

## 博士論文の要旨及び審査結果の要旨

氏名 須田 有紀子  
学位 博士(歯学)  
学位記番号 新大院博(歯)第385号  
学位授与の日付 平成29年3月23日  
学位授与の要件 学位規則第4条第1項該当  
博士論文名 拡散強調画像の多変量解析による下歯槽神経の分画

論文審査委員 主査 教授 林 孝文  
副査 教授 瀬尾 憲司  
副査 教授 大島 勇人

### 博士論文の要旨

#### 【緒言】

末梢神経は神経血管束によって構成され、内在する組織間の微小循環により、神経線維を取り囲む環境の恒常性は保たれている。構成する組織のそれぞれの情報を得ることは神経機能総体の評価に有用となる。生体内の組織の水分子の拡散性は、組織の構造や機能的な特徴について情報を与える。拡散強調磁気共鳴画像 (diffusion-weighted magnetic resonance imaging: DWI) は非侵襲的に in vivo で末梢神経の水分子の拡散を計測することが可能である。DWI の拡散に対する感度は b 値 (b-value) で表され、ADC が同じでも b 値を大きくすると DWI 信号は小さくなる。そのため、2 つ以上の異なる b 値の DWI データにおける信号変化に信号モデルを当てはめることで、量的に見かけの拡散係数 (apparent diffusion coefficient: ADC) が算出することができる。信号モデルは一般に single exponential モデルが適用されるが、ボクセル内には複数の組織の拡散・灌流成分が含まれており、その厳密な信号モデルは定まっていない。我々は DWI データをモデルに依存しない方法で信号分離することで、神経の組織・機能的特性を反映した分画が得られると考えた。多変量解析の一つである独立成分分析 (independent component analysis: ICA) はブラインド信号源分離により DWI データから空間的に独立な成分とその信号成分に分離することができる。しかし ICA は統計学的に独立成分を複数分離するため、我々はその中から生体情報として何らかの有意な成分を抽出する必要がある。そこで同じく多変量解析のクラスタ解析を併用して独立成分を抽出し、得られた分画の生体情報としての意義を信号成分に含まれる信号減衰と分画の空間分布を解析し検討した。

#### 【目的】

三叉神経第三枝の枝である下歯槽神経血管束の DWI データから、多変量解析により分画を求め、既存の解析および組織学的研究と比較、生体情報としての意義を検討する。

#### 【方法】

正常被験者 13 名の下歯槽神経血管束の水平断 DWI データを、b 値が 0- 600 sec/mm<sup>2</sup> の 8 点でそれぞれ取得した。拡散方向の測定軸は下歯槽神経血管束の長軸方向に限定した。下歯槽神経血管束を関心領域に設定し、含まれる全ピクセルのそれぞれの信号値に対し、ICA では空間的に独立な成分 (IC) を分離した。有意な IC を抽出するため k-means クラスタリングで得られた 3 つのクラスタと空間的相関の高い 3 つの IC を抽出し下歯槽神経血管束の分画とした。これらの分画の評価として、速い ADC (ADC<sub>f</sub>) と遅い ADC (ADC<sub>s</sub>) の 2 つのコンパートメントを観測できる double exponential モデルによる解析との比較、さらに分画の空間分布をヒト下歯槽神経血管束の組織学的研究と比較した。

## 【結果】

それぞれの被験者で信号減衰曲線が異なる 3 つの空間的に独立な分画を抽出することができた。全被験者の IC、クラスタデータを double exponential モデルと比較した結果、ADCf において、急峻な信号減衰を示すそれぞれ 1 つの IC とクラスタが、他の 2 つの IC とクラスタに比べて有意に大きかった。それぞれ残り 2 つの IC、クラスタ間には、ADCf と ADCs に関していずれも有意差は認めなかった。一方、それぞれの分画の空間分布では、double exponential モデルで有意差のなかった 2 つの分画が、有意に下歯槽神経血管束の上外側と下内側に分布した。これらの位置は、組織学的には神経支配領域が異なる神経小束が走行する部位に相当した。

