

平成 28 年 6 月 24 日現在

機関番号：81404

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2014～2015

課題番号：26861024

研究課題名(和文)PET画像のクラスター分析による脳機能局在の解明及びその基礎検討

研究課題名(英文)Functional subdivision of brain structures by clustering of PET images

研究代表者

松原 佳亮 (Matsubara, Keisuke)

秋田県立脳血管研究センター(研究局)・その他部局等・研究員

研究者番号：40588430

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,900,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では脳機能局在のマップを複数のPET画像をクラスター分析することで取得する方法を確立させることを目的とし、解析で用いる自動VOI抽出法の精度検証及び本法による線条体における機能局在マップの取得を試みた。

自動VOI抽出方法間での精度の違いは局所によって異なることが判明した。またそのような自動VOIを用いた場合に受容体結合能に最大で23.3%のバイアスが生じることがわかった。

3つの方法で15種類のPET画像をクラスター分析したところ、方法によって得られる分画が異なり、特にGMM法で得られた分画が線条体の解剖学的な分画と類似した。分画と機能との関連についてはさらなる検証が必要である。

研究成果の概要(英文)：We aimed to develop a method to estimate functional subdivision of brain structure by cluster analysis with multiple PET images. For the purpose, we validated accuracy of automated VOI labeling methods, and tested to generate functional subdivision map of striatum. Inter-method differences of accuracy of the automated VOI methods were different among the methods. We observed that inaccuracy of the automated VOI induced bias in binding potential estimated by PET kinetic analysis by 23.3% at maximum.

We revealed inter-method differences of estimated functional subdivision of striatum among the clustering methods. Especially, Gaussian mixture model (GMM) resulted in subdivision similar to well-known anatomical subdivision of striatum. Further studies are required to reveal correlation between the estimated functional subdivisions and some brain functions.

研究分野：医用画像工学、核医学

キーワード：PET 線条体 クラスター分析 自動VOI抽出

1. 研究開始当初の背景

大脳基底核に分類される線条体はヒトの運動機能や認知機能等において重要な役割を担っている。一方、パーキンソン病における運動機能障害（振戦や筋固縮、歩行障害など）は黒質線条体のドーパミン神経の変性により起こるとされている。また、パーキンソン病では運動機能障害以外に認知症、うつ、睡眠障害などの非運動症状もみられ、近年ドーパミン以外の神経伝達物質と非運動症状の関連についての研究やそれらを対象とした薬剤の開発がなされている。

一方で、陽電子断層撮影法 (Positron Emission Tomography, PET) は異なる放射性薬剤を用いることで、異なる機能が測定可能な検査法であり、神経伝達物質結合部位（受容体、トランスポーターなど）の密度（結合能）マップを非侵襲的に定量できる唯一の方法である。線条体におけるドーパミン系機能及び運動機能障害との関連について^[11C]ラクロプライド、^[11C]CFT などのドーパミン系放射性薬剤により無数の研究がなされている。近年は、ドーパミン以外の神経伝達物質とパーキンソン病の非運動症状との関連についても PET を用いて研究行われており、例えばセロトニントランスポーターに結合する^[11C]DASB による PET 検査によりパーキンソン病患者の大脳辺縁系におけるトランスポーター密度とうつとの相関が示されている (Politis et al., Neurology 2010)。しかし、パーキンソン病のような症状が多岐に渡る疾患について症状と脳機能の関連を評価し、病態を解明するためには、単一の PET 検査で得られた結果だけでなく、複数の PET 検査で得られた結果を統合して評価する必要があり、それらの結果を統合して解析するための解析法が求められる。

本研究グループでは複数の PET 検査で取得した複数の密度マップをクラスター分析することで、対象としている器官中の主たる機能の局在をマッピングする方法を開発している（図 1）。当提案手法は複数の機能について統合的に解析することができ、従来とは異なる新しい視点で脳機能やパーキンソン病のような複雑な症状をもつ疾患における病態を解析できる手法として期待される。

