

アルギン酸印象材 (Jeltrate® Plus™) を用いた 病理標本の3次元MRIの試み

木下良正¹, 岡崎啓介², 合志清隆^{1,3}, 入口紀男⁴,
横田 晃¹

¹産業医科大学脳神経外科 ²同第一外科
³同病院高気圧治療部 ⁴シーメンス旭メディテック

はじめに

病理組織学的に検体を検討することは疾患の診断上重要であるが、ある断面で切り出したあとの検体から異なった断面で切り出すことは不可能である。また、立体構造の解析の際にも連続病理切片による立体構築も非常に煩雑である。一方、MR装置を用いた2次元および3次元解析は容易で、しかも非破壊的方法であるため繰り返し測定が可能である。3次元MRIデータから画像処理を行うことで、任意断面の作成や3次元画像の作成は臨床ですでに应用されている。近年、MRによるmicro imagingが撮像されるようになり、病理組織とMR所見の良い相関が報告されている^{1)~3)}。病理標本のMRI画像を撮像する際には、検体の固定方法、その材料や空気によるアーチファクトの除去を考慮しなければならない。しかし、これまで検体の固定法についての報告はなく、各施設で種々の方法で試みられているのが現状である^{4)~7)}。

我々は高磁場4.7テスラMR装置を用い、ホルマリン固定検体の3D-MRIを試みた。検体の固定には歯科領域で広く用いられているアルギン酸印象材を使用し、得られたMRIの画

像解析には市販のパーソナルコンピューターを用いる簡便な画像の再構成、3次元化について報告する。

対象および方法

検体は10%ホルマリンに1週間固定したラット肝臓と、すでに数年間ホルマリン固定されていた胎齢16週の胎児頭部を用いた。検体は十分水洗し、ジュルトレート・プラス (Dentsply Limited, England) 7gに対して30mlの水で溶解して調整したゾル状態のアルギン酸印象材に検体をすばやく埋没させた。

使用MR装置は、アクティブシールド・グラディエントコイルを装着した有効ボア径23cmの4.7テスラ超伝導MR装置 (SISCO/Varian, SIS 200/400) で、内径8.9cmの円筒型RFコイルを使用した。3次元MRIは3D-steady-state free precession (3D-ssfp) 法で測定し、field of view (FOV) は6cm×6cm×6cm, 128×128×128 matrix, TRを200ms, TEを9ms, フリップ角度は90°(T₁強調), 2回加算で撮像した。得られたFID信号をX軸, Y軸, Z軸方向に対して3次元フーリエ変換を行い、それぞれ128枚の連続画像を作成した。

キーワード MRI, alginate impression, pathological specimen

スキャンコンバーター (RGB/Videolink Model 1500A) を介して、これらの画像をマッキントッシュに PICT 画像として保存した。任意の断層と 3 次元構築はフリーウェアである NIH Image (ver1.59) を用いてマッキントッシュ上で作成し、サーフェスおよびボリューム・レンダリングは Dr.View (旭化成情報システム, 東京) を使用しワークステーション上で作成した。

結 果

ラット肝臓を 10%ホルマリンに 1 週間つるして固定することにより生体に近い形状で固定可能であった (Fig. 1a, b, c)。検体を十分水洗した後に、柔らかく作成したジェルトレート・プラスに沈めるように固定することで空気の排除が可能であった (Fig. 1d, e, f)。アルギン酸印象材であるジェルトレート・プラスがゲル化するまでに 2 分程度の時間しかを要さず、迅

速な MR 測定に移ることができた。また、硬化した後は適度の硬度を持っているためコイルへの固定も容易に行うことができた。気泡の混入もなく良好な 3 次元データを測定できた上に、アルギン酸印象材からの MR 信号は全く測定されなかった。検体の 3 次元再構成画像と肉眼所見の相関は良好であった (Fig. 2)。MRI 測定終了後も検体は印象材から剥離が容易で、検体を傷つけることなく取り出せた。さらに、印象材表面が湿潤しており検体の乾燥を防止する効果もあった (Fig. 1g)。

ホルマリン固定胎児の場合には、頸部の屈曲があったがゲル化する間、用手的に保持することにより理想的な位置に固定が可能であった (Fig. 3a, b)。得られた MR 画像は、細胞密度に比例して信号強度が高く病理の HE 標本に類似しており病理組織とよい相関が得られた (Fig. 4)。また、128 枚の連続画像から NIH Image を用いて容易に任意の断層を作成することが可能であり (Fig. 5), partial MIP 処理

