

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 23 日現在

機関番号：12601

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23591752

研究課題名(和文)高性能小動物用PETカメラと高磁場MRIを用いた統合的脳機能解析システムの開発

研究課題名(英文)Development of the integrated method for the analysis of brain function by high resolution PET for small animals with the aid of high field MRI

研究代表者

百瀬 敏光(Momose, Toshimitsu)

東京大学・医学部附属病院・准教授

研究者番号：20219992

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,000,000円、(間接経費) 1,200,000円

研究成果の概要(和文)：小動物用の高分解能PETは疾患の病態解明や創薬などの重要なツールとして期待されている。本研究では、microPETによる機能イメージングの高磁場MRIを利用した解析するシステムの構築を試みた。独自に開発したPET-MRI共通頭部固定装置を用いて、同一正常マウスの頭部MRIとFDG-PETを撮像し、MRIとPET画像の重ね合わせを行い、デジタルアトラスへ解剖学的標準化を行った。脳FDG-PET画像上で解剖学的部位の同定と脳内各領域の平均糖代謝率を算出した。その結果、解剖学的標準化を用いた自動的定量解析法は、用手的手法と同等の精度を持ち、疾患モデルマウス解析に使用できることを確認した。

研究成果の概要(英文)：The high-resolution PET for small animals is expected to be one of the important tools for the elucidation of the pathophysiology and the innovative drug development of the disease. In this study, we tried to develop the system which enables us to analyze molecular target imaging by micro-PET using high-field MRI. Using a new head fixation device for mouse which can be used commonly both for micro-PET and high-field MRI for small animals, we underwent both MRI and FDG-PET of C57BL mice and made an anatomical delineation on micro-PET imaging after normalization of MRI of each mouse to standard mouse brain atlas. We were able to superimpose a functional image of FDG-PET on an anatomical atlas and calculate regional uptake of FDG over global mean brain uptake. We have found that there was a good correlation between an automated method and manual method. It is concluded that automated regional analysis can be applied to the FDG-PET imaging of normal and transgenic mouse brain.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・放射線科学

キーワード：micro-PET high field MRI small animal brain imaging molecular imaging anatomical normalization PET-CT mouse

## 1. 研究開始当初の背景

(1) 分子生物学的研究の進歩により、アルツハイマー病、パーキンソン病、脊髄小脳変性症などに代表される神経変性疾患においては、脳内に異常凝集蛋白が出現しており、この異常凝集蛋白の細胞内、細胞外蓄積が発症と関連していることが明らかとなってきた。これらの研究には各種トランスジェニックマウスを用いて、さまざまな環境負荷要因のなかで、病理変化を観察する手法が一般的に用いられてきたが、病理解剖を前提とした観察法であるため、経時的な観察には不向きであり、実際に、トランスジェニックマウスで特定の蛋白がどの程度出現し、その結果どのような代謝機能障害が生じているかを経時的に生きたまま観察することは困難であった。また近年、神経変性疾患に対して、異常蛋白の凝集を抑制ないし、凝集した蛋白を溶解する薬剤などが開発されており、こうした分子標的治療法の薬効を効率よく評価するシステムが必要とされている。

(2) 小動物用の高分解能PETは人間用のPETに比較し、検出器部分の結晶を小さくし、データ収集、画像再構成法などを工夫して、小動物の臓器内分布をある程度定量的に評価できるよう開発されてきたが、現在の最高水準のPET装置でもマウスの小さな脳構造を同定できるほどの分解能を備えてはいない。分子標的診断法を中枢神経変性疾患モデルマウスに応用するためには、詳細な脳構造の解剖学的情報を基盤にした解析システムの構築が不可欠である。

