

3174

拡散強調機能 MRI および¹H-MRS による
肝再生の定量評価に関する基礎的研究

(課題番号 14580806)

平成 14 年度～平成 15 年度科学研究費補助金 (基盤研究(C)(2)) 研究成果報告書

平成 16 年 5 月

研究代表者 田中 邦雄
(旭川医科大学医学部助教授)

は し が き

近年、我国においても脳死肝移植や部分肝移植が行われるようになった。しかし、肝再生の臨床的評価に対しては主として形態学的な肝重量の回復を指標としており、定量的評価法がない現状である。一方、超高速磁気共鳴画像撮像法である single-shot EPI 法が実用化され、細胞内・外液中での水分子のランダムで微小な運動である拡散運動の画像化が可能となり、特に神経放射線診断領域では急性期脳梗塞の診断を中心に広く臨床応用されている。水分子の拡散運動は細胞・組織の構築を反映することが知られている。また、拡散の程度は見かけの拡散係数 (ADC) で表される。したがって、ADC の解析による機能評価への応用が期待される。また、¹H-MRS によれば細胞内エネルギー状態を反映するクレアチン (Cr) やホスホクレアチン (PCr)、細胞膜代謝の前駆物質であるコリン (Cho) などの検出ができる。

本研究では、拡散強調 MRI と ¹H-MRS 計測により肝再生に伴う機能回復の定量的評価の可能性を基礎的に明らかにすることを目的とする。すなわち、部分肝切除ラットを対象に肝再生に伴う拡散強調画像コントラストおよび ADC 値の推移と再生組織構築との関連性、また代謝産物濃度との関連性を観察し、肝再生の機能評価の可能性を基礎的に検討した。

研究組織

研究代表者：田中邦雄（旭川医科大学医学部助教授）

研究分担者：葛西眞一（旭川医科大学医学部教授）

研究協力者：富田一郎（旭川医科大学医学部附属病院助手）

研究協力者：日下部光俊（旭川医科大学医学部技官（技術専門職員））

研究協力者：村上 昇（旭川医科大学医学部附属病院技官（診療放射線技師））

交付決定額（配分額）（金額単位：千円）

| | 直接経費 | 間接経費 | 合計 |
|--------|-------|------|-------|
| 平成14年度 | 2,000 | 0 | 2,000 |
| 平成15年度 | 1,400 | 0 | 1,400 |
| 総計 | 3,400 | 0 | 3,400 |

研究発表

(1) 学会誌等

1. 重光 司、田中邦雄：短期磁界曝露と実験動物の尿中生体アミン変化、
電気学会マグネティックス研究会資料、MAG-03-25：15-20
(2003)
2. T. Kimura, K. Sako, Y. Tohyama, S. Aizawa, H. Yoshida, T. Aburano,
K. Tanaka and T. Tanaka: Diagnosis and treatment of progressive
space-occupying radiation necrosis following stereotactic
radiosurgery for brain metastasis: Value of proton magnetic
resonance spectroscopy, *Acta Neurochirurgica*, 145:557-564 (2003)
3. 千里直之、河野 透、浅間俊之、海老沢良昭、菅原 睦、柏手由里乃、
今村恵美、大澤高陽、葛西眞一：アセトアミノフェン肝障害モデルに
おける誘導型 NO の細胞保護効果の検討、薬理と治療、31：63-
65 (2003)

(2) 口頭発表

1. 日下部 光俊、富田一郎、村上 昇、田中邦雄、葛西眞一：ラット肝
の拡散強調画像計測に関する基礎的検討、第42回日本エム・イー学
会北海道支部大会予稿集、8、平成15年10月4日(札幌)

研 究 成 果

本研究では65%部分肝切除ラットモデルを対象に、肝切除後1週から6週の再生肝の拡散強調画像計測と拡散係数の解析を行い、その推移と病理組織学的な再生組織構築との関連性、また代謝産物濃度との関連性を検討し、肝再生の機能評価の可能性を基礎的に明らかにすることを目的として2年間研究を行った。以下に本研究で得られた成果をまとめる。

実験方法

(1) 実験動物

実験には雄性 Wistar ラット（体重 215 ～230 g）を用いた。部分肝切除モデルとして、図1に示すように左中葉および左側葉と右側葉、右尾葉を切除し、中葉を残す65%肝切除ラットを作成した。麻酔はラット体重1Kg 当たりケタラル 100mg、キシラジン 10mg を腹腔内投与によって行った。無処置コントロール群および部分肝切除後1週群から6週群までの各週数経過群を作成した。