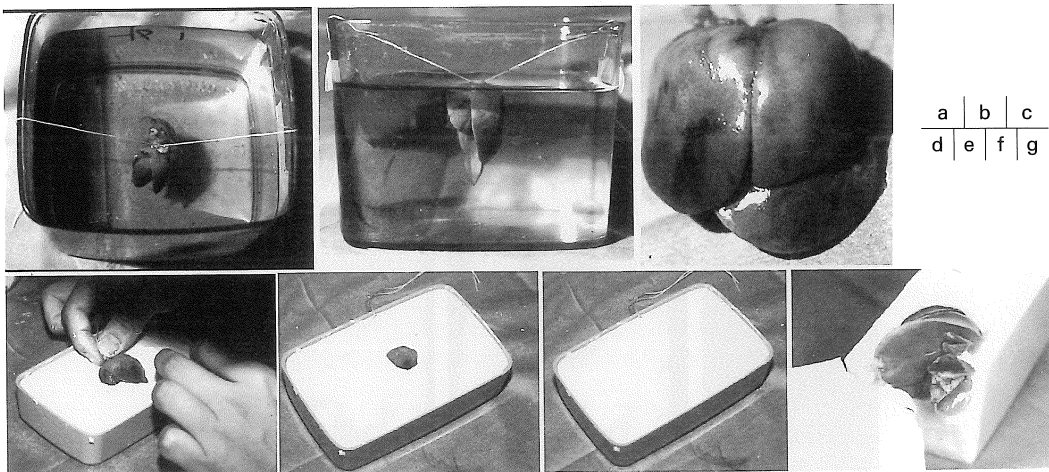


Fig. 1. a, b, c) Rat liver is fixed the same as for *in vivo* imaging by suspending in 10% formaldehyde. d, e, f) The formaldehyde-fixed sample is set in the alginate impression material, Jeltrate® Plus™. g) The sample is easily removed without damage.

1997 年 9 月 8 日受理 1997 年 10 月 31 日改訂

別刷請求先 〒807 福岡県北九州市八幡西区医生ヶ丘 1-1 産業医科大学脳神経外科 木下良正

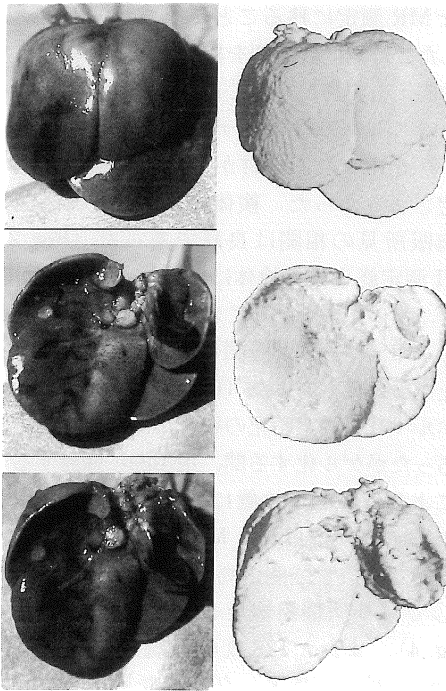


Fig. 2. Photograph of the formaldehyde-fixed liver of rat (left column) and surface rendering from 3D-MRI (right column) by Dr. View software on a Silicon Graphics computer. Good correspondence between the two images is noted.

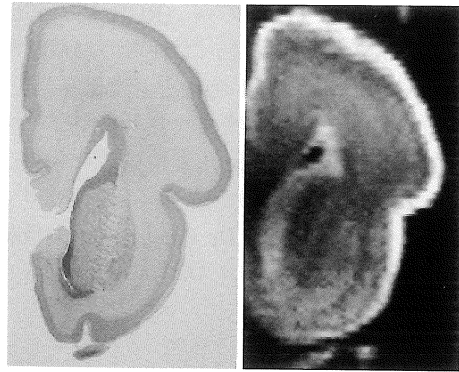


Fig. 4. Photomicrograph (HE stain, left) and MRI (right) of a coronal section of fetal brain.

にて germinal matrix layer や脳室の立体構築が作成できた (Fig. 6a, b). スキャンコンバーターを介して直接マッキントッシュに PICT 画像として保存しているため皮膚や軟部組織など不必要な部分を消去したり, Dr.View 上でビットマップを作成することにより, 脳や germinal matrix layer のみの立体化, 合成, 切断など, 画像処理が容易に行うことができた (Fig. 6c, d, e).

