

高分解能 High b-value 多軸拡散計測による視交叉神経走行追跡 [大会長賞記録]

疋島啓吾^{1,3}, 山田雅之^{1,2}, 藤吉兼浩^{4,5}, 百島祐貴⁶,
川井健司¹, 中村雅也⁴, 玉置憲一¹, 岡野栄之⁵

¹勸学館動物中央研究所 ²藤田保健衛生大学医療科学部放射線学科

³慶應義塾大学医学部総合医科学研究センター

⁴同整形外科教室 ⁵同生理学教室 ⁶同放射線診断科

はじめに

白質神経構造の可視化法である拡散トラクトグラフィは、神経束の方向・連絡性はもとより、神経の変性や成熟度においても高い検出度を有することから、研究・臨床で広く用いられている。追跡解析のベースとなる拡散分布のモデル化には、一般的には Tensor 解析が用いられることが多い。Tensor 解析は 1 ボクセル内の拡散分布を楕円体近似するため異方性の扱いを 1 方向に簡易化できる。実際には白質神経領域の約 3 分の 1 は、交叉線維などの複雑な走行からなるといわれている。そのような領域においては、複数の方向性の情報が混在するため Tensor モデルが当てはまらない。

この問題を解決する方法の一つに、高角度分解能で拡散分布を計測・解析する手法 high angular resolution diffusion imaging (HARDI) がある。HARDI は、複数方向成分の分離法であり、幾つかの拡散計測パターン、解析モデルが提唱されている。

また高角度分解能同様、複雑な神経構造を解明するための重要な因子に高空間分解能がある。MRI データそのものの高空間分解能化によって、1 ボクセル内の混在する方向成分を少なくできる。

HARDI は従来の Tensor モデルの限界を克服する方法として期待されるが、その精度検証はいまだ不十分である。そこで我々は、まず定量的拡散交差ファントムを用い HARDI の精度検証を行った。さらに生体への有用性を検証するために、HARDI を高空間分解能化し、霊長類における代表的な交叉性構造である視神経に着目し研究を行った。

方法と対象

1. キャピラリ交差ファントム

マイクロキャピラリは内径サイズの一定なチューブ状構造であるため、チューブ内に存在する水分子は定量的な制限拡散を呈する。外径が 150 μm 、内径が 15 μm のシリカ製マイクロキャピラリ (TSP015150, Polymicro Technologies) の内部に硫酸銅水溶液 (5 mM) を封入した。キャピラリは 40 mm の束にし、 0° と 90° の方向に交差するように配置した。

2. 視交叉 *ex vivo* モデル

ヒトにより近いモデルとして霊長類コモンマーモセットの視交叉を対象とした。本研究は HARDI の精度検証を目的としており、生体における様々なアーチファクトの除去、長時間計測の達成のため視交叉は組織標本を用いた。成

キーワード diffusion, tractography, crossing fiber, HARDI

体のコモンマーモセットに安楽死処置後、組織の自己融解を防止するため4% paraformaldehyde (PFA) による灌流固定し、同濃度 PFA で1時間浸透固定を行った。さらに計測時間 (TR) の短縮のため buffered saline solution (PBS) に Gd-DTPA (Magnevist, Schering) を添加し造影剤濃度を 1 mM とした水溶液を、組織中の PFA と置換した¹⁾。MRI 計測時は磁化率の抑制のため組織の入ったサンプルチューブをフロリナート (FC-84, Sumitomo 3M) で満たし計測した。本実験は、実験動物中央研究所動物実験倫理委員会の承認に基づき行った。

3. MRI 計測

MRI 装置は BRUKER 社製 7 Tesla PharmaScan, 最大傾斜磁場強度 300 mT/m の傾斜磁場コイルを使用した。RF コイルは内径 22 mm の送受信ボリュームコイル、撮像方法は 3D diffusion-weighted spin-echo 法を用い、撮像条件を TR/TE 2000/38 ms, Isotropic resolution 150 (μm)³とした。拡散計測は Stejskal-Tanner 法を使用し, motion probing gradient (MPG) の印加時間 (δ)/間隔 (Δ) 12 ms/20 ms, b-value 0~12000 s/mm² の 10 点を用いた。

