりT2*値、T2値を推定し、USPIO造影剤(MoldayION, BioPAL社, USA; 10mgFe/ml 0.15ml)導入前後の値の変化から、グラジエントエコー法の信号差を ΔR_2^* 、スピンエコー法の信号差を ΔR_2 としたときに(1)式によってVSI指数を算出した。

$$\text{VSI 指数} = 0.425 \left(\frac{D}{\gamma \Delta \chi B_0} \right)^{1/2} \left(\frac{\Delta R_2^*}{\Delta R_2} \right)^{3/2} \quad (1)$$

Tropresらの報告に基づき、拡散定数(D)を0.697 \times 10⁻³mm²/secに設定し、核磁気共鳴周波数に対応する γB_0 を200MHzに設定した。USPIO製剤導入に伴う血管内外の磁化率変化量 $\Delta \chi$ は0.2ppmに設定した。

(2)拡散強調画像を用いた手法による臨床研究ではまず、シミュレーションにより検証実験をおこなった。検証実験には、モンテカルロシミュレーションを行い、血管ネットワーク内で拡散するプロトンの位相変化を計算した。血管モデルにおける脳血管の半径は1,2,5,10,20 μ mとした。解析プログラムは、パーソナルコンピュータで実行された自製C言語プログラムを使用した。血管内外の磁化率変化は正常な脳組織酸素化レベルを仮定して0.8 \times 10⁻⁷に設定した。脳組織の磁化率は生理的な範囲を考慮し、2.0、5.0、10.0 \times 10⁻⁷を仮定した。プロトンの生体内拡散定数は正常脳組織を想定し、1.0 \times 10⁻⁵cm²/sに設定した。ADCは、b値0と1000を想定したシミュレーション信号強度によって計算した。

(3)拡散強調画像を用いた手法による臨床研究では、穿通枝領域の脳梗塞患者8名を対象と

した。それぞれの患者は発症後 1 週間、1 か月、退院時（およそ数カ月後）の 3 回にわたって、3T MRI 装置で、SRSE-DWI, TRSE-DWI を撮像した。b 値 0 と 1000 の画像から、ADC 画像として TRSE-ADC, SRSE-ADC を算出し、その差分画像(ADC-Diff)を評価した。健側の評価は、3D MPRAGE シーケンスによって取得された解剖学的 T1 強調画像を使用して、Freesurfer v6.04 によって解剖学的な構造から関心領域を個別に設定した。また、患側の評価は虚血領域を囲む関心領域 (ROI) を手動で選択することによりおこなった。研究は当該施設の倫理委員会の審査を受け承認を受けている。

4. 研究成果

(1) 炭酸ガス負荷ラットを用いた検証実験結果について、まず 2 光子顕微鏡画像における再現性を検討した。2 光子顕微鏡画像における深さ方向の最大値投影画像(Maximum Intensity Projection; MIP)(図 1a)と 3 次元再構成画像(図 1b)を示す。2 光子顕微鏡を利用することで、脳表から 600 μ m までの深さの血管を観察することが可能となったことが見てとれる。しかしながら、炭酸ガス負荷によって血管径が拡張している様子を観察することはできなかった(図 1c, d, e)。開窓直後に 2 光子顕微鏡観察をしていることから、手術侵襲により、すでに血管が最大拡張しており炭酸ガス負荷により拡張する余裕がなかったことを示している可能性があるが、2 光子顕微鏡での測定方法に問題がないことが確認できた。

