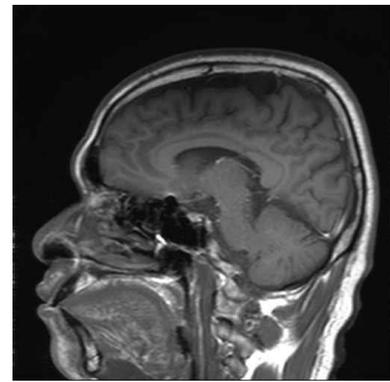




筑波大学
University of Tsukuba



ヒトの脳

ヒト胚子化学固定標本の MR microscopyによる三次元形態計測

筑波大学数理物質科学研究科
電子・物理工学専攻 巨瀬 勝美

講演の内容

1. ヒト胚子化学固定標本 (Kyoto Collection)
2. 初期のトライアル (縦型SCM & 永久磁石MRI)
3. 超並列型MRIによる1200体の三次元撮像
4. 9.4T超伝導磁石による高分解能撮像
5. 最近の試み (512 x 512 x 1024画素)
6. 将来展望
7. むすび

京都ヒト胚子コレクション (1)

京都大学*には、1961年から1974年にかけて、組織的に収集された、**数万体のヒト胚子固定標本**が所蔵されている。

この標本は、**世界最大のヒト胚子標本**であり、ヒトの遺伝学・発生学における極めて貴重なコレクションとなっている。

(世界第二位のヒト胚子コレクションは、世界的にも有名な、**Carnegie Collection**であるが、1900年前後に収集されたものであり、標本数は僅か数千体である)

*京都大学大学院医学研究科附属
先天異常標本解析センター:

From the Website →



京都ヒト胚子コレクション (2)

このようなコレクションは、将来、二度と得ることができない極めて貴重なものであるので、**非破壊的三次元計測**が強く望まれている。

化学固定標本には、保存液（ホルマリン水溶液）として、**MR撮像に適したプロトンが大量に含まれている**ため、MRマイクロコピーは、化学固定標本の三次元形態計測法として、極めて有力である。

Human
embryo

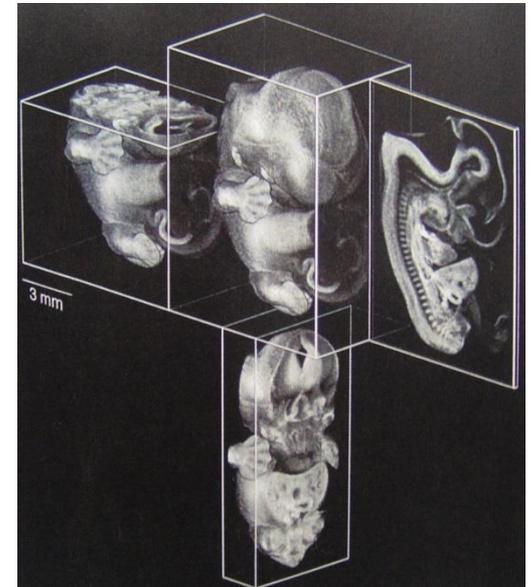
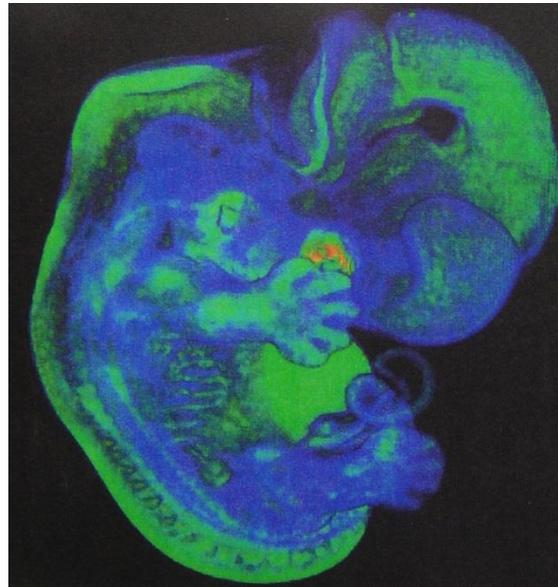
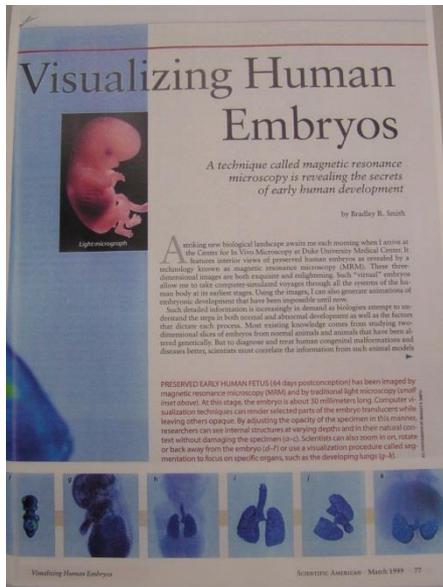


Mid-sagittal plane

Protons of the formalin solution are visualized.

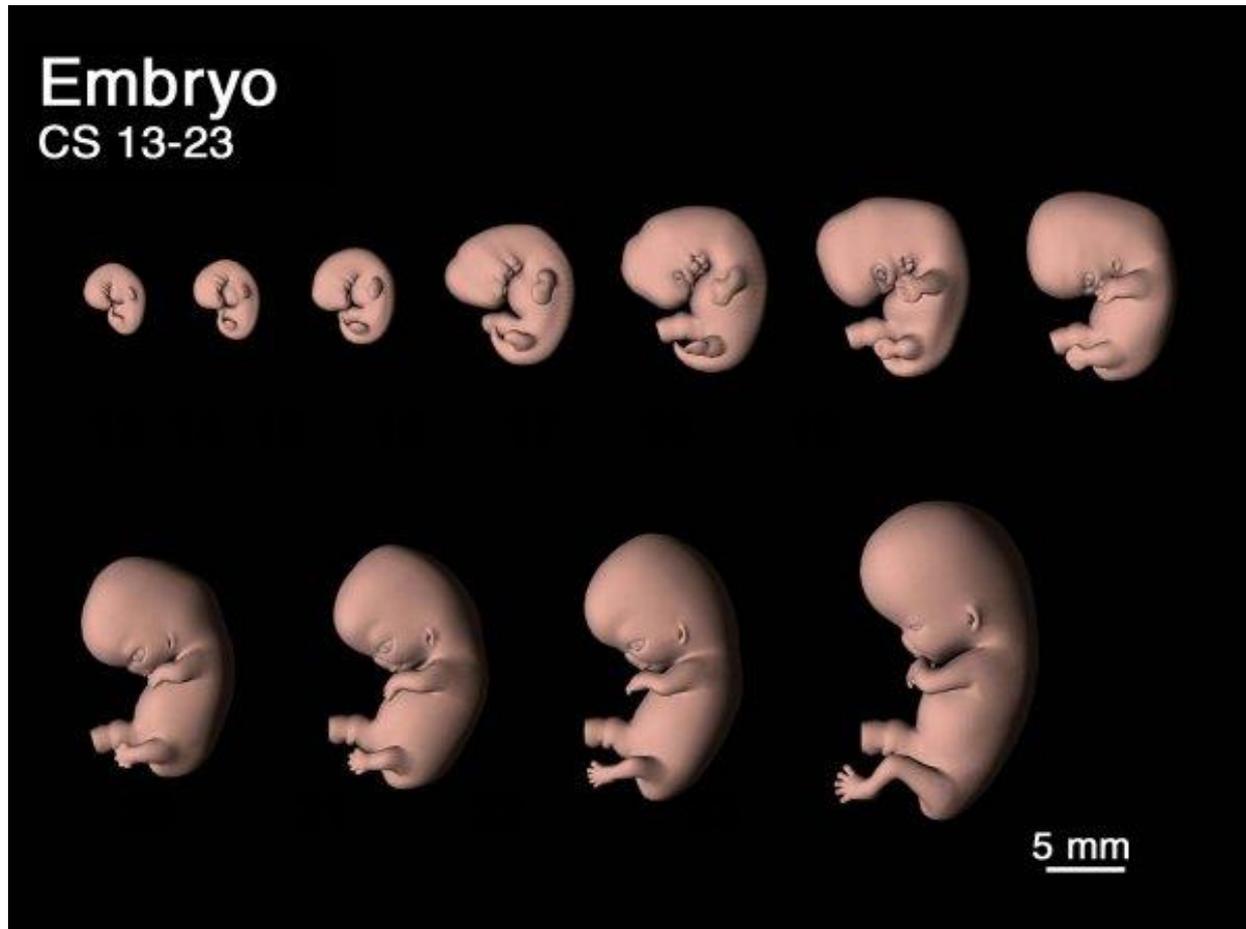
京都プロジェクト？

そこで、京都大学と筑波大学では、京都コレクションの中の代表的な（数）千体程度の標本の三次元MR撮像を開始することを決定した（1998）。このプロジェクトを開始するに当たっては、Duke大学で始められつつあったVisible human embryo project に大きな影響を受けた。



Bradley Smith, Visualizing human embryos. **Scientific American, 1999.**

Carnegie Stage



by Kyoto
University

Carnegie Stage: The human developmental stage is divided into from 13th to 23rd stage according to its external appearance. Sample diameter: 4 ~ 15 mm

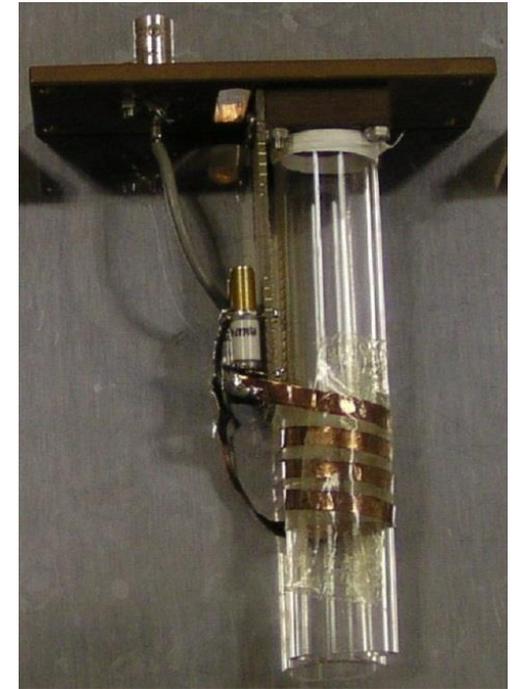
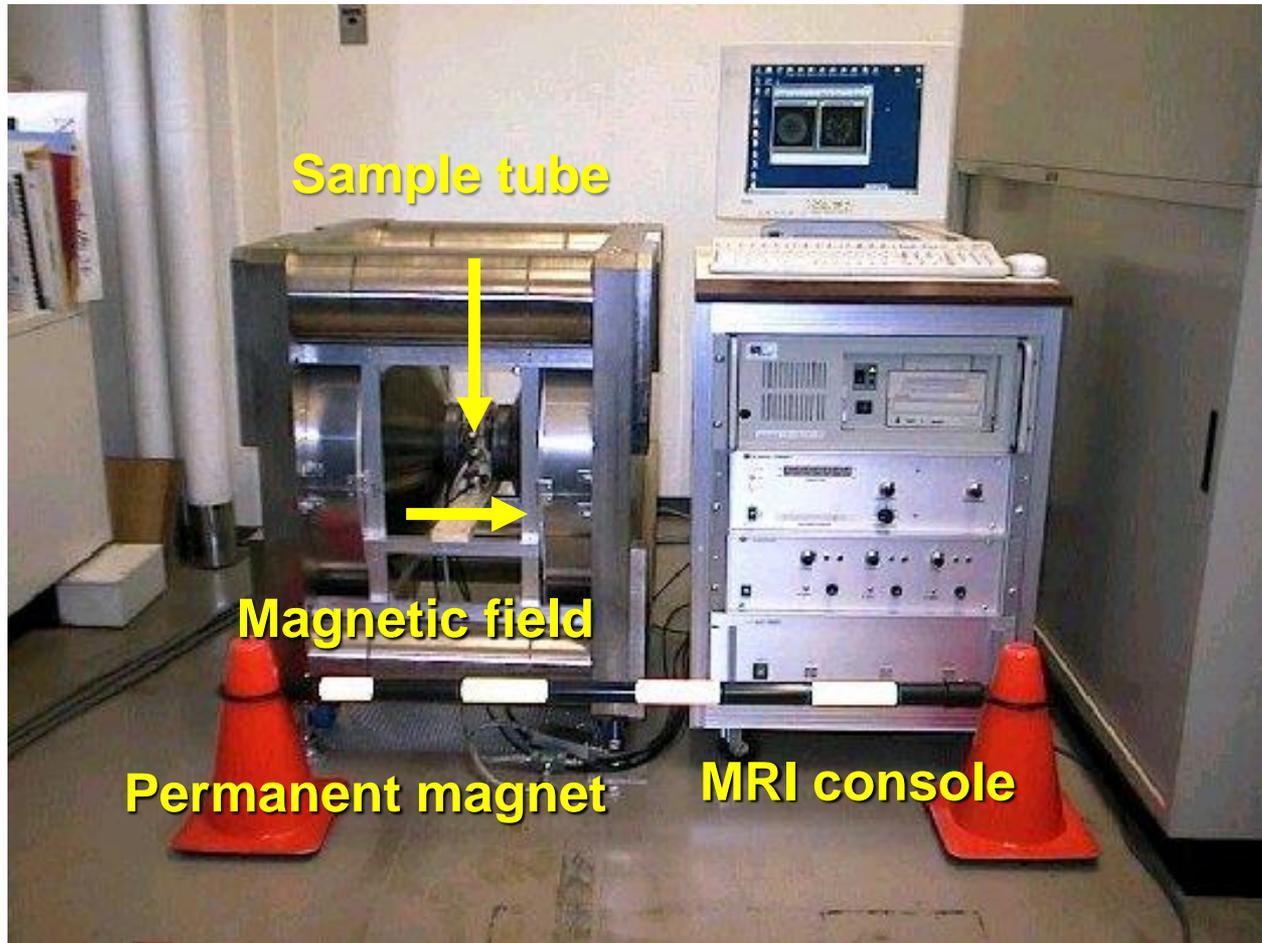
First trial using 4.7T MR microscopy