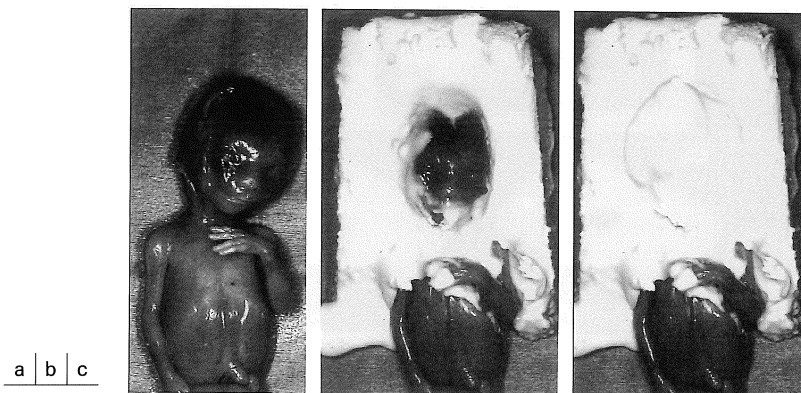


Fig. 3. Fixation procedure for the fetal head. a) The neck is rotated to the left and the left arm is near the lower jaw. b, c) By embedding the specimen in the alginate impression, the fetal head maintains the ideal position.

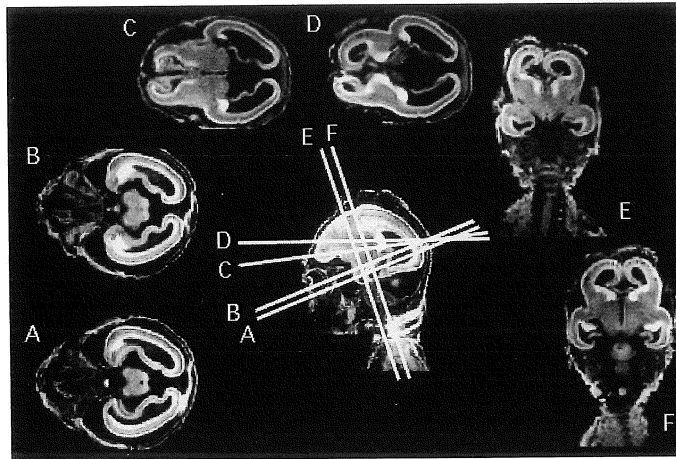


Fig. 5. Arbitrary 2D MR images reconstructed from 3D data using NIH Image software on a Macintosh computer.

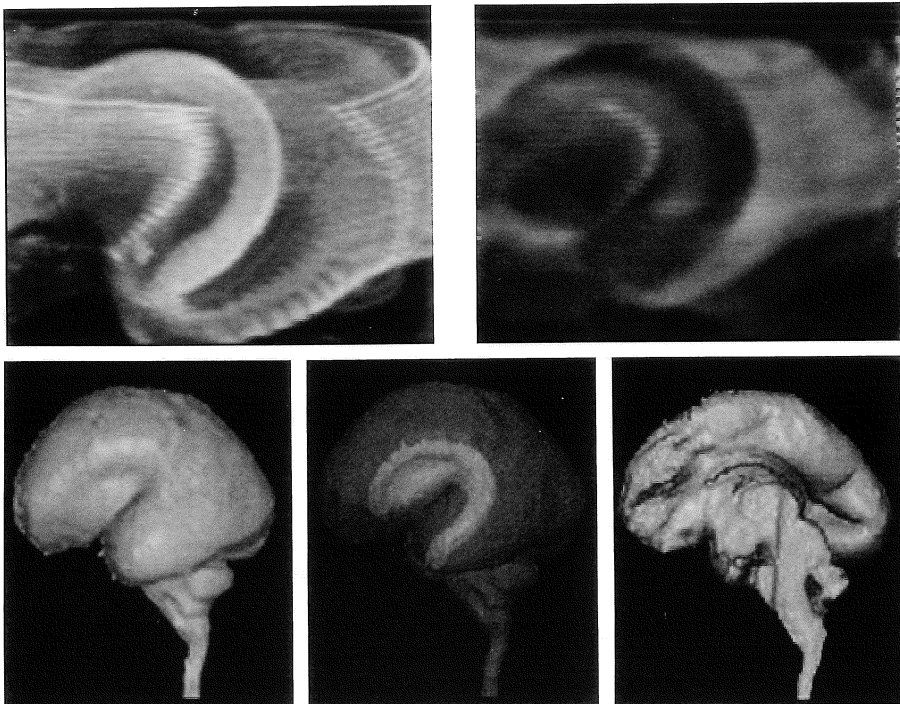


Fig. 6. a, b) Superolateral maximum intensity projection (MIP) views using NIH Image software. c, d, e) 3D surface-rendered images using Dr. View software. a) The germinal matrix layer is visualized by removing the temporal cortical surface. b) Lateral ventricle is demonstrated using the same original 2D data. c) The brain surface is reconstructed by elimination of skin, muscle, and skull. d) The germinal matrix layer is superimposed on the rendered brain surface. e) The medial surface of the fetal brain is easily obtained from the rendered brain surface data.

