

生体内における代謝，拡散，緩和時間の測定とその臨床的意義

原田雅史，久保 均，久岡園花，岡田稔子，
米田和英，竹内麻由美，森田奈緒子，大塚秀樹，
西谷 弘

徳島大学医学部放射線科

はじめに

臨床診断において通常 T_1 強調画像や T_2 強調画像といった定性画像による診断が中心であり， T_1 値画像， T_2 値画像といった定量的な計算画像はほとんど用いられていない。これは計算される T_1 値や T_2 値の不正確さと疾患によるオーバーラップが大きく，当初期待されたほど診断的価値が高くないと考えられたためと思われる。しかし，EPI 等により拡散強調画像が非常に短時間に測定できるようになると，ADC と呼ばれるみかけの拡散係数が計算され，臨床診断に供されている。これは拡散強調画像のみでは T_2 の変化による信号上昇の影響を受け，拡散能の変化の程度について定量的な指標が臨床的にも有用と考えられるためであり，最近次第に定量的な測定や評価が見直されてきているように思われる。

Proton MRS による代謝物測定は臨床機においても測定可能であり，脳虚血や脳腫瘍の評価に対する有用性はかなり報告されるようになってきた¹⁾。代謝物の評価には半定量的な信号強度比による比較のみならず，代謝物濃度によって検討する方が有用と考えられる場合が少なくない。現在脳を対象とした場合，組織水を内部標準とする方法²⁾が応用されることが多いが，

今後生体の生化学的な診断に MRS が広い範囲に応用されるとすると，内部標準のみによる定量法は限界がある。臨床で許容できる精度で何らかの外部標準物質によるコイル感度の校正による定量評価が行える必要がある。この論文では頭部以外の MRS の例として骨盤内腫瘍の測定を紹介し，最近我々が試みている外部標準法による代謝物濃度測定について解説する。

また，さらに最近では緩和時間や拡散等の検討を通して，組織や細胞内のコンパートメントについての情報を区別して評価することも行われるようになってきている。このコンパートメント情報は従来よりもさらに病態の背景に深く関係した情報になり得ると思われ，病態の把握や診断においても有用ではないかと考えられる。さらに，緩和時間や拡散情報の新たな応用方法とも考えられ，今後 MR を用いた生化学的な診断法への有用な手法となるかもしれない。この論文ではこれらの研究の一端を紹介し，今後の方向性について検討した。

外部標準法による proton MRS の定量方法

現在臨床機での proton MRS は測定感度があまり高くなく，頭部のような専用コイルが使用できる部位以外ではあまり応用されていない

キーワード MRS, metabolism, diffusion, relaxation, compartment

い。しかし、今後磁場の上昇やコイル感度の改善等により MRS の測定可能な領域も頭部以外に広がっていくと考えられる。現有の臨床装置においても卵巣や子宮由来の腫瘍は非常に大きくなって発見されることもあり、通常のボディーコイルを用いて測定が可能であることが少なくない。我々の検討では、卵巣の嚢胞性病変では悪性度の高い腫瘍において嚢胞部分の乳酸が高い傾向がみられ³⁾、乳酸等の代謝物の何らかの定量評価が必要と考えられた。しかし、病変の組織の水濃度が非常に多様であることから、脳で使用される組織水を内部標準とする方法を応用することは難しい。また、ボディーコイルの感度の均一性は頭部よりも低いと考えられ、測定対象と標準物質を同時に測定する方法では、コイル感度の不均一が影響すると予想される。そこで我々は標準物質を患者とは別に測定する方法を選択した。コイルの Q 値の補正には Michaelis らが報告した transmitter gain (TG) の値を用いる方法により行った⁴⁾。

