

³¹P-MRS 臨床応用への基礎的検討

*明治鍼灸大学・臨床医学教室 **京都府立医科大学・脳神経外科学教室

田中 忠蔵* 成瀬 昭二**

Fundamental Study of Volume selected ³¹P Magnetic Resonance Spectroscopy

Chuzo TANAKA* and Shoji NARUSE**

* Department of Surgery, Meiji College of Oriental Medicine
** Department of Neurosurgery, Kyoto Prefectural University of Medicine

要旨: ³¹P-MRS の臨床応用を目的として、特定臓器の局在部位から ³¹P-NMR スペクトルを測定する方法について基礎的検討を行なった。装置は 1.5 tesla 臨床用MRI/Sを用い、局在測定はISIS (image-selected in vivo spectroscopy) 法を使用した。標準試料により imaging coil 内に置いた ³¹P用コイルにて 90° pulse を決定し、3³, 4³, 5³cm 立方の大きさの試料が coil 内の平面と上下方向共に良好な局在性を示す結果を得た。さらに健常人を対象に、局在脳組織容積 4³cm³以上の大きさで ATP, Pcr, phosphodiester (PDE), Pi, phosphomonoesters (PME) の各ピークが S/N の良いスペクトルとして測定できた。ヒトの脳腫瘍では脳組織に比べ Pcr の低下、PME, Pi の増加がみられ、これらの所見は従来の実験腫瘍の結果と一致した。また肝臓の ³¹P-MRS では ISIS 法により腹壁や胸壁の筋肉の Pcr ピークを含まない肝臓組織のみのスペクトル測定が可能となった。

以上の結果より ³¹P-MRS の臨床応用は可能で、エネルギー代謝の観点から様々な臨床疾患の病態解析や治療効果の判定に役立つと考えられる。

Key Words: エネルギー代謝 Energy metabolism, Volume selection, ³¹P-MRS

I はじめに

magnetic resonance imaging (MRI) は脳・脊髄などの中枢神経はもとより肝臓・骨盤内臓器などでも有用性が認められ、急速に普及してきた。なかでも高磁場MRI (1.5 tesla) は高い S/N と高分解能画像が可能となるばかりでなく、NMR (nuclear magnetic resonance) の本来の分析能を活かしたスペクトロスコピー (magnetic resonance spectroscopy) 機能が期待されている。in vivo MRS は 1980 年の Ackerman, Gordon らにより生体系のエネルギー代謝を ³¹P-NMR スペクトル測定により観察できる方法として動物実験用装置として開発された^{1,2)}。この方法では人体の筋肉を中心とした表面に近い組織の測定は、可能であるが³⁾、実際の ³¹P-MRS の臨床応用では表面より深部の臓器が対象

で、かつ臓器内の局在病巣が測定出来なければならぬ。本学に高磁場MRI/S装置が設置されたが、筆者らは従来の in vivo MRS の成果をふまえて、深部臓器の局在部位から ³¹P-MRS を測定する方法について基礎的検討を行なった。

II 対象と方法

1. 対象は標準試料溶液として以下のものを用いた。
 - (1) 50mM無機リン (inorganic phosphate = Pi)
 - (2) 50mMクレアチリン酸 (phosphocreatine = Pcr)
 - (3) 50mM ATP* (³¹P-NMR スペクトル測定によって ATP に変性のみられ、ADP を含んでいた)
 - (4) 5% HMPA (Hexamethyl phosphoric Triamide)

2. 臨床使用の基礎的検討

- (1) 正常健康人対照群 = 5名
- (2) 脳腫瘍患者 = 2名 (astrocytoma, meningioma)

3. 方法

(1) 装置は 1.5 tesla の超電導磁石を有する MRI / S 装置 (Gyrosan S 15 : philips, Holland) で観測周波数は $^1\text{H} = 64.9\text{MHz}$, $^{31}\text{P} = 25.8\text{MHz}$ であり, 室温で測定した。