考 察

ホルマリンで固定された検体の3D-MRIを測定する上で考慮しなければならない問題点として、検体固定材料の選択があげられる。良質のMR画像を撮像するためには固定材料は以下の条件を満足する必要がある。

1. 検体に化学変化や変色など引き起こすことなく、検体に密着し空気の排除が可能である。
2. 適度の強度があり検体を保護しつつ、検体の位置の設定や固定が可能である。
3. 固定材料自体のMR信号がなく、検体の信号に影響を与えない。
4. 入手が容易で、安価である。
5. 固定材料の準備ならびに操作が簡単で、硬化するまでの時間が調整できる。
6. 水が漏れず乾燥を防止でき、容易に検体を剝離・除去できる。

アルギン酸印象材は以上の点をすべて満たしており、アーチファクトがほとんどない良好なMRIを撮像できた。

アルギン酸印象材は不可逆性ハイドロコロイド印象材に分類され、組成はアルギン酸カリウム塩またはアルギン酸ナトリウム塩（ゾル状態から架橋によりゲル状態に変化する主成分）、 $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ （架橋を形成する際のカルシウムイオンの供給）、 Na_3PO_4 （操作時間の調整）、不活性フィラー（ケイソウ土）からなる。アルギン酸カリウム（ナトリウム）は $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ の解離によって生じる Ca^{2+} と反応してアルギン酸カルシウムになり、アルジネートポリマーの鎖が架橋してゾル状態からゲル状態に変化し弾性的性質が増大する（Fig. 7）。リン酸ナトリウムは $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ の解離によって生じる Ca^{2+} とまず反応して不溶性リン酸カルシウムを形成し、架橋に必要な Ca^{2+} の供給を阻止することでアルジネート印象材の硬化時間を遅らせ硬化特性を決定している⁸⁾。特にジェルトレート・プラスはアルギン酸の含有率が高

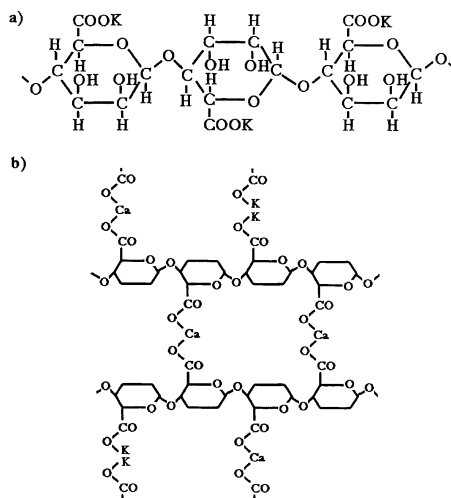


Fig. 7. Molecular structure of a) potassium alginate, b) alginate polymer.

く弾性に富み引裂抗力が大きいとされ、歯科領域では広く普及している印象材であり入手しやすく安価である。さらに粉末の飛散が少なく粉末として扱いやすい特徴がある。また、検体の大きさや表面の凹凸の状態により、配合する水の量や温度を加減するだけで好みのゾル状態の作成やゲル化するまでの時間の調節ができる利点もあげられる。このアルギン酸印象材は寒天と異なりMR信号を出さず固定材として適していた⁹⁾。今回の使用方法以外にも、ラットの腹部の呼吸運動を抑制したりマウス大腿に接種した腫瘍を固定するなどの応用もでき、印象材に固定したまま病理学的検索のための切り出しも可能である¹⁰⁾。ホルマリン固定後の脳組織のMR画像は脳皮質が白質に比較して高信号になり、アルギン酸印象材などの固定材料を使用していない過去の報告と同様な所見であり、アルギン酸印象材が検体のMR信号に影響することはなかった^{11)~13)}。

画像処理ソフトウェアの進歩によりデジタル化されたイメージの後処理は大掛かりなワークステーションを使わずとも汎用コンピュータで簡単に処理できる。貴重な検体を傷つける

ことなく繰り返し2次元および3次元解析が可能であるため、病理標本を作成する前にMRI測定することは有用な研究手法であると考えられた。

結 語

検体の固定にはアルギン酸印象材のジェルトレート・プラスの有用性を紹介し、高磁場MR装置を用いた病理標本の画像解析の可能性を示した。

本研究の要旨は第24回日本磁気共鳴医学会大会(1996年9月,大磯)において発表した。ジェルトレート・プラスの資料を提供いただいたデンツプライ・ジャパン株式会社 大黒俊樹博士に深謝いたします。

