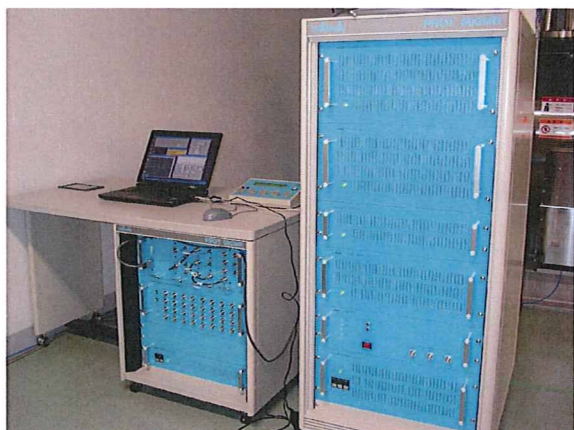
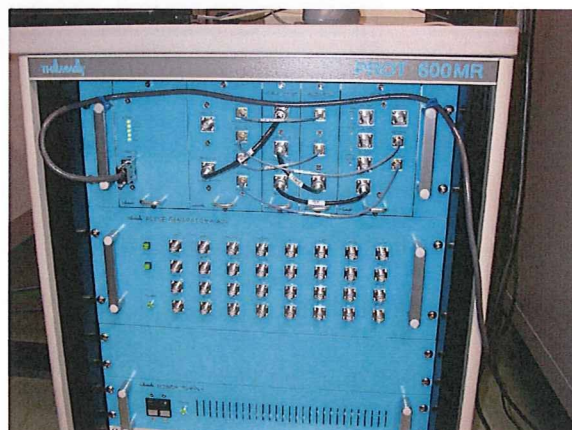


3. 600MHzNMR スペクトロメータの開発

アナログ処理部の基準クロック (20MHz) を外部入力させて時間同期を行なうことで、ボードにおけるジッタのずれ程度の範囲 (数10ns) で時間同期がとれることになった。ボードを増やすことにより、24チャンネルのTTL出力を外部測定機器の撮像シーケンス同期として用いることができた。以下に、NMRスペクトロメータの全体写真 (下図左) と24チャンネル出力の拡大写真 (下図右) を示す。



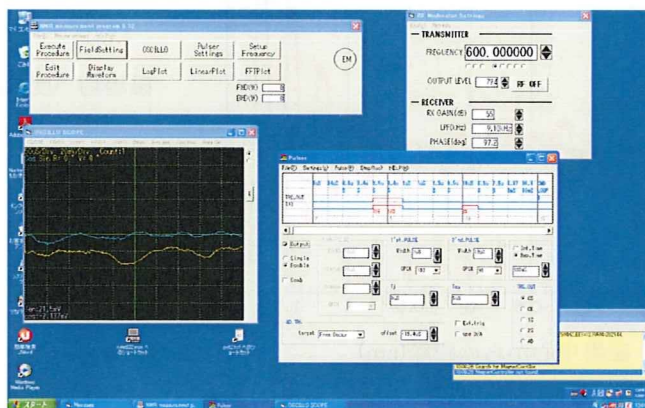
NMR スペクトロメータの全体写真



24ch 出力

安定に 1kw のパルス出力が行なえることが確認できた。

VisualBasic を開発環境とした GUI によるパルスシーケンス開発が可能となった。以下に、操作画面を示す。



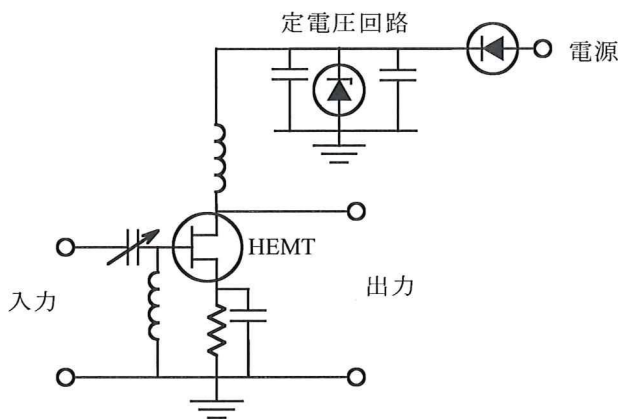
GUI による開発環境

4. 小型前置増幅器の開発

作製した前置増幅器は、大きさ 15x15x10 mm という、MRI 装置に使用されているものとしては世界最小レベルのものとなった (下図左)。アジレント社製 N8973A 雑音指数アナライザを用いて雑音指数および利得を測定したところ、雑音指数が 0.3~0.5 dB、利得が 23~26 dB であった。この結果 MR 用前置増幅器として使用できることが確認された。以下に、開発した前置増幅器の写真とブロックダイアグラムの回路図を示す。



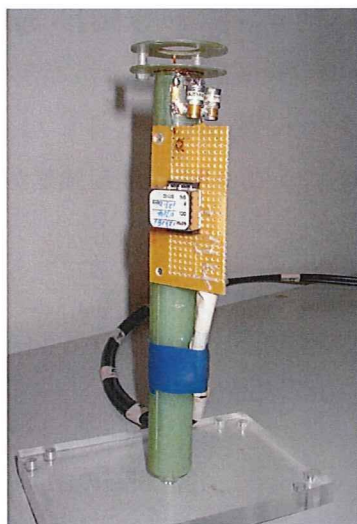
開発された前置増幅器



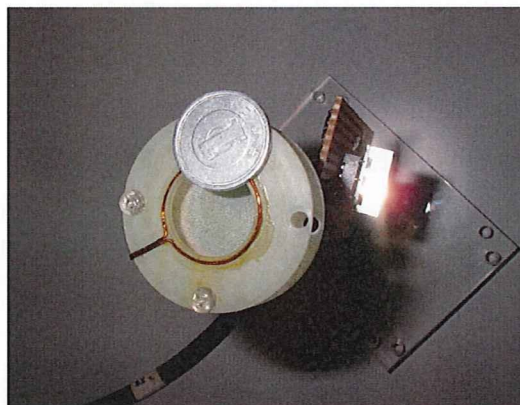
前置増幅器のブロック図

5. ex-vivo 環境構築

全システムをくみ上げ、シャーレ内に蒸留水を密封して FID 信号を収集した。以下に、くみ上げた装置の全体写真（下図左）とコイルの拡大図（下図右）を示す。

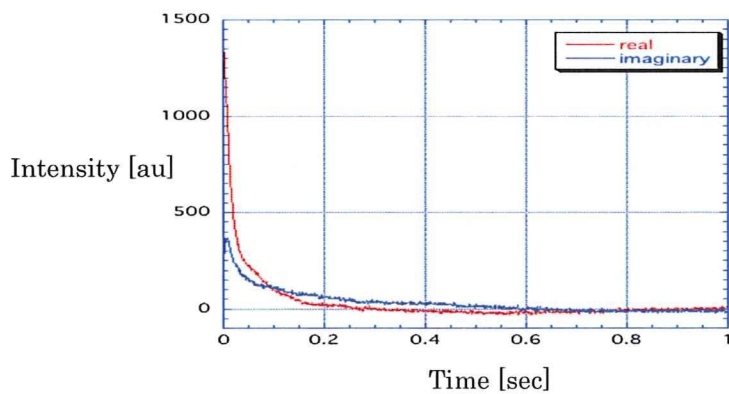


開発された装置全体図



コイル拡大写真

このとき、十分な強度の信号を得ることができた。以下に、そのとき得られた信号（ファントムからの FID 信号）を示す。ただし、画像撮像を試みはしたものの、その低い磁場強度と弱い傾斜磁場のため、明確な画像を得ることはできなかった。



ファントムからの FID 信号

2008 年度 :

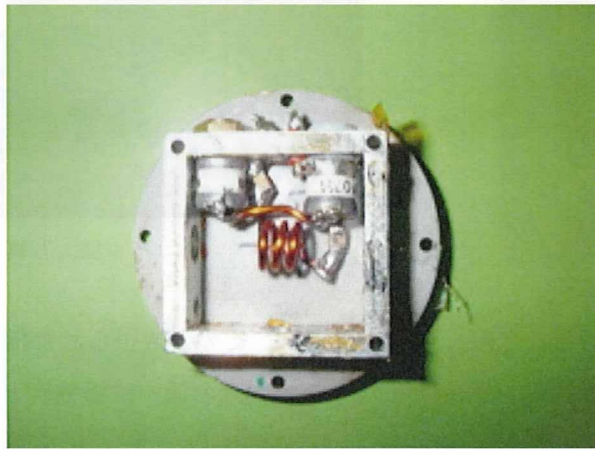
4つの分担研究体制、1. RFコイル、2. 傾斜磁場コイル、3. 制御システム、4. MRI顕微鏡のプロトタイプ機によるin-vitroの撮像実験について、それぞれ研究結果をまとめる。