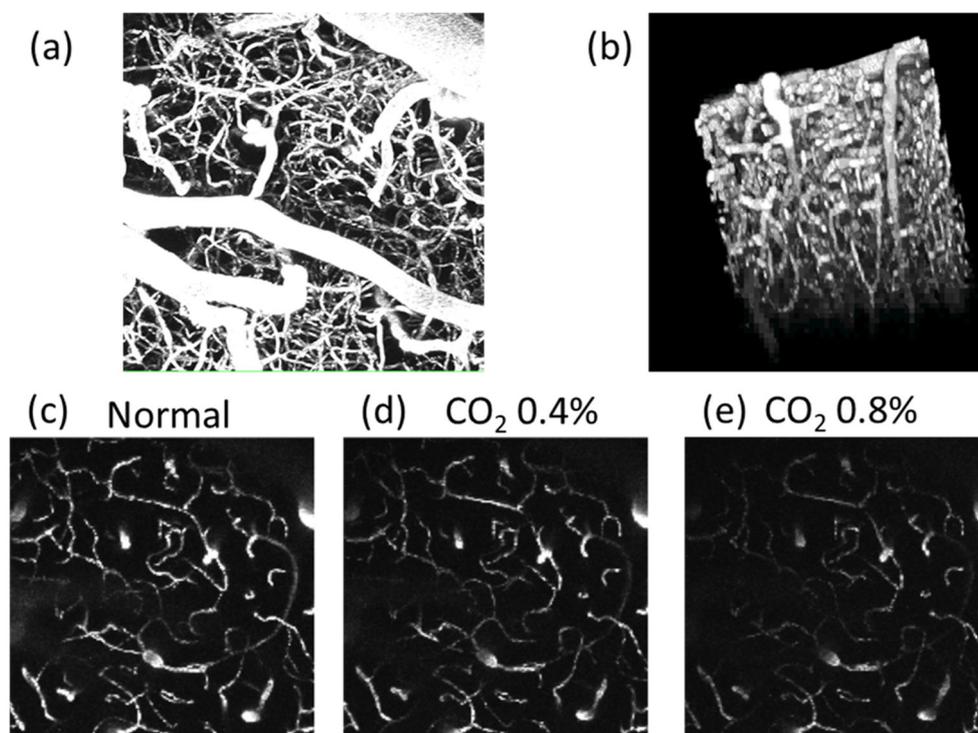
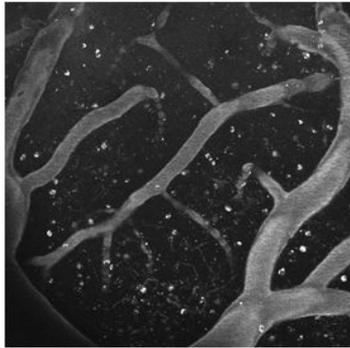


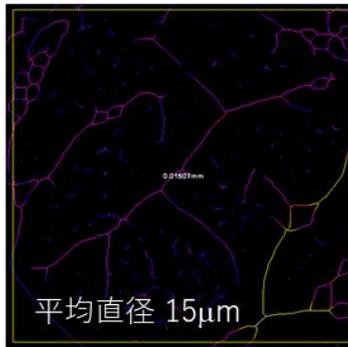
図 1：測定した 0-600 μ m の MIP 画像(a)と 3 次元構築して表示した画像(b)。脳表から 150 μ m 下のスライス面について、炭酸ガス負荷前、負荷後の血管画像をそれぞれ示した(c, d, e)。

次に、2 光子顕微鏡画像と VSI の比較を行った。比較検証した実験結果を図 2 に示す。2 光子顕微鏡観察において、観察領域内の平均血管半径は約 15 μ m であり、血管体積はおよそ 2%であった。VSI では、2 光子顕微鏡による観察領域内では直径に相当する値として約 45 μ m であった。磁化率差は USPIO 造影剤の導入量によって異なるため、今後、磁化率定量画像法(QSM)などを併用して血管径画像法の検証を進めていく必要がある。

(a) 2光子顕微鏡 MIP画像
(0 - 250 μ m)



(b) ImageJ解析結果
(Vessel Analysis Plugin)



(c) VSI

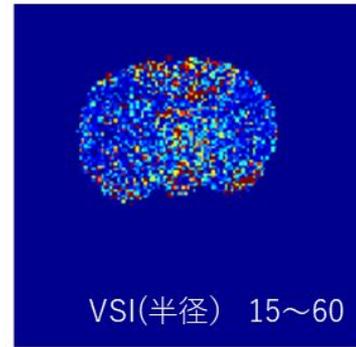


図2：測定した脳表から深さ 0-600 μ m の MIP 画像(a)と ImageJ による解析結果(b)、VSI 画像(c)のそれぞれについて示す。

(2) 拡散強調画像を用いた手法を検証するためのシミュレーション実験では、SRSE-DWI と TRSE-DWI シーケンスを使用し、血管半径と ADC の減少比率の関係を計算し、シミュレーションアルゴリズムを確認した。その結果、既報の結果と同じ結果を得ることができ、自製ソフトウェアの妥当性が評価できた。この実験結果を踏まえ、組織磁化率の値を変化させ、組織磁化率および血管半径の関係は SRSE-DWI および TRSE-DWI 信号の組み合わせから決定されることを示した。このことから、SRSE-DWI および TRSE-DWI を取得することによって、その組み合わせから血管半径を推定できることを示した。

