

laser speckle imaging to validate the localization of the CBF response to whisker stimulation under awake conditions (Experiment III).

2. Results

2.1. Simultaneous recordings of CBF and animal locomotion

Fig. 2 shows the representative raw data on simultaneous recordings of CBF and locomotion obtained from single animal experiments. Upon whisker stimulation, CBF was transiently increased and had a peak of about 20% relative to baseline. The magnitude of the evoked response is distinguished relative to the baseline fluctuations (Fig. 2A). In some trials, a slight increase in baseline CBF was observed with an incidence of spontaneous grooming (i.e., self-stimulation to whiskers) (Fig. 2B). This spontaneously induced fluctuation was balanced after averaging all 8 trials and the stimulus-induced CBF change was obtained.

2.2. Experiment I: Daytime vs. nighttime

A comparison of the results obtained from daytime and nighttime experiments ($n=7$ animals) showed no significant differences in evoked CBF and locomotion between the two conditions (Fig. 3A and B). The mean amplitude of evoked CBF was $24\pm12\%$ and $23\pm6\%$ for daytime and nighttime conditions, respectively. In contrast, a slightly higher locomotion activity during pre-stimulus baseline periods was observed in nighttime relative to daytime (0.13 ± 0.11 and 0.11 ± 0.09 , respectively), although there were no statistically

significant ($P>0.05$). Population data consistently showed an equivalent response magnitude of evoked CBF (Fig. 3C) and average 1.4 ± 0.8 times higher locomotion (Fig. 3D) during nighttime despite relatively large variations in the locomotion across seven animals.

2.3. Experiment II: Longitudinal measurements

A reproducible and stable response of evoked CBF was consistently observed across the 7-day experiments ($n=7$ animals). The mean amplitude of evoked CBF was $21\pm7\%$, $19\pm5\%$, $17\pm4\%$ and $17\pm5\%$, on days 1, 3, 5, and 7 after operation day, respectively (Fig. 4A and 4C). In contrast, higher variations were observed for the locomotion results. Mean of baseline locomotion was 0.09 ± 0.09 , 0.21 ± 0.14 , 0.26 ± 0.29 and 0.11 ± 0.11 (arbitrary unit) on days 1, 3, 5, and 7 after operation day, respectively (Fig. 4B and D). The statistically significant difference was observed for the locomotion between day 1 and day 3 (Fig. 4B and D), but not for other dates. This variation in the locomotion was mainly due to inter-subject variations across different days; 0.15 ± 0.11 , 0.23 ± 0.17 , 0.19 ± 0.29 , 0.41 ± 0.33 , 0.29 ± 0.16 , 0.20 ± 0.20 and 0.21 ± 0.11 , averaged over 7-day experiments in individual seven subjects. Statistically significant differences ($P<0.05$) were found in four of seven animals for the reproducibility of the locomotion (Fig. 4D). In contrast, the inter-subject variation in evoked CBF was considerably small; $17\pm2\%$, $16\pm1\%$, $13\pm1\%$, $14\pm2\%$, $17\pm1\%$, $26\pm4\%$ and $24\pm3\%$. For the reproducibility of evoked CBF, none of the subjects showed statistical significances over 7-day experiments (Fig. 4C). Consequently, a coefficient of variance (i.e., SD / mean) for the evoked CBF measured across subjects (0.24 – 0.32 ; a median of 0.27) was two to three-times higher than that obtained for single subjects on different experiment days (0.08 – 0.16 ; a median of 0.11).

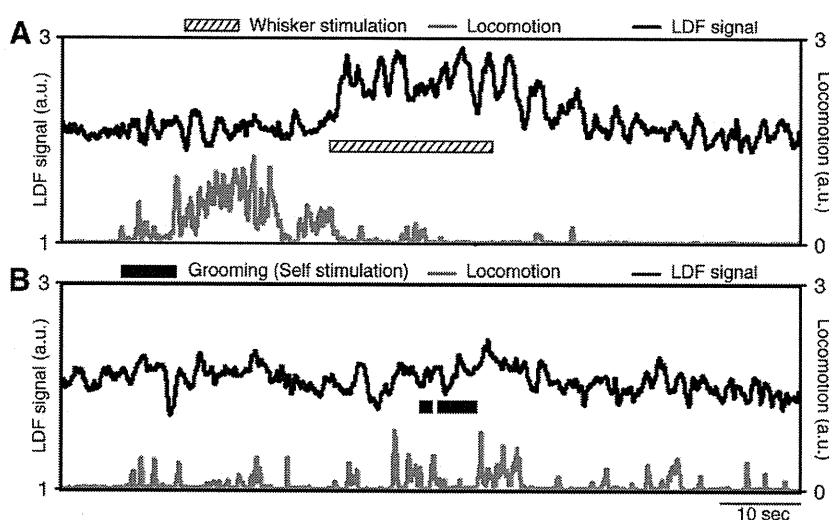


Fig. 2 – Simultaneous recordings of cerebral blood flow and locomotion. Representative raw data showed the time-course of CBF (black) and locomotion (gray) obtained from a single-trial measurement. (A) After the induction of air puff whisker stimulation (10 Hz and 20 s), a transient increase in CBF was observed. The stimulation-induced increase in CBF was readily identifiable relative to the baseline fluctuations. (B) In some trials, a slight increase in baseline CBF was observed in accordance with an incidence of spontaneous grooming, i.e., self-stimulation to whiskers (thick black bar). These random changes in baseline CBF were balanced by averaging eight stimulus trials.

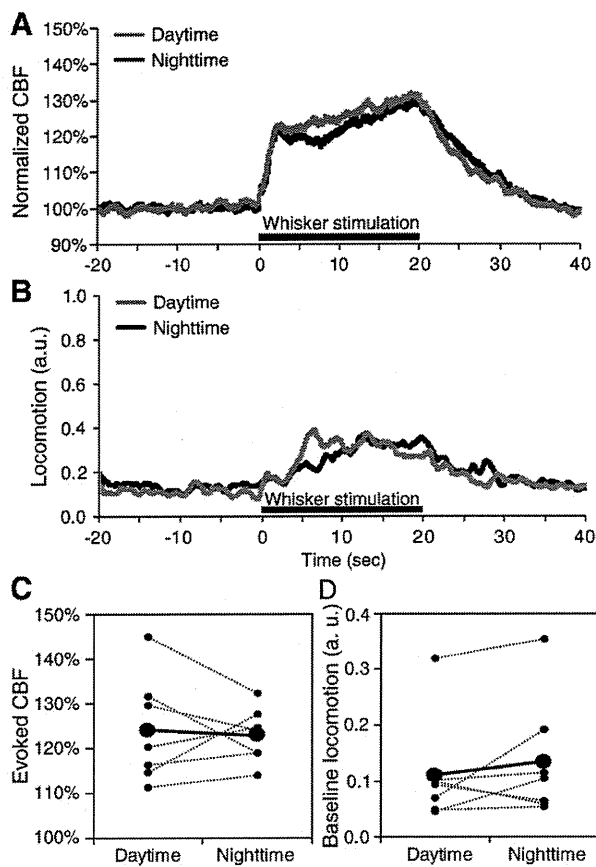


Fig. 3 – CBF and locomotion during daytime and nighttime conditions. (A) A similar time-course of CBF response to whisker stimulation (thick black bar) was observed between daytime (gray line) and nighttime (black line) conditions. CBF level was reported by normalizing the LDF signal with the pre-stimulus baseline. Each response curve represents a mean of all subject data ($n=7$ animals). (B) Locomotion was also similar between the two conditions but a slightly higher baseline was observed under the nighttime condition. (C) Population data showed a consistent peak amplitude of evoked CBF measured during daytime and nighttime conditions. Each dot represents data from a single animal. A bold spot and line represents the mean of all data. (D) Baseline locomotion was 1.4 times higher under the nighttime condition relative to the daytime condition, although there were no significant differences ($P>0.05$) between daytime and nighttime conditions.

These results consistently showed stable and reproducible measurements of evoked CBF despite the relatively large day-to-day variations in locomotion.

2.4. Experiment III: CBF mapping

Fig. 5A represents the intensity distribution of speckle pattern obtained during resting periods (without stimulation and no locomotion) in a representative single animal. A high intensity area in which pixel intensity represents the high mean blur rate (MBR) was observed along the cortical blood vessels

visible on the surface, which is consistent with a previous report (Matsuo et al., 2008). The preserved pattern of the vascular map was reproducibly depicted after 1 week measured in the same representative animal (Fig. 5A'). Also, the well-localized CBF response to whisker stimulation was observed after dividing the frame obtained at activation peak time with pre-stimulus baseline (Fig. 5B). The activation area appeared differently from a pattern of the cortical surface

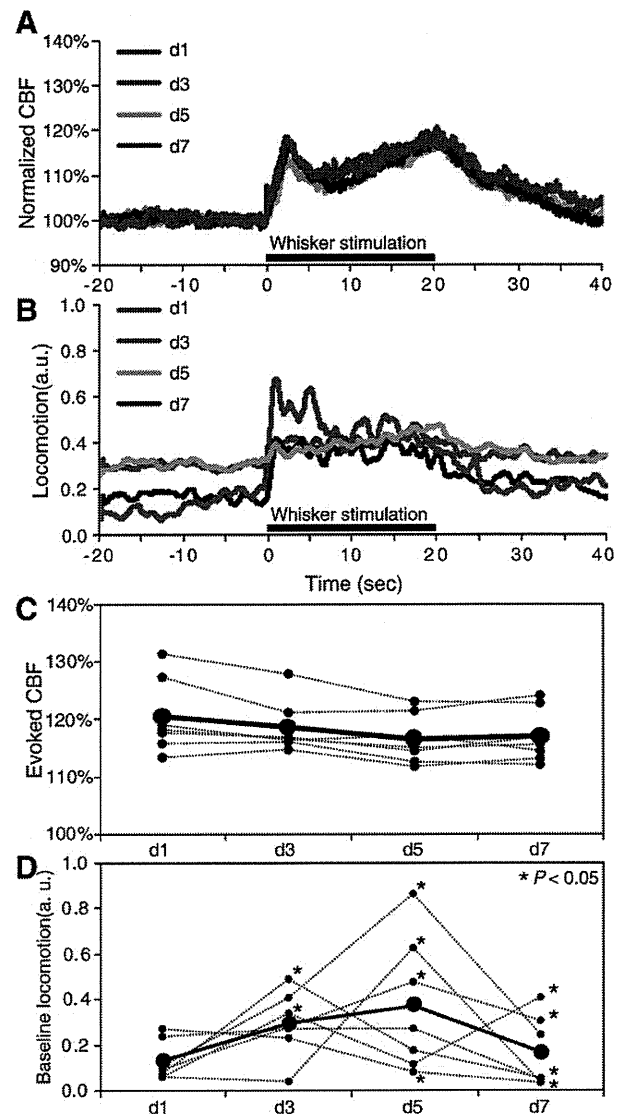


Fig. 4 – Longitudinal CBF and locomotion measurements. (A) Evoked CBF response to whisker stimulation was consistently observed from day 1 (d1) to day 7 (d7). CBF level was reported by normalizing the LDF signal with pre-stimulus baseline. Each response curve represents the mean of all data ($n=7$ animals). (B) In contrast, locomotion varied from day to day. (C and D) Population data consistently showed a reproducible and stable response of evoked CBF (C) despite the relatively large variations in locomotion activity (D). Each dot represents data from a single animal and a bold spot and line represents the mean of seven animal data.