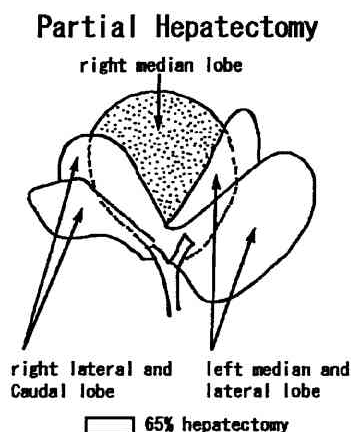


図1 65%部分肝切除

(2) 拡散強調 MRI 計測

実験には臨床用 MRI 装置 (GE 社製 Signa Horizon, 1.5T, version 5.6 software) を用い、直径 85mm のサーフェイスコイルによって撮像した。拡散強調画像 (Diffusion-weighted image:DWI) 計測は Single-shot エコープラナ法 (SE-EPI) によって行った。画素数 64×64、スライス幅 8 mm、FOV10 cm×10 cm とし、ラット体軸断面を撮像した。また、拡散強調の傾斜磁場強度である b 値を 0、100、300、750 および 1,000 sec/mm² とし、X、Y および Z 軸の 3 方向に印加して撮像した。各 b 値に対する信号強度を S(b)、拡散係数を D とすると

$$S(b) = \exp(-b \cdot D) \cdot S(0)$$

で表される。この対数をとると

$$\ln \{S(b)\} = -b \cdot D + \ln \{S(0)\}$$

で表される。この式に各 b 値における信号強度を代入し、回帰直線を用いた直線の傾きとして拡散係数が求まる。ただし、生体では灌流の影響が含まれるので、見かけの拡散係数 (apparent diffusion coefficient : ADC) として扱われる。

ADC の解析は、MRI 装置からオフラインで撮像データを取り込んだ後、医療画像解析ソフトウェア Dr. View/LINUX を用いて行った。

(3) 病理組織標本作成

エーテル麻酔下でラット肝を摘出し、摘出肝を生理食塩水でフラッシュアウトする。肝組織の一部を採取し、10 %ホルマリンで固定し、光学顕微鏡用標本とする。また、残りの肝を 2.5 %グルタルアルデヒドでフラッシュアウト後、採取組織を 2.5 %グルタルアルデヒドで固定し、電子顕微鏡用標本とする。

実験結果

まず、直径 10mm のガラス試料管に封入した脱イオン水とアセトンから成るファントムを対象として、拡散強調画像コントラストおよび ADC 値を求めた。図 2 にファントムとサーフェイスクoilプローブとの位置関係を示す。また、図 3 に b 値を 0 から 1,000 sec/mm^2 まで変えたときのファントムより得られた拡散強調画像を示す。b 値の増加に伴って脱イオン水およびアセトンともに信号強度の低下、すなわち画像コントラストが低下することがわかる。さらに、アセトンの画像コントラストに比べて脱イオン水のコントラストが高いことがわかる。図 4 に示すように、各 b 値に対する画像の信号強度の対数値はほぼ直線的に変化している。この回帰直線の傾きから拡散係数 (ADC) を求めた結果、脱イオン水では $2.07 \times 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{sec}$ 、アセトンでは $3.91 \times 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{sec}$ であった。

