

^{31}P -MRS による放射線照射及び 温熱療法の治療効果の検討

木村浩彦, 伊藤 哲, 中津川重一, 前田正幸,
岩崎俊子, 山本和高, 石井 靖

福井医科大学医学部放射線医学教室

はじめに

X線診断に始まり、核医学、超音波、CT、次いでMRIと、画像診断の進歩には著しいものがあり、腫瘍の存在とその進展度の診断については、臨床的に確立されてきた。次に、適切な治療法を選択し、治療効果を判定するための腫瘍の質的診断能の向上が期待されている。

^{31}P スペクトロスコピー (^{31}P -MRS) は、腫瘍に対する治療効果の非侵襲的な評価法として、その有効性が高いとされている。すなわち最近では、放射線療法、温熱療法、化学療法などの種々の治療法によるスペクトルの変化より腫瘍代謝の評価を試みた報告がいろいろとなされている^{1)~7)}。このような治療による腫瘍のエネルギー代謝の変化は、*in vivo*での腫瘍の生物学的特性、すなわち血流などの生理学的環境の変化と深い関わりを持つことが示唆されている。従って、 ^{31}P -MRSの示す代謝の変化と、腫瘍の生理学的な環境の関連についての検討が重要と考えられる。

そこで今回、我々は、ヒト肺癌由来の移植腫瘍系を用いて、放射線療法、温熱療法、及び両者の併用療法を行った場合について、まず1)それぞれの治療法による ^{31}P -MRSの差異を明ら

かとした上で、併用した場合の効果について検討し、次いで2)MR画像上の所見や腫瘍の血流量の変化との対比とを行って、 ^{31}P -MRSで示されるエネルギー代謝の変動と腫瘍の生理学的な環境の関連について考察した。さらに、治療の生理学的効果が異なる放射線照射と温熱療法の併用の効果がどのような要因の組み合わせであるかについて検討し、エネルギー代謝の観点から併用療法の意義を明かすことを目的とした。

材料及び方法

1) 腫瘍系

実験には、10%牛胎児血清を含む α -MEM培地で培養されたヒト肺癌由来のAOI細胞(adenosquamous carcinoma)を用いた。対数増殖期にあるAOI細胞を、トリプシン処理にて単離細胞とし、 α -MEM培養液にて一回洗浄し、Hank's液にて 10^6 個/mlに調整した。 10^5 個の細胞を8~10週令のKSNヌードマウス(SLC, Japan)の後肢皮下に移植し、22~33日後において腫瘍が平均径1.4cmになったものを用いた。実験の前後を通して、2~3日毎に腫瘍径を計測した。腫瘍体積は、楕円体と仮定し

キーワード ^{31}P -MRS, tumor blood flow, radiation, hyperthermia

て算出した。

2) 放射線治療, 温熱療法

放射線治療としては, 腫瘍全体を 9 MeV の電子線 (NELAC 1018, NEC) にて, 20 Gy 1 回照射した。温熱療法は, 腫瘍を移植した後肢全体を 44°C の温水中に 10 分間浸すことで行った。

3) ³¹P-MRS

用いたスペクトロメータは, 4.7 T 横型実験動物用 MR 装置 (BEM-170/200, Ohtsuka) で, 直径 1.4 cm 2 巻き表面コイルを利用した。繰り返し時間 3 秒にて, 通常 600 回の FID (free induction decay) を加算平均したスペクトルを 25 Hz の exponential window 関数にて, ノイズ軽減を行った後, ローレンツ関数を使って各ピークの面積を算出し, 低エネルギーリン酸化合物 Pi (inorganic phosphate) と高エネルギーリン酸化合物である β -NTP (β -nucleotides-tri-phosphates) とのピーク面積比 (Pi/ β -NTP), 及び細胞膜の磷脂質代謝に関連している PDE (phosphodiester) と PME (phosphomonoester) との比 (PDE/PME) について検討した。pH は, α -NTP (α -nucleotides-tri-phosphates) を基準に Pi の化学シフトを計測し, α -NTP と PCr の化学シフトを 7.56 ppm と仮定し, Evanochko らの式より計算した^{11,8)}。得られたデータは, student's t-test により各群間の有意差検定を行った。

4) MRI

用いた撮像装置は, 1.5 T Signa (GE, USA) で, データ収集には, 直径 3.5 inch のサーフィスコイルを利用した。腫瘍の対側に水と Gd-DTPA 溶液 (0.01 mmol/l) を入れた 1 ml シリンジを置き, 信号強度の規格化に用いた。Gd-DTPA (0.1 mmol/kg) をマウス尾静脈から投与し, 注入前と注入後 5 分毎に 60 分後まで, 連続してマウス後肢の腫瘍部を中心に, 繰り返し時間 (TR) 500 ms, エコー時間 (TE)

25 ms, 加算 4 回の条件で撮像した。シリンジ内の Gd-DTPA 溶液の信号強度を 100 に規格化して, 造影前後の腫瘍部全体の信号強度の変化を検討した。