## 【考察】

下歯槽神経血管束の DWI データに対し、ICA にクラスタ解析を併用することで、生体情報として意味のある分画を抽出することができた。DWI は組織における水分子の拡散性をコントラストとして可視化する画像法である。本研究では DWI データで観察される「みかけの拡散係数」として含まれる成分に着目し、これを信号分離することで、神経の分画を求めマッピングできる可能性を示した。また、ICA で分離された複数の IC から有意な IC を抽出する方法に、もう一つの多変量解析の結果でフィルタリングする方法が下歯槽神経血管束の DWI データへの応用できることを明らかにした意義がある。得られた正常下歯槽神経の分画データは今後、神経の病的状態評価の基盤となりうるだろう。

本研究で得られた分画のうち、一つの分画は ADCf が有意に大きく、その値も水分子の自由拡散より大きいことから、灌流成分を強く反映した分画と示唆される。これは下歯槽神経血管束の血流とみられる微小循環によるものと推測された。残る 2 つの分画は下歯槽神経の神経小束であるオトガイ枝と切歯枝の空間的位置関係に類似していた。これらは double exponential モデルでは区別できなかったもので、本解析方法がより詳細にデータを分離できていたことを示している。

## 【結語】

ICA とクラスタリング解析を併用し、DWI データ内に混在する組織分画を分離・抽出できた。抽出した分画は、灌流成分の大きい 1 つの分画と、従来のモデルでは区別できないが、その空間分布で区別される 2 つの分画であった。DWI データの分画は、障害神経の評価のための基盤となりうる。

## 審査結果の要旨

本研究は末梢神経拡散強調画像 (Diffusion weighted imaging: DWI) データを多変量解析により分画化し、生体情報として意味のある分画の抽出を目的としておこなった。そもそも末梢神経は複数の組織によって構成され、それら組織と微小循環により、神経線維を取り囲む内部環境の恒常性は保たれている。さらに、神経内膜内には脳脊髄液に類似した神経内膜液が流れており、神経周膜と神経内膜内の微小血管に存在する血液神経関門によって、神経内膜液は一定の陽圧と浸透圧に保たれ、内部環境の維持に寄与している。外傷、虚血、炎症などにより、この血液神経関門が破綻し、圧の上昇や浮腫が起こる結果、神経線維の変性や機能異常が生じる。よって、内部環境に影響を及ぼす神経内膜液やその周囲の組織の情報を得ることは、神経の状態を評価するのに有用な情報となりうる。

磁気共鳴画像法 (magnetic resonance imaging: MRI) は末梢神経の形状や走行を非侵襲的に in vivo で捉えるための強力な手段である。神経内膜液や微小循環に着目すると、組織内の水分子の拡散の度合いを計測する拡散強調 MRI によって、末梢神経の微細な組織学的・機能的情報を捉えられる可能性がある。生体内の水分子の拡散は、生体内の水分子の拡散は、均等に拡散する等方性拡散、特定の方向に拡散する異方性拡散に加え、より流れの速い灌流成分などが複合していることから「みかけの」拡散係数 (apparent diffusion coefficient: ADC) として定量的に表される。ADC は b 値を関数とした信号減衰に一般的には単一指数 (single exponential) モデルを近似してボクセル毎に求められる。末梢神経の ADC は、通常、撮像された神経全体のボクセル

の平均として計測される。しかし DWI データの中には、複数の組織に由来する、拡散の度合いに基づいた組織分画の存在が推測され、我々は DWI データを分解すればこれらを得られると考えた。しかし、そもそも、一般的な DWI のボクセルは生体内の個々の組織に対し十分に大きいため、1つのボクセル内には、複数の組織に由来する拡散現象以外の微小循環、軸索輸送などの灌流を含む微細な水分子の動き、intravoxel incoherent motion (IVIM) が混在していると考えられている。さらに、IVIM 効果と複数の組織による信号成分の存在により、DWI 信号減衰を特定のモデルにあてはめることは困難である。