(2) ^1H -MRI : ^1H 画像は通常の imaging coil を用いて Spin Echo 法にて撮像した。撮像条件は fast scan が $\text{TR} / \text{TE} = 250 / 30$, 標準試料が $1000 / 30$, 頭部の T_1 強調画像は $300 / 30$, T_2 強調画像は $3000 / 50$, 100で行なった。

(3) ^{31}P -MRS : ^{31}P -MRS 測定用頭部 coil は直径 16cm の対向する 2 つの coil が 16cm 間隔で位置し, その 2 つの coil の間に測定対象が来るように設計した手製のものである, これにより coil の中央部の B_1 field (磁場) が均一となるように設計した。肝臓用 coil は直径 10.5 cm の surface coil を用いた。

(4) 局在 ^{31}P -MRS 測定法 : 局在測定には image-selected in vivo spectroscopy (ISIS) 法を用いた⁴⁾。測定の実際は, 測定対象に ^{31}P 用 coil を装着し, 装着した状態で ^1H imaging を行なった。得られた画像上で ^{31}P -MRS の測定部位を座標 (x, y, z) 上に確認した。次に測定対象部の磁場の均一度を高めたが, shim の分解能は 0.3—0.4 ppm (頭部用 imaging coil を用いて) とした。さらに ^{31}P 用 coil を調整した上で実際の測定を行なった。

(5) ^{31}P -MRS の検討方法

- a) 90° pulse, くり返し時間, 加算回数の検討
 - b) 局在測定の容積の検討
 - c) 局在部位によるスペクトル分離能の検討
 - d) 臨床使用の検討
- a), b) は Pi 溶液を用い, c) は全ての標準試料を対象に検討した。

II 結果

1. 標準試料について

(1) 90° pulse, くり返し時間, 加算回数 : 図 1 は標準試料の画像である。生理食塩水のなかに下方は Pi 溶液を, 上方には HMPA 溶液を置いた。Pi 溶液の矩形が ^{31}P -MRS の関心領域である (図 1)。 90° pulse は最外側の 4^3cm^3 の領域で検討した。pulse の長さにより NMR 信号は変化を示すが, 90° pulse はこの場合 $180\mu\text{sec}$ となった (図 2)。また, くり返し時間と加算回数はそれぞれ 2 sec, 64 回のとき単位時間当りの S/N が最大となった。従って測定時間は 128 sec であった。

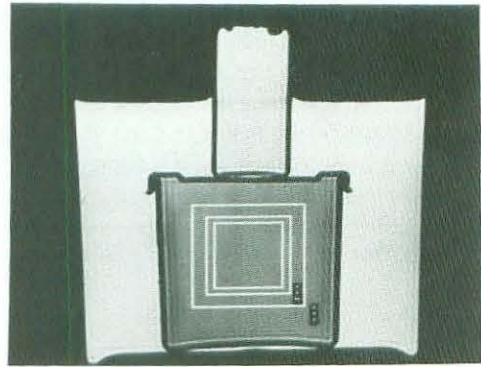


図 1 ^{31}P 用 coil を装着して頭部用 imaging coil で撮像した標準試料溶液。外側は生理食塩水で中央下部が 50 mM 無機リン溶液, 上部は 5% HMPA を入れる。矩形は内側より 2.5×2.5 , 3×3 , $4 \times 4\text{cm}^3$ の ^{31}P -MRS の局在測定の部位を示す。又, 各溶液に Gd-DTPA の少量を入れ, 色調に差をつけた。

(2) 容積の検討 : 図 3 は図 1 の内側からそれぞれ 1 辺が 2.5 cm, 3 cm, 4 cm の立方体の測定領域に対応する。測定容積の変化に応じて信号の面積が変化しており, この面積比はほぼ測定容積に比例した (図 3)。

(3) 局在の部位の検討 : 図 4 は図 1 の全体を

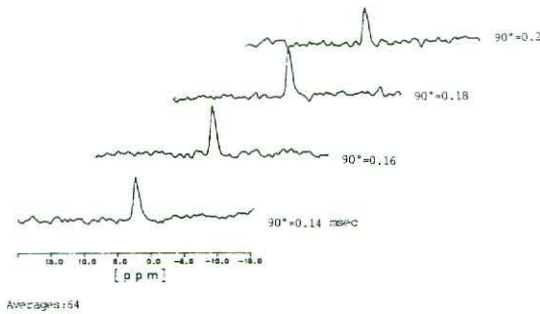


図2 リン酸溶液による90° pulse の決定. 図1の最外側の矩形部で容積は4×4×4 cm³である. 180 μsec の pulse となり信号強度が最も強い.