まず、最初のトライアルとして、4.7Tの縦型超伝導磁石を用いた、標準型MRマイクロスコプを用いて撮像を行った。RFプローブには、Doty社の鞍型コイルを用いた勾配磁場プローブを用いた。



3D gradient echo
TR=200ms TE=5ms
200 μ m cube, 53 min.
April 1999.

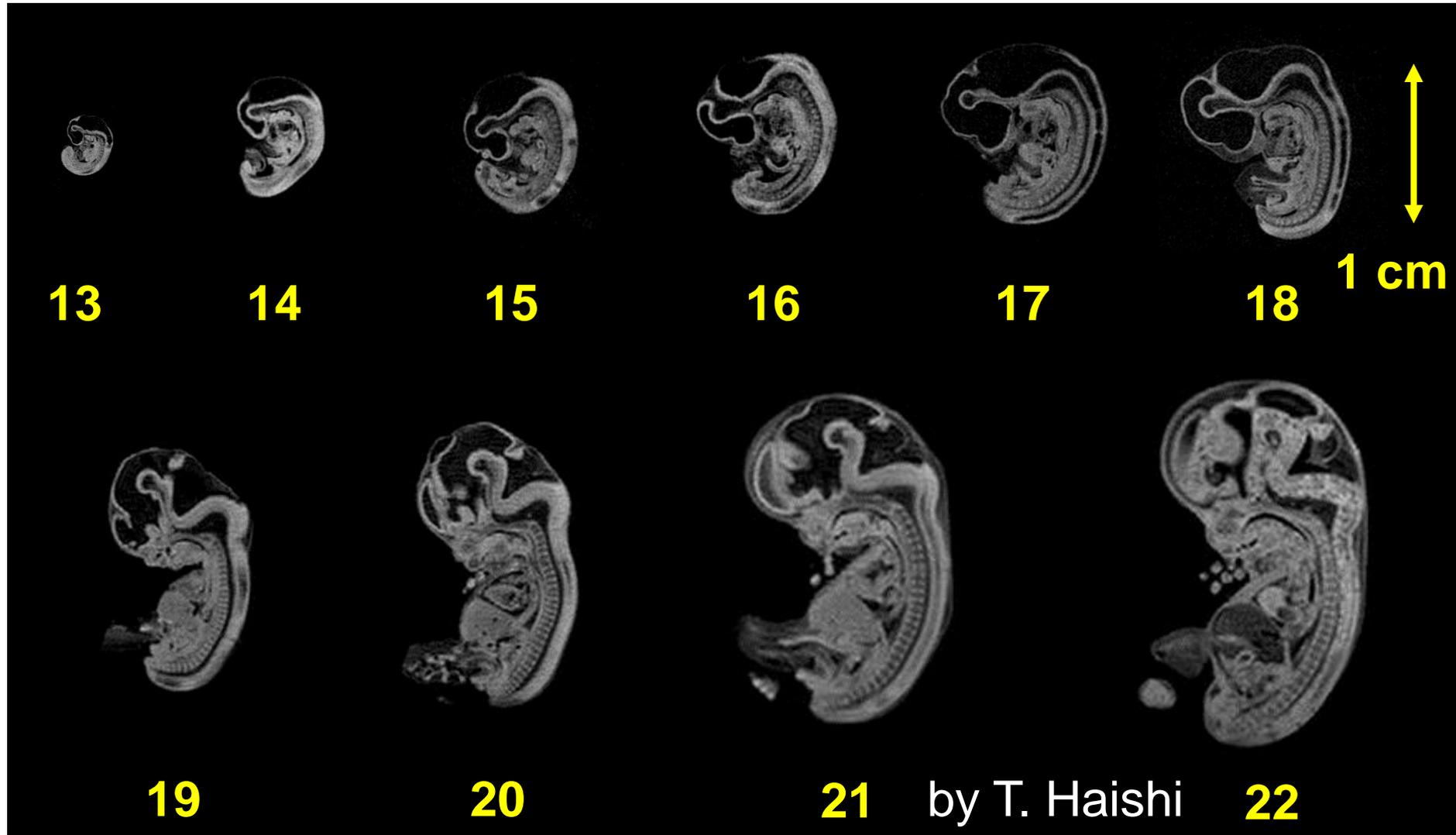
1.0 T永久磁石を用いたMR microscope (1999)



ソレノイドコイル

ソレノイドコイルは、鞍型コイルに比べ約3倍のSNRを有し、サンプルサイズに合わせた最適化が容易: 3倍のSNRの向上は、2倍の強度の静磁場の使用と同じ効果を有する。

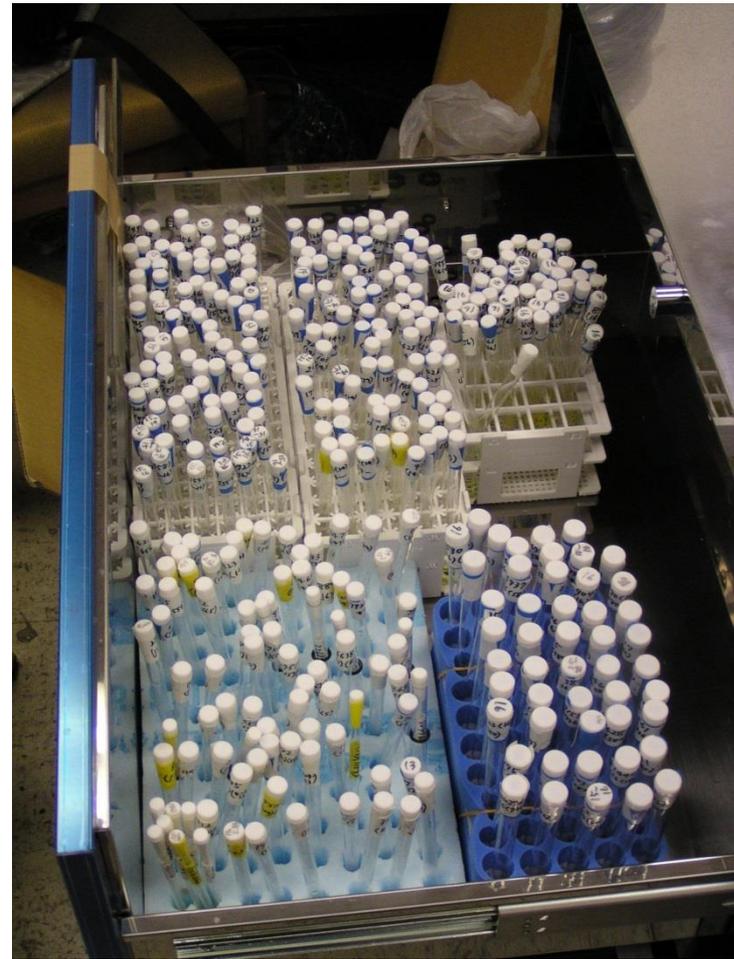
Cross sections of human embryos selected from
1.0 T 3D MR microscope images: **December 1999**



1,204 Embryos selected for the Kyoto Project

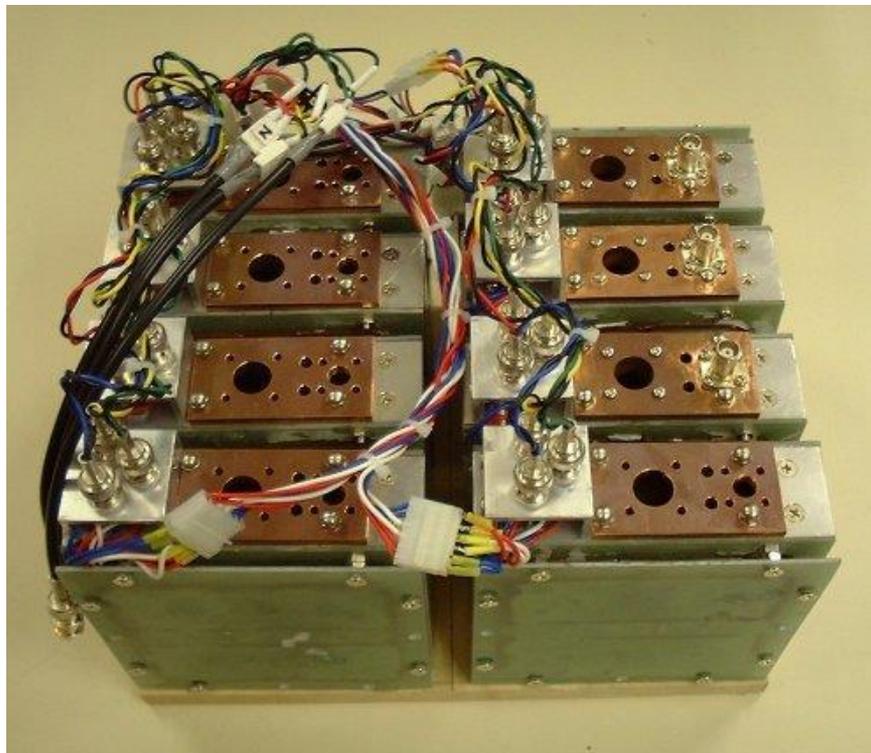
Carnegie Stage	Number of samples	Diameter max (mm)	Length max (mm)	Voxel size micron cube
13	29	3.3	4.0	40, 45
14	138	5.2	7.0	40 - 55
15	125	6.5	8.0	45 -55
16	126	8.0	8.5	50 - 60
17	128	8.8	10.1	70
18	124	8.8	11.0	80
19	147	9.0	15.0	100
20	141	10.5	16.0	100
21	132	10.5	20.0	120
22	62	14.0	23.0	120, 150
23	52	-	-	120, 150

