

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成25年 6月12日現在

機関番号：82606

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2010～2012

課題番号：22791238

研究課題名（和文） 男性不妊症治療を支援するヒト精細管 MRI 診断システムの開発

研究課題名（英文） Development of a new MRI diagnostic system for seminiferous tubule morphology utilizing for male infertility treatment

研究代表者

山口 雅之（YAMAGUCHI MASAYUKI）

独立行政法人国立がん研究センター・臨床開発センター・ユニット長

研究者番号：90450577

研究成果の概要（和文）：

精巣の精子産生能を MRI を使って診断するシステムを開発した。高解像度の精巣 MRI が撮影できる MRI 信号検出器（コイル）を開発し、動物から摘出した精巣の撮影に成功し、精細管（直径約 200 ミクロン）の形態を調べることができた。また、MRI 所見から精子産生能を診断するソフトウェアを開発した。精巣 MRI 用のコイルと診断ソフトウェアをヒト精巣の MRI 検査に応用すれば、男性不妊症や精巣腫瘍の診断に役立つと期待できる。

研究成果の概要（英文）：

We developed a new MRI system for diagnosing seminiferous tubule morphology. The system consists of a highly sensitive radiofrequency coil for receiving MR signal from the testis and software for classifying seminiferous tubule MRIs based on 16 morphological features. We succeeded in the visualization of animals' seminiferous tubules (approximately 200 μm in diameter) on high-resolution MRIs, and the software enabled to discriminate these MRIs among testes with normal, mildly-injured, and severely-injured spermatogenic function with 83% accuracy. We believe that this system could be utilized for diagnosing male infertility in clinical practice.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2010 年度	1,400,000	420,000	1,820,000
2011 年度	1,000,000	300,000	1,300,000
2012 年度	700,000	210,000	910,000
年度			
年度			
総計	3,100,000	930,000	4,030,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：放射線科学

キーワード：MRI、精細管、男性不妊症、悪性腫瘍

1. 研究開始当初の背景

少子高齢化社会が進む中で、日本の出生率向上は重要な対策の一つである。医学的な視点から、不妊治療の充実、出生率向上への寄与が高い対策の一つと言える。日本では10組に1以上が不妊カップルであり、このうち

1/3～1/2 は男性不妊が原因とされる。男性不妊症の多くは非閉塞性無精子症である。無精子症とは言え、精巣では、極めて少数ながら精子が存在する。近年発展した精巣内精子回収術と呼ばれる男性不妊治療技術では、非閉塞性無精子症患者の精巣から、精子を回収で

きる。1 匹でも精巣内精子が回収できれば、ICSI (intracytoplasmic sperm injection) 法により人工授精させ、挙児が望める。

精巣内精子回収術では、精子が存在する精細管を正確に同定することが成功の鍵を握る。現在は、泌尿器科医の目視により、直径が太い精細管を同定している。直径の太い精細管ほど、精上皮が厚く、精子が存在する可能性が高い。しかし、精巣内に数百本存在する精細管の中から目視で太い精細管を探すことは実際には難しく、その結果、精巣内精子回収の成功率は約 30%と低い。直径の太い精細管の位置を術前に同定できれば、成功率向上が望める。

そこで本研究では、精巣内精子回収術において太い精細管の同定を容易にするため、MRI を使って精巣内において精子が存在する可能性の高い領域を検出する画像診断システムの開発を目指した。

研究代表者は、高磁場装置と高感度信号検出器を用いて、世界で初めて動物精細管 (直径約 200 μm) の *in vivo* MRI 描出に成功している。この研究成果を臨床へトランスレーションするため、臨床用 3 Tesla 高磁場装置上で動作する、ヒト精巣用信号受信器の開発が必要と考えられた。また、MRI 上で数百本の精細管を 1 本 1 本目視することは困難なため、精子産生能力の高い領域が描出された MRI を自動判別するソフトウェアの開発が必要と考えられた。

2. 研究の目的

MRI を使って精細管の形態を描出し、精巣内において精子が存在する可能性の高い領域を同定する画像診断システムを開発する。具体的には、ヒト精巣用信号受信器及び精細管 MRI の自動判別ソフトウェアを開発する。

