

展 望

MRI を使って樹木の病気を診断する



黒 田 慶 子

1 はじめに

樹木の病気の多くは菌類が病原体である。細菌や線虫により起こる病気もある。葉に斑点を作るような病気は診断が容易であるが、幹内部で進行する病気や萎凋病（萎れて枯れる病気の総称）の場合、病徴が出る前に早期に診断するのはまず不可能である。感染から発病の過程を研究するには、通常は樹木から試料片を切りだすか伐倒して解剖することになり、一度切ってしまうと同じ樹木で観察を続けることはできない。一定期間ごとに別の個体から試料を取るが、病気の進み方は個体差が大きく、データの解釈に悩むことが多い。何とか非破壊で幹の内部を観察したいと思い続けてきた。

核磁気共鳴画像法（MRI）の植物への適用例が海外では増えてきたが¹⁾、日本では、病院の臨床用 MRI で人間以外の生物を撮像するのは制度上難しい。試す手だてはないかと思っていたところ、岩手医科大学には MRI の研究専用機が設置されていることから道が開け、同大学の倫理委員会で植物撮像の承認を受けて 2000 年に共同研究を開始した。樹木の撮像技術については情報がなかったため、パラメータが決ま

って鮮明な画像が得られるまで 4 年ほど要した。ようやく論文として報告できる段階になったので紹介したい^{2,3)}。撮像手法や用語について理解が十分ではないので、専門分野の方々にご教示いただけると有り難い。

2 樹木にとって水とは

生きている樹木の木部組織（樹皮以外の木材の部分）（図 1）の中を上がる水は「木部樹液」と呼ばれ、人間の血液に匹敵するほど重要である。水分通導の状態は樹木の健康に影響し、水分欠乏の樹木は罹病しやすいことが知られている⁴⁾。

幹の中で水分の通路となる通導組織は中空の筒（仮道管：図 1a の Tr、道管：図 1b の LV と SV）の集合で、その形状や分布、葉までの水の上がり方は樹木の種類により特徴がある。健康な樹木の幹では、通導組織はほとんど混入物のない水で満たされている。根で吸い込まれた水は、日照時に葉から水が蒸発する（蒸散）際に発生する“テンション（張力）”と水分子の“凝集力”によって、数十メートル以上も上昇し、梢の先まで達することができる。張力が

強くなり、水の凝集力がそれに耐えられなくなると、通導組織の中で気泡が発生し (embolism), 瞬時に膨張して排水が起こる。降雨のときや蒸散のない夜間には張力が弱くなるため、通導組織はまた水で満たされる。健康な植物で日常的に起こっている現象であり、この基本概念は“cohesion-tension theory”として1980年代に確立されたが⁵⁾、細部については現在も論争が続いている。萎凋病に感染した樹木では通導システムにトラブルが生じ⁶⁾、大木であっても1か月ほどで枯死する。

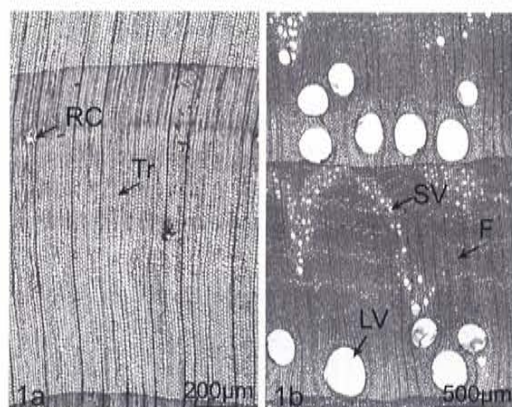


図1 針葉樹及び広葉樹木部の組織構造(光学顕微鏡画像)
 a: アカマツ (*Pinus densiflora*)
 b: コナラ (*Quercus serrata*)
 Tr: 仮道管, RC: 樹脂道, LV: 大径道管, SV: 小径道管, F: 木部繊維

3 撮像に用いた試料と方法

岩手医科大学超高磁場MRI研究施設には3テスラのSigna VH/i 3.0 T MR imaging system (General Electric Medical Systems) が設置されている。2000~2001年に健全木と罹病木を用いた予備テストでパラメータの検討を行い、その後、2002年、2004年に病原菌を接種した樹木で水分分布の変化を経日的に追う実験を行った。

予備試験ではアカマツ (*Pinus densiflora*) とコナラ (*Quercus serrata*) の健全木 (太さ5 cm, 長さ1.8 m) を長さ60 cm単位で切断し、両端をパラフィルムで覆って水分の蒸発を防いだ状態で束ねて、小動物用ユニットにセットした。組織内に水分が十分あることが分かっているので、コントラストの良い画像が得られる条件を探った。良好な結果が得られたパラメータのセットを表1に示す。FOVは60, 80, 200 mmまたは240 mm, スライスの厚さは0.8~5.0 mmで試した。3次元の解析は厚さ0.8 mmで120~200セクションから成る3D-FSPGRデータにより行った。