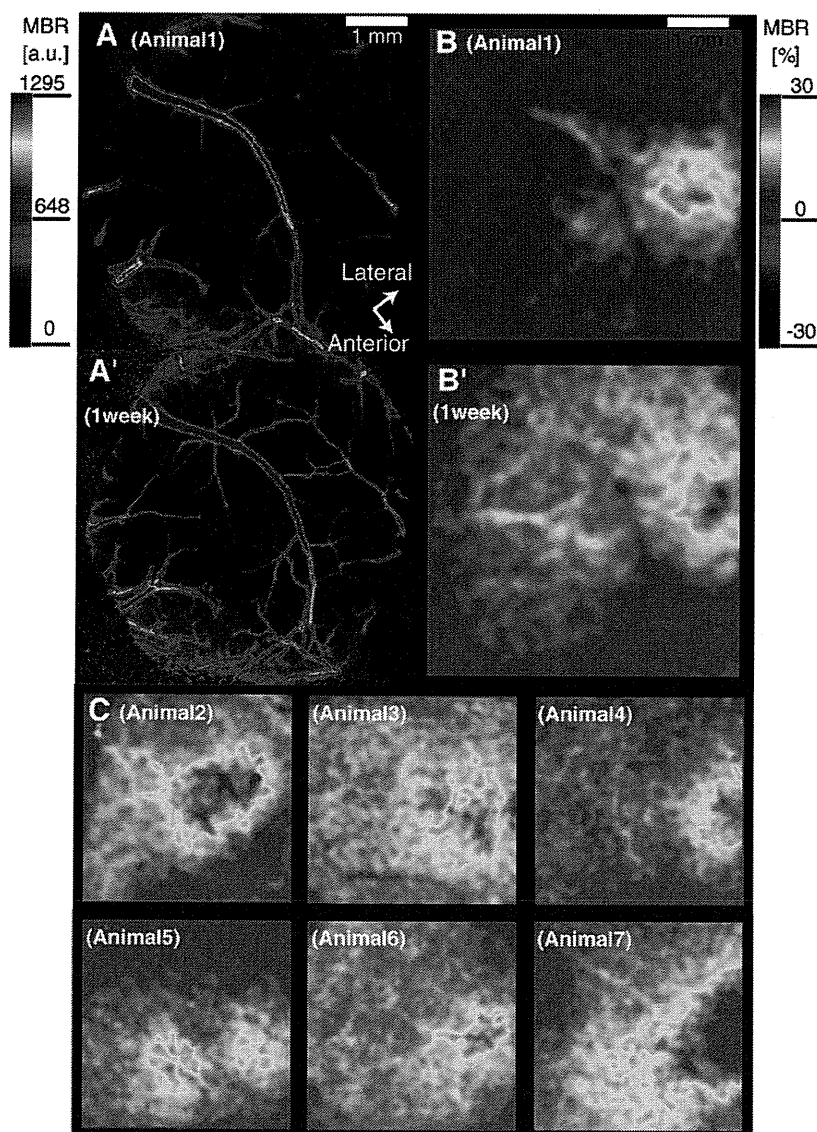


Fig. 5 – Mapping of cerebral blood flow with laser speckle imaging. (A) Representative image of speckle contrast acquired at resting condition. A vascular tree on the cortical surface appeared as high intensity pixels. Color bar indicates the mean blur rate (MBR). **(B)** Stimulation-induced changes in CBF obtained from the same animal shown in panel (A). Red color area indicates a large increase in CBF induced by whisker stimulation relative to pre-stimulus level. The same experiment was repeated after 1 week (**A'**, **B'**). The images represent the reproducible pattern of vascular tree and stimulus-induced localization of CBF response. **(C)** Stimulus-induced CBF map obtained from other 6 animals (animals 2–7, from left top to right down). A well-localized map of the CBF response to whisker stimulation was consistently obtained in the barrel area of the somatosensory cortex. Color bar indicates relative changes (%) in MBR from pre-stimulus baseline.

vessels (see Fig. 5A), indicating that the MBR signals arise from parenchyma microcirculation. This localized CBF response was consistently observed after 1 week (Fig. 5B'). The other 6 animals also consistently showed well-localized CBF map in the somatosensory barrel area in response to whisker stimulation (Fig. 5C). The location and sizes where the greater signal changes were observed were matched to those of the receptive field in the primary somatosensory cortex responsible to the right whiskers (Paxinos and Franklin, 2001).

3. Discussion

The present study showed a stable and reproducible response of CBF induced by whisker stimulation in awake mice in despite of variable animal locomotion between daytime and nighttime (Fig. 3) and over a week (Fig. 4). The findings indicate that the effect of locomotion on hemodynamic response in the barrel cortex is negligible. In contrast, the modulatory effect of locomotion on visually evoked cortical activity was reported in

similarly conducted awake mice experiments (Niell and Stryker, 2010). The discrepancy between that study and the present study could be due to a different cortex measured (visual vs. somatosensory cortex) and/or the differences in methodological approaches (electrophysiological recording vs. hemodynamic measurements). In rat barrel cortex, electrophysiological studies have shown a slight decrease in evoked neural response to single stimulation during voluntary motor activity relative to quiet immobility states, but highly sensitive to multiple stimuli with short intervals (i.e., high frequency) (Fanselow and Nicolelis, 1999). According to their reports, stimulation with 10 Hz, applied in the present study, induced relatively similar neural responses between with and without locomotion conditions, which is in good agreement with the present results. Another possibility is that we measured CBF as a surrogate of neural activity, whereas the previous study performed direct electrophysiological recording. The methodological differences should be considered, since it was shown that a vascular signal originates from a subset of neural population activity (Kocharyan et al., 2008). Also, nonlinear coupling between neural and vascular activity was generally known such as a threshold relationship (Nemoto et al., 2004; Nielsen and Lauritzen, 2001; Sheth et al., 2004). A correct understanding of the signal sources in hemodynamic-based neuroimaging is therefore further needed specifically for awake behaving animals.

We observed a slightly higher locomotion activity during nighttime relative to daytime (Fig. 3). This result was in good agreement with a previous report measured in Sprague-Dawley rats (Wauschkuhn et al., 2005). In our experiments, average 18% and 38% of trials detected the spontaneous locomotion (i.e., moving and/or searching) during pre-stimulus periods under daytime and nighttime conditions, respectively. This indicates that a higher locomotion observed in our results reflects a higher chance of locomotion per unit time, but less increase in walking velocity. Upon stimulation, this probability increased to 59% and 70% of trials under daytime and nighttime conditions, respectively. Although the reason why the animal starts to move associated with the stimulation onset is not clear, one may speculate that the animal felt something by the induction of stimulation and started to explore it. Although we observed higher locomotion activity under nighttime conditions, no detectable difference in CBF response was observed between both two conditions. This result further indicates that the vascular mechanism for CBF response to neural activity is locally managed, which is consistent with well-known neurovascular coupling observed in anesthetized rodents (Masamoto et al., 2007).

The pros and cons of hemodynamic neuroimaging in an awake behaving animal model should be discussed. First, awake models have advantages in the absence of possible confounding factors due to the anesthetic action on neurovascular physiology. For example, a role of nitric oxide on neurovascular coupling was reported to be different in anesthetized (α -chloralose) and unanesthetized conditions (Nakao et al., 2001). It was shown that different anesthetics and anesthesia depths produced different neurovascular coupling (Franceschini et al., 2010; Masamoto et al., 2007; Masamoto et al., 2009). Therefore, maintaining a constant

level of anesthesia for a period of imaging sessions and across subjects is critically important for the reproducibility of hemodynamic imaging in anesthetized animals (Austin et al., 2005; Hyder et al., 2002). Second, awake models make it relatively easy to perform longitudinal experiments over days or weeks. Some of the anesthetic agents which are conventionally used for neurovascular coupling studies, such as α -chloralose and urethane, are not allowed for use in survival experiments. In contrast, awake models allow for repeated longitudinal measurements with a highly reproducible manner, as shown in the present results. In the present study, we found no time-dependent effects on the longitudinal CBF responses over 1-week experiments (Fig. 4), such as due to adaptation to repeated stimulation. This could be due to limited short time-window. Future studies should test the reproducibility over extended periods, i.e., several weeks and months, to probe the plastic changes in neurovascular coupling. Third, awake models have big advantages on cognitive research that are not possible under an anesthetized condition. A recent study has successfully demonstrated the motor cortex of behaving mice engaged in cognitive tasks with two-photon imaging of cellular calcium dynamics (Komyama et al., 2010). This study shows that spatiotemporal imaging of behaving animal brain is a powerful way to understand the molecular/synaptic mechanism of cognitive functions and also the pathogenesis of neurodegenerative disorders. Finally, robust changes in hemodynamic signals induced by sensory stimuli have been consistently reported in awake condition compared to the anesthetized condition in the rodents (Berwick et al., 2002; Lahti et al., 1999; Martin et al., 2006; Peeters et al., 2001). As shown in the present study, the reproducibility and robustness of the evoked hemodynamic responses in the awake mouse barrel cortex are preferential features for longitudinal studies of neurovascular plasticity, such as during growth, development, and aging. However, behaving animal imaging has the potential drawback that i) an animal needs to be restrained which potentially stresses the animal despite adaptation to the experimental condition, ii) the image was distorted by animal motion, which becomes critical in the micro-scale of cell imaging (Dombeck et al., 2007), and iii) an imaging signal may vary depending on the active and passive sensing states (Crochet and Petersen, 2006). These drawbacks should be considered in future works with awake behaving mice.

The other advantages of using longitudinal mouse models are that mice have a short lifecycle among the species that have been used for neurovascular imaging studies. This feature enables us to track their evolution in a relatively cost-effective manner and engineer a variety of gene-manipulated animals during a comparatively short period. It should be noted that previous studies have revealed a significant contribution of specific molecules to neurovascular signal transduction using gene-knockout mouse models, such as the null mutant of nitric oxide synthase, cyclooxygenase, and tissue plasminogen activator (Kitaura et al., 2007; Ma et al., 1996; Niwa et al., 2000, 2001; Park et al., 2008; Yang et al., 2003). Further studies of longitudinal neurovascular and related behavioral measurements with gene-manipulated mouse models would provide

valuable information on the pathogenesis and therapeutic approaches in a variety of neural disorders (Mayanagi et al., 2008; Takeda et al., 2009).

4. Experimental procedures

4.1. Animal preparation

A total of 21 male C57BL/6J mice (20–30 g, 7–11 weeks; Japan SLC, Inc, Hamamatsu) were used in three separate experiments: daytime-nighttime experiments (*Experiment I*, $n=7$), longitudinal experiments (*Experiment II*, $n=7$), and CBF mapping experiments (*Experiment III*, $n=7$). The animals were housed in a 12-hour dark and 12-hour light cycle room at a temperature of 25 °C with ad libitum water and feed. All experimental protocols followed the institutional guideline on humane care and use of laboratory animals and were approved by the Institutional Committee for Animal Experimentation.

For the surgical procedure, animals were anesthetized with a mixture of air, oxygen, and isoflurane (3–5% for induction, and 2% for surgery) through a facemask. The animals were fixed in a stereotactic frame and the rectal temperature was maintained at 38 °C using a heating pad (ATC-210, Unique Medical Co. Ltd., Japan). A midline incision (10 mm) was made to expose the skull over the left somatosensory cortex. The skull (3 mm by 3 mm centered at 1.8 mm caudal and 2.5 mm lateral from the bregma) was thinned to translucency using a dental drill. A custom-made metal plate with a 7-mm diameter hole in the center was attached to the skull with dental resin. After completion of the surgery, the animals were allowed to recover from anesthesia and housed for at least 1 day before initiation of the experiments.

4.2. Experimental protocols

Animals were initially anesthetized with 1–2% isoflurane to fix the animals in the experiment apparatus. A head plate mounted on the animal's skull was attached to a custom-made stereotactic apparatus (Fig. 1) in reference to the method of Dombeck et al. (2007). Animals were secured on a ball (98 mm in outer diameter) made of styrofoam (9 g) and then the isoflurane anesthesia was discontinued. The ball was floated in inside perforated cup (100 mm in inner diameter) by a jet of air produced with a motor-powered propeller from beneath the cup. This allowed for the animals to exercise freely on the ball while the animal's head was fixed in an apparatus. An air outlet (4 mm in inner diameter) was placed in front of the tip of the nose at a distance of 10–20 mm. An air puff was delivered to the entire right whiskers at a pressure of ~15 psi via a compressed air bottle. A rectangular pulse stimulation (50-ms pulse width and 100-ms onset-to-onset interval, i.e., 10-Hz frequency) generated with a Master-8 (A.M.P.I) was induced for a 20-s duration. In each experiment, eight consecutive trials were repeated with an onset-to-onset interval of 120 s. The recording was started after approximately 30 min from the cessation of anesthesia to stabilize the experimental conditions. The recording took 30 min including 10 min for resting baseline measurements (without whisker stimulation).

