

乳癌における multi-b value DWI 信号解析と 病理画像の比較 [大会長賞記録]

田村隆行^{1,2}, 笛吹修治³, 村上 茂⁴, 有広光司⁵,
山田圭紀¹, 藤本 崇¹, 内藤久美子¹, 秋山 實利³

¹広島原爆障害対策協議会健康管理・増進センター放射線科
²広島国際大学大学院医療・福祉科学研究科医療工学専攻 ³同保健医療学部診療放射線学科
⁴広島市立安佐市民病院外科 ⁵広島大学病院病理断科

はじめに

悪性腫瘍における水分子の拡散は、正常に比べ低下しているのを利用して、拡散強調画像で、悪性腫瘍を検出する手法が広く用いられており、その有効性を示す文献も多い^{1)~3)}。片対数でプロットした high b-value DWI 信号減衰は、時に、曲線を描き、以下の biexponential 式(1)に従うことが知られている⁴⁾。

$$S_b/S_0 = f_{\text{fast}} \exp(-bD_{\text{fast}}) + f_{\text{slow}} \exp(-bD_{\text{slow}}) \quad (1)$$

ここで S_0 および S_b は b 値をかける前後の信号値であり、 f は、各コンポーネントを構成する分子の相対数、 D は apparent diffusion coefficient (ADC) である。下付き文字は、それぞれ fast, slow component のものであることを意味する。

我々は、過去の研究⁵⁾で、乳腺腫瘍に対し、b 値 3500 s/mm² までの multi b-value DWI を (1)式を用いて解析し、細胞増殖性腫瘍での、biexponential 信号減衰の存在を示した。また、細胞密度の高い腫瘍は、 f_{slow} が高いことも報告した。本研究の目的は、さらに、この biexponential 信号解析から得られた fast, slow

コンポーネントの情報が、実際の細胞内外の情報をどの程度反映しているのかを、摘出術後の病理画像と詳細に比較しながら検証し、DWI 信号減衰の成因を明らかにすることである。

方 法

対象は 39~81 歳 (平均 60.5 歳) の乳癌女性である。Multi b-value DWI を含む乳腺 MRI 検査を受けられ、その後、腫瘍摘出術を行い、病理組織学的診断結果がわかっている 23 症例である。MRI から手術までの日数は平均 40 日で、その間、どの症例においても、術前化学療法や放射線治療は行われていない。また、病理画像との対峙を容易にするため、非腫瘍形成性病変は除外した。乳腺腫瘍 23 件の内訳は、非浸潤性乳管癌：1、浸潤性乳管癌：20、浸潤性小葉癌：1、髄様癌：1 であった。

DWI は Gyroscan Achiva 1.5T (Philips, Best, Netherland) と、7ch Breast coil を用いて、SE type single shot EPI で撮影を行った。撮像条件は、TR : TE/7000 : 110, b-value : 0~3500 s/mm² (6 b-values, 700 interval), slice : 24, matrix : 128 × 128 (256R), FOV : 260, RFOV : 85%, half scan factor : 0.6, thickness : 4 mm,

キーワード biexponential signal attenuation, diffusion-weighted imaging, breast cancer, apparent diffusion coefficient, component fraction

gradient over plus⁶⁾: yes, NSA : 3, scan time : 4 min 40 s である (Fig. 1a-f).

病理画像は、摘出標本の切り出し図と、MR画像を対峙しながら、ほぼ DWI と同部位と思われる点を選択し、その部位を、デジタルカメラ付き顕微鏡で撮影した。この時の視野範囲は約 $700 \times 550 \mu\text{m}$ であった。顕微鏡写真は、隣接するように 20 枚 (縦 5 × 横 4 枚) 取得した。これにより、おおよそ $2.8 \times 2.8 \text{ mm}^2$ の範囲の画像が得られたことになる (Fig. 1g, i, j)。また、コントロールとして、正常乳腺部からも、ランダムに、10 枚の病理画像を取得した。