## 2. 研究の目的

分子標的診断法を中枢神経変性疾患モデルマウスに応用するためには、詳細な脳構造の解剖学的情報を基盤にした解析システムの構築が不可欠である。そのため高分解能で軟部組織のコントラストに優れた高磁場MRIによる形態画像を併せて取得しなければならない。また、PETによって得られた複数個体の機能画像について統計的な評価を行うためには、複数個体の画像の重ね合わせが必要だが、この処理においても精密な3次元形態画像が求められる。さらに、評価の正確さと再現性を確保するためには、統計処理のベースとなる形態画像である標準脳を使用することが望ましい。ヒトについては、豊富な形態画像から既に標準脳が確立されており、SPM(Statistic Parametric Imaging)などの統計画像解析ソフトを用いて機能画像を重ね合わせる手順も確立している。しかしながら、現在のところ、マウスについて、PETとの重ね合わせに適するような標準脳は存在せず、小動物PETを用いた研究の大きな課題となっている。我々はこれまで、PETとMRIの共通したマウス用頭部固定装置を開発し、その実用性および位置合わせ精度を検討

し、十分に研究開発に利用できることを確認した。本研究においては、(1)我々が開発した頭部固定装置の消滅放射線吸収の影響を確認すること。(2)既存のマウス脳標準アトラスを用いて解剖学的標準化、全脳平均に対する相対的糖代謝率の測定を試み、その妥当性を検討すること。(3)新たに導入した小動物用PET-CT複合性装置で、高磁場MRIの代用が可能かについて検討をおこなった。

## 3. 研究の方法

### MRI 撮像

小動物用の4.7TのUNITY INOVA型MRI装置(varian社製)を使用し、200 $\mu$ mの高分解能で3次元形態画像の取得を行う。このとき、PETとMRIとで共通に使用できる頭部固定器具を利用して、MRIの画像取得座標系における脳の位置と方向を明らかにする。Gradient Echo法によるT1強調画像をルーチンの撮像法とし、適宜Spin Echo法によるT2強調画像を加えた。撮像は、Isoflurane吸入麻酔下にておこなった。一般的に使用したパルスシーケンスは、gradient echo 3D, TR = 20 ms, TE = 6 ms, Flip angle = 10 deg, Field of view = 32mm x 32mm x 32mm, Data matrix 128 x 128 x 128である。scan timeは11分間(T1強調)である。

### FDG-PET 撮像

使用装置は、小動物用高分解能PETカメラFocus120(Siemens社製)を使用した。本装置の分解能は、視野中心部で、1.2mm程度である。使用動物は、C57BLマウス雄/12週齢を用いた。実験6時間前より絶食とし、水分のみ可とした。Isoflurane吸入麻酔下で尾静脈からラインを確保し、頭部固定具にて固定後PET装置へ移動した。<sup>68</sup>Ge線源を用いて、脳のtransmission scan 30分間を行った。使用薬剤は、F-18標識FDG(2-deoxy-2-[<sup>18</sup>F]-fluoro-D-glucose)(FDGスキャン注:185MBq/2ml)で、約10MBq/0.3mlを尾静脈からゆっくり投与した。FDG投与と同時に全身のdynamic scan 20分間を行い、さらに投与40分後から20分間の脳のデータ収集を実施した。画像再構成は3DRP法を用いた。

また、InveonPET-CT装置を用いた評価では、CT撮像条件としてX-ray voltageを60kV、Exposure timeを550 msecとし、FDG-PETの撮像は、投与40分後から20分間のデータ収集のみを実施した。

### 検討項目

(1)我々が開発した頭部固定装置の消滅放射線吸収の影響を確認すること。

(2)既存のマウス脳標準アトラスを用いて解剖学的標準化、全脳平均に対する相対的糖代謝率の測定を試み、その妥当性を検討すること。

(3) 新たに導入した小動物用 PET-CT 複合性装置で、高磁場 MRI の代用が可能かついて検討をおこなった。

#### 4. 研究成果

(1) 頭部固定具の吸収減弱に関する評価  
頭部固定具を用いて MRI および FDG-PET 撮像を施行したが、問題となるアーチファクトを認めなかった。PET ではアクリル樹脂による線の減弱が想定されるため、FDG 投与前に Ge-68 線源を用いた transmission scan を施行し、吸収減弱係数を算出した。その結果、頭部固定具アクリル樹脂により 10% 程度の線減弱が確認された。次に、マウス脳 FDG-PET 画像の局所脳糖代謝の指標となる対全脳平均カウント比 (SUV-R) を算出し、その変動係数および吸収補正用のトランスミッションスキャンの影響を評価した。その結果、脳内各領域の個体差による変動係数は、概ね 5% 程度と少なく、安定した指標であることが示された。また、吸収補正の有無による各領域の SUV-R の有意差はなく、吸収の影響も少ないことがわかった。