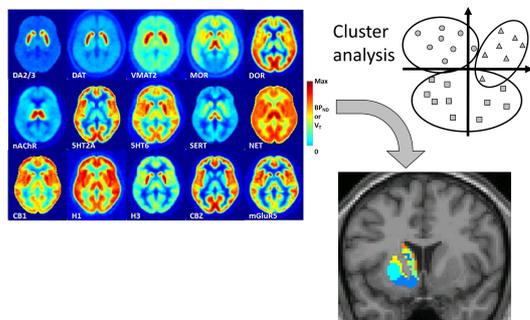


図 1 PET 画像のクラスター分析による機能マッピング

しかし、本提案手法で機能局在マッピング

を取得する際には関心領域 (Volume of interest, VOI) を設定する必要があり、特に線条体のような小さい器官においてはその正確さが要求される。また本提案手法では膨大な量の画像を扱うため、それら全てに対して VOI を手動で設定するのは困難であり、ヒューマンエラーの原因となる。先行研究において自動で VOI を抽出する方法が提案されているが (Fischl et al., Neuron 2002;), MRI 画像における不均一性の補正や灰白質・白質へのセグメンテーション処理などの前処理におけるエラーにより必ずしも正確に VOI が抽出できていないのが現状である。

2. 研究の目的

本研究課題では複数の PET 画像をクラスター分析することで脳機能局在を解析する提案手法を脳機能局在解析法として確立させ、健常なヒトの線条体等器官における主たる機能とその局在を明らかにすることを目的とした。目的の達成に向けて以下の具体的検討項目を検討した。

(1) 正確な自動 VOI 抽出方法の探索: 本研究グループでは従来自動 VOI 抽出法による VOI 抽出が上手くいかなかった画像に対して、異なる不均一性補正の組み合わせ、または画像中の不要な部分の除去（クロッピング）処理を適用することで、VOI 抽出の正確さが向上することを少数例で確認していた。本研究課題では最も正確に VOI を抽出できる方法を明らかにするために、複数の前処理の組み合わせについて試験を行った。

(2) 本提案手法の正当性の評価: 脳機能局在を解析する方法として本提案手法を確立させるため、他の機能局在解析法による結果との比較を行った。

(3) 線条体における健常機能局在マップの取得: 本研究では運動・認知などの機能に関与しており、パーキンソン病において神経変性が起こるとされている線条体を重要な部位として位置付けた。線条体における主たる機能とその局在を明らかにするために、まず健常者群に本提案手法を適用した。

(4) 線条体における健常機能局在マップの取得: パーキンソン病における関与が示唆されている線条体以外の器官についてもその機能局在を明らかにするために、それらの器官についても本提案手法の適用を検討した。

3. 研究の方法

(1) 正確な自動 VOI 抽出方法の探索

対象: 共同研究先にてリクルートされた 25 名の若年健常者（年齢：18 - 29 歳）を対象とした。

MRI 測定: 自動 VOI 抽出を行うための解剖画像として、MR T1 画像を撮像した。MR 装置は 3T Siemens Trio MRI。Spoiled Gradient (SPGR) シーケンスにより撮像した。各パラメータは以下の通りである：repetition time: 35 ms; echo time: 6 ms;

slice thickness 1.5 mm with no gap; field of view 24 x 18 cm²; image acquisition matrix 256 x 192, reformatted to 256 x 256.

PET 測定: PET 測定は CPS Innovations, Inc. 製の高空間分解能 PET, HRRT により行った .Cs-137 線源による 6 分間の吸収補正用トランスミッションスキャンの後, ドーパミン D2 レセプターリガンドである [¹¹C]raclopride を静注し, 90 分間のダイナミック撮像を実施した. 被験者の頭部の体動を防ぐため, 熱可塑性樹脂マスクによる頭部の固定を行った.

VOI 抽出: 自動 VOI 抽出は FSL (<http://fsl.fmrib.ox.ac.uk/fsl/fslwiki/>) 及び FreeSurfer(<http://freesurfer.net/>) パッケージを用いて行った. これらによる自動 VOI 抽出では通常脳の抽出, MR 磁場不均一性補正などの前処理を行う. 本研究では以下の処理の組み合わせを用いて線条体 VOI を抽出し, 結果を比較した.