撮像したヒト胚子標本



ヒト胚子サンプルは、**10%ホルマリン水溶液**に満たされた状態で、試験管の中に挿入されている。

臨床用MRIを用いた超並列型MRマイクロスコープ

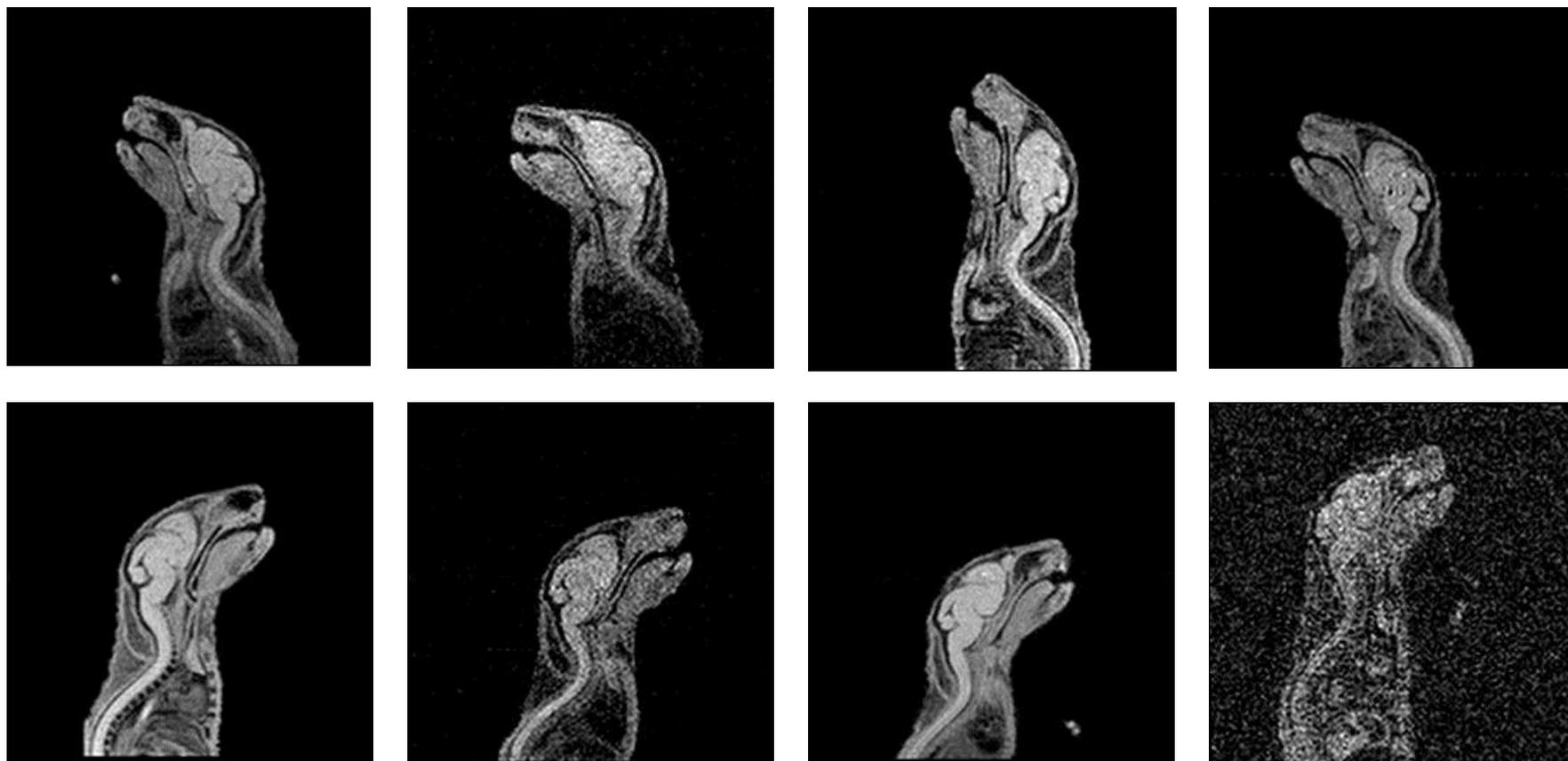


8CHアレイ型プローブ.
30 cm (W) x 14 cm (H) x 23
cm (D).



1.5T臨床用MRIを用いた超並列
型MRマイクロスコープ
(@筑波大附属病院放射線科)

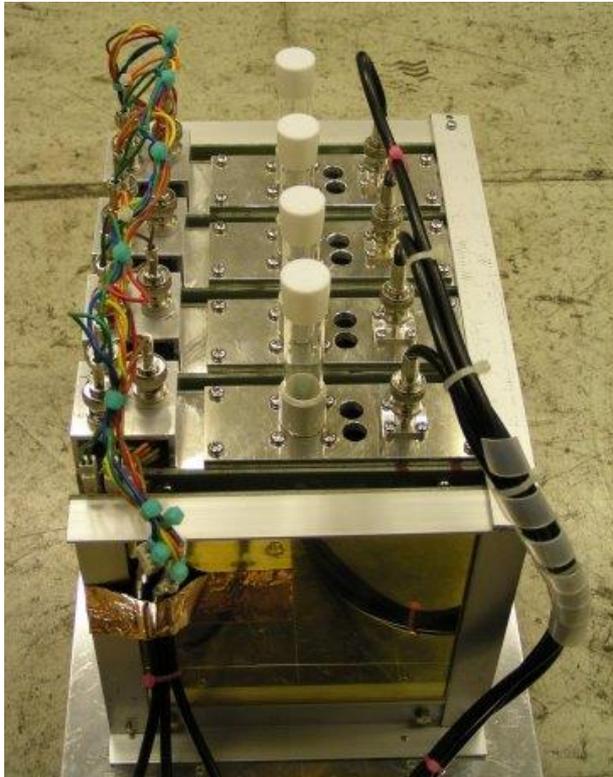
Fixed Mouse Images at 1.5 T: February 2002



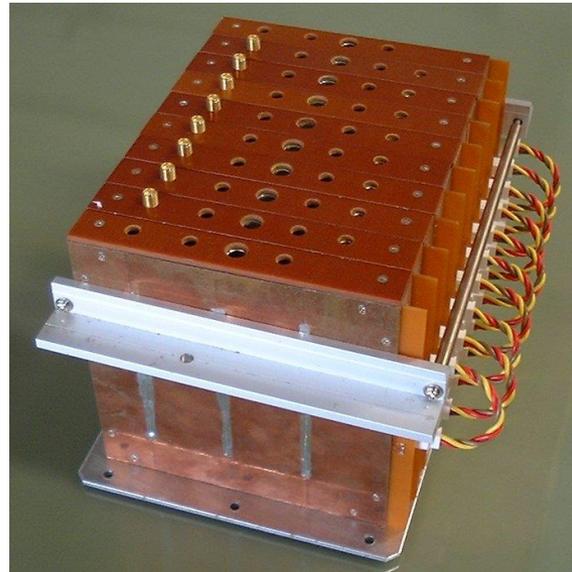
2D cross sections selected from 3D datasets of chemically fixed mouse fetuses simultaneously acquired with a 3D GE sequence (TR/TE/FA:100ms/12ms/90deg). Matrix:128³

Voxel size: (200 μm)³. NEX: 1. Measurement time: 28 min

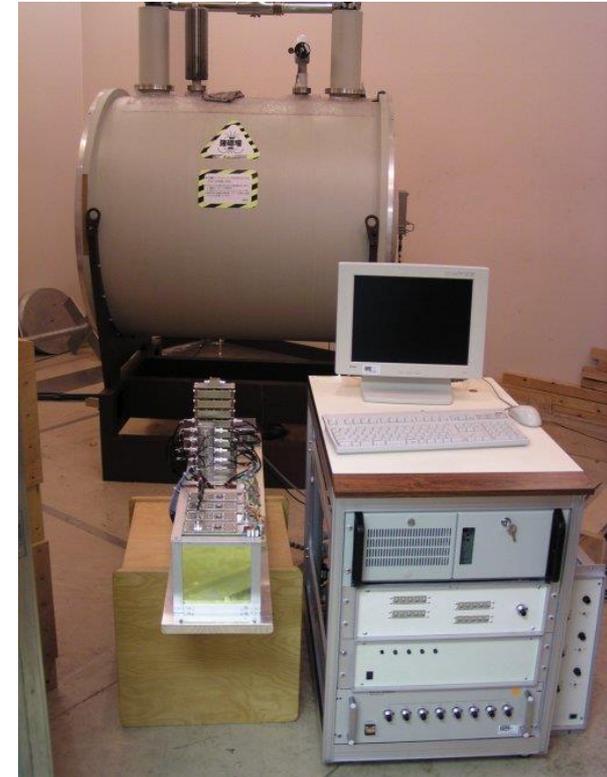
Super-Parallel MR Microscope at 2.35 T



4CH array probe:
Used for **10, 12, 15, 20**
mm NMR tubes



8CH array probe:
Used for **8 mm NMR**
tubes



System Overview
40 cm bore Bruker
animal MRI magnet

by Y. Matsuda, Y. Otake, S. Ono, S. Handa, T. Haishi

京都ヒト胚子3DMRマイクロスコープ 撮像プロジェクトにおける課題

1. Imaging speed

→ **super-parallel MRM at 2.35 T**

2. Optimized RF coil for each embryos

→ **solenoid coils for 8-20 mm tube**

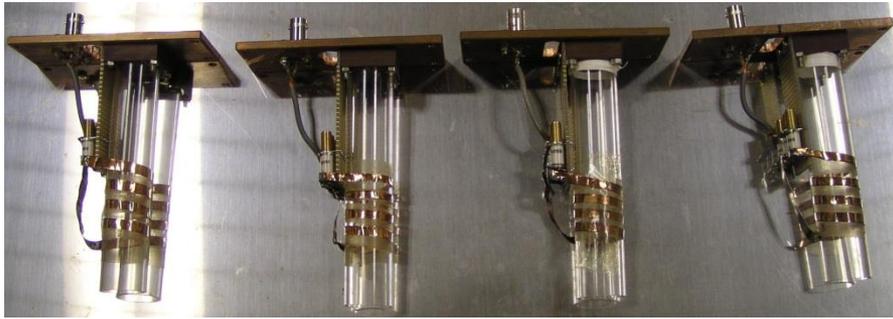
3. Sample transport and handling ?

→ **NMR sample tubes with formalin solution**

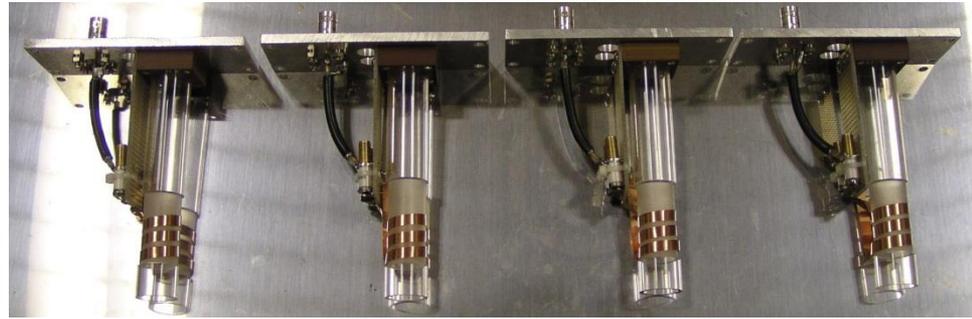
4. Imaging pulse sequence ?

→ **T_1 weighted spin-echo/gradient-echo sequences**

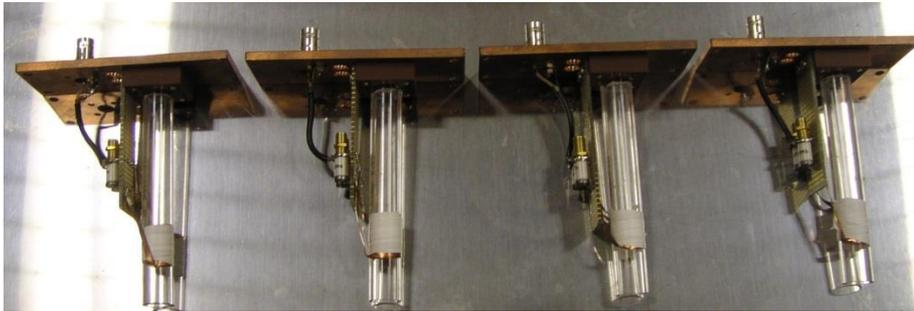
Optimized RF coils



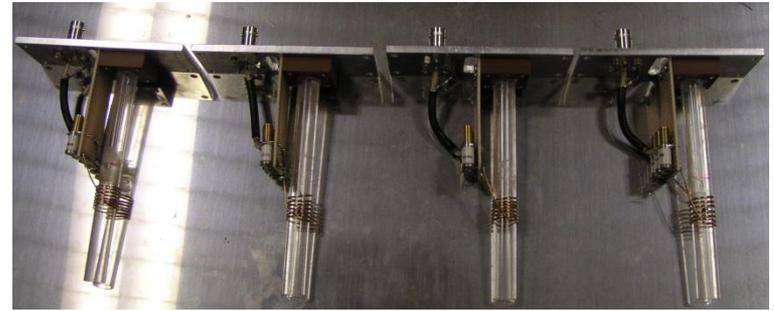
For **20 mm** OD NMR tubes



For **15mm** OD NMR tubes



For **12 mm** OD NMR tubes



For **10 mm** NMR tubes

Diameters of the RF coils were optimized for various size of the human embryos.

