



Mild cognitive impairment (MCI : 軽度認知障害)

## MCIの病理\*

### —初期Alzheimer病との異同を中心に—

● 村山繁雄\*\* / 齊藤祐子\*\*

**Key Words** : brain bank, Alzheimer disease, Parkinson disease, Lewy body dementia, AGD, NFTD

#### はじめに

軽度認知障害(mild cognitive impairment : MCI)は、もともとは認知症には至らない認知機能障害として定義されたが、Alzheimer病(AD)に進展する症例の予備群として、介入による進行予防が重要であるという概念をMayo ClinicのPetersenらが呈示し、折しも中枢性抗コリンエステラーゼ剤のADに対する治療有効性のエビデンスと定期的に一致し、脚光を浴びることとなった。しかし、あくまでメモリークリニックの領域より提出された結果、背景病理や伸展に関する配慮がない状況で、ひたすら疾患概念の拡大の一途をたどっており、混乱が生じている。

われわれは、2003年から2005年の厚生労働省長寿科学総合研究事業の「軽度認知障害の前方視的・後方視的研究」、2007年から2009年の、同「軽度認知障害の、推定背景病理に基づく、最適認知症進展予防法の開発」に基づき、後方視的神経病理学的検討と、前方視的臨床縦断研究を組み合わせ、病態・病理の解明の試みを継続してい

る。

在宅高齢者連続開頭剖検例よりなる高齢者ブレインバンク(BBAR)を用いた後方視的研究により、MCI期をclinical dementia rating (CDR)0.5と定義し、死亡時CDR 0.5例の病理変化を検討したところ、最近、登録例中CDR 0.5は10%程度で、その中にはAD初期(eAD)、Lewy小体病(LBD)、嗜銀顆粒性疾患(AGD)、神経原線維変化優位型疾患(NFTD)がほぼ同数含まれる結果であった。その他少数ではあるが、進行性核上性麻痺(PSP)、合併病理としてeAD+AGD、AGD+NFTD、AD+LBD、LBD+筋萎縮性側索硬化症(ALS)、AGD+LBDが含まれた。血管障害については、厳密には判断が難しいが、変性型群のほぼ半数で、かつ変性型変化との合併(混合型)も認められた。メモリークリニックでなく一般高齢者コホートで、認知症に至らないが認知障害をもつ状態で亡くなった症例を抽出すると、多くの疾患が含まれることは十分予想される。

上記、後方視的神経病理研究を元に、メモリークリニック初診者に病歴聴取、精神・神経所見、Mini Mental State Examination (MMSE)と改訂長谷川式簡易知能評価スケール(HDSR)、CTを一次スクリーニングとし、認知症の鑑別が必要と考えられる症例に、認知症パス入院(表1)と

\* Neuropathology of mild cognitive impairment (MCI).

\*\* Shigeo MURAYAMA, M.D., Ph.D.: 東京都老人総合研究所高齢者ブレインバンク研究部(〒173-0015 東京都板橋区栄町35-2); Department of Neuropathology, Tokyo Metropolitan Institute of Gerontology, Tokyo 173-0015, Japan.

\*\*\* Yuko SAITO, M.D., Ph.D.: 東京都老人医療センター剖検病理科; Department of Pathology, Tokyo Metropolitan Geriatric Hospital, Tokyo, Japan.

表 1 認知症パス(入院 1 泊 2 日)

- ・一次スクリーニング  
インタビュー, 神経所見, CT, MMSE/HDSR
- ・二次スクリーニング  
RBMT/FAB/GDS, 髄液タウ・リン酸化タウ・アミロイド $\beta$ , apo E, MRI  
VSRAD, SPECT eZis 3.0 SVA, DLB疑いは, 髄液5HIAA, HVAとMIBG  
心筋シンチ
- ・三次スクリーニング  
PET(FDG/PIB, DLB疑いの時はCFT & raclopride)
- ・治療的介入と, 1年ごとのフォロー
- ・不慮の転帰をとった時, 高齢者ブレインバンク登録をできる限り試みる

して, Rivermead行動記憶検査(RBMT), Frontal Assessment Battery (FAB), Geriatric Depression Scale (GDS), MRI (VSRAD), 脳血流シンチ統計画像 (ECD- SPECT, eZis 3.0 SVA), 髄液バイオマーカー(タウ: tau, リン酸化タウ: ptau, アミロイド $\beta$ 蛋白: A $\beta$ , 5HIAA, HVA測定), アポE遺伝子多型を二次スクリーニングとして試行した。DLBが疑われる場合はMIBG心筋シンチを追加した。これらをすべてクリアした症例には, FDG (fluor-deoxy glucose) PETを施行した。また, ADか非ADの鑑別が必要と考えられる症例およびMCI例にはPIB (Pittsburg Compound B: 脳アミロイドプローブ)PETを施行した。また, LBDが疑われる症例にはドーパミンPET ( $^{11}\text{C}$ -CFT,  $^{11}\text{C}$ - Raclopride)を試行した。これらの検査結果をもとに背景病理を推定した。そして, 変性型認知症早期疑い例には, 中枢性抗コリンエステラーゼ阻害剤に記憶のリハビリを併用し, 早期血管障害性認知症疑い例には, 危険因子の厳密なコントロールを行うことを開始した。

さらに, メモリークリニックのみではLBDが欠落することが指摘されているので, 欧米では movement disorder clinic初診者に該当する, 当施設神経内科外来Parkinson病(PD)および関連疾患初診者に, 4泊5日のPDクリニカルパスにおいて, もの忘れ外来と同様の髄液バイオマーカーと認知機能検査, MRI (VSRAD), SPECT (eZis 3.0 SVA)検査を含める検討を開始した(表 2)。

現在, 症例を蓄積中であるが, ADの占める割合は, 欧米でいわれているようにMCIのほぼ100%になることはない。とくにPIB陰性の症例が一定数含まれており, これらはわれわれが高齢者タウオパチー(AGD, NFTD, 進行性核上性麻痺:

表 2 Parkinson病クリニカルパス(4泊5日)

- ・神経所見(UPDRS)(最終日回診で筆頭著者が確認)
- ・認知機能: MMSE, HDS-R, RBMT, FAB, GDS
- ・血液バイオマーカー: ホモシステイン, ビタミンB<sub>1</sub>, ビタミンB<sub>6</sub>, 葉酸, ビタミンB<sub>12</sub>
- ・髄液バイオマーカー: 5HIAA, HVA, タウ, リン酸化タウ, アミロイド $\beta$ (A $\beta$ )
- ・リハビリ科診察
- ・MRI: VBMによる中脳被蓋, VSRADでの嗅内野計測
- ・脳血流SPECT (ECD SPECT eZis 3.0 SVA)
- ・Tilt test
- ・MIBG心筋シンチ
- ・上記すべての検査結果を参考にFDG-PET
- ・必要に応じdopamine PET
- ・A $\beta$ の沈着が問題ならPIB PET

PSP)に該当すると考えられる。同じくPIBを行っている大阪市立大学や放射線医学総合研究所からも, PIB陰性例の存在が報告されている。

今回, 背景病理については, Neuropathology誌に報告<sup>1)</sup>したので, それを中心に述べ, 臨床研究については現在までの知見を紹介することにする。

## 方 法

### 1. 前 提

剖検時文書同意の下, 東京都老人医療センター連続開頭剖検例を, 東京都老人総合研究所神経病理担当部門が解析・蓄積してきた資源を元に構築した高齢者ブレインバンク登録例を対象とした。神経病理学的検討とは独立し, 病歴を後方視的に検討し, 軽度認知障害に該当する症例を抽出, その病理学的変化を参照する形をとった。

また前述のように, 東京都老人医療センターもの忘れ外来で, 記憶障害型MCI(aMCI)にあた

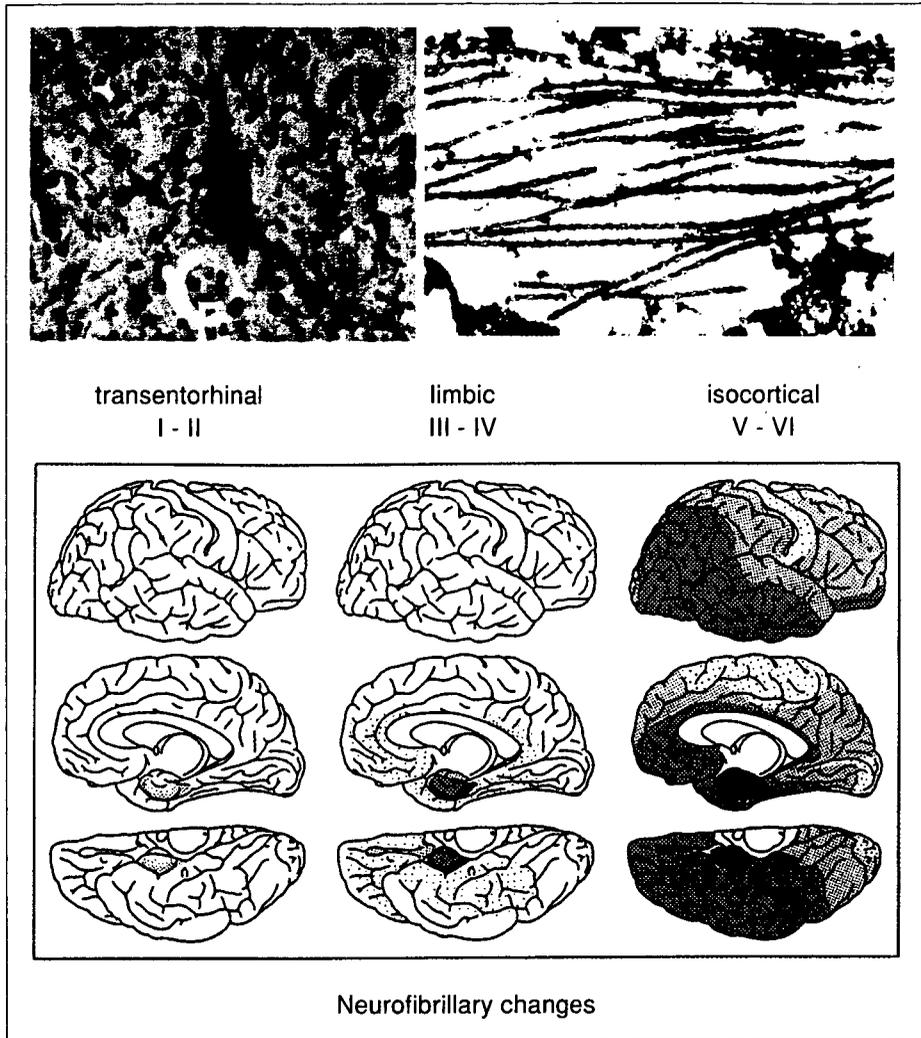


図1 神経原線維変化Braakステージの分類

上左：抗リン酸化タウ抗体免疫染色(AT 8)でみた神経原線維変化. 上右：神経原線維変化の構成成分であるpaired helical filamentの電顕像. Alzheimer型神経原線維変化であるかどうかの最終判断には必要である. 下：Braakのステージ分類(文献<sup>1)</sup>より引用). 嗅内野(transentorhinal)ステージから, 辺縁系(limbic), 新皮質(isocortical)ステージに進展していく. 嗅内野ステージでは知的に正常, 辺縁系ステージでは軽度認知障害(MCI), 新皮質ステージで認知症にほぼ相応するとされた. しかし, メルボルンブレインバンクのデータでは, 高齢者ではステージIII以上でも認知症をきたす症例が多いことが報告されている. 高齢ブレインバンクでは, ステージIVで区切ると, Alzheimer病診断の特異度・感度ともに高くなることより, stage IV以上をAD診断の病理学的面よりは採用している. ただし, MCIの場合はIII以上を採用している.