5) 腫瘍血流の測定

腫瘍局所の血流量は, 水素ガスクリアランス法により測定した^{9),10)}。装置は, RBA-2 (Bio-medical Science Co.) を用い, 0.5 V, 30 μ A, 50 s の条件で通電し針電極先端に水素ガスを発生させ, そのクリアランスカーブから局所血流量を算出した。電極は, 皮膚表面から 3 mm の深さまで腫瘍内に挿入し, 同一腫瘍ごとに 2 ヶ所, 同一部位で 4 回計測した。同じ腫瘍サイズの別の群にて, 心停止後に測定した水素ガスクリアランスから得られた値 15 ± 5 ml/min/100 g (N=4) は, 血流を除去した組織内拡散をあらわしており, これを background として見かけの水素ガスクリアランスより減算したものを, 腫瘍局所血流量とした。この background よりも低い結果が得られた場合は, 局所血流量を

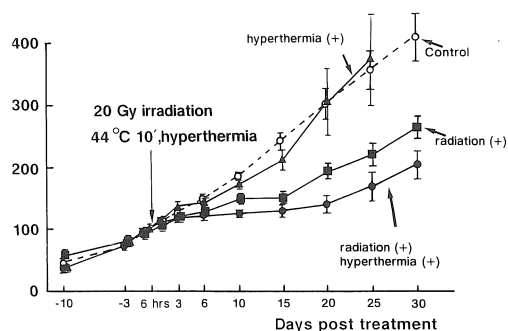


Fig.1. Relative tumor volume changes of 4 groups : untreated (N=4), radiation alone (N=7), hyperthermia alone (N=7), radiation and hyperthermia combined therapy (N=6). Mean volume of each group was assumed to be 100 at pretreatment. The longest period of growth retardation was observed in the group of radiotherapy combined with hyperthermia, whereas no growth retardation was visible in hyperthermia alone group.