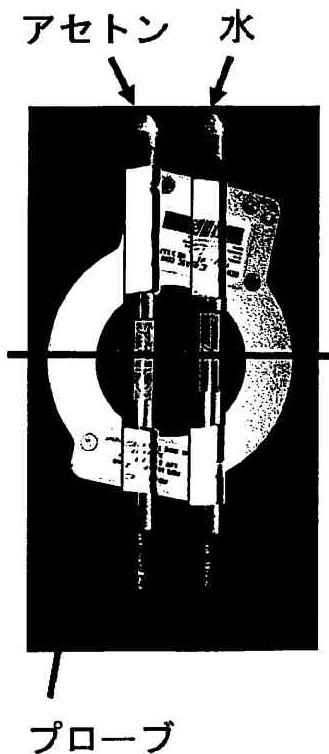


図 2 サーフェイスクoil
プローブとファントム

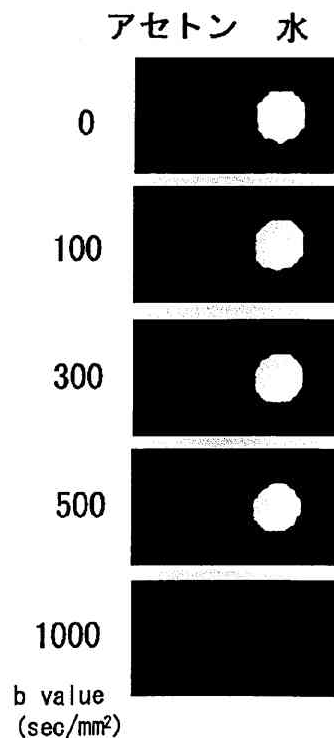


図 3 ファントムによる拡散強調画像

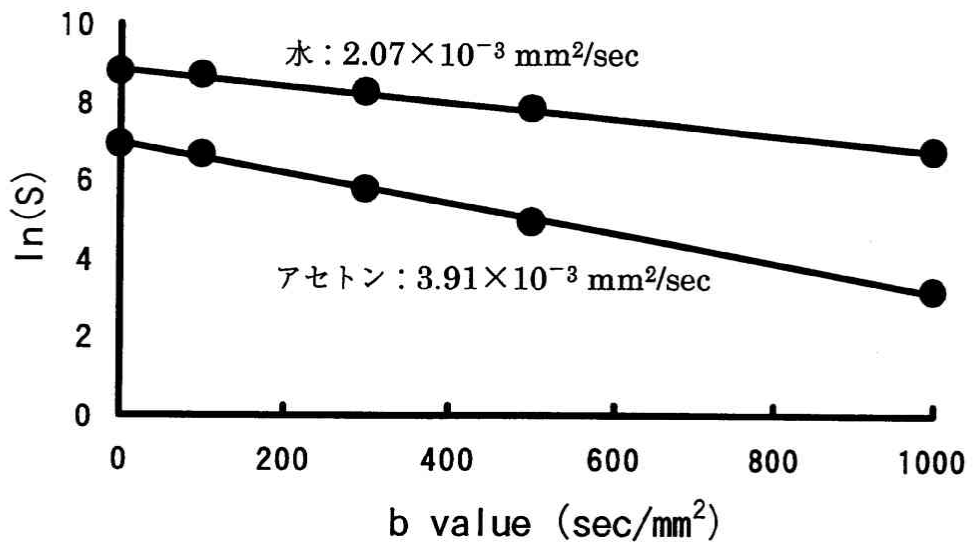


図4 水とアセトンの拡散係数

次に、肝臓を含むラット体軸断面における拡散強調画像測定のためのラットとサーフェイスプローブとの配置を図5に、また得られた画像の一例を図6に示す。

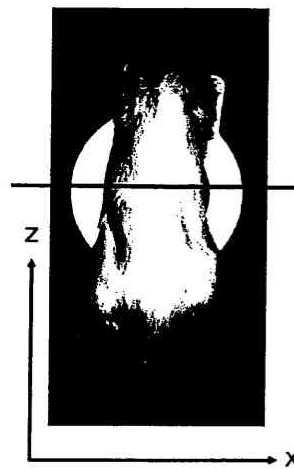


図5 ラットとプローブとの位置関係

各b値に対して拡散強調用傾斜磁場を水平方向(X)に与えた画像、垂直方向(Y)に与えた画像、体軸方向(Z)に与えた画像およびX,Y,Zの合成画像(CMB)を示す。各方向ともにb値の増加に伴う画像コントラストの低下が観察される。

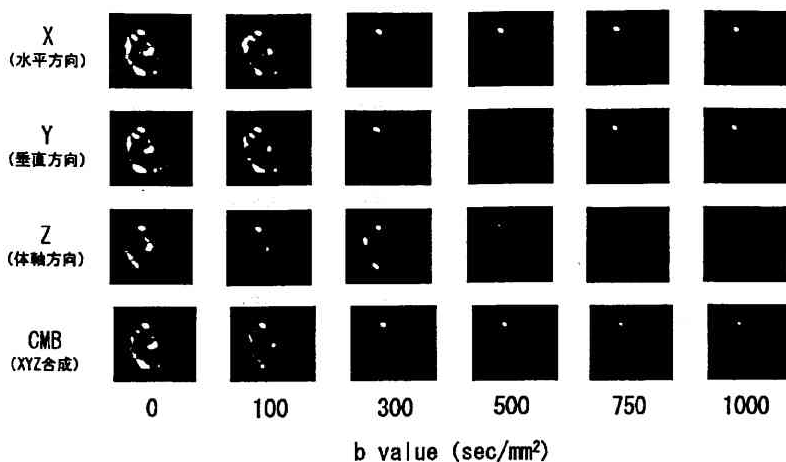


図6 正常ラット肝臓の拡散強調画像例

また、拡散強調画像から ADC 値を解析する際の肝画像上での最適な ROI の大きさを検討した。図7に示す体軸断面像上の肝に直径 10 mm の ROI、およびこれに内接する直径 3.125 mm の ROI 5ヶ所を設定してそれぞれにおける ADC 値を解析した。ラット肝における ADC 値解析のための回帰直線および各 b 値に対する拡散強調画像 (CMB 画像) を図8に示す。ファントムの場合と同様、各 b 値に対する画像の信号強度はほぼ直線的に変化していることがわかる。