1. RF コイル

2つの傾斜磁場コイル間は10mmであることを考慮し、内径5mm、外径7mm、長さ5mm、巻き数3巻きの非常に小さなソレノイドコイルを作成した。線材は直径1mmのホルマルメッキ銅線を用いた。得られたインダクタンスは約41nHである。

このコイルから構成される600MHzの共振回路の素子の値を数値シミュレーションにより求めた。求められた値は、バランスコンデンサ3.3pF、同調コンデンサ3.03pF、インピーダンス整合コンデンサに0.502pFである。インピーダンス整合コンデンサ、同調コンデンサに2000Vの耐電圧を持つ省スペース型非磁性耐電圧可変コンデンサを用いた。コンデンサ容量は、0.5~4pFである。バランスコンデンサに1000Vの耐電圧を持つ省スペース型非磁性耐電圧コンデンサを用いた。コンデンサ容量は3.3pFである。

作成した共振回路はシミュレーション通り振る舞わず、600MHzでの共振を得ることができなかった。そこで、原因を寄生インダクタンスの影響と仮定し、寄生インダクタンスを補正する補正コンデンサ2.2pFを挿入したところ、600MHzで共振させることができた。Q値は73、RF波照射強度が4mTである。作成した共振回路の写真を以下に示す。



共振回路の内部

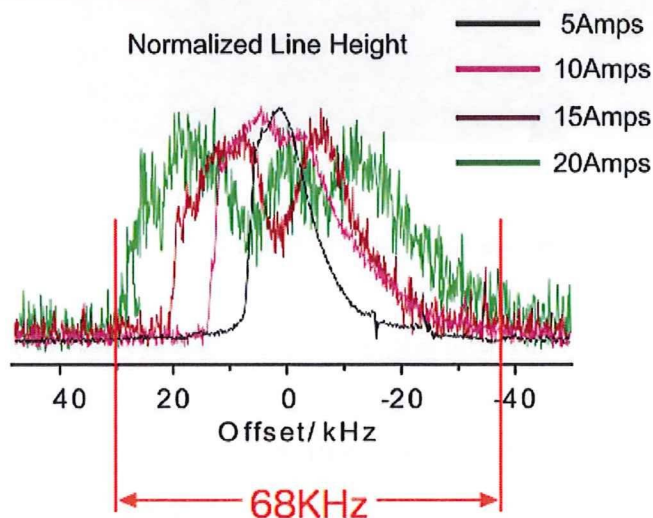
2. 傾斜磁場コイル

MRI顕微鏡のプロトタイプ機において、傾斜磁場コイルの形を平面型ボビンに巻き付ける形に設定したことにより、MRIプローブはRFコイルと傾斜磁場コイルが合わさった一体型のものとなる。そこで、開発の第一段階として、一体型プローブにおけるRFコイルと傾斜磁場コイルの状態について検討するために、平面型ボビン上にマクスウェルペアの傾斜磁場コイルのみを配置した1軸の傾斜磁場コイルを作成した。以下に一体型のプローブを示す。



MRI プローブの試作 1 号機

上図のMRIプローブの試作1号機において、中央の白いプレートが傾斜磁場コイルのボビンである。上図における白い2つのプレートが2枚の平面型ボビンを持つ1軸の傾斜磁場コイルである。ボビンの材料は渦電流の影響を考慮して、1mm厚のテフロン板とした。中央部にマクスウェルペアのコイルを直径10mmの中心円に対し10ターン（中心円に対し、内側と外側に5ターンずつ）、 $\Phi 0.5$ の銅線を用いて巻いた。このGzの傾斜磁場を用いて、NMRのスペクトラムを取ることによって、傾斜磁場強度の測定を行った。NMRはTE2msのスピネコー法を用い、4096点サンプリングした。RFコイルによる励起前から信号収集終了時まで、一定のGzをサンプルに対して与えて、信号収集を行なった。試料は内径4.2mmのNMR管の中に水を入れたものを用いた。得られたスペクトラムを信号強度の最大値で縦軸を合わせたものを以下に示す。下図から分かるように、スペクトラムが傾斜磁場強度（グラフにおいては電流値）に比例して広がっている様子が分かる。



NMR スペクトラム

上図の傾斜磁場コイルの試作機によって得られたNMRスペクトラムにおいて、電流値の増加とともに線幅

が増加する様子が分かる。

傾斜磁場コイル用の高速電流アンプによって規定される最大電流20Aのときの線幅を用いて、傾斜磁場強度を計算すると、0.38T/mが得られる。MRIプローブとして機能しうる傾斜磁場コイルとRFコイルの一体型プローブが試作機のデザインを改良することで得られるであろうことが分かった。しかし、スペクトラムは円の投影図であるので、放物線のようなものが期待されるが、得られたスペクトラムには波や非対称性などの歪みが生じていることが分かった。これは傾斜磁場コイルのボビンが柔らかいテフロンであることから、振動などの問題が生じ、傾斜磁場コイルの配置が静止状態からずれて、傾斜磁場強度に非線形性が生じていると考えられた。

そこで、強化プラスチックであるFRPを用いて、3軸方向の傾斜磁場を掛けることができる傾斜磁場コイルの製作を行なった。一般的な板状FRPであるガラス繊維が層状に入ったもの（電子回路等の基板に用いられている）をボビンの材料として用いた。また、工作精度を上げるために、フライス加工を用いて、ボビンを製作した。直径5mm程度の試料の可視化を行なうためにボビンの間隔を10mmとした。また、コイルは直径0.2mmの銅線を用い、ボビンに掘られた溝に20巻きしてある。以下に作成されたMRIプローブの写真を示す。

MRI プローブの試作 2 号機



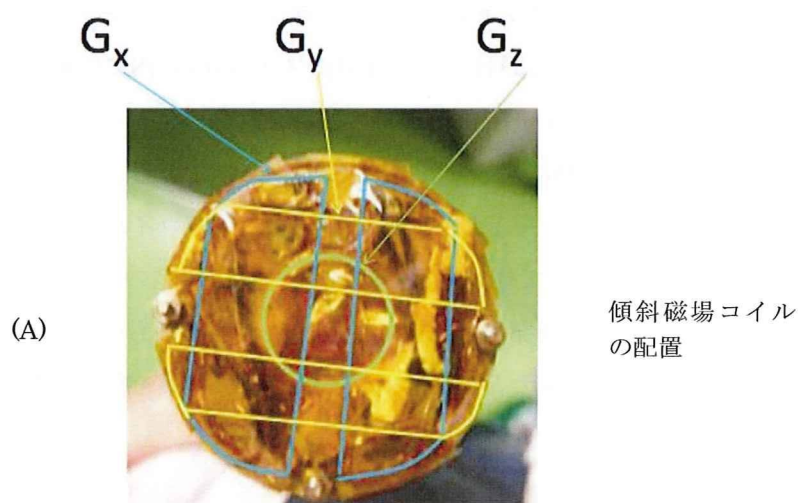
上図はMRIプローブの試作2号機を示す。傾斜磁場コイルの所を中心に写している。3軸方向の傾斜磁場の生成が可能となっている。

研究方法のところでも詳述したように、傾斜磁場強度は、コイルの巻き数と電流値が同じであれば、ボビンのギャップが狭い程、向上する。そのため、コイルのボビンの材質は、渦電流効果をなくすため、金属体の仕様は避け、薄くとも強度のある肉厚3mmのFRPを用いている。試作1号機の結果を基に、高速電流アンプとの関係を考慮して、ターン数やボビンの肉厚などを最適化したことによって、得られた傾斜磁場強度は、最大電流20A使用時に最大のもので1.5T/m程度まで向上した。傾斜磁場強度の測

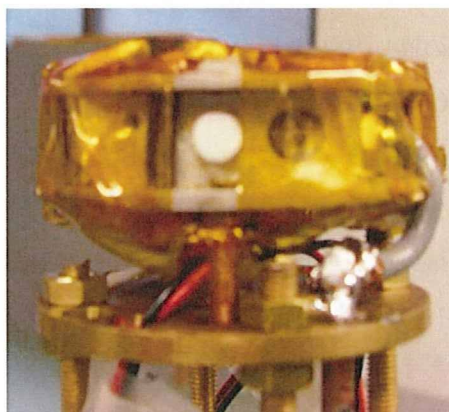
定法は、試作 1 号機と同様である。しかし、ガラス繊維が層状に入った FRP を用いたため、ボビン工作时にガラス繊維が邪魔をして、精度の高い加工を行なうことができなかった。また、コイルと外部電源との接続端子まで含めて、ワニス（GE 社製）とデンタルフロスによって固定した。しかし、太い外部電源へのコードと細い銅線が接続している部分では線径が変化するので、接続されている銅線部分の固定が甘くなってしまった。傾斜磁場生成時に線材にかかる力によって、線材の固定が緩くなってしまふ接続端子部分では、銅線が撮像時に振動し、長時間の使用の後では疲労断線してしまうという事故が多発することとなった。さらに、RF コイルと傾斜磁場コイルの共存がうまくできておらず、x 軸方向や y 軸方向の傾斜磁場コイルで、直線であるべき部分が曲がってしまうこととなってしまった。