本研究では、モデルを当てはめる前の末梢神経 DWI データに、多変量解析を使ってデータ分解を行うことで、神経の組織・機能的特性に基づいた分画が得られると考えた。独立成分分析 (independent component analysis: ICA) は多変量解析の一つであり、特定のモデルに基づかずに、信号源が互いに独立であるという仮定のみを用いて、複数の観測点で得られた混合信号を源信号成分にブラインドで分離するものである。ICA は神経科学分野では脳波、脳磁図、機能的 MRI に広く適用されている。脳の DWI データでは、独立な空間成分とその b 値に対する振幅が算出され、混在する ADC の異なる組織分画を分離可能であった。ここで問題となるのは、ICA は統計学的に独立な成分を、データの観測点の数以下の任意の数に抽出するので、どの成分が生体情報として有意なものであるのかは不明である。独立成分と生体情報の関係性については、実際にデータを解析することで事後的に検証する必要がある。よって今回、実験 1 で独立成分の抽出、実験 2 で生体情報の関係性の検証を行った。

対象は健康人男性群で、良質な画像を得ることができた。右下第三大臼歯根尖相当部の下歯槽神経血管束に対し、頭部水平断で multi-b-value DWI の撮影を行った。ボクセルの大きさは  $0.43 \times 0.43 \times 4.0$  mm で、スライス方向の 4 mm の中には神経血管束以外の構造物が含まれる可能性も考えられるが、周波数選択的脂肪抑制法により下歯槽神経血管束周囲の骨髄質の信号が抑制されているため、ボクセル内への骨髄質の信号の混入に関しては、後の解析において大きい影響はないと考えた。またこの脂肪抑制法によって神経血管束の周囲の信号が小さいことから、神経血管束の識別と抽出が容易であった。その領域の抽出はマニュアル操作でも可能なほどになっていたが、今回 Level set 法を用いた半自動的な抽出により、より恣意性を減らした。なお、脂肪抑制法には Inversion Recovery 法も試したが、信号対雑音比 (SNR) の低下があり、今回は、周波数選択的脂肪抑制法を選択して使用した。また計測する拡散強調傾斜磁場の方向は神経走行方向に近似した頭部前後方向に限定した。DWI では MRI 装置上 (実験室系) で規定 (固定) された軸に沿って拡散を計測するが、それは各ボクセル内の組織の拡散方向と一致するとは限らない。6 方向以上の計測軸による撮影によって、その中で組織の水分子拡散が最も大きい軸 (方向) とその当該方向の ADC を計算する方法もある。しかし、計測軸を増やすほど必然的に撮像時間が長くなるため、被験者の負担が増し、さらに、その間の動き、位置ずれによりデータの信頼性が低下するという問題がある。ボクセルサイズを小さくし、画像の解像度を上げることでボクセル内の拡散成分を減らす方法もあるが、口腔顔面領域において十分な SNR を確保するのは難しい上に、画素数を増やす場合は撮像時間が長くなってしまふ。我々は、組織の水分子拡散が最も大きい方向の ADC が神経の変性やその再生、特に軸索の直径や神経小束内の密度、損傷に対応して変化することに着目し、拡散の測定軸を下歯槽神経血管束の長軸方向に近似した頭部前後方向に限定した上で、multi-b value DWI をおこなった。しかし、それでも今回の撮影には時間が大きくかかり、このままでは臨床への応用は難しい。SNR の低下と動きや空気を含む組織によるアーチファクトを受けやすいという欠点はあるが、高速撮像法にエコープラナー法が利用できる可能性がある。今後臨床応用する場合にはこのシーケンスによる適切なパラメータの探求をしていく必要がある。

実験 1 で有意と思われる独立成分を抽出するのに k-means 法で得られたそれぞれクラスタの空間分布を利用した。k-means 法におけるクラスタ分割数の決定方法は、様々提案されている手法の中の 1 つであるシルエット解析を利用した。その結果、シルエット値が一番大きい、最適クラスタ数は 2 であった。クラスタ数が 2 つである場合でも解釈は可能であったかもしれないが、今回はより細かい分画を得ることが目的であったため、クラスタ数を 3 に設定した。実際に 3 つに分けてもその解釈が可能であった。

