

J-ADNI2プレクリニカルAD研究におけるPET検査（PETコア）

研究分担者

千田道雄 先端医療センター研究所副所長
伊藤健吾 国立長寿医療研究センター 部長
石井賢二 東京都健康長寿医療センター研究所

研究要旨

J-ADNI2では認知機能正常者にスクリーニング段階でアミロイドPET検査を実施し、結果によってpreclinical ADかアミロイド陰性健常高齢者かに群分けするため、すべての被験者にアミロイドPET検査を実施し、結果を迅速に報告する仕組みを構築した。PET薬剤として、国内での研究使用実績と企業による開発の進捗を考慮して、 ^{11}C -PiB、 ^{18}F -Florbetapir、 ^{18}F -Flutemetamolの3薬剤を用いる方針を決めた。J-ADNI2への参加が見込まれる約40の臨床サイトそれぞれについて、PET撮像施設の選定を行った。多施設研究に必要な品質と信頼性が得られるように、各アミロイドPET薬剤の品質基準を決めた。またPETカメラの機種によらず必要な画質のPET画像が得られるように、ファントムを用いてPETカメラ毎に撮像条件を決定する基準を決めた。PET画像の読影判定方法を定め、迅速な判定を行うための読影の仕組みの構築と読影委員の選定を行った。アミロイドPET 体制構築の一環として、PET検査用薬剤合成装置「FAST lab」を6つの医療施設に導入し、アミロイド試薬である ^{18}F -Flutemetamolの合成基盤を構築した。また、PET中央読影のための遠隔読影システムも導入した。PET施設の施設認定に関しては8施設で終了している。

A.研究目的

J-ADNI2プレクリニカルAD研究は、認知機能正常者を対象とし、アミロイドPET検査で陽性の「Preclinical AD」150名と、陰性の「アミロイド陰性健常高齢者」150名の2群にわけて登録する。被験者候補となる認知機能正常者にはスクリーニング段階でアミロイドPET検査を実施し、結果によってどちらの群に登録するかが決まるため、すべての被験者にアミロイドPET検査を実施して結果を迅速に報告する仕組みが必要である。そこでそのために必要なPET薬剤とPET施設の選定およびPET撮像のセットアップを行う。また、アミロイドPET検査の画像をすみやかに読影して被験者登録臨床機関に報告する仕組みを構築する。

これまでの経験から、認知機能正常者の約5分の1がアミロイドPET検査で陽性になると予想されるので、150人の陽性者を得るには約750人をスクリーニングする必要があると見込まれる。そこで被験者登録期間中に全国でそれだけの人数のアミロイドPET検査を実施できるような仕組み

を構築する。

B.研究方法

（1）アミロイドPET薬剤の選定

J-ADNI2で用いるアミロイドPET薬剤について、わが国における現在までの研究使用実績や、今後医療に用いられる見通しを考慮して、使用するPET薬剤を選定した。

（2）PET撮像施設の選定とセットアップ

全国で41（予定）のJ-ADNI2被験者登録臨床機関それぞれについて、PET撮像施設を選定した。とくに院内でアミロイドPETを実施できない施設は、なるべく近くにPET実施施設を整備した。

それぞれのPET撮像施設の事情を考慮し、使用するアミロイドPET薬剤をPET施設ごとに決め、検査を実施するために必要な院内製造のセットアップを行った。

アミロイドPET、FDG-PETの手順書を含んだPETマニュアルを作成した。また、準備のできた

PET施設の施設認定を実施した。

また、PETコアの選出した¹⁸F-Flutemetamol 合成施設のセットアップを行った。合成機であるFAST labの導入および合成のレベルとして核医学会の学会GMPを目標とするため合成品を確認するための検査機器の導入を行った。

(3) 撮像方法と読影方法の決定

アミロイドPET薬剤毎に、既発表データ等を参考に、放射能投与量、待機時間、撮像時間、撮像条件などを決めた。またアミロイドPET薬剤毎に読影の基準を決めた。

(4) 読影システムの構築

PET検査で得られた画像を迅速にチェックしたのち読影委員が読影する仕組みを構築した。

また、PET画像の読影に関して効率化のために遠隔読影システムを導入した。

(倫理面への配慮)

J-ADNI2プロジェクトはまず主任研究者の機関（東京大学）にて倫理審査を受け、ついで参加各施設にて倫理委員会の承認を得たところから研究を開始している。PET撮像施設が被験者登録臨床機関と異なる医療機関の場合は、両方にて倫理審査を受けている。被験者からは、スクリーニング検査の前にインフォームドコンセントを得ている。また、データは匿名化されて、処理やスクリーニング読影が行われる。

C. 研究結果

(1) アミロイドPET薬剤の選定

J-ADNI2で用いるPET薬剤として、国内での研究使用実績と企業による開発の進捗を考慮して、¹¹C-PiB、¹⁸F-Florbetapir、¹⁸F-Flutemetamolの3薬剤を用いる方針を決めた。

¹¹C-PiBは、これまでのJ-ADNIプロジェクトで用いたアミロイドPET薬剤で、国内外でのアルツハイマー病の研究に広く使われており、事実上の世界標準となっているので、J-ADNI2でも引き続き使用する。しかし、半減期がきわめて短い（20分）ため、医療への普及は期待できない。

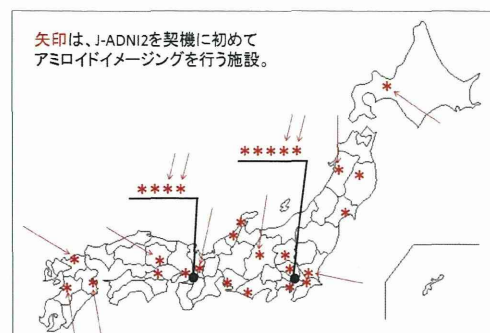
半減期より長い（110分）¹⁸Fで標識されたアミロイドPET薬剤も開発されていて、そのうち、¹⁸F-Florbetapirと¹⁸F-Flutemetamolは、すでに外

国で承認され、わが国でも将来院内製造用合成装置の承認が期待される。しかも、それぞれ権利を持ち開発に当たっている企業がJ-ADNI2の企業コンソーシアムに加わっていて、協力する意向である。そこで、この2剤もJ-ADNI2で採用することを決めた。現時点ではいずれもわが国で未承認であるが、J-ADNI2プロジェクトにて日本人のデータを一定数取得し医師や研究者や企業が広く利用できるようなしておけば、将来承認されてアルツハイマー病の早期診断や鑑別診断のための医療に、あるいはアルツハイマー病治療薬の治験に用いられるようになった際に、きわめて有用と期待される。

(2) PET撮像施設の選定とセットアップ

わが国には、アミロイドPET検査（主として¹¹C-PiB）を研究として実施しているPET施設がいくつもあるが、これまでは地域的偏在が顕著であった。そこで、まず全国のJ-ADNI2被験者登録臨床機関の被験者すべてに対して実施できる体制の構築を図った。そのために、「アミロイドPET空白地域」であった北海道、中国、九州地方にアミロイド実施可能PET施設を整備することにし、候補となるPET施設の選定と交渉、設備と機器の整備を行った。その結果、沖縄を除くすべての地方に最低1つのアミロイドPET実施施設を整備できる見通しとなった。また、それ以外の地域でも、多数ある臨床機関からの依頼に対応するため、アミロイドPET実施可能な施設の増加を図った（下図）。

J-ADNI2におけるPET検査施設(予定)



その結果、41の臨床機関すべてに対して、PET撮像施設が決定した。それでも、J-ADNI2臨床機関の近くにPET施設を整備できないケースがあ

り、被験者がPET検査を受けるために航空機や新幹線などで長距離移動することを余儀なくされる臨床機関がいくつか発生した。

各PET施設ではJ-ADNI2のためのPET薬剤院内製造の基準を定めて準備を開始し、先行施設では被験者のアミロイドPET検査を実施するまでに至った。

PETマニュアルを作成した。また、PET施設の施設認定を下記の施設において実施した。

- ・(地独) 東京都健康長寿医療センター
- ・近畿大学高度先端総合医療センター
- ・医療法人 仁泉会 MIクリニック
- ・社会医療法人財団 慈泉会 相澤病院
- ・東京大学医学部附属病院
- ・白山石川医療企業団 公立松任石川中央病院
- ・公益財団法人 先端医療振興財団 先端医療センター
- ・浜松光医学財団 浜松PET診断センター