(3) 拡散強調画像を用いた手法による臨床研究において、脳卒中患者における典型的な DWI および ADC 画像を図3に示す。測定したすべての画像において、TRSE-DWI の画素値は SRSE-DWI の画素値より低かった。TR、TE は同じ値としたが、Motion Probing Gradient の印加回数の違いにより画素値が低くなったものと考えられる。SRSE-ADC は TRSE-ADC より値が小さく、ADC-Diff では被殻など磁化率効果の大きいところで値が大きかった。このことから、差分画像が磁化率変化を反映しているものと考えられた。

また、図4に示すとおり、脳梗塞の周辺部では ADC-Diff が高値を示し、炎症や血管拡張に伴う磁化率変化を反映している可能性がある。差分画像を利用していることから、横緩和時間成分の違いは相殺されており、ADC-Diff は、組織磁化率を反映し、この値から血管径を推定できる可能性が示唆された。

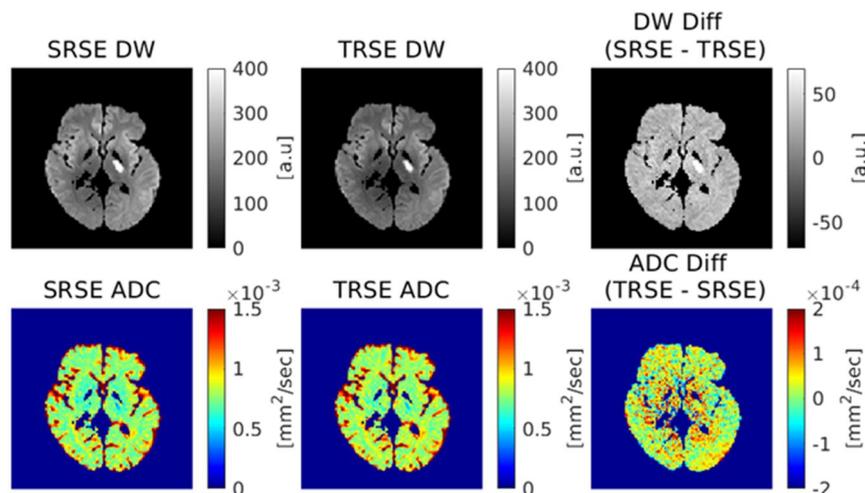


図3：典型的被検者の拡散強調画像(DW)、ADC および ADC の差分画像。TRSE-DWI の信号値は SRSE-DWI のそれよりも小さく、TRSE-ADC の値は SRSE-ADC のそれよりも大きかった。被殻など磁化率効果の大きいところで ADC-Diff の値は大きい。脳梗塞周辺部では血管拡張に伴うため、ADC-Diff の値が大きくなっている。