1991年11月18日受理 1991年12月12日改訂

別刷請求先 〒910-11 福井県吉田郡松岡町下合月23 福井医科大学医学部放射線医学教室 木村浩彦

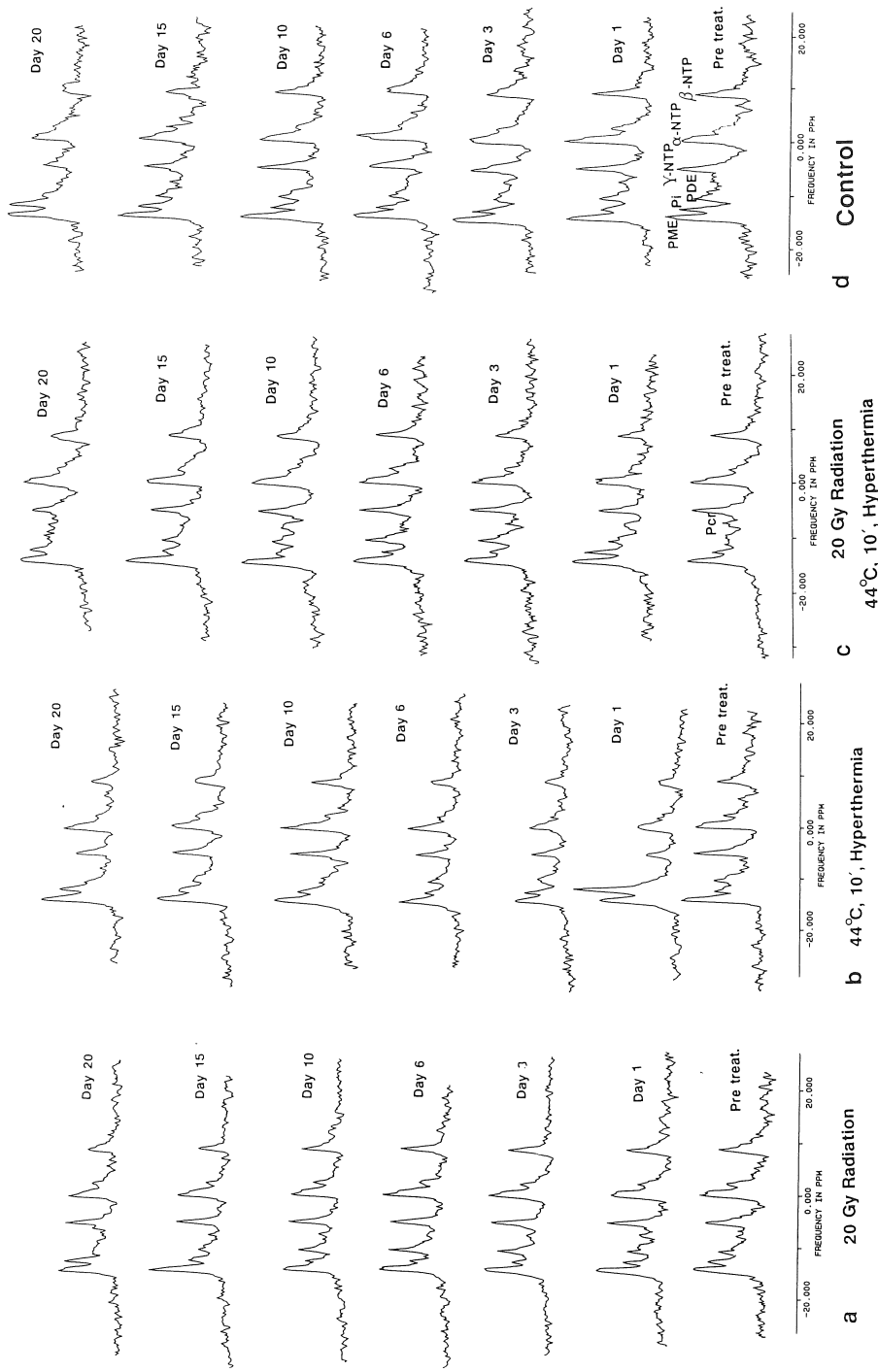


Fig.2. *In vivo* ^{31}P spectra of subcutaneously implanted human lung adenocarcinoma. Panel 2a : radiation alone, Panel 2b : hyperthermia alone, Panel 2c : radiation combined with hyperthermia, 2d : control. Peak assignments are PME : phosphomonoester, Pi : inorganic phosphate, PDE : phosphodiester, PCr : phosphocreatine, γ , α , β -NTP : nucleotides-tri-phosphate of γ , α , β chemical bond, respectively.

0 ml/min/100 g とした。

結 果

1) 治療後の腫瘍サイズの変化

Fig.1 は無治療群 (N = 4), 放射線療法単独群 (N = 7), 温熱療法単独群 (N = 7), 放射線照射・温熱療法併用群 (N = 6) の腫瘍サイズの変化を治療直前の値を 100 として図示したものである。温熱療法単独群と無治療群の成長曲線の間には, 明らかな差は見られなかったが, 放射線照射単独療法群では, 治療後約 1 週間にわたり腫瘍サイズの停滞が認められ, さらに, 併用療法群では, 15~20 日間に及ぶ成長曲線の停滞が見られた。

2) 放射線治療

Fig.2a は, 放射線照射前後の腫瘍局所の³¹P スペクトルの代表例である。Table 1 は, 放射線単独治療群 (N = 7) の³¹P-MRS パラメーター

(Pi/β-NTP, pH, PDE/PME) の経時的変化を, 無治療群 (N=4) と対比してまとめたものである。放射線照射後 3 日以降, 無治療群に比べ有意に低い Pi/β-NTP 比と, 有意に高い pH 値を示し, PDE/PME 比は, 治療 6 日後と 10 日後に無治療群よりも有意な上昇が認められた。

3) 温熱療法

Fig.2b は, 温熱療法前後の腫瘍局所から得られた³¹P スペクトルの典型例である。Table 2 は, 温熱療法前後の³¹P-MRS パラメーターの経時的変化のまとめである。温熱療法の 6 時間後から 1 日後まで有意に高い Pi/β-NTP 値と, 有意に低い pH 値を認めた。PDE/PME 比は, 治療 3 日後に無治療群との間に一時的な有意の上昇を認めた。

4) 放射線・温熱療法併用

Fig.2c は, 温熱療法と放射線療法を併用した場合の³¹P スペクトルの変化を示している。治療

Table 1. Metabolites ratios and pH(NMR) after radiotherapy. Values are Mean±SD.

	Days post treatment	Pi/β-NTP	pH (NMR)	PDE/PME
control (n=4)	Pre	0.95±0.24	7.11±0.07	0.90±0.18
treated (n=7)		0.97±0.21 ns	7.11±0.09 ns	0.64±0.20 ns
control (n=4)	6hours	1.00±0.23	7.11±0.07	0.80±0.25
treated (n=7)		0.81±0.17 ns	7.11±0.09 ns	0.68±0.11 ns
control (n=4)	1day	1.02±0.27	7.11±0.04	0.90±0.18
treated (n=7)		0.81±0.15 ns	7.21±0.05 *	0.76±0.19 ns
control (n=4)	3day	1.15±0.25	7.10±0.05	0.69±0.06
treated (n=7)		0.60±0.15 **	7.23±0.05 **	0.77±0.09 ns
control (n=4)	6day	0.98±0.19	7.06±0.12	0.60±0.11
treated (n=7)		0.54±0.14 **	7.30±0.07 *	0.91±0.19 *
control (n=4)	10day	1.28±0.33	6.95±0.06	0.54±0.04
treated (n=7)		0.71±0.22 *	7.15±0.10 *	1.01±0.14 **
control (n=4)	15day	1.66±0.23	6.87±0.06	0.63±0.09
treated (n=7)		0.96±0.38 *	7.14±0.06 **	0.67±0.13 ns
control (n=4)	20day	1.98±0.39	6.83±0.10	0.62±0.14
treated (n=7)		1.06±0.35 **	7.14±0.08 **	0.64±0.14 ns

(Significant differences : ns, not significant ; *, P<0.05 ; **, p<0.01)

Table 2. Metabolites ratio and pH (NMR) after hyperthermia. Values are Mean±SD.