GEヘルスケア・ジャパン社製のPET検査用薬剤合成装置「FAST lab」を下記医療施設に導入し、検査機器を必要とする施設には検査機器も導入し、¹⁸F-Flutemetamol合成の基盤を構築した。

- ・医療法人 仁泉会 MIクリニック
- ・九州大学病院
- ・社会医療法人 禎心会 セントラルCIクリニック
- ・慶応義塾大学病院
- ・一般財団法人 操風会 岡山旭東病院
- ・(独) 国立精神・神経医療研究センター

(3) 撮像方法と読影方法の決定

すでに発表されているデータや権利を持つ企業からの情報等を参考に、以下のように放射能投与量、待機時間、撮像時間を決めた：¹¹C-PiBは555MBq投与後50分から20分間撮像、¹⁸F-Florbetapirは370MBq投与後50分から20分間撮像、¹⁸F-Flutemetamolは185MBq投与後90分から30分間撮像とした。

画像再構成条件は、アミロイドPET薬剤が白質に非特異的集積を示す一方で灰白質への淡い集積を検出する必要を考え、Hoffman 3D脳ファントムを用いて分解能がFWHM 8mm相当以上かつ灰白質と白質の%コントラストが55%以上になるように、撮像条件をカメラ毎に決めることにした。

またアミロイドPET薬剤毎に読影の方法と判定(陽性か陰性)の基準を決めた。¹¹C-PiBはこれまでのJ-ADNIプロジェクト(J-ADNI1)と同じ、また¹⁸F-Florbetapirと¹⁸F-Flutemetamolはそれぞれの企業が定めた読影基準を採用した(下表)。

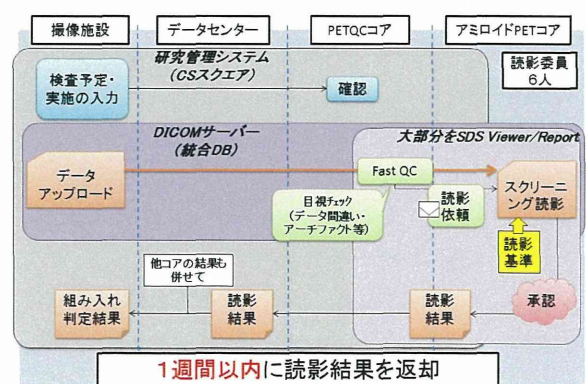
アミロイド3薬剤のPET画像読影法

	¹¹ C-PiB	¹⁸ F-florbetapir	¹⁸ F-flutemetamol
スケール	Rainbow (Gray) 要手動調整	Gray 調整不要 (最大最小でMap要)	Rainbow Sokloff 要手動調整
使用画像断面	Axial	Axial基本 (CT参照可:萎縮、梗塞等の確認)	3断面(部位によって異なる)
観察部位	前頭葉・側頭葉・頭頂葉・後部帯状回楔前部・(線条体)	側頭葉・後頭葉・前頭葉・頭頂葉(内外側)	前頭葉・側頭葉・頭頂葉・後部帯状回楔前部・線条体
部分と全体	1部位でも集積(疑)あれば陽性(疑)	2部位の皮髄コントラスト消失または1部位の明瞭な集積で陽性	1部位でも明瞭な集積あれば陽性
読影判定基準	J-ADNI1と同じ	承認薬と同様	承認薬と同様

(4) 読影システムの構築

撮像されたPET画像をアップロードし、素早くQCチェックを行った後、読影委員2名が独立に読影判定して、責任者(アミロイドPETコア)が確認し(2名の判定が分かれた場合は最終判定を行い)、結果を返す仕組みを構築した(下図。)そのために読影委員6名を任命してトレーニングを行った。

健常者アミロイドPETのスクリーニング読影フロー



また、PET画像における中央読影支援のため、(公財) 先端医療振興財団 先端医療センター、(独) 国立長寿医療研究センター、(地独) 東京都健康長寿医療センター、近畿大学間に遠隔読影システムの導入を行い、中央読影の効率化を図った。

D. 考察・結論

J-ADNI2プレクリニカルAD研究はすでに一部

でスタートし、われわれの構築したアミロイドPET検査の仕組みが順調に稼働している。

E.研究発表

1.論文発表

- 1) 石井賢二. アミロイドイメージングの基礎. 老年精神医学雑誌 2013;24(5):503-512
- 2) 石井賢二. 発症前に診断することは可能か. からだの科学 2013;278:89-93
- 3) 加藤隆司, 新畑 豊, 伊藤健吾. 特集「FDG-PETのがん診療以外への応用」脳疾患への応用(認知症).映像情報Medical, 45(5); 393-398, 2013
- 4) 伊藤健吾, 加藤隆司. 形態MRI, 脳血流SPECTおよび糖代謝FDG-PET アルツハイマー病診断のバイオマーカー;最近の進歩. 老年精神医学雑誌, 24:155-162, 2013
- 5) 伊藤健吾,加藤隆司, 文堂昌彦, 中村昭範. アルツハイマー病診断の画像診断, 基礎講座:老年精神医学とBrain Imaging. 老年精神医学雑誌, 24:707-714, 2013
- 6) 伊藤健吾, 岩坪 威. ADNIとJ-ADNIにおけるPET関連研究の概要と進捗. JSMI Report, 6(2): 3-7, 2013

2.学会発表

- 1) 石井賢二:Amyloid Imaging Up to Date. 第72回日本医学放射線学会総会, 横浜, 2013.4.11-14
- 2) Imabayashi, E., Matsuda, H., Soma, T., Kuji, I., Ishii, K., Ito, K., Iwatsubo, T. One-year reduction of glucose metabolism in the olfactory tract in Alzheimer's disease. Alzheimer's Association International Conference 2014, Boston, 2013.7.13-18
- 3) 石井賢二:PETによるアルツハイマー病の可視化. 第16回日本病院脳神経外科学会、福山、2013.7.20-21
- 4) 石井賢二:分子イメージングの成果と診断・治療への応用-アミロイドイメージング. 第53回日本核医学会学術総会, 福岡, 2013.11.8-10
- 5) 今林悦子, 松田博史, 相馬努, 坂田宗之, 久慈一英, 石井賢二: eZIS用いたZスコア画像による¹¹C-PiB-PET集積についての検討. 第53回日本核医学会学術総会, 福岡, 2013.11.8-10
- 6) 石井賢二:進化する認知症の診断・治療 - アミロイドイメージングupdate. 第31回日本神経治療学会総会, 東京, 2013.11.21-23
- 7) Ishii K, Sakata M, Oda K, Toyohara J, Ishiwata K, Senda M, Ito K, Kuwano R, Iwatsubo T, Study Group for the Japanese Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative. Longitudinal Amyloid Deposition with ¹¹C-PiB in Japanese ADNI Study. 8th Human Amyloid Imaging Meeting, Miami Beach, 2014.1.15-17
- 8) Kenji Ishii: The role of PET in the treatment strategy of dementia. The 43rd Annual Meeting of the Japanese Society of Neuroradiology, Yonago, 2014.3.21-23
- 9) 伊藤健吾:もの忘れセンターにおける画像診断の実践と最新情報. 第2回沖縄認知症ネットワーク研究会, 2013年5月11日, 那覇.
- 10) 伊藤健吾:研修医セミナー 期待が集まる脳PET-認知症への応用-. 第49回日本医学放射線学会秋季臨床大会、2013年10月14日、名古屋.
- 11) 伊藤健吾:技師教育講演3 核医学のエビデンス構築のためにやるべきこと. 第33回日本核医学技術学会総会学術学会, 2013年11月9日, 福岡.
- 12) 伊藤健吾:もの忘れセンターにおける画像診断の現状と今後の展望. 知多地域認知症作業部会, 2013年11月16日, 東浦.
- 13) 伊藤健吾:認知症における核医学診断の役割. 日本放射性医薬品協会講演会, 2014年1月17日, 東京.
- 14) 伊藤健吾:認知症に関する多施設共同画像研究の現状と今後の展望. 第171回日本核医学技術学会東海地方会, 2014年1月18日, 名古屋.
- 15) 伊藤健吾:長寿医療研究センターにおける脳核医学検査の臨床と研究. 第1回 東北認知症画像診断研究会, 2014年3月1日, 仙台市.
- 16) 伊藤健吾:シンポジウム1 多施設共同研究の現状「認知症に関する多施設共同研究の現状」. 第29回BFIC, 2013年9月7日, 神戸.
- 17) Fujiwara K, Kato T, Ito K Senda M, Ishii K, Ishii K, Iwatsubo T, Japanese Alzheimer's

Disease Neuroimaging Initiative (J-ADNI): Correction of scanner differences in multi-center J-ADNI and US-ADNI PET studies. Alzheimer's Association International Conference 2013, July 14, 2013, Boston, Massachusetts, United States.