試作 3 号機においては、試作 2 号機での知見を踏まえ、FRP の材質を層状にガラス繊維が入っているものから、ランダムにガラス繊維が入っているものへ変更し、ボビンの工作精度を上げることにした。また、撮像時の線材の振動を防ぐために、ボビンをカプトンテープで全体的に上から抑えることにした。また、長方形型コイルとマクスウェルペアの平面型ボビンにおける配置を RF コイル共存の関係から最適化を行った。

ランダムにガラス繊維が入った FRP をマシニングセンターにて加工することによって、平面型ボビンを作成した。また、試作 2 号機まで、抵抗値を減らすために、長方形型コイルの各長方形コイルやマクスウェルペアの各円形コイルを並列につないでいたが、長方形コイル間や円形コイル間の抵抗の微妙な違いにより、流れる電流値が異なるため、非線形性が増加していたことが分かった。そこで、長方形型コイル、マクスウェルペアの部分コイルを直列につなぎ、電流値を均一にし、線形性を高めた。以下に製作した MRI プロブの写真を示す。コイルを設計通りに巻くために、障害となっていた NMR のグラウンド安定化のためのカウンタープレートの支持棒外してある。また、接続部分の振動による金属疲労による断線を防止するために、ワニスで線材を固定した後、カプトンテープで全体を止めている。NMR 管の挿入方向と干渉しているため、傾斜磁場コイルの平面型ボビンは 3 本のスペーサーによってとめられている。



(B)



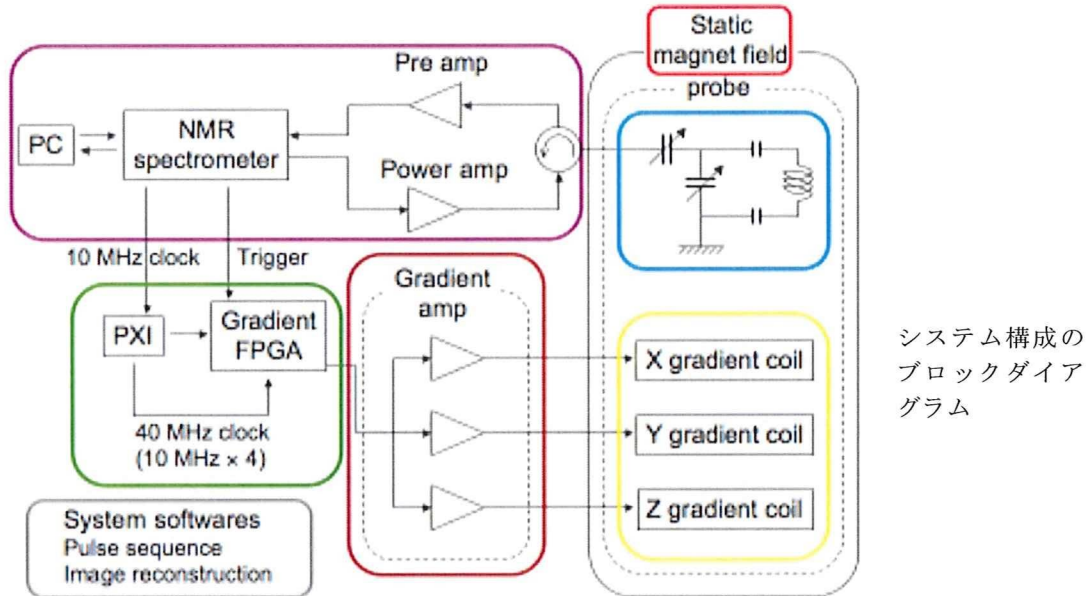
横から見た MRI
プローブ

上図の(A)は傾斜磁場コイルの配置を示している。また、上図(B)はMRIプローブを横から見たところである。カプトンテープで、接続端子の振動を抑えている。設計通りにコイルを巻くために、カウンターのプレートを外している。

サイズの分かっている NMR 試験管 (OD5mm/ID4.2mm) 内の寒天を撮像することにより、傾斜磁場強度を求めた。寒天を用いた理由は、通常の水に比べ T1 が短くなるということによる。得られた値は、 $x : 0.16 \text{ T/mA}$ ($0.64 \text{ T/m} : \text{max}$)、 $y : 0.14 \text{ T/mA}$ ($0.56 \text{ T/m} : \text{max}$)、 $z : 0.13 \text{ T/mA}$ ($1.3 \text{ T/m} : \text{max}$) であった。傾斜磁場コイルの駆動に Kepco 社の 20V/20A の高速電流アンプを用いており、コイルの抵抗により、電圧にリミットがかかり、20A をかけられていない。また、 $100\mu\text{s}$ 程度のリンギングが駆動電流の立ち上がりと立ち下がり時に発生した。また、撮像時における振動は存在している。

3.制御システム

MRI顕微鏡のプロトタイプ機のシステム構成として、以下に示すようなものを構築した。ここで、異なった色で囲まれている部分が1ブロックとして、役割を果たしている。紫色で囲まれた部分がNMRシステムであり、NMRスペクトロメータとプリアンプ、パワーアンプ、サーキュレーター、制御PCからなる。緑色で囲まれた部分がFPGAモジュールに対応する。PXIシステム(PXI)内に内蔵制御PCが存在し、LabViewの開発環境を持ち、FPGAボード(Gradient FPGA)の制御を行なっている。茶色で囲まれた部分が高速電流アンプに対応し、傾斜磁場の3軸に対応して、3台で構成されている。灰色で囲まれた部分が静磁場コイルの内部(磁場の存在する領域)を示している。静磁場内にRFコイル(水色で囲まれた領域)、傾斜磁場コイル(黄色で囲まれた領域)で構成されるMRIプローブ(灰色の点線で囲まれた領域)が挿入される。NMRシステムでは、2007年度に開発されたVisual-Basicベースのものを拡張して制御プログラムとして用いた。また、傾斜磁場制御システム、画像再構成は新規に構築を行なった。



システム構成の
ブロックダイア
グラム

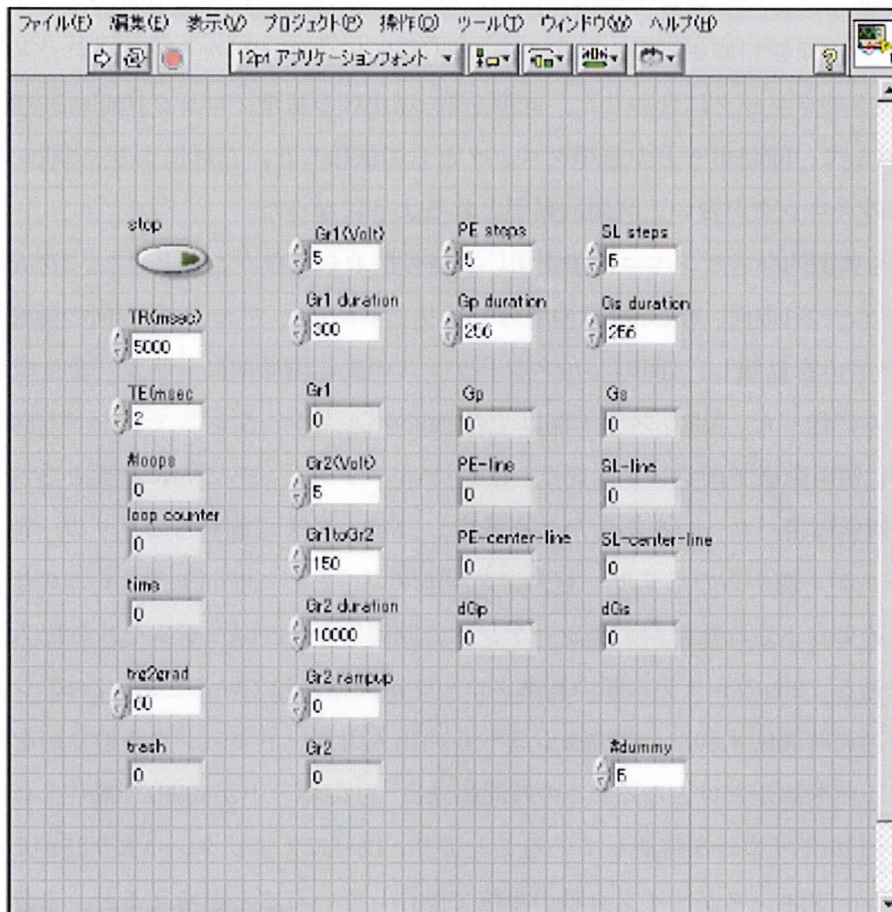
上図のMRI顕微鏡のシステム構成のブロックダイアグラムにおいて、独立した機能を持つ部分が、色分けされている。