る症例を操作的に分離し, 健康保険適応の検査に髄液バイオマーカーを組み合わせることで, どの程度背景病理を推定可能であるかを試みた. さらに, FDG, 症例によりPIB, CFT, raclopride PETを追加することで背景病理をさらに細かく推定することを試みた. また, LBDを見逃さないため, PDおよび関連疾患のパスにも, 同様の神経心理検査, MRI, SPECTを加え, 同様にPETも施行し徹底を図った. 以下に方法論を詳述す

る.

## 2. 後方視的病理研究

剖検例の臨床症状を, 生前MMSEとIADL (instrumental ADL)値を含む病歴・看護記録を参考に, 神経内科専門医二人が独立して, CDRを算出した. この二つが一致する場合は採用, 不一致の場合は主治医, 次いで主たる介護者にインタビューし決定した. 当施設は地域在宅医療を担当しているため, 主たる介護者も加療され

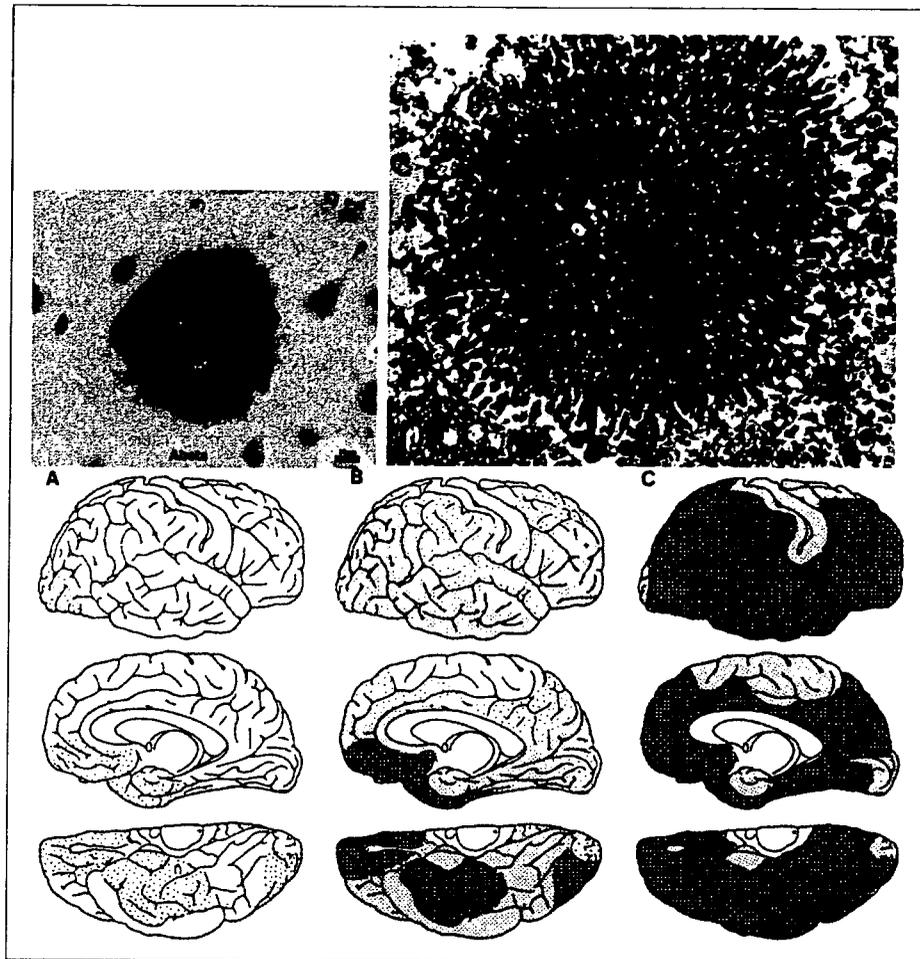


図2 老人斑のBraak(1991)分類

もっとも汎用されている consortium to establish registry for Alzheimer disease (CERAD)のステージ分類は, neuritic plaqueと呼ばれる, むしろtauやPHFと関連する構造を問題にしているため, アミロイド $\beta$ 蛋白( $A\beta$ )の蓄積ステージ分類は, Braakのものしかない. 上左: 老人斑の抗 $A\beta$ 抗体免疫染色像. 上右: 老人斑のコアの電顕像. 細胞外にアミロイド線維が密に配列し蓄積している像をとる. 下: ステージ分類. A: 連合野新皮質のみ, B: 海馬内に進展, C: 一次野にも進展. 老人斑のステージ分類と認知障害は相関しないとするデータが一般的である. しかし, ステージCにならないと神経原線維変化ステージが新皮質ステージまずならないという, amyloid cascading hypothesisを指示する所見が得られる.

ている場合が多く, アプローチが容易である特徴を有する.

神経病理学的には, 高感度鍍銀染色(Gallyas-Braak, 改良メセナミン銀), 各種免疫染色( $A\beta$ , ptau, リン酸化 $\alpha$ シヌクレイン: psyn, ユビキチン抗体)を, Ventana NX20自動免疫染色装置を適用, 神経原線維変化(NFT)(図1), 老人斑(SP)(図2)についてはBraak分類, LB(図3), 嗜銀顆粒(AG)(図4), アミロイドアンギオパチー(AA), グリア原線維変化(GT)については, われわれのステージ分類([www.mci.gr.jp/BrainBank](http://www.mci.gr.jp/BrainBank))を用い半定量化した. 臨床症状, 経時的画像変化, 病

理所見はBBAR内ワークステーション上で相互に参照可能な状態を構築しており, これを活用した.

これらの基礎データを背景に, CDR 0.5例の神経病理所見を抽出した. 本研究では, CDR 0.5の判定が全身状態の認知機能への影響が少ないと判断される例に限定した.

さらに, 神経病理所見に関して, 血管障害に関しては, Binswanger型白質病変, 基底核・大脳白質を含む多発性ラクナ, 戦略破壊型と呼ばれる優位半球海馬, 視床, 尾状核を巻き込む梗塞例を有意所見とした. 変性型認知症病理につ

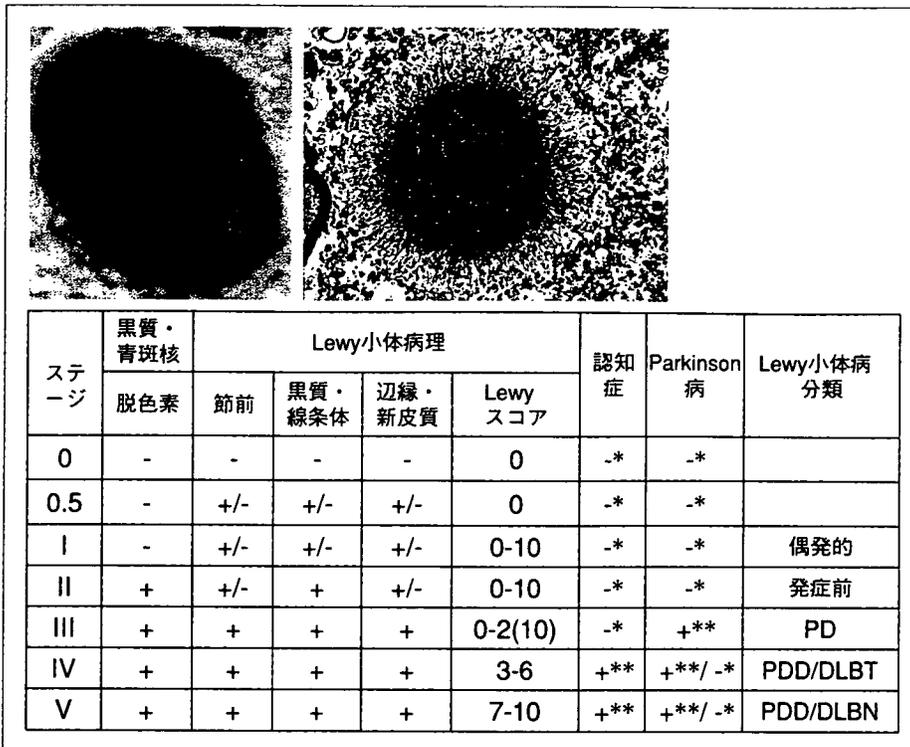


図3 高齢者ブレインバンクLewy小体ステージ分類

上左：抗リン酸化αシヌクレイン抗体免疫染色で認識されたLewy小体。細胞体及び漫性に陽性を呈し、Lewy小体の辺縁に強い凝集が認められる。上右：電顕像。コアの部分は無構造で、辺縁に線維構造が放射状に着き出しているのがわかる。下：高齢者ブレインバンクLewy小体ステージ分類。節前：交感神経節前線維。Lewyスコア：第1回Lewy小体認知症コンセンサスガイドライン(2006)に従う。\*Lewy小体関連病理単独で説明できない。\*\*Lewy小体病理単独でも説明可能である。PD：認知症のないParkinson病。PDD：認知症を伴うParkinson病。DLB：Lewy小体型認知症。PDDとDLBは、いわゆる「1年ルール」、すなわち認知症で先行するか、Parkinson病と認知症の発症期間が1年以内のものをDLBとするという定義に基づく。T,N：小阪憲司博士の提唱した脳幹を上向し(脳幹型)、辺縁系、大脳基底部を経て(移行型：T)、新皮質に至る(N)ステージ分類を採用している。ステージI,IIは、incidental Lewy body diseaseと一般に総称されるが、われわれは、黒質・青斑核の脱色素の有無でIとIIを区別している。認知症・Parkinson症状は、純粋例で臨床症状を呈した症例の病理所見を満たす場合、陽性と評価している。MCIとしては、ステージII,IIIレベルが問題となる。

いて、ADは、BraakのNFT stage III以上でSP stage B以上、LBDはBBAR stage 2以上、AGDはBBAR stage 2以上を有意とし、重複病変が存在する時にはどちらが主であるかの重みづけの評価は行わず、併記した。

3. 前方視的臨床研究

もの忘れ外来受診、精査対象者に介護者から物忘れが確認できる症例に加え、本人が物忘れによる障害のエビデンスを示せるものを含めた。これは、後方視的病理検討より後者にAGDが含まれていたからである。頭部CT scanは、既往フィルム持参者以外は診察前に試行し、硬膜外血腫

を含む外科的処置の対象となる疾患を除外した。次いで神経学的所見、神経心理検査として、MMSE(24/30がカットオフ)、HDSR(21/30がカットオフ)を施行し、ともにカットオフ値以上の症例を軽度認知障害の可能性、カットオフ未満は認知症と分類した。とくに三語再生がMMSE1/3以下、HDSR2/6以下の症例はこの時点で記憶障害型MCI(aMCI)に分類した。これは、池田学らの中山町スタディーで、このような症例のAD移行率が高いことが明らかにされているからである。