発病経過の観察には、樹齢5年で樹高160 cm程度のみズナラ (*Q. crispula*) を10本程度鉢植えにして用いた。近年広範囲でナラ類樹木の集団枯死を起こしている菌 *Raffaelea quercivora*⁷⁾ を爪楊枝に培養して幹に接種し (図4a), 植木鉢ごと全体をポリ袋で覆って撮

表1 樹木のMRI撮像に用いたパラメータ

シーケンス	画像強調	TR (msec)	TE (msec)	FA deg.	NEX	スライス厚さ (mm)
2D スピンエコー	SE	2,000	12	90	1	3.0~5.0
	SE	4,000	21	90	4	3.0~5.0
	FSE	2,000	20~25	90	1	3.0~3.5
2D スピンエコー	SE	540	20	90	6	3.0
	SE	800~900	11~13	90	1	3.0
	SE	1,000	22	90	2	4.0
	FSE	4,000	80	90	4	3.0
3D グラディエントエコー	FSPGR	8.3	2	15	8	0.8

像した。菌の蔓延と樹液流動の停止がどのように進むのか、5本前後の接種木について7~10日ごとに撮像を行い、接種していない健全木と比較した。画像の解析ソフトウェアとして、ExsaVision Lite (ザイオソフト(株)) 及び OsiriX Ver. 1.6⁸⁾を用いた。

4 健康な樹木内部の水分分布

本研究に用いた装置で得られた画像の解像度は100~150 μm である。光学顕微鏡より1桁以上低い、樹木の中の水分分布をこのレベルで識別する方法は他にない。プロトン密度画像及びT2強調で得られた画像では、水で満たされた通導組織は図2と図3に示すように、白く見える。アカマツの幹では直径20 μm 程度の仮道管がぎっしりと集まっており(図1b, Tr), 若い幹ではほとんど全範囲で水分が上昇しているため、MR画像全体が白く見えた(図2, CX)。ただし、外側の年輪より中心に近い年輪がやや暗く、幹の部位により水分量が違うことが示唆された。一部の通導要素が空洞になって

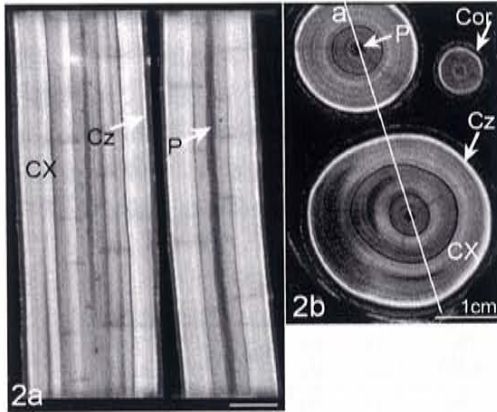


図2 健康なアカマツ樹幹のスピンエコー画像

- a: 図2bの実線aで切断した縦断面のプロトン密度画像 (TR: 2,000 ms, TE: 12 ms, ピクセルサイズ 156 μm)
 b: T2強調画像 (TR: 4,000 ms, TE: 80 ms, ピクセルサイズ 117 μm)
 CX: 水分を多く含む通導組織(仮道管), Cz: 形成層帯, Cor: 皮層, P: 髄

機能していないと推測される。一方、コナラの大径道管は直径が300 μm 程度あるので、水が入っていれば1本ずつの管の断面が見えるが、小径の道管の直径は100 μm 以下のため、塊状に白く見えた(図1b, 図3, SV)。広葉樹の幹には水の入っていない“木部繊維”(図1b, F)が多数あるので、プロトン密度画像では黒く見える部分が多い。

形成層(図2, 図3, Cz)では細胞分裂を盛んに行っており、水分の多い細胞内容物のため白い帯状に見えた。樹液のある部分よりもさらに信号が強かったことから、水以外の物質が影響している可能性もある。

5 罹病木の撮像

樹木の幹では、感染や傷害を受けると部分的に水分が抜けて気体に置き換わる現象がある。健康な樹木の embolism とは異なり、雨が降ってもその部位の水流は回復しない。このような