NMRシステムと傾斜磁場制御システムの統合するために、クロックの同期を取った。NMRスペクトロメータの基準クロックである10MHzを傾斜磁場制御システムのPXI内蔵PCに送り、PXIから供給される基準クロックをNMRスペクトロメータのクロックに合わせた。同期を取ったPXIの基準クロック10MHzを内部で4倍波である40MHzに生成し直して、FPGAボードの基準クロックとして供給した。これにより、NMRシステムと傾斜磁場制御システムのクロックが合い、時間同期がとれるようになった。

プロトタイプとして、最も典型的なスピンエコー法を用いた信号採取を行なうこととした。2次元画像の場合ではリード1方向、フェーズ1方向、3次元画像の場合ではリード1方向、フェーズ2方向の画像構成を採用した。まず、NMRシステムを拡張し、1回のパルスシーケンスの動作開始前にトリガーを生成し、これを傾斜磁場制御システムに送った。NMRシステム側はその1回のパルスシーケンスでリード方向の1ラインの信号収集を行なう。傾斜磁場制御システム側は、1回のパルスシーケンスごとに必要とされるリード方向、フェーズ方向の傾斜磁場パターンをあらかじめ計算し、NMRシステム側からのトリガー待ちの状態にセットされる。NMRシステム側からのトリガーをデジタルトリガーとしてFPGAモジュールの出入力ボードで受けて、あらかじめセットされた傾斜磁場シーケンスの制御信号をFPGAモジュールの出入力ボードから高速電流アンプに送る。2つのシステム間の基準クロックが同期されているため、2つのシステムにおけるパルスシーケンスの時間的ずれは、FPGAモジュールの出入力ボードでデジタル取りがを受ける際のトリガー認識における時間誤差だけとなる。この時間誤差は、FPGAボードが40MHzで動作しており、1ティックごとにFPGAボードがトリガーを確認していることより、1から2ティック、つまり25から50ns程度となっている。パルスシーケンスがマイクロ秒の単位で動作していることを考えると、十分に高い精度で、1つのパルスシーケンスとして機能していると考えられる。また、リード方向1ラインごとにトリガーを生成しているため、3次元撮像などでの、リードライン数の飛躍的増加に伴う誤差集積の間

題も回避することができている。

下図にLabViewを用いて開発された傾斜磁場シーケンス制御プログラムの入力画面を示す。左側に矢印のついた白い箱が、制御パラメータの入力で、灰色の箱が、進行中の値を表示することになっている。一番左の列の上のストップボタンは、緊急時に傾斜磁場シーケンスを停止するためのものである。また、TR、TEの情報を入力することになっている。また、合計のパルスシーケンスの回数と現在進行しているパルスシーケンスの番号を表示している。さらに、tr2gradでNMRシステム側からのデジタルトリガーから、最初の傾斜磁場パルスまでの時間を指定する。左から2列目において、リード方向の傾斜磁場のパラメータを調整している。Gr1とGr1durationにおいて、始めのリード方向の傾斜磁場の大きさと幅を指定する。さらに、Gr2でエコー時のパルス強度を指定し、Gr1toGr2において2つのパルス間の時間、Gr2durationにて2回目のパルス幅を指定する。左から3列目で、1つ目のフェーズ方向、4列目で2つ目のフェーズ方向の傾斜磁場パルスのパラメータを指定する。PE steps、SL stepsでフェーズの回数、Gpduration、Gsdurationにてパルス幅を指定している。フェーズ方向のパルス強度は最大値に設定されている。最後に、右端の列の下にdummyがあるが、これが信号の定常状態を作るために使用するダミーのパルスの回数を指定する所である。



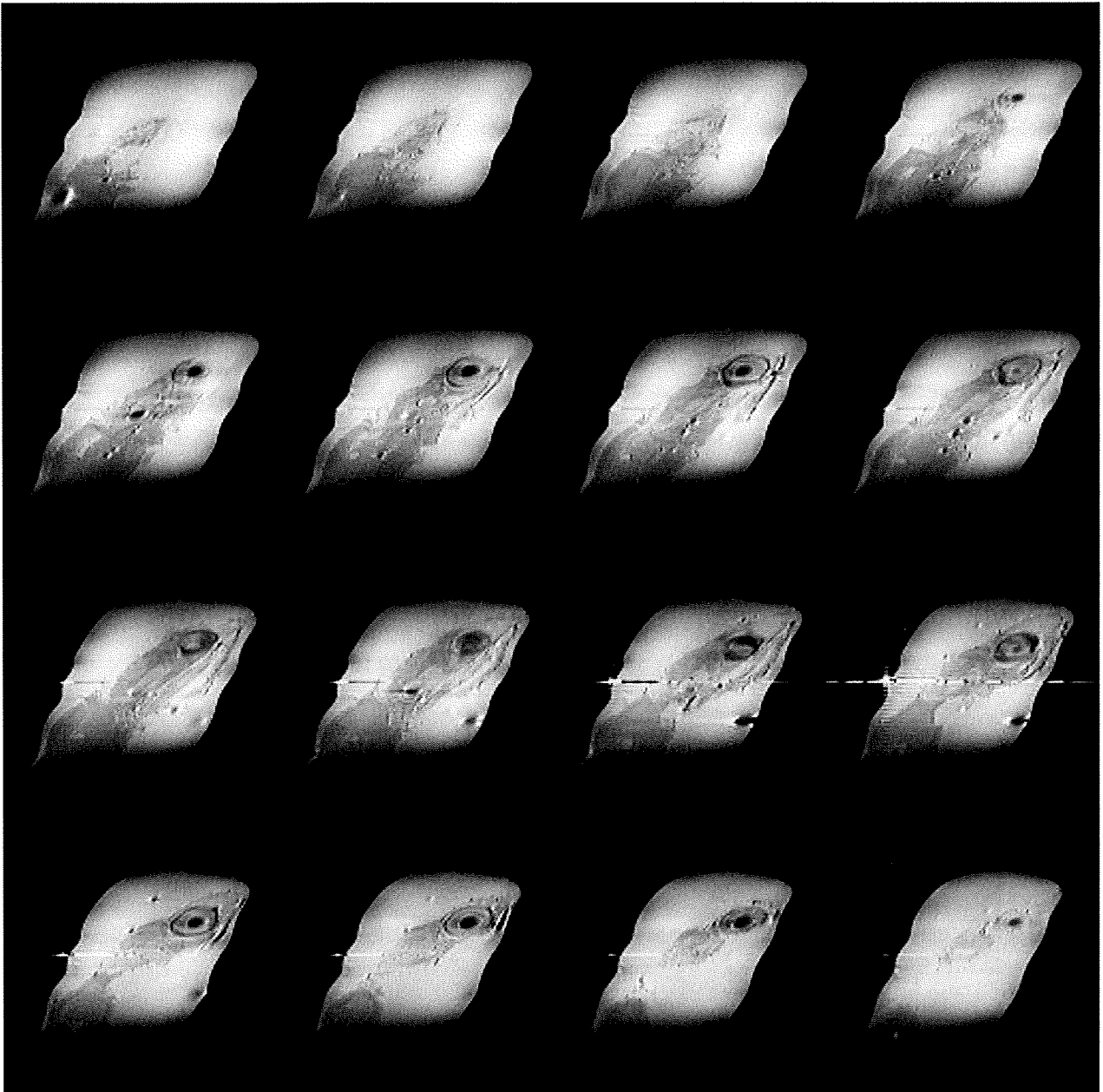
傾斜磁場コイルの制御画面

上図のLabViewにおける傾斜磁場シーケンス制御プログラムにおいて、リード1方向、フェーズ2方向の傾

斜磁場パルスのパラメータを画面上でそれぞれ指定する。

4.MRI 顕微鏡のプロトタイプ機による in-vitro の撮像実験

以下に得られた結果を示す。撮像パラメータは、TR : 4.2 秒、TE : 2msec、空間分解能 : 50 ミクロン、画像サイズ : 4096×128×256、撮像時間は約 40 時間であった。稚魚とアガロース溶液との境界のコントラストは低いものの、稚魚の内部構造は明確に確認することができた。また、信号雑音比は 200 を超えていることが分かった。