一次スクリーニングで認知症あるいはMCIの

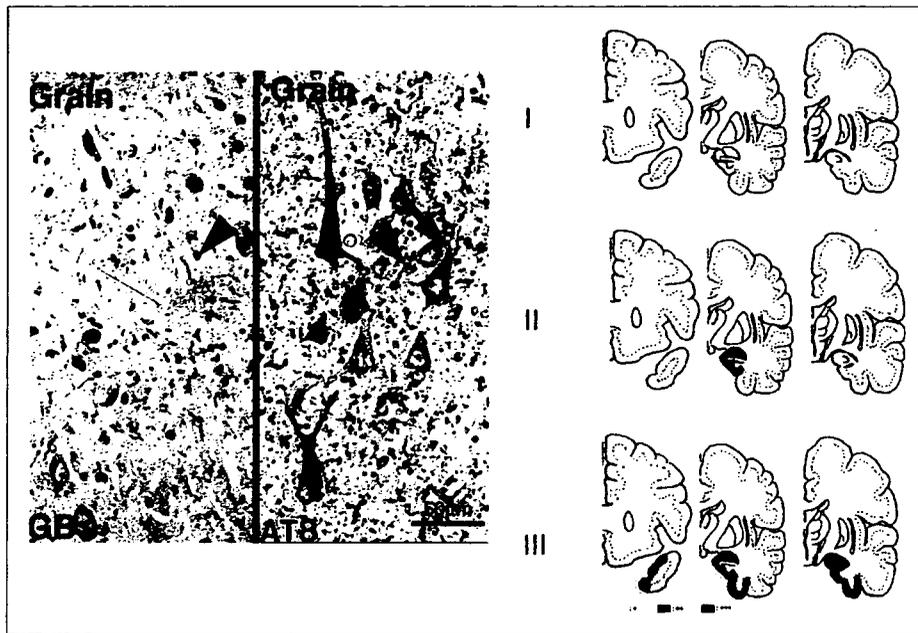


図4 嗜銀顆粒の高齢者ブレインバンクステージ分類

左：Gallyas-Braak鍍銀染色での嗜銀顆粒。Braak指摘後も、ごみとして見逃されていた。中央：抗リン酸化タウ抗体(AT8)免疫染色で、Tonayにより陽性であることが証明され、世界市民権を得た。右：高齢者ブレインバンクステージの分類。迂回回より始まり(ステージI), 側頭葉内側面を前方・後方に広がり(ステージII), 前頭葉に及ぶ(ステージIII)。ステージII以上で軽度認知障害(MCI)をきたす可能性が出、ステージIII以上では、認知障害をきたす率がほぼ100%になる。ただ、神経原線維変化と異なり、MCIレベルにとどまる症例が多い点の特徴である。

可能性のある症例に、1泊2日のクリニカルパス入院で二次スクリーニングを行った。記憶検査としてRBMT,その他にFAB,SDSに、MRI(VSRAD),脳血流SPECT(ECD eZis 3.0),髄液バイオマーカー(tau, ptau, Aβ, 5HIAA, HVA)を行った。MMSE,HDSRカットオフ以上で、RBMTのcut off値(16/24)未満の症例を操作的にaMCIに分類し、MRI(VSRAD),SPECT(eZis)との関係のみた。MRIでは、中脳被蓋面積をスクリーニングすることで、正常/LBD/PSP,皮質基底核変性症(CBD)の鑑別が可能であるので、この点にも注意した。LB型認知症(DLB)が疑われる症例にはMIBG心筋シンチを施行した。これら全検査による評価が終わった症例に三次スクリーニングとしてFDG-PETを行った。aMCIならびに高齢者タウオパチー(嗜銀顆粒性認知症・神経原線維変化優位型認知症)ドーパミン合成能(CFT)・結合能(raclopride)PETを施行し、アミロイドプローブ(Pittsburgh Compound B: PIB)-PETをPDD/DLB疑い例には施行した(表1)。

これとは別に、PDパスにおいても、認知症の

鑑別を行った。そのプロトコルを表2に示した。これは、PDの多くがMCIの診断基準を満たすことは既に国際的に周知となっている。また、LBDの場合、PD症状が初発となることがあるからである。

以上の結果を元に、eAD,Lewy小体型認知症極早期(eDLB),AGD,NFTD,血管性認知症極早期(eVD)例を分離することを試みた。

治療としては、変性型例ならびにPapetz回路の障害を伴うeVD例にはコリンエステラーゼ阻害剤を投与し、反応性をみた。高齢者タウオパチー(AGDとNFTD)には薬物療法に加え、芸術を基本とするリハビリテーションを指導した。eDLBには転倒指導を行い、eVDには危険因子の厳密なコントロールを行った。

非侵襲検査は半年置き、侵襲検査は1年ごとを目安とし、認知症進展予防効果を検討することを開始した。また、追跡患者が不慮の転帰をとった時、できる限り剖検をとり診断を確認することを行うこととした。

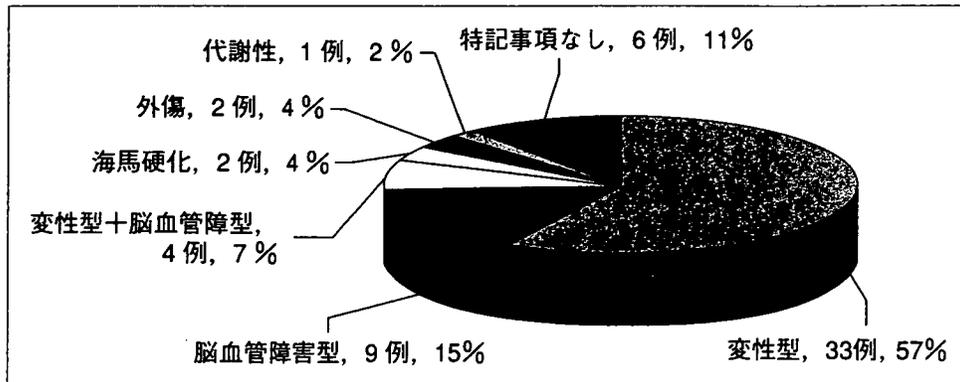


図5 CDR 0.5例の内訳

合併例を重複して数えると、変性型64%、脳血管障害型22%となる。海馬硬化は、Zommer sectorという、低酸素・虚血病変にもっとも弱い部位の細胞脱落を認める症例群を指し、てんかんの病理でいわれている海馬硬化とは必ずしも一致しない。主に米国で、認知症の原因疾患の一つにあげられているが、本邦では二次性変化として無視されている。われわれは医原性の可能性を考えるが、重症状態よりの期間後、損傷を受けて生存することがありうる現状からは分離・記載すべきと考えている。特記事項がない症例についてはうつ状態を反映していたのか、全身状態を考慮しても依然、なんらかの内科的疾患が影響していたのかは不明であるが、MCIの中で、おそらく回復しうるグループに属することが予測される。

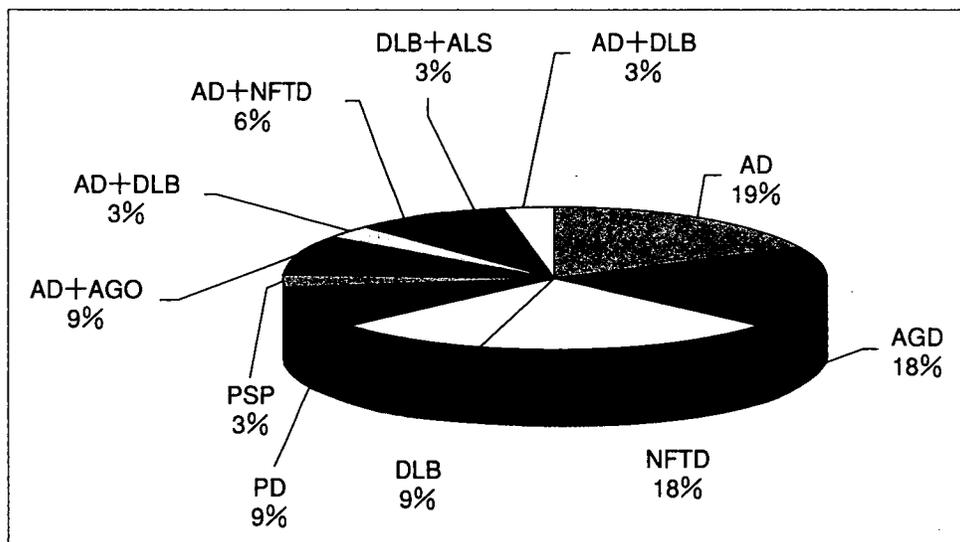


図6 CDR 0.5群の変性型の内訳

略語および診断基準：AD：Alzheimer病病理(Braak NFT Stage III, SP Stage B以上), AGD：嗜銀顆粒性疾患(高齢者ブレインバンク=BBAR, AGDステージ2以上), NFTD：神経原線維変化優位型疾患(Braak NFT Stage III以上, SP stage A以下), DLB(BBARステージ2以上), PSP：進行性核上性麻痺(NINDS診断基準の病理基準のみ採用), ALS：筋萎縮性側索硬化症。以上の観点で捉え、重複例をそのままカウントすると、AD：31%, AGD：36%, NFTD：25%, DLB：18%となり、高齢者タウオパチーが57%を占めることになる。

## 結 果

### 1. 病理研究

高齢者ブレインバンク1995年からのDNA保存最近蓄積例の解析からは、CDR 0.5のMCI該当症

例の背景病理は、高齢者タウオパチー(DG, NFTD, PSP)14例、eVD 9例、eDLB 9例、eAD 8例(含重複例)であり、高齢者タウオパチーが多い結果となった(図5, 6)。一方、CDR 1以上の認知症剖検例では、ADが1/4を占め、次いでVD、

表 3 記憶障害型軽度認知障害中Alzheimer病疑い例の一覧

#	Age	G	MMS	3	SP	tau	Aβ	Sever	Exte	Rati	VSRAD
1	72	F	24	2	14	513.7	511.1	1.4	23.94	3.98	2.67
2	76	F	24	2	5	483.5	88.9	1.04	8.37	1.81	<1.3
3	76	F	24	2	14	614.0	524.8	1.17	11.36	1.53	1.87
4	79	F	26	1	2	468.2	325.6	0.91	3.32	0.31	3.2
5	73	M	27	1	18	530.1	209.3	0.97	5.68	1.27	2.08
6	64	M	27	0	7	574	311	2.32	66.01	5.6	<1.3
7	78	F	28	1	8	392.9	1155.4	0.83	3.16	0.56	5.15
8	77	F	29	2	14	332.4	288.9	1.71	30	4.12	pend.
9	73	F	29	3	21	574.2	222.2	0.77	1.14	0.18	2.18
10	86	M	30	3	15	468.1	903.6	1.13	9.34	2.74	nomal
11	77	F	25	0	12	27.9	395.3	1.7	9.8	1.59	1.06
12	77	F	25	2	12	418.5	46.5	1.12	9.34	1.17	1.98

G : 性, 3 : 3 語再生, SP : RBMTスタンダードプロフィール点, tau, Aβ : 髄液 (pg/ml), Sever, Exte, Rati : eZis 3.0 SVA値, VSRAD : Z score.

AGD, DLB, NFTDの順で、とくに物忘れ外来受診者に限ると、AD次いでDLBを併せると2/3を占める結果となった点と大きく解離していた。

## 2. 臨床研究

2006年10月から上記プロトコルを開始し、2007年9月までに二次スクリーニングが完了した89例を解析した。MMSE 24以上で、3語再生が1点以下、RBMTスタンダードプロフィール(SP)15点以下をMCIとして操作的に分類すると、35例が抽出された。これらのうち、tau, Aβ, eZis 3.0 SVAの3パラメーター、MRI VSRADのcut offを1.3以上として、これらのいずれか2個以上のモダリティーで異常が検出されるものをADとして抽出したところ、12例が該当する結果であった。これらの症例の一覧を表3に示す。現在これらの症例に、FDG, PIB PETを施行中であるが、PIB陰性例が既に検出されている。とくにAβの低値が認められない群に、陰性率が高い傾向を示す点で、髄液バイオマーカーは有用である可能性を示唆している。

## 考 察

われわれの後方視的研究からは、CDR 0.5例の場合高齢者タウオパチーが多く、CDR 1以上の場合AD/DLBが多くなる傾向はMayo Clinicからの報告と一致している。この原因に関してPetersenらは、MCI期にブロックすればADにならないと主張しているが(JADNI日本総会、2007年2月、東京)、アミロイド仮説からは、年率5%でアミ