- 18) Kato T, Fujiwara K, Okamura N, Ito K, Ishii K, Ishii K, Kuwano R, Senda M, Iwatsubo T, J-ADNI study group: Image

interpretation method of [C-11] BF-227 amyloid PET in J-ADNI: Alzheimer's Association International Conference 2013, July 13-18(15), 2013, Boston, Massachusetts, United States.

F.知的財産権の出願・登録状況

なし

J-ADNI2プレクリニカルAD研究：バイオマーカー・遺伝子検査（生化学コア）

分担研究者

池内 健 新潟大学脳研究所遺伝子機能解析学分野 教授
桑野良三 新潟大学脳研究所フェロー

研究要旨

米国ADNI研究や種々の縦断的臨床研究により、発症に先んじたアルツハイマー病の臨床バイオマーカーの挙動が検討されている。これらの研究により「アルツハイマー病（AD）の病理学的特徴であるアミロイド蓄積は認めるが認知機能は正常な時期」が15年程度存在することが明らかにされ、その病期を“プレクリニカルAD（preclinical AD）”と呼ぶことが提唱された。J-ADNI2ではプロジェクトの一部にJ-ADNI1では対象としなかったプレクリニカルADに相当する被検者の組み入れを立案し、プレクリニカルADに相当するアミロイドPET陽性・認知機能正常高齢者およびアミロイド陰性・認知機能正常高齢者を対象としたプレクリニカルADスタディを推進する。J-ADNI2の生化学コアでは、被検者に対し血液・生化学検査、尿検査、脳脊髄液検査、ゲノムDNA解析、末梢血由来RNA解析、リンパ芽球セルライン作製を実施する。脳脊髄液検査はJ-ADNI1では必須検査ではなかったが、J-ADNI2では全例に腰椎穿刺を行い脳脊髄液の採取および新規の解析項目として末梢血由来のRNAの採取を行い、プレクリニカルADにおける網羅的な遺伝子発現解析を追加実施する。生体試料のロジスティックはJ-ADNIから継続した体制を維持し、新潟大学脳研究所生命科学リソース研究センターにおいて生体試料の管理・維持を適切に行う体制を整えた。

A.研究目的

J-ADNI2プレクリニカルAD研究は認知機能正常者を対象とし、スクリーニング検査によりアミロイドPET陽性の「プレクリニカルAD」150人と、陰性の「アミロイド陰性対照者」150人を選定しエントリーする。本研究では、これらの被検者から血液生化学検査、尿検査、脳脊髄液検査、ゲノムDNA検査、末梢血RNA検査およびリンパ芽球セルライン化を行い、プレクリニカルADにおけるバイオマーカーの変化および遺伝学的要因を明らかにする仕組みを構築することを目的とする。

B.研究方法

プロトコルの策定

J-ADNI2プレクリニカルAD研究では、PET検査による判定の後、エントリー基準に従い組み入れを行い3年間のフォローを実施する。血液検査、尿検査、脳脊髄液検査、ゲノムDNA検査、末梢血RNA検査およびリンパ芽球セルライン化の採取およびロジスティックに必要なプロトコルを設定

した。

手順書および生体試料採取資材の準備

プロトコルに従い各臨床施設で生体試料の採取が適切に実施できるように生化学コア内で検討し、適宜臨床コアおよびデータセンターとも連携しながら手順書を作成した。生体試料の資材作製について、検査委託先であるSRLと打ち合わせを行った。さらに、試料の採取、輸送、測定および生体試料保管施設への移送が適切に行えるようにSRLと調整を行った。

生体試料の保管・管理体制の整備

被検者数およびビジット数を算定し、採取する生体試料ののべ検体数を推定した。さらに、血清、血漿、ゲノムDNA、RNA、不死化細胞株などの分注に必要なチューブ数を概算し、生体試料の保存に必要な設備を整備した。

(倫理面への配慮)

J-ADNI2プロジェクトの倫理審査については、主任研究者の機関（東京大学）において臨床倫理および遺伝子倫理について承認を得た。また、生化学検査および遺伝子解析の実施機関である新潟大学においても臨床倫理および遺伝子倫理の承認を受けた。各臨床サイトにおいては準備が整った施設から順次、倫理委員会の承認を受けている。研究参加者からは研究についての説明を行った後に、インフォームドコンセントを書面で得る。J-ADNI2で得られた生体試料の管理・解析では匿名化された番号を用いる。

C. 研究結果

プロトコルの策定

J-ADNI2プレクリニカルAD研究では、PET検査による判定の後、エントリー基準に従い組み入れを行い3年間のフォローを実施する。血液検査は、スクリーニング、ベースライン、12ヶ月、24ヶ月、36ヶ月に実施する。脳脊髄液検査はベースライン、12ヶ月、36ヶ月で実施する。ゲノムDNA採取および不死化細胞株作製のための採血はベースラインに実施する。末梢血RNAの採取はベースライン、12ヶ月、24ヶ月、36ヶ月に実施する。サンプルの回収およびロジスティックはSRL・メディサーチ社に委託する。

血液生化学および脳脊髄液の検査項目については、J-ADNI1と同様に実施する。血液生化学および尿検査はSRLに測定を委託する。脳脊髄液を用いたバイオマーカー解析はLuminex technologyによるAβ42、総タウ、リン酸化タウの測定を新潟大学において実施する。US-ADNI生化学コア（ペンシルバニア大学Shaw教授）、Innogenetics社（Vandijck博士）と共同して髄液マーカーの測定に関する比較検討を実施し、標準化した統一プロトコルを作成した。ゲノムDNA解析については、APOE多型および公開データベース（ALZGene）に登録されている遺伝子のタイピングを実施する。必要に応じて新規一塩基置換（SNP）による網羅的解析（GWAS）または次世代シーケンサーを用いた全ゲノム網羅的遺伝子配列解析を行う体制を整えた。

J-ADNI2研究では末梢血RNAの採取項目を新たに設定した。末梢血RNA採取に用いる採血管はPAXgene RNA用採血管を用いることとした。

PAXgene RNA用採血管を用い末梢血からRNAを抽出し、RNA品質の検証およびリアルタイムPCRを予備実験として実施した。その結果、RNAの良好な品質（RIN平均9.6, n=43）およびRNA発現解析結果を得ることができた。

手順書および生体試料採取資材の準備

プロトコルの従い各臨床施設で適切に生体試料の採取が行えるように手順書を作成した。生体試料採取がスムーズに実施されるように被検者毎に1ビジットー1パッケージとなるように資材を作製した。

生体試料の保管・管理体制の整備

J-ADNI2プレクリニカル研究で採取された生体試料を保管・管理する体制を整えた。不死化細胞株の一部は、バックアップとして東京大学神経内科学教室にも保管する。

考察・結論

プレクリニカルADを対象とした縦断的観察研究における生化学検査および遺伝子解析のプロトコルを策定し手順書を作成し、実施準備を整えた。今後被験者のスクリーニング・組み入れを進め、プロトコルに従い生化学コアの活動を実施していく。