得られた分画は、灌流の影響にもとづいた分画と、空間分布で区別され、これまでの減衰モデルに当てはまらない分画が得られた。本実験においては、IC の抽出にクラスタ解析の結果を利用した。脳 DWI データでは解剖学的知見から IC を抽出した結果、組織学的に意味のある分画を抽出しているが、一方末梢神経 DWI データでは、その信号成分はもちろん、内部構造の解剖学的知見は、脳のそれほど明確ではない。そこで我々は同じくデータ駆動型な多変量解析である k-means クラスタリングを用い、得られたクラスタの空間分布を元に独立成分を選択した。

ICA にクラスタ解析を併用する解析は、得られた独立な空間成分またはその時間変化パターンの類似性を調べる手段として、行われてきている。k-means クラスタリング単独では、MRI データの分画化の手段として使われており、ボクセルのデータから算出された T1 緩和時間や T2 緩和時間、ADC、のデータから組織分画の抽出がなされた。今回の DWI データでは、分離されたそれぞれの IC に k-means クラスタリングの結果に基づいて空間分布の相同性からフィルタリングを行った。結果 DWI データの ICA でも、IC 抽出に有効であることが本研究で示された。

得られた分画について、組織学的な推察が可能であった。クラスタ 1、IC1 は、double exponential モデルで ADCf が有意に大きい成分として検出された。クラスタ 1 および IC1 の ADCf は、水分子の自由拡散 ( $3.0 \times 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{sec}$ ,  $37.0^\circ\text{C}$ ) より大きかった。このことから、灌流成分の多い組織と考えられ、血流成分を多く含むことが推測された。また、本研究データの b 値の範囲は  $600 \text{ sec}/\text{mm}^2$  までであり、b 値が  $200 \text{ sec}/\text{mm}^2$  までの成分が信号減衰への影響が大きかった。b 値が  $200 \text{ sec}/\text{mm}^2$  以下のときは double exponential モデルでは速い ADC は灌流成分を反映することが知られている。よって今回クラスタ 1、IC1 で灌流成分の多い分画の分離が可能であったと考える。しかし、他 2 つの IC は、それぞれ空間的に異なって存在するものの、double exponential モデルでは区別できず、このモデルで組織学的な性質が推測できないものであった。Double exponential モデルで違いが見られなかった 2 つの分画は、得られた IC の空間分布から、グループ解析を用いて、組織学的検討を行った。IC2 と IC3 はそれぞれ下内側と上外側に位置し、その 2 つの分布には有意に差があった。下歯槽神経の代表的な神経小束であるオトガイ枝ならびに切歯枝の小束の下顎第三大臼歯相当部での空間的位置関係は、おとがい枝が下内側、切歯枝が上外側に位置しているとされ 3、IC2 と IC3 の空間分布に類似していた。神経小束内には、 $4\text{--}8 \text{ mm}/\text{h}$  の速さの、髄液圧による神経内膜液の流れが存在する。この水分子の動きは神経周膜によって長軸方向によって制限されており、今回 DWI データから分離された可能性が考えられる。IC1 の空間分布は、IC2 とは空間分布において有意差が見られたかったものの、上内側に位置していた。下歯槽動脈が下顎第三大臼歯相当部においては上内側に分布する頻度が高いと報告されており、今回の空間分布の計測でも同位置にかけて分布が見られた。また、IC1 は double exponential モデルから灌流成分が豊富であることから、IC1 は下歯槽動脈や微小血管による血流成分を強く反映した分画であることが推測される。

以上のように、本研究は、多変量解析を用いて、DWI データから異なる組織に由来する分画を抽出できること、抽出した分画が灌流成分の大きい 1 つの分画と、従来のモデルでは区別できないものの空間分布で区別される 2 つの分画であったことから、障害神経の評価のための基盤となりうることを明らかにした論文であり、その成果は今後の末梢神経障害の治療において有意義なものと思われる。

よって、本論文に学位論文としての価値を認める。