Three experiments were conducted in three separate groups of awake animals. In *Experiment I*, CBF and animal locomotion were compared between daytime (12 pm to 2 pm) and nighttime (12 am to 2 am) conditions. In *Experiment II*, CBF and locomotion were measured every other day for 7 days. In *Experiment III*, CBF mapping in response to whisker stimulation was performed. In some experiments, animal behavior (e.g., grooming, self-motion of whiskers, and rest) during recording was also videotaped with a digital camera for later reference.

4.3. Locomotion detection

Animal locomotion was measured by monitoring rotation of the ball on which the animal was placed (Fig. 1). Rotational position was detected using an optical computer mouse with a spatial resolution of 0.3 mm in the X–Y axis every 0.1 s. Walking distance of the animal was then calculated with custom-built software and the digitalized information was sent to a polygraph data acquisition system (MP150, BIOPAC Systems, Inc., Goleta, CA) via digital-analog converter. The data on walking distance were recorded at a rate of 100 Hz with data acquisition software (AcqKnowledge, Biopac Systems, Inc., Goleta, CA).

4.4. Laser-Doppler flowmetry

Dynamic changes in CBF were monitored with laser-Doppler flowmetry (FLO-C1, OMEGAWAVE, Inc., Tokyo, Japan). The tip of the LDF probe (Type NS, OMEGAWAVE, Inc., Tokyo, Japan) was positioned on the thinned skull perpendicular to the surface of the brain while avoiding large blood vessel areas. The activated hot spot was preliminarily determined by screening the response to whisker stimulation at several points in the somatosensory area. Then, the X–Y position of the LDF tip was marked on the edge of the cranial window for reproducible placement of the LDF tip. The angle of the LDF probe to the cortex was fixed with the manipulator, perpendicular to the thinned skull surface. Also, the distance between LDF tip and surface of the cranial window was maintained among the different experiments. In each experiment, the consistent level of the reflected light signal for the LDF measurements was confirmed before initiation of the recording. A time constant of the LDF instrument was 0.1 s, and the LDF value (i.e., a representation of CBF) was recorded with analog data recorder (AcqKnowledge, Biopac Systems, Inc., Goleta, CA) at a rate of 200 Hz.

4.5. Laser speckle imaging

CBF mapping was performed using a laser speckle imaging technique as previously described (Matsuo et al., 2008). The thinned skull area was illuminated with a laser diode at 780-nm wavelength, and reflected light was measured with a CCD camera (400 by 400 pixels) from the top of the cortex (dorsal view) through a microscope. Because a speckle pattern gets blurred with an increase in motion (i.e., red blood cell speed), the mean blur rate (MBR) was measured to map CBF level (Konisi et al., 2002). Four by four adjacent pixels with six consecutive frames were used to calculate MBR (Matsuo et al., 2008), resulting in an image resolution of 100 by 100 pixels and

a frame rate of five frames per second. Stimulation-induced CBF responses were represented by dividing the MBR in each frame with that of the frame just before the onset of stimulation on a pixel by pixel basis. Since laser speckle technique is sensitive to movement of the illuminated cortex (i.e., motion artifacts), this technique is suited to validate the localization and quality of hemodynamic imaging in awake behaving animals.

4.6. Data analysis

CBF and locomotion signals were simultaneously recorded using a biopac system that was synchronized with Master 8 at the onset of whisker stimulation (Fig. 1). CBF and locomotion data were analyzed offline. For the CBF time-course data, the LDF signal was first down-sampled to 40 Hz to reduce data size and random noise, and normalized toward a baseline level (20-s pre-stimulus data) in each trial. The time-course data in each trial was then averaged across all trials in each animal. Evoked CBF amplitude was reported by measuring the peak value within 5 s after the onset of stimulation and was represented as a % change relative to the pre-stimulus baseline. Locomotion was measured by calculating the mean walking distance (per 0.1 s) during pre-stimulus baseline periods (20 s) in each trial and averaged for all trials in each animal. For the statistical analysis, student's t-tests were performed for data of subject to subject variations between daytime and nighttime in *Experiment I*, across different days (vs. day 1) in *Experiment II*, and also data of inter-subject variations across different days (vs. day 1) for the reproducibility experiments in *Experiment II*. The obtained values are reported as the mean \pm standard deviation if not otherwise specified.

Role of the funding source

The study was supported by Special Coordination Funds for Promoting Science and Technology (K.M.), and KAKENHI from Japan Society for the Promotion of Science in Japan (T.O.). There are no roles of the sponsors on the conduct of the research or preparation of the article.

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest.

Acknowledgments

The authors thank Dr. Hiroshi Kawaguchi, Ms. Kyoko Yamazaki, Mr. Naotaka Sakashita, and Mr. Kosaku Tsujii for discussion and assistance with the experiments.

REFERENCES

Austin, V.C., Blamire, A.M., Allers, K.A., Sharp, T., Styles, P., Matthews, P.M., Sibson, N.R., 2005. Confounding effects of anesthesia on functional activation in rodent brain: a study of

halothane and alpha-chloralose anesthesia. *Neuroimage* 24, 92–100.

Berwick, J., Martin, C., Martindale, J., Jones, M., Johnston, D., Zheng, Y., Redgrave, P., Mayhew, J., 2002. Hemodynamic response in the unanesthetized rat: intrinsic optical imaging and spectroscopy of the barrel cortex. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 22, 670–679.

Boorman, L., Kennerley, A.J., Johnston, D., Jones, M., Zheng, Y., Redgrave, P., Berwick, J., 2010. Negative blood oxygen level dependence in the rat: a model for investigating the role of suppression in neurovascular coupling. *J. Neurosci.* 30, 4285–4294.

Carmignoto, G., Gómez-Gonzalo, M., 2010. The contribution of astrocyte signalling to neurovascular coupling. *Brain Res. Rev.* 63, 138–148.

Cauli, B., Tong, X.K., Rancillac, A., Serluca, N., Lambolez, B., Rossier, J., Hamel, E., 2004. Cortical GABA interneurons in neurovascular coupling: relays for subcortical vasoactive pathways. *J. Neurosci.* 24, 8940–8949.

Chaigneau, E., Tiret, P., Lecoq, J., Ducros, M., Knöpfel, T., Charpak, S., 2007. The relationship between blood flow and neuronal activity in the rodent olfactory bulb. *J. Neurosci.* 27, 6452–6460.

Colonnese, M.T., Phillips, M.A., Constantine-Paton, M., Kaila, K., Jasanoff, A., 2008. Development of hemodynamic responses and functional connectivity in rat somatosensory cortex. *Nat. Neurosci.* 11, 72–79.

Crochet, S., Petersen, C.C., 2006. Correlating whisker behavior with membrane potential in barrel cortex of awake mice. *Nat. Neurosci.* 9, 608–610.

Dombeck, D.A., Khabbaz, A.N., Collman, F., Adelman, T.L., Tank, D.W., 2007. Imaging large-scale neural activity with cellular resolution in awake, mobile mice. *Neuron* 56, 43–57.

Enager, P., Piilgaard, H., Offenhauser, N., Kocharyan, A., Fernandes, P., Hamel, E., Lauritzen, M., 2009. Pathway-specific variations in neurovascular and neurometabolic coupling in rat primary somatosensory cortex. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 29, 976–986.

Fanselow, E.E., Nicolelis, M.A., 1999. Behavioral modulation of tactile responses in the rat somatosensory system. *J. Neurosci.* 19, 7603–7616.

Franceschini, M.A., Radhakrishnan, H., Thakur, K., Wu, W., Ruvinskaya, S., Carp, S., Boas, D.A., 2010. The effect of different anesthetics on neurovascular coupling. *Neuroimage* 51, 1367–1377.

Goldman, H., Berman, R.F., Gershon, S., Murphy, S.L., Altman, H.J., 1987. Correlation of behavioral and cerebrovascular functions in the aging rat. *Neurobiol. Aging* 8, 409–416.

Hyder, F., Rothman, D.L., Shulman, R.G., 2002. Total neuroenergetics support localized brain activity: implications for the interpretation of fMRI. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 99, 10771–10776.

Kitaura, H., Uozumi, N., Tohmi, M., Yamazaki, M., Sakimura, K., Kudoh, M., Shimizu, T., Shibuki, K., 2007. Roles of nitric oxide as a vasodilator in neurovascular coupling of mouse somatosensory cortex. *Neurosci. Res.* 59, 160–171.

Kocharyan, A., Fernandes, P., Tong, X.K., Vaucher, E., Hamel, E., 2008. Specific subtypes of cortical GABA interneurons contribute to the neurovascular coupling response to basal forebrain stimulation. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 28, 221–231.

Komiyama, T., Sato, T.R., O'Connor, D.H., Zhang, Y.X., Huber, D., Hooks, B.M., Gabitto, M., Svoboda, K., 2010. Learning-related fine-scale specificity imaged in motor cortex circuits of behaving mice. *Nature* 464, 1182–1186.

Konisi, N., Tokimoto, Y., Kohra, K., Fujii, H., 2002. New laser speckle flowgraphy system using CCD camera. *Opt. Rev.* 9, 163–169.

Lahti, K.M., Ferris, C.F., Li, F., Sotak, C.H., King, J.A., 1999. Comparison of evoked cortical activity in conscious and