(2) 解剖学的標準化を用いた局所糖代謝率の評価

1. MRicro を用い、PET-MRI フュージョン画像からマウス脳実質を抽出 (Fig.1)

2. PMOD に登録されたマウス脳の T2 テンプレートを標準脳に設定し、抽出した T1 画像を標準化。同じパラメータで PET 画像を標準化 (Fig.2)。

3. 標準脳に予め設定されている ROI (19ヶ所) を用いて FDG の集積を算出 (Fig.3-4)。標準化における線形変換、非線形変換の影響を評価。

指標として SUV-R を定義。

$SUV-R = \text{local activity} / \text{global mean}$   
global mean: 単位体積あたりの脳全体のアクティビティ

local activity: 単位体積あたりの各 ROI のアクティビティ

以上の検討の結果、標準化の方法による SUV-R への大きな影響は見られなかった。ただし脳辺縁部かつ小構造では結果のばらつきが大きくなる傾向が見られた。

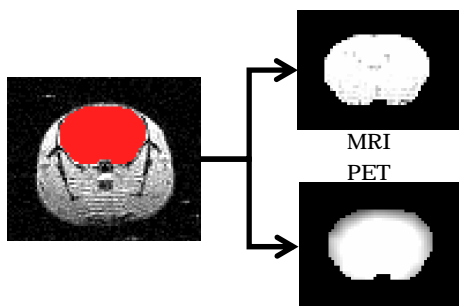


Fig.1

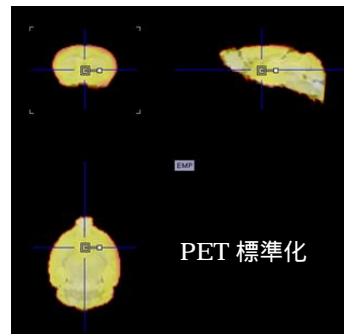


Fig.2

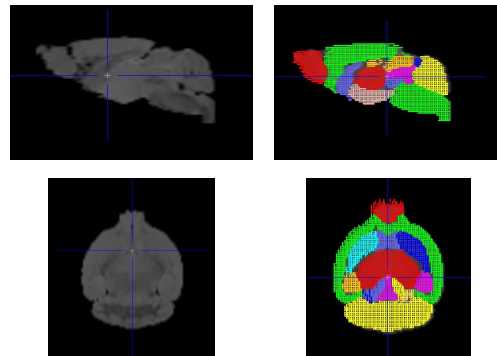


Fig.3 PMOD 搭載テンプレート

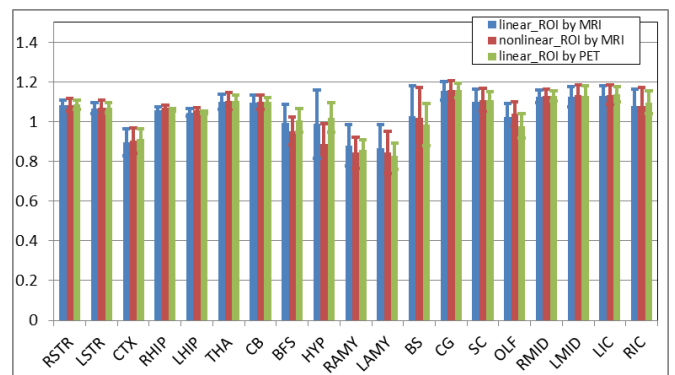


Fig.4

4. 標準化を行っていない PET-MRI 元画像上に手作業で ROI 5ヶ所を設定し (manual ROI)、自動解析 (auto ROI) と比較。auto ROI (青、赤、緑 bar) と manual ROI (紫色 bar) での比較 (Fig.5)