DWI の ROI は 3×3 ピクセルの正方形とした。これにより、病理画像の ROI 範囲とほぼ一致することになる。(Fig. 1h, i) 正常乳腺部は、直径 10 pixel の円形の ROI を用いた。

DWI 画像の表示と計測は DICOM viewer soft imageJ (<http://rsbweb.nih.gov/ij/>) で行った。また、測定したデータは、Matlab (Mathworks, Natick) で自作したソフトで、以下の (2) 式を用いて最小二乗法によりフィッティングを行い、各パラメータを算出した。(Fig. 1k)

$$S_b/S_0 = f_{\text{fast}} \exp(-bD_{\text{fast}}) + (1 - f_{\text{fast}}) \exp(-bD_{\text{slow}}) + BG \dots\dots\dots (2)$$

この式は (1) 式の f_{slow} を $1 - f_{\text{fast}}$ に置き換えて、さらに BG としてバックグラウンドの項を追加してある。

病理画像は、Photoshop (Adobe systems, San Jose) で、マニュアルで細胞外成分を消去し、残された部分を細胞成分とする方法を採用した。これを全病理画像について行い、それぞれの平均値を cellular fraction とした。

また、病理画像を観察すると、細胞外成分はさらに、間質成分および、マイクロシストや乳管内成分などの free space に分けられると考える。そこで通常の病理画像から、細胞成分のみを選択した画像をサブトラクションすると、

細胞外成分が残る。この画像を用いて fiber fraction (fiber area/entire area) と free space fraction (free space area/entire area) を算出した。また、間質繊維成分の fast component への影響を調べるため、全体から、間質線維成分の割合を引いた新しい割合: $F = (\text{free space area}) / (\text{free space area} + \text{cellular area})$ を定義した。

病理画像から得られた上述のパラメータと、DWI biexponential 解析で求めた各パラメータを比較した。

結 果

Fig. 2a に DWI 信号解析により算出した f_{slow} と、病理画像解析から算出した cellular fraction の関係を示す、両者の相関係数は $R = 0.598$, $p = 0.003$ と、正の相関を示した。また、病理画像をよく観察すると、硝子化した間質を多く含む症例では、cellular fraction は低い割に、 f_{slow} は高い傾向にあった。これらを除外した場合の相関係数は、 $R = 0.709$, $p < 0.001$ とより高い相関を示した。正常乳腺の cellular fraction は、 $0.04 \sim 0.12$ であったが、全例 slow component は検出されず、monoexponential な信号減衰を示した。

Fig. 2b に f_{fast} と free space fraction および、 F との関係を示す。 f_{fast} と extracellular fraction の関係は、 f_{slow} と cellular fraction の関係と同義である。それぞれの相関は、 $R = 0.460$ ($p = 0.031$), $R = 0.727$ ($p = 0.00013$), $R = 0.709$ ($p < 0.001$) であった。

Cellular fraction と D_{slow} の関係をみると、細胞密度が高い場合の $D_{\text{slow}} = 0.2 \sim 0.3 \times 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{s}$ 辺りで安定する傾向があった。

D_{fast} に関しては $1.3 \sim 3.9 \times 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{s}$ とばらついて、相関する要素を見つけることはできなかった。