- propofol-anesthetized rats using functional MRI. *Magn. Reson. Med.* 41, 412–416.
- Lauritzen, M., 2001. Relationship of spikes, synaptic activity, and local changes of cerebral blood flow. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 21, 1367–1383.
- Lok, J., Gupta, P., Guo, S., Kim, W.J., Whalen, M.J., van, Leyen, K., Lo, E.H., 2007. Cell-cell signaling in the neurovascular unit. *Neurochem. Res.* 32, 2032–2045.
- Ma, J., Ayata, C., Huang, P.L., Fishman, M.C., Moskowitz, M.A., 1996. Regional cerebral blood flow response to vibrissal stimulation in mice lacking type I NOS gene expression. *Am. J. Physiol.* 270, 1085–1090.
- Martin, C., Martindale, J., Berwick, J., Mayhew, J., 2006. Investigating neural-hemodynamic coupling and the hemodynamic response function in the awake rat. *Neuroimage* 32, 33–48.
- Masamoto, K., Kim, T., Fukuda, M., Wang, P., Kim, S.G., 2007. Relationship between neural, vascular, and BOLD signals in isoflurane-anesthetized rat somatosensory cortex. *Cereb. Cortex* 17, 942–950.
- Masamoto, K., Fukuda, M., Vazquez, A., Kim, S.G., 2009. Dose-dependent effect of isoflurane on neurovascular coupling in rat cerebral cortex. *Eur. J. Neurosci.* 30, 242–250.
- Matsuo, S., Sakaguchi, K., Katsura, T., Yamazaki, K., Kawaguchi, H., Maki, A., Fujii, H., Okada, E., 2008. Measurement of distribution of blood-flow change in exposed cortex by laser speckle flowgraphy. *The Review of Laser Engineering Supplemental Volume* 2008. 36, 1339–1342.
- Mayanagi, K., Katakam, P.V., Gáspár, T., Domoki, F., Busija, D.W., 2008. Acute treatment with rosuvastatin protects insulin resistant (C57BL/6 J ob/ob) mice against transient cerebral ischemia. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 28, 1927–1935.
- Meyer, E.P., Ulmann-Schuler, A., Staufenbiel, M., Krucker, T., 2008. Altered morphology and 3D architecture of brain vasculature in a mouse model for Alzheimer's disease. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 105, 3587–3592.
- Nakao, Y., Itoh, Y., Kuang, T.Y., Cook, M., Jehle, J., Sokoloff, L., 2001. Effects of anesthesia on functional activation of cerebral blood flow and metabolism. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 98, 7593–7598.
- Nemoto, M., Sheth, S., Guio, M., Pouratian, N., Chen, J.W., Toga, A. W., 2004. Functional signal- and paradigm-dependent linear relationships between synaptic activity and hemodynamic responses in rat somatosensory cortex. *J. Neurosci.* 24, 3850–3861.
- Niell, C.M., Stryker, M.P., 2010. Modulation of visual responses by behavioral state in mouse visual cortex. *Neuron* 65, 472–479.
- Nielsen, A.N., Lauritzen, M., 2001. Coupling and uncoupling of activity-dependent increases of neuronal activity and blood flow in rat somatosensory cortex. *J. Physiol.* 533, 773–785.
- Niwa, K., Araki, E., Morham, S.G., Ross, M.E., Iadecola, C., 2000. Cyclooxygenase-2 contributes to functional hyperemia in whisker-barrel cortex. *J. Neurosci.* 20, 763–770.
- Niwa, K., Haensel, C., Ross, M.E., Iadecola, C., 2001. Cyclooxygenase-1 participates in selected vasodilator responses of the cerebral circulation. *Circ. Res.* 88, 600–608.
- Park, L., Gallo, E.F., Anrather, J., Wang, G., Norris, E.H., Paul, J., Strickland, S., Iadecola, C., 2008. Key role of tissue plasminogen activator in neurovascular coupling. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 105, 1073–1078.
- Paxinos, G., Franklin, K.B.J., 2001. The mouse brain in stereotaxic coordinates. Academic Press.
- Peeters, R.R., Tindemans, I., De Schutter, E., Van der Linden, A., 2001. Comparing BOLD fMRI signal changes in the awake and anesthetized rat during electrical forepaw stimulation. *Magn. Reson. Imaging* 19, 821–826.
- Peppiatt, C.M., Howarth, C., Mobbs, P., Attwell, D., 2006. Bidirectional control of CNS capillary diameter by pericytes. *Nature* 443, 700–704.
- Riddle, D.R., Sonntag, W.E., Lichtenwalner, R.J., 2003. Microvascular plasticity in aging. *Ageing Res. Rev.* 2, 149–168.
- Sheth, S.A., Nemoto, M., Guio, M., Walker, M., Pouratian, N., Toga, A.W., 2004. Linear and nonlinear relationships between neuronal activity, oxygen metabolism, and hemodynamic responses. *Neuron* 42, 347–355.
- Shi, Y., Liu, X., Gebremedhin, D., Falck, J.R., Harder, D.R., Koehler, R.C., 2008. Interaction of mechanisms involving epoxyeicosatrienoic acids, adenosine receptors, and metabotropic glutamate receptors in neurovascular coupling in rat whisker barrel cortex. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 28, 111–125.
- Takano, T., Tian, G.F., Peng, W., Lou, N., Libionka, W., Han, X., Nedergaard, M., 2006. Astrocyte-mediated control of cerebral blood flow. *Nat. Neurosci.* 9, 260–267.
- Takeda, S., Sato, N., Takeuchi, D., Kurinami, H., Shinohara, M., Niisato, K., Kano, M., Ogihara, T., Rakugi, H., Morishita, R., 2009. Angiotensin receptor blocker prevented beta-amyloid- induced cognitive impairment associated with recovery of neurovascular coupling. *Hypertension* 54, 1345–1352.
- Wauschkuhn, C.A., Witte, K., Gorbey, S., Lemmer, B., Schilling, L., 2005. Circadian periodicity of cerebral blood flow revealed by laser-Doppler flowmetry in awake rats: relation to blood pressure and activity. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 289, 1662–1668.
- Yang, G., Zhang, Y., Ross, M.E., Iadecola, C., 2003. Attenuation of activity-induced increases in cerebellar blood flow in mice lacking neuronal nitric oxide synthase. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 285, 298–304.
- Zacchigna, S., Lambrechts, D., Carmeliet, P., 2008. Neurovascular signalling defects in neurodegeneration. *Nat. Rev. Neurosci.* 9, 169–181.
- Zonta, M., Angulo, M.C., Gobbo, S., Rosengarten, B., Hossmann, K.A., Pozzan, T., Carmignoto, G., 2003. Neuron-to-astrocyte signaling is central to the dynamic control of brain microcirculation. *Nat. Neurosci.* 6, 43–50.

圧縮センシングを用いた 少数方向投影データからのCT画像再構成

工藤博幸／イサム ラシド

筑波大学 システム情報系

はじめに

CT画像再構成の分野で古くから精力的に研究が行われた問題として、少ない方向数の投影データからの画像再構成がある。この問題の具体的な応用としては、以下のものが挙げられる。

- (1)簡易型CT装置の画像再構成：マイクロCT・非破壊検査用CT・Cアーム装置などの簡易型CT装置では、フラットパネル検出器などの測定データを記憶装置に転送するのに時間がかかり、少数に投影方向数を削減することは大幅な計測時間の短縮につながる。
- (2)被ばく量の低減：少数方向の投影データから高画質の画像が再構成できれば、被ばく量の低減につながる。
- (3)心臓用CTの画像再構成：心電同期に基づく心臓用CTの画像再構成は、時相が合った少数方向の投影データからの画像再構成に帰着する。

この問題は、投影データの情報のみでは解が一意に定まらない不良設定問題であり、2000年代中盤までは解決するのが困難と考えられていた。しかし、2000年代中盤に不足した測定データから原信号を復元する圧縮センシング(Compressed Sensing)とよばれる逆問題の新解法が発見され、10方向以下の投影データでもほぼ厳密な画像再構成が可能という主旨の論文が多数出版されている^{1~6)}。筆者らも、圧縮センシングの概念が提案される以前の2002年にまったく同じ原理で血管画像を再構成する研究を行って注目を浴び⁷⁾、それ以降も継続してこの問題に関する研究を行ってきた^{8, 9)}。

本論文では、圧縮センシングの中でも最もよく

用いられるトータルバリエーション(TV: Total Variation)を用いた画像再構成法と^{3~6)}、筆者らのCT値に関する事前情報を用いた画像再構成法について^{7~9)}、この分野に馴染みのない読者を対象として平易に解説する。

TVを用いた画像再構成法

まず、圧縮センシングに属するさまざまな手法の中でも少数方向投影データからの画像再構成によく用いられる、TVを用いた再構成法について説明する。画像の画素値を一行に並べたベクトルを $\vec{x} = (x_1, x_2, \dots, x_J)$ 、測定された投影データを一行に並べたベクトルを $\vec{b} = (b_1, b_2, \dots, b_I)$ で表わすと、画像再構成は次の連立一次方程式を解く問題として定式化される。

$$A\vec{x} = \vec{b} \quad \dots\dots (1)$$

ただし $A = \{a_{ij}\}$ は、画像と投影データの関係を表す $I \times J$ 行列である。投影データの測定方向数が少数に制限されると $I < J$ となり、式(1)の連立一次方程式は無数に解をもつ状況になる。この不足した測定データの場合には、一般に以下の解法がよく用いられる。

まず、対象画像に関する事前情報に基づき、真の画像に近いほど値が小さくなる評価関数 $F(\vec{x})$ を構成しておく。そして、画像再構成問題を次の制約条件付き最小化問題として定式化する。

$$\text{minimize } F(\vec{x}) \quad \text{subject to } A\vec{x} = \vec{b} \quad \dots\dots (2)$$

式(2)の意味は、「 $A\vec{x} = \vec{b}$ を満足する無数の \vec{x} の中から $F(\vec{x})$ を最小にするものを最適解として選び

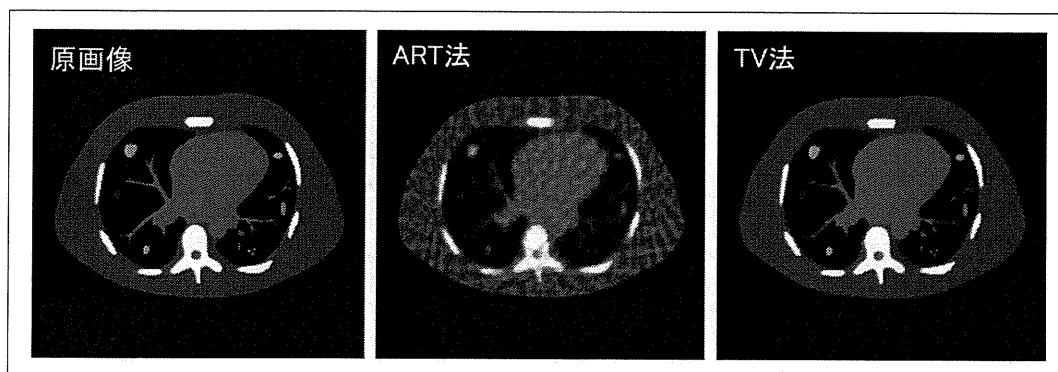


図1 24方向投影データからのART法とTV法による再構成画像の比較

出す」というもので、逆問題の正則化とよばれる。この解法の性能は評価関数 $F(\vec{x})$ の選び方によって決まり、古くから圧縮センシングに至るまでさまざまな方法が研究された。たとえば、最小ノルム解・最大エントロピー法・マルコフ確率場モデルに基づく正則化が代表的なものとして挙げられる。

Rudin らにより提案されたTVによる逆問題の正則化では、 $F(\vec{x})$ として以下の関数を用いる³⁾。

$$\begin{aligned}
 F(\vec{x}) &= \sum_m \sum_n \|\nabla f(m, n)\| \\
 &= \sum_m \sum_n \sqrt{(f(m+1, n) - f(m, n))^2 + (f(m, n+1) - f(m, n))^2} \\
 \nabla f(m, n) &= (f(m+1, n) - f(m, n), f(m, n+1) - f(m, n)) \\
 &\dots\dots (3)
 \end{aligned}$$

ただし、 (m, n) は画像の座標を表し $f(m, n)$ は画素 (m, n) における濃度値である。式 (3) において、 $\nabla f(m, n)$ は画素 (m, n) における画像の濃度勾配を表すので、濃度勾配の大きさの画像全体における総和を最小にする手法がTVである。

画像再構成や画像復元の問題では、画像のエッジを保存してかつ平坦部の濃度変化が滑らかな画像を復元することが重要視される。一般に、エッジを保存することと平坦部の濃度変化を滑らかにすることは相反する要求であり、濃度勾配を小さく抑える正則化でうまく実現できるとは限らない。しかし、TVには両者を同時に実現することが可能な「L1マジック」とよばれる圧縮センシングに由来する概念が組み込まれており、従来手法と比

較してはるかにうまく働くのである。L1マジックについては、本論文の後半において説明する。

図1に、筆者らが行った胸部CTイメージングを想定したシミュレーション実験の結果を示す。投影データの方向数を24に設定した場合のTV法と、従来の代表的な再構成法であるART法の再構成画像を示すが、TV法ではエッジや微小構造物を保存してかつ平坦部を滑らかに再構成することに成功している。

CT値に関する事前情報を用いた画像再構成法(筆者らの研究)

筆者らは、2000年代中盤に圧縮センシングの概念が提案される以前から、L1マジックに注目した画像再構成法の研究を行ってきた。まず、2002年のLiらの論文では、造影剤を注入して撮影した血管画像のように疎な性質をもつ(非零の画素数が少ない)画像に対する再構成法を開発した⁷⁾。そして、最近のRashedらの論文では、Liらの研究を疎な性質をもたない一般画像に拡張して、CT値に関する事前情報を用いた再構成法を開発した⁸⁾。以降では、これらの画像再構成法の概要について説明する。