ロイドが急激にたまり、神経原線維変化が形成されADになることはありえない。あくまでも対象が違ふと考えた方が素直である。われわれは、高齢者タウオパチーは進行が遅くMCIにとどまる症例が多いのに対し、AD/DLBは進行が速いので認知症に早期に移行することが原因と考えている。また、物忘れ外来では、物忘れが主体で進行が速く、介護に問題を生じた群が優位となるのに対し、高齢者コホート全体では、進行の遅い高齢者タウオパチーや全身内科合併症を通常有するため生命予後が悪いeVDの頻度が相対的に高くなることは、十分予想される。また、運動障害が主訴であってもMCIの定義を満たす疾患の最右翼はPDである。欧米においては、movement disorder clinicでは認知機能が評価されず、memory clinicではfull neurological examinationがされない結果、とくにDLBにおいては全貌がいつまで経っても解明されない点が指摘されている。最近MCIについては、糖尿病、慢性呼吸不全などの原疾患の治療で軽快することが報告されており、神経内科外来だけでなく、高齢者医療全般における配慮が必要である事実が明らかとなりつつある。

特記すべき点として、高齢になればなるほど、変性型病理と血管障害の組み合わせのみでなく、変性型病理の中でも組み合わせが増加し、一つの病理だけで認知障害の原因を説明できない症例が増加していく点である。Frankfurtで高齢者脳を網羅的に検索しているBraakらも同様の結果

を報告している。この点は、診断においても治療においても、それぞれの要素を考慮した、多角的アプローチが重要であることを示している<sup>1)</sup>。

一方、もの忘れ外来を主体とした臨床研究ではADの相対的頻度が高いが、VSRADとeZis 3.0を組み合わせることで、髄液バイオマーカーに匹敵する結果が表面上は得られている。またこれらの症例は、臨床症状とCT scanのみを前提とする現行の治験ではすべてADに分類され、エントリー可能である。しかし、その背景病理は、FDG-PETとPIBを組み合わせて施行すると、現時点の途中経過のデータでも、必ずしも単純にはいかない結果を得ており、治験結果に影響を与えることが十分予想される。J-ADNIは、限られた症例に対する適応になるが、これらの問題点に一定の解決を提供するものと注目される。

PIBに関しても、現時点での剖検例は2例しかなく、amyloid angiopathyに関しては生検例が報告されているが、病理学的検証が依然として問題である。とくにSPが有意でNETを欠く、SP優

位老年性変化、米国でpathological agingと呼ばれるグループが、当然陽性となる。さらに、基底核の沈着が早期より強い点、とくにPS1やAPP変異をもつ症例では皮質より沈着が早く生じると報告されている点は、これまで知られている病理解析とはまったく異なっており、特異度・感度の問題について注意が必要である。

最後に、MCIの中でもっとも問題となるのはADであることは確かであるが、臨床症状、形態・機能画像、髄液をはじめとするバイオマーカーの総合的評価が重要であるのみでなく、糖尿病、高血圧、呼吸機能などの、全身内科的疾患が認知機能に与える影響にも十分な配慮が必要である点を強調して、結びとしたい。

## 文 献

- 1) Saito Y, Murayama S. Neuropathology of mild cognitive impairment. *Neuropathology* 2007 ; (in press).

\* \* \*

＜シンポジウム 7-4＞認知症「治療を展望した Alzheimer 病の早期診断—MCI から  
初期 Alzheimer 病へ」

高齢者ブレインバンクでの軽度認知障害 (MCI) ・  
早期アルツハイマー病 (AD)

村山 繁雄 齊藤 祐子

臨床神経学 第47巻 第11号 別刷

(2007年 11月 1日発行)

＜シンポジウム 7—4＞認知症「治療を展望した Alzheimer 病の早期診断—MCI から  
初期 Alzheimer 病へ」

高齢者ブレインバンクでの軽度認知障害 (MCI) ・  
早期アルツハイマー病 (AD)

村山 繁雄<sup>1)</sup> 齊藤 祐子<sup>2)</sup>

(臨床神経, 47 : 912—914, 2007)

Key words : 神経原線維変化, 老人斑, レビー小体, 嗜銀顆粒, 脳血管障害

緒 言

軽度認知障害(MCI)は認知症予備群として、認知症予防介入上もっとも高率が高い集団として脚光を浴びた。しかし、概念が拡大の一途をたどり、記憶障害型、非記憶障害型と、単一ドメイン、複数ドメインの組合せで、4つの亜型に現在分類されている。オリジナルな定義のMCIは記憶障害型(aMCI)であり、年率約10%でアルツハイマー病(AD)に移行するとされる。しかし、アミロイド仮説によれば、神経原線維変化に代表されるタウの沈着による認知障害発症のおよそ10年前に、アミロイドβ蛋白(Aβ)沈着ははじまっており、年率10%にADに移行するのではなく、早期ADをふくんでいて段階的に発症していくと考えるのが妥当である。

MCIに関する神経病理学的検討はきわめて少ない。Mayo Study<sup>1)</sup>によれば、ボランティア高齢者コホートの縦断研究で、MCIレベルで亡くなった症例の病理は、ADが相対的に少なく、嗜銀顆粒性認知症(AGD)、神経原線維変化優位型認知症(NFTD)などの、われわれが高齢者タウオパチーと呼ぶ症例が多いとされる。一方ものわすれ外来でMCIから認知症に進展した例ではADが圧倒的に多い<sup>2)</sup>。Petersenらはこのデータを根拠に、MCIでブロックすればAD発症を抑制できると主張している(第一回J-ADNI総会, 2007.3, 東京)。しかし、ものわすれ外来受診者と応募によるコホート研究では、対象が明らかにことなる。

高齢者ブレインバンクは、在宅高齢者支援総合救急病院の連続開頭剖検例を、剖検承諾の元、研究資源として蓄積していくシステムである(www.mci.gr.jp/BrainBank/)。この資源を網羅的に検索することで、MCI/早期AD(eAD)の病理像を明らかにすることを試みた。

対象・方法

DNA保存連続開頭剖検1,628例に、Gallyas-Braak 鍍銀染

色、メセナミン銀染色、Congo赤染色に加え、抗リン酸化タウ(AT8)、アミロイドβ(Aβ)蛋白(11-28)、リン酸化αシヌクレイン(ψsyn#64)<sup>3)</sup>、ユビキチン(Dako)抗体免疫染色を施した。これらの症例について、Braakらの神経原線維変化(NFT)ステージ(0-VI)、老人斑ステージ(0-C)<sup>4)</sup>、われわれの嗜銀顆粒ステージ(0-3)<sup>5)</sup>、レビー小体ステージ分類(0-5)<sup>3)6)</sup>を適用した。そのうち、最近の半脳保存545例については、筆頭著者をふくむ2人の神経内科専門医が病歴より判断したClinical Dementia Rating(CDR)を、第二著者が再検討するかたちで決定。CDR 0.5例を抽出した。

結 果

1,628例の男女比は889 : 739、平均年齢80.7 +/- 8.9歳。BraakのNFTとSPの基準で分類した結果をTable 1に示す。神経病理学的観点から、ADの病理診断基準としてもっとも緩い、メルボルンブレインバンクの病理診断基準、NFTステージIII以上と、ワシントン大学(セントルイス)の基準、老人斑ステージB以上を併せ適用したばあい、20.1%が対応することになる。われわれは、高齢者ブレインバンクの検討で、特異度・感度をもっとも高い、NFTステージIV以上、老人斑ステージC以上をADの基準としているが<sup>7)</sup>、これだと169例が該当、10.4%となる。なお、NFTがステージV以上の、新皮質ステージのばあい、2例を除きSPステージB以上であるのは、アミロイド仮説が新皮質においては成立することを示している。

545例の半脳凍結保存例について、男女比324 : 221、平均年齢80.7 +/- 8.8歳であった。厳密にCDRが決定できた486例中、CDR 0は201例、CDR 0.5が57例、CDR 1以上の認知症例が228例であった。CDR 0.5例の原因疾患としては、変性型57%、脳血管障害型15%、混合型7%に加え、海馬硬化4%、外傷4%、代謝性2%の他、特記すべき所見を持たない例が11%にみとめられた。変性型病理例の内訳をみると、重複病理を重ねて数えると、ADは31%で嗜銀顆粒疾患35%

<sup>1)</sup>東京都老人総合研究所 高齢者ブレインバンク [〒173-0015 東京都板橋区栄町 35—2]

<sup>2)</sup>東京都老人医療センター剖検病理科 [同上]

(受付日 : 2007年5月16日)

**Table 1** Alzheimer-type senile changes from the Genome Resource of the Brain Bank for Aging Research

Braak SP Stage	Braak NFT Stage								total
	0	I	II	III	IV	V	VI		
0	29	309	97	47	14	2	0	498	
A	13	282	82	53	15	0	0	445	
B	8	160	90	66	16	3	1	344	
C	3	48	48	73	58	81	30	341	
total	53	799	317	239	103	86	31	1,628	

NFT: neurofibrillary tangles; SP: senile plaques.

**Table 2** CDR 0.5 cases with pure Alzheimer pathology from the Half Brain Resource of the Brain Bank for Aging Research

Age	Ge	Staging of Senile Changes					ApoE
		BW	NFT	SP	LB	AG	
82	F	1,070	III	C	0	0	34
88	F	1,030	III	C	0	0	34
88	M	1,370	III	B	0	0	33
91	M	1,155	III	C	0	0	34
94	F	1,550	III	B	0	1	33
94	F	1,080	III	B	0	2	33

GE: gender; BW: brain weight; NFT: neurofibrillary tangles; SP: senile plaques; LB: Lewy body; AG: argyrophilic grains. apoE: apoE genotyping

より少なく、神経原線維変化優位型老年性変化 25%、レヴィー小体型 18% の順であった。一方、CDR 1 以上では、変性型 56%、血管障害型 28%、混合型 9.4% で、変性型の内訳は、AD 45%、レヴィー小体型認知症 (DLB) 26%、DG 18%、NFTD 10.8% という結果であった<sup>8)</sup>。CDR0.5 の症例中、厳密に AD 病理のみを示す例を抽出したところ 6 例が抽出された (Table 2)。男女比 2 : 4、平均年齢 89.5 歳、apoE e3/4 が 3 例、33 が 3 例という結果であった。

**考 察**

CDR 0.5 を MCI 該当例と考えたとき、その時点での死亡例の AD の比率は Mayo Study とほぼ一致する。また、認知症例の内訳は、国際的なコンセンサスにほぼ一致し、AD、次いで DLB の順である。われわれの臨床観察では、DG や NFTD の臨床経過は AD や DLB に加えて長いため、CDR 0.5 という部分で横断的に解析すると、相対的頻度が高くなるのが原因と考えられる。

一方、CDR 0.5 例で純粋 AD 病変の剖検例は、AD 初期の要件を満たしているが、われわれのものわすれ外来に 2006 年 10 月から 2007 年 2 月までに受診した症例の平均 76 歳より

明らかに高齢である。これは、先述の Mayo Study でも同様であり、対象がことなることが裏付けられた結果である。

高齢者連続剖検例の検索からは、病理診断基準より確実に AD と診断される例は 10% であり、認知症全体の 1/4 程度に過ぎない点には留意が必要である。ものわすれ外来は、AD を標的としているので確率はより高くなっても、それ以外の症例、合併例を多数ふくむことに十分留意する必要がある。

Aβ の PET は、AD の初期診断に有用とされ、脚光を浴びている。しかし、われわれの検討で、高齢者連続剖検例で、老人斑の Braak ステージ C の 341 例中、Stage IV 以上の確実な AD 病理を示す症例は半数に過ぎない。残りの半数は、アミロイド仮説にしたがえば、これから 10 年以内に AD を発症することになるわけで、Aβ クリアランス治療の対象となるわけだが、本当にアミロイド仮説が正しいかの証明は未だない。

今年度、米国 ADNI (Alzheimer Disease Neuroimage Initiative) に呼応するかたちで、J-ADNI という、MRI 形態画像を軸に、早期アルツハイマー病を治験の対象として確実に抽出するプロジェクトがスタートする。このような統合的アプローチが、MCI 期の AD の早期診断には、不可欠であることを強調し、結びにしたい。