D. 健康危惧情報

特になし

E. 研究発表

1. 論文発表

1) Wen Y, Miyashita A, Kitamura N, Tsukie T, Saito Y, Hatsuta H, Murayama S, Kakita A, Takahashi H, Akatsu H, Yamamoto T, Kosaka K, Yamaguchi H, Akazawa K, Ihara Y, Kuwano R; and Japanese Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative. SORL1 is genetically associated with neuropathologically characterized late-onset Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis.* 35:387-394. (2013)

2. 学会発表

1) Vandijck M, Kuwano R, Waligorska T, Smet

SD, Tsukie T, Verdoodt L, Deleersnijder W, Trojanowski J, Iwatsubo T, Shaw L
Interlaboratory Variation When Using a Unified Test Procedure for INNO-BIA AlzBio3. AAIC, Boston 2013

- 2) 月江珠緒, 菊地正隆, 中谷明弘, 宮下哲典, 池内健, 桑野良三, 岩坪威, J-ADNI. アルツハイマー病における体液中バイオマーカーの解析; J-ADNI研究. 第32回日本認知症学会学術集会 2013年11月8日 松本
- 3) J-ADNIにおける生化学・遺伝学マーカーの評

価. 桑野良三. 第32回日本認知症学会学術集会 2013年11月8日 松本

F.知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む)

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

Ⅲ. 研究成果の刊行に関する一覧表

書籍
なし

雑誌

MRIコア

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Matsuda H.	Voxel-based morphometry of brain MRI in normal aging and Alzheimer's	Aging Dis.	4	29-37	2013
Shigemoto Y, Matsuda H, Kamiya K, Maikusa N, Nakata Y, Ito K, Ota M, Matsunaga N, Sato	In vivo evaluation of gray and white matter volume loss in the parkinsonian variant of multiple system atrophy using SPM8 plus DARTEL for VBM.	NeuroImage: Clinical	2	491-486	2013
Nakatsuka T, Imabayashi E, Matsuda H, Sakakibara R, Inaoka T, Terada H.	Discrimination of dementia with Lewy bodies from Alzheimer's disease using voxel-based morphometry of white matter by statistical parametric mapping 8 plus diffeomorphic anatomic registration through exponentiated Lie algebra.	Neuroradiology	55	559-566	2013
Maikusa N, Yamashita F, Tanaka K, Abe O, Kawaguchi A, Kabasawa H, Chiba S, Kasahara A, Kobayashi N, Yuasa T, Sato N, Matsuda H, Iwatsubo T,	J-ADNI: Improved volumetric measurement of brain structure with a distortion correction procedure using an ADNI phantom.	Med Phys	40	062303	2013
Imabayashi E, Matsuda H, Tabira T, Arima K, Araki N, Ishii K, Yamashita F, Iwatsubo T,	Japanese Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative. Comparison between brain CT and MRI for voxel-based morphometry of Alzheimer's disease.	Brain and Behavior	3	487-493	2013
松田博史	VSRAD®.精神科領域における最近のMRIの進歩.	精神科	22	363-369	2013
松田博史	MRIによる脳容積測定	映像情報Medical	45	505-509	2013
松田博史	認知症の画像診断における海馬	Clinical Neuroscience	31	1432-1434	2013
松田博史	MRI-VBMの臨床応用	Pharma Medica	32	19-22	2014

PETコア

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
石井賢二	アミロイドイメージングの基礎	老年精神医学雑誌	24(4)	503-512	2013
石井賢二	発症前に診断することは可能か	からだの科学	278	89-93	2013
加藤隆司, 新畑豊, 伊藤健吾	脳疾患への応用 (認知症)	映像情報Medical	45(5)	393-398	2013
伊藤健吾, 加藤隆司	形態MRI, 脳血流SPECTおよび糖代謝FDG-PET アルツハイマー病診断のバイオマーカー; 最近の進歩	老年精神医学雑誌	24	155-162	2013
伊藤健吾, 加藤隆司, 文堂昌彦, 中村昭範	アルツハイマー病診断の画像診断, 基礎講座: 老年精神医学とBrain Imaging	老年精神医学雑誌	24	707-714	2013
伊藤健吾, 岩坪威	ADNIとJ-ADNIにおけるPET関連研究の概要と進捗	JSMI Report,	6(2)	3-7	2013

生化学コア

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Wen Y, Miyashita A, Kitamura N, Tsukie T, Saito Y, Hatsuta H, Murayama S, Kakita A, Takahashi H, Akatsu H, Yamamoto T, Kosaka K, Yamaguchi H, Akazawa K, Ihara Y, Kuwano R; and Japanese Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative.	SORL1 is genetically associated with neuropathologically characterized late-onset Alzheimer's disease.	J Alzheimers Dis	35	387-394	2013

IV. 研究成果の刊行物・別刷

Review

Voxel-based Morphometry of Brain MRI in Normal Aging and Alzheimer's Disease

Hiroshi Matsuda*

Integrative Brain Imaging Center, National Center of Neurology and Psychiatry, Tokyo, Japan

[Received November 12, 2012; Revised November 20, 2012; Accepted December 1, 2012]

ABSTRACT: Voxel-based morphometry (VBM) using structural brain MRI has been widely used for assessment of normal aging and Alzheimer's disease (AD). VBM of MRI data comprises segmentation into gray matter, white matter, and cerebrospinal fluid partitions, anatomical standardization of all the images to the same stereotactic space using linear affine transformation and further non-linear warping, smoothing, and finally performing a statistical analysis. Two techniques for VBM are commonly used, optimized VBM using statistical parametric mapping (SPM) 2 or SPM5 with non-linear warping based on discrete cosine transforms and SPM8 plus non-linear warping based on diffeomorphic anatomical registration using exponentiated Lie algebra (DARTEL). In normal aging, most cortical regions prominently in frontal and insular areas have been reported to show age-related gray matter atrophy. In contrast, specific structures such as amygdala, hippocampus, and thalamus have been reported to be preserved in normal aging. On the other hand, VBM studies have demonstrated progression of atrophy mapping upstream to Braak's stages of neurofibrillary tangle deposition in AD. The earliest atrophy takes place in medial temporal structures. Stand-alone VBM software using SPM8 plus DARTEL running on Windows has been newly developed as an adjunct to the clinical assessment of AD. This software provides a Z-score map as a consequence of comparison of a patient's MRI with a normal database.

Key words: Neuroradiology, MRI, voxel-based morphometry, aging, Alzheimer's disease

Studies of brain morphometry using magnetic resonance imaging (MRI) have been carried out by many researchers as the resolution of an anatomical scan of a whole brain increases with shorter acquisition time. MRI based measures of atrophy are regarded as valid markers of disease state and progression [1]. However, differences in the shape and neuroanatomical configuration of individual brains may cause overlooking of structural differences by visual inspection or volume of interest (VOI) technique. The importance of the voxel-based morphometry (VBM) approach [2] is that it is not biased to one particular structure and gives an even-handed and comprehensive assessment of anatomical differences throughout the brain [3]. MRI data for VBM are acquired as a three-dimensional volumetric T1-weighted image. It has a thin thickness of

1 to 1.5 mm without interslice gap. The image matrix is usually 256X256.

VBM of MRI data comprises segmentation into gray matter, white matter, and cerebrospinal fluid (CSF) partitions, anatomical standardization of all the images to the same stereotactic space using linear affine transformation and further non-linear warping, smoothing, and finally performing a statistical analysis. The output from the method is a statistical parametric map. This review article describes common VBM techniques incorporated in statistical parametric mapping (SPM) software running on Matlab platform and its application to normal aging and Alzheimer's disease (AD). Finally new stand-alone VBM software running on Windows is proposed as an adjunct to the clinical assessment of AD.