1) ファントム実験

外部標準物質として acetate 30 mM を含んだ溶液 500 ml を使用し、測定対象となる代謝

物ファントムとして異なる 4 種類の濃度の Cr 溶液を作成した。まず、測定対象の Cr 溶液について proton MRS の測定を行い、その後外部標準試薬に交換し proton MRS の測定を行った。その都度 transmitter gain (TG) の調整を行い、Michaelis らの方法⁴⁾に従い得られた TG の値からコイルの Q 値の校正を行った。濃度の算出は頭部 MRS の代謝物濃度定量に用いた下記の式を応用したが、組織の含有率 ρ は 1 とした。

$$C = C_{ref} \cdot (A_{obs}/A_{ref}) \cdot f_{vol} \{f_{coil} \cdot f_{\Delta T_2}\} / \rho_{tissue}$$

- C : calculated concentration (mM)
- C_{ref} : concentration of reference solution
- A_{obs} : observed resonance area
- A_{ref} : respective resonance area
- f_{vol} : volume normalization
- f_{coil} : coil loading correction
= exp[(TG_{ref}-TG_{obs})·α]
- f_{ΔT₂} : the differential T₂ attenuation

ファントム実験で得られた Cr の濃度と定量された測定値との相関を Fig. 1 に示すが、良好な直線関係と相関性が認められ、臨床応用が

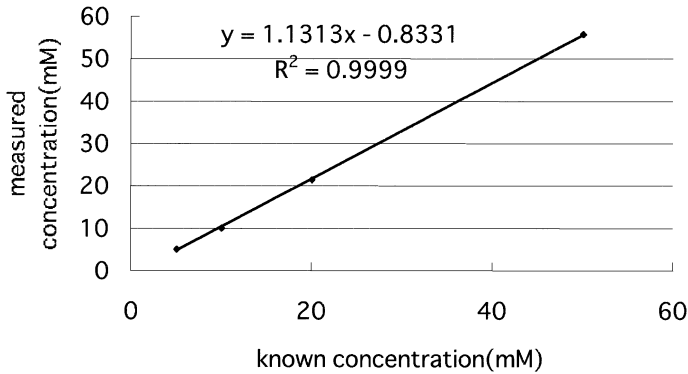


Fig. 1. The result of phantom study for quantitative proton MRS measurement. The linear correlation is found between the calculated concentration of Cr using the external standard method and the known concentration.

2001年4月4日受理

別刷請求先 〒770-8503 徳島市蔵本町 3-18-15 徳島大学医学部放射線科 原田雅史

Table. The Concentration of Lactate in Cystic Ovarian Tumors Measured by Quantitative *in-vivo* Proton MR Spectroscopy

| Histology | Malignant | Benign |
|-----------|-----------|--------|
| | 8.0 | 4.0 |
| | 12.5 | 2.0 |
| | 14.0 | 1.1 |
| | 10.3 | 6.6 |
| average | 11.2 | 3.4 |
| SD | 2.3 | 2.1 |

可能と考えられた。

2) 臨床測定

卵巣の嚢胞性病変について proton MRS を施行し, 乳酸の信号について上記と同様の定量方法によって濃度の算出を行った。測定後病変は全例切除され病理診断が施行されている。病理診断との比較から Table に示すように悪性と診断された病変の乳酸値は良性とされた病変よりも明らかに高値であり, 乳酸濃度が悪性度の指標となる可能性が示唆された。 *in vitro* の検討が Massuger らによって施行され, 我々の結果と同様悪性の嚢胞性病変では乳酸値が高いことを報告している⁵⁾。我々の検討数はまだ少なく, 今後オーバーラップする病変が存在する可能性はあるが, 画像診断に追加される有用な臨床情報になり得るのではないかと期待され, 臨床においても定量的な代謝物濃度の検討が可能であると考えられた。その他コリン含有物質の定量化も可能であり, 細胞膜代謝の定量評価に応用できないか現在検討中である。今後装置やシーケンスの改良により頭部以外の広い領域で臨床の MRS が測定されるようになることが期待されるが, 濃度の定量化は臨床症例においても可能であり代謝物濃度を臨床診断に用いることができると考えられた。