**文 献**

- 1) Petersen RC, Parisi JE, Dickson DW, et al: Neuropathologic features of amnesic mild cognitive impairment. Arch Neurol 2006; 63: 665—672
- 2) Jicha GA, Parisi JE, Dickson DW, et al: Neuropathologic outcome of mild cognitive impairment following progression to clinical dementia. Arch Neurol 2006; 63: 674—681
- 3) Saito Y, Kawashima A, Ruberu NN, et al: Accumulation of phosphorylated alpha-synuclein in aging human brain. J Neuropathol Exp Neurol 2003; 62: 644—654
- 4) Braak H, Braak E: Neuropathological staging of Alzheimer-related changes. Acta Neuropathol 1991; 82: 239—259
- 5) Saito Y, Ruberu NN, Sawabe M, et al: Staging of argyrophilic grains: an age-associated tauopathy. J Neuropathol Exp Neurol 2004; 63: 911—918

- 6) Saito Y, Ruberu NN, Sawabe M, et al: Lewy body-related alpha-synucleinopathy in aging. *J Neuropathol Exp Neurol* 2004; 63: 742—749
- 7) Murayama S, Saito Y: Neuropathological diagnostic criteria for Alzheimer's disease. *Neuropathology* 2004; 24: 254—260
- 8) Saito Y, Murayama S: Neuropathology of mild cognitive impairment. *Neuropathology* 2007; 27: 578—584

### Abstract

#### Neuropathology of mild cognitive impairment alzheimer's disease

Shigeo Murayama<sup>1)</sup> and Yuko Saito<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup>Department of Neuropathology, Tokyo Metropolitan Institute of Geriatrics

<sup>2)</sup>Department of Pathology, Tokyo Metropolitan Geriatrics Hospital

The pathological study of mild cognitive impairment (MCI) was very few. Consecutive 1,628 autopsy cases from the Brain Bank for Aging Research (BBAR) with the mean age of 80.7 years were employed for this study. All the cases were studied with the BBAR protocol ([www.mci.gr.jp/BrainBank/](http://www.mci.gr.jp/BrainBank/)) and clasasified into Braak's seven neuforibrillary tangle (NFT) stages (0- VII) and four senile plaque (SP) stages (0- C). CDR from the most recent 545 cases were independently evaluated by three neurologists in two different occasions. Among the 1,628 cases, 10.1% fulfilled morphological requirement of Alzheimer disease, consisting of NFT stage equal to or more than IV and SP stage equal to or more than C. Postmortem assessment of CDR was possible for 486 cases amoug 545 cases with frozem half brain and 57 cases were classified into CDR 0.5. CDR 0.5 group was clinicopathologically classified into 33 cases with degenerative changes, nine cases with vascular changes and four cases with combined degenerative and vascular changes. Only 6 among the 57 cases presented pure AD pathology. These data indicate that the pathological background of MCI is not always Alzheimer disease and combined pathology with AD as well as non-AD pathology should be carefully ruled out. For this purpose, ADNI (Alzheimer Disease Neuroimage Initiative) approach could be useful to identify MCI stage of AD.

(*Clin Neurol*, 47: 912—914, 2007)

## Robust estimation of the arterial input function for Logan plots using an intersectional searching algorithm and clustering in positron emission tomography for neuroreceptor imaging

Mika Naganawa,<sup>a,b</sup> Yuichi Kimura,<sup>a,\*</sup> Junichi Yano,<sup>c</sup> Masahiro Mishina,<sup>d</sup> Masao Yanagisawa,<sup>c</sup> Kenji Ishii,<sup>e</sup> Keiichi Oda,<sup>e</sup> and Kiichi Ishiwata<sup>e</sup>

<sup>a</sup>Molecular Imaging Center, National Institute of Radiological Sciences, 4-9-1, Anagawa, Inage, Chiba-shi, Chiba, 263-8555, Japan

<sup>b</sup>Yale PET Center, School of Medicine, Yale University, New Haven, CT, USA

<sup>c</sup>Graduate School of Science and Engineering, Waseda University, Tokyo, Japan

<sup>d</sup>Neurological Institute, Nippon Medical School Chiba-Hokusoh Hospital, Chiba, Japan

<sup>e</sup>Positron Medical Center, Tokyo Metropolitan Institute of Gerontology, Tokyo, Japan

Received 9 June 2007; revised 22 October 2007; accepted 17 November 2007

Available online 4 December 2007

The Logan plot is a powerful algorithm used to generate binding-potential images from dynamic positron emission tomography (PET) images in neuroreceptor studies. However, it requires arterial blood sampling and metabolite correction to provide an input function, and clinically it is preferable that this need for arterial blood sampling be obviated. Estimation of the input function with metabolite correction using an intersectional searching algorithm (ISA) has been proposed. The ISA seeks the input function from the intersection between the planes spanned by measured radioactivity curves in tissue and their cumulative integrals in data space. However, the ISA is sensitive to noise included in measured curves, and it often fails to estimate the input function. In this paper, we propose a robust estimation of the cumulative integral of the plasma time–activity curve (pTAC) using ISA (robust EPISA) to overcome noise issues. The EPISA reduces noise in the measured PET data using averaging and clustering that gathers radioactivity curves with similar kinetic parameters. We confirmed that a little noise made the estimation of the input function extremely difficult in the simulation. The robust EPISA was validated by application to eight real dynamic [<sup>11</sup>C]TMSX PET data sets used to visualize adenosine A<sub>2A</sub> receptors and four real dynamic [<sup>11</sup>C]PIB PET data sets used to visualize amyloid-beta plaque. Peripherally, the latter showed faster metabolism than the former. The clustering operation improved the signal-to-noise ratio for the PET data sufficiently to estimate the input function, and the calculated neuroreceptor images had a quality equivalent to that using measured pTACs after metabolite correction. Our proposed method noninvasively yields an

alternative input function for Logan plots, allowing the Logan plot to be more useful in neuroreceptor studies.

© 2007 Elsevier Inc. All rights reserved.

**Keywords:** Positron emission tomography; Clustering; Intersectional searching algorithm; Arterial blood sampling; Logan plot

### Introduction

The Logan plot (Logan et al., 1990) is a graphical approach that estimates volume of distribution ( $V_T$ ) from the slope of a plot.  $V_T$  refers to the sum of the volume of distributions in the free, nonspecific binding, and specific binding compartments (Koeppel et al., 1991; Innis et al., 2007). Because this algorithm achieves more robust and faster estimation compared with nonlinear least squares methods (Carson, 2002), it is widely used for generating parametric images of  $V_T$  in neuroreceptor mapping. The Logan plot requires two measurable data sets: one is obtained by dynamic PET scanning, and the other is obtained by serial arterial blood sampling. If the serial arterial blood sampling can be omitted, the Logan plot becomes a more useful and easy-to-use approach. There are several approaches to avoiding invasive arterial blood sampling. Reference-region-based Logan plot (Logan et al., 1996) cancels out the term of the integral of the plasma time–activity curve (pTAC) using a tissue time–activity curve (tTAC) in reference regions where the target receptor is negligible. Although the term relating to the pTAC is expelled, the estimation equation still includes an efflux parameter,  $k_2$  [1/min]. It is sometimes difficult to know the value of  $k_2$  about reference regions in advance. If an equilibrium state is achieved between tTAC and pTAC, a priori knowledge of  $k_2$  is not necessary, but such a

\* Corresponding author.

E-mail address: ukimura@i.iece.org (Y. Kimura).

Available online on ScienceDirect (www.sciencedirect.com).

situation is not always realized. Another approach, which we have previously proposed, is based on a statistical model: independent component analysis (Naganawa et al., 2005a,b) and variational Bayes (Naganawa et al., 2007a). These methods assume a factor analysis model in which each voxel includes the radioactivities from tissue and blood, and estimates the time–activity curve (TAC) of whole blood radioactivity. The estimated blood curve was successfully used in Logan plots as an alternative to the measured pTAC. Note that the plasma-to-whole blood ratio should be constant in the time for which the Logan plot was applied (Naganawa et al., 2005b), and the estimated blood curve includes the radioactivity in metabolites.

In applying the Logan plot, an input blood function appears in a form of the cumulative integral of the pTAC (intpTAC). It is desirable for the intpTAC to be corrected metabolically. Wang et al. proposed an intersectional searching algorithm (ISA) to estimate the intpTAC directly (Wang et al., 2005). The metabolite-corrected intpTAC will be theoretically obtained using their algorithm. However, one aspect to be considered is noise in the measured tTACs. Because of its mathematical nature, the ISA is very sensitive to noise, and it is thus important to reduce the noise effectively in estimating intpTAC. We have developed methods to reduce the measurement noise using clustering based on each TAC's kinetics (Kimura et al., 1999, 2005a,b). It is expected that our clustering method will improve estimation using ISA. In this paper, we propose a method for robust extraction of the intpTAC using ISA and clustering (robust EPISA). We clarify the sensitivity of the ISA to the measurement noise using simulations, and we investigate the applicability of the robust EPISA by applying it to dynamic PET data using [7-methyl-<sup>11</sup>C]-(E)-8-(3,4,5-trimethoxystyryl)-1,3,7-trimethylxanthine ([<sup>11</sup>C]TMSX), which visualizes adenosine A<sub>2A</sub> receptors (Ishiwata et al., 2000, 2005; Mishina et al., 2007), and [N-methyl-<sup>11</sup>C]2-(4'-methylaminophenyl)-6-hydroxy-benzothiazole ([<sup>11</sup>C]PIB), which visualizes amyloid-beta plaque (Mathis et al., 2003; Klunk et al., 2004).

## Theory

### ISA

ISA (Wang et al., 2005) estimates the intpTAC using at least two tTACs with mutually different shapes and the corresponding cumulative integral of the tTACs (inttTAC) based on the equations for the Logan plot. This section provides an overview of the ISA and discusses its drawbacks. The equation for the Logan plot is described as

$$\frac{\int_0^T c^{(i)}(t)dt}{c^{(i)}(T)} = d^{(i)} \frac{\int_0^T c_p(t)dt}{c^{(i)}(T)} + b^{(i)}, \quad (1)$$

where  $c^{(i)}(t)$  is a tTAC at the  $i$ th voxel or region and  $c_p(t)$  is a pTAC.  $\int_0^T c^{(i)}(t)dt$  and  $\int_0^T c_p(t)dt$  are inttTAC at the  $i$ th voxel and intpTAC, respectively. For time  $T \geq t^*$ , the second term  $b^{(i)} (< 0)$  is a constant, and  $d^{(i)}$  corresponds to a  $V_T$ . Eq. (1) is arranged for  $\int_0^T c_p(t)dt$  as

$$\begin{aligned} \int_0^T c_p(t)dt &= \frac{-b^{(i)}}{d^{(i)}} c^{(i)}(T) + \frac{1}{d^{(i)}} \int_0^T c^{(i)}(t)dt \\ &= a_1^{(i)} c^{(i)}(T) + a_2^{(i)} \int_0^T c^{(i)}(t)dt. \end{aligned} \quad (2)$$

Because the values of  $d^{(i)}$  and  $b^{(i)}$  are constant, constant coefficients  $-b^{(i)}/d^{(i)}$  and  $1/d^{(i)}$  are denoted as  $a_1^{(i)}$  and  $a_2^{(i)}$ , respectively. Assuming that a tTAC is measured at times  $T = t_1, t_2, \dots, t_m$ , Eq. (2) can be written in terms of vectors as

$$c_{\text{pint}} = a_1^{(i)} c^{(i)} + a_2^{(i)} c_{\text{int}}^{(i)}, \quad (3)$$

where  $c_{\text{pint}}$ ,  $c^{(i)}$ , and  $c_{\text{int}}^{(i)}$  are column vectors of  $m$  elements corresponding to  $\int_0^T c_p(t)dt$ ,  $c^{(i)}(T)$ , and  $\int_0^T c^{(i)}(t)dt$ , respectively. Because  $c_{\text{pint}}$  is a common vector between the  $i$ th and  $j$ th voxels or regions ( $i \neq j$ ), the following equation is obtained.

$$a_1^{(i)} c^{(i)} + a_2^{(i)} c_{\text{int}}^{(i)} = a_1^{(j)} c^{(j)} + a_2^{(j)} c_{\text{int}}^{(j)} \quad (4)$$

Eq. (4) can be rewritten as

$$(c^{(i)} c_{\text{int}}^{(i)} c^{(j)} c_{\text{int}}^{(j)}) \begin{pmatrix} a_1^{(i)} \\ a_2^{(i)} \\ -a_1^{(j)} \\ -a_2^{(j)} \end{pmatrix} = C a = 0, \quad (5)$$

where  $C \in \mathcal{R}^{m \times 4}$  is a matrix ( $m > 4$ ) and  $a \in \mathcal{R}^{4 \times 1}$  is a column vector. Because the rank of the matrix  $C$  is at most three, the vector  $a$  can be estimated as a right singular vector corresponding to the smallest right singular value of  $C$ . Because any vector whose direction is equal to the right singular vector  $a$  satisfies Eq. (5), the length of  $a$  cannot be determined. Accordingly, the absolute value of the intpTAC cannot be determined. ISA infers only the shape of the intpTAC during the period in which the Logan plot can be applied. Although the absolute value of the  $V_T$  at each voxel cannot be determined using the Logan plot with ISA-estimated intpTAC, the ratio between them can be estimated. Note that the estimation of the intpTAC is limited to the range of time used for the Logan plot, because ISA is defined only on the frames where the Logan plot is applicable. Thus, ISA is useless in estimating the intpTAC at early times, and the estimated intpTAC cannot be used as an input function for the nonlinear least squares method.