*Correspondence should be addressed to: Hiroshi Matsuda M.D., Integrative Brain Imaging Center, National Center of Neurology and Psychiatry, Tokyo, 187-8551, Japan. Email:matsudah@ncnp.go.jp

Table 1. Voxel-based morphometry studies of age-related changes in regional gray and white matter volumes in the healthy human brain

Study	Study design	VBM method	Age range (Y)	N	Regional changes with advancing age	
					Gray matter volume	White matter volume
Good CD, <i>et al.</i> (2001)	cross sectional	optimized VBM (SPM2)	17-79	465	Reduction in parietal, pre-and post-central, insula/frontal operculum, cerebellum, anterior cingulate preservation in medial temporal structures	reduction in frontal, optic radiation, posterior limb of internal capsule, ventrolateral thalamus
Resnick UM, <i>et al.</i> (2003)	longitudinal (4 years)	SPM99	59-85	92	Reduction in orbital and inferior frontal, cingulate, insular, inferior parietal	widespread reduction
Matsuda H, <i>et al.</i> (2003)	cross sectional	SPM99	18-86	52	Reduction in frontal, temporal, insular cortex, pericentral gyri, and anterior cingulate gyri preservation in medial temporal structures, thalamus, and putamen	
Tisserand DJ, <i>et al.</i> (2004)	cross sectional	MNI method	53-84	38	Reduction in frontal, temporal, striate cortex	
Grieve SM, <i>et al.</i> (2005)	cross sectional	optimized VBM (SPM2)	8-79	223	Reduction in frontal and parietal cortex preservation in medial temporal structures, thalamus, cingulate gyrus	
Smith CD, <i>et al.</i> (2007)	cross sectional	optimized VBM (SPM2)	58-95	122	Reduction in frontal, parietal, temporal	Reduction in anterior corpus callosum
Hutton C, <i>et al.</i> (2009)	cross sectional	DARTEL(SPM5)	22-60	48	Reduction in prefrontal, orbitofrontal, temporal regions, insula, cingulate, precentral sulcus	
Curiati PK, <i>et al.</i> (2009)	cross sectional	optimized VBM (SPM2)	67-75	132	Reduction in temporal neocortex, prefrontal cortex, medial temporal region	
Kalpouzos G, <i>et al.</i> (2009)	cross sectional	optimized VBM (SPM2)	20-83	45	Reduction in frontal and parietal cortex, insular regions preservation in anterior medial temporal structures, thalamus, brain stem	
Giorgio A, <i>et al.</i> (2010)	cross sectional	optimized VBM (FSL)	23-81	66	Reduction in most of cortical regions preservation in occipital pole, caudate nucleus, pallidum, amygdala, hippocampus	Linear reduction in thalamic radiations, anterior limb of the internal capsule, cerebral peduncle, cerebellum, external capsule, nonlinear reduction in superior longitudinal fascicle and superior corona radiata
Giorgio A, <i>et al.</i> (2010)	longitudinal (2.5 years)	optimized VBM (FSL)	13-18	24	Reduction in parieto-occipital cortex	Increase in frontal, corpus callosum, retrosplenial, medial parietal cortex
Terribilli D, <i>et al.</i> (2011)	cross sectional	optimized VBM (SPM2)	18-50	89	Reduction in prefrontal cortex and cerebellum preservation in medial temporal region, cingulate gyrus, insular, and temporal neocortex	

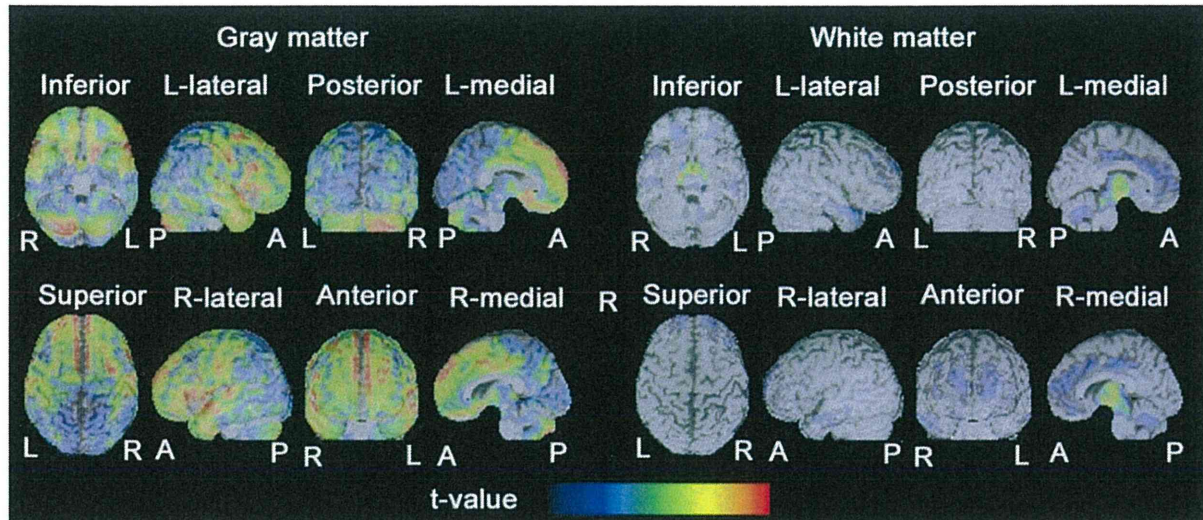


Figure 1. Age-related atrophy in gray and white matter in healthy controls. VBM analysis for 159 healthy volunteers aged from 20 to 74 years showed significant negative correlation of gray matter and white matter volume with advancing age most prominently in frontal cortex and brain stem.

Optimized VBM; This method has been developed for removing areas of missegmented nongray matter voxels by the introduction of additional preprocessing steps to exclude nonbrain voxels prior to anatomical standardization and subsequent segmentation [4,5]. Initial segmentation involves segmentation of the original structural MR images in native space into gray and white matter images, followed by a series of fully automated morphological operations for removing unconnected non-brain voxels in skull, and dural venous sinus from the segmented images. The resulting images are extracted gray and white matter partitions in native space. The extracted segmented gray/white matter images are standardized to the gray/white matter templates, thereby preventing any contribution of nonbrain voxels and affording optimal anatomical standardization of gray/white matter. In order to facilitate an optimal segmentation, the optimized standardization parameters are reapplied to the original, whole brain structural images in native space. The optimally standardized whole brain structural images in stereotactic space are then segmented into gray and white matter, CSF partitions and subject to a second extraction of standardized segmented gray/white matter images. The brain extraction step is repeated at this stage because some nonbrain voxels from scalp, skull, or venous sinuses in the optimally normalized whole brain images could still remain outside the brain margins on segmented gray/white matter images.

As a result of nonlinear spatial normalization based on discrete cosine transforms, the volumes of certain brain regions may grow, whereas others may shrink. In

order to preserve the volume of a particular tissue within a voxel, a further processing step is incorporated. This involves multiplying (or modulating) voxel values in the segmented images by the Jacobian determinants derived from the anatomical standardization step. In effect, an analysis of modulated data tests for regional differences in the absolute amount (volume) of gray matter, whereas analysis of unmodulated data tests for regional differences in the concentration of gray matter. Finally, each optimally standardized, segmented, modulated image is smoothed by convolving with an isotropic Gaussian kernel with 12-mm full width at half maximum (FWHM). The smoothing step helps to compensate for the inexact nature of the anatomical standardization. Moreover it has the effect of rendering the data more normally distributed, increasing the validity of parametric statistical tests.

SPM8 plus diffeomorphic anatomical registration using exponentiated Lie algebra (DARTEL); DARTEL incorporated in SPM8 is an implemented algorithm for diffeomorphic image registration [6]. It has been formulated to include an option for estimating inverse consistent deformations. This nonlinear registration is considered as a local optimization problem, which is solved using a Levenberg–Marquardt strategy. A constant Eulerian velocity framework is used, which allows a rapid scaling and squaring method to be used in the computations. This technique improves inter-subject registration. VBM8 toolbox (<http://dbm.neuro.uni-jena.de/vbm8/>) is available for VBM using SPM8 plus DARTEL for both cross-sectional and longitudinal studies.