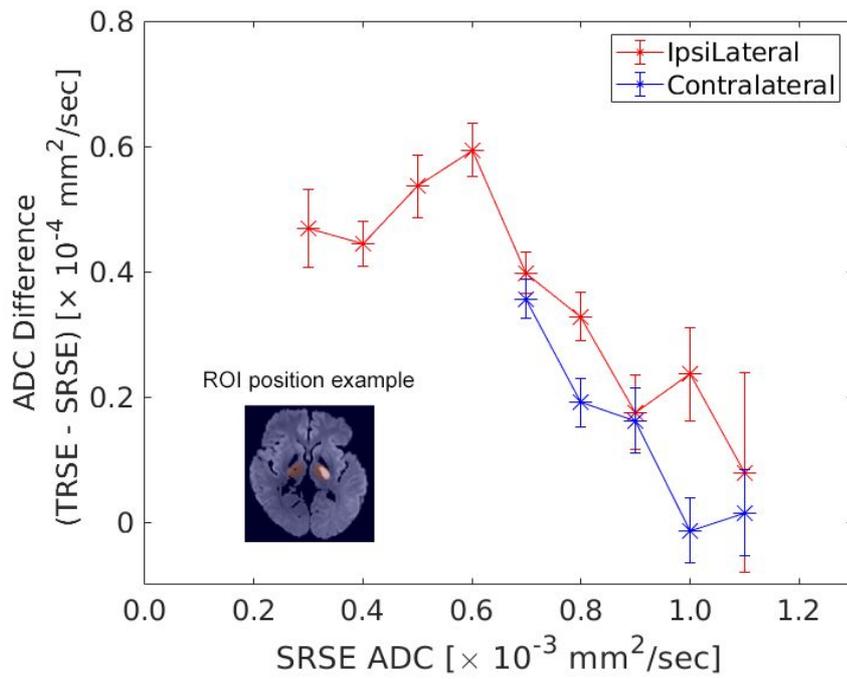


図4：虚血側(赤)と健常側(青)のADCの違い。選択したROIから各SRSE-ADCの範囲のvoxelを抽出し、平均および標準誤差を示した。選択したROI選択の位置は図中に示すとおりであり、赤い領域が、手動で選択されたROIを示す。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 1件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Nakamura Kazuhiro, Minakata Shin, Toyoshima Hideto, Kinoshita Toshibumi	4. 巻 82
2. 論文標題 Monte-Carlo Simulation and Clinical Image Validation for Vessel Size Imaging with Twice and Single Refocus Spin-Echo Diffusion Sequence	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 APCMBE 2020, IFMBE Proceedings	6. 最初と最後の頁 10 ~ 15
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/978-3-030-66169-4_2	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 中村和浩, 片山統裕, 小山内実, 木下俊文	4. 巻 MBE2019-36
2. 論文標題 MRI血管径画像法で用いる磁性体造影剤の検討	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 信学技法	6. 最初と最後の頁 37-40
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 中村和浩, 木下俊文	4. 巻 MBE2020-15
2. 論文標題 GPU を用いたMRI 拡散信号シミュレーション法高速化の検討	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 信学技報	6. 最初と最後の頁 15-18
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計10件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 K. Nakamura, S. Minakata, H. Toyoshima, T. Kinoshita
2. 発表標題 単一および2回収束スピノエコー拡散撮像法の差分画像を用いた、脳梗塞患者の虚血領域におけるADCの変化
3. 学会等名 第47回日本磁気共鳴医学会大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 K. Nakamura, S. Minakata, H. Toyoshima, T. Kinoshita
2. 発表標題 Difference between twice and single refocus spin-echo diffusion sequence in early phase of stroke patients
3. 学会等名 Society for Neuroscience 2019 (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 中村和浩, 小山内実, 稲垣良, 片山統裕, 木下俊文
2. 発表標題 2光子顕微鏡を用いた血管拡張能の測定
3. 学会等名 第52回生体医工学会東北支部大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 中村和浩, 片山統裕, 小山内実, 木下俊文
2. 発表標題 磁性体造影剤を用いたMRI血管径画像法とその評価
3. 学会等名 第62回日本脳循環代謝学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Kazuhiro Nakamura, Toshibumi Kinoshita
2. 発表標題 Validation of vessel size imaging using carbon dioxide inhalation in rats
3. 学会等名 4th meetig of ISMRM Jpana Chapter
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 中村和浩、豊嶋英仁、皆方伸、高橋 一広、木下俊文
2. 発表標題 2回収束型と単一収束型スピンエコー拡散画像の差分による磁化率強調画像
3. 学会等名 第46回日本磁気共鳴医学会大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 中村和浩, 小山内実, 稲垣良, 片山統裕, 木下俊文
2. 発表標題 2光子顕微鏡を用いた血管拡張能の測定
3. 学会等名 第52回日本生体医工学会 東北支部大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 中村和浩
2. 発表標題 拡散強調画像を用いた血管拡張能推定法の検討
3. 学会等名 第51回日本生体医工学会 東北支部大会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 中村和浩, 豊嶋英仁, 木下俊文
2. 発表標題 陰性造影剤を用いた血管予備能測定法のラットにおける検証
3. 学会等名 第48回日本磁気共鳴医学会大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 中村和浩, 木下俊文
2. 発表標題 大脳皮質野領野を病変とする脳虚血再灌流モデルラット作成方法の検討
3. 学会等名 第63回日本脳循環代謝学会
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	石川 達哉 (Ishikawa Tatsuya) (10281809)	秋田県立脳血管研究センター(研究所)・脳神経外科学研究部・病院長 (81404)	
研究分担者	木下 俊文 (Kinosita Toshibumi) (70314599)	秋田県立脳血管研究センター(研究所)・放射線医学研究部・副病院長 (81404)	
研究分担者	佐々木 一益 (Sasaki Kazumasu) (80738948)	東北大学・加齢医学研究所・助教 (11301)	
研究分担者	小山内 実 (Osanai Makoto) (90286419)	大阪大学・医学系研究科・教授 (14401)	
研究分担者	片山 統裕 (Katayama Norihiro) (20282030)	東北大学・情報科学研究科・准教授 (11301)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------