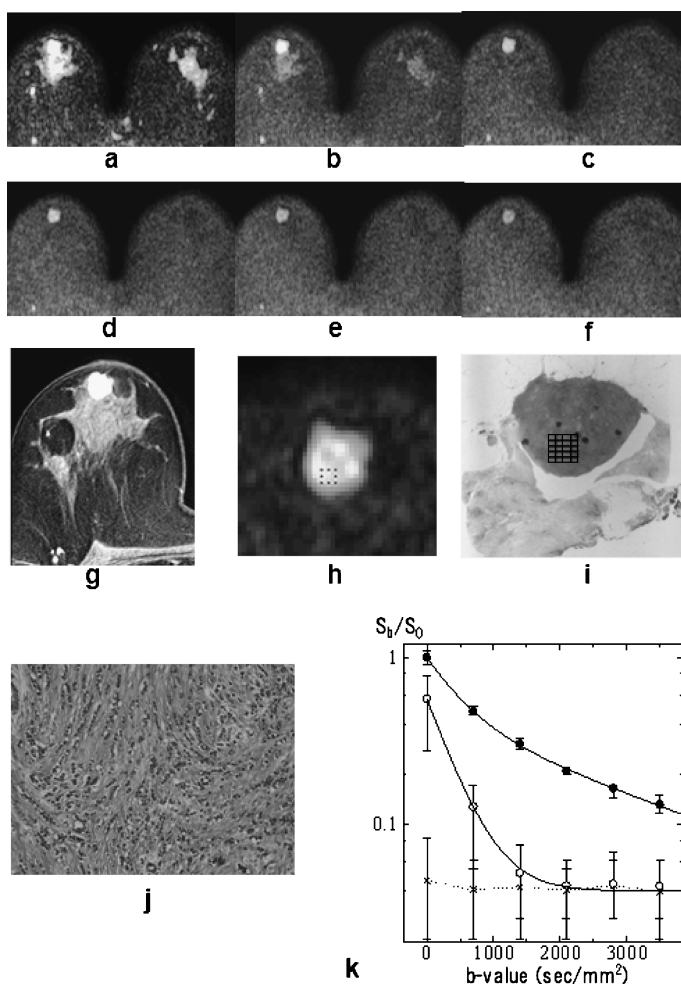


Fig. 1. A 41-y.o. woman with tubulo-lobular carcinoma of the right breast.

DWIs with b-value of 0 (a) ; 700 (b) ; 1400 (c) ; 2100 (d) ; 2800 (e) ; and 3500 (f) s/mm² and 3D T₁-weighted fast gradient-echo image at 70 after contrast administration (g). Illustrated positions of ROI on the DWI (h) and the pathological specimen (i). A microscopic image of the ROI on the pathological specimen in which the cellular fraction was estimated to be 0.32 (j). DWI signal attenuations of the ROIs fitted by the biexponential function (dotted line indicates the back ground noise level) (k). The derived parameters of tumor were a fraction of the fast component ($f_{fast}=0.615$) and ADCs of the fast ($D_{fast}=1.86 \times 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{s}$) and the slow components ($D_{slow}=0.314 \times 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{s}$) (Black circle). The signals of normal tissue declined to the back ground noise level and was fitted by a monoexponential function ($f_{fast}=1.0$, $D_{fast}=2.43 \times 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{s}$) (White circle).

考 察

硝子化の強い症例を除いた f_{slow} と、cellular fraction が良い相関を示し (Fig. 2a), 算出された D_{slow} は、過去に報告されている細胞内の ADC⁷⁾ とほぼ一致した。以上の結果から、slow component は細胞内の拡散に相当するのではないかと考える。また、硝子化の強い症例は、b 値 0~700, 0~1400 mm²/s を用いて 2 点法で算出した ADC も有意に低く、このことから、硝子化間質は、DWI 信号減衰に関与し、細胞と同程度の低い拡散を示すのではないかと考える。また、正常乳腺の DWI 信号解析からは slow component は検出されなかった。Fig. 2a においても、細胞密度の低い症例では、slow component が検出されないものもあり、DWI 信号減衰で、biexponential な曲線を描く (slow component を検出する) には、ある程度の細胞密度の上昇が必要なのではないかと考える。

Fast component に関して、 f_{fast} と extracellular fraction および F との相関は、ほぼ同程度となった (Fig. 2a, c)。しかし、過去の先行研究^{7)~9)}や、我々の過去のファントム実験¹⁰⁾の結果によると、fast コンポーネントは、slow コンポーネントよりも T_2 値が大きいため、そ

の fraction は実際の存在比より過大評価される傾向にある。その点を考慮すると、fast component は、 F (間質線維を除いた free space fraction) に相当する可能性が高いのではないかと考える。