3. 研究の方法

(1) ヒト精巣専用の小口径信号受信機 (コイル) 開発

直径 3 cm の受信専用ループ型コイルを作成した。臨床用 3 Tesla MRI 装置上で使用するため、コイルは水プロトンの共鳴周波数 127 MHz にチューニングした。また、コイルは、BNC コネクターと研究用のコイルコネクターを介して、臨床用 MRI 装置に接続した。ラジオ波送信は、臨床用 MRI 装置に付属したボディーコイルで行うこととした。従って、ラジオ波送信時に、受信用ループ型コイルに誘導起電流が発生しないように、デカップリング回路を設けた。

(2) MRI の信号不均一を補正する画像処理法の開発

被写体はループ型コイルの上に置き、MRI

を撮影することとした。MRI では、ループ型コイルに近い部分は明るく、遠い部分は暗く見え、その結果、被写体が均一な信号源から構成されていたとしても、得られる信号はコイルからの距離に応じて変わり、被写体は不均一な信号に見えてしまう。これを回避するため、コイルに近い部分の信号を抑制し、かつ遠い部分の信号を増強して見せる画像処理法を開発した。

本処理法では、被写体内部の組織コントラストが小さい画像を撮影し、コイルの感度マップを得ることとした。撮影や撮影後の処理を高速化するため、できるだけ画素数を抑えたプロトン密度強調画像法を用いた。得られたプロトン密度強調画像から、ループ型コイルの感度マップを以下の手順で作成した。まず、プロトン密度強調画像を閾値処理し、被写体の存在領域とバックグラウンド領域に分節化した。同時に被写体の存在領域の画素の平均値を求めた。前者の領域に含まれる全ての画素に、この平均値を与え、後者の領域に含まれる全ての画素に値 1 を与え、被写体が明るく、バックグラウンドは暗く見える二値化画像を作成した。次に元のプロトン密度強調画像と二値化画像にローパスフィルターをかけ、前者を後者で除算し、コイルの感度マップを得た。ローパスフィルターの条件は、被写体の組織コントラストを排除し、コイル感度のみを抽出できることと、リングングやエッジ強調アーチファクトが補正後の画像に生じないことに留意して、最適化した。最後に、補正したい MRI を、画素毎にコイルの感度マップで除算し、信号の強弱を補正した。

この画像処理法は、C++言語を用いてプログラミングし、Windows コンピューターに実装した。

画像処理法のテストでは、前項(1)で開発したコイルとは別に、直径 5 cm のループ型コイルを 16 個アレイ配置したシステムと 3 Tesla 装置を使い、直径 35 mm の 2 mM 硫酸銅、0.6%塩化ナトリウム溶液含有ファントムを撮影し、信号補正を行った。ローパスフィルターとして Butterworth filter を採用し、カットオフ周波数を 0.01 cycles/pixel、order を 2 [arbitrary unit] とした。

前項(1)で開発したコイルも、この実験で用いたコイルも同じループ型なので、画像処理は共通の方法で可能と考えた。

ファントム信号の平均値と標準偏差を測定し、coefficient of variation (CV) を、式；標準偏差/平均値 \times 100 [%]を使い、算出した。

(3) 開発した小口径信号受信機と臨床用 3 Tesla 装置を用いた MRI 撮影

開発したコイルを臨床用 3 Tesla 装置に接

続し、ファントム (2 mM 硫酸銅含有、直径 7 cm の球形ファントム) 及び摘出しホルマリン固定した小動物の精巣 (精細管直径は、ヒト精細管と同等の 200 μm) と精巣上体の MRI 撮影を実施した。ラジオ波はボディコイルより送信した。2 次元スピンエコー法 (繰り返し時間 1000-2000 ms、エコー時間 20-60 ms) にて撮影した。得られた画像には、前項 (2) の信号補正処理を施した。

(4) 精細管 MRI から異常な精細管を自動判別する診断ソフトウェアの開発

教師付学習アルゴリズムを利用して、精細管 MRI の所見から重要な形態学的特徴を自動抽出し、正常と異常の精細管を自動判別するソフトウェアを開発した。このソフトウェアの有用性を、ヒト精細管と同等のサイズ (直径約 200 μm) のラット精細管の MRI を解析することで検証した。それぞれ、抗がん剤または生理食塩水を投与したラットの精細管 T_2 強調 MRI を、3 Tesla 高磁場装置と直径 3.5 cm ソレノイド型コイルを用い、撮影した。精巣に合計 654 個の関心領域を置き、186 個の形態学的特徴を自動計測したうえ、抗がん剤による精細管傷害の程度を分類するために最適な 16 個の特徴量を抽出した。この 16 個の特徴量を使った傷害の診断率を検討した (Table)。