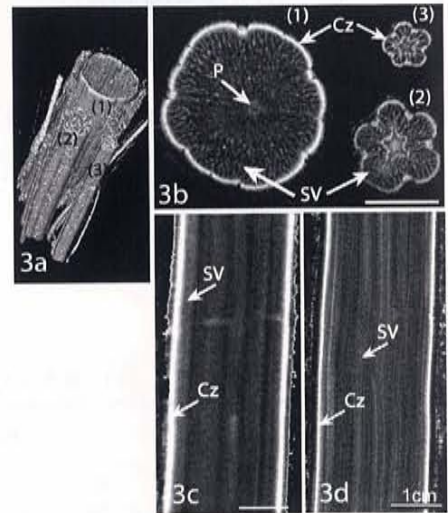


図3 健康なコナラの枝

- a: 3D-FSPGR データから得られた立体像。(1)~(3)は3b上の番号に対応, b: プロトン密度画像, 横断面 (TR: 2,000 ms, TE: 25 ms)
 cとd: プロトン密度画像 (TR: 2,000 ms, TE: 20 ms) 及びT1強調画像 (TR: 540 ms, TE: 20 ms), 縦断面, ピクセルサイズ 156 μm

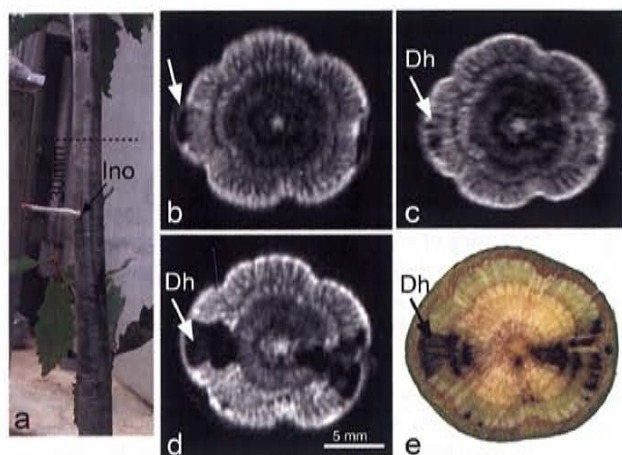


図4 *Raffaelea quercivora* を接種したミズナラ (*Q. crispula*) のプロトン密度画像で見られる排水部位の拡大
 a: 接種位置 (Ino) と MR 画像の位置 (破線), b: 2 週間後, c: 3 週間後, d: 6 週間後, e: 6 週間後の撮像後に切った幹の断面
 Dh: 病原菌の影響により排水した部分。b~e は同じ位置

部分は乾燥しており、MR 画像では暗く見えると予測された。

予備実験で良好な画像が得られた TR=4,000 ms または 2,000 ms, TE=21~22 ms での撮像にグラディエントエコーなどを組み合わせて、菌接種後のミズナラを撮像した (表 1)。水分を失った部位が 2 週間後から検出され、数週間で拡大する様子が観察された (図 4 b~d, Dh)。6 週間後の撮像の後で幹を切断したところ、病原菌が分布して褐色に変色した部位 (図 4 e) が、MR 画像の暗い部分に一致していた。同じ植物を定期的に撮像することによって、通導が徐々に悪くなる過程が追跡できた。

プロトン密度画像で暗く見えた排水部位は、T1 強調画像 (TR: 540 ms, TE: 20 ms) で白く見えた (図 5 a, b)。菌が分布し、宿主細胞が菌の影響により壊死した部位である。医学分野では T1 強調で脂肪やタンパクを多く含む部位が分かり、病変部の検出に利用すると説明されているが^{99,100)}、植物にその解釈をそのまま適用できるかどうか、検証されていない。現時点では図 5 b の白い部分 (Dis) は、菌あるいは樹木の代謝により生成した物質の蓄積があるの

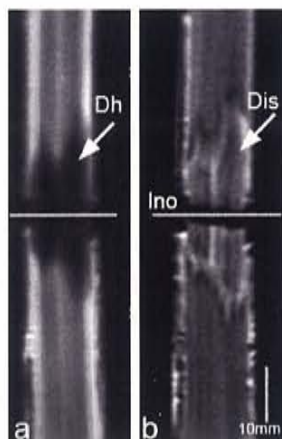


図5 *R. quercivora* 接種 8 週間後のミズナラ樹幹縦断面
 a: プロトン画像による排水部位 (Dh) の検出
 b: T1 強調画像による病変部 (Dis) の検出 (TR: 900 ms, TE: 13 ms), a と同じ断面