	Days post treatment	Pi/ β -NTP	pH (NMR)	PDE/PME
control (n=4)	Pre	0.95±0.24	7.11±0.07	0.90±0.18
treated (n=7)		1.07±0.25 ns	7.15±0.08 ns	0.74±0.07 ns
control (n=4)	6hours	1.00±0.23	7.11±0.07	0.80±0.25
treated (n=7)		4.00±0.80 * *	6.81±0.07 * *	0.68±0.19 ns
control (n=4)	1day	1.02±0.27	7.11±0.04	0.90±0.18
treated (n=7)		3.20±0.40 * *	6.93±0.09 * *	0.60±0.12 ns
control (n=4)	3day	1.15±0.25	7.10±0.05	0.69±0.06
treated (n=7)		2.13±0.42 ns	7.13±0.06 ns	1.09±0.12 * *
control (n=4)	6day	0.98±0.19	7.06±0.12	0.60±0.11
treated (n=7)		1.21±0.57 ns	7.10±0.07 ns	0.97±0.29 ns
control (n=4)	10day	1.28±0.33	6.95±0.06	0.54±0.04
treated (n=7)		1.20±0.57 ns	7.10±0.11 *	0.75±0.19 ns
control (n=4)	15day	1.66±0.23	6.87±0.06	0.63±0.09
treated (n=7)		1.62±0.71 ns	6.99±0.08 ns	0.65±0.17 ns
control (n=4)	20day	1.98±0.39	6.83±0.10	0.62±0.14
treated (n=7)		1.70±0.46 ns	6.80±0.08 ns	0.52±0.15 ns

(Significant differences : ns, not significant ; *, P<0.05 ; * *, p<0.01)

Table 3. Metabolites ratios and pH (NMR) following radiation combined with hyperthermia. Values are Mean±SD.

	Days post treatment	Pi/ β -NTP	pH (NMR)	PDE/PME
control (n=4)	Pre	0.95±0.24	7.11±0.07	0.90±0.18
treated (n=6)		0.78±0.27 ns	7.09±0.09 ns	0.79±0.19 ns
control (n=4)	6hours	1.00±0.23	7.11±0.07	0.80±0.25
treated (n=6)		2.10±0.55 * *	6.86±0.12 ns	0.93±0.22 ns
control (n=4)	1day	1.02±0.27	7.11±0.04	0.90±0.18
treated (n=6)		2.13±0.65 *	6.98±0.10 ns	0.83±0.12 ns
control (n=4)	3day	1.15±0.25	7.10±0.05	0.69±0.06
treated (n=6)		0.88±0.13 ns	7.21±0.11 ns	1.06±0.17 * *
control (n=4)	6day	0.98±0.19	7.06±0.12	0.60±0.11
treated (n=6)		0.58±0.19 *	7.30±0.09 *	1.17±0.15 * *
control (n=4)	10day	1.28±0.33	6.95±0.06	0.54±0.04
treated (n=6)		0.72±0.26 *	7.19±0.05 * *	1.15±0.32 * *
control (n=4)	15day	1.66±0.23	6.87±0.06	0.63±0.09
treated (n=6)		0.98±0.20 * *	7.05±0.17 ns	0.80±0.22 ns
control (n=4)	20day	1.98±0.39	6.83±0.10	0.62±0.14
treated (n=6)		1.30±0.29 *	7.04±0.09 ns	0.63±0.11 ns

(Significant differdneces : ns, not significant ; *, P<0.05 ; * *, p<0.01)

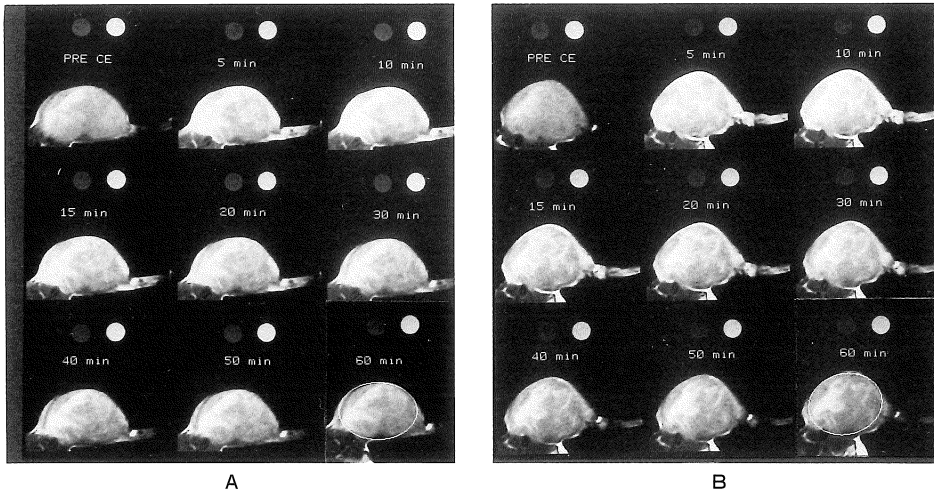


Fig. 3. MR images of tumors with Gd-DTPA enhancement. Panel A : untreated tumor, Panel B : 1 Day after hyperthermia. Tumor treated by hyperthermia revealed relatively slow signal intensity decay and stasis of high signal intensity at later phase. ROI (region of interest) on the last frame indicated the area for the washout curves.