Sample Transport and Handling Problems



Kyoto



~ 500 km

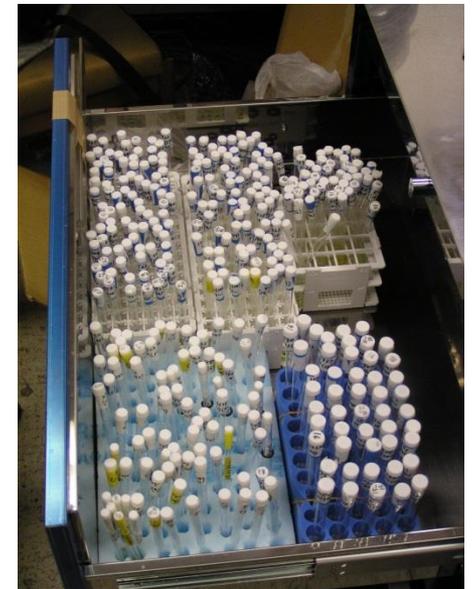


Tsukuba

京都と筑波は約500kmも離れているので、**胚子をホルマリン水溶液で満たしたNMRサンプル管に入れた状態**で運搬した。

MRマイクロスコープ画像も、同じサンプル管に入れたまま撮像した。

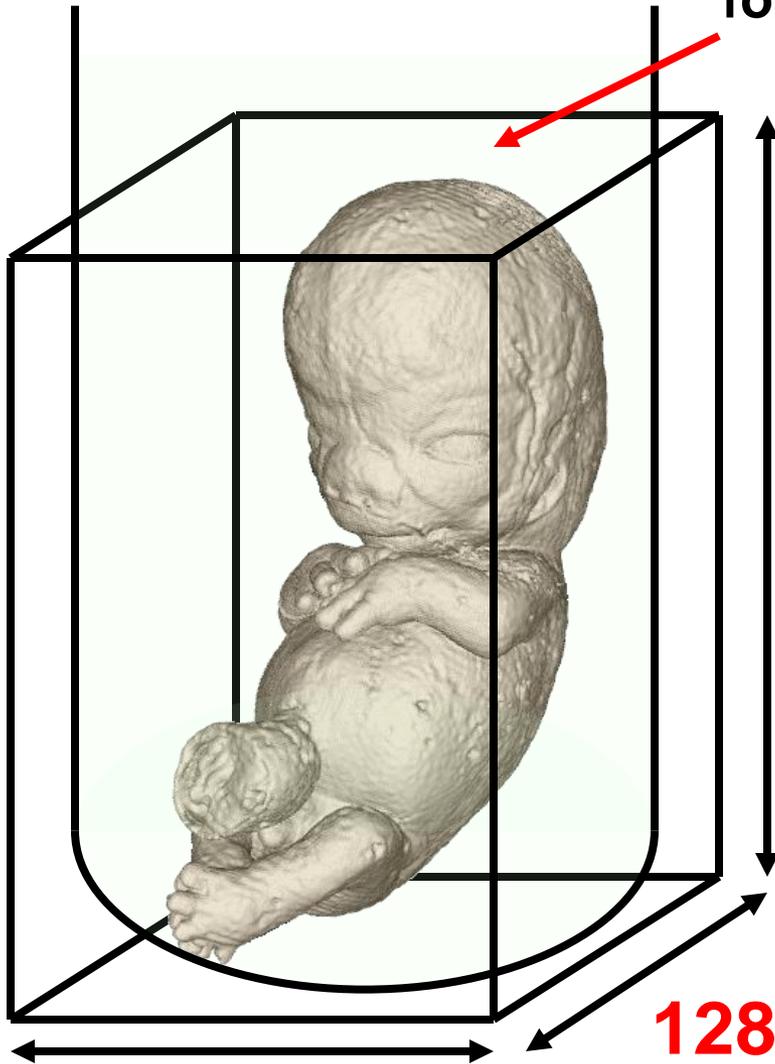
これにより、運搬の際の①機械的ショック、②標本の乾燥、③生物学的汚染、④磁化率アーチファクトの問題を解決した。



embryo specimens

3D Image Matrix and Mid-Sagittal Plane

formalin solution: T_1 saturation !



128

128

256

256 x 256 x
512画素
へフーリエ補間
を行った後に
三次元回転

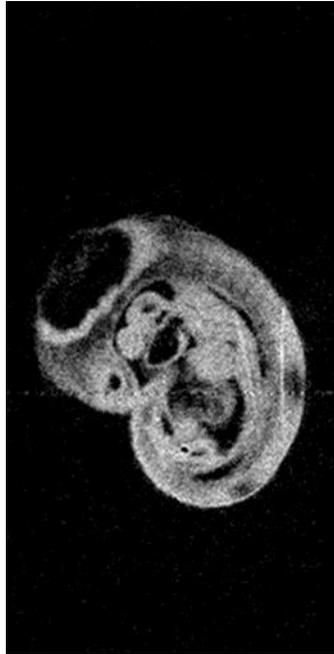


T_1 weighted image of
the mid-sagittal plane

image matrix: 128 x 128 x 256

Human Embryo CS13 - 16

1 cm



CS13
(40 μm)³

CS14
(45 μm)³

CS15
(50 μm)³

CS16
(55 μm)³

Human Embryo CS17 - 20

2 cm



CS17
(70 μm)³

CS18
(80 μm)³

CS19
(100 μm)³

CS20
(120 μm)³

Human Embryo 20 - 23



CS20



CS21

$(120 \mu\text{m})^3$ spatial resolution



CS22



CS23

MR Microscopy of Human Development

MR Microscopy of Human Development



13



14



15



16



17



18



19



20



21



22

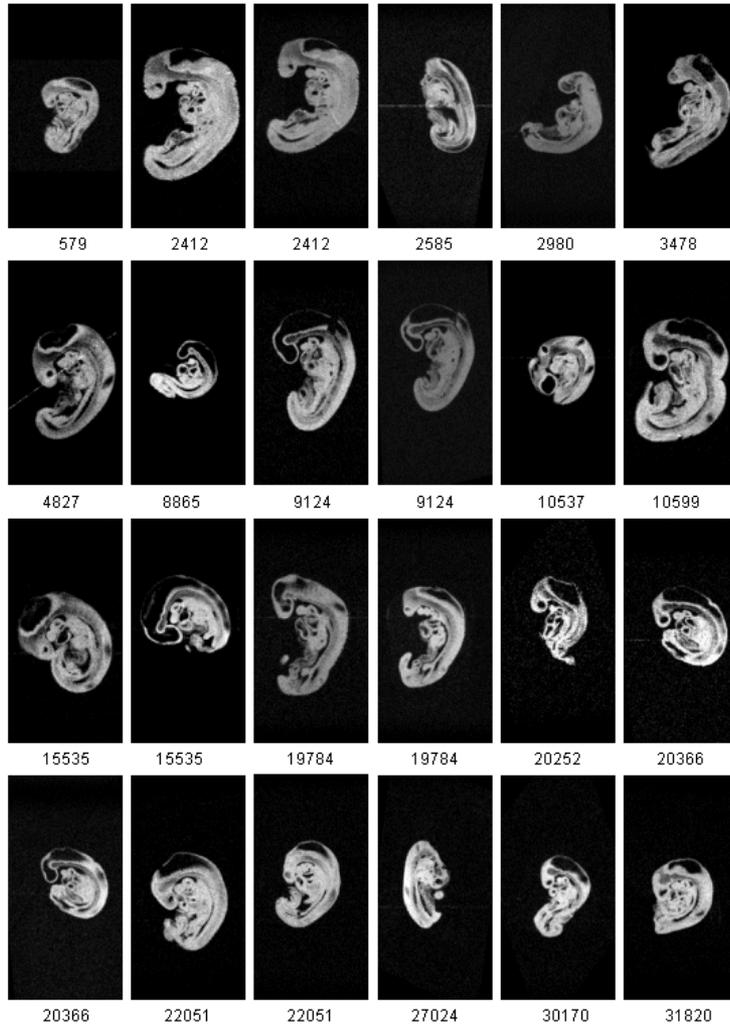


23

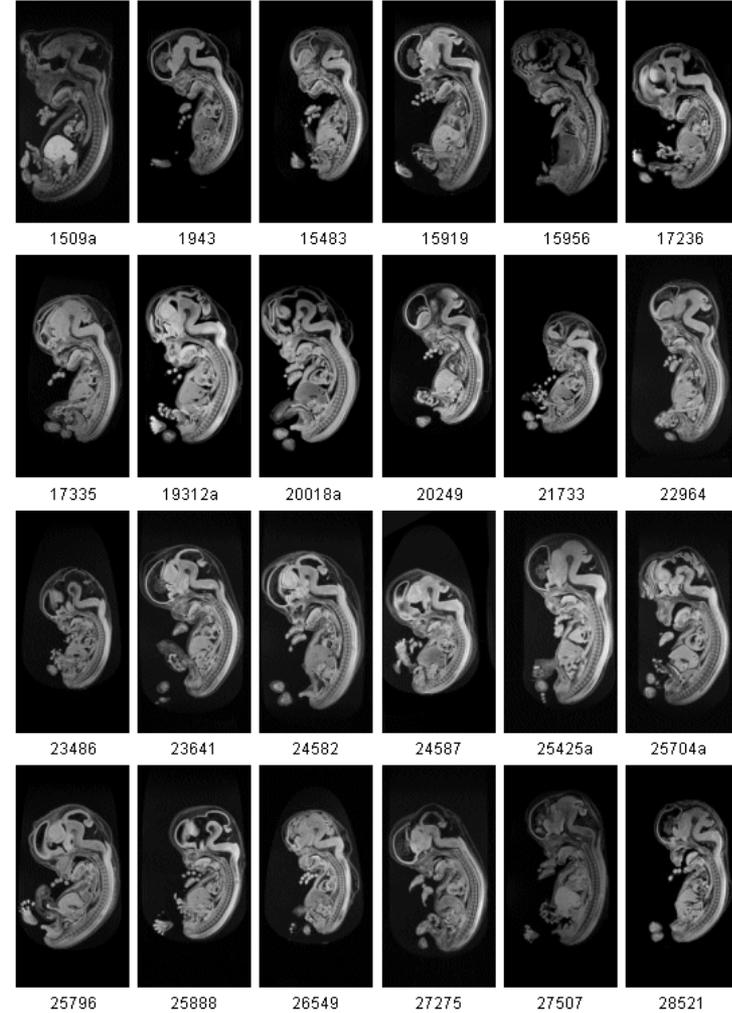
By Kyoto & Tsukuba Universities

エンブリオカタログ (1,204体ウェブで公開中)

Carnegie Stage 13 (1)

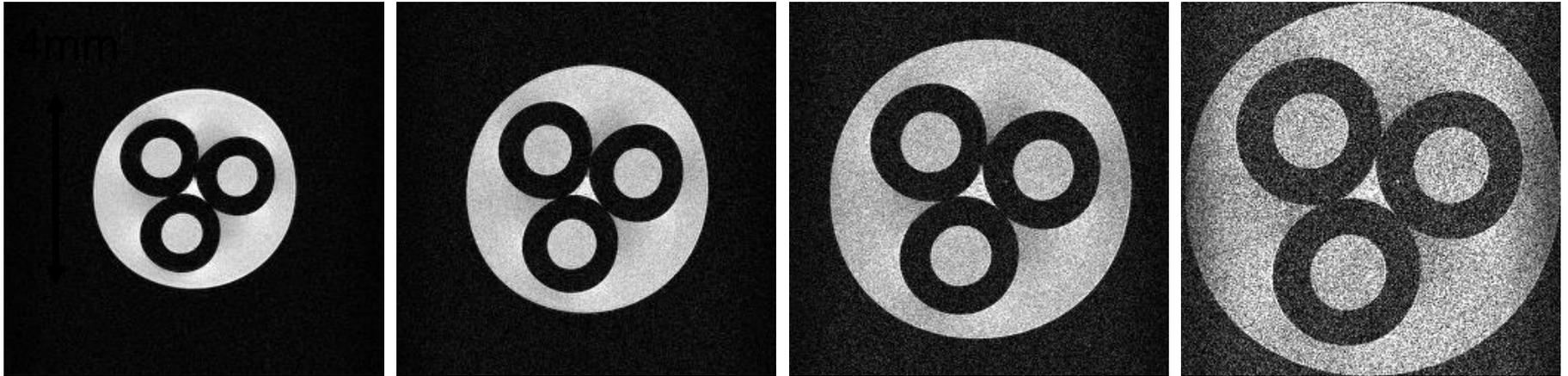


Carnegie Stage 23 (1)



Midsagittal sections are displayed according to the serial numbers.

次のプロジェクト：空間分解能の向上



30 μm^2

25 μm^2

20 μm^2

16 μm^2

画素サイズ小, SNR低

画素サイズを小さくする(空間分解能を向上させる)と, 画素あたりのSNRが低下する. よって, 高い分解能を達成するためには, SNRの向上が不可欠である.