- FSL 単独で前処理, VOI 抽出 [FSL]
- FreeSurfer 単独で前処理, VOI 抽出 [FreeSurfer]
- FreeSurfer で前処理した上で, FSL により VOI 抽出 [FSL*]

なお, FSL による VOI 抽出には FSL FIRST モジュールを用いた.

VOI の比較の際の正解データとして脳外科医 (研究協力者) が手動で抽出した VOI を用いた.

解析: どの VOI 抽出法が正確かを明らかにするために, 手動 VOI との一致度を計算した. 一致度の指標としては Jaccard 係数を用いた. なお, Jaccard 係数は積集合と和集合の比であり, 0 から 1 の値をとる. 1 に近ければ近いほど一致度が高い.

また VOI の違いが最終結果に及ぼす影響を明らかにするために, PET 動態解析で得られる受容体結合能 (BP_{ND}) をそれぞれの VOI を使って推定し, 比較した. BP_{ND} は参照領域法の一つである MRTM2 法 (Ichise et al., J Cereb Blood Flow Metab 2003) で推定し, その際の参照領域には小脳における放射能濃度曲線 (TAC) を用いた.

(2) 線条体における健常機能局在マップの取得

共同研究先において過去に健常者を対象に PET 撮像して得られた 15 種の PET 画像を対象にクラスター分析を行い, 線条体における機能局在マップを取得した. 15 種の PET 画像の詳細・一覧を以下の表 1 に示す. 各撮像群で得た PET 画像を SPM5 で解剖学的標準化し, 群内で平均した画像をそれぞれ 1 つの特徴量とし, 線条体 VOI 内の各ボクセルをクラスター分析で分類した. クラスタリングアルゴリズムには k-means 法, 混合正規分布モデル (GMM) 及び変分ベイズ混合正規分布モデル (VBGMM) を用い, 双方で結果を比較した.

表 1 クラスター分析に用いた PET 画像の詳細一覧

| 機能 | トレーサー | n | パラメータ (解析法) |
|-----------------------------------|-----------------------------------|----|-------------------------|
| ドーパミン D2/3 受容体 | [¹¹ C]raclopride | 10 | BP_{ND} (BPIT) |
| ドーパミン トランスポーター (DAT) | [¹¹ C]methylphenidate | 16 | BP_{ND} (BPIT) |
| 小脳モノアミン トランスポーター (VMAT2) | [¹¹ C]DTBZ | 10 | BP_{ND} (BPIT) |
| セロトニン受容体 2A (5-HT _{2A}) | [¹¹ C]MDL100907 | 9 | BP_{ND} (Logan) |
| セロトニン受容体 6 (5-HT ₆) | [¹¹ C]GSK215083 | 12 | BP_{ND} (Logan) |
| セロトニン トランスポーター (SERT) | [¹¹ C]DASB | 9 | BP_{ND} (Count-based) |
| ノルエピネフリン トランスポーター (NET) | [¹¹ C]MeNER | 13 | BP_{ND} (Count-based) |
| 中枢性ベンゾジアゼピン受容体 | [¹¹ C]flumazenil | 9 | BP_{ND} (Count-based) |
| μ-オピオイド受容体 | [¹¹ C]carfentanil | 22 | BP_{ND} (BPIT) |
| δ-オピオイド受容体 | [¹¹ C]MeNTL | 18 | V_T (Logan) |
| カンナビノイド受容体 (CB1) | [¹¹ C]OMAR | 10 | BP_{ND} (Logan) |
| 代謝型グルタミン酸受容体 5 (mGluR5) | [¹⁸ F]FPEB | 6 | V_T (Logan) |
| ニコチン受容体 (nAChR) | [¹⁸ F]AZAN | 8 | BP_{ND} (BPIT) |
| ヒスタミン受容体 1 (H1) | [¹¹ C]Doxepin | 18 | BP_{ND} (BPIT) |
| ヒスタミン受容体 3 (H3) | [¹¹ C]GSK189254 | 7 | BP_{ND} (Logan) |