Fig. 1 に正二十面体に対し、Loop 細分割²⁾展開した多面体を示す。Tensor 解析の場合、MPG による拡散エンコード方向は最低 6 方向必要である。これは拡散対称性の観点から半球における 6 方向であるため、ここでは頂点数 12 の正二十面体座標がこれに該当する。HARDI には空間的に多方向の拡散エンコードを行う必要がある。そのため、本実験では 320 多面体の座標 (162 頂点) の半球分である 81 座標を拡散エンコード方向として使用した。

4. 拡散解析

異方性構造の抽出のため spherical harmonics (SH)法³⁾を適用し、得られた orientation distribution function (ODF) の異方性の指標には

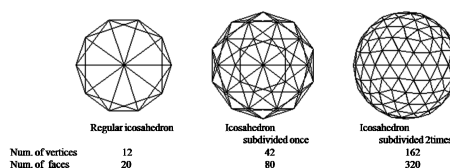


Fig. 1. Subdividing the icosahedrons to improve the encoding vectors for high angular resolution diffusion imaging (HARDI)

generalized fractional anisotropy (GFA)⁴⁾を用いた。それらの解析および表示には IDL (ITT) を用いた。また HARDI トラクトグラフィには、TrackVis⁵⁾を用いた。

結果および考察

キャピラリ交差モデルにおける ODF を Fig. 2 に示した。キャピラリの配置方向と同様に、得られた ODF は 0° と 90° の方向に強い異方性を有した。また、制限拡散の性質上、b-value を大きくするほど強い制限拡散からの信号を計測でき、本実験でも b-value の上昇に伴い、GFA が大きくなり、3000 s/mm² 付近で最大値を示した。

半交叉性構造として知られる霊長類の視交叉は、左右の網膜において、鼻側約半分からの視神経は正中線で交わり反対側の視索となる。また外側半分からの視神経はそれぞれ同側の視索となる。左右の視神経、視索に ROI を設定し、視神経から視索に連絡する fiber tracks 数を解析した。低い b-value では、同側性の fiber tracks が多く描出されたが、b-value を大きくするに伴い、反対側に投射する fiber tracks が増加する。b-value 8000 s/mm² で同側性と反対側性に投射する fiber tracks が同程度となり、視交叉の明瞭な描出が可能となった (Fig. 4)。コモンマーモセットの視神経は、2~3 μm の内径を有した神経軸索が密に存在し

た構造であり、水分子の動きは強い制限を受ける。そのため神経軸索レベルの構造を反映するためにはより高い b-value が効果的と考えられる。

拡散トラクトグラフィは、神経走行の構造を拡散現象の数学的モデル化およびその追跡アルゴリズムによって可視化するものである。本実験では、霊長類視交叉の半交叉性を利用した HARDI トラクトグラフィの検証であるが、得

られた神経走行の分布が実際の神経構造をどの程度反映しているかは明らかではない。今後、脳実質に標識トレーサを投与する侵襲的な方法との比較解析によって精度検証する必要がある。

結 語

キャピラリファントム対象にした HARDI の精度検証によって、その信頼性を確認し、コンマーマセット視交叉における高空間分解能 HARDI によってこれまで構造上描出が困難であった視交叉のトラクトグラフィを明瞭に描出した。HARDI には幾つもの手法が提案されており、それらの特性と限界を理解して使用することで、より神経形態学的に強力なツールとなる。

謝 辞

本研究に対して、当研究室の竹内久子研究員には動物実験、標本作製など多大な協力を得たことをここに感謝する。

文 献

- 1) D'Arceuil HE, de Crespigny AJ : The effects of brain tissue decomposition on diffusion tensor imaging and tractography. Neuroimage 2007 ; 36 : 64-68