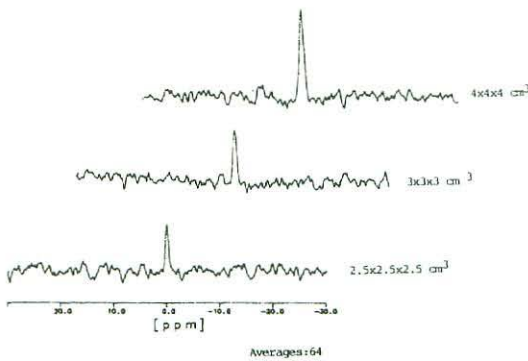


図3 リン酸溶液による局在部位の測定容積の検討. 信号強度は容積比に伴って変化している.

ISIS法を用いない場合と、Pi溶液に4³cm³の関心領域を設定した場合、さらに上方のHMPA溶液に同じ大きさの関心領域を設定して得られたスペクトルである。ISIS法を用いないと2つの異なる信号が得られたのに対し、ISIS法ではそれぞれの局在測定部位に応じた信号のみが得られた(図4)。図5はHMPA用容器と同容器にATP*, Pcr, Pi溶液を入れ、生理食塩水中に同心円状に並べて測定したスペクトルを示した。ISIS法を用いないと3種類の物質の混合したスペクトルが得られたのに対し、ISIS法

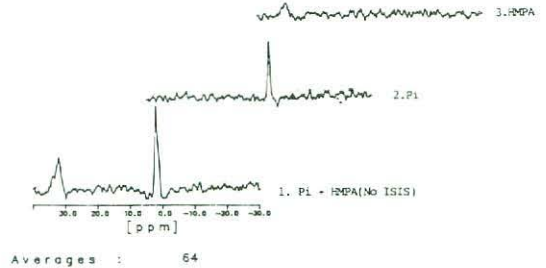


図4 局在測定の検討で図1をISIS法なしで測定するとPiとHMPAの信号が得られ、ISIS法によって上・下に位置する標準試料が分離して測定出来る。

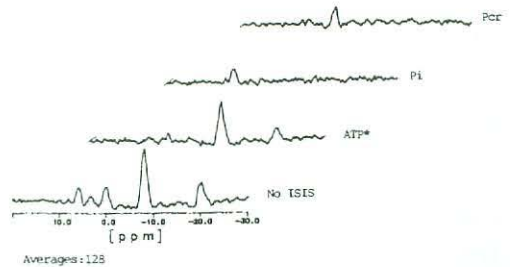


図5 水平方向(³¹P用 coil に対して)の局在測定の検討, 同心円状に置いたそれぞれの部分にISIS法で測定した場合, 対象の標準溶液(ATP*, Pi, Pcr)に応じた信号が得られ, ISIS法を用いないと全ての信号が測定される。

でそれぞれの溶液部位を測定するとATP*, Pcr, Piの各信号が局在測定に応じて得られた(図5)。

2. 脳組織・脳腫瘍の³¹P-MRS

正常健康人の脳組織の³¹P-NMRスペクトルを図6に示した。前頭一頭頂葉の5³cm³の局在測定に対応する。スペクトルは左から phosphoesters (PME), Pi, phosphodiester (PDE), Pcrとγ-, α-, β-ATPの3つのATPの信号が明らかである。測定はくり返し時間が2 sec 512回の加算を行なった。