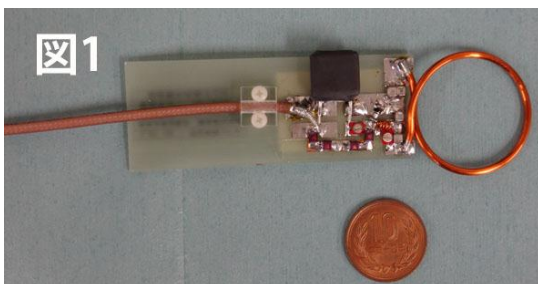
Table Sixteen selected features for classification

Features on original images	
1. Minimum intensity gradient	5. Average value of a 2-4-pixel range on the image correlation spectrum of original images,
2. Maximum intensity gradient	representing the frequency of circular and band-like structures within 2-4 pixels
3. Standard deviation of intensity gradient	
4. Median intensity in the areas of steep intensity gradient	
Features on binary images after Otsu's thresholding process	
6. Perimeter of the white area	8. Average intensity of the white area
7. Complexity of the white area	
Texture features on a stack of binary images by thresholding 16 intensity levels [2]	
From original image data	
9. The number of connected regions in dark areas / maximum	12. Average clump inertia in bright areas (i.e. the extent of bright areas) / Maximum
10. The number of connected regions in bright areas / maximum	13. Average clump inertia in bright areas / Average
11. Average measure weighted by region size, of the irregularity (i.e. complexity) in bright areas / maximum	14. Average clump inertia in bright areas / Mean
From Sobel filtered image (i.e. intensity gradient image) data	
15. The number of connected regions in dark (flat) areas / Maximum	16. Total clamp area in dark (flat) areas / sample S.D. (i.e. changes in flat areas against threshold)

4. 研究成果

(1) ヒト精巣専用の小口径信号受信機 (コイル) 開発

臨床用 3 Tesla 高磁場 MRI 装置上で使用可能な、ヒト精巣専用の直径 3 cm のループ型コイルを開発した (図 1)



直径 3 cm のループ型コイル。大きさの比

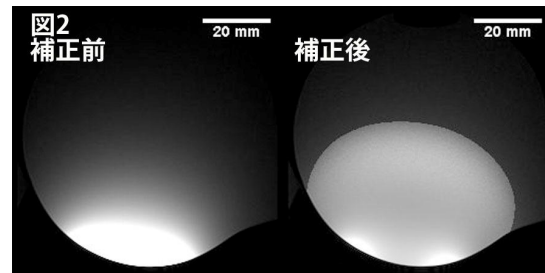
較のため、10 円硬貨 (直径 23.5 mm) をコイルに並べて置いている。

(2) MRI の信号不均一を補正する画像処理法の開発

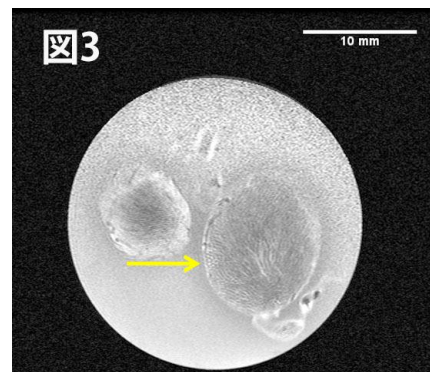
ファントム信号の CV は、補正前の 34.8 \pm 2.5% から、補正後には 5.0 \pm 2.5% に縮小し (n = 12, p < 0.05, t-test)、本補正法によりコイル感度に起因した信号不均一が改善された。この補正法により、ループ型コイルを使った精巣 MRI において、精細管の形態や信号強度の適切な評価が期待できる。

(3) 開発した小口径信号受信機と臨床用 3 Tesla 装置を用いた MRI 撮影

面内分解能が最小で 78 \times 78 μm 、厚さ 1-2 mm の高精細 MRI が得られた。MRI 上、ループ型コイルに近い部分が明るく、遠い部分は暗く見えたので、前項 (2) において開発した画像補正プログラムを使い、コイルから遠い部分も明るく見えるよう信号補正した (図 2)。



小動物の精巣内に多数の線状信号が検出され、一部には壁が低信号、内腔が高信号の管状構造を同定でき、精細管と考えられた (図 3、黄色矢印)。精巣表面には血管による低信号構造が、また精巣上体では、精巣上体管が描出された。