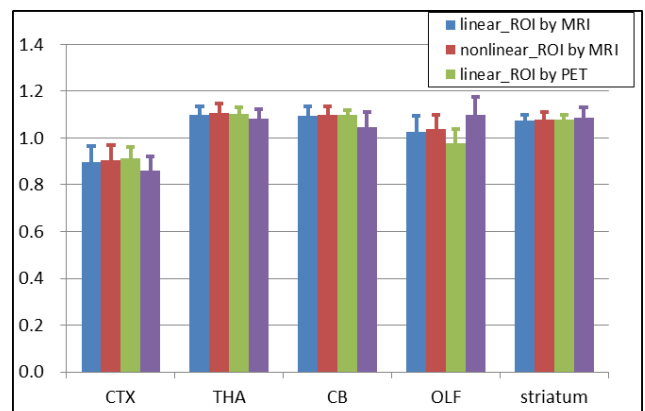
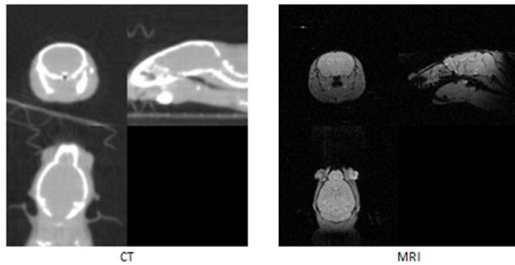


Fig.5

標準脳を用いた自動解析法では、非線形変換、線形変換いずれの手法を用いても、手動的な ROI 設定法とほぼ同一の結果を得ることができた。

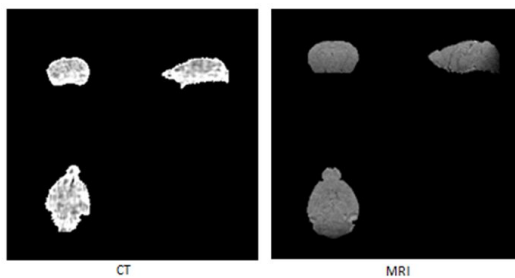
### (3) PET-CT 装置のみによる PET 解剖学的標準化の評価

マウス解剖学的標準化には、収集された脳 MRI、頭部 CT データから頭皮や頭蓋骨、軟部組織などを取り除き、脳実質のみの画像を抽出する必要がある。脳の輪郭に ROI を設定し、MASK 機能にて脳実質を抽出した。MRI では大脳皮質と白質の境界が確認できるが、CT では判別不可能であった。以上より、CT ベースでの解剖学的部位同定は極めて困難であり、MRI による撮像が必須と考えられた。



- ・CTは脳の輪郭が捉えられる程度である。また、これ以上の画質向上は難しいと思われる。
- ・MRIは脳の輪郭だけでなく、脳内小構造がある程度識別可能。
- ・磁場やscan time等の条件検討により、更なる画質向上が出来る可能性。
- ・CTはMRIと比較し、明らかに形態学的情報に劣る。