1) 血管画像の再構成法⁷⁾

造影剤を注入して撮影した血管画像の最も顕著な特徴は、血管以外の部分は値が零に近く写るた

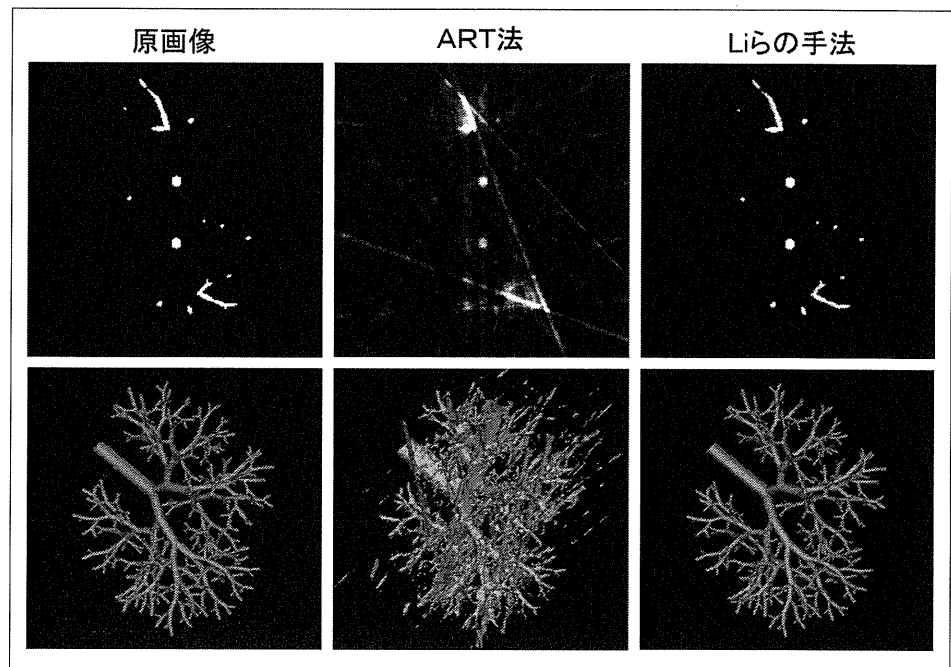


図2 8方向投影データからのLiらの手法による血管画像再構成の例

上段：断面画像

下段：ボリュームレンダリングによる3次元表示

IMAGE PREVIEW 参照

め、疎な性質をもつことである。このような画像を上手く再構成する評価関数 $F(\vec{x})$ として、Liらは以下のL1ノルムを提案した。

$$F(\vec{x}) = \sum_{j=1}^J |x_j| \quad \dots\dots (4)$$

そして、従来の再構成法でよく用いられたL2ノルムと比較して、疎な画像をはるかにうまく再構成できることを示した。図2に、8方向の投影データからLiらの手法とART法で再構成した画像の比較を示す。Liらの手法では、筋状のアーティファクトを抑制して血管の構造がほぼ正しく再構成されている。

2) リファレンス画像を用いた再構成法 (R-MAP法)^{8, 9)}

Liらの手法の欠点は、疎な性質をもたない画像には効果が小さく一般性がないことである。そこでMameudaらは、以下の考え方に基づく再構成法を提案した⁹⁾。まず対象画像 \vec{x} に関する事前情報を利用して、 \vec{x} に近いリファレンス画像 $\vec{r} = (r_1, r_2, \dots, r_J)$ を構築しておく。そして、 \vec{x} と \vec{r} の濃度

値は多くの場所で一致して $\vec{x} - \vec{r}$ が疎な性質をもつと仮定して、以下の評価関数 $F(\vec{x})$ を用いる。

$$F(\vec{x}) = \sum_{j=1}^J |x_j - r_j| \quad \dots\dots (5)$$

この手法は、事後確率最大 (MAP) 推定の事前情報をリファレンス画像を用いて構築したもののみなすことができ、R-MAP (Reference MAP) 法とよぶ。もちろん、R-MAP法の性能はリファレンス画像をどのように構築するかに依存するが、他の再構成法で復元した画像に平滑化や領域分割の処理を施すなどの単純な構築法でも十分な効果があることを確認している。

図3に、少数方向投影データからの画像再構成ではないが、典型的なR-MAP法の応用事例である「MRI情報を利用したSPECT画像再構成」の実験結果を示す。SPECTでは、部分容積効果や統計雑音の影響により、画像の高周波成分を正確に回復して再構成を行うのがむずかしいことが知られている。たとえば脳血流 SPECT イメージングの場合、灰白質と白質の境界が不明瞭に再構成さ

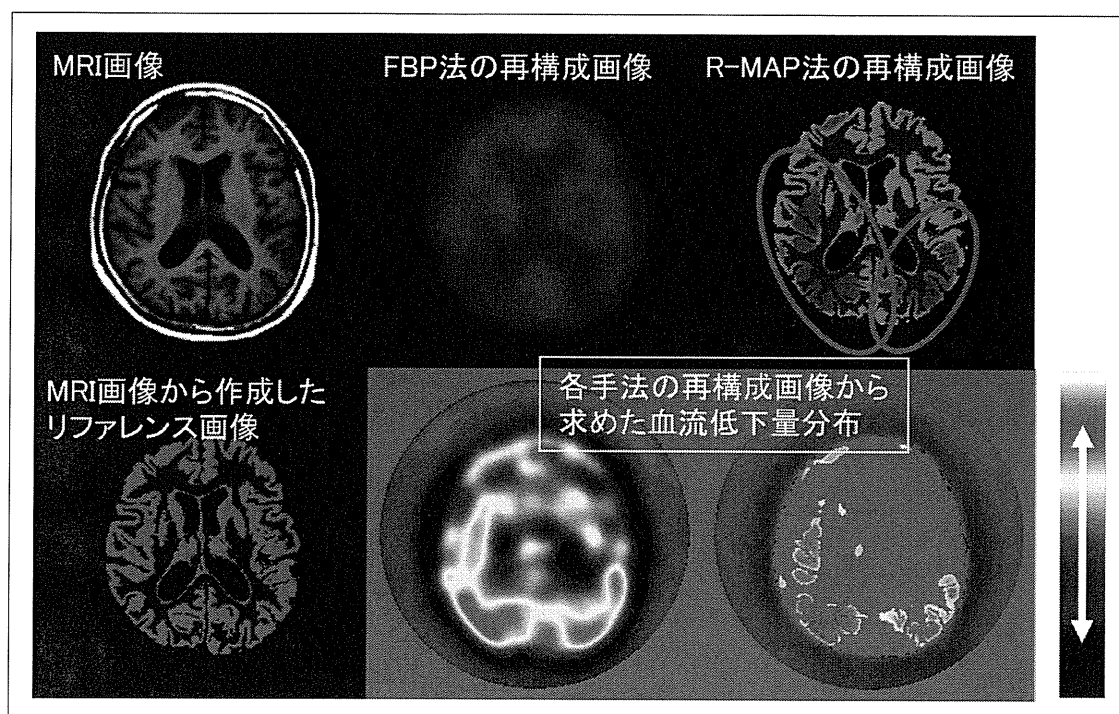


図3 R-MAP法のSPECT画像再構成への応用(認知症診断)

IMAGE PREVIEW 参照

れ定量性が低下して、正確な診断が困難となる。そこでMameudaらは、同一患者の位置合わせされたMRI画像からSPECT撮影を模擬したリファレンス画像 \vec{r} を構築して、式(5)の評価関数を対数尤度関数に加えて画像再構成を行う解剖学的MAP (Anatomical-MAP) 法を提案した⁹⁾。

図3に、MRI画像から構築したリファレンス画像およびFBP法と解剖学的MAP法の再構成画像を示す。解剖学的MAP法では、灰白質と白質の境界が鮮明になることに加えて、(左右頭丁葉から側頭葉にかけて存在する)MRIにまったく写らない病変も画質を改善して上手く再構成されている。

3) CT値に関する事前情報を用いた再構成法 (I-MAP法)⁸⁾

R-MAP法の欠点は、対象画像とリファレンス画像の差分画像 $\vec{x}-\vec{r}$ に疎な性質をもたせる正確なリファレンス画像が必要なことである。これに対してRashedらは、R-MAP法において必要な事前情報を削減する以下の再構成法を提案した⁸⁾。一般に、CT画像の濃度値は同一臓器や同一組織内

ではほぼ一定値をとるので、撮影部位が決まれば対象画像に含まれる領域数や濃度値も事前に予想できる。そこで、リファレンス画像 \vec{r} は M 個の領域から構成され、各領域における濃度値の集合 $\vec{\mu} = (\mu_1, \mu_2, \dots, \mu_M)$ は既知であると仮定する。そして、濃度値集合 $\vec{\mu}$ のみが事前に既知であるとして、リファレンス画像のどの画素がどの領域に属するかは画像再構成の過程で中間画像から推定する。これは、評価関数 $F(\vec{x})$ の形で表すと次のようになる。

$$F(\vec{x}) = \sum_{j=1}^J \min_{m=1,2,\dots,M} w_m |x_j - \mu_m| \quad \dots\dots (6)$$

ただし、 $w_m > 0$ ($m = 1, 2, \dots, M$) はリファレンス画像中に含まれる各領域の大きさから経験的に決める重みである。式(6)で表される $F(\vec{x})$ の形を領域数が $M=3$ の場合について図4に示す。各画素値 x_j を候補濃度値 $\mu_1, \mu_2, \dots, \mu_M$ のすべてと比較して、一番近いものを選択するという意味がある。この再構成法をI-MAP (Intensity MAP) 法とよぶ。

なお、R-MAP法とI-MAP法は以下の点が異

なることに注意されたい。R-MAP法でリファレンス画像 \vec{r} を既知とすることは、 \vec{r} のどの画素がどの濃度値をとるかの位置情報が事前に既知であることに相当する。これに対してI-MAP法では、画像の濃度ヒストグラムのみが既知であり、どの画素がどの濃度値をとるかの位置情報は再構成過程で推定するのである。

図5に、図1と同じ胸部CTイメージングを想定したI-MAP法の再構成例を示す。投影データの数値は16と32であり、従来の代表的再構成法であるFBP法との比較を行った。R-MAP法における事前情報を濃度値のみに削減しても、かなり大きな画質の改善が実現できている。

L1マジック(圧縮センシングのからくり)

以降では、これまで述べてきた画像再構成法により、何故エッジを保存することと平坦部の濃度変化を滑らかにすることの相反する要求を同時に満足させられるのか、その本質であるL1マジックについて説明する。上述のすべての再構成法における評価関数 $F(\vec{x})$ は、細部の違いを除くと一般的に次の形をしている。

$$F(\vec{x}) = \|B(\vec{x} - \vec{r})\|_1, \text{ (ただし, } \|\vec{y}\|_1 = \sum_{j=1}^J |y_j| \text{) } \dots\dots (7)$$

ただし、 B はベクトル $\vec{x} - \vec{r}$ を疎な性質をもつベクトルに変換するスパースファイ変換とよばれる線形変換、 \vec{r} は \vec{x} を疎なベクトルに変換するリファレンス画像である(たとえばTVの場合は、 B は画像の濃度勾配を計算する変換、リファレンス画像は $\vec{r} = 0$)。また式(7)において使用されているノルムは、L1ノルム(またはL1ノルムと同じ数学的性質をもつTotal Variationノルム)である。すなわち、画像ベクトル \vec{x} を B と \vec{r} を用いて疎なベクトルに変換した後に、L1ノルムをとることにより定義されている。このL1ノルムやTotal Variationノルムの利用が、従来の逆問題の正則化法との大きな性能の違いを生むキーである。L1ノルムとL2ノルムで大きな違いがあることを説明するため、 $\vec{z} = B\vec{x}$ 、 $\vec{s} = B\vec{r}$ とおき、 $F(\vec{x})$ が \vec{z}