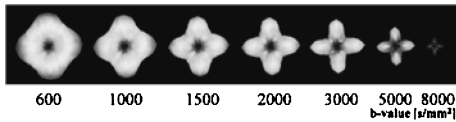


Fig. 2. ODF for crossing phantom (15 μm i.d.) vs b-values

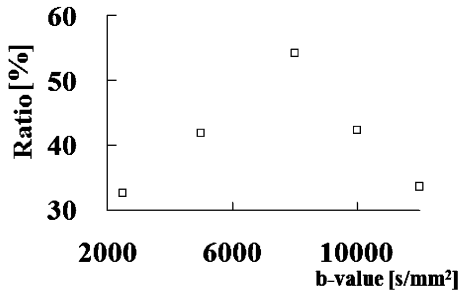


Fig. 3. Ratio of crossing pathways in the optic chiasm vs b-values

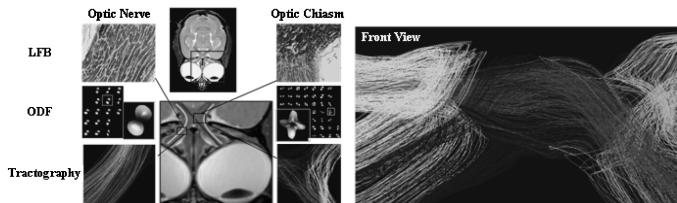


Fig. 4. LFB staining, ODF, and diffusion tractography of the optic nerve (ON) and the optic chiasm in common marmoset (left) : fiber tracking was performed by setting 2ROIs at optic nerve (ON) and optic tract (OT). Front view of diffusion tractography of the optic chiasm (right).

- 2) Loop C. Smooth subdivision surfaces based on triangles. Master's thesis, University of Utah, Department of Mathematics, 1987
- 3) Hess CP, Mukherjee P, Han ET, Xu D, Vigneron DB: Q-ball reconstruction of multimodal fiber orientations using the spherical harmonic basis. *Magn Reson Med* 2006 ; 56 : 104-117
- 4) Tuch DS, Reese TG, Wiegell MR, Wedeen VJ : Diffusion MRI of complex neural architecture. *Neuron* 2003 ; 40 : 885-895
- 5) Wang R, Benner T, Sorensen AG, Wedeen VJ. Diffusion toolkit : a software package for diffusion imaging data processing and tractography. In : *Proceedings of the 15th Annual Meeting of ISMRM, Berlin, 2007 ; 3720*

**Fiber Tractography in the Optic Chiasm Using High b-value Diffusion MRI
with Increased Spatial and Angular Resolution
[Presidential Award Proceedings]**

Keigo HIKISHIMA^{1,3}, Masayuki YAMADA^{1,2}, Kanehiro FUJIYOSHI^{4,5},
Suketaka MOMOSHIMA⁶, Kenji KAWAI¹, Masaya NAKAMURA⁴,
Norikazu TAMAOKI¹, Hideyuki OKANO⁵

¹Central Institute for Experimental Animals
Nogawa, Miyamae, Kawasaki, Kanagawa 216-0001

²School of Health Science, Fujita Health University

³Center of Integrated Medical Research, Departments of ⁴Orthopaedic Surgery,

⁵Physiology, and ⁶Radiology, School of Medicine, Keio University

Diffusion tractography is an *in vivo* method to visualize white matter structure that gives us information about fiber orientation and connectivity. Tracking is generally based on the diffusion ellipsoid model calculated from single tensor analysis and uses only the direction of maximum diffusivity. A voxel of white matter is believed to have multiple fiber orientations, and the ellipsoid model is inappropriate for resolving complex fiber structure. Therefore, to evaluate the connectivity of crossing pathways, we performed high angular resolution diffusion imaging (HARDI) with increased spatial resolution of the *ex vivo* optic chiasm in non-human primates. In the primate visual system, the optic nerve from the nasal half of the retina crosses the optic chiasm to the optic tract of the opposite side, and the optic nerve from the lateral half of the retina passes to the optic tract of the same side. Our results showed that the ratio of the crossing and uncrossing pathways was around half at a b-value of 8000 s/mm². High spatial and angular resolution diffusion imaging was found to accurately resolve the crossing fiber structure.