後1日以内には、温熱療法単独群で見られた変化が、6日以後は、放射線単独療法群と同様の変化が認められた。Table 3は、³¹P-MRSパラメータをまとめたものであるが、Pi/β-NTP比は、治療直後には、無治療群に比べ有意に増加し6日以後は有意に低下した。またpHは、治療の6時間後には有意に低下し、6日以後では有意に高い値を示した。これらの2相性の変化は、温熱療法、放射線療法単独群で見られたそれぞれの変化に対応するものであり両者の特徴が加算されたものとなっている。またPDE/PME比は、温熱療法単独群では3日後に、放射線単独療法群では6日後及び10日後に有意な上昇を認めたのに対し、併用療法群では、3日後から10日後までにわたって無治療群よりも有意に上昇しており、併用群ではPDE/PME比も、加算的な変化が認められた。

5) 腫瘍のMRI

Gd-DTPA造影MR像は、³¹P-MRSの変化が顕著であった時点、温熱療法群では1日後、放射線療法群では6日後に検討した。Fig.3は、温熱療法前と1日後の腫瘍のGd-DTPA造影

MR像で、治療後の方が、Gd-DTPAによる高信号域が腫瘍内に比較的広い範囲で遅くまで残っているのが認められる。Fig.4は、Gd-DTPA造影MR像における腫瘍局所の信号強度の変化を無治療群(N=6)と温熱療法群(N=5)

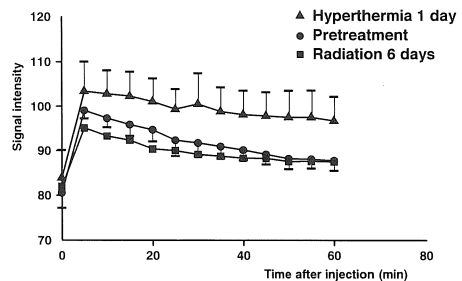


Fig. 4. Washout curves of signal intensities of tumors before, 1 day after hyperthermia and 6 days after radiation. Values are Mean±SD on each time. Signal intensities of phantom (0.01mmol/l Gd-DTPA) were normalized to be 100. Tumor treated with hyperthermia showed relatively slower signal intensity decay than that of untreated tumor.

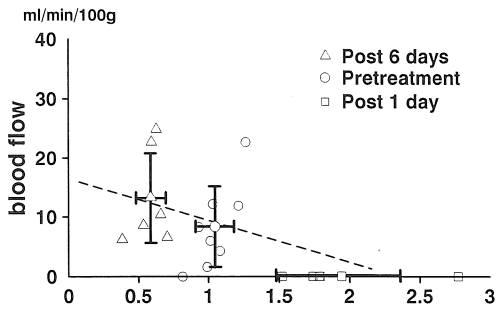


Fig. 5. Relationship between Pi/β-NTP and regional blood flow after radiotherapy combined with hyperthermia. Each value of 3 groups is plotted with Mean±SD: Pretreatment (○, N=8), on day 1 (□, N=5) and day 6 (△, N=6) following the treatment, respectively. Dashed line are linear regression of the relationship (R=-0.49, P<0.05).

で比較したもので、温熱療法後の腫瘍が明らかに信号強度の回復が遅れており、造影剤の洗い出しの停滞が示唆された。他方、放射線療法6日後(N=2)では無治療群と明らかな差異は認められなかった。

6) 血流測定

併用療法群では、³¹P-MRSにおいて、温熱療法6時間後から1日後に見られた変化と、放射線療法後3日から10日に見られた変化が加算されて認められたため、各々の変化に対応すると考えられる併用療法1日後と6日後の時点で、腫瘍局所の血流を評価した。治療1日後ではbackgroundである組織内拡散以下の値となり有意な血流は無くなっていたが、6日後には14±9 ml/min/100gと治療前の値(9±8 ml/min/100g)より、やや高めの血流量を示した。

Fig.5は、治療前、治療1日後及び6日後におけるPi/β-NTP比と血流量との関係を図示したものである。すなわち、治療後の経過におけるPi/β-NTP比と腫瘍局所血流量は、明らかな負の相関を示した(r=-0.49, p<0.05)。このことは、Pi/β-NTPの消長が、腫瘍の灌流の状