また、本研究での、平均の fast component ADC ($D_{\text{fast}} = 2.006 \pm 0.738 \times 10^{-3}$ mm²/s) となったが、これに関しては、細胞外のコンポーネント (extracellular fraction, free space fraction, fiber fraction) と相関する要素を見出すことができなかった。一般的に、細胞密度が高くなると、細胞外液腔のスペースが狭くなり、結果、細胞外液腔の拡散が小さくなることが ADC 低下の原因と考えられているが¹¹⁾、今回の fast component の解析結果は、それを証明することができなかった。

結 語

乳腺腫瘍における b 値 3500 mm²/s までの DWI biexponential 信号解析の結果、slow component は、細胞内の拡散を示す事が示唆された。

Fast component fraction (f_{fast}) は細胞外成分全体の割合 (extracellular fraction) と、間質線維を除いた細胞外成分の割合 (F) の両者に

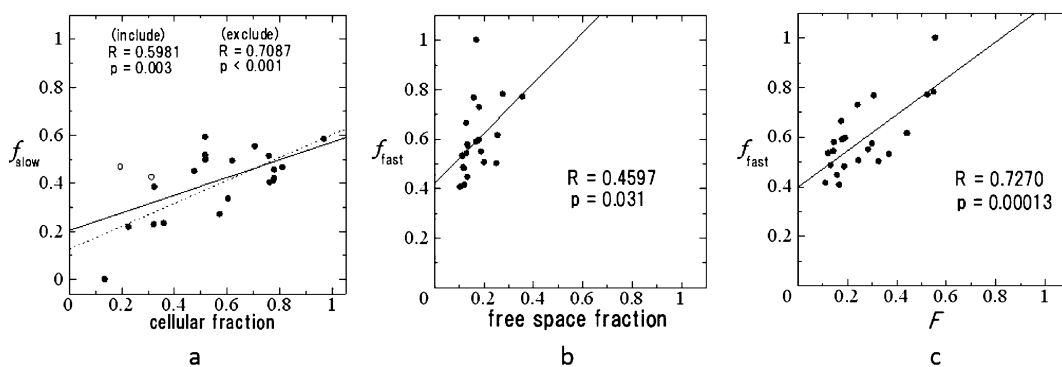


Fig. 2. Correlation of slow component fraction (f_{slow}) and the cellular fraction (a) and fast component fraction and free space fraction (b) and F (c). The white circles indicate the case of a large amount of hyalinized stroma, and the statistical correlation was estimated in each case to include (black line) or exclude it (dotted line) (a).

高い相関を示したが、過去に報告された、算出比の精度の差から、後者に相当する可能性が高いと考える。また、fast component ADC (D_{fast}) に相関する要素はなく、一般的に言われている、「細胞密度が高くなることによる、細胞外液腔の狭小化による ADC の低下」は否定的であり、通常、臨床で観測される腫瘍の ADC の低下の主な原因は、slow component である細胞成分の割合の増加による影響が大きいのではないかと考える。