脳腫瘍の局在スペクトルを図7b)に示したが、

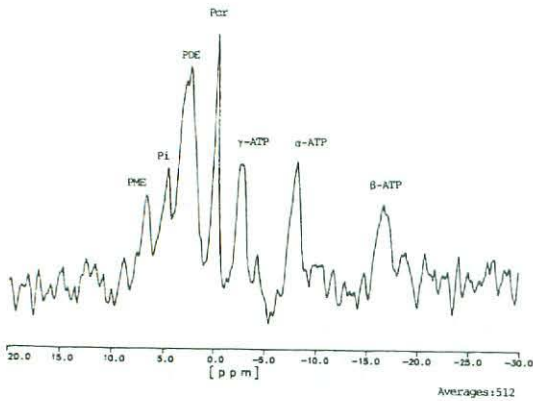


図6 正常健康人の前頭-頭頂葉の $4 \times 4 \times 4 \text{ cm}^3$ の脳組織の ^{31}P -NMR スペクトル. 左から phosphomonoesters (PME), inorganic phosphate (Pi), phosphodiester (PDE), phosphocreatine (Pcr) と3つの ATP の信号がみられる. ATP のうち γ -ATP には β -ADP が, α -ATP には α -ATP と NAD / NADH の寄与がある. 測定は2秒くり返して512回の加算で行なった.

この例は結節硬化症に giant cell astrocytoma が合併していて, 腫瘍は直径約4 cmで, 第3脳室から monro 孔を経て側脳室に広がっていた. 手術により組織学的診断がなされた. ^{31}P -NMR

スペクトルでは正常脳組織と異なり Pcr ピークの低下, PME, Pi ピークの増加, さらには全体としての S/N の低下が認められた.

3. 肝臓の ^{31}P -MRS

正常健康人の肝臓のスペクトルでは, ISIS 法を用いずに測定した場合, 胸・腹壁の Pcr ピークがみられたが (図8a), ISIS 法にて肝臓の局在測定 (5.5 cm^3) を行なうとこの筋肉中の Pcr ピークの消失がみられた (図8b).

考 察

高磁場 MRI / S 装置の普及により in vivo で生体組織のエネルギー代謝を観察できる ^{31}P -MRS が注目されている. しかし, 従来の小動物を対象とした実験用装置では ^{31}P -NMR スペクトルの測定は surface coil 法が主体となっており, この方法では表面しか測定しえず, その範囲を限定することができない. 人体を対象とするには筋肉等の表面組織に適応されるのみである. 筆者らは topical magnetic resonance (TMR) 法をはじめとして surface coil 法などで実験動物を対象に ^{31}P -NMR スペクトルを測定し, 様々な疾患の病態解析に成果を得て来た^{5,6,7,8,9}.

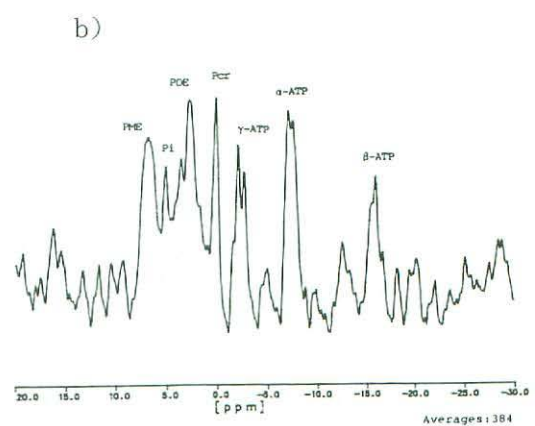
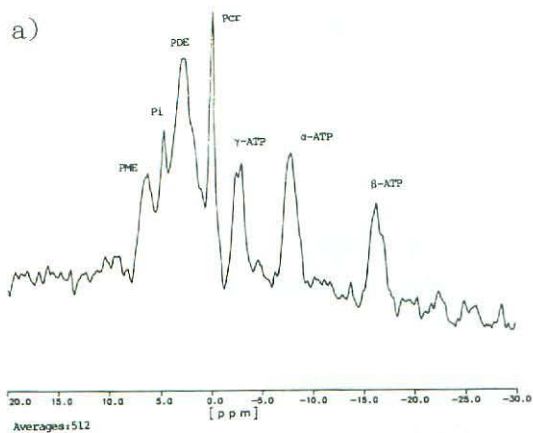