態に相応するものであること示唆している。

考 察

³¹P-MRSによる治療効果の評価については、現在までに放射線療法^{1),2)}をはじめ、温熱療法^{2),3)}、化学療法⁴⁾⁻⁷⁾、ホルモン療法¹¹⁾、TNF注入¹²⁾などさまざまな治療法による腫瘍局所のスペクトルの変化についての報告がなされている。腫瘍の種類、大きさ、治療法とその適用の時期、さらに測定の方法などの違いもあって、場合によっては、相反するスペクトル変化が報告されていることもあるが、その変化の概要は、高エネルギー磷酸代謝の活性化と抑制の2つに大きく分けることができる。すなわち高エネルギー磷酸化合物としてのNTP、PCrの増加と、低エネルギー磷酸化合物Piの低下を特徴とする活性化と、逆にPiのピークの増高とNTP、PCrピークの低下により特徴づけられる抑制とである¹³⁾。従って、種々の治療においても、基本的にはこの2つの型のエネルギー代謝の変化とそれに伴う生理学的な腫瘍環境の変化とが起きていると考えられる。

今回の我々の結果において、放射線治療単独群では治療後1週間前後を頂点とするPi/β-NTP比の低下とpHの上昇が認められたが、こうした変化は、嫌気性エネルギー代謝の改善、すなわち腫瘍細胞の再酸素化(reoxygenation)が生じたことによるものと説明されている^{1),2)}。

つまり、放射線照射の効果により、細胞死がおこり腫瘍細胞数が減少すると、残存する腫瘍細胞は相対的に好气的状態に置かれることになり¹⁴⁾腫瘍細胞の代謝が活性化するためと考えられる。さらに、照射後腫瘍血流の回復または相対的な増加により組織内のPiが洗い出されるので、Pi値は上昇しないとされている^{15),16)}。

一方、温熱療法単独群に見られた³¹P-MRSの変化は、腫瘍細胞のエネルギー代謝の抑制状態に相応するもので、著明なPiピークの増高と、pHの低下を特徴とするものであった。このよう

なスペクトル変化は、温熱療法による腫瘍血管の傷害¹⁷⁾による腫瘍細胞の虚血によるものと解釈されている³⁾。今回の検討においても、Gd-DTPA 造影 MR 像で腫瘍局所の信号強度の変化が、治療前と比較して有意に遅延しており、熱傷害による血管床の変化とそれに伴う虚血性変化が大きな因子となっていることが、確かめられた。放射線治療後に明かな差異が認められなかったのは今回の造影法が最適ではなかったためと考えられ、より適切な flow tracer、たとえば、D₂O¹⁸⁾などを用いた腫瘍の状態の変化の確認が今後の課題として残る。

このように単独では、相反するエネルギー代謝の変化を示す温熱療法と放射線療法を併用した場合には、24 時間以内に、Pi/ β -NTP 比の増高と pH 値の低下を、6 日以後では、逆に Pi/ β -NTP 比の低下と pH 値の上昇が認められ、エネルギー代謝の抑制と活性化の両者が、併用治療後に時間をずらして、おこっていることがうかがわれた。この結果から、ふたつの相反する腫瘍細胞環境の変化が、時間をずらして治療後にひきつづいて生じていると推定された。今回の検討において、腫瘍局所の組織血流量を計測した結果も、併用療法の 1 日後では、ほぼ完全な虚血状態を示し、温熱療法の効果がうかがわれ、6 日後には放射線治療の效果に相応して、治療前あるいは、それ以上の値にまで回復していた。さらに、腫瘍の成長曲線も併用群が最も長い期間にわたり停滞を示し、放射線と温熱療法の併用による相加的効果が認められた。このように両者間には、互いにそれぞれの効果を減殺しあう干渉効果がなく、相加的効果を示したという事実から考えると腫瘍血管の傷害の生じた部位と、放射線照射による再酸素過程の生じる部位とが、腫瘍の内部で空間的に異なる部位であることが推定される。すなわち、腫瘍内のより血流灌流の不良な部分ほど熱傷害を受け易く、逆に、より灌流状態の良い部分は温熱効果が少なく、放射線療法による細胞傷害効果が大きいと考えられる。この意味で温熱療法は放射

線療法にとって効果的な併用療法であり両者は相補的であるとする従来の報告¹⁹⁾を、腫瘍のエネルギー代謝の観点からも支持する結果が、今回の検討によって得ることができたと考えられる。

PME, すなわち PC (phosphocholine), PE (phosphoetanolamine) 成分に関連するピークの増高は、膜磷脂質代謝の亢進の指標とされており、他方 PDE, すなわち GPC (glycerophosphocholine), GPE (glycerophosphoetanolamine) は、膜分解系の代謝産物の指標とされている²⁰⁾。化学療法後のこれらのピークの変化から増殖の抑制を評価できるという報告が見られ^{21),22)}、また *in vitro* の実験で細胞増殖率と相関することが確かめられている²³⁾。つまり、PDE/PME 比は、治療による膜破壊の亢進を示す指標になると考えられるが、温熱療法群と放射線療法群での変化の時期の差異は、細胞破壊の過程の違いを示すものと考えられる。すなわち温熱療法の場合には、虚血による治療直後の細胞死を、放射線療法の場合には、照射による傷害を受けた細胞が時期を遅らせて、致死的となる G₂+M 期に次々と移行してくることになるのかもしれない。また併用群における PDE/PME 比は³¹P-MRS 上で温熱療法と放射線療法の加算的变化を認めており、従って、両者の効果により細胞破壊も、加算的であると考えられる。現在のところ PME, PDE 域の *in vivo* ³¹P-MRS は、ピーク分離が悪く *in vitro* での報告のように、PC, PE, GPC, GPE を正確に反映しているとは限らず、PDE/PME 比が真に細胞膜破壊と膜合成の指標となり得るか否かについては、問題が残る。しかしながら、エネルギー代謝の変化に加えて、膜代謝の変化も腫瘍の治療効果の判定に有用であると考えられた。