の関数としてどのような等値線をもつかを考える。

図6に、未知数が2個、 $\vec{z} = (z_1, z_2)$ の場合のL1ノルムとL2ノルムの等値線を示すが、L2ノルムは同心円でL1ノルムは同心正方形になる。疎でない(座標軸から離れた) $z_1 \neq 0, z_2 \neq 0$ の点に注目すると、L1ノルムと比較してL2ノルムの方が $F(\vec{x})$ を過小評価しており、その傾向は座標軸から最も離れた $|z_1| = |z_2| \neq 0$ の点で最も顕著になる。したがって、L2ノルムでは $|z_1| = |z_2| \neq 0$ に近い解を選びやすくなり、L1ノルムでは座標軸上の疎な解である($z_1 = 0, z_2 \neq 0$)や($z_1 \neq 0, z_2 = 0$)に近い解を選びやすくなる。

以上の説明が、不足した測定データから原信号を正確に復元する圧縮センシングの本質的なからくりである。

圧縮センシングを過信しない

最近、圧縮センシングを用いた画像再構成の研究は過熱気味であり、「4方向の投影データから数学的に厳密に画像再構成が可能である」と主張する論文も出現した。これに対しART法の発見者であるHermanらは、「少数方向投影データの設定では零空間(投影データがすべて零になる画像の集合)が数学的に特徴づけられ(画質を向上させることは可能だが)厳密に再構成できる訳がない」という批判を行い、実例を示した¹⁰⁾。一読すべき論文である。筆者らの経験からしても、圧縮センシングの手法は(すべての場所で均一な分解能や雑音特性が保証されるという意味で)定量的で、かつ(どの画像でも上手く再構成できるという意味で)安定な画質を保証するのが非常にむずかしく、過信せずに注意して用いる必要があると考えている。

図7に、TVを用いても2方向の投影データから正しく再構成できない典型的な例を示す。左側の画像と右側の画像は(水平と垂直の)2方向の投影データはまったく同じであるが、TV値は明らかに左側の画像の方がエッジが多いため大きい。よって、2方向投影データからでは、左側の画像は右側の画像のように誤って再構成される。同様

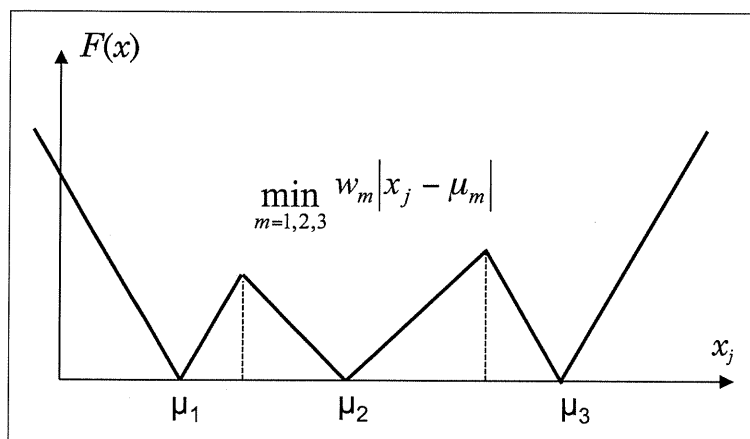


図4 I-MAP法で用いる評価関数 $F(x)$ の説明図 (領域数が $M=3$ の場合)

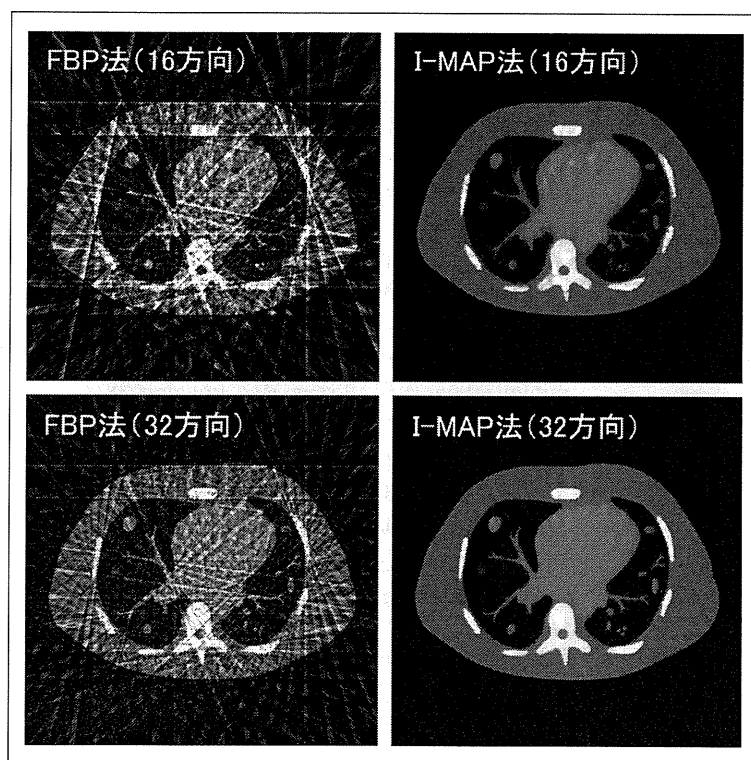


図5 16方向と32方向投影データからの I-MAP法による再構成例
I-MAP法の事前情報として、空気・肺・軟部組織・骨の平均CT値のみを用いている。

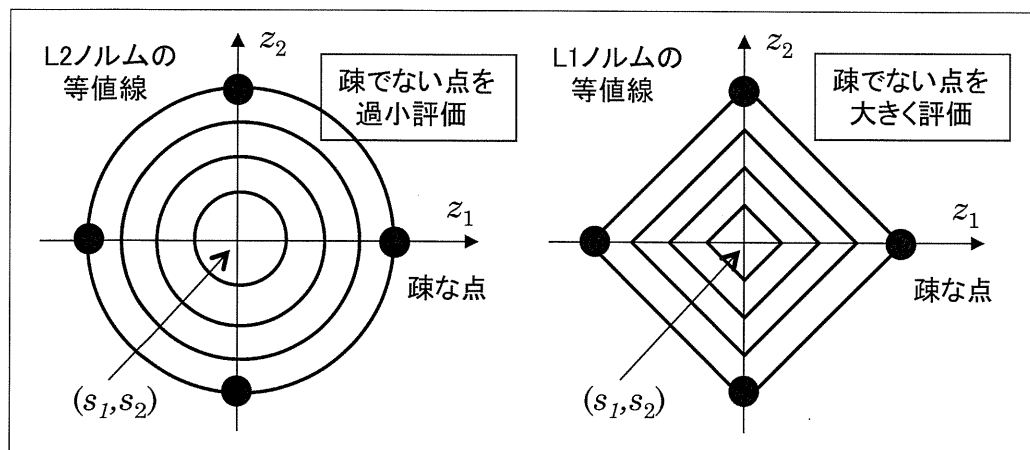
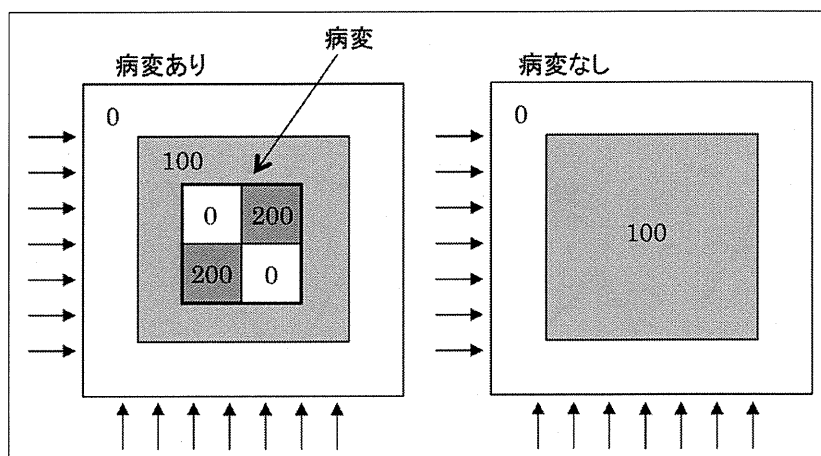


図6 L1 ノルムがL2 ノルムより疎なベクトルの選択に優れる理由の説明図

図7 TV法で誤って再構成してしまう典型的な画像の例

左側の画像の(水平・垂直の)2方向投影データは右側の画像とまったく同じ。また、TVは右側の画像の方が小さい。よって、2方向投影データから画像再構成を行えば、左側の画像は病変がない右側の画像として再構成される。



な反例は、理論的に方向数が増えても作れるのである。

おわりに

本論文では、圧縮センシングを用いた画像再構成の原理について解説したが、ページ数の制約から圧縮センシングで現れる最適化問題を解く逐次近似法を説明する余裕がなかった。これについては原著論文を参考にされたい。圧縮センシングを用いた画像再構成は、海外では現在最も人気がある研究テーマになっている。たとえば『Compressed Sensing』や『Total Variation』で検索を行うと、ぼう大な数の論文がヒットする状況である。日本ではあまり盛り上がらない状況だが、今後多くの研究者や技術者がこの手法に興味をもつことを期待する。

謝辞

図1のシミュレーション実験は博士前期課程修了生の北牧拓也君が行ってくれたものであり、深謝いたします。

参考文献

1) Donoho DL: Compressed sensing. IEEE Trans Inf Theory 52: 1289-1306, 2006

2) Candes EJ et al: Robust uncertainty principles: exact signal reconstruction from highly incomplete frequency information. IEEE Trans Inf Theory 52: 489-509, 2006

3) Rudin et al: Nonlinear total variation based noise removal algorithm. Physica D 60: 259-268, 1992

4) Trzasko J et al: Highly undersampled magnetic resonance image reconstruction via homotopic L0 minimization. IEEE Trans Med Imaging 28(1): 106-121, 2009

5) Sidky EY, Pan X: Image reconstruction in circular cone-beam computed tomography by constrained total-variation minimization. Phys Med Biol 53(17): 4777-4807, 2008

6) Leng S et al: High temporal resolution and streak-free four-dimensional cone-beam computed tomography. Phys Med Biol 53(20): 5633-5673, 2008

7) Li M et al: An accurate iterative reconstruction algorithm for sparse objects: application to 3-D blood-vessel reconstruction from a limited number of projections. Phys Med Biol 47(15): 2599-2609, 2002

8) Rashed EA et al: Intensity-based Bayesian framework for image reconstruction from sparse projection data. Med Imag Tech 27: 243-251, 2009

9) Mameuda Y et al: New anatomical-prior-based image reconstruction method for PET/SPECT. Conference Record of 2007 IEEE Nuclear Science Symposium and Medical Imaging Conference, Paper No. M23-2, 2007

10) Herman GT et al: Image reconstruction from a small number of projections. Inverse Problems 24: Paper No. 045011, 2008

脳イメージングにおける機能画像と形態画像の融合の在り方 —MRI 情報を利用した SPECT/PET 画像再構成法—

工藤博幸*

機能画像と形態画像の融合の在り方

認知症やてんかんなどの脳疾患の診断には、MRI で撮影した形態画像と SPECT/PET で撮影した機能画像の両者が用いられる。この形態画像と機能画像の融合の在り方としては、以下の3つのレベルが存在する。

レベル1：MRI 画像と SPECT/PET 画像は別々の装置で互いに独立に生成され、診断を行う際に医師が両者を併用したり融合表示を行ったりする。

レベル2：SPECT/PET 画像から画像処理により病変を検出する際に、何らかの形で MRI 画像の情報を活用する。

レベル3：形態画像と機能画像を独立に生成するのではなく、MRI 画像を事前情報として SPECT/PET の画質改善や画像再構成に利用して、機能画像の画質を向上させる。