本実験結果から、3 Tesla 臨床用 MRI 装置に独自開発のループ型コイルを組み合わせることにより、直径 200 μm のヒト精細管の MRI 診断が実現する可能性があると考えられた。ヒト精細管の撮影を行うためには、ボディコイルを使ったラジオ波送信の際、ループ型

コイルやケーブルに発生する誘導起電力に起因する火傷を防ぐために、コイルケースを設計をしたり、人体に接触する部分でコイルの表面温度が過度に上昇しないといった安全性を確認する必要がある。本研究では、コイルケースの設計や安全性の検討できなかったため、今後さらなる研究が必要と考えられた。

(4) 精細管 MRI から異常な精細管を自動判別する診断ソフトウェアの開発

教師付学習アルゴリズムを利用して、精細管 MRI の所見から重要な形態学的特徴を自動抽出し、正常と異常の精細管を自動判別する支援ソフトウェアを開発した。

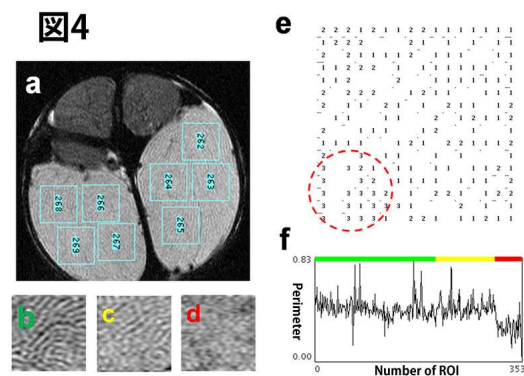


図 4 に開発した自動判別ソフトウェアを用いた解析の概略を示す。

精巣内に関心領域を置き、関心領域内の画像を機械学習に用いた (a)。正常、軽度の造精傷害、高度の造精傷害の典型例における、精細管の所見を (b)～(d) に示す。ソフトウェアは、上述の Table に掲載した 16 個の特徴量を用いて、画像をクラスタリングし、結果を自己組織化マップ (e) に表示した。ここでは、正常、軽度傷害、高度傷害の画像がそれぞれ 1, 2, 3 に帰属されており、赤い丸印の部分に 3 の高度傷害の画像がクラスタリングされている。判別に用いた 16 個の特徴量のうち、perimeter のプロット (f、横軸は関心領域の番号、縦軸は perimeter) を見ると、赤帯で示す高度傷害では、perimeter が正常 (緑帯)、軽度傷害 (黄色帯) より小さい。

抽出された 16 個の特徴量を使った傷害の診断率は 83% であり、専門医が視覚的に評価した場合の診断率 64% を上回っていた。

この自動判別ソフトウェアを利用することにより、精子が存在する可能性が高い部位の同定が期待できる。

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 2 件)

- ① Mitsuda M, Yamaguchi M, Nakagami R, Furuta T, Sekine N, Niitsu M, Moriyama N, Fujii H. Intensity correction method customized for multi-animal abdominal MR imaging with 3T clinical scanner and multi-array coil. *Magnetic Resonance in Medical Sciences*, 査読あり、2012
DOI: 10.2463/mrms.2012-0038
- ② Yamaguchi M, Kutsuna N, Nakagami R, Nabetani A, Nozaki A, Niitsu M, Hasezawa S, Fujii H. In vivo prediction of spermatogenesis in seminiferous tubules using high-resolution magnetic resonance imaging and machine-learning techniques in combination. *Proceedings of International Society for Magnetic Resonance in Medicine*, 査読あり、Vol. 18, 2010, p2690

〔学会発表〕 (計 1 件)

Yamaguchi M, Kutsuna N, Nakagami R, Nabetani A, Nozaki A, Niitsu M, Hasezawa S, Fujii H. In vivo prediction of spermatogenesis in seminiferous tubules using high-resolution magnetic resonance imaging and machine-learning techniques in combination. *International Society for Magnetic Resonance in Medicine 18th Annual Meeting & Exhibition, 2010. 5. 6, Stockholm, Sweden*

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.ncc.go.jp/jp/ncce/rcio/fid/index.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

山口 雅之 (YAMAGUCHI MASAYUKI)

独立行政法人国立がん研究センター・臨床開発センター・ユニット長
研究者番号：90450577

(2) 研究分担者

該当なし ()

(3) 連携研究者

該当なし ()