稚魚の MRI 画像

上図、上から 3 段目、右は次の画像に星状に光るアーティファクトが見られる。

上図からも分かるように、3 次元が相の中心付近に、非常に強い信号（中心点アーティファクト）が

見られた。一般的に、中心点アーティファクトはMRI信号に混入する直流成分信号が原因と考えられている。しかし、本研究の場合には、信号読み取り開始時に、FID信号曲線と見られる信号成分が、通常の信号に重畳されており、この重畳成分が原因と考えられる。

2009年度：

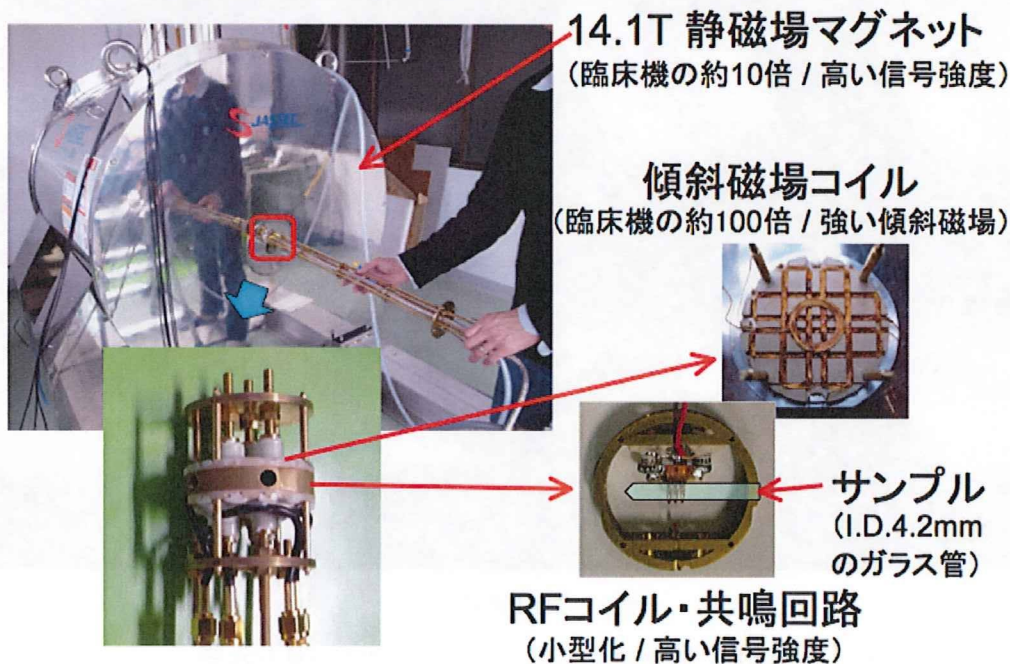
研究方法で挙げたように、1. MRI顕微鏡プローブの開発、2. MRI顕微鏡システムの開発、3. MRI顕微鏡による小型魚類の撮像の3つに分かれた研究開発の体制で研究目標の達成を目指した。結果として、メダカの3次元撮像において、20ミクロンの解像度と達成することに成功した。さらに、20ミクロンの3次元画像により、がん抑制遺伝子p53を変異させたメダカと野生型メダカにおける違いが明確になった。以下に、3つの研究開発における結果を詳述する。

1. MRI顕微鏡プローブの開発：

傾斜磁場コイルの電源に対する最適化、配線の安定化により、目標として設定した最大傾斜磁場強度3T/mを達成することができた。また、送受信NMRコイルのコンパクト化をさらに行なうことで、Q値の向上が図られた。さらに、MRI顕微鏡プローブにおける配線の非磁性エポキシ接着剤による固定、SMAコネクタとセミリジット同軸の導入、傾斜磁場コイルのボビンへの強化プラスチックの使用により、MRI顕微鏡プローブの安定稼働が達成された。

以下に、開発されたMRI顕微鏡プローブの概要を示す。

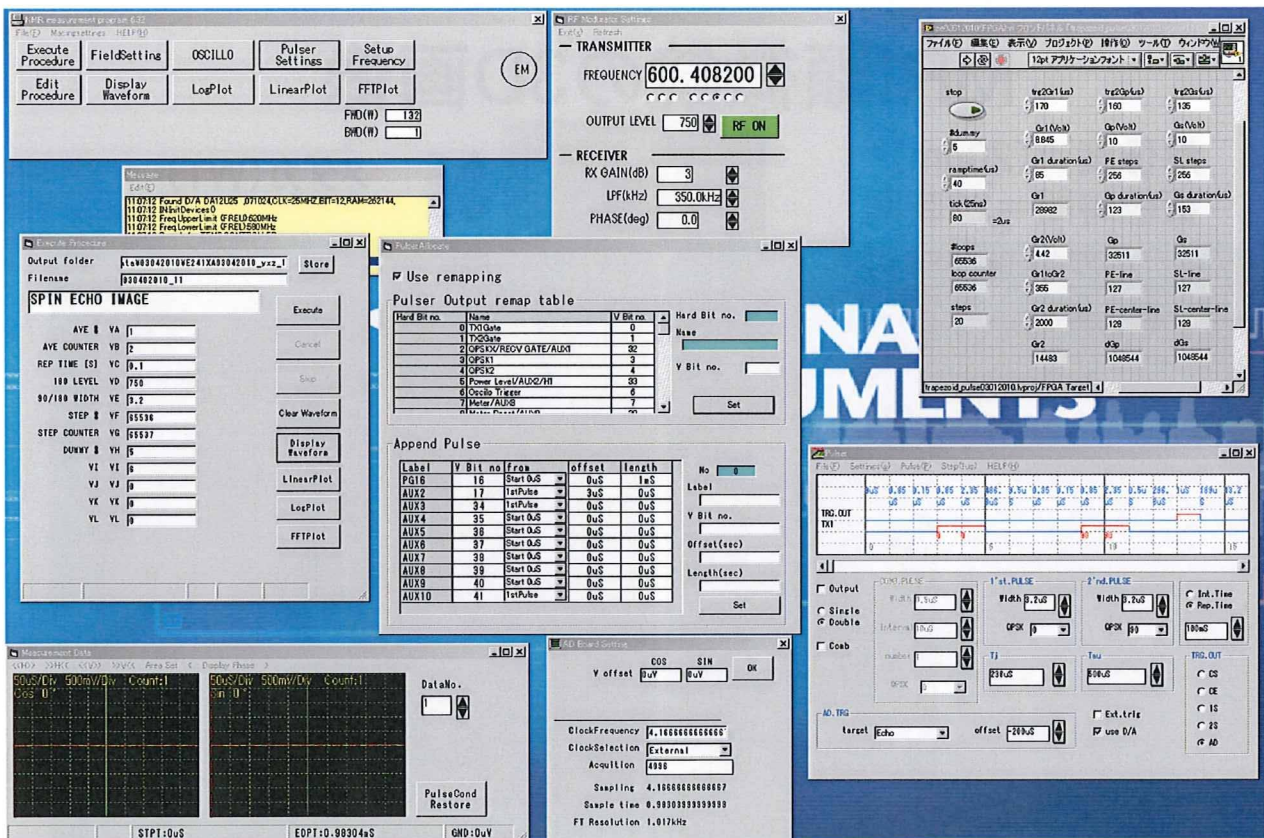
MRI顕微鏡装置の概要



上図左上には、ボア径48mmの水平ボアを持つ14.1T静磁場マグネットが見える。これに開発したMRI顕微鏡プローブを挿入して、MRI顕微鏡による撮像を行なう。上図左下にMRI顕微鏡プローブのRFコイルと傾斜磁場コイルの組み合わせた先端部の拡大写真が示されている。RFコイル/共鳴回路の部分と傾斜磁場コイルの2枚のプレートが挟み込むような形となっている。上図右中、右下に傾斜磁場コイル、RFコイル/共鳴回路の分解写真が示されている。傾斜磁場コイルは最終的にはPEEKのボビンに巻かれ（上図右中の写真は、コイルを片側のボビンに巻き終わった状態である）、非磁性エポキシ樹脂にて固定される。その後、G10の振動止と接着されて、上図左下のようにRFコイル/共鳴回路と組み合わせられる。上図右下のRFコイル/共鳴回路は中央にサンプルを入れた外径5mmのNMRガラス管を挿入し、NMRガラス管中央にある試料の信号を観測する。

2. MRI顕微鏡システムの開発：

システム制御において、昨年度開発した傾斜磁場制御プログラムに改良を加え、パルスシーケンス設定に柔軟性を持たせた。また、傾斜磁場強度の増加に伴うリングングの影響を軽減させるために、矩形から台形へと傾斜磁場パルスを変更した。画像再構成において、高解像度化に伴うFOVの拡大のため、大量のデータの読み込みと出力画像のFOVの変更を可能とした。以下に、開発されたMRI顕微鏡システムの制御画面を示す。