今回³¹P-MRS の変化を通じて、効果の異なる放射線療法と温熱療法との併用療法の生理学的意義について検討し、両者の効果が相加的であることが確認できた。これは、内部環境の heterogeneity をその特徴とする腫瘍、とくに巨大な難治性腫瘍において、両者の併用療法が適切な

方法であることを、エネルギー代謝の面からも支持するものである。

結 語

- 1) 放射線療法後3日以降、腫瘍局所の³¹P-MRSは、エネルギー代謝の改善を示した。
- 2) 温熱療法後1日以内では、エネルギー代謝の抑制が認められた。
- 3) 放射線・温熱療法併用後は、放射線療法と温熱療法の各々の特徴が両者の加算された結果をエネルギー代謝と膜代謝の両者について、³¹P-MRS上で認めた。
- 4) Gd-DTPA造影MRIにて、温熱療法後の腫瘍内部に血管床の破綻と考えられ造影剤の漏出、停滞所見を認め、その生理学的効果が、虚血によるものと推察された。
- 5) 併用療法後の³¹P-MRSの変動に相応して、腫瘍局所血流値は、治療1日後には、ほぼ完全な虚血を示し、6日後には、治療前よりやや高値に回復したが、前者は温熱療法の、後者は放射線療法の効果に相応するものと思われた。

以上の結果から放射線療法と温熱療法では、各々の治療効果の作用機序が異なり、両者の併用療法は、腫瘍の治療に加算的に有効であることを³¹P-MRSを用いて腫瘍のエネルギー代謝、膜代謝の観点から実証できた。

文 献

- 1) Evanochko WT, Ng TC, Lilly MB, et al. : In vivo ³¹P NMR study of the metabolism of murine mammary 16/C adenocarcinoma and its response to chemotherapy, x-radiation, and hyperthermia. Proc Natl Acad Sci, 80 : 334-338, 1983.
- 2) Sijens PE, Bovee WMMJ, Seijkens D, et al.: Murine mammary tumor response to hyperthermia and radiotherapy evaluated by in vivo ³¹P-nuclear magnetic resonance spectroscopy. Cancer Res, 47 : 6467-6473, 1987.
- 3) Lilly MB, Ng TC, Evanochko WT, et al. : Loss of high-energy phosphate following hyperthermia demonstrated by in vivo ³¹P-nuclear magnetic resonance spectroscopy. Cancer Res, 44 : 633-638, 1984.
- 4) Li SJ, Wehrle JP, Rajan SS, et al. : Response of radiation-induced fibrosarcoma-1 in mice to cyclophosphamide monitored by in vivo ³¹P-nuclear magnetic resonance spectroscopy. Cancer Res, 48 : 4736-4742, 1988.
- 5) Steen RC, Tamargo RJ, McGovern KA, et al. : In vivo ³¹P nuclear magnetic resonance spectroscopy of subcutaneous 9 L gliosarcoma : Effects of tumor growth and treatment with 1, 3-bis (2-chloroethyl) -1-nitrosourea on tumor bioenergetics and histology. Cancer Res, 48 : 676-681, 1988.
- 6) Steen RG, Tamargo RJ, Brem H, et al. : In vivo ³¹P nuclear magnetic resonance spectroscopy of rat 9 L gliosarcoma treated with BCNU : Dose response of spectral changes. Magn Reson Med, 11 : 258-266, 1989.
- 7) Naruse S, Hirakawa K, Horikawa Y, et al. : Measurements of in vivo ³¹P nuclear magnetic resonance spectra in neuroectodermal tumors for the evaluation of the effects of chemotherapy. Cancer Res, 45 : 2429-2433, 1985.
- 8) Sijens PE, Wijrdeman HK, Moerland MA, et al.: Human breast cancer in vivo : H-1 and P-31 MR spectroscopy at 1.5 T. Radiology, 169 : 615-620, 1988.
- 9) Aukland K, Bower BF and Berliner RW : Measurement of local blood flow with hydrogen gas. Circ Res, 14 : 164-187, 1964.
- 10) Stossek K, Luebbbers DW and Cottin N : Determination of local blood flow (microflow) by electrochemically generated hydrogen : Construction and application of the measuring probe. Pflugers Arch, 348 : 225-238, 1974.
- 11) Rodrigues LM, Midwood CJ, Coombes RC, et al.: ³¹P-nuclear magnetic resonance spectroscopy studies of the response of rat mammary tumors to endocrine therapy. Cancer Res, 48 : 89-93, 1988.
- 12) Pado F, Carpinelli G, Vito MD, et al. : Nuclear magnetic resonance analysis of tumor necrosis factor induced alterations of phospholipid metabolites and pH in friend leukemia cell tumors and fibrosarcomas in mice. Cancer Res, 47 : 6481-6489, 1987.

