

NMR 装置による腫瘍に対する RF hyperthermia とその治療効果の同時判定

RF Hyperthermia and Simultaneous Monitoring of its Effects on the Phosphate Metaboism of Tumor Using  $^{31}\text{P}$ -NMR Spectrometer

成瀬昭二 (京都府立医科大学脳神経外科)  
 樋口敏宏 ( 同 上 )  
 堀川義治 ( 同 上 )  
 田中忠蔵 ( 同 上 )  
 中村公郎 ( 同 上 )  
 平川公義 ( 同 上 )

キーワード

$^{31}\text{P}$ -NMR, RF hyperthermia, tumor, NMR spectrometer, surface coil

要 旨

Radiofrequency (RF) hyperthermia on experimental tumor was made using the surface coil within the NMR spectrometer and its effects was monitored simultaneously in the same spectrometer by measuring  $^{31}\text{P}$ -NMR spectra. Rat glioma cells (EA 285) were inoculated subcutaneously in the lumbar region of CD Fisher rats. When the tumor grew over 1.5 cm in diameter, *in vivo*  $^{31}\text{P}$ -NMR spectrum was measured with use of a 1.1 cm surface coil in the SCM-200 spectrometer (JEOL, 4.8 Tesla).

Following this control study, RF pulse at various power levels was applied to the tumor tissue. After this hyperthermia therapy, *in vivo*  $^{31}\text{P}$ -NMR spectra were again measured sequentially without changing the position of the rat. In the pre-irradiation stage, peaks of ATP and a phosphomonoesters (PME) peak were high and a Pi peak was low. After the RF pulse at 5 watts was continuously applied for 60 minutes, the ATP peaks decreased and the Pi peak increased immediately, resulting finally in a dominant Pi peak



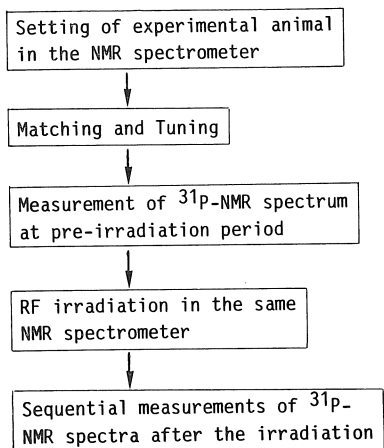


図 1 Flow chart of the procedure of RF hyperthermia and simultaneous monitoring of its effects using an NMR spectrometer.

に rat を NMR プロープに固定し、<sup>31</sup>P の共鳴周波数である 80.75 MHz の RF pulse にて (pulse 幅 14 μs), 1.9 秒毎の繰り返し時間で 200 回または 400 回加算を行った。観測周波数は 7,500 Hz, data point は 2,048 で、得られた free induction decay (FID) に 30 Hz の line broadening をかけた後に フーリエ変換を行い、<sup>31</sup>P-NMR spectrum を得た。

上記条件下で、まず control 時の腫瘍の *in vivo* <sup>31</sup>P-NMR spectrum を測定し、次いで rat を動かすことなく、同じ NMR 分光器中で、同じ surface coil を用いて、同じ <sup>31</sup>P の共鳴周波数の RF pulse にて腫瘍の RF hyperthermia を行った。この際用いた RF pulse は種々の power で連続波 (continuous wave) として 60 分間照射した。RF pulse の power は NMR 分光器に備え付けの RF-pulse power meter にて測定した。

この RF hyperthermia に引続いて再び *in vivo* <sup>31</sup>P-NMR spectrum を連続的に測定して、hyperthermia による変化を観察した。

NMR 測定後、一部は適時、顕微鏡による組織検索を行った。

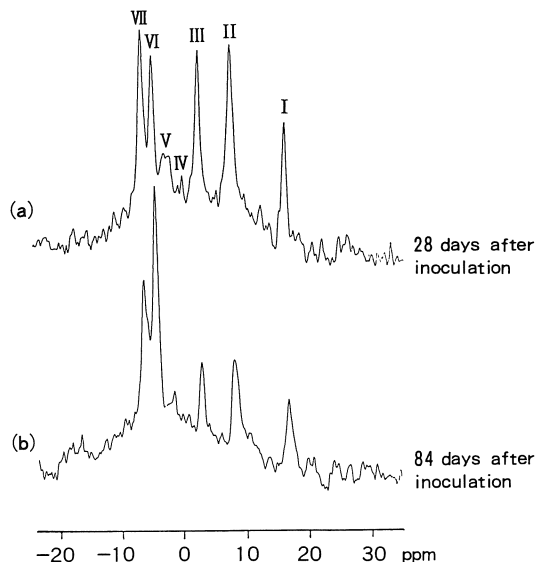


図 2 <sup>31</sup>P-NMR spectra of the rat glioma in two different stages of tumor growth. The assignments of <sup>31</sup>P-NMR signal peaks are: I, β-ATP; II, α-ATP and α-ADP with NAD<sup>+</sup>/NADH; III, γ-ATP and β-ADP; IV, phosphocreatine (PCr); V, phosphodiesters; VI, inorganic phosphate (Pi); VII, phosphomonoesters (PME). As the stage of tumor growth advanced from the active stage (a) to an advanced stage (b), ATP peaks decreased with a concomitant increase of Pi.