システム制御画面

上図中段中央のPulserAllocationと上図下段中央のAD Board SettingはNMRシステムの設定パネルである。通常の使用時には表に出していない。上図上段右のNMR measurement programが、NMRの制御を行なうメインとなっており、そこから、上図上段中央RF Modulator Settingを通じてRF周波数と出力の設定、上図中段右のPulserよりRFパルスのシーケンス設定、上図中段左のExecute procedureより、パルスの繰り返し設定を決めて、NMRシーケンス設定を行なう。得られたデータは随時Measurement Dataに表示される。上図中段右のLabVIEWによるプログラムでse03012010 (FOGA). viにおいて傾斜磁場システムの制御を行なう。傾斜磁場の立ち上がり時間とリングングを考慮して、ramp time (立ち上がり時間) として台形の傾斜磁場出力パルスの設定が可能となっている。

3. MRI顕微鏡による小型魚類の撮像：

MRI顕微鏡によって、脊椎動物のモデル生物である小型魚類のうちメダカを中心に撮像を行なった。メダカをNMR管にパラフィンにて物理的に固定することにより、20ミクロンの解像度によるメダカの3次元画像の撮像に成功した。また、信号雑音比が向上したため、撮像時間をプロトタイプ機における70時間から22時間へと短縮することができた。さらに、がん抑制遺伝子p53を変異させたメダカと野生型メダカを撮像し、野生型と変異型の表現型の違いが明らかとなった。

以下に、典型的な野生型メダカの3次元画像の一部を示す。

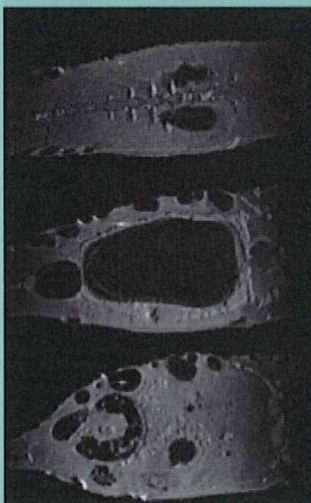
MRI顕微鏡の3D画像

解像度 = $(20\mu\text{m})^3$
撮像時間 = 22時間

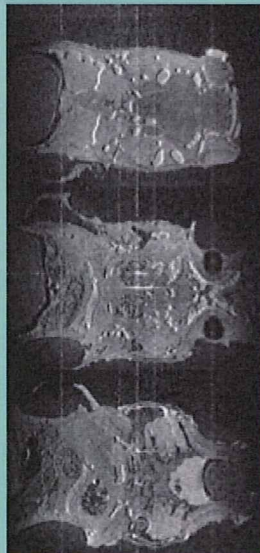


メダカ(WT)

coronal section

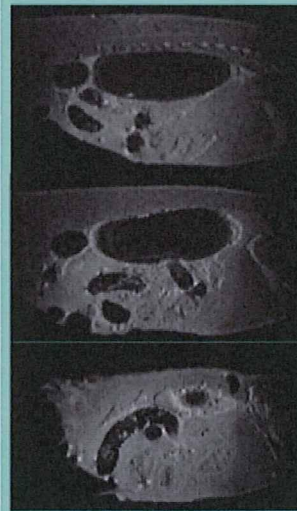


腹部



頭部

sagittal section



腹部

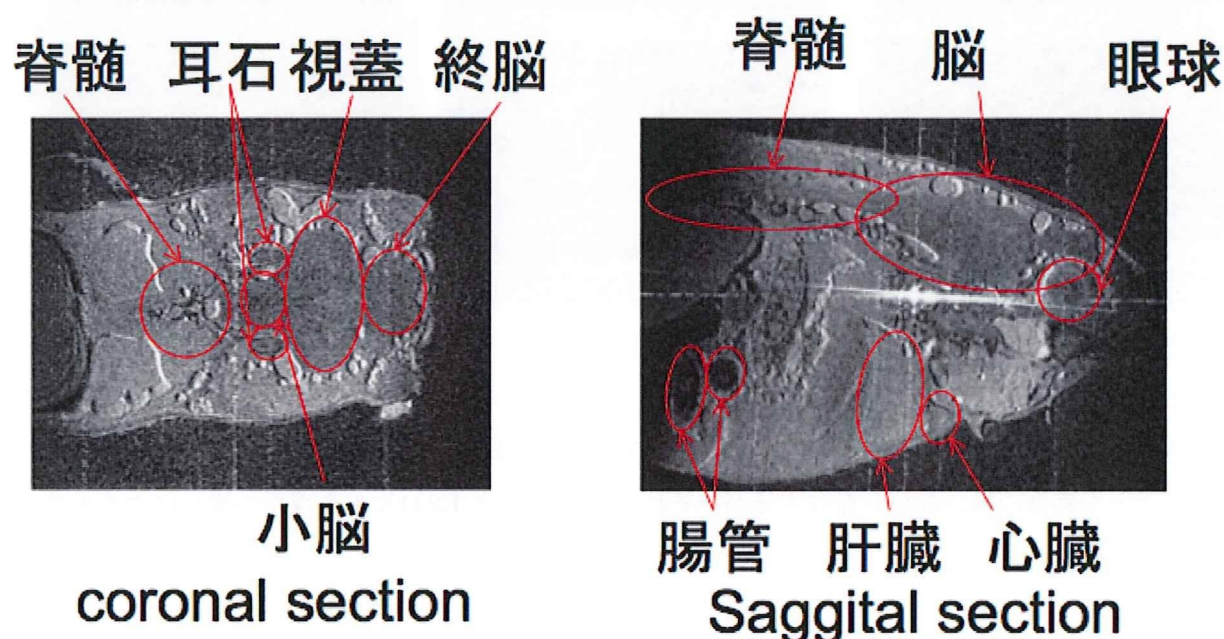


頭部

上図は、得られた野生型のメダカの 3 次元画像より、メダカの解剖学的特徴をもとに、coronal section と saggital section に合うように画像を 3 次的に回転させ、それぞれの断面を切り出したものである。また、撮像時間の関係から、腹部と頭部は別々の個体を用いて撮像されている。