- 13) Steen RG : Response of solid tumors to chemotherapy monitored by in vivo ^{31}P -nuclear-magnetic resonance spectroscopy : A review. *Cancer Res*, 49 : 4075-4085, 1989.
- 14) Koutcher JA, Okunieff P, Neuringer L, et al. : Size dependent changes in tumor phosphate metabolism after radiation therapy as detected by ^{31}P NMR spectroscopy. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 13 : 1851-1855, 1987.
- 15) Emami B, Ten Haken RK, Nussbaum GH, et al.: Effects of single-dose irradiation on tumor blood flow studied by ^{15}O decay after activation in situ. *Radiology*, 141 : 207-209, 1981.
- 16) Tozer GM, Bhujwala ZM, Griffiths JR, et al. : Phosphorus 31 magnetic resonance spectroscopy and blood perfusion of the RIF-1 tumor following X-irradiation. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 16 : 155-164, 1989.
- 17) Emami B, Nussbaum GH, Ten Haken RK, et al.: Physiological effects of hyperthermia : Response of capillary blood flow and structure to local tumor heating. *Radiology*, 137 : 805-809, 1980.
- 18) Maxwell RJ, Burney IA, Field SB, et al. : Non invasive monitoring of changes in tumor metabolism and blood flow during growth by ^{31}P NMR spectroscopy and ^2H NMR imaging. "Eighth annual meeting of society of magnetic resonance in medicine, August 12-18, 1989", [Book of Abstracts] p. 33.
- 19) Song CW : Effect of local hyperthermia on blood flow and microenvironment : A review. *Cancer Res (Suppl.)*, 44 : 4721s-4730s, 1984.
- 20) Ng TC, Vijayakumar S, Majors A and Tefft M : Magnetic resonance in experimental and clinical oncology, 1st edition, ed. by Eveelhoc JL, Negendank W, Valeriot FA, Baker LH, Kluwer Academic Publishers, Boston, 1990, pp233.
- 21) Lutz NW, Li SJ, Wehrle JP and Glickson JD : Phospholipid metabolites in chemically treated RIF-1 tumors monitored by in-vivo ^{31}P -NMR spectroscopy. "Eighth annual meeting of society of magnetic resonance in medicine, August 12-18, 1989", [Book of Abstracts] p. 398.
- 22) Lutz NW and Wehrle JP : Phospholipid and their metabolites in tumor extracts monitored by in-vitro ^{31}P -NMR spectroscopy. "Eighth annual meeting of society of magnetic resonance in medicine, August 12-18, 1989", [Book of Abstracts] p. 1074.
- 23) Smith TAD, Eccles SA, Ormerod MG, Leach MO and Wilman DEV : Proliferation rate is strongly associated with the phosphocholine and glycerophosphorylcholine content of an oestrogen-sensitive rat mammary tumor. "Tenth annual meeting of society of magnetic resonance in medicine, August 10-16, 1991", [Book of Abstracts] p. 34.

³¹P-MRS Study for the Assessment of Tumor Response after Radiotherapy and/or Hyperthermia

Hirohiko KIMURA, Satoshi ITHO, Sigekazu NAKATSUGAWA,
Masayuki MAEDA, Toshiko IWASAKI, Kazutaka YAMAMOTO,
Yasushi ISHII

*Department of Radiology, Fukui Medical School
23 Shimoaizuki, Matsuoka-cho, Yoshida-gun, Fukui 910-11*

The metabolic changes of human lung cancer implanted in nude mice were studied by the use of *in vivo* ³¹P nuclear magnetic resonance spectroscopy (³¹P-MRS) after radiotherapy, hyperthermia or the combined therapy of radiation and hyperthermia.

³¹P-MRS of the tumors showed increased Pi/ β -NTP ratio and acidic pH value on 1 day after hyperthermia, that indicated metabolic decline caused by hyperthermia. On the other hand, lower Pi/ β -NTP ratios during 3 to 10 days after irradiation suggested metabolic activation of the tumors. In the tumors treated with the combined therapy, ³¹P-MRS revealed increase of Pi/ β -NTP ratio within 1 day and its decrease subsequent 6 to 10 days after treatment, that indicated additive bi-phasic changes induced by radiation and hyperthermia, respectively.

Since Pi/ β -NTP ratio had significant correlation to the tumor blood perfusion measured by hydrogen gas clearance studies, these bi-phasic changes were considered to correspond to two different physiological states, namely, ischemic and reperfused states.

³¹P-MRS obtained from tumors could be useful to assess the physiological consequence following radiation, hyperthermia or the combined therapy.