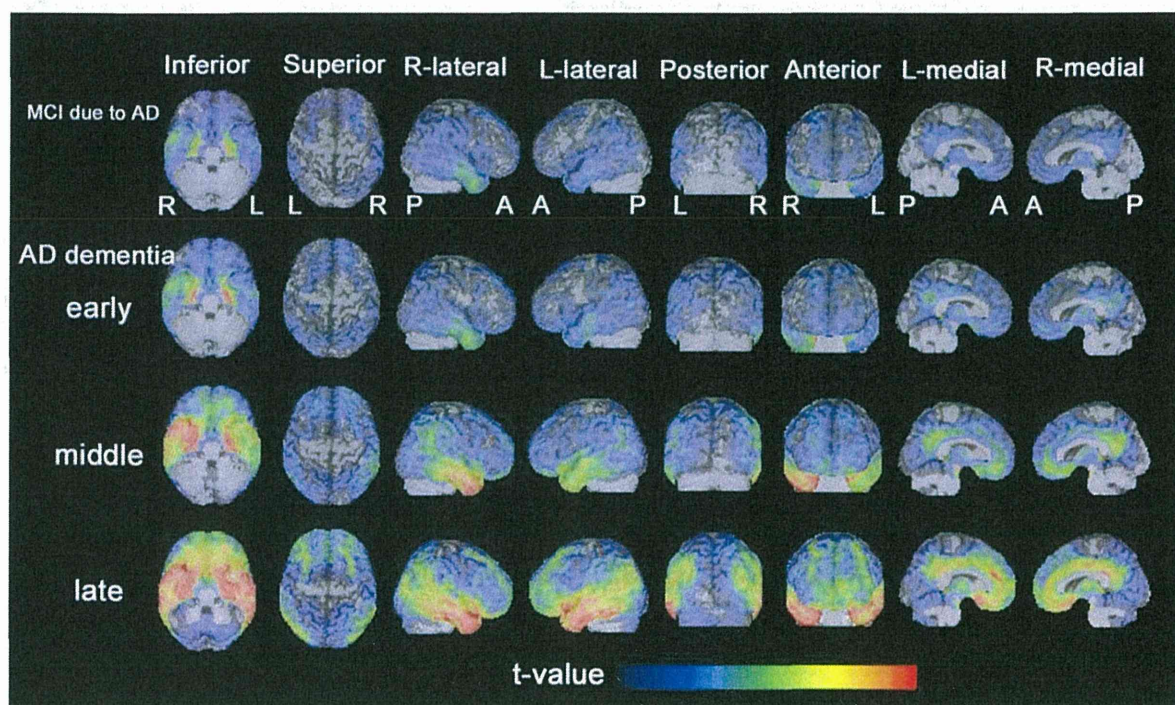


Figure 2. Gray matter atrophy associated with progress of AD. VBM analysis showed significant atrophy initially in medial temporal structures at the stage of mild cognitive impairment (MCI). As AD progresses, atrophy of medial temporal structures becomes more prominent. Moreover atrophy extends into lateral temporal cortex, parietal and frontal association cortex, and posterior cingulate gyrus and precuneus. Peri-central and occipital cortex and cerebellum are spared atrophy. Groups of MCI due to AD, early AD, middle AD, and late AD comprise 61, 42, 49, and 26 subjects, respectively.

In the SPM8 plus DARTEL procedure, T1-weighted images were classified into gray matter, white matter and CSF using the segmentation routine implemented in SPM8, that gives both the native space versions and DARTEL imported versions of the tissues. SPM8 and VBM8 toolbox provides better segmentation accuracy and reliability than FMRIB's Software Library and FreeSurfer software programs [7]. The DARTEL imported versions of gray and white matter were used to generate the flow fields (which encode the shapes), and a series of template images by running 'DARTEL (create templates)' routine. During this step, DARTEL increases the accuracy of inter-subject alignment by modeling the shape of each brain using millions of parameters. DARTEL works by aligning gray matter among the images, while simultaneously aligning white matter. This is achieved by generating increasingly crisp average template data, to which the data are iteratively aligned. The flow fields and final template image created in the previous step are used to generate smoothed (8-mm FWHM), modulated, spatially normalized and Jacobian scaled gray and white matter images resliced to isotropic voxel size in Montreal Neurological Institute space.

DARTEL provides better registration accuracy than other widely used nonlinear deformation algorithms including optimized VBM [8].

VBM in normal aging

Studying the distribution and time course of alterations that occur in the normal brain with aging is important for understanding the mechanisms underlying these changes and for better characterization of neurological disorders whose risk increases with advancing age. The advent of VBM techniques of MRI structural data has facilitated a sensitive detection of regional patterns of gray matter and white matter volume changes. Most studies have employed a cross-sectional design in which correlations of volume and age at specific time points are used to make inferences about how the aging process affects the brain structure over time. However cross-sectional studies may inevitably have some degree of overlap of regional volume changes between normal aging and AD [9]. Large longitudinal VBM studies involving the acquisition of serial MRI measurements over time are desirable in the same subject samples [10].

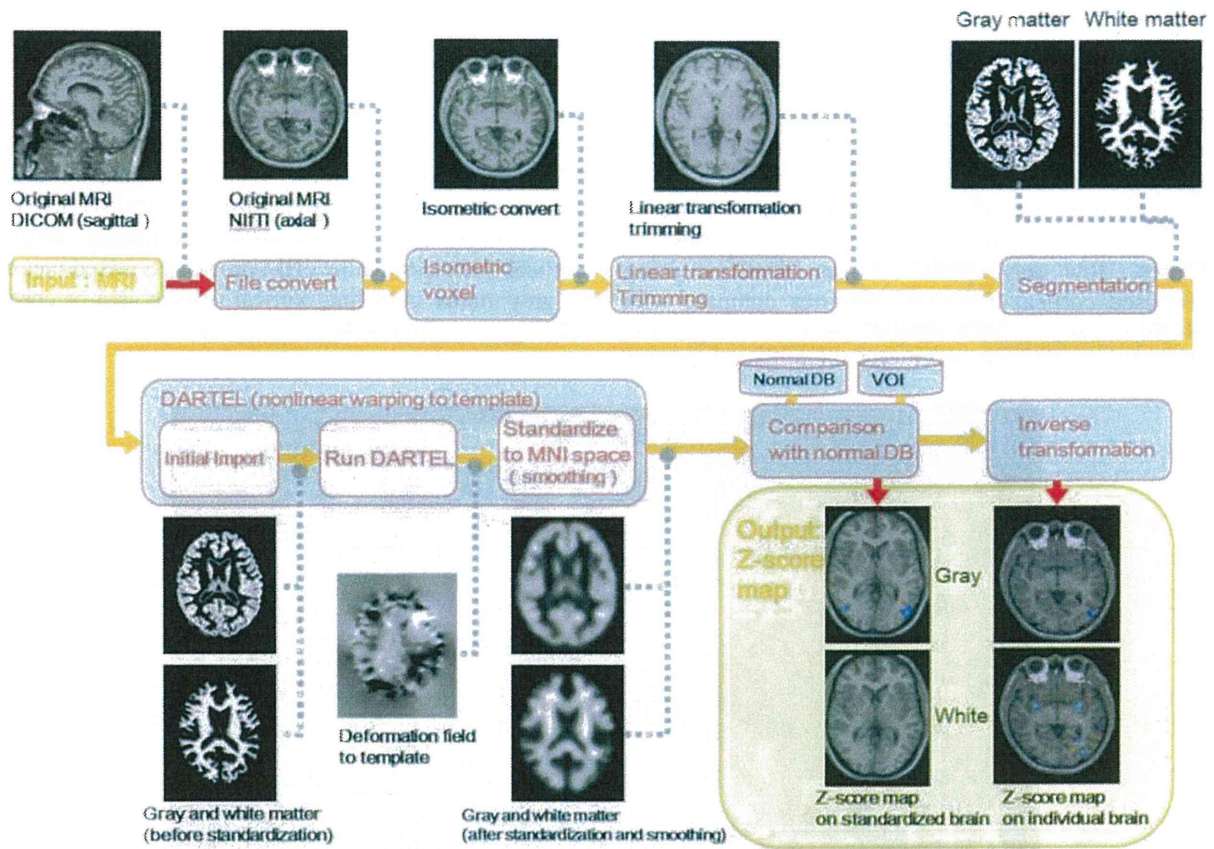


Figure 3. Procedure of stand-alone VBM software, VSRAD. Comparison of patient’s MRI with MRI normal database yields color-coded Z-score maps of both gray matter and white matter using VBM analysis based on SPM8 plus DARTEL.