図7 a) $5 \times 5 \times 5 \text{ cm}^3$ の正常脳組織の ^{31}P -NMR スペクトル (加算回数: 512回), b) 脳腫瘍の ^{31}P -NMR スペクトル. 腫瘍は直径約4 cmで頭部のほぼ中央に位置した. a) の脳組織に比べ腫瘍では Pcr の低下, PME の増加がみられ, 全体として S/N の低下もみられる.

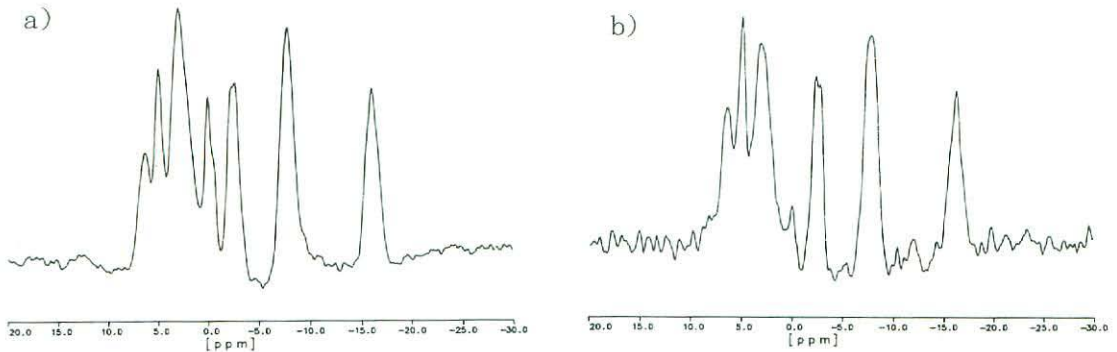


図8 a)肝臓の位置に surface coil を置き I S I S法を用いないで測定した。胸・腹壁の筋肉の Pcr の信号がみられる (加算回数: 128回), b) I S I S法を用いて5.5×5.5×5.5cm³を肝臓内のみで局在させて測定した。a)でみられた筋肉からのPcrの信号がほとんど認められず、肝臓のみの³¹P-NMRスペクトルの測定が可能となった。

この過程で小動物実験用MR装置で病巣の局在を確認するには、それに応じた surface coil 法の組み合わせが必要と認識し、実験用MRI/S装置を開発した¹⁰⁾。人体に適應する際にはさらに深部臓器が対象となり、かつ臓器内の病巣などの特定の部位の局在の確認とその局在部位から³¹P-NMRスペクトルが測定出来なければ実用性に乏しいと言える。実際、高磁場MRIの出現と同時に局在測定が可能³¹P-MRSの検討が行なわれている^{11, 12)}。本学の装置で使用したI S I S法は1986年に発表されたものを Hollander らが本装置に適應した prototype であり世界中で数台しか用いられているにすぎない¹³⁾。このため局在³¹P-MRS測定の基礎的検討の報告はほとんどなされておらず、ここに検討を加えた。I S I S法は Ordidge の報告に詳しく述べられているが⁴⁾、簡単には9つのます目状の立方体(直方体)をさらに3段に重ねた状態で、中央の1つのます目からスペクトルを得る方法である。この操作では slice の撰択に90°-180° pulse が重要となり、測定部以外の領域を cancel するために位相が重要となる。標準試料での検討は90° pulse が測定上非常に重要であることを示した。また位相の問題は今回の測定に流れや動き

を伴うものがないために無視できた。coil の B₁ field の均一性も重要であるが、今回使用した coil はUCSFのグループが開発したものを基本にし、コンピューターシュミレーションより B₁ field の均一度を確認したものを使用した。