この一連の操作で、同一の NMR 分光器内にて、腫瘍に対する RF hyperthermia と、その治療効果判定を同時に行うことができた。

今回の実験の順序を簡明化し、フローチャートとして図 1 に示した。

また、同一実験条件下の別の rat にて RF hyperthermia 中の腫瘍の組織内温度を 26 G の needle thermister (Bailey Intr., USA) で測定した。



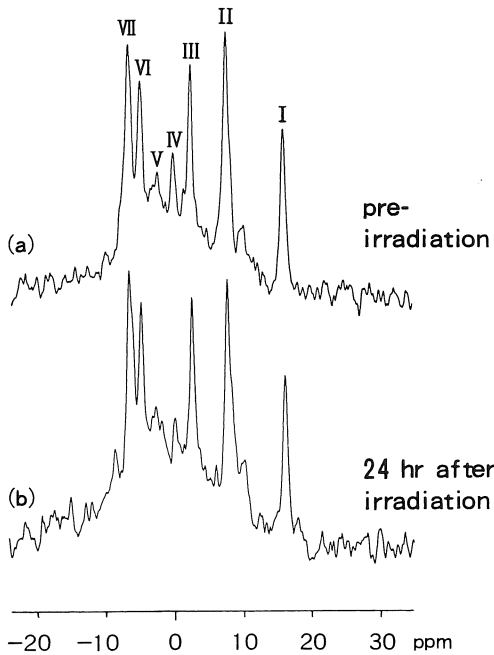


図 5  $^{31}\text{P}$ -NMR spectra in the rat glioma pre- and post RF hyperthermia at a power of 3 watts. There were no changes in the spectrum after 60 minutes irradiation.

示した。RF pulse 照射終了時すでに ATP, PME のピークは大幅に減少し、Pi のピークが著しく増大していた。1 時間後には Pi のみのパターンになった。以後、この Pi のみのパターンは少なくとも 7 日間続いた。この rat では、7 日後に腫瘍を摘出し組織学的検索を行った。RF pulse の到達していると思われる 5~6 mm までの深さの部分は壊死に陥っていた(図 4)。5 watts 以上の 60 分間照射を行った他の rat 9 尾すべてに、同じ  $^{31}\text{P}$ -NMR spectrum 変化が認められた。この中で、RF pulse 照射直後に  $^{31}\text{P}$ -NMR spectrum が Pi のみになった例で、直ちに腫瘍を摘出し、組織学的検索を行ったが特別な変化の所見は認められなかった。

3 watts の RF pulse の 60 分間照射した群では、10 例全例に、照射後も  $^{31}\text{P}$ -NMR spectrum

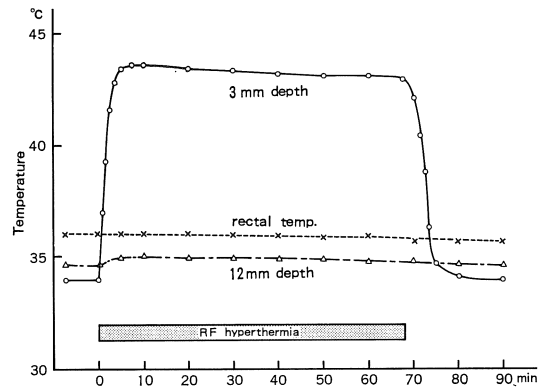


図 6 Changes in the intratumoral temperature during the RF hyperthermia.

Intratumoral temperature 3 mm depth under the skin rose to  $43.5^{\circ}\text{C}$  within a few minutes after the application of RF pulse and this level lasted during the RF hyperthermia. After discontinuing the application of RF pulse, it decreased to the pre-irradiation level within a few minutes.

の変化は認められなかった(図 5)。

### 3 RF hyperthermia 中の腫瘍内温度

5 watts の RF pulse 照射を同一の条件下で行った例の腫瘍内温度の経時変化を図 6 に示した。また同時に、直腸内温度をも測定した。RF pulse を照射すると、皮下 3 mm の部分の腫瘍内温度は直後から上昇し始め、4~5 分後に  $43.5\sim 43.8^{\circ}\text{C}$  の定常状態に達した。照射を中止すると直ちに温度は減じ、5~6 分後に元の温度に戻った。皮下 12 mm の深部では、ほとんど温度の上昇は認められなかった。また、直腸内温度も RF pulse 照射中、上昇は認められなかった。さらに、腫瘍内の温度分布を知るために、RF pulse 照射にて定常状態になった時点で、種々の深さの部分の腫瘍内温度を測定し、図 7 に示した。皮下より 5~6 mm の深さまで  $43^{\circ}\text{C}$  以上になっており、それより深部では急激に温度は低下していった。