There have been a lot of VBM investigations on gray matter volume changes with advancing age (Table 1, Fig.1). Most cortical regions prominently in frontal and insular areas have been reported to show a linear negative association between volume and age [4,12-18]. In contrast, many reports have found preservation of gray matter volume in specific structures such as amygdala, hippocampus, and thalamus [4,12,14,17,18]. Relative preservation of these subcortical limbic or paralimbic regions is consistent with the functional importance of the thalamo-limbic circuits in sensory integration, arousal, emotion, and memory. This preservation in areas with the early maturation may lend credence to the idea that later-maturing cortical regions are more vulnerable to age-related morphologic changes. These age-related features may be already present during earlier stages of adulthood. During non-elderly life prefrontal areas showed linear volume reduction with advancing age, while medial temporal region showed volume preservation [18]. Cortical gray matter volume

showed age-related reduction even during adolescence [19].

Throughout adulthood, white matter volumes also showed a linear negative association with advancing age in anterior thalamic radiation, internal capsule, cerebral peduncle, cerebellum, and external capsule [20](Fig.1). In contrast, nonlinear relationships between white matter volume and age were found in superior longitudinal fascicle and superior corona radiata. This nonlinear inverted U-shaped relationship with age, slightly increasing during adulthood, is consistent with the notion of an ongoing maturation of the white matter beyond adolescence, reaching its peak in the fourth decade.

In a longitudinal study of an interval of 2.5 years during adolescence, a significant increase in white matter was found in the frontal white matter bilaterally connected via the body of the corpus callosum [19]. In this context it must be remembered that dehydration may induce a significant widespread loss of white matter volume in the temporo-parietal areas [21]. Consequently,

VBM studies investigating white matter changes should consider controlling subjects' hydration state to avoid the potential confounder of differences in hydration.

The morphology of cortical gray matter is assessed using not only VBM but also cortical thickness measures. How gray matter changes identified using voxel-based cortical thickness measures compare with local gray matter volume changes identified using VBM was investigated [22]. VBM and voxel-based cortical

thickness measures yield overall consistent results when investigating healthy aging but voxel-based cortical thickness provides a more sensitive measure of age-associated decline in gray matter compared with VBM. Voxel-based cortical thickness specifically measures cortical thickness, while VBM provides a mixed measure of gray matter including cortical surface area or cortical folding as well as cortical thickness.

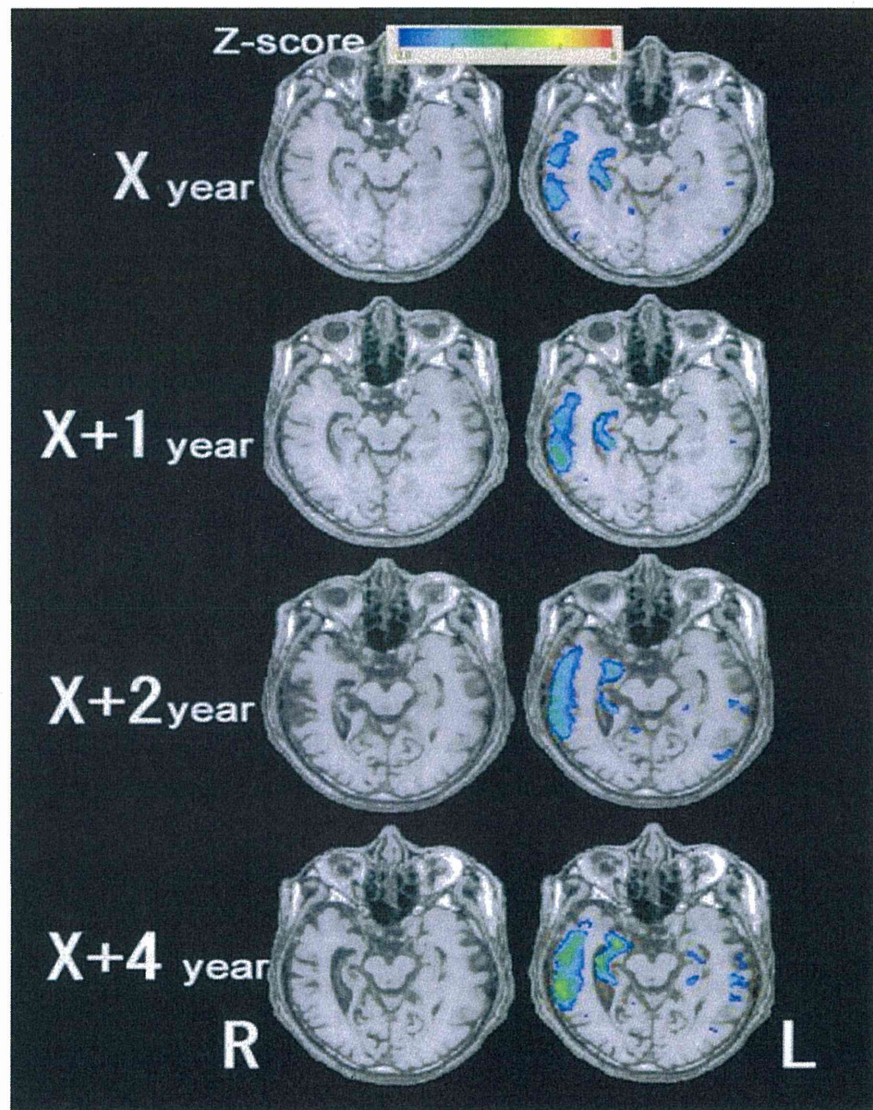


Figure 4. Longitudinal VBM analysis using VSRAD in a patient with AD. VSRAD demonstrates progressive atrophy in right-side dominant gray matter atrophy in medial and lateral temporal areas during a 5-year period in a man with AD aged 62 years at onset. Mini-mental state examination score decreased from 24 to 13 during this period. The severity, extent, ratio for the atrophy of medial temporal structures as the target VOI and the extent of whole brain atrophy are 1.3, 20.9%, 4.8, 3.8% at X year, 1.4, 22.6%, 5.8, 4.3% at X+1 year, 1.6, 33.7%, 6.2, 5.4% at X+2 year, 2.4, 55.1%, and 6.4, 8.5% at X+4 year, respectively.

VBM in Alzheimer's disease

Structural MRI measurements of brain atrophy are promising biomarkers for tracking disease progression in patients with AD. Progression of atrophy matches the stereotypical pattern of an increase in neurofibrillary tangles described by the Braak staging scheme [23]. Six stages are reported in the development of neurofibrillary tangles. Stages I and II involve the transentorhinal region which is situated along the lateral border of the entorhinal cortex and mediates between the entorhinal allocortex and temporal neocortex. The entorhinal region is located between the hippocampus and transentorhinal region, spreading over both the ambient gyrus and anterior portions of the parahippocampal gyrus. The brain change remains below the threshold associated with clinical symptoms. Stages III and IV severely involve both the entorhinal and transentorhinal regions accompanied by mild changes in the hippocampus and the virtual absence of changes in the neocortical regions. The clinical protocols of many individuals at these stages note an impairment of cognitive functions. Stages V and VI involve neocortical association areas. These stages correspond to the conventionally used criteria for neuropathologic confirmation of the clinical diagnosis of AD. Many researchers have demonstrated progression of atrophy in AD corresponding to these Braak stages using VBM [24-34] (Fig.2). In the Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative (ADNI) study [35], VBM showed strong associations between composite scores of memory generated from ADNI's neuropsychological battery and gray matter atrophy in the medial and lateral temporal lobes, and between composite scores of executive functions and gray matter atrophy in the parietal and temporal lobes.