Fig.6



- ・脳の輪郭にROIを設定し、MASK機能にて脳実質を抽出した。
- ・MRIでは大脳皮質と髄質の境界が確認できるが、CTでは判別不可能。

- CTベースでの位置同定は極めて困難であり、MRIによる撮像が必須。
- MRI画像においても、より高い解像度であることが望ましい。

Fig.7

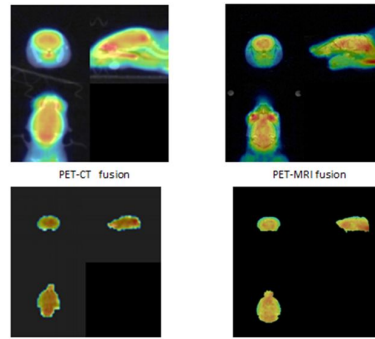


Fig.8

我々の開発した PET-MRI 共通アクリル性頭部固定装置により両者の高い位置再現性が得られることを確認している。同システムを用いてマウス脳 FDG-PET 画像の局所糖代謝の指標となる対全脳平均カウント比(SUV-R)を算出し、その変動係数および吸収補正用のトランスミッションスキャンの影響を評価した。その結果、脳内各領域の個体差による変動係数は、概ね 5%程度と少なく、安定した指標であることが示された。また、吸収補正の有無による各領域の SUV-R の有意差はなく、吸収の影響も少ないことがわかった。このことは頭部固定具を用いても、吸収補正用のトランスミッションスキャン(通常 30 分間)を省略できることを意味し、麻酔を伴う PET のデータ収集が、短時間の撮像時間で済むことが確認できた。さらに標準マウス MR 画像および標準マウス脳 templateROI という概念を導入し、形態の異なる複数のマウス脳に対し、標準マウス MR 画像を用い、各マウス MR - PET 画像を標準マウス画像に変換し、自動的に脳局所糖代謝指標を算出するシステムを検討し、ある程度以上の大きさの解剖学的構造においては再現性及び精度の高い解析が可能であることを示した。また、新たに導入した PET-CT 複合機での CT を用いた解剖学的同定および標準化を試みたが、CT での画質は、マウスの解剖学的指標にはなりにくいこと、脳 MRI を用いることの重要性を確認した。以上の研究結果は、疾患モデルマウスにおける病態評価を FDG および FDG 以外の放射性トレーサを用いておこなうための重要なステップとなると考えられる

### 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 10 件)

1. 北田 孝幸、古山 桂太郎、藤原 健太郎、高橋 美和子、百瀬 敏光 PET 装置を利用した分子イメージング法の紹介:高分解能小動物用 PET/PET-CT 装置の応用 放射線生物研究 48(1), 82-100, 2013.

2. Ito K, Mori E, Ishii K, Washimi Y, Asada T, Mori S, Meguro K, Kitamura S, Hanyu H, Nakano S, Matsuda H, Kuwabara Y, Hashikawa K, Momose T, Uchida Y, Hatazawa J, Minoshima S, Kosaka K, Yamada T, Yonekura Y; J-COSMIC Study Group. Prediction of outcomes in MCI with 123I-IMP-CBF SPECT: a multicenter prospective cohort study. *Ann Nucl Med*. 2013 Dec; 27 (10): 898-906.

3. Hibi S, Yamaguchi Y, Umeda-Kameyama Y, Takahashi M, Momose T, Akishita M, Ouchi Y. Respiratory dysrhythmia in dementia with Lewy bodies: a cross-sectional study. *BMJ Open*. 2013 Sep 10; 3(9): e002870. Doi: 10.1136/bmjopen-2013-002870.

4. Soma T, Momose T, Takahashi M, Koyama K, Kawai K, Murase K, Ohtomo K. "Usefulness of extent analysis for statistical parametric mapping with asymmetry index using inter-ictal FDG-PET in mesial temporal lobe epilepsy" *Ann Nucl Med*. 2012, 26(4): 319-26.

5. Takahashi M, Soma T, Kawai K, Koyama K, Ohtomo K, Momose T. Voxel-based comparison of preoperative FDG-PET between mesial temporal lobe epilepsy patients with and without postoperative seizure-free outcomes. *Ann Nucl Med*. 2012, 26: 698-706.

6. Hibi S, Yamaguchi Y, Umeda-Kameyama Y, Yamamoto H, Iijima K, Momose T, Akishita M, Ouchi Y. The high frequency of periodic limb movements in patients with Lewy body dementia. *J Psychiatr Res*. 2012, 46(12): 1590-1594.

7. Kobayashi S, Momose T, Sakurai M, Kanazawa I. Postanoxic Akinesia with Bilateral Pallidal Lesions: A PET Study. *Intern Med*. 2012, 51(17): 2449-51.