3 watts の RF pulse を 60 分間照射した例では、3 mm の深さの腫瘍内温度は  $39^{\circ}\text{C}$  以上には



今回用いた腫瘍では、有効な結果を示した RF pulse の power は 5 watts 以上であり、3 watts 以下では効果はなかった。しかし、3~5 watts の間に関しては、個々の腫瘍によって反応に多様性が生じると推測され、今後の検討が必要である。これには、腫瘍の進行度別の RF 加温に対する反応<sup>10)</sup>、腫瘍の血管床と RF 加温との関係<sup>11)</sup>などが複雑に影響しており、他の研究手段を併用して解決しなければならない問題点であると考えられる。なお、NMR 分光器では、広い範囲の周波数の RF pulse が使える（今回、われわれの用いた装置では 1~200 MHz）ので、どの周波数の RF pulse がもっとも効果的かの判定も可能である。また、RF hyperthermia の研究においては、腫瘍内の pH の変化を知ることが重要である<sup>12~14)</sup>。この理由として、pH が低いと hyperthermia の効果が著しく増強される<sup>12)13)</sup>という事実や、hyperthermia を行えば、組織 pH が低下する<sup>15),16)</sup>という事実があるからである。<sup>31</sup>P-NMR spectrum では、Pi の chemical shift 値から、組織内 pH を知ることができる<sup>2)</sup>。そのため、RF 加温中の問題点である腫瘍内 pH を知ることができる。今回われわれの行った実験系では、RF hyperthermia 前の腫瘍内 pH は  $7.15 \pm 0.07$  (SD., n=20) であったが、RF hyperthermia 後 Pi のみの <sup>31</sup>P-NMR spectrum を示した腫瘍では、pH は  $6.96 \pm 0.10$  (S.D., n=10) と低下を示した。このように *in vivo* <sup>31</sup>P-NMR spectrum 測定によって non-invasive に腫瘍組織内 pH の変化をも知ることができた。

今回の研究では、詳細な分析や実験を充分行えたとはいえないが、少なくとも NMR 装置を用いて有効な RF hyperthermia が行え、かつ同時に、その効果判定を *in vivo* <sup>31</sup>P-NMR spectrum を測定することによって鋭敏に行い得ることを証明し得た。最近では、臨床用 MRI でも、高磁場で稼動する装置が実用化され、多核種の NMR データを得ることが可能となっている。そのため、本

法はこれらの装置にも応用することが可能であり、臨床用として実用化されることが期待できる。

本研究は文部省科学研究費 (No. 59570623, No. 60570677) の助成を受けた。

## 文 献

- 1) J.H. Kim, E.W. Hahn: Clinical and biological studies of localized hyperthermia, *Cancer Res.*, 39: 2258-2261, 1976.
- 2) S. Naruse, K. Hirakawa, Y. Horikawa, et al.: Measurements of *in vivo* <sup>31</sup>P nuclear magnetic resonance spectra in neuroectodermal tumors for the evaluation of the effects of chemotherapy, *Cancer Res.*, 45: 2429-2433, 1985.
- 3) S. Naruse, Y. Horikawa, C. Tanaka, et al.: Observations of energy metabolism in neuroectodermal tumors using *in vivo* <sup>31</sup>P-NMR, *Magnetic Resonance Imaging*, 3: 117-123, 1985.
- 4) 阿部光幸, 平岡真寛: 癌の RF 波加温療法. 癌・温熱療法(柄川 順・編), 篠原出版, 東京, 1982, p. 259-269.
- 5) T.C. Ng, W. Evanochko, R.W. Hiramato, et al.: <sup>31</sup>P-NMR spectroscopy of *in vivo* tumors, *J. Magn. Reson.*, 49: 271-286, 1982.
- 6) M.B. Lilly, T.C. Ng, W.T. Evanochko, et al.: Loss of high energy phosphate following hyperthermia demonstrated by *in vivo* <sup>31</sup>P-nuclear magnetic resonance spectroscopy, *Cancer Res.*, 44: 633-638, 1984.
- 7) T. Budinger: Workshop on RF heating thermophysiology. Newsletter of Society of Magnetic Resonance in Medicine, No. 5, March 1985, p. 2-3.
- 8) W.S. Yamanashi, A.W. Boddie, Jr., J.W. Frazer, et al.: Further observations on tissue heating patterns using an invasive ground probe with radiofrequency hyperthermia system, *Med. Instr.*, 18: 220-223, 1984.
- 9) 平福三吉: 非侵襲的温度測定法. 癌・温熱療法(柄川 順・編), 篠原出版, 東京, 1982, p. 127-