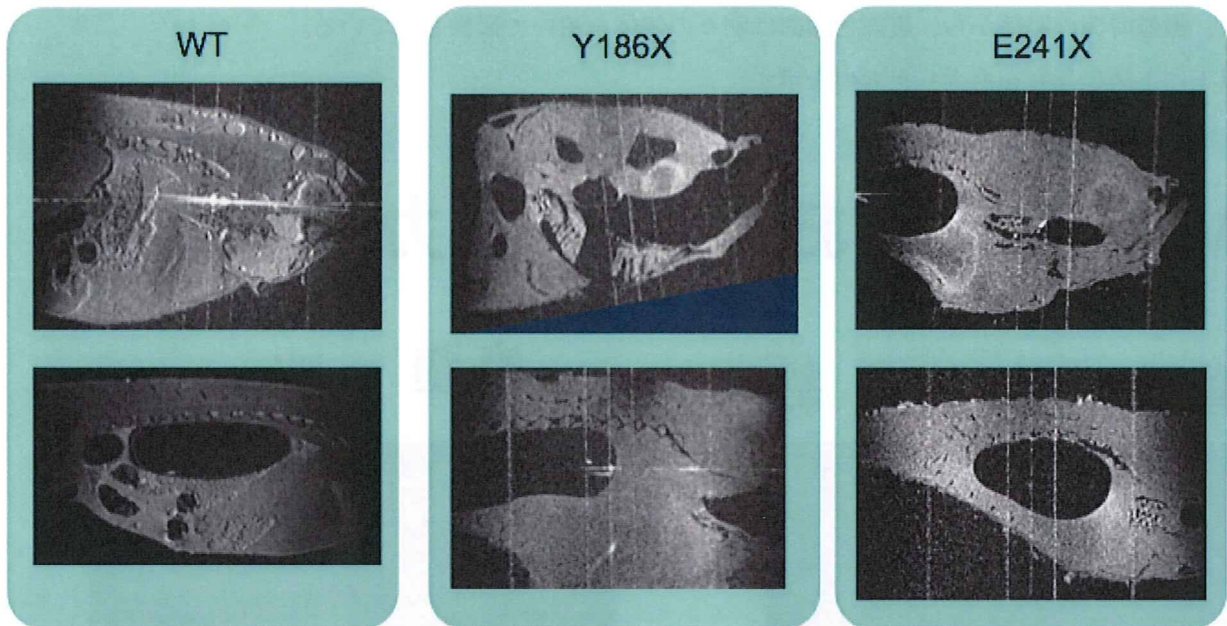
以下に上図の画像を拡大したものを示す。

MRI画像におけるメダカの解剖学



上図は、野生型メダカの頭部の coronal section と saggital section の拡大図になる。図中に示されているように、coronal section では、脊髄、耳石、視蓋、終脳、小脳の臓器が見て取れ、saggital section においては、脊髄、脳、眼球、心臓、肝臓、腸管などが明確に見て取ることができる。しかし、がん抑制遺伝子である p53 をノックアウトした変異型のメダカでは、野生型のようにはっきりとした臓器を見分けることに困難を生じた。以下に変異型のメダカ (KO) と野生型のメダカ (WT) の画像の比較を示す。京都大学大学院医学研究科放射線遺伝学教室において作成された p53 変異型メダカには変異の入り方から 2 種類存在し、Y186X と E241X と呼んでいる。今回用いたものは、ホモ型の Y186X と E241X のメダカである。図中の縦の列が右から野生型 (WT)、Y186X と E241X のメダカの saggital section の画像を示している。WT の画像と同様に、解剖学的特徴をもとに、得られた 3 次元画像を 3 次元回転させることで saggital section を得ている。図の上段が頭部、下段が腹部を示している。KO のメダカは、頭部と腹部では同一の個体を用いて撮像している。自己融解の影響を少なくするため、腹部から撮像している。

WTとKOとの比較



画像から分かるように、WTとKOの画像に大きな違いが生じている。WTとKOの比較においては、組織としての脂肪がWTよりKOの方が少ないように見える。また、KOの方が、組織コントラストが低く、さらには腸管を確認することができない。KOの比較においては、Y186Xの頭部の画像のみに穴があいたような画像の黒い部分が存在するが、それが、Y186XとE241Xの表現型の違いによるものかは結論できていない。

D. 考察

本開発課題においては、当初、生検組織の病理観察や摘出組織内へのDDSの薬剤分布の検査等を、摘出後即座に凍結せず非破壊で行うための、超高解像度、超高感度MRI顕微鏡を開発することを目標として掲げていた。しかし、最終年度における研究開発費の削減に伴い、当初予定していた傾斜磁場コイルを大電流／高電圧で駆動することができる傾斜磁場電源の開発を断念せざるを得なかった。そこで、開発2年目までに導入されている主設備に対し、RFコイルと傾斜磁場コイルの最適化を行い、MRI顕微鏡における性能向上を図ることとした。性能向上の目標を、現行の動物用MRIと比較しても最高レベルに属する空間解像度20ミクロンの達成を生体において達成することに定め直し、最終年度において、目標を達成することができた。しかし、傾斜磁場電源の開発を断念したことに加え、耐震改修工事の影響を受け、実験室の整備に時間がかかってしまったこと、大型機器の開発が遅れてしまったことも研究開発の進捗に大きな影響を及ぼしたと考えられる。

また、単年度ごとに予算が決定されて行くため、3年間を通じた研究開発計画を立てにくい状況になっていると考えられる。

以下に、各年度の研究進捗に対する考察を述べる。

2007年度：

MRI 顕微鏡室の施工、14.1 テスラ静磁場コイル開発、600MHzNMR スペクトロメータ開発、超小型プリアンプ開発を完了し、MRI 顕微鏡の開発基盤の整備を終えた。以下に5つの分担研究、1. 実験室の整備、2. 14.1T 静磁場マグネットの開発、3. 600MHzNMR スペクトロメータの開発、4. 小型前置増幅器の開発、5. ex-vivo 環境構築について、分担研究ごとの考察を述べる。

1. 実験室の整備

MRI 顕微鏡室の竣工自体は平成19年8月末であったが、北棟の竣工が平成20年3月末までずれこみ、機材の搬入等に支障が生じた。また、室外で補強工事が行なわれていたため、室内への埃の進入が大きくコイルの使用に支障があった。

2. 14.1T 静磁場マグネットの開発

水平ボアで、部材をFRPに変更したため、熱の流れが悪くなり、結露が発生したと考えられる。傾斜磁場コイルからの熱により、使用時には解消され则认为られる。耐震補強工事における磁場調整であったため、磁場均一度の再調整が必要とされる。

3. 600MHzNMR スペクトロメータの開発

24チャンネルのTTL出力により、撮像シーケンス同期が可能となったが、タイミングだけでなく、値制御が必要となる。同期したD/Aボードを加えることで解決できるとされる。

4. 小型前置増幅器の開発

作製したプリアンプは、MRI 顕微鏡用としては十分な性能を持ったものであったが、高感度である分、開発途上で故障する可能性が高いという問題点がある。しかし本年度は30個作製したため、研究期間内は問題ないと思われる。

5. ex-vivo 環境構築

受信コイルとしては、ソレノイド型コイルが最も信号ノイズ比が高いことが分かっているが、本研究の場合、サンプルに十分酸素の溶解したリングル溶液を供給するためのシャーレ作製が容易となるよう、ヘルムホルツ型を採用した。

2008年度：

解像度の更なる向上のためには、傾斜磁場強度の更なる向上と磁場均一度の向上が必要とされる。現行の磁場勾配用電源の容量は限られているので、最適化には限界があるとする。磁場補正コイルの導入により、均一度の向上は望めるとされる。また、ex-vivo環境の導入を今後進め、MRI 顕微鏡の用途として期待される非凍結病理検査を行なうにあたっての指針を作る必要がある。

4つの分担研究体制、1. RFコイル、2. 傾斜磁場コイル、3. 制御システム、4. MRI 顕微鏡のプロトタイプ機によるin-vitroの撮像実験について、それぞれ考察をまとめる。

1.RF コイル

今回作成した共振回路は、安定して共振させること、また傾斜磁場コイルのスペースを十分に確保することに重みを置いたため、磁場の外部から、インピーダンス整合及び同調の調整をすることができない。今後デザインを改良することが必要である。

2.傾斜磁場コイル

3段階の試作を重ねることによって、傾斜磁場コイルの性能の向上が測られてきた。しかし、3号機で得られた $x:0.16 \text{ T/mA}$ ($0.64 \text{ T/m} : \text{max}$)、 $y:0.14 \text{ T/mA}$ ($0.56 \text{ T/m} : \text{max}$)、 $z:0.13 \text{ T/mA}$ ($1.3 \text{ T/m} : \text{max}$) という傾斜磁場強度は目標とする 10 T/m のものに比べて低いものとなっている。この原因として、傾斜磁場コイルを駆動する高速電流アンプの出力ワット数の制限によるものが大きい。3号機では、電圧値の制限により $x:4\text{A}$ 、 $y:4\text{A}$ 、 $z:10\text{A}$ までしか掛けることができない。そこで、高速電流アンプの能力拡張が重要と考えられる。高速電流アンプの能力拡張が図られない場合であっても、現在使用している電源に対して、コイルの線材の線径とターン数を考慮することによって、コイルの抵抗値と傾斜磁場強度の最適化を図る必要がある。また強磁場中での使用のため、ボビン本体や銅線に大きな振動が生じ、断線するという事故が多発した。カプトンテープによって振動対策を行なったが、十分とは言えない。また、カプトンを巻くことによって、傾斜磁場コイルの着脱に困難が生じている。省スペースでの線材の固定と傾斜磁場コイルの取り外しの利便性を考慮したデザインを採用する必要がある。これには SMA などの強固な同軸コネクタを使用し、エポキシにてコイルボビン後と固定することを行なうことで、改善されて行くものと考えられる。

3.制御システム

NMRシステムにおいて、リードラインごとにファイルを生成し、データを保存する構造を取ったために、3次元撮像において、ファイル数/データ量とともに大量になってしまっている。これには、データの間引きや、A/Dボードにためたデータを一度に転送するなどの改良が必要となる可能性がある。これは次年度以降の検討課題である。

傾斜磁場制御システムにおいて、フェーズ方向の強度を最大値に設定したが、実際の撮像においては、Voxelサイズを立方体にするために、フェーズ方向のパルス強度を変更する必要がある。そのため、制御電圧を高速電流アンプに送る前に、ブレッドボードで抵抗分割により調整を行なった。次年度以降においては、プログラム上から値を指定できるようにする必要がある。また、フェーズ方向のパルス幅に関しても、2つの方向の傾斜磁場の値が異なるため、パルス幅を共通とせず、別々にコントロールできる方が望ましい。さらに、パルスの生成タイミングもリード、フェーズともに共通であるので、変更を加える必要がある。

現状、2台のPCでNMRシステムと傾斜磁場制御システムをコントロールしているので、1本化してユーザーフレンドリーにする必要がある。また、ユーザーインターフェースとして使いやすくなるように、別々のプログラムで動作している制御系を1本化するのが望ましいと考えられる。