4. 研究成果

(1) 正確な自動 VOI 抽出方法の探索

単独法 [FSL] と複合法 [FSL*] との比較: FSL 単独で VOI を抽出した場合 [FSL] 及び FreeSurfer で前処理した場合 [FSL*] それぞれの Jaccard 係数を比較したところ, 被殻及び腹側線条体においては FSL, 尾状核については FSL* の方が良好な一致度が得られた (被殻: 0.83 ± 0.08 [FSL], 0.76 ± 0.05 [FSL*]; 尾状核: 0.60 ± 0.06 [FSL], $0.65 \pm$

0.04 [FSL*];腹側線条体: 0.51 ± 0.06 [FSL], 0.41 ± 0.07 [FSL*]). 線条体全体では双方で一致度に違いはみられなかった (0.76 ± 0.06 [FSL], 0.75 ± 0.04 [FSL*]). この結果より, 以後は単独法のみでの検証を行うとした.

FSL と FreeSurfer とでの比較: 被殻及び腹側線条体における Jaccard 係数は FSL の方が高かったが, 尾状核においては FreeSurfer の方が高くなった (被殻: 0.83 ± 0.08 [FSL], 0.72 ± 0.03 [FreeSurfer]; 尾状核: 0.60 ± 0.06 [FSL], 0.66 ± 0.04 [FreeSurfer]; 腹側線条体: 0.51 ± 0.06 [FSL], 0.35 ± 0.04 [FreeSurfer]). Jaccard 係数の値自体は例えば尾状核において 0.60 付近となっており, 手動 VOI との乖離がみられた. 手動 VOI との乖離が特に大きかった, ある対象の尾状核後部 VOI の画像を図 2 に示す. 図 2 に示すように自動 VOI 抽出法は VOI を大きく取り過ぎる傾向が見られた.

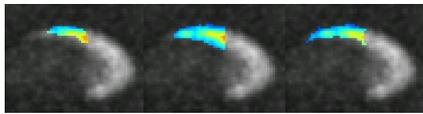


図 2 尾状核後部 VOI. 左: 手動 VOI; 中央: FSL; 右: FreeSurfer

各自動 VOI 抽出法で抽出した VOI を用いて MRTM2 で推定した BP_{ND} の手動 VOI を用いて推定した BP_{ND} に対する % バイアスは, 被殻, 腹側線条体においては FSL の方が小さく, 尾状核においては FreeSurfer の方が小さくなった (被殻: -1.7 ± 3.1 [FSL], -8.0 ± 1.9 [FreeSurfer]; 尾状核: -11.7 ± 4.3 [FSL], -6.9 ± 2.4 [FreeSurfer]; 腹側線条体: -5.4 ± 3.3 [FSL], -23.3 ± 4.2 [FreeSurfer], 単位: %). 手動 VOI を用いた場合と各自動 VOI 抽出法で抽出した VOI を用いた場合との BP_{ND} の scatter plot を図 3 に示す. 図 3 に示されているように, 手動 VOI に対する BP_{ND} の過小評価がみられた.

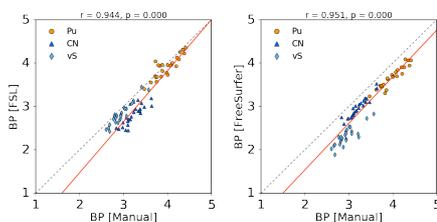


図 3 手動 VOI と FSL (左) 及び FreeSurfer (右) それぞれを用いて推定された BP_{ND} の scatter plot

考察: 検証の結果, 自動 VOI 抽出方法間の精度の傾向が局所によって異なることが示唆された. しかしながら, 特に尾状核や腹側線条体では Jaccard 係数が $0.5 - 0.6$ と低かったことから, これらの自動 VOI 抽出法が必ずしも良好な精度で VOI を抽出できるわけではないことが示唆される. その原因としては MR 画像の磁場不均一性補正等前処理が

不十分であることが予想される. 詳細な原因についてはさらなる検証が必要である.