文 献

- 1) Lemaire C, Duncan EG, Solsberg MD, Armstrong RL: *In vitro* magnetic resonance microimaging of the spinal cord. *Magn Reson Med* 1990; 14: 97-104
- 2) Mäure J, Mitrovic T, Knollmann FD, Lüdtker E, Requardt H: *In vitro* delineation of human brain-stem anatomy using a small resonator: correlation with macroscopic and histological findings. *Neuroradiology* 1996; 38: 217-220
- 3) Sarkar SK, Clark RK, Rycyna RE, Mattingly MA, Greig R: 9.4-T NMR microimaging studies of hepatic metastases of human colorectal tumors in nude mice. *Magn Reson Med* 1989; 12: 268-273
- 4) Boyko OB, Alston SR, Fuller GN, et al.: Utility of postmortem magnetic resonance imaging in clinical neuropathology. *Arch Pathol Lab Med* 1994; 118: 219-225
- 5) Brown WR, Moody DM, Mathews VP: Brain slice holder for MR. *AJNR* 1995; 16: 1446-1448
- 6) Johnson PC, Hunt SJ, Drayer BP: Human cerebral gliomas: correlation of postmortem MR imaging and neuropathologic findings. *Radiology* 1989; 170: 211-217
- 7) 豊嶋英仁, 小川敏英, 菅原重喜, 他: 同一断面の剖検脳MRIと病理標本を得るための試み—MRIによる脳表マップ像を用いた検討—. *日磁医誌* 1996; 16: 283-288
- 8) van Noort R. *Introduction of Dental Materials*. 1st ed. London, UK: Mosby, 1994; 163-165
- 9) 木下良正, 入口紀男, 横田 晃: 動物実験用核磁気共鳴装置による拡散現象の測定—信頼性と正常値の検討—. *産業医大誌* 1995; 17: 261-269
- 10) Okazaki K, Kinoshita Y, Nakayama Y, et al.: Use of three-dimensional magnetic resonance imaging (MRI) in animals for evaluation of the metastatic capacity of experimental colon cancer. *Gastroenterology (Suppl.)* 1997; 112: A632
- 11) Kier EL, Fulbright RK, Bronen RA: Limbic lobe embryology and anatomy: dissection and MR of the medial surface of the fetal cerebral hemisphere. *AJNR* 1995; 16: 1847-1853
- 12) Tovi M, Ericsson A: Measurements of T₁ and T₂ overtime in formalin-fixed human whole-brain specimens. *Acta Radiol* 1992; 33: 400-404
- 13) Woodward PJ, Sohaey R, Harris DP, et al.: Postmortem fetal MR imaging: comparison with findings at autopsy. *AJR* 1997; 168: 41-46

Three-dimensional MR Imaging of Formaldehyde-fixed Specimens Using Alginate Impression Material (Jeltrate® Plus™)

Yoshimasa KINOSHITA¹, Keisuke OKAZAKI², Kiyotaka KOHSHI^{1,3},
Norio IRIGUCHI⁴, Akira YOKOTA¹

*Departments of ¹Neurosurgery, ²Surgery I and ³Hyperbaric Medicine,
University of Occupational and Environmental Health
1-1 Iseigaoka, Yahatanishi-ku, Kitakyushu 807
⁴Siemens-Asahi Medical Technologies, Limited*

MRI has been widely accepted as one of the most useful techniques for investigations of the brain, liver and other organs. It is difficult, however, to set specimens in a small resonator without problems with air contamination, morphological change due to compression and motion artifact because of poor fixation. We embedded formaldehyde-fixed specimens in an alginate impression material, Jeltrate® Plus™, and set these specimens in a small resonator. Data were acquired using a 3-D steady-state free precession (3D-ssfp) sequence ($6 \times 6 \times 6$ cm field of view, echo time 9 ms, repetition time 200 ms, flip angle 90 degrees, $128 \times 128 \times 128$ matrix size, 2 signals averaged per cycle) utilizing a 4.7 Tesla MRI system (SISCO/Varian, SIS 200/400). To reconstruct 3-D representations from 2-D images, background noise of 2-D slices was eliminated, relative optical density normalized and ROI trimmed using National Institute of Health (NIH) Image 1.59 software on a Macintosh computer. *In vitro* MRI of specimens may be useful to clarify images of anatomical and pathological structures. The alginate impression material was found to be a useful casting substance for postmortem specimens being examined by MRI.