標準試料の検討によりI S I S法が十分に臨床使用に耐えることが判明したが、実際脳組織では4cm³の³¹P-NMRスペクトルがS/N上も良好な結果を示した。筆者らが実験的移植脳腫瘍で得たスペクトルの所見と同じく、ヒト脳腫瘍の³¹P-NMRスペクトルはPcrの減少、PME, Piの増加を示し、局在³¹P-MRSの臨床応用が可能であると結論した^{6, 7)}。肝臓の³¹P-NMRスペクトルについても同様で、肝臓に局在した病巣部の測定が可能となった。

以上のように、高磁場MRI/S装置を用いて局在³¹P-NMRスペクトル測定の基礎的検討を加えた。この結果にもとづいて³¹P-MRSの臨床への応用が局在³¹P-MRSによって可能となった。今後さらに臨床データを蓄積し³¹P-MRSの臨床応用の有効性を検討したい。

文 献

- 1) Ackerman, J. J. H., Grove, T. H., Wong, G. G. et al. : Mapping of metabolites in whole animals by ^{31}P NMR using surface coils. *Nature*, 283 : 167~170, 1980.
- 2) Gordon, R. E., Hanley, P. E., Shaw, D. et al. : Localization of metabolites in animals using ^{31}P topical magnetic resonance. *Nature*, 287 : 736~738, 1980.
- 3) Gadian, D. G., Radda, G. K., Ross, B. et al. : Examination of a myopathy of phosphorous nuclear magnetic resonance. *Lancet*, 2 : 774~775, 1981.
- 4) Ordidge, R. J., Connelly, A., Lohman, J. A. B. : Image-selected in vivo spectroscopy (ISIS). A new technique for spatially selective NMR spectroscopy. *J. Magn. Reson.*, 66 : 283~294, 1986.
- 5) Naruse, S., Horikawa, Y., Tanaka, C. et al. : In vivo measurement of energy metabolism and concomitant monitoring of electroencephalogram in experimental cerebral ischemia. *Brain Res.*, 296 : 370~372, 1984.
- 6) Naruse, S., Hirakawa, K., Horikawa, Y. et al. : Measurements of in vivo ^{31}P -nuclear magnetic resonance spectra in neuroectodermal tumors for the evaluation of the effects of chemotherapy. *Cancer Res.*, 45 : 2429~2433, 1985.
- 7) Naruse, S., Horikawa, Y., Tanaka, C. et al. : Evaluation of the effects of photoradiation therapy on brain tumors with in vivo P-31 MR spectroscopy. *Radiology*, 160 : 827~830, 1986.
- 8) Horikawa, Y., Naruse, S., Hirakawa, K. et al. : In vivo studies of energy metabolism in experimental cerebral ischemia using topical magnetic resonance. Changes in ^{31}P -nuclear magnetic resonance spectra compared with electroencephalograms and regional cerebral blood flow. *J. Cereb. Blood Flow Metabol.*, 5 : 235~240, 1985.
- 9) 樋口敏宏, 成瀬昭二, 堀川義治ほか : 実験的虚血脳のエネルギー代謝の多様性—in vivo ^{31}P -NMRによる観察. *脳卒中*, 8 : 433~439, 1986.
- 10) 成瀬昭二, 樋口敏宏, 堀川義治ら : 実験用MRI/Sによる脳浮腫, 脳虚血の病解析. *CT研究*, 9 : 27~33, 1987.
- 11) Aue, W. P., Mueller, S., Gross, T. A. et al. : Volume-selective excitation : a novel approach to topical NMR. *J. Magn. Reson.*, 56 : 350~354, 1984.
- 12) Bottomley, P. A., Foster, T. H., Darrow, R. D. : Depth resolved surface-coil spectroscopy (DRESS) for in vivo ^1H , ^{31}P , ^{13}C NMR. *J. Magn. Reson.*, 59 : 338~342, 1984.
- 13) Luyten, P. R., Groen, D. A., Arnold, D. et al. : ^{31}P MR localized spectroscopy of the human brain in situ at 1.5 T. abstr. SMRM 5th Ann. Meeting : 1083, 1986.