コンパートメント分析について

組織や細胞内のコンパートメントを分類する

方法として 1) MRS による代謝物の局在を利用する方法と 2) 緩和時間や拡散能の違いを利用する方法が考えられる。臨床においては proton MRS で観察される脳内代謝物は比較的局在が明瞭であり, それらの代謝物をコンパートメントの指標とすることができる。

1) 代謝物の局在を利用する方法

神経細胞内に局在する代謝物として N-acetyl-aspartate (NAA) が知られており, 特に成人においては軸索や樹状突起も含めたニューロンの個数や密度を反映する指標として通常考えられている⁶⁾。また, myo-inositol (Ins) は astrocyte に多く含まれており, gliosis の場合などに増加することが知られている⁷⁾。しかし, 乳酸は嫌気性解糖が亢進する病的な状態で普通認められるが, この乳酸が細胞内, 外のどちらにあるかは不明である。

Fig. 2 に adrenoleukodystrophy における proton MRS を示す。正常と比べ明らかに NAA が低く Ins が高くみえるが, 水を内部標準とする定量によっても NAA が 5.5 mM と低く Ins は 5.9 mM と正常 (NAA 10 mM, Ins 2 ~ 3 mM) よりも高値となっている。このことからニューロンの減少あるいは障害とグリア細胞の増加が示唆され, 定量的な臨床評価が可能となる。

また, 我々は発症後 48 時間以内の急性期脳梗塞と悪性脳腫瘍についての代謝物拡散能を測定した。その結果を Fig. 3 と Fig. 4 に示す。正常者の代謝物拡散能は $0.15 \sim 0.3 \times 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{s}$ でほぼ同様であり, 水に比べると低値であるが, 梗塞急性期における NAA の拡散能は水と同様に正常よりも低下し, 悪性腫瘍では上昇している傾向が認められた (Fig. 3)。NAA はニューロンに限局すると考えられるため, その拡散能の低下は神経細胞内の拡散能低下を反映すると考えられ, 細胞内浮腫による水の流入では説明できない。神経細胞内の粘張度自身が虚血の急性期に上昇する減少は Neil らによる K の analogue を使用した Cs^{2+} による拡散能の

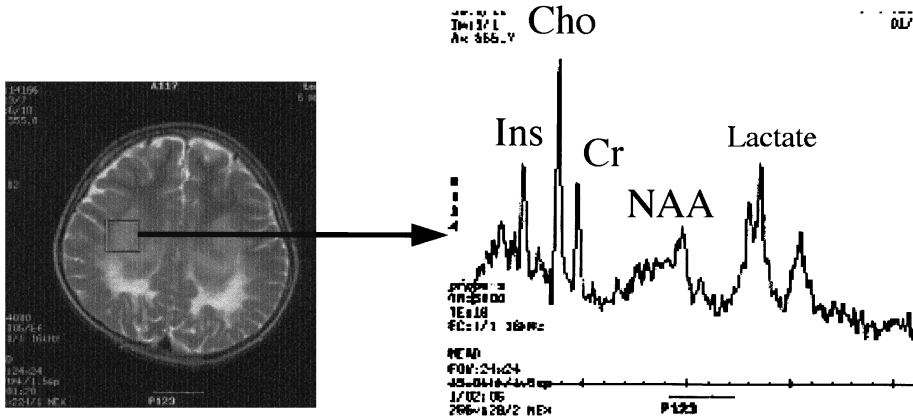


Fig. 2. Proton MRS of a case of adrenoleukodystrophy showing decrease of NAA and increase of Ins, Cho and lactate signals.