Let us give a geometrical interpretation of ISA algorithm to allow intuitive understanding of the effect of noise. Eq. (3) means that the intpTAC vector  $c_{\text{pint}}$  is on the plane that is spanned by the tTAC vector  $c^{(i)}$  and the inttTAC vector  $c_{\text{int}}^{(i)}$ . Eq. (4) shows that  $c_{\text{pint}}$  is an intersectional vector of two planes by the  $i$  and  $j$ th voxel. Fig. 1 shows the geometric relationship between intpTAC, the tTACs and the inttTACs. In reality, there is a large amount of noise in the measured PET data. Therefore, the plane spanned by the tTAC vector and the inttTAC vector is deviated from the true plane. Accordingly, the measurement noise produces estimation error in the direction of the intersectional vector  $c_{\text{pint}}$ .

### Robust EPISA

The proposed method, robust EPISA, improves the signal-to-noise ratio of the measured PET data using averaging and clustering. The voxels that locate close to each other tend to have similar kinetics. In addition, there exist tTACs that have similar kinetics but locate at separate positions. In robust EPISA, first, a spatial averaging filter is applied. Clustering is subsequently performed to gather tTACs based on their kinetics, and tTACs classified into the same cluster are averaged. Finally,

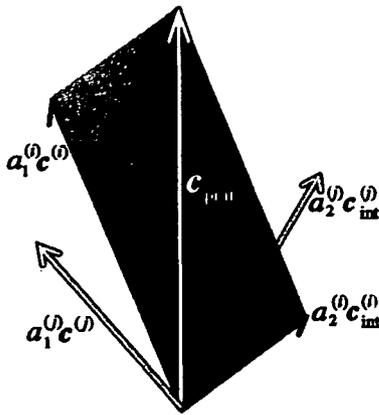


Fig. 1. Schematic illustration of a relationship between intpTAC, the tTACs, and the intTACs. The intpTAC is estimated as an intersection vector of two planes.

the intersection-searching algorithm is applied to noise-reduced data.

To reduce noise, clustering was performed using a quantity proposed in (Kimura et al., 1999, 2002). The quantity,  $R$ , is defined as

$$R = \frac{\int_0^T c^{(j)}(t) dt}{\int_0^T t c^{(j)}(t) dt} \quad (6)$$

where  $T$  is the time of the final frame. The amplitude of  $R$  is determined by only the shape of the tTAC emphasized by  $t$ . The quantity  $R$  is invariant when the tTAC becomes the product of a constant  $\alpha$  times the tTAC  $c^{(j)}(t)$ , because  $\alpha$  is canceled out between the numerator and the denominator in Eq. (6). Therefore, the quantity  $R$  evaluates the tTAC's shape. For example, the quantity  $R$  becomes a function of a kinetic efflux parameter  $k_2$  when a kinetic of the administered radioligand is described by a one-tissue two-compartment model (Kimura et al., 1999).

The actual procedures in robust EPISA are shown below.

1. The region outside the brain was excluded and voxel-based PET data were spatially averaged.
2. The quantity,  $R$ , was calculated about each voxel, and voxels with similar  $R$  were categorized into one cluster. The same number of voxels were assigned to each cluster.
3. The tTACs categorized into the same cluster were averaged. Note that each tTAC was normalized by each time integral.
4. The intpTACs were estimated from all possible pairs of the averaged tTACs.
5. The candidate intpTACs were obtained from all estimated intpTACs by excluding failed curves, and the final result was the averaged candidate intpTACs.

A suitable size of clusters for Step 2 was investigated. An intpTAC should be a monotonically increasing function with positive values. The failed curves in Step 5 mean the intpTACs with negative values or the intpTACs that do not monotonically increase. In Step 5, a scale of the intpTAC should be normalized before averaging because it cannot be determined using ISA.

## Materials and methods

### Simulations

Simulations were carried out to investigate the behavior of the ISA in the presence of noise to make sure of the necessity of noise reduction in applying ISA. Perfect tTACs were generated using a metabolite-corrected pTAC obtained from a human [ $^{11}\text{C}$ ]TMSX study with serial arterial blood sampling. Kinetic parameter values of [ $^{11}\text{C}$ ]TMSX in the putamen and the frontal lobe (Naganawa et al., 2007b) were chosen for the generation of noise-free tTACs ( $K_1=0.32$  (mL plasma) $\cdot\text{min}^{-1}$  (mL tissue) $^{-1}$ ,  $k_2=0.43$   $\text{min}^{-1}$ ,  $k_3=0.44$   $\text{min}^{-1}$ ,  $k_4=0.36$   $\text{min}^{-1}$  and  $K_1=0.29$  (mL plasma) $\cdot\text{min}^{-1}$  (mL tissue) $^{-1}$ ,  $k_2=0.39$   $\text{min}^{-1}$ ,  $k_3=0.13$   $\text{min}^{-1}$ ,  $k_4=0.29$   $\text{min}^{-1}$ , respectively). Noisy data were subsequently obtained by adding Gaussian noise to the noise-free data. Added noise was expressed as  $\mathcal{N}\left(0, \beta \frac{c(t)}{\Delta t}\right)$ , where  $\Delta t$  is the frame width and  $\beta$  is a proportional constant that represents the noise level. The simulations were conducted for a protocol of 27 frames over a period of 1 h (10 s  $\times$  6, 30 s  $\times$  3, 60 s  $\times$  5, 150 s  $\times$  5, and 5 min  $\times$  8). The noise level  $\beta$  was set to be 0 and 16. The noise level was scaled so that the value of 16 corresponded to the averaged tTAC over 100 voxels. In the simulation, 20 realizations of noisy tTACs were generated, and 10 pairs of tTACs were randomly selected from the tTACs, and ISA was applied to them because an intpTAC is estimated using two tTACs in EPISA. ISA was also applied to noise-free tTACs. Because it is possible to apply Logan plots to [ $^{11}\text{C}$ ]TMSX 10 min after administration (Naganawa et al., 2007b), ISA was performed using the simulated data between 27.5 and 57.5 min after administration. The estimated intpTACs were compared with the true intpTAC.

### [ $^{11}\text{C}$ ]TMSX PET studies

The presented method (robust EPISA) was applied to eight human [ $^{11}\text{C}$ ]TMSX PET data sets in order to investigate the effects of averaging and clustering. The Ethics Committee of Tokyo Metropolitan Institute of Gerontology approved the study protocol. [ $^{11}\text{C}$ ]TMSX PET data were acquired from seven healthy volunteers and one patient with Parkinson's disease. Written informed consent was obtained from all subjects before the study. After a transmission scan,  $590 \pm 103$  MBq of [ $^{11}\text{C}$ ]TMSX with a specific activity of  $40 \pm 21$  GBq/ $\mu\text{mol}$  was administered intravenously, and a 1 h dynamic PET scan was performed in two-dimensional mode using a SET-2400W (Shimadzu Co., Kyoto, Japan). The acquisition consisted of 27 frames of data (10 s  $\times$  6, 30 s  $\times$  3, 60 s  $\times$  5, 150 s  $\times$  5, and 5 min  $\times$  8). The dynamic PET data were reconstructed using a filtered back-projection algorithm with a second-order low-pass filter with a cutoff frequency of 1.25 cycles/cm. Twenty-five slices were scanned—each slice with  $96 \times 96$  voxels—and the resulting voxel size was  $2 \times 2 \times 6.25$  mm. Serial arterial blood sampling and metabolite analysis were performed during the scan. Arterial blood samples were taken from the brachial artery at 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 110, 120, 135 and 150 s and 3, 5, 7, 10, 15, 20, 30, 40, 50 and 60 min. The radioactivity in the plasma was measured using a well-type gamma counter (BSS-1, Shimadzu Co., Kyoto, Japan) against which the PET camera was cross-calibrated. The unmetabolized fraction was measured by high-performance liquid chromatography (Ishiwata et al., 2003). The unmetabolized fraction in the plasma samples was fitted to the function proposed in Watabe et al. (2000).

Fifteen slices that cover the whole brain were used for estimation by robust EPISA. The regions outside the brain were specified as the voxels below the 70th percentile of the summed PET images and were excluded from the target of the robust EPISA. Approximately 63,000 voxels were used for the estimation. The 5-by-5 average filter was applied to the measured PET images to improve the signal-to-noise ratio by spatial averaging. The number of clusters was set to 50, and approximately 1250 voxels were included in one cluster. Thus, sufficiently noise-reduced tTACs were obtained. PET images taken between 27.5 and 57.5 min after administration were used in the ISA. The estimated intpTAC was divided by its value at the last frame for normalization. Logan plot was applied to obtain the  $V_T$  image using the metabolite-corrected intpTAC and the estimated intpTAC. The centrum semiovale was manually defined as a reference region, and the binding potential,  $BP_{ND}$ , image was given by  $\frac{V_T}{V_{ND}} - 1$  where  $V_{ND}$  is the averaged  $V_T$  over the centrum semiovale.

### [<sup>11</sup>C]PIB PET studies

The peripheral metabolism of [<sup>11</sup>C]TMSX is slow; more than 95% of administered [<sup>11</sup>C]TMSX remains as the intact form at 60 min post injection (Naganawa et al., 2007b). Therefore, the measured pTACs with and without metabolite correction have similar shape in [<sup>11</sup>C]TMSX data. In order to investigate the influence of metabolites included in plasma and the number of clusters, the robust EPISA was also applied to four human [<sup>11</sup>C]PIB PET data sets with faster metabolism. Parent fraction of [<sup>11</sup>C]PIB was 48±13% at 20 min and 30±8% at 60 min post injection. The Ethics Committee of Tokyo Metropolitan Institute of Gerontology approved the study protocol. [<sup>11</sup>C]PIB PET data were acquired from two healthy volunteers and two patients with Alzheimer disease who met the criteria of probable AD by NINDS-ADRDA and Dementia of Alzheimer's Type with DSM-IV. Written informed consent was obtained from all subjects before the study. After a transmission scan, 455±55 MBq of [<sup>11</sup>C]PIB with a specific activity of 88±32 GBq/μmol was administered intravenously, and a 1 h dynamic PET scan was performed in three-dimensional mode using the same scanner as [<sup>11</sup>C]TMSX scan. The acquisition consisted of 23 frames of data (10 s×6, 20 s×3, 60 s×2, 2 min×1, 4 min×1, and 5 min×10). Image reconstruction, serial arterial blood sampling and metabolite analysis were conducted in the same way as [<sup>11</sup>C]TMSX scan, and 50 slices were scanned.