空間分解能の向上=SNRの向上

画素(単位体積)あたりのSNRを向上させるためには

1. 静磁場の増強 $\text{SNR} \propto H^{7/4}$

2. 効率的なRFコイルの使用:

開口径の最適化, ソレノイドコイルの使用(3倍)

3. 効率的なパルスシーケンスなどの使用

TEの短縮と撮像帯域最適化, Compressed Sensing

4. 造影剤の使用(ヒト胚子では困難, マウス等ではOK)

5. RFコイルの冷却

(6. ダイナミックレンジの拡大)

9.4T超伝導磁石を用いたヒト胚子標本の撮像

SNRを向上させる最も直接的な手法は、静磁場強度を向上させることである。

例えば、**4倍強力な静磁場(2.35T→9.4T)**を用いると、SNRを11倍程度向上させることができる($\text{SNR} \propto H^{7/4}$)。

しかしながら、鉛直ボア型超伝導磁石では、**ソレノイドコイル(3倍のSNRゲイン)**が使えないため、**SNRの向上は、4倍程度に留まるが**、シーケンスの改良などによって、

128 × 128 × 256画素から256 × 256 × 512画素への分解能の拡大は可能である。



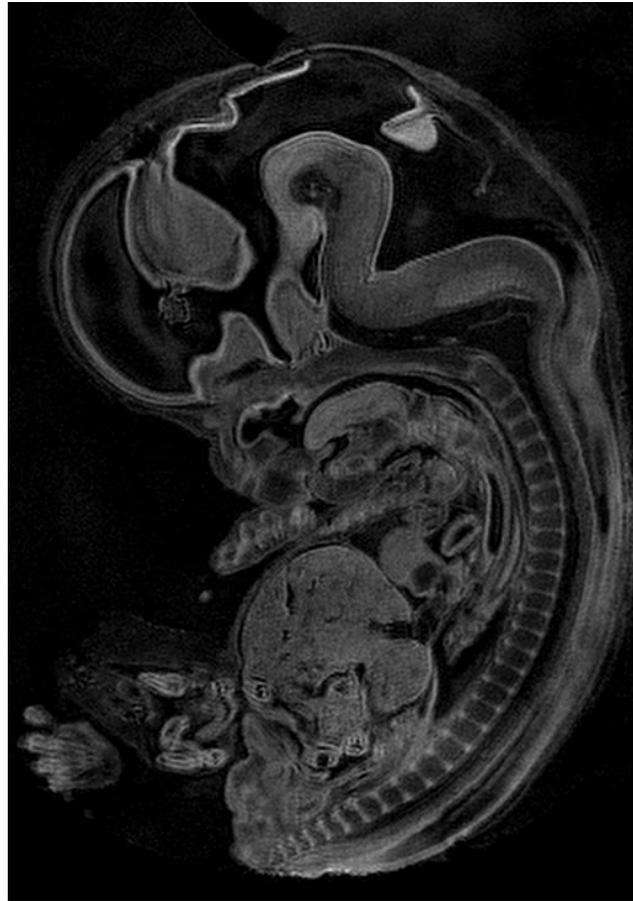
9.4 T 89 mm
Vertical bore SCM
2005年、科研費Aで購入

9.4T MR microscope



by Y. Otake, S. Handa, T. Haishi, S. Utsuzawa

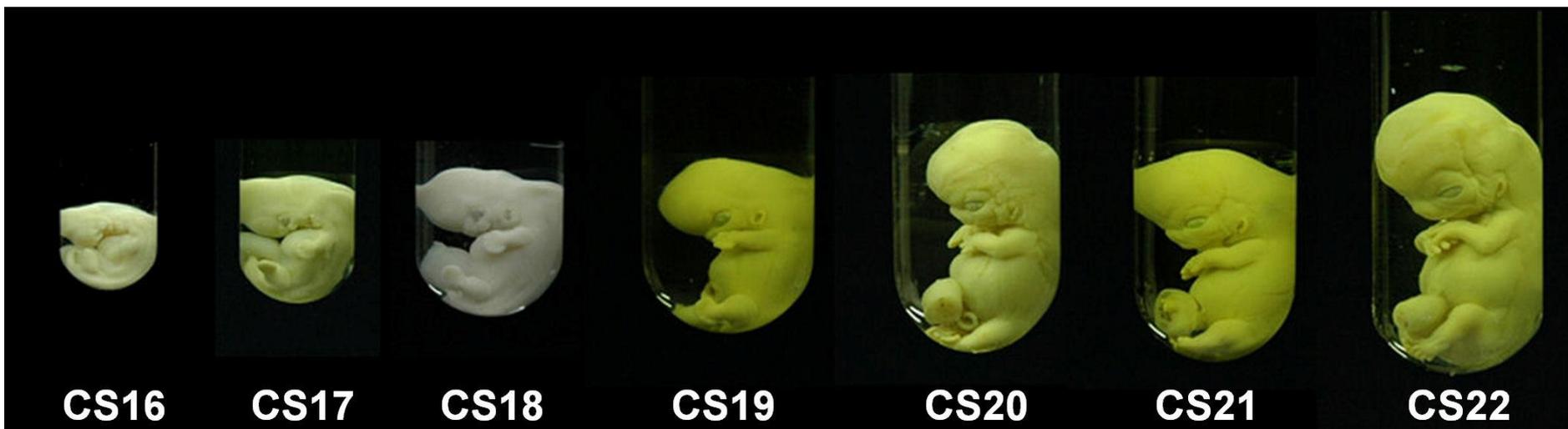
3D High Resolution Imaging at 9.4T



化学固定ヒト胚子標本CS22(京都大学先天異常標本解析センター)

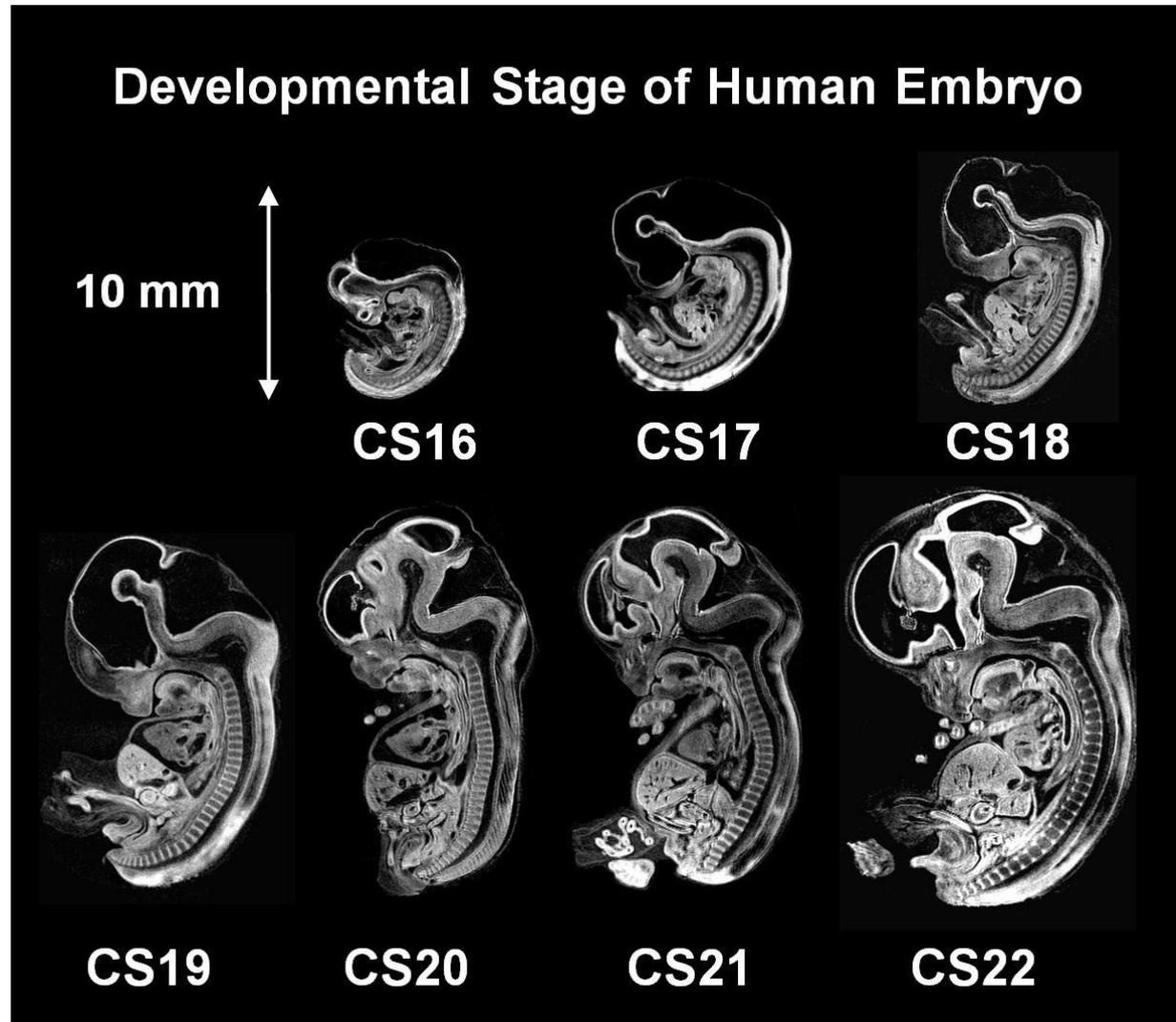
TR/TE=100ms/5ms, 3DGE, $256 \times 256 \times 512$, $(60\mu\text{m})^3$, 12NEX

9.4Tにおけるヒト胚子のMR microscopy (1)



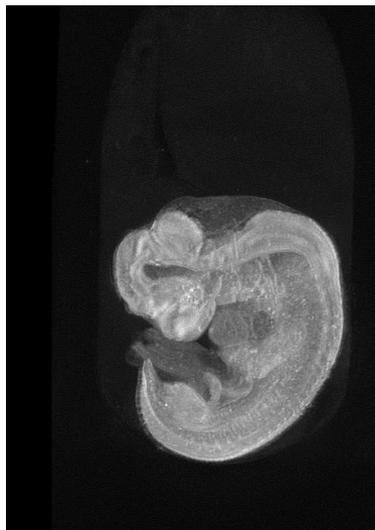
試験管の直径は, 8 mm, 10 mm, 12 mm, 15 mm

9.4Tにおけるヒト胚子のMR microscopy (2)



正中断面像, Voxel : $(40\mu\text{m})^3$, $(45\mu\text{m})^3$, $(50\mu\text{m})^3$, $(60\mu\text{m})^3$

9.4Tにおけるヒト胚子のMR microscopy (3)



CS16



CS17



CS18



CS19



CS20



CS21

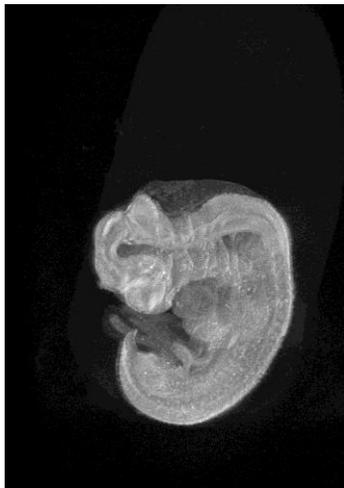


CS22

9.4Tにおけるヒト胚子のMR microscopy (4)