本検証の結果から自動 VOI 抽出された VOI を用いて動態解析を行った場合には, BP_{ND} などの動態解析パラメータにバイアスが生じることが示唆された. バイアスの傾向と Jaccard 係数の傾向が一致していたことから, このバイアスは自動で抽出された VOI と実際の領域との乖離が原因で生じていることが考えられる. 従ってバイアスを回避するには, 自動で抽出した VOI を手動で修正するなどの作業が必要になることが考えられる.

以上の成果については現在雑誌論文に纏めており, 近い将来投稿する予定である. また本研究に関連して, 複数の自動 VOI 抽出を試験し, 抽出した VOI を手動で修正する機能を持つ統合解析環境を開発しており, それに関して学会発表を行った.

(2) 線条体における健常機能局在マップの取得

k-means 法及び GMM 法でクラスタリングを行い, 分類した線条体を図 4 に示す.

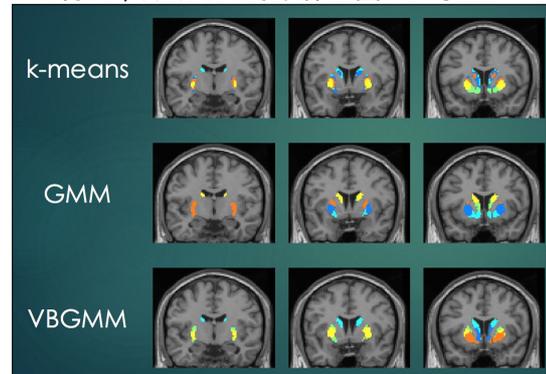


図 4 クラスタリングにより得られた線条体の分画

各手法によってそれぞれ異なる分画が得られた. 特に GMM によるクラスタリングでは従来からよく言われている線条体の解剖学的な分画 (被殻前部・被殻後部・尾状核前部・尾状核後部・腹側線条体) に似た分画が得られた. これはそれぞれの解剖学的分画がそれぞれ異なる機能を持っており, それを反映して分類された可能性が考えられる.

これらの分画の機能との詳細な関連については今後検討していく予定である. また線条体以外の部位についても今後検証していく.

(3) 結論

本研究ではまず線条体について最適な自動 VOI 抽出法を検討するべく, 各方法の比較を行った. 自動 VOI 抽出方法間での精度の違いは局所によっては異なり, 場所によっては必ずしも良好な精度で線条体 VOI を抽出できないことが示唆された. また自動で抽出した VOI を用いた場合に最終的な動態解析結果へもバイアスが生じることが判明した. 線

条体を対象とした PET 研究では、バイアスを避けるために、自動で抽出した VOI を手で修正するなどの対処が必要になることが考えられる。

本研究では複数の PET 画像のクラスター分析により、機能局在マップを取得する方法を確立させるために、複数のクラスター分析法を試みた。クラスター分析法によって異なる分画が得られ、特に GMM を用いた際に得られた分画と解剖学的な分画との類似を認めた。今後、本法の有用性を検証していくためにも、クラスター分析で得られた分画と機能との詳細な関連について検討していく予定である。

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 0 件)

〔学会発表〕(計 2 件)

Kuwabara H, Matsubara K, Bauwer B, Nemoto EM, Haut MW and Wong DF, “An Integrate Data Analysis Environment (IDAE) for PET Neuroimaging Research”, Neuroreceptor mapping 2014 (2014 年 5 月 21 日～2014 年 5 月 24 日, アムステルダム, オランダ)

松原佳亮, 桑原寛人, Haut MW, 茨木正信, 木下俊文, Wong DF, “PET による脳研究のための project-oriented な統合解析環境(IDAE)の開発”, 第 54 回日本核医学会学術総会(2014 年 11 月 6 日～8 日, グランキューブ大阪, 大阪府大阪市)

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

取得状況 (計 0 件)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

松原 佳亮 (MATSUBARA Keisuke)

秋田県立脳血管研究センター (研究局)

研究員

研究者番号: 40588430

(2) 研究分担者: なし

(3) 連携研究者: なし

(4) 研究協力者:

桑原 寛人 (KUWABARA Hiroto)

Johns Hopkins 大学医学部

(アメリカ合衆国)

准教授

研究者番号: なし