Slices that cover the whole brain were used for estimation by robust EPISA. The regions outside the brain were specified as the voxels below the 80th percentile of the summed PET images and were excluded from the target of the robust EPISA. Approximately 126,000 voxels were used for the estimation. The 9-by-9 average filter was applied to the measured PET images. The number of clusters was set to 10 (12,600 voxels/cluster), 20 (6300 voxels/cluster), 40 (3150 voxels/cluster) and 80 (1575 voxels/cluster). ISA was applied to PET images taken between 37.5 and 57.5 min after administration (Price et al., 2005; Lopresti et al., 2005). The estimated intpTAC was divided by its value at the last frame for normalization. Logan plot was applied to obtain the  $V_T$  image using the metabolite-corrected intpTAC and the estimated intpTAC. The cerebellum was manually defined as a reference region (Price et al., 2005), and the distribution volume ratio (DVR) image was calculated.

## Results

### Simulation

The noise sensitivity of the ISA was confirmed using the simulated [<sup>11</sup>C]TMSX data. The noise-free tTACs and examples of noise-added tTACs used for the simulation are presented in Fig. 2. Fig. 3 shows the estimated intpTACs and the true intpTAC. The scale was adjusted so that the value at the last frame corresponds to that of the true intpTAC. There was no difference between the ISA-estimated intpTAC and the true intpTAC with noise-free data. However, the estimated intpTACs were apparently deviated from the true intpTAC with a noise level of 16.

### [<sup>11</sup>C]TMSX PET studies

Clustering results are shown in Figs. 4 and 5. In Fig. 5, the voxels that have larger clustering criterion  $R$  are represented in a brighter color. While the neighboring voxels tend to belong to the same cluster and brain structure can be observed in Fig. 5, some remote voxels were also categorized into the same cluster. The intpTAC was estimated from the clustered and averaged tTACs as shown in Fig. 4. The noise level in the cluster-averaged tTACs was well suppressed. The estimated intpTACs using the proposed robust EPISA is demonstrated with standard deviation in Fig. 6(A). Note that standard deviation was not calculated from all estimated intpTACs but the candidate intpTACs as described in Step 5 in the Robust EPISA section. The estimated intpTACs were similar to the measured intpTACs with metabolite correction. The scale of the robust EPISA estimated intpTAC cannot be determined. In order to compare the estimated intpTACs with the measured intpTACs, the estimated intpTACs were scaled using the value at the last frame. The measured intpTACs without metabolite correction were also scaled using the value at the last frame. It took 5 to 7 s to estimate the intpTAC from one subject's data. The Logan plot was applied to the measured PET data to generate the  $V_T$  parametric images, and Fig. 7 shows  $BP_{ND}$  images calculated using the estimated  $V_T$

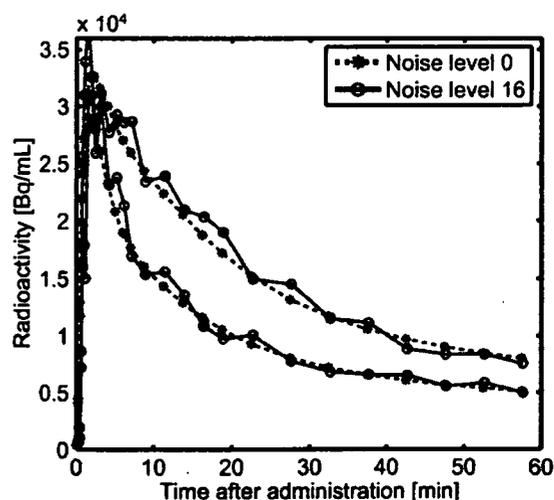


Fig. 2. Example of noise-free tTACs (dashed lines) and noisy tTACs (solid lines) for the simulation investigating the influence of noise in tTACs. The noise level of the noisy tTACs was set to 16. Two kinds of tTACs were used for estimation using ISA.

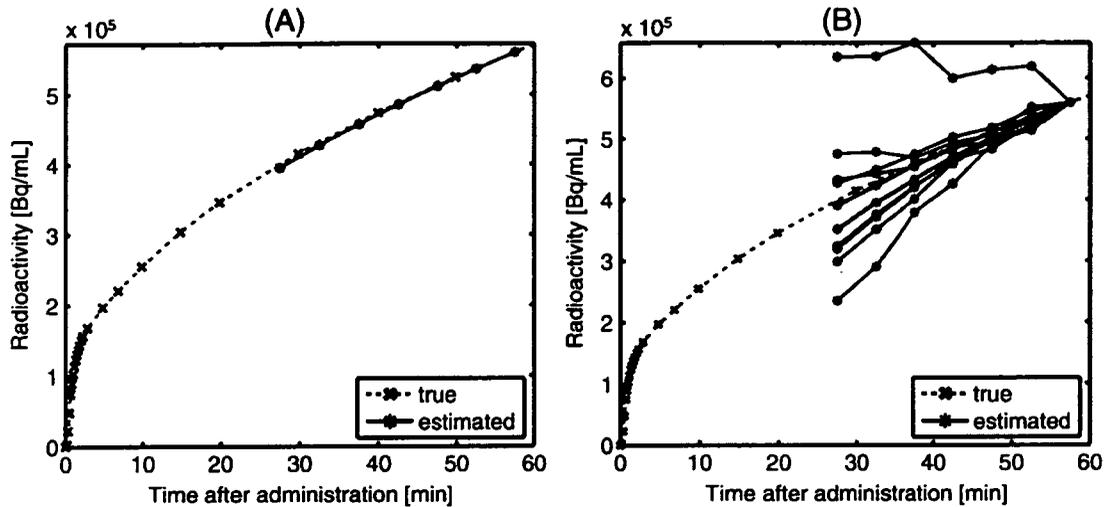


Fig. 3. Estimated inptTACs from the noise-free data (A) and the noisy data (B). The period used for the ISA was 27.5 min to 57.5 min after administration. The true inptTAC was obtained by cumulatively integrating the true pTAC. The estimated inptTACs are shown as solid lines, and the true inptTACs are shown as dashed lines. The scale of the estimated inptTAC was adjusted using the value at the last frame.

parametric images and the specified reference region. The  $BP_{ND}$  images with the estimated and measured inptTACs matched well in all eight subjects. In the linear regression between the measured and estimated  $BP_{ND}$  images, the slopes and  $y$ -intercepts were  $1.00 \pm 0.011$  and  $0.035 \pm 0.016$ , respectively. The coefficient of determination ( $r^2$ ) was  $1.00 \pm 0.0016$ .

#### $[^{11}C]PIB$ PET studies

Fig. 6(B) shows the estimated inptTAC and the standard deviation calculated from candidate inptTACs. The estimated inptTACs were similar to the measured inptTACs with metabolite correction. For comparison, the scale of the estimated inptTACs and the measured inptTACs without metabolite correction was adjusted using the value at the last frame of the measured inptTACs

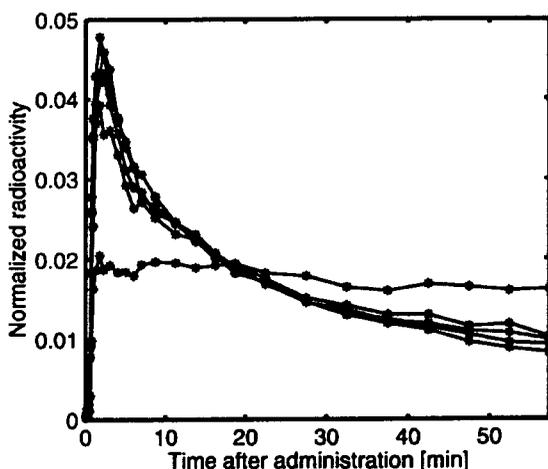


Fig. 4. Representative tTACs after clustering in  $[^{11}C]TMSX$  data. The tTACs of the measured PET data were categorized into 50 clusters and subsequently averaged in each cluster. Each tTAC was normalized by dividing by its integral.

with metabolite correction. The calculation time was comparable to  $[^{11}C]TMSX$  study. The relationship between the number of clusters and estimation results were demonstrated in Fig. 8. Standard deviation increased as the size of the clusters became smaller. However, the final estimated inptTAC was little influenced by the choice of the number of clusters. In each case with different number of clusters, the candidate inptTACs from which the final result was obtained were approximately 22% curves out of all estimated inptTACs. When the number of the clusters set to be less than 5, the proposed method did not work. The Logan plot was applied to the measured PET data to generate the  $V_T$  parametric images, and Fig. 9 shows the DVR images of Alzheimer disease patient that were calculated using the estimated  $V_T$  parametric images in case of 20 clusters. The DVR images with the estimated and measured inptTACs matched well in all four subjects. In the linear regression between the measured and estimated DVR images, the slopes and  $y$ -intercepts were  $0.97 \pm 0.038$  and  $0.060 \pm 0.057$ , respectively. The coefficient of determination ( $r^2$ ) was  $0.97 \pm 0.026$ .

#### Discussion

The proposed method, robust EPISA, settles the mathematical drawback in ISA, in that performance is influenced by the noise in the measured tTACs. The measurement noise included in PET data was reduced by clustering based on tTAC's kinetics, and an input function for Logan plots was estimated robustly based on ISA (Wang et al., 2005). Robust EPISA estimates a shape of a cumulative integral curve of pTAC appearing in the operational equation of the Logan plot, and enables binding-potential imaging to be generated with no arterial blood sampling or metabolite correction. Omission of arterial blood sampling reduces the invasiveness of PET measurement and contributes to the shortened total time needed for preparation of serial arterial blood sampling. Before discussing the robustness of the proposed method, we should consider the advantages and disadvantages of ISA.

ISA has two advantages: no requirement for metabolite correction of pTAC and wide applicability to PET data with various radioligands, because of the broad application of the Logan

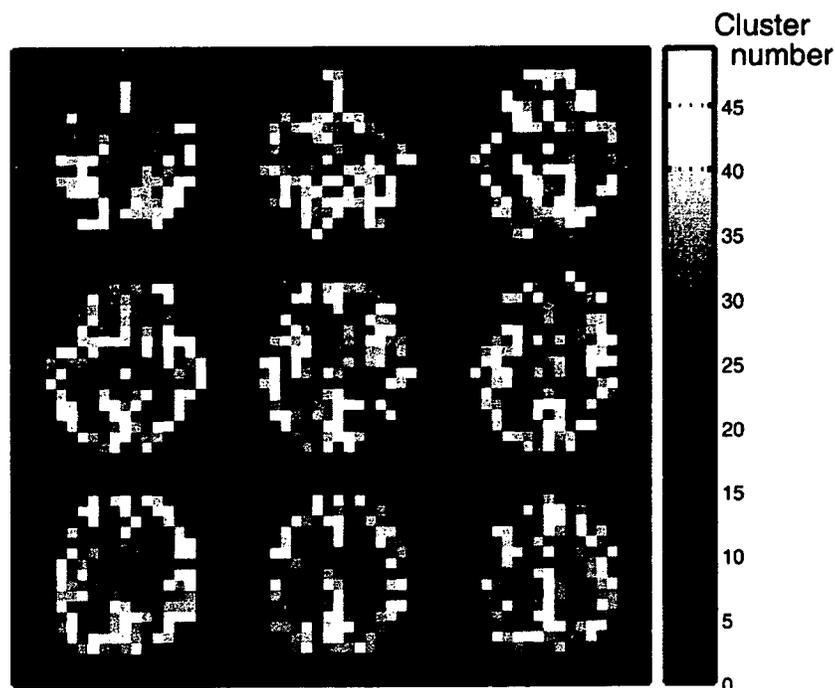


Fig. 5. Example of a clustered image in  $[^{11}\text{C}]\text{TMSX}$  data. The voxel value corresponds to the cluster number. As the cluster number becomes larger, the corresponding criterion  $R$  also becomes larger.