0°



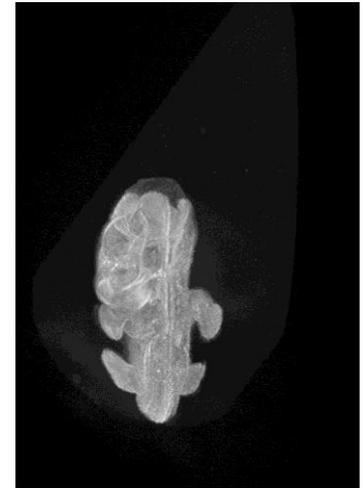
20°



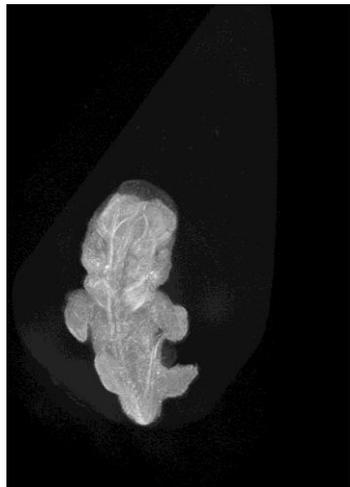
40°



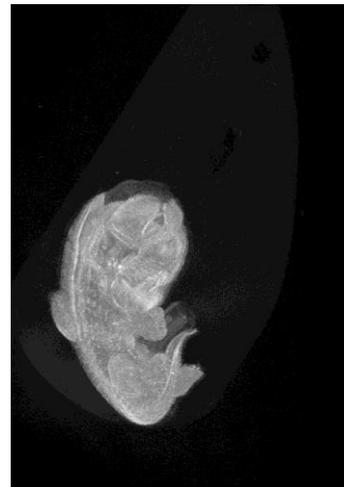
60°



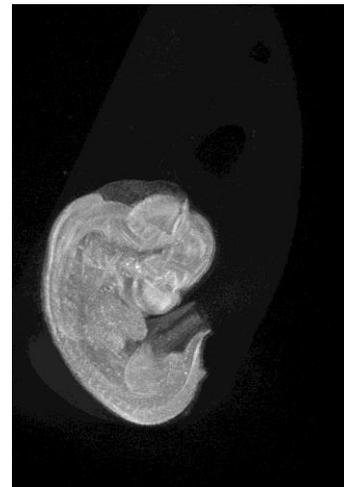
80°



100°



120°



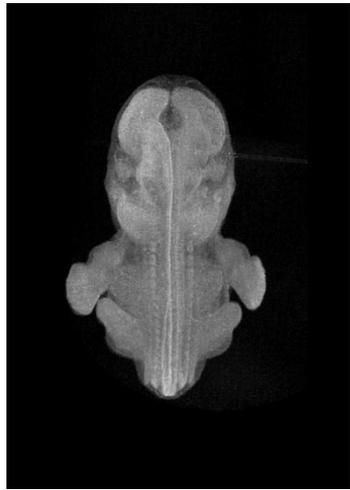
140°



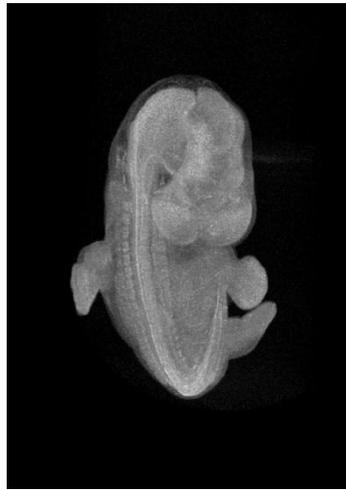
160°

CS16
(40 μ m)³

9.4Tにおけるヒト胚子のMR microscopy (5)



0°



20°



40°



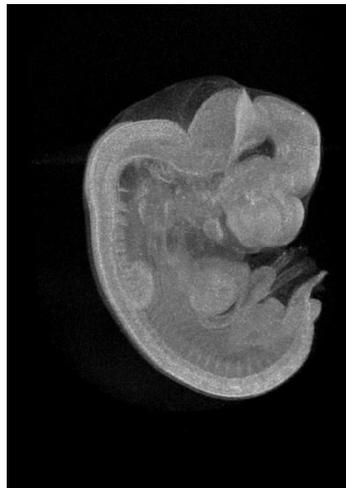
60°



80°



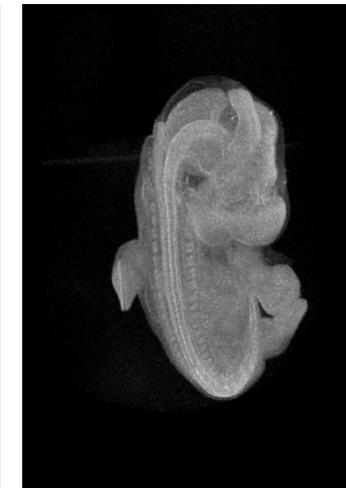
100°



120°



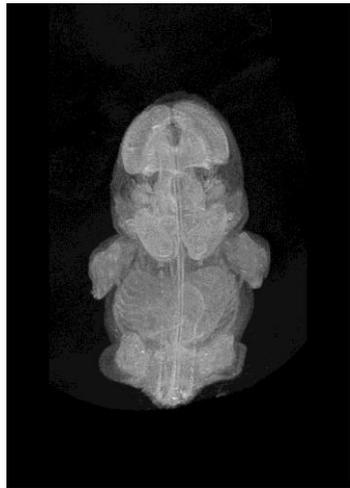
140°



160°

CS17
(40 μ m)³

9.4Tにおけるヒト胚子のMR microscopy (6)



0°



20°



40°



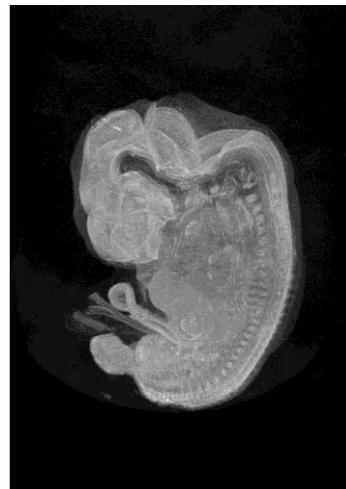
60°



80°



100°



120°



140°



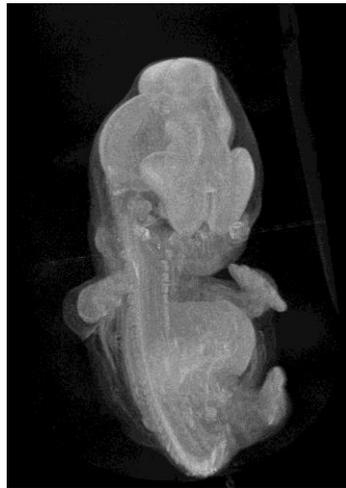
160°

CS18
(45 μ m)³

9.4Tにおけるヒト胚子のMR microscopy (7)



0°



20°



40°



60°



80°



100°



120°



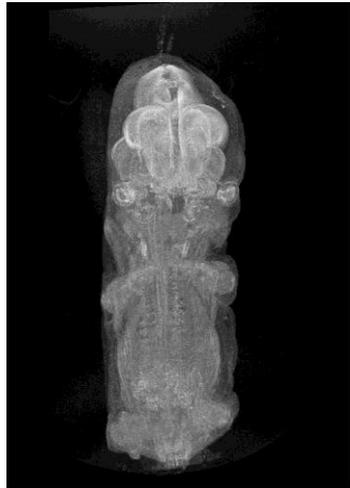
140°



160°

CS19
(50 μ m)³

9.4Tにおけるヒト胚子のMR microscopy (8)



0°



20°



40°



60°



80°



100°



120°



140°



160°

CS20
(60 μ m)³

9.4Tにおけるヒト胚子のMR microscopy (9)



0°



20°



40°



60°



80°



100°



120°



140°



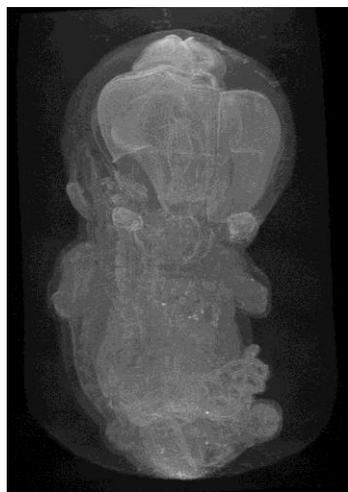
160°

CS21
(60 μ m)³

9.4Tにおけるヒト胚子のMR microscopy (10)