だろうと推測している。なお、ミズナラを根元で切断して血管造影剤を入れてみたが、造影剤の吸い上げが速くて枝先の方に移動してしまい、撮像にはまだ成功していない。

6 今後の課題

MRI の設備や維持費が非常に高額であること、原理が難解であることから、植物の研究者が単独で MRI を利用するのはほとんど不可能である。植物学分野の参考書では撮像原理の紹介に留まり、医学分野で培われた診断指針がどの程度適用できるのか情報が全くない。植物に関する報告が増えてきた 2000 年以降も、論文に掲載された画像は不鮮明なものが多く、解釈が信用できるのかどうか判断が難しかった。約 4 年間、パラメータをいろいろ変えて撮像を行い、樹木内部の情報が MRI でどのように得られるのか、ようやく基礎の部分に分かってきたところである。樹幹中の水分量や分布範囲の変動は、萎凋病の進み方を示す重要な情報であるが、その検出と同時に、撮像条件を少し変

えると壊死あるいは病変部を検出できることが分かった。しかしながら、病変部にある“何”が見えているのかは不明である。今後、通導停止部位が広がる様子などを3次元画像で追跡する手法が確立すれば、研究の発展が期待できる。

植物を扱った論文では、T1強調画像のみを用いて水分分布を論じている例が散見され、その妥当性について疑問が生じている。同じ断面のプロトン密度画像(図3c)と比較すると、T1強調画像(図3d)は白黒のコントラストが高めで、鮮明に見える。MRI装置の性能が低い場合に、この画像が代用されるのかもしれない。図3のように、健全な植物ではプロトン密度とT1強調画像の差が少ない傾向があるが、図5に示す罹病樹木の画像では、T1強調画像は明らかにプロトン密度画像と異なり、壊死細胞を含む病変部(水分は多くない)を検出している。画像の解釈に関する問題を指摘している研究者はごく少数であり、専門分野からの指導と植物観察のための技術指導書が不可欠と感じている。

7 おわりに

本研究は岩手医科大学の小川章教授のご厚意で実現した。論文作成の際に共同研究者としてご教示くださった井上敬助教授、鮮明な画像が撮れるまでいろいろ条件を変えて試してくださった神原芳行技師に、心からお礼を申し上げます。

罹病樹木の実験は、当研究所の東北支所(盛岡市)に鉢植えの樹木を置き、7~10日ごとに京都から岩手医科大学のMRI研究施設に通う形で実施したが、東北支所の市原優主任研究員のサポートがなければ遠隔地での実験は無理であった。このような地理的な問題もあり、継続的にMRIを使う研究はかなりの困難が伴う。研究用の小型MRIが市販されてはいるが、まだ医療用機械ほどの性能は望めないようであ

る。今後、利用できるMRI施設が増えて植物への適用例が増え、撮像技術が発展することを強く望んでいる。

参考文献

- 1) Bucur V: Nondestructive characterization and imaging of wood. Springer, Berlin, Heidelberg (2003)
 - 2) Kuroda K, Kanbara Y, Inoue T, Ogawa A: Magnetic resonance micro-imaging of xylem sap distribution and necrotic lesions in tree stems. *IAWA Journal*, 27, 3-17 (2006)
 - 3) Kuroda K, Ichihara Y, Kanbara Y, Inoue T, Ogawa A: Magnetic resonance micro-imaging of xylem sap distribution in tree stems. In "Tree sap III" Terasawa M, (Ed), *Hokkaido Univ. Press*, Sapporo, Japan, 149-160 (2006)
 - 4) Manion PD, Griffin DH: Resistance in aspen to Hypoxylon canker. In "Defense mechanisms of woody plants against fungi" Blanchette & Biggs (Eds.), Springer, Berlin, Heidelberg, 308-320 (1992)
 - 5) Zimmermann MH: Xylem structure and the ascent of sap. Springer, Berlin, Heidelberg, New York (1983)
 - 6) Kuroda K: Mechanism of cavitation development in the pine wilt disease. *Eur. J. For. Path.*, 21, 82-89 (1991)
 - 7) Kuroda K: Responses of *Quercus* sapwood to infection with the pathogenic fungus of a new wilt disease vectored by the ambrosia beetle *Platypus quercivorus*. *J. Wood Sci.* 47, 425-429 (2001)
 - 8) Rosset A, Pysher L, Spadola L, Ratib O: OsiriX. Ver. 1.6, <http://homepage.mac.com/rossetantoine/osirix/>, UCLA, Los Angeles, California (2004)
 - 9) Elster A D: MRI「超」講義 (Questions and Answers in Magnetic Resonance Imaging. Mosby-Year Book. St. Louis, (1994)) 荒木力監訳。メディカル・サイエンス・インターナショナル (1996)
 - 10) NessAiver M: 図解 原理からわかるMRI (All you really need to know about MRI Physics. Simply Physics, Baltimore (1996)) 押尾晃一, 百島祐貴訳, 医学書院 (1998)
- * 著者の論文は、<http://cse.ffpri.affrc.go.jp/keiko/hp/kuroda.html> からダウンロード可能。
(森林総合研究所関西支所)