現状では、上記のうちレベル1までしか実用化されていない。レベル2に属する研究としては、筆者らが提唱した FUSE が挙げられる [1]。また、レベル3に属する研究としては、1) Mueller-Gaertner の部分容積効果補正法 [2]、2) MRI 画像を事前情報として SPECT/PET の画像生成に利用する画像再構成法 [3]-[5]、など一部の研究が行われている。筆者らは、レベル2とレベル3の実用化と研究を活発に進めるべきと考えている。

MRI 情報を用いた SPECT/PET 画像再構成法 (解剖学的 MAP 法)

以降では、筆者らが行ったレベル3に属する研究として、MRI 画像を事前情報に利用する SPECT/PET 画像再構成法である解剖学的 MAP (Anatomical MAP) 法を紹介する [5]。脳 SPECT/PET イメージングでは、部分容積効果や統計雑音の影響により、画像の高周波成分を正確に復元することが難しく、灰白質と白質の境界がぼけて再構成され定量性も低下して、診断に支障を与える。そこで、同一患者の位置合わせされた MRI 画像を利用して、灰白質と白質の境界を鮮明に復元するのみならず、MRI 画像に写っていない病変の検出しやすさも高める画像再構成法が、解剖学的 MAP 法である。

以下にその原理を説明する。脳 SPECT/PET イメージングの多くの目的は、血流・代謝量が大きい灰白質領域内に存在する病変を表すスポットを発見することである。そこで、図1に示すように、対象画像 \mathbf{x} を灰白質・白質・CSF・その他の各領域で滑らかに変化する背景画像 \mathbf{b} と病変を表す疎(スパース)な性質を持つスポット画像 \mathbf{s} の和でモデル化する。この画像モデルを Spots-On-Smooth (SOS) モデルと呼ぶ。解剖学的 MAP 法は、SOS モデルで表される画像を、背景の雑音を抑制してかつスポットのコントラストを保存して、スポットを検出しやすく再構成する

* 筑波大学システム情報系情報工学科 〒305-8573 茨城県つくば市天王台 1-1-1

ことを目的とする．具体的な画像再構成の手順は，以下の2つのステップからなる．

[STEP 1] (テンプレート画像の作成) 図2に示す手順により同一患者の位置合わせされた MRI 画像に画像処理を施して，灰白質・白質・CSF・その他の各領域における濃度変化が滑らかでスポットがない血流・代謝を持つ背景画像 **b** を模擬したテンプレート画像 **m** を作成する．

[STEP 2] (画像再構成) テンプレート画像 **m** の情報を利用して構成した以降で説明する評価関数を最小化することにより，画像再構成を行う．

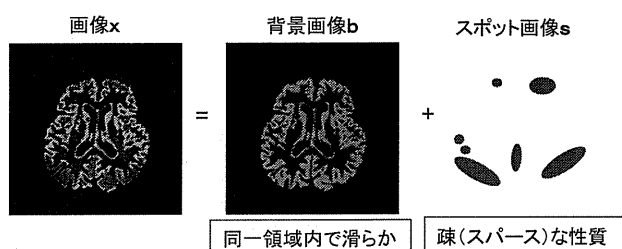


図1 SOS (Spots on Smooth) 画像モデル

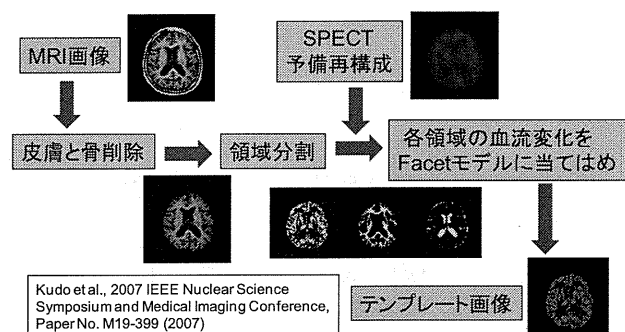


図2 テンプレート画像作成の画像処理手順

解剖学的 MAP 法のキーである画像再構成の評価関数は，以下のように構成される．再構成画像を **x** で表すと，通常の MAP 再構成における評価関数 $f(\mathbf{x})$ は，(負の) 対数尤度関数 $L(\mathbf{x})$ と統計雑音を抑制する Gibbs 平滑化関数 $U(\mathbf{x})$ の和により構成される．これに対して，解剖学的 MAP 法では以下の3項からなる評価関数 $f(\mathbf{x})$ を用いる．

$$f(\mathbf{x}) = L(\mathbf{x}) + \beta U(\mathbf{x}) + \gamma D(\mathbf{x}) \quad (1)$$

ここで， $D(\mathbf{x})$ は，STEP 1 で作成したテンプレート画像 **m** と再構成画像の L1 ノルム距離で，次式

で定義される．

$$D(\mathbf{x}) = \sum_{j=1}^J |x_j - m_j| \quad (2)$$

また，Gibbs 平滑化関数 $U(\mathbf{x})$ としては，MRI 画像の領域分割結果から灰白質・白質・CSF・その他の各領域の境界が同定できるので，同一領域内のみのエッジ保存型平滑化を行う次式のものを用いる．

$$U(\mathbf{x}) = \sum_{(j,j') \in C} \omega_{jj'} (1 - e_{jj'}) (x_j - x_{j'})^2 \quad (3)$$

$$e_{jj'} = \begin{cases} 1 & \text{(画素} j \text{と画素} j' \text{の間にエッジが存在)} \\ 0 & \text{(その他)} \end{cases}$$

海外の類似研究は，MRI 情報はエッジ保存型平滑化の形でのみ利用する手法が主流であるが，このような手法では MRI に写っていない病変に対する画質改善効果はほとんどない [3],[4]．提案手法が決定的に優れている点は，テンプレート画像との L1 ノルム距離 $D(\mathbf{x})$ を加えることにより，MRI に写っていない病変についてもコントラストを保存して画質改善を可能にした点である．L1 ノルムがモデルに当てはまらない疎な信号を保存して上手く復元する効果があることは『圧縮センシング』と呼ばれる分野で良く知られており，提案手法はこの性質を巧妙に利用したものと位置づけられる [6]．

脳血流 SPECT データへの適用例

解剖学的 MAP 法の脳血流 SPECT データへの適用例を図3,4に示す．放射線薬品は I-123 であり，認知症診断を目的として撮影されたデータである．図3,4において，カラー画像は各々の再構成画像から FUSE で求めた血流低下量分布画像である [1]．症例1は，レビー小体型認知症で，左右の頭頂葉から側頭葉にかけて大きな血流低下が見られる．症例2は，アルツハイマー型認知症で，頭頂葉・後部帯状回・前頭葉に血流低下が見られる．なお，いずれの症例においても，MRI 画像には病変は全く写っていない．

他の手法では MRI 画像に写っていない病変の画質改善は困難であることを示すため，この問題

で良く用いられる Mueller-Gaertner の部分容積効果補正法 [2]で画質改善を行った画像と提案手法による再構成画像の比較を、症例 1 について図 5 に示す。Mueller-Gaertner の手法では、灰白質と白質の境界を鮮明にする効果はあるが MRI に写っていない血流低下部位の画質を改善する効果は小さいことが分かる。

文献

- [1] H.Kudo et al., "Analyzing cerebral blood-flow SPECT images for the diagnosis of dementia: a new approach FUSE," Med Imag Tech, 26, pp.169-174, 2008.
- [2] H.W.Mueller-Gaertner et al., "Measurement of radiotracer concentration in brain gray matter using positron emission tomography," J Cereb Blood Flow Metab, 12, pp.571-583, 1992.
- [3] C.Comtat et al., "Clinically feasible reconstruction of 3D whole-body PET/CT data using blurred anatomical labels," Phys Med Biol, 47, pp.1-20, 2002.
- [4] S.Kulkarni et al., "A channelized Hotelling observer study of lesion detection in SPECT MAP reconstruction using anatomical priors," Phys Med Biol, 52, pp.3601-3617, 2007.
- [5] 工藤博幸, "MRI 情報を用いた脳血流 SPECT 画像の解析と再構成," Med Imag Tech, 28, pp.19-25, 2010.
- [6] 工藤博幸他, "圧縮センシングを用いた少数方向投影データからの CT 画像再構成," 映像情報メディカル, 43, 2011.

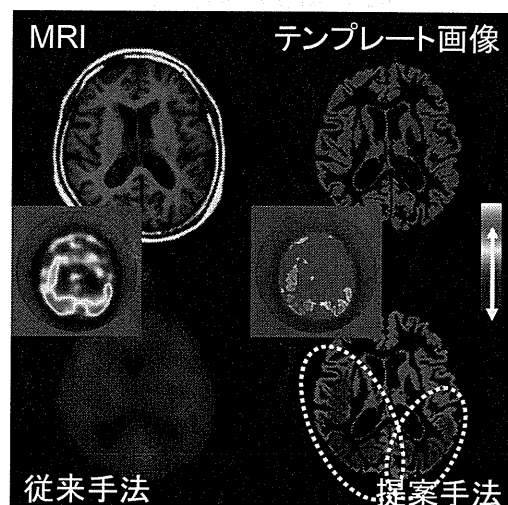


図 3 症例 1（レビー小体型認知症）の再構成画像

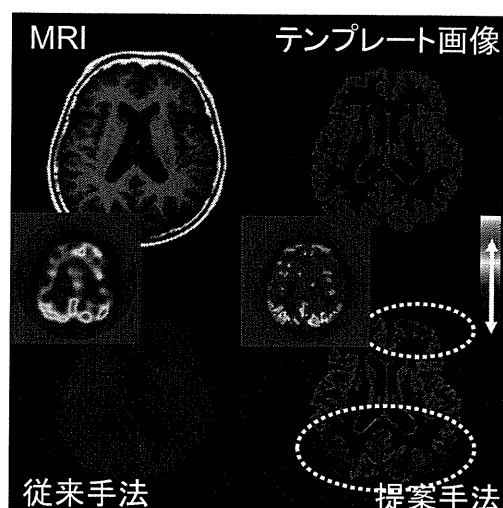


図 4 症例 2（アルツハイマー型認知症）の再構成画像

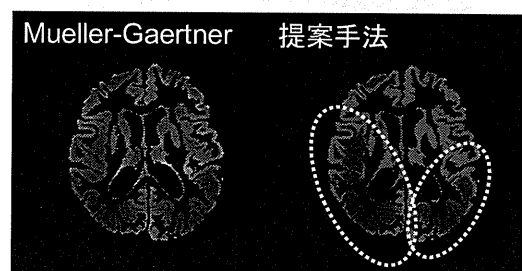


図 5 Mueller-Gaertner の手法による部分容積効果補正画像と提案手法による再構成画像の比較

ブロック反復型画像再構成における緩和パラメータを用いないリミットサイクル回避法 —リストモード再構成への拡張—

高橋 和晃^{*1}, 工藤 博幸^{*1}

要旨

PETの画像再構成ではOS-EM法などの高速に収束するブロック反復型画像再構成法が用いられるが、対数尤度を最小にする真の解とは異なるリミットサイクルに収束する問題点がある。リミットサイクルを回避する手法で良く用いられるのは、緩和パラメータと呼ばれる更新量を調節するパラメータを導入してそれを徐々に近づける手法であるが、緩和パラメータの制御が難しい問題点がある。筆者らは、緩和パラメータを全く用いずにリミットサイクルを回避する手法として、これまで非線形計画法のラグランジュ双対性と呼ばれる理論に基づく放射型CTと透過型CTの画像再構成法を開発してきた。本研究では、この枠組みに基づき未検討のリストモードデータからのPET画像再構成法の導出を行い、その有効性をシミュレーション実験により示す。