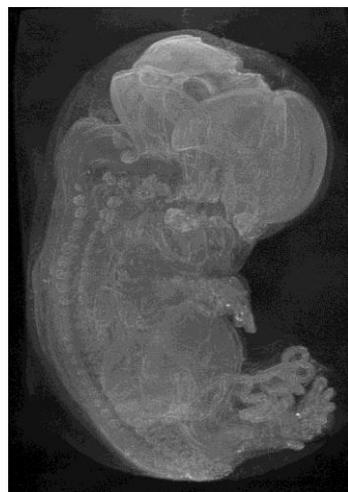
0°



20°



40°



60°



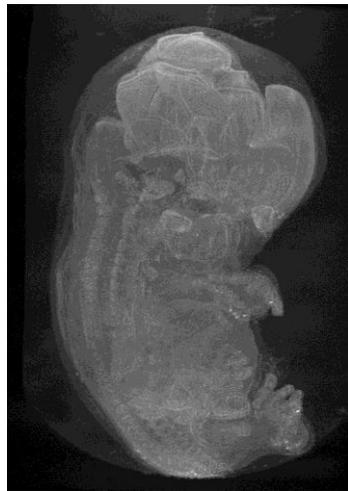
80°



100°



120°



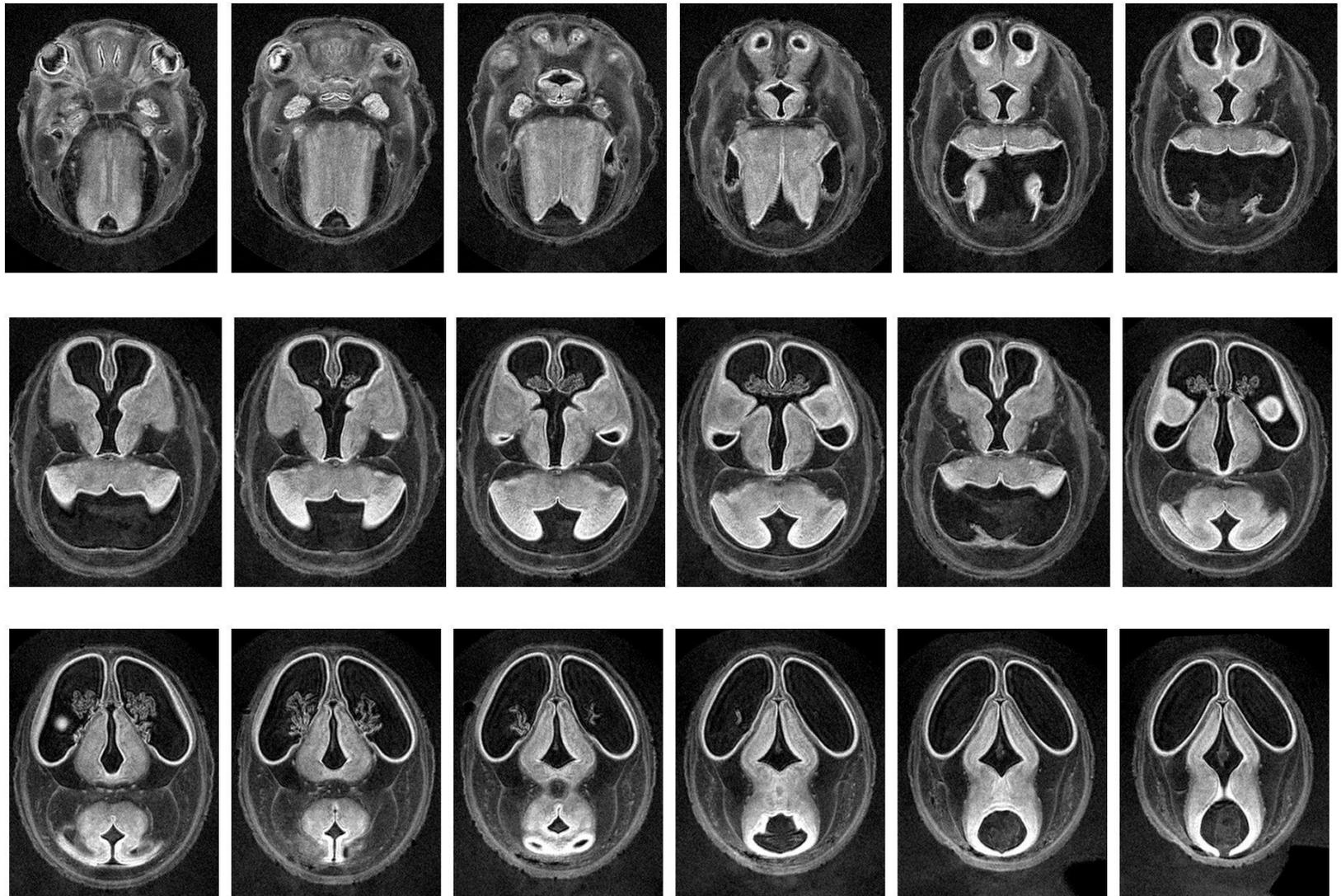
140°



160°

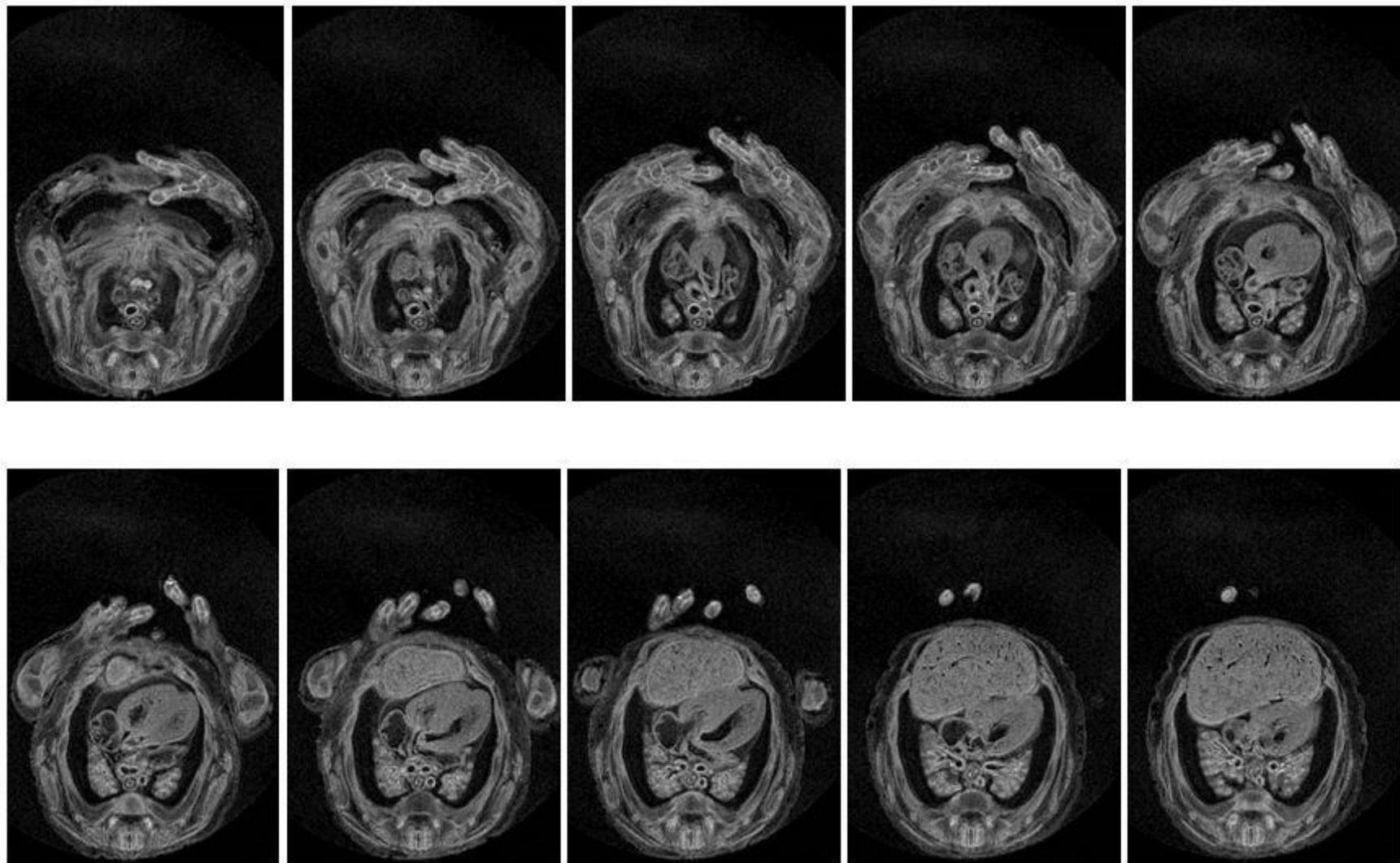
CS22
(60 μ m)³

9.4Tにおけるヒト胚子のMR microscopy (11)



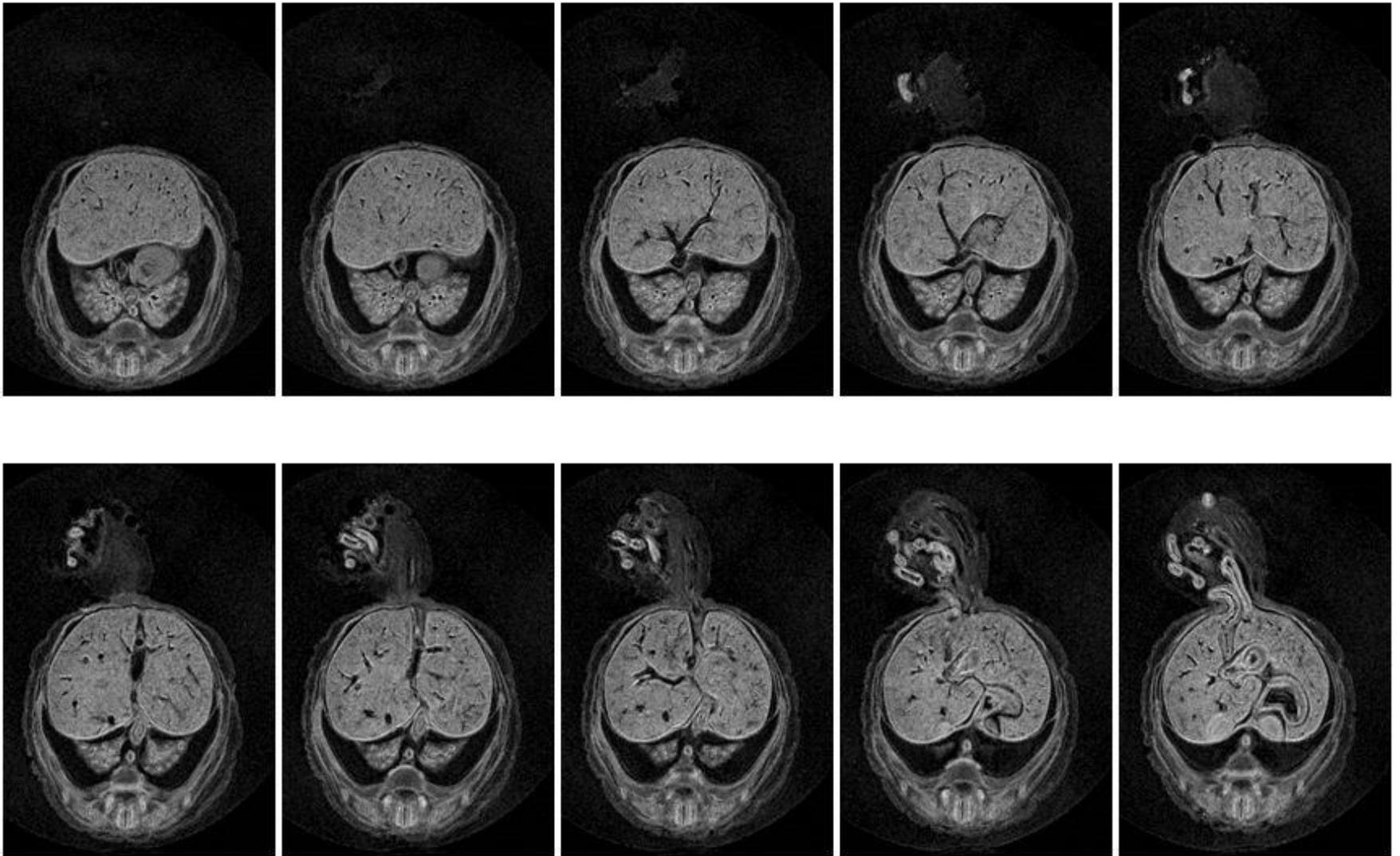
Head sections of CS22

9.4Tにおけるヒト胚子のMR microscopy (12)



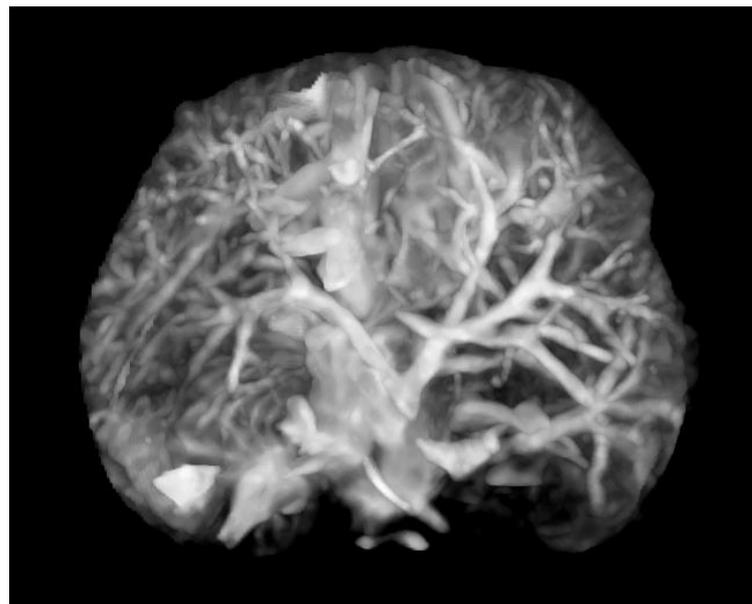
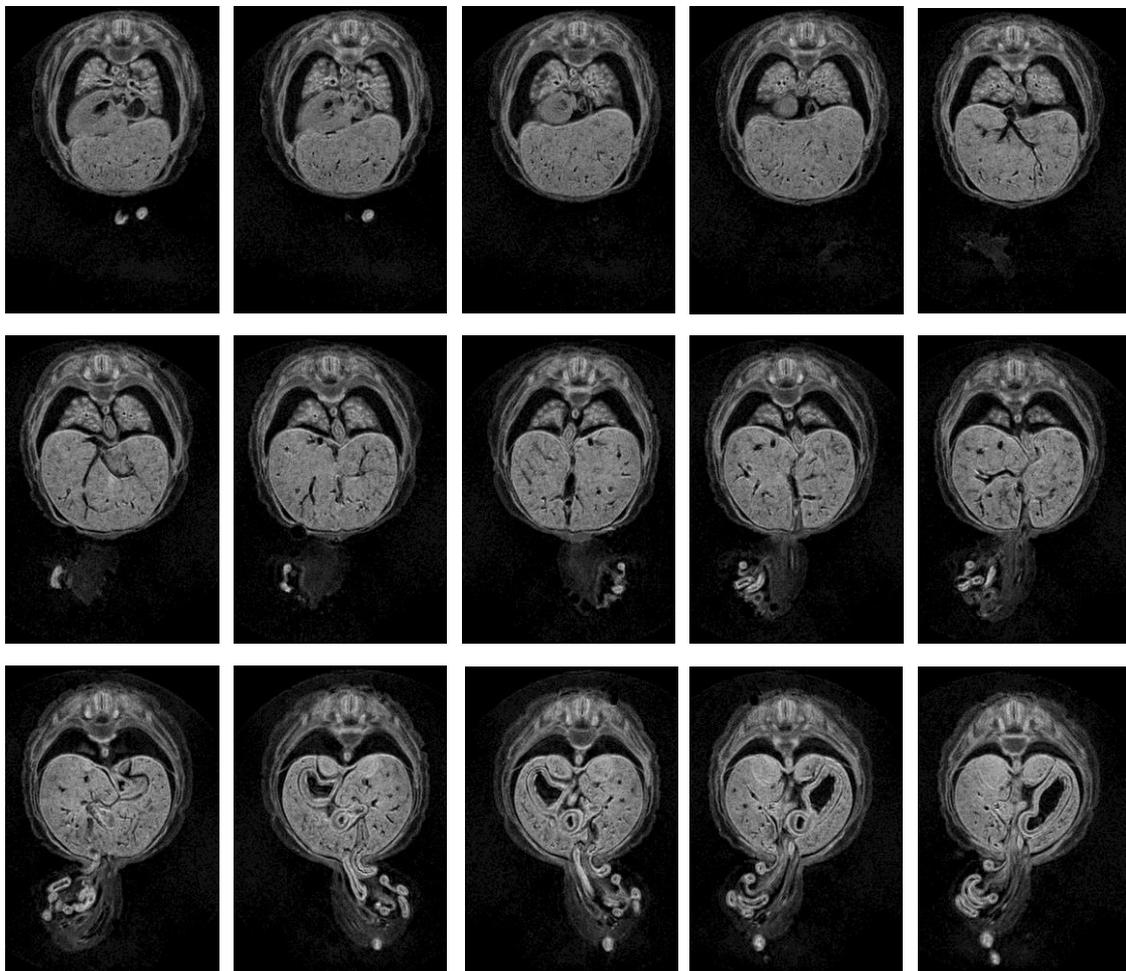
Body sections of CS22