4.MRI 顕微鏡のプロトタイプ機による in-vitro の撮像実験

プロトタイプ機が1日を超える長時間に渡って、動作しうることが確認できた。また、十分な信号雑音比で3次元画像の撮像が可能であることが分かった。

得られた画像中の中心点アーティファクトは非常に大きく、抑制する必要性が非常に高い。この原因は、スピネコー信号に重畳された FID 信号と考えられる。この FID 信号は位相エンコードの影響を殆ど受けていないため、位相エンコード傾斜磁場より後の 180 度パルスが原因と考えられる。プロトタイプ機で使用した RF 送受信コイルと比較すると、撮像対象はその軸方向に長いいため、コイルの均一感度領域以外にも多くのプロトンが存在していると考えられる。ソノブイのプロトンは、180 度パルスにより、180 度以下しか倒れず、FID 信号を出した可能性が高い。

この問題に関し3つの解決法が考えられる。最も単純な方法は、撮像対象を切るなどして小さくし、コイル均一感度領域のみに撮像対象を置く方式である。これは、撮像対象を破壊することになるので、一般性をもたない。

2つ目の手法は、180 度パルスの前後で一度ずつ、十分なスポイラー傾斜磁場を与えることである。しかし、MRI 顕微鏡ではボクセルサイズが小さいため、十分に強い傾斜磁場を十分に長い時間かける必要がある。例えば、現状の傾斜磁場コイル性能 1T/m で空間分解能 50 ミクロンでは、数ミリ秒、つまり TE と同等もしくはそれ以上の時間が必要となり、TE 延長及び拡散効果による信号雑音比の低下が問題となる。

3つ目の手法は RF 送受信コイルを一体型の TR コイルではなく、送信用と受信用の2つに分離し、送信コイルの送信波均一領域が受信コイルの感度領域を十分に含むように送信コイルを大きくデザインすることである。これは、現行の送受信コイルの大きさを超えて、送信コイルを大きくすることが難しいため、受信コイルを十分に小さくし、不均一領域からの信号を受信コイルが受信しないことで解決しうると考えられる。

2009 年度：

2009 年度の目標である生体組織の3次元的可視化における解像度 20 ミクロンの達成は、メダカを用いた撮像によって成し遂げられた。また、メダカの撮像において、野生型のもと p53 の変異型のものとの違いが明らかとなった。さらなる空間解像度の向上や、時間分解能の向上、アーティファクトの問題などについて3つの研究体制に基づき、考察を加える。

1.MRI 顕微鏡プローブの開発：

3 軸方向に対し、3 T/m の傾斜磁場強度が発生しうる傾斜磁場コイルを開発した。しかし、更なる空間解像度向上のためには、より強力な傾斜磁場勾配の発生が必要となる。そのためには、本年度において、導入を見送った傾斜磁場出力パルスの生成を行なう高速電流電源システムの開発が重要となる。また、メダカ等を生きたまま撮像する必要があるため、試料へのアクセスが限られるような平面型の傾斜磁場

コイルのデザインから、筒型に変更する必要がある。筒型の場合には静磁場のボアのアクセス軸を有効に用いることができる。現在の画像に見られる線状のアーティファクトは、傾斜磁場強度のない位置からの信号をひろってしまうことに起因していると考えられる。そのため、傾斜磁場強度の向上のためだけでなく、線形領域の拡大を行なうためにも、高速電流電源システムの開発が必要であり、また、ターゲットフィールド法などの採用が必要とされるであろう。RF コイル/共鳴回路に関しても、空間解像度、時間分解能向上のために更なる感度の向上が必要とされると考えられる。その場合に、現在のシングルコイルでは、感度の均一度や感度自体に限界があるために、大きな Tx コイルと小さな Rx コイルの2つのコイルによる共鳴回路を形成する必要がある。これは、結果的に FOV を狭くすることになるが、解像度向上に対して、時間短縮の効果も生むと考えられる。小さくなった FOV を補うために、Tx コイルのみを用いた降格の撮影という手法も考えられる。また、傾斜磁場や RF 磁場の不均一性からの画像の歪みについても定量的な測定を積み上げる必要がある。

2.MRI 顕微鏡システムの開発：

台形傾斜磁場出力パルスの導入により、傾斜磁場出力の立ち上がり立ち下がりにおけるリングングの問題が軽減された。しかし、十分ではないので、更なるリングング防止のために、リングングに対してカウンターに効くパルス波形の生成を行なう必要があると考えられる。また、現在の撮像シーケンスはスピネコー法に限っても、決まった方向の2次元投影か3次元撮像しか行なうことができない。そこで、撮像シーケンスの多様化を図るべく、スライス、任意断面の2次元投影などといった撮像が可能となるように傾斜磁場システムの構築を図る必要がある。現在の時間分解能の足かせになっているのは、信号取り込み時における PC の介在である。この問題を解決するためには、AD ボード上で全て処理するか、PC 上での書き込み方法を高速化するなどが考えられる。

3.MRI 顕微鏡による小型魚類の撮像：

メダカにおける野生型と2種類の p53 変異型の3次元撮像により、p53 の発現の違いによるメダカの内部状態の違いが明らかになった。さらに、ガンの発生/転移メカニズムの理解につなげるためには、撮像法の改良が重要になると考えられる。現在は安楽死させたメダカをそのまま撮像することが主である。この場合、撮像時における自己融解による影響を免れることができない。そこで、組織固定法と MRI 顕微鏡を組み合わせることが必要と考えられる。その際に、固定法により、タンパク質の架橋/凝固/脱水などによる組織の状態、固定の速度や強度が異なるため、様々な固定法を比較検討する必要がある。さらには、p53 変異型の特異的な状態が発現されているとすれば、それを残すような固定法を考える必要がある。また、固定したメダカの MRI 画像と同一の個体から切片を作り、比較検討を加えることによって、撮像パラメータの最適化も行う必要がある。固定だけでなく、メダカを麻酔状態におき、生きたまま撮像することによって、同一個体の経時変化についても画像化する必要がある。また、氷等で気絶させている間に2次元スライス画像によって撮像することにも全体の撮像時間を短くして、時間分解能

を高くした画像が得られるという利点があると考えられる。また、現在は静磁場の不均一度が高いため、様々なパラメータをふって、T1 強調画像、T2 強調画像、拡散強調画像などのコントラストの高い画像が得られていない。そこで、MRI 顕微鏡プローブ/MRI 顕微鏡システムとも連動して、静磁場の均一度を高め、異なる種類の組織コントラストが得られるようにする必要があると考えられる。

F. 結論

3 年間に渡って、MRI 顕微鏡の開発を行なった。開発の年次経過は以下の通りである。

2007 年度：MRI 顕微鏡室の施工、14.1 テスラ静磁場コイル開発、600MHzNMR スペクトロメータ開発、超小型プリアンプ開発を完了し、MRI 顕微鏡の開発基盤の整備を終えた。ex vivo 環境の構築に関し、検討を加えた。

2008 年度：600MHz の共振回路 (Q 値 73) の作成、最大 1T/m の傾斜磁場強度 (最大値：x : 0.64 T/m、y : 0.56 T/m、z : 1.3 T/m) を達成できる傾斜磁場コイルの開発、MRI 顕微鏡のプロトタイプ機のシステムの構築によって、MRI 顕微鏡のプロトタイプ機を開発を終えた。MRI 顕微鏡のプロトタイプ機によって、in vitro 撮像実験を行ない、空間解像度 50 ミクロンを達成した。

2009 年度：MRI 顕微鏡プローブの開発の開発をさらにすすめ、3 方向に 3 T/m の傾斜磁場強度を持つ傾斜磁場コイル、コンパクト化した共振回路 (Q 値 100~120)、安定した構造が開発された。傾斜磁場出力パルスを台形に変更し、自由度の高い傾斜磁場出力システムを開発した。

開発された MRI 顕微鏡により、22 時間での解像度 20 ミクロンによるメダカの 3 次元画像の撮像に成功した。また、がん抑制遺伝子 p53 を変異させたメダカと野生型メダカの画像を比較することにより、p53 の発現の違いによるメダカの内部の違いが明らかとなった。これにより、開発を行ってきた MRI 顕微鏡の基礎医学/基礎生物学の分野における有用性が示唆されたと考えられる。臨床応用や基礎医学/基礎生物学における有効性を高めるためにも、更なる空間解像度の向上と時間分解能の向上が必要と考えられる。

G. 研究発表

1. 論文発表

著者名：上野智弘、福山秀直

論文標題：超高感度 MRI 顕微鏡

雑誌名：炎症と免疫

査読の有無：無