8. 百瀬 敏光, 高橋 美和子 特集 神経膠腫 診断から治療まで 核医学検査 脳腫瘍の分子イメージング 画像診断 31-14 : 1366-1377, 2011.

9. 百瀬 敏光 PET 装置による分子イメージングと放射免疫療法の開発 アイソトープ総合センターニュース 42-1 : 2-9, 2011.

10. Kin T, Shin M, Oyama H, Kamada K, Kunitatsu A, Momose T, Saito N. Impact of multiorgan fusion imaging and interactive three-dimensional visualization for intraventricular neuroendoscopic surgery. *Neurosurgery*. *Neurosurgery*. 2011 Sep;69(1

Suppl Operative):ons40-8; discussion ons48.

〔学会発表〕(計 17件)

1. 高橋 美和子, 相馬 努, 古山 桂太郎, 加藤 誠二, 北田 孝幸, 藤原 健太郎, 大友 邦, 百瀬 敏光. 脳腫瘍における FDG、メチオニン PET 画像を用いた自動算出法による病変 / 正常脳比の検証と悪性度との比較 第 53 回日本核医学会学術総会, 福岡, 2013 年 11 月 9 日.

2. 相馬 努, 高橋 美和子, 古山 桂太郎, 加藤 誠二, 北田 孝幸, 藤原 健太郎, 大友 邦, 百瀬 敏光. 脳腫瘍における FDG、メチオニン PET 画像を用いた病変 / 成城脳比の自動算出に関する基礎的検討 第 53 回日本核医学会学術総会, 福岡, 2013 年 11 月 9 日.

3. 百瀬 敏光  
「シンポジウム: 核医学と ASL - 脳腫瘍、てんかん、脳炎」 第 53 回日本核医学会学術総会, 平成 25 年 11 月 9 日, 福岡.

4. 百瀬 敏光, 高橋 美和子, 相馬 努, 佐藤 友彦, 古山 桂太郎, 北田 孝幸, 藤原 健太郎, 小島 良紀, 荒井 拓也, 加藤 誠二, 大友 邦. C-11 PiB-PET 動態画像を用いた脳内アミロイド蓄積量の全自動解析法の開発 第 53 回日本核医学会学術総会, 2013 年 11 月 8 日, 福岡.

5. 北田 孝幸, 加藤 誠二, 古山 桂太郎, 藤原 健太郎, 高橋 美和子, 百瀬 敏光. 分解能補正搭載型 TOF-PET 装置を用いたアミロイドイメージングにおける画像再構成法の定量値に与える影響 第 53 回日本核医学会学術総会, 福岡, 2013 年 11 月 8-10 日.

6. T. Woo, M. Nagase, H. Ohsaki, and M. Sekino, "Development of a SQUID system for ultralow-field MRI measurement," International Symposium on Applied Electromagnetics and Mechanics, Quebec, Canada, 31 July 2013.

7. 武輪 知明, キムドンミン, 井上 雄介, 関野 正樹, 大崎 博之: 神経活動の MRI 計測に向けたラット脳内の磁場マッピング. 第 5 回医用生体磁気学シンポジウム, 東京, 2013 年 1 月 18 日.

8. 藤原 健太郎, 相馬 努, 北田 孝幸, 古山 桂太郎, 荒井 拓也, 高橋 美和子, 関野 正樹, 百瀬 敏光 マウス標準脳テンプレートの作成と PET-MRI 画像を用いた局所脳領域における FDG 集積の定量的評価 第 52 回日本核医学会学術総会, 2012 年 10 月 13 日, 札幌.

9. 百瀬 敏光, 高橋 美和子, 古山 桂太郎, 北田 孝幸, 藤原 健太郎, 加藤 誠二, 小島 良紀, 相馬 努, 荒井 拓也, 関本 道治, 大友 邦 アルツハイマー病、軽度認知機能障害、健常者におけるアミロイド蓄積量の経時的変化に関する検討 第 52 回日本核医学会学術総会, 2012 年 10 月 12 日, 札幌.