Recent ante-mortem VBM studies [36] in demented patients with AD pathology revealed three subtypes based on the distribution of neurofibrillary tangles: typical AD, hippocampal-sparing AD, and limbic-predominant AD. Compared with typical AD, hippocampal-sparing AD has more neurofibrillary tangles and atrophy in the cortex and fewer in the hippocampus, whereas the opposite pattern is seen in limbic-predominant AD. Age at onset differed between subtypes, with the youngest ages recorded in the group with hippocampal-sparing AD and oldest in the group with limbic-predominant AD. This difference well explains why patients with early-onset AD have atypical clinical syndromes associated with widespread involvement in the association cortex. The topographical differences in gray matter involvement between early and late onset AD have been also reported by several investigators [37-39]

White matter changes have been reported to be less than gray matter changes in AD. Meta-analysis of VBM studies of white matter volume alterations in AD revealed significant volume reductions in the left parahippocampal gyrus extending to the temporal white matter, the right temporal white matter extending to the parahippocampal gyrus and posterior corpus callosum [40]. These white matter volume reductions are close to the structures of memory formation including the hippocampus, amygdala, and entorhinal cortex. The mechanism underlying white matter atrophy in AD remains unclear. There is one argument that gray matter degeneration results in white matter atrophy through demyelination because these regions contain efferent connections of both the hippocampus and amygdala. Another argument is that a white matter deficit contributes to the development of cortical pathology in AD. White matter damage in AD results in cortico-cortical and/or cortico-subcortical disconnection of cognitive networks and thus contributes to cognitive impairment in AD patients.

Voxel-based Specific Analysis System for Alzheimer's disease (VSRAD); VBM approach has been reported to show higher accuracy in discriminating AD and controls than VOI based analysis [41]. To facilitate VBM approach in an individual subject, a stand-alone software program running on Windows for VBM analysis based on SPM8 plus DARTEL was developed to discriminate a patient from healthy controls [42](Fig.3). First, MRI data were anatomically standardized with only 12-parameter affine transformation to the SPM template so as to correct for differences in brain size. Then MR images were segmented into gray matter, white matter, and CSF images by unified tissue segmentation procedure after image intensity nonuniformity correction. These linearly transformed and segmented images were nonlinearly transformed by DARTEL procedures and then modulated to the customized template for DARTEL followed by smoothing using an 8-mm FWHM kernel. Each processed segmented image was compared to the mean and standard deviation of gray matter or white matter images of the 80 healthy volunteers using voxel-by-voxel Z-score analysis with and without voxel normalization to global mean intensities (global normalization), $Z\text{-score} = ([\text{control mean}] - [\text{individual value}]) / (\text{control standard deviation})$. These Z-score maps were displayed by overlay on tomographic sections and surface rendering of the standardized brain. Inversed warping also makes it possible to display Z-score maps on the tomographic sections of the individual brain. This program registered the target VOI in medial temporal structures defined by group comparison of patients with early AD and healthy controls. This software program

takes approximately 9 min for all procedures using a 64-bit personal computer with Intel® Core™ i7 CPU, 3.33 GHz, 6 gigabyte memory.

Four indicators for characterizing atrophy in the target VOI and in the whole brain were determined. The first is the severity of atrophy obtained from the averaged positive Z-score in the target VOI. The second is the extent of a region showing significant atrophy in the target VOI, that is, the percentage rate of the coordinates with a Z value exceeding the threshold value of 2 in the target VOI. The third is the extent of a region showing significant atrophy in the whole brain, that is, the percentage rate of the coordinates with a Z value exceeding the threshold value of 2 in the whole brain. These three indicators of severity and extent for the target VOI and extent for the whole brain are useful for early detection and longitudinal evaluation of AD (Fig.4). The fourth is the ratio of the extent of a region showing significant atrophy in the target VOI to the extent of a region showing significant atrophy in the whole brain. This ratio may be useful for differentiation of AD from other neuropsychiatric diseases manifesting dementia.

Conclusion

Progress has been made on VBM technique, and VSRAD software has been applied to routine clinical studies on AD in Japan. Atrophy rates of whole-brain and medial temporal structures are sensitive markers of neurodegeneration, and are increasingly being used as outcome measures in trials of potentially disease-modifying therapies. The utility of VBM will be increased hereafter as adjuncts to clinical assessment in the diagnosis and monitoring of progression of AD.

Acknowledgment

This work was supported by a Grant-in-Aid for Scientific Research (C), Ministry of Education, Culture, Sports, Science and Technology, Japan (24591786).

References

- [1] Frisoni GB, Fox NC, Jack CR Jr, Scheltens P, Thompson PM (2010) The clinical use of structural MRI in Alzheimer disease. *Nat Rev Neurol*, 6:67-77.
- [2] Ashburner J, Friston KJ (2000). Voxel-based morphometry--the methods. *Neuroimage*, 11:805-21.
- [3] Ashburner J, Friston KJ (2001). Why voxel-based morphometry should be used. *Neuroimage*, 14:1238-43.
- [4] Good CD, Johnsrude IS, Ashburner J, Henson RN, Friston KJ, Frackowiak RS (2001). A voxel-based morphometric study of ageing in 465 normal adult human brains. *Neuroimage*, 14:21-36.
- [5] Karas GB, Burton EJ, Rombouts SA, van Schijndel RA, O'Brien JT, Scheltens P, et al. (2003). A comprehensive study of gray matter loss in patients with Alzheimer's disease using optimized voxel-based morphometry. *Neuroimage*, 18:895-907.
- [6] Ashburner J (2007). A fast diffeomorphic image registration algorithm. *Neuroimage*, 38:95-113.
- [7] Eggert LD, Sommer J, Jansen A, Kircher T, Konrad C (2012). Accuracy and reliability of automated gray matter segmentation pathways on real and simulated structural magnetic resonance images of the human brain. *PLoS One*, 7:e45081.
- [8] Klein A, Andersson J, Ardekani BA, Ashburner J, Avants B, Chiang MC, et al. (2009). Evaluation of 14 nonlinear deformation algorithms applied to human brain MRI registration. *Neuroimage*, 46:786-802.
- [9] Raji CA, Lopez OL, Kuller LH, Carmichael OT, Becker JT (2009). Age, Alzheimer disease, and brain structure. *Neurology*, 73:1899-905.
- [10] Raz N, Lindenberger U, Rodrigue KM, Kennedy KM, Head D, Williamson A, et al. (2005). Regional brain changes in aging healthy adults: general trends, individual differences and modifiers. *Neuroimage*, 24:869-881.
- [11] Resnick SM, Pham DL, Kraut MA, Zonderman AB, Davatzikos C (2003). Longitudinal magnetic resonance imaging studies of older adults: a shrinking brain. *J Neurosci*, 23:3295-301.
- [12] Matsuda H, Ohnishi T, Asada T, Li ZJ, Kanetaka H, Imabayashi E, et al. (2003). Correction for partial-volume effects on brain perfusion SPECT in healthy men. *J Nucl Med*, 44:1243-52.
- [13] Tisserand DJ, van Boxtel MP, Pruessner JC, Hofman P, Evans AC, Jolles J (2004). A voxel-based morphometric study to determine individual differences in gray matter density associated with age and cognitive change over time. *Cereb Cortex*, 14:966-73.
- [14] Grieve SM, Clark CR, Williams LM, Peduto AJ, Gordon E (2005). Preservation of limbic and paralimbic structures in aging. *Hum Brain Mapp*, 25:391-401.
- [15] Smith CD, Chebrolu H, Wekstein DR, Schmitt FA, Markesbery WR (2007). Age and gender effects on human brain anatomy: a voxel-based morphometric study in healthy elderly. *Neurobiol Aging*, 28:1075-87.
- [16] Curiati PK, Tamashiro JH, Squarzone P, Duran FL, Santos LC, Wajngarten M, et al. (2009). Brain structural variability due to aging and gender in cognitively healthy Elders: results from the Sao Paulo Ageing and Health study. *AJNR Am J Neuroradiol*, 30:1850-6.
- [17] Kalpouzos G, Chételat G, Baron JC, Landeau B, Mevel K, Godeau C, et al. (2009). Voxel-based mapping of brain gray matter volume and glucose metabolism profiles in normal aging. *Neurobiol Aging*, 30:112-24.
- [18] Terribilli D, Schaufelberger MS, Duran FL, Zanetti MV, Curiati PK, Menezes PR, et al. (2011). Age-related gray matter volume changes in the brain during non-elderly adulthood. *Neurobiol Aging*, 32:354-68.
- [19] Giorgio A, Watkins KE, Chadwick M, James S, Winmill L, Douaud G, et al. (2010). Longitudinal