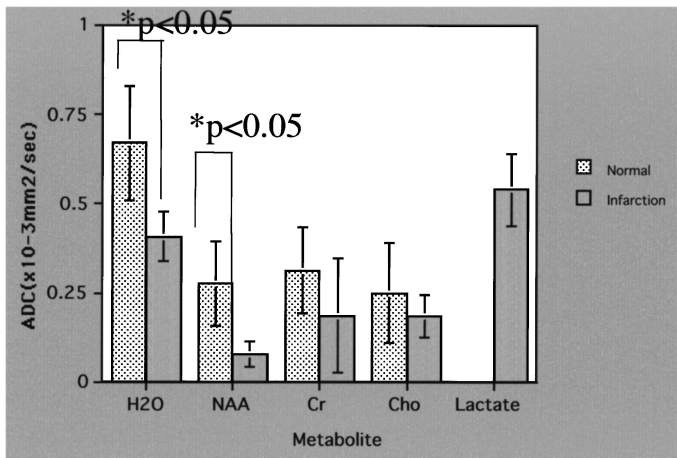


Fig. 3. The measured ADC values of water and metabolites on normal volunteers (n=5) and patients of acute infarction (n=5). The ADC values of water and NAA are decreased on patients of infarction. That of lactate is higher than that of other metabolites.

低下からも示唆されている⁸⁾。このように、代謝物の局在を利用したコンパートメントの評価が、MRSの利用により可能となると考えられた。

2) 拡散や緩和時間の違いを利用する方法

同様に測定された脳梗塞患者と脳腫瘍の乳酸の拡散は、Fig. 3 および Fig. 4 に示すように

NAAをはじめ他の細胞内代謝物よりも明らかに高い。この理由として乳酸が他の代謝物と異なり細胞外に多く局在するために拡散能が高い可能性が考えられる。代謝物拡散能の違いを利用して、局在の違いを評価することが可能になるのではないかと期待される。

さらに拡散能を利用した詳しいコンパートメ

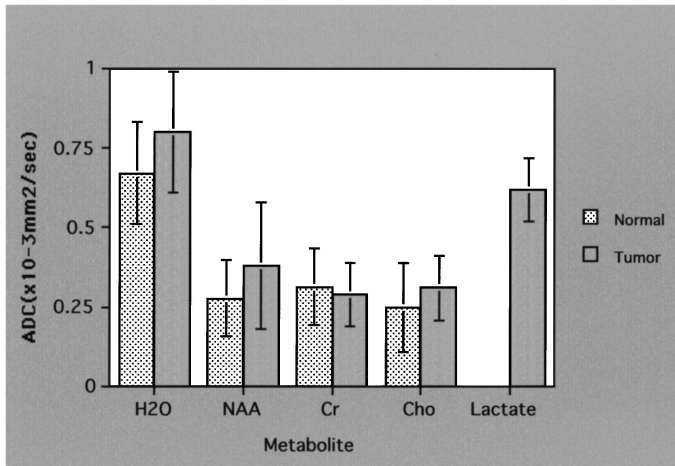


Fig. 4. The measured ADC values of water and metabolites on normal volunteers (n=5) and patients with malignant brain tumor (n=5). The ADC of water and metabolites on tumor patients are slightly higher than those on normal volunteers, but statistical differences is not found. The lactate ADC is higher than those of other metabolites.

ント評価が Pfeuffer らにより報告されている⁹⁾。彼らは代謝物の拡散能が, double exponential に変化することを示し, グルコースや乳酸の拡散も含めて double exponential analysis を施行している。これによりすべての代謝物は拡散能の早いコンポーネントと遅いコンポーネントの2種類に分類され, 乳酸はグルコースに比べて早いコンポーネントが増加することが報告されている。彼らはこの結果により, グルコースの分布は主に細胞内に存在し細胞外の存在量は非常に少ないのに対し, 乳酸は細胞外に存在する割合が多いと推定している。しかし, 彼らが報告している拡散能の高いコンパートメントと低いコンパートメントの割合はほぼ50%ずつであり, 単純な細胞内外のコンパートメントとは異なるが, その具体的な成因については明らかにできていない。

また Mulkern らは大きな b value での測定を行うと, 水の拡散も biexponential な変化をすることを報告し, 長い成分が約0.74で短い成分が0.25と分析している¹⁰⁾。彼らはこの割