10. 高橋 美和子, 相馬 努, 古山 桂太郎, 加藤 誠二, 北田 孝幸, 藤原 健太郎, 関本 道治, 百瀬 敏光 脳循環代謝動態の半球内分変動に関する解析法のてんかん症例における応用と有用性の検討 第 52 回日本核医学会学術総会, 2012 年 10 月 12 日, 札幌.

11. 相馬 努, 高橋 美和子, 百瀬 敏光, 古山 桂太郎, 加藤 誠二, 北田 孝幸, 藤原 健太郎 脳循環代謝動態の半球内分変動に関する解析法の検討 第 52 回日本核医学会学術総会, 2012 年 10 月 12 日, 札幌.

12. 相馬努, 百瀬敏光, 高橋美和子, 村瀬研也, 大友邦. 内側型側頭葉癲癇症例の発作間欠期画像における Asymmetry Index を応用した脳画像統計解析法の有用性. 第 51 回日本核医学会学術総会. 2011 年 10 月 29 日, 茨城.

13. 高橋美和子, 相馬努, 古山桂太郎, 川合謙介, 大友邦, 百瀬敏光. 内側型側頭葉てんかん症例の発作間欠期画像における Asymmetry 解析法の術後予後予測における有用性. 第 51 回日本核医学会学術総会. 2011 年 10 月 29 日, 茨城.

14. 百瀬敏光, 高橋美和子, 古山桂太郎, 北田孝幸, 藤原健太郎, 小島良紀, 荒井拓也, 大友邦. C-11 PiB-PET を用いたレビー小体型認知症における脳内アミロイド蓄積の評価. 第 51 回日本核医学会学術総会, 2011 年 10 月 29 日, 茨城.

15. 北田孝幸, 藤原健太郎, 古山桂太郎, 荒井拓也, 高橋美和子, 百瀬敏光. 小動物用 PET-CT 装置を用いた Detector normalization 収集条件による画質への影響. 第 51 回日本核医学会学術総会, 2011 年 10 月 28 日, 茨城.

16. 藤原健太郎, 古山桂太郎, 北田孝幸, 荒井拓也, 高橋美和子, 関野正樹, 百瀬敏光. マウス PET/MRI イメージングにおける頭部固定装置の開発と、吸収による画質および定量性への影響. 2011 年 10 月 28 日, 茨城.

17. 百瀬敏光 脳血流 SPECT の基礎と臨床応用 - 特に認知症と糖尿病との関連性を評価する - 認知症診療における脳血流 SPECT の役割と可能性 日本老年医学会学術集会 2011 年 6 月 15 日 東京

〔図書〕(計 5 件)

1. 高橋 美和子, 百瀬 敏光. 脳腫瘍核医学検査の現状. Clinical Neuroscience. 2013; 31 (10): 1132-1134.

2. 百瀬 敏光、高橋 美和子 間脳・下垂体の核医学検査 ビジュアル脳神経外科 6 間脳・下垂体・傍鞍部 齊藤 延人 編, メジカルビュー社: 80 - 91, 2013.

3. 百瀬 敏光 神経伝達機能イメージング Annual Review 神経 2013 鈴木 則宏、他 編, 中外医学社: 51-62, 2013.

4. 北田 孝幸、百瀬 敏光 PET/SPECT を用いた *in vivo* イメージング技術 新機能抗体開発ハンドブック 浜窪 隆雄 監, NYS: 379-382, 2012.

5. 百瀬 敏光 PET 装置による分子イメージングと放射免疫療法の開発 新機能抗体開発ハンドブック 浜窪 隆雄 監, NYS: 369-373, 2012.

〔産業財産権〕

なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

百瀬 敏光 (東京大学 医学部附属病院・准教授)

研究者番号: 20219992

(2) 研究分担者

関野 正樹 (東京大学 工学系研究科・准教授)

研究者番号: 20401036

小島 良紀 (独立行政法人国立がん研究センター がん研究所・研究員)

研究者番号: 20167357