plot. Many methods have been proposed to preclude arterial blood sampling. One of these methods is based on a factor model to estimate the shape of a whole blood curve (Barber, 1980; Paola et al., 1982; Wu et al., 1995; Lee et al., 2001; Naganawa et al., 2005a,b), where the radioactivity in the measured PET data is assumed to be the sum of the radioactivities in the blood and tissue. In this method, metabolite correction is unattainable. On the other hand, ISA can theoretically give a metabolite-corrected pTAC. ISA is derived from the operational equation for the Logan plot, and the

equations of the Logan plot are based on a compartment model. Thus, the estimated intpTAC does not include the radioactivity in metabolites. There is a great difference between the measured intpTAC with and without metabolite correction in  $[^{11}\text{C}]\text{PIB}$  data. The estimated intpTAC matched well with the measured intpTAC with metabolite correction as shown in Fig. 6. From our results, the estimated  $\text{BP}_{\text{ND}}$  of  $[^{11}\text{C}]\text{TMSX}$  (Fig. 7) or DVR of  $[^{11}\text{C}]\text{PIB}$  (Fig. 9) using the proposed method coincide well with those using a measured pTAC with metabolite correction. It is expected that ISA

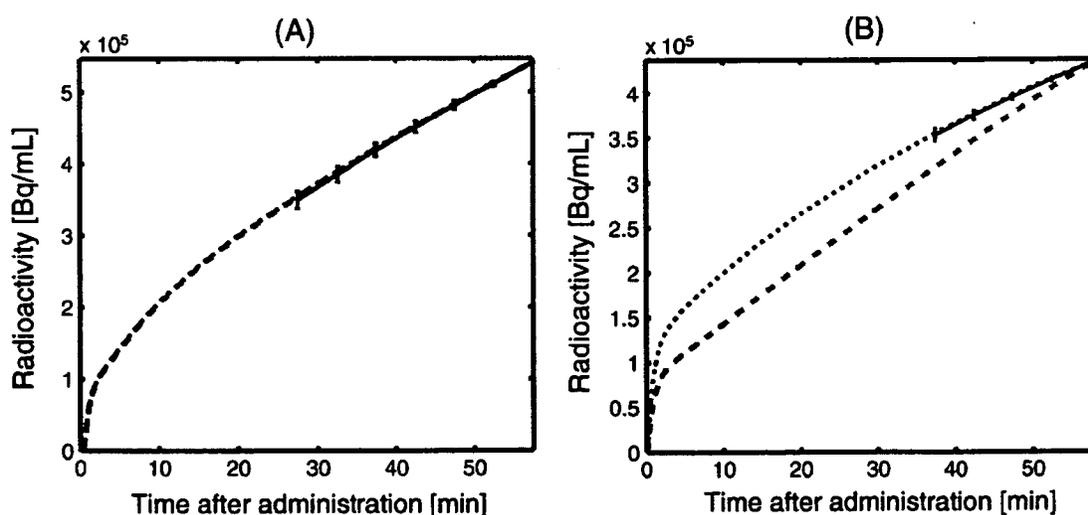


Fig. 6. Example of a robust EPISA-estimated intpTAC (black solid line) in (A)  $[^{11}\text{C}]\text{TMSX}$  and (B)  $[^{11}\text{C}]\text{PIB}$ . In  $[^{11}\text{C}]\text{PIB}$ , 40 clusters were used for clustering. Measured intpTACs with and without metabolite correction were plotted in black dotted line and gray break line, respectively. Standard deviation was calculated from the candidate intpTACs.

will be applicable to radiopharmaceuticals whose metabolites cannot be ignored, or PET data with metabolism varied because of disease, dose, or other pathophysiological situations.

The next issue is the wide applicability of ISA. Using ISA, parametric images of  $BP_{ND}$  can be calculated using the estimated  $intpTAC$  and the specified reference region. When arterial blood sampling is not available, the basis function method (Gunn et al., 1997) is commonly used. While the basis function method is appropriate only when the PET data is described by a simplified reference tissue model (Lammertsma and Hume, 1996), ISA can be applied to any PET data with reversibly binding tracers. In this paper, to assure the wide applicability, EPISA was applied to two radioligands: [ $^{11}C$ ]TMSX with slow peripheral metabolism and [ $^{11}C$ ]PIB with fast one.

ISA has a disadvantage in practical application because of its high sensitivity to measurement noise. ISA is an algorithm to estimate the intersection between the planes spanned by  $tTAC$  and  $inttTAC$ . As shown in Fig. 3, ISA failed in estimating the  $intpTAC$ , even with low-noise. The reason for this is considered here. The ISA algorithm leads to the singular value decomposition problem. Generally, the singular vector with the smallest singular value is inaccurately estimated in the presence of noise. Therefore, it is important to reduce noise from the measured PET data before applying ISA.

In addition, the absolute value of the  $intpTAC$  cannot be estimated using ISA, as with other mathematical algorithms for the  $pTAC$  estimation (Barber, 1980; Paola et al., 1982; Wu et al., 1995; Lee et al., 2001; Naganawa et al., 2005a,b), because only the direction of a singular vector is presumable. Therefore, the relative  $V_T$  is obtained using Logan plot with the estimated  $pTAC$  or  $intpTAC$ . At least one-point arterial blood sampling is required to scale the estimated  $pTAC$  or  $intpTAC$  and calculate the absolute  $V_T$ . However,  $BP_{ND}$  can be calculated from the ratio of  $V_T$  values between target voxels and the reference region, and this calculation does not require the absolute value of the  $intpTAC$ . ISA can form the parametric image of  $BP_{ND}$  by specifying reference region.

In this study, a kinetic model-based clustering scheme was applied for noise reduction. It has been successfully applied in the rapid and robust parametric imaging of regional cerebral blood flow (Kimura et al., 1999) and [ $^{18}F$ ]FDG studies (Kimura et al., 2002). In this paper, we proposed averaging and clustering as a way to successful ISA. The measured  $tTACs$  were clustered based on their kinetic shape. In the [ $^{11}C$ ]TMSX studies, approximately 1250 voxels were assigned to a single cluster. Although the size of the cluster is too large as an anatomical ROI, such a large ROI is appropriate for EPISA because reducing noise is more important than increasing heterogeneity in the clusters. The estimated result was not influenced too much by the choice of the number of the clusters as shown in Fig. 8.  $intpTACs$  were estimated from all possible pairs of the noise-reduced  $tTACs$ . In some pairs, estimated  $intpTACs$  were not monotonically increasing. The derivative of the  $intpTAC$  equals the  $pTAC$ . Therefore, the  $pTAC$  includes negative values when the  $intpTAC$  was not monotonically increasing.

The reference-region-based Logan plot also successfully estimates DVR or  $BP_{ND}$  without arterial blood sampling. Comparing EPISA with the reference-region-based Logan plot, robust EPISA does not need any kinetic parameters, while the reference-region-based Logan plot requires the population value of  $k_2$  in the reference region in advance. We think that it is an advantage over the noninvasive Logan analysis. Note that noninvasive Logan analysis

and our method will provide comparable results when the values of  $k_2$  in a reference region are sufficiently similar in all subjects.

Exact values should be specified for the set of parameters used in the robust EPISA: the size of the averaging filter and the number of clusters. When the PET data have a low signal-to-noise ratio, a larger averaging filter and fewer clusters are preferable. We conclude that the ISA is a practical algorithm for the obviation of arterial blood sampling using noise reduction with clustering.

## Acknowledgments

This work was supported in part by Grants-in-Aid for Scientific Research of the Japan Society for the Promotion of Science, No. 18591373 in 2006–2007, and No. 18-6916 in 2006–2008.

## References

- Barber, D.C., 1980. The use of principal components in the quantitative analysis of gamma camera dynamic studies. *Phys. Med. Biol.* 25 (2), 283–292.
- Carson, R.E., 2002. Positron Emission Tomography Basic Science and Clinical Practice. Springer, Ch. 6, pp. 147–179.
- Gunn, R.N., Lammertsma, A.A., Hume, S.P., Cunningham, V.J., 1997. Parametric imaging of ligand–receptor in PET using a simplified reference region model. *NeuroImage* 6 (4), 279–287.
- Innis, R.B., Cunningham, V.J., Delforge, J., Fujita, M., Gjedde, A., Gunn, R.N., Holden, J., Houle, S., Huang, S.-C., Ichise, M., Iida, H., Ito, H., Kimura, Y., Koeppe, R.A., Knudsen, G.M., Knutti, J., Lammertsma, A.A., Laruelle, M., Logan, J., Maguire, R.P., Mintun, M.A., Morris, E.D., Parsey, R., Price, J.C., Slifstein, M., Sossi, V., Suhara, T., Votaw, J.R., Wong, D.F., Carson, R.E., 2007. Consensus nomenclature for *in vivo* imaging of reversibly binding radioligands. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 27 (9), 1533–1539.
- Ishiwata, K., Ogi, N., Shimada, J., Nonaka, H., Tanaka, A., Suzuki, F., Senda, M., 2000. Further characterization of a CNS adenosine  $A_{2A}$  receptor ligand [ $^{11}C$ ]KF18446 with *in vitro* autoradiography and *in vivo* tissue uptake. *Ann. Nucl. Med.* 14 (2), 81–89.
- Ishiwata, K., Wang, W.-F., Kimura, Y., Kawamura, K., Ishii, K., 2003. Preclinical studies on [ $^{11}C$ ]TMSX for mapping adenosine  $A_{2A}$  receptors by positron emission tomography. *Ann. Nucl. Med.* 17 (3), 205–211.
- Ishiwata, K., Mishina, M., Kimura, Y., Oda, K., Sasaki, T., Ishii, K., 2005. First visualization of adenosine  $A_{2A}$  receptors in the human brain by positron emission tomography with [ $^{11}C$ ]TMSX. *Synapse* 55 (2), 133–136.
- Kimura, Y., Hsu, H., Toyama, H., Senda, M., Alpert, N.M., 1999. Improved signal-to-noise ratio in parametric images by cluster analysis. *NeuroImage* 9 (5), 554–561.
- Kimura, Y., Senda, M., Alpert, N.M., 2002. Fast formation of statistically reliable FDG parametric images based on clustering and principal components. *Phys. Med. Biol.* 47 (3), 455–468.
- Kimura, Y., Naganawa, M., Yano, J., 2005a. Multidimensional clustering for molecular imaging using positron emission tomography and Logan plot to improve noise reduction capability. *Proceedings of the International Federation for Medical and Biological Engineering*, vol. 12, p. 2A2-01. Singapore.
- Kimura, Y., Yano, J., Tsukahara, M., Naganawa, M., Ishii, K., Ishiwata, K., 2005b. Clustering approach for voxel-based Logan plot to improve noise reduction capability. *VIIth International Conference on Quantification of Brain Function with PET*. Amsterdam, Netherlands, p. S632.
- Klunk, W.E., Engler, H., Nordberg, A., Wang, Y., Blomqvist, G., Holt, D.P., Bergström, M., Savitcheva, I., Huang, G.-F., Estrada, S., Ausén, B., Debnath, M.L., Barletta, J., Price, J.C., Sandell, J., Lopresti, B.J., Wall, A., Koivisto, P., Antoni, G., Mathis, C.A., Långström, B., 2004. Imaging brain amyloid in Alzheimer's disease with Pittsburgh Compound-B. *Ann. Neurol.* 55 (3), 306–319.
- Koeppe, R.A., Holthoff, V.A., Frey, K.A., Kilbourn, M.R., Kuhl, D.E., 1991.