9.4Tにおけるヒト胚子のMR microscopy (13)



Body sections of CS22

9.4Tにおけるヒト胚子のMR microscopy (14)



肝臓の血管系の可視化(MIP)

肝臓の部位の断層

今後の方向

1. $256 \times 256 \times 512$ 画素による1,200体の胚子標本の撮像（技術はほぼ開発済み：2年で撮像）

2. さらなる高分解能撮像手法の開発

$256 \times 256 \times 512 \rightarrow 512 \times 512 \times 1024$

SNRは8倍必要． 静磁場の増強

(9.4T \rightarrow 18.8T) で約3倍． 残りの2倍を工夫？

512×512×1024画素の高分解能撮像（1）

2005年以降の新しい技術

1. デジタルトランシーバー
2. 64bit Windows
3. Compressed Sensing（データの効果的間引き）

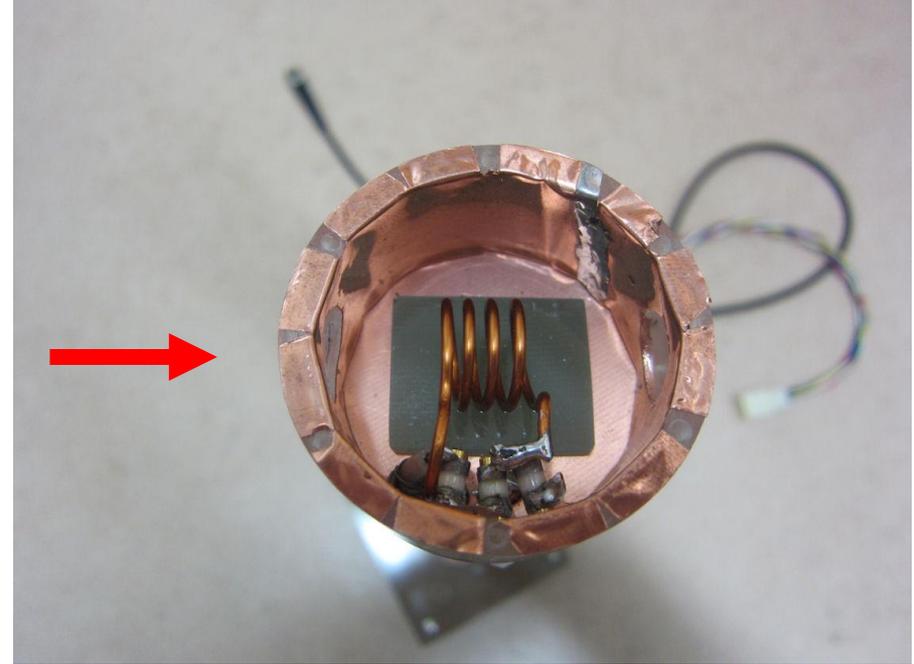


アナログトランシーバー



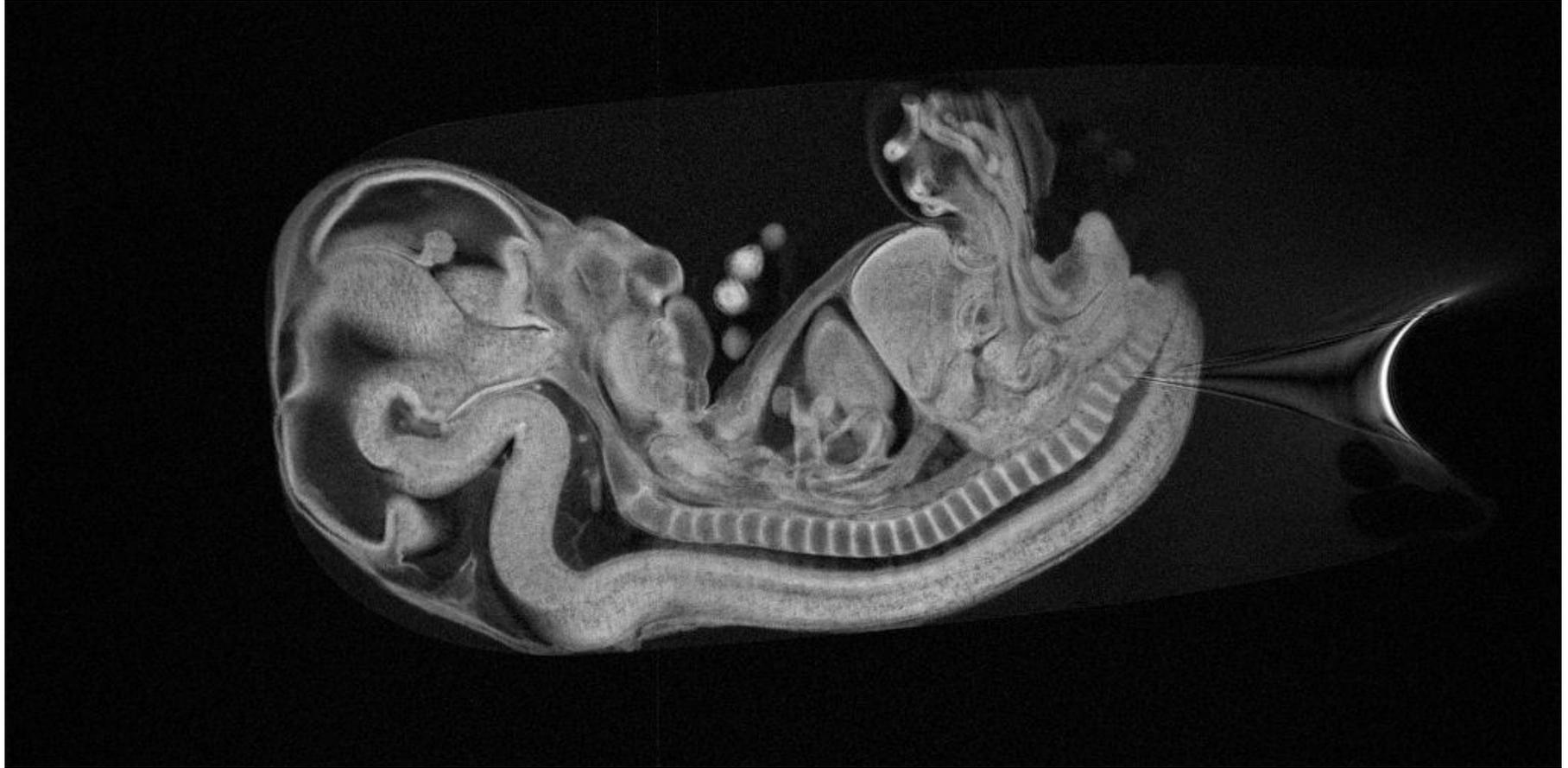
デジタルトランシーバー

512×512×1024画素の高分解能撮像 (2)



ソレノイドコイルを使用することによりSNRを3倍とする

512 × 512 × 1024画素の高分解能撮像 (3)



TR=200ms, TE=6ms, gradient echo sequence at 4.74T

Matrix : 512 × 512 × 1024, Voxel size : (30μm)³

512×512×1024画素の高分解能撮像 (4)



左

$128 \times 128 \times 256$

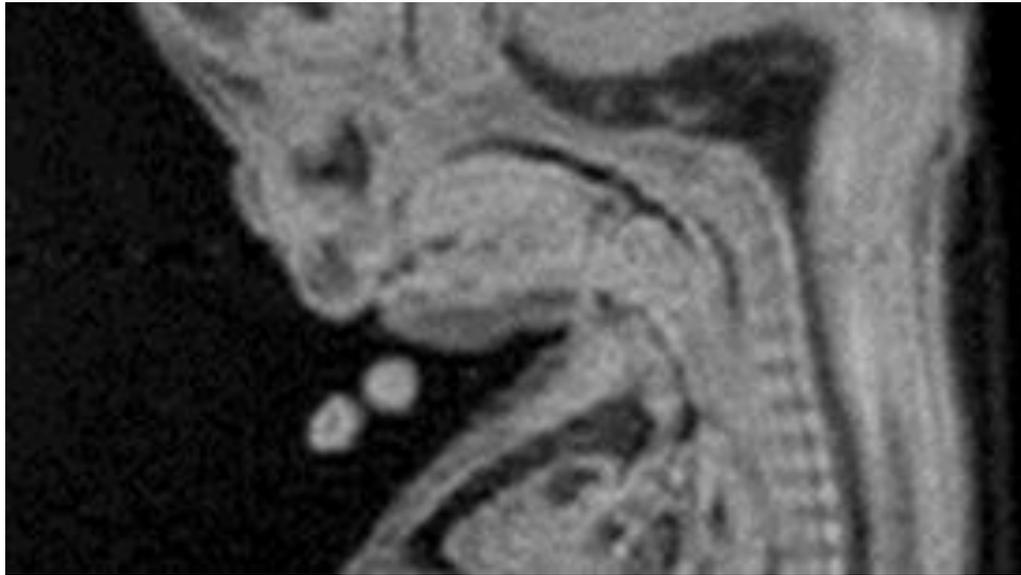
$(120\mu\text{m})^3$

右

$512 \times 512 \times 1024$

$(30\mu\text{m})^3$

512 × 512 × 1024画素の高分解能撮像 (5)

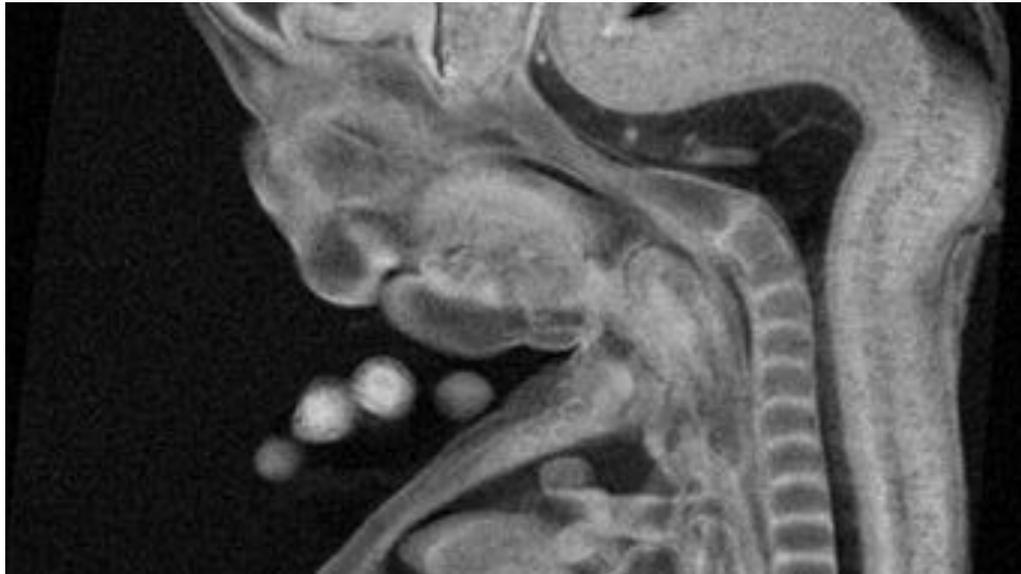


上

128 × 128 × 256

(120 μ m)³

2003年撮像



下

512 × 512 × 1024

(30 μ m)³

2013年撮像

512×512×1024画素の高分解能撮像（6）

このアプローチの問題点：

試料管を短くカットして詰め替えなければならず、
大量のサンプルに対して実施するのは非現実的

よって、高磁場縦型超伝導磁石（18.8T/54m）、もしくは、横型超伝導磁石（7T/400mm）を用いたMR microscopeの開発が有望

むすび

1. 筑波大学MRラボにおける京大の胚子標本のMR microscopy撮像の歴史をレビューした.
2. これまで、 $128 \times 128 \times 256$ 画素での1,200体の撮像は終了しており、解析研究に使用されている.
3. $256 \times 256 \times 512$ 画素の撮像技術は完成しており、今後1,200体の撮像を目指したい.
4. $512 \times 512 \times 1024$ 画素の撮像技術の目処は立っているが、大量撮像のためには、新規システムの開発が不可欠である.

共同研究者

京都大学

塩田浩平先生， 山田重人先生， 上部千賀子先生

筑波大学

拝師智之博士（MRTechnology）

松田善正博士（日立メディコ）

宇津澤慎博士（Schlumberger（米））

大竹陽介氏（日立中央研究所， 博士課程在学中）

半田晋也博士（Quality Electrodynamics（米））

小野真也氏（富士通エフ・アイ・ピー）

大矢和輝氏（NTT西日本）

Thank you for attention!