しかし、今回の解析の結果からは、細胞膜や間質による拡散制限や細胞膜の透過性、微小灌流などの影響は不明のままである。

文 献

- 1) Koh DM, Takahara T, Imai Y, Collins DJ : Practical aspects of assessing tumor using clinical diffusion-weighted imaging in the body. *Magn Reson Med Sci* 2007 ; 6 : 211-224
- 2) Tsushima Y, Takano A, Taketomi-Takahashi A, Endo K : Body diffusion-weighted MR imaging using high b-value for malignant tumor screening : usefulness and necessity of referring to T2-weighted images and creating fusion images. *Acad Radiol* 2007 ; 14 : 643-650
- 3) Tsushima Y, Takahashi-Taketomi A, Endo K : Magnetic resonance (MR) differential diagnosis of breast tumors using apparent diffusion coefficient (ADC) on 1.5-T. *J Magn Reson Imaging* 2009 ; 30 : 249-255
- 4) Kärger J, Preifer H, Heink W : Principles and applications of self-diffusion measurements by nuclear magnetic resonance. *Adv Magn Reson* 1988 ; 12 : 1-89
- 5) Tamura T, Usui S, Murakami S, Arihiro K, Akiyama Y, Naitoh K, Akiyama M : Biexponential signal attenuation analysis of diffusion-weighted imaging of breast. *Magn Reson Med Sci* 2010 ; 9 : 195-207
- 6) Hori M, Kim T, Murakami T, et al. : Isotropic diffusion-weighted MR imaging with tetrahedral gradients in the upper abdomen. *Magn Reson Med Sci* 2006 ; 5 : 201-206
- 7) Roth Y, Ocherashvili A, Dainne D, et al. : Quantification of water compartmentation in cell suspensions by diffusion-weighted and T2-weighted MRI. *Magn Reson Imaging* 2008 ; 26 : 88-102
- 8) Szafer A, Zhong J, Gore JC : Theoretical model for water diffusion in tissues. *Magn Reson Med* 1995 ; 33 : 697-712
- 9) Vestergaard-Poulsen P, Hansen B, Ostergaard L, Jakobsen R. Microstructural changes in ischemic cortical gray matter predicted by a model of diffusion-weighted MRI. *J Magn Reson Imaging* 2007 ; 26 : 529-540
- 10) 田村隆行, 笛吹修治, 秋山實利 : 拡散強調画像の biexponential 信号減衰から fast, slow component の ADC と存在比を求める際の正確性—ファントム実験—. *日磁医誌* 2010 ; 30 : 1-9
- 11) Charles-Edwards EM, deSouza NM : Diffusion-weighted magnetic resonance imaging and its application to cancer. *Cancer Imaging* 2006 ; 6 : 135-143

Comparison of Multi-b-value DWI Signal Analysis with Pathological Specimen of Breast Cancer [President Award Proceedings]

Takayuki TAMURA^{1,2}, Shuji USUI³, Shigeru MURAKAMI⁴,
Koji ARIHIRO⁵, Tamaki YAMADA¹, Takashi FUJIMOTO¹,
Kumiko NAITO¹, Mitoshi AKIYAMA³

¹*Department of Radiology, Hiroshima Atomic Bomb Casualty Council, Health Management & Promotion Center
3-8-6 Senda-machi, Naka-ku, Hiroshima 734-0052*

²*Major in Medical Engineering and Technology, Graduate School of Medical Technology
and Health Welfare Sciences, Hiroshima International University*

³*Department of Clinical Radiology, Faculty of Health Sciences, Hiroshima International University*

⁴*Department of Surgery, Hiroshima Asa City Hospital*

⁵*Department of Anatomical Pathology, Hiroshima University*

Previous studies have reported that the signal attenuation of diffusion-weighted imaging (DWI) for tumor tissues displays biexponential decay and that the apparent diffusion coefficients (ADCs) can be divided into fast and slow diffusion components corresponding to those of extra- and intracellular spaces. In 23 subjects with breast cancer who underwent DWI using six b-values up to 3500 s/mm², we examined the biexponential character of the DWI signal attenuation of the tumor, estimated the fast and slow diffusion components, and compared them with the extra- and intracellular component information obtained from pathological specimens. The derived slow component fraction correlated with the cellular fraction, and the ADCs converged to 0.2–0.3 × 10⁻³ mm²/s for the higher cellular fractions. The ADCs of the fast component ranged from 1.3 to 3.9 × 10⁻³ mm²/s and showed no correlation with the extracellular components. This result suggests that the main reason for the decreasing ADC of a breast tumor is the decreasing fraction of the fast component and the increasing fraction of the slow component having a low ADC. Generally, it is believed that the reason for the decreasing ADC in a malignant tumor is the result of an increasing cellularity which restricts water diffusion in a reduced extracellular space. However, the present result of the biexponential analysis did not confirm this theory.