合は単純な細胞内と細胞外のコンパートメントでは説明がつかず, 化学交換や拡散制限, 異方性や細胞内コンパートメントといった要因が総合されていると推察しており, tissue characterization のための新たなパラメータとなり得るのではないかと述べている。

さらに Does らは異なるエコー時間による水のADCの変化を測定し, T_2 とADCとの関係を検討している¹¹⁾。かれらは脳実質においてはほとんど T_2 に関するADCの依存はなく, 細胞内と細胞外での化学交換が非常に速く行われていると推察している。一方, 三叉神経の測定ではエコー時間の違いによりADCが非常に変化することを見だし, しかもMPGが神経線維の走行に平行な場合と垂直な場合とでADCの変化が逆であることを報告し, 髄鞘化したaxonの外の方が水の拡散異方性が強いと推察している。また虚血実験ではエコー時間によるADCの変化は認められないことから, 病態による変化は脳神経のほとんどすべてのコンパートメント (microanatomical environment)

に影響していると考えている。

これらの研究は緩和時間と拡散能の両者を用いて組織のコンパートメント評価を試みた方法で、今後病態におけるコンパートメントの変化を知る手がかりとなるかもしれない。このように拡散や緩和時間を詳細に検討することにより、違ったコンパートメント情報を区別して抽出可能と考えられ、tissue characterizationにも応用できると期待される。しかしMRで観察される原子は分子間における化学交換もあり、必ずしも解剖学的なコンパートメントと一致しないと思われる。今後*in vitro*や*ex vivo*のコンパートメント分析とも比較し、解剖学的コンパートメントとの相関性や相違点を明らかにしていく必要があると考えられる。

最 後 に

MRSを利用した生化学的な診断の試みは最近始まったばかりであるが、スペクトルパターンでコンピューター解析する方法も提案されている¹²⁾。現時点では*in vitro*のデータが多いが、今後臨床データにも応用され将来臨床診断に実用化されていくかもしれない。しかし代謝物の定量が可能になると、生化学的な変化が数値として絶対評価が可能になり、臨床的意味づけが容易になると期待され、その点でも定量化の技術を可能にしておくことは意義深いと思われる。定量化のためにも緩和時間や拡散は必要なパラメータであり、これらの測定が重要になってくる。

また、MRS, MRIを用いたコンパートメント研究は、現在まで様々な方法で行われている。最近は特に緩和と拡散のパラメータを使用する方法が増えており、解剖学的コンパートメントとは異なる生化学的コンパートメントを反映している可能性があり、今後病態における変化の研究が期待される。T₁値やT₂値のみでは臨床的意義は少ないとしても、緩和時間と拡散能のパラメータを利用することにより様々なコ

ンパートメント解析が可能となる点からも、緩和時間や拡散能の測定は臨床重要であると考えられる。これは緩和や拡散情報の新たな応用方法といえ、いわば生化学的コンパートメントの評価といえる。このようなコンパートメント分析はMRの特徴を最も利用した手法の一つであり、病態や組織に関する新たな知見と新しい臨床応用が今後期待できるのではないかと考えられ、より詳細な臨床生化学的診断が将来可能となるかもしれない。これからのこの分野での研究が盛んとなり実用化されることを期待している。

文 献

- 1) Dnielsen ER, Ross B. Chapter 5 Clinical cases. In: Magnetic Resonance Spectroscopy Diagnosis of Neurological Diseases. New York, USA: Marcel Dekker Inc., 1999; 53-302
- 2) Christiansen P, Henrikse O, Stubgaard M, Gideon P, Larsson HB: *In vivo* quantification of brain metabolites by ¹H-MRS using water as an internal standard. Magn Reson Imaging 1993; 11: 107-118
- 3) Okada T, Harada M, Matsuzaki K, Nishitani H, Aono T: Evaluation of female intrapelvic tumors by *in-vivo* proton MR spectroscopy. JMRI in press
- 4) Michaelis T, Merboldt K-D, Bruhn H, Hanicke W, Frahm J: Absolute concentrations of metabolites in the adult human brain *in vivo*: quantification of localized proton MR spectra. Radiology 1993; 187: 219-227
- 5) Massuger LF, van Vierzen PB, Engelke U, Heerschap A, Wevers R: ¹H-magnetic resonance spectroscopy: a new technique to discriminate benign from malignant ovarian tumors. Cancer 1998; 82: 1726-1730
- 6) Urenjak J, Williams SR, Gadian DG, Noble M: Specific expression of n-acetylaspartate in neurons, oligodendrocyte-type-2 astrocyte progenitors, and immature oligodendrocytes *in vitro*. J Neurochem 1992; 59: 55-61
- 7) Brand A, Richter-Landsberg C, Leibfritz D:

- Multinuclear NMR studies on the energy metabolism of glial and neuronal cells. *Dev Neurosci* 1993 ; 15 : 289-298
- 8) Neil JJ, Duong TQ, Ackerman JJH : Evaluation of intracellular diffusion in rat brain via ^{133}Cs NMR. Proceeding the SMR 3rd Scientific Meeting and Exhibition, 1995 ; 82
- 9) Pfeuffer J, Tkac I, Gruetter R : Extracellular-intracellular distribution of glucose and lactate in the rat brain assessed noninvasively by diffusion-weighted ^1H nuclear magnetic resonance spectroscopy *in vivo*. *J Cereb Blood Flow Metab* 2000 ; 20 : 736-746
- 10) Mulkern RV, Gudbjartsson H, Westin C-F, et al. : Multi-component apparent diffusion coefficients in human brain. *NMR Biomed* 1999 ; 12 : 51-62
- 11) Does MD, Gore JC : Compartmental study of diffusion and relaxation measured *in vivo* in normal and ischemic rat brain and trigeminal nerve. *Magn Reson Med* 2000 ; 43 : 837-844
- 12) Roda JM, Pascual JM, Carceller F, Gonzalez-Llanos F, Perez-Higueras A, Solivera J, Barrios L, Cerdan S : Nonhistological diagnosis of human cerebral tumors by ^1H magnetic resonance spectroscopy and amino acid analysis. *Clin Cancer Res* 2000 ; 6 : 3983-3993

Clinical Utility of *in-vivo* Measurements of Metabolites, Diffusion and Relaxation Times

Masafumi HARADA, Hitoshi KUBO, Sonoka HISAOKA,
Kazuhide YONEDA, Mayumi TAKEUCHI, Naoko MORITA,
Hideki OTSUKA, Hiromu NISHITANI

*Department of Radiology, School of Medicine, University of Tokushima
3-18-15 Kuramoto-cho, Tokushima-shi, Tokushima 770-8503*

In our study, we have described the quantitative measurement of proton MRS using the external reference method. We have also described some compartment studies using metabolites, diffusion or relaxation times.

In our external reference method, the value of the adjusted transmitter gain was used to calibrate the coil loading factor. The result of the phantom study showed good linear correlation between the calculated and true concentration. The clinical result applied to ovarian tumors showed a large difference of lactate concentration between malignant and benign tumors.

In compartments studies, metabolites from a well known location in the tissue were used for the evaluation of tissue compartment. NAA is usually used in the index of neurons. The decrease of NAA diffusion may reflect the increase of viscosity in neuronal cells. In addition, there are several papers about compartment study using relaxation times and diffusion. These papers show the existence of compartments in tissues which were different from anatomical compartment. Intracellular and extracellular spaces were one example. The new compartments were analyzed by the calculation of relaxation times or diffusion. They are expressed as a difference of biochemical environment in tissues and may become the new parameters of clinical evaluation pathology.

The quantification of metabolites concentration, diffusion coefficient and relaxation time is a unique and characteristic feature of MR. This will lead to a new method to investigate disease and dysfunction, including disturbance of the biochemical and micro-anatomical environment. We anticipate that new biochemical diagnosis may be made by this quantitative evaluation.