キーワード：PET, リストモード, 画像再構成, ブロック反復法, ラグランジュ双対性

1. はじめに

近年、PETの画像再構成では最尤(Maximum Likelihood :ML) 推定 [1] や画像の事前情報を用いた事後確率最大推定(MAP)などの統計的手法を導入し、再構成画像の品質を改善する統計的画像再構成法が実用化されている。統計的画像再構成は反復計算を必要とするため計算が遅い性質があるが、OS-EM法 [2] などのブロック型反復法により計算速度の向上が可能となった。ブロック反復型では観測したデータ(投影データ)を複数のサブセットに分割し、サブセット毎に解を更新することで収束速度を大きく向上させている。ブロック型反復法ではサブセット数を大きく取ると収束速度は向上する。しかし、サブセット数を大きく取りすぎるとリミットサイクルと呼ばれる真の最尤推定解とは異なった周期解

に収束する問題が存在する。(Fig. 1(a)) 一般に、リミットサイクルに陥った画像は雑音の影響が大きく現れ画質が低下する。このリミットサイクルを回避し解を高速に収束させる方法として、解の更新量を調節する緩和パラメータを導入し1標本を1サブセットとして解の更新を行う Row-Action 型画像再構成アルゴリズムである DRAMA 法 [3] が提案された。ブロック型反復法に緩和パラメータを導入することで雑音の影響を抑えられ、サブセット数を大きくとっても最尤推定解に収束させることが可能となる。(Fig. 1(b))

一方で、投影データの記録方式として近年検出装置のセプタを取り除き光子の検出感度を向上させた3次元PET方式の発展に伴い、リストモードデータという記録方式が注目されている。リストモードデータでは従来の同時係数線(Line Of Response: LOR)毎に検出された光子数をカウントするヒストグラム形式とは異なり、光子対が発生する度にどのLORで検出されたかを記録していく。このため、リストモードデータからの画像再構成では時間情報を利用した動画像再構成や観測データ

^{*1} 筑波大学大学院システム情報工学研究科コンピュータサイエンス専攻
[〒305-8573 つくば市天王台 1-1-1]
mail: takahashi@imagelab.cs.tsukuba.ac.jp

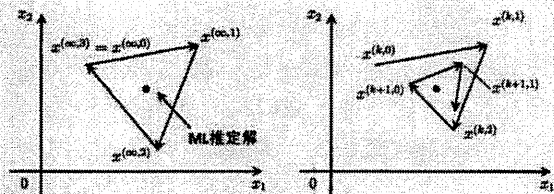


Fig. 1 (a) Statement of Limit Cycle when the number of subset is 3. (left) (b) The effectiveness of relaxation parameter. (right)

の使用メモリ量の削減が見込まれる。また、リストモードデータからの画像再構成に対して拡張した DRAMA 法を組み合わせることにより、観測と再構成を同時に行うリアルタイム画像再構成が可能となる。しかし、リストモードデータでの DRAMA 法における緩和パラメータは画像のノイズ特性、システム感度などを考慮し 2 つの任意パラメータを適切に扱う必要があり、任意パラメータの取り方が画質に大きく影響を与えてしまう問題が存在する。

本研究では先行研究 [4] に従い、非線形計画法のラグランジュ双対性を用いた画像再構成法をリストモードデータに対して拡張する。双対性を用いることで、(1)リミットサイクルに回避し高速に解を収束、(2)緩和パラメータが不必要となり扱いが容易、(3) Row-Action 型のアルゴリズム、これらすべてを満たすことができると考えられる。

本論文では、2. で提案手法の解説、及びアルゴリズムの導出を行う。3. で本提案手法の有効性をシミュレーション実験で示し、4. で考察・まとめとする。

2. 提案手法

PET 画像再構成においてリストモードデータからの統計的画像再構成を定式化するため、薬剤分布画像を \$N\$ 次元ベクトル \$\mathbf{x} = (x_1, x_2, \dots, x_N)^T\$、観測して得られるデータ（投影データ）を \$T\$ 次元ベクトル \$\mathbf{p} = (p_1, p_2, \dots, p_T)^T\$、\$\mathbf{p}\$ と \$\mathbf{x}\$ を関係づける \$T \times N\$ のシステム行列を \$A = \{a_{i(j)}\}\$ と定義する。\$T\$ は発生した光子の総カウント数、\$N\$ は再構成画像の画素数、\$x_j (j=1, \dots, N)\$ は各画素から発

生する平均光子数(画素値)となる。リストモードデータからの画像再構成は次式の対数尤度関数（評価関数）を最小化することにより行う。

$$L(\mathbf{x}) = \sum_{i=1}^M \sum_{j=1}^N a_{ij} x_j - \sum_{i=1}^T \log \left(\sum_{j=1}^N a_{i(i)} x_j \right) \quad (1)$$

ただし、\$M\$ は検出器で観測可能な Line of Response (LOR) の総数であり、\$i(t)\$ は \$t\$ 番目に検出した光子の LOR 番号を示す。以上より、画像再構成問題は式(1)の凸関数を各画素の値が 0 以下にならない非負条件 \$\mathbf{x} \geq 0\$ の基で最小化する次式の非線形計画問題として定義することができる。

$$\text{minimize } L(\mathbf{x}) \text{ subject to } \mathbf{x} \geq 0 \quad (2)$$

ここで、式(2)に対して \$A\mathbf{x} = \mathbf{y}\$ を満たす変数ベクトル \$\mathbf{y} = (y_1, y_2, \dots, y_T)^T\$ を導入すると式(2)は次の線形制約付き最小化問題となる。

$$L(\mathbf{x}, \mathbf{y}) = \sum_{i=1}^M \sum_{j=1}^N a_{ij} x_j - \sum_{i=1}^T \log(y_i) \quad (3)$$

$$\text{minimize } L(\mathbf{x}, \mathbf{y}) \text{ subject to } \mathbf{x} \geq 0, A\mathbf{x} = \mathbf{y} \quad (4)$$

本提案手法では、ラグランジュ双対性を用いて解を高速に求める。双対性を適用するため式(3)の評価関数 \$L(\mathbf{x}, \mathbf{y})\$ に対して初期画像を \$\mathbf{m}\$ とした 2 次摂動関数 \$\varepsilon \|\mathbf{x} - \mathbf{m}\|^2 / 2\$ を加えて次式の非線形計画問題とする。

$$L_1(\mathbf{x}, \mathbf{y}) = \sum_{i=1}^M \sum_{j=1}^N a_{ij} x_j - \sum_{i=1}^T \log(y_i) + \frac{\varepsilon}{2} \|\mathbf{x} - \mathbf{m}\|^2 \quad (5)$$

$$\text{minimize } L_1(\mathbf{x}, \mathbf{y}) \text{ subject to } \mathbf{x} \geq 0, A\mathbf{x} = \mathbf{y} \quad (6)$$

ただし、\$\varepsilon\$ は小さな正の定数である。\$\varepsilon\$ が値 0 を持つとき、\$L_1(\mathbf{x}, \mathbf{y})\$ は本来解くべき \$L(\mathbf{x}, \mathbf{y})\$ と同じ解を持つことになる。

2.1. 予備知識

本章では、式(6)の解を求めるために用いる非線形計画法の予備知識について述べる。非線形計画法では、式(7)の制約条件付き最小化問題を次式の制約条件なし最大化問題に關係づけることができる。[5]

$$\text{minimize } D(\boldsymbol{\lambda}) \text{ subject to } \boldsymbol{\lambda} \in \Omega \quad (7)$$

式(7)の最大化問題を双対問題と呼ぶ。ここで、\$\boldsymbol{\lambda} = (\lambda_1, \dots, \lambda_T)^T\$ はラグランジュ変数、\$D(\boldsymbol{\lambda})\$ は

双対関数、 Ω は双対問題の定義域となり、それぞれ次のように定義される。

$$D(\lambda) = \min_{x \geq 0} F_L(x, y, \lambda) \quad (8)$$

$$\Omega = \{\lambda \mid \min_{x \geq 0} F_L(x, y, \lambda) > -\infty\} \quad (9)$$

式(8)のラグランジュ関数 $F_L(x, y, \lambda)$ は次のように定義される。

$$F_L(x, y, \lambda) = L_1(x, y) - \lambda^T (Ax - y) \quad (10)$$

式(7)の双対問題の解 λ^* と式(6)の主問題の解 (x^*, y^*) は、主問題の評価関数 $L_1(x, y)$ が狭義凸関数のとき、次の関係をもつ。[5]

$$(x^*, y^*) = \arg \min_{x \geq 0} F_L(x, y, \lambda^*) \quad (11)$$

したがって、双対性を用いた画像再構成では式(6)の線形制約付き最小化問題を解く必要はなく、式(7)の双対問題の解 λ^* だけを求めればよいこととなる。以上より、本提案手法における主問題の解となる再構成画像 x^* を求めるアルゴリズムは次のようになる。

[Step 1] 式(7)の双対問題の解 λ^* を座標降下法を用いて導出。

[Step 2] 式(11)の関係性を用いて λ^* から、 (x^*, y^*) を求める。

[Step 3] 交互最小化法を用いて摂動関数

$\varepsilon \|x - m\|^2 / 2$ の影響を逐次最小化する。

[Step 1] の手順について述べる。[Step 1]において座標降下法を用いて解を求めるということは、変数 λ の各成分を双対関数 $D(\lambda)$ の値が最大になるように、一要素ずつ更新していくことである。座標降下法を用いることで、1 標本毎に解の更新を行う Row-Action 型のアルゴリズムが構築可能となる。

また、[Step 3]について述べる。本提案手法では双対性を用いるために式(5)で評価関数 $L(x, y)$ に摂動関数を新たに加えた。しかし、本来この項はラグランジュ双対性を用いる上で必要なだけであり、式(4)の解を求める上では不要である。そこで、交互最小化法の考えを導入し摂動項の影響を主反復毎に最小化す

る。以下、2.2.で[Step 1]、[Step 2]の双対問題の定式化、及び解の関係性、2.3.で双対問題の解を求める座標降下法の式の導出を行い、2.4.で[Step 3]の交互最小化法について述べる。

2.2. 双対問題の定式化

本章では、先ほどの 2.1.の予備知識に従い双対問題の定式化、また解の関係性を具体的な数式で表す。ここで、双対問題の定式化とは双対関数及び、双対問題の定義域 Ω を導出することである。まず、式(8)、式(9)に従い双対関数、及び定義域を導出する。

$$\begin{aligned} D(\lambda) &= \min_{x \geq 0} F_L(x, y, \lambda) \\ &= \min_{x \geq 0} \left[\frac{\varepsilon}{2} \|x - m\|^2 - \lambda^T Ax + \sum_{i=1}^M \sum_{j=1}^N a_{ij} x_j - \sum_{i=1}^T \log(y_i) + \lambda^T y \right] \\ &= - \sum_{j=1}^N f_{\varepsilon}(em_j + c_j^T \lambda - \sum_{i=1}^M a_{ij}) + \sum_{i=1}^T \log(y_i) \end{aligned} \quad (12)$$

$$\Omega = \{\lambda \mid \lambda > (0, \dots, 0)^T\} \quad (13)$$

ただし、式(12)の C_j はシステム行列 A の第 j 列ベクトルであり、関数 $f_{\varepsilon}(x)$ は次のように定義される。

$$f_{\varepsilon}(x) = \begin{cases} \frac{x^2}{2\varepsilon} & \text{if } x \geq 0 \\ 0 & \text{if } x < 0 \end{cases} \quad (14)$$

また、式(7)の双対問題の解 λ^* と式(6)の主問題で得られる解 (x^*, y^*) には、式(11)より次の関係性がある。

$$x^* = \begin{pmatrix} [em_1 + c_1^T \lambda^* - \sum_{i=1}^M a_{i1}]^+ \\ \vdots \\ [em_N + c_N^T \lambda^* - \sum_{i=1}^M a_{iN}]^+ \end{pmatrix} \quad (15)$$

$$y^* = \left(\frac{1}{\lambda_1^*}, \dots, \frac{1}{\lambda_T^*} \right)^T \quad (16)$$

式(15)の $[a]^+$ は a が負であったら 0 を、正であったら a を返す関数である。以上より、本提案手法における式(6)の解を求める手法は、式(7)の双対問題の解を求めた後、それを式(15)に代入することになる。