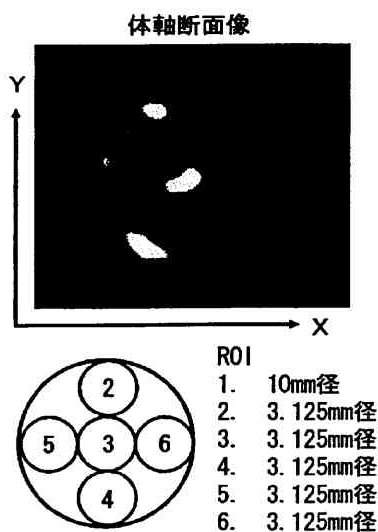


図7 ラット肝におけるROIの設定

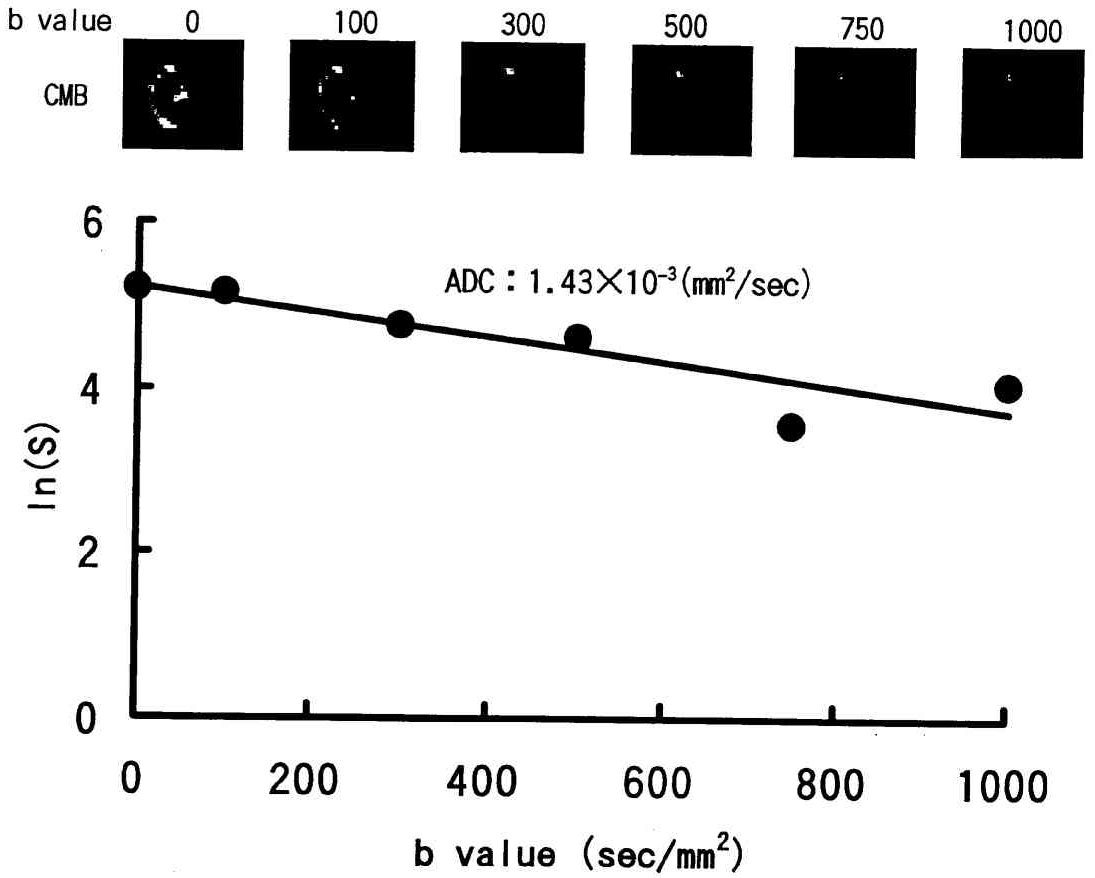


図8 拡散強調画像（CMB 画像）と拡散係数

表1に拡散強調傾斜磁場をX,Y,Z方向に印加したときの各ROIにおけるADC値、およびX,Y,Z合成画像上で求めたADC値の一例を示す。

| | 1 (10.0mm) | 2 (3.125mm) | 3 (3.125mm) | 4 (3.125mm) | 5 (3.125mm) | 6 (3.125mm) |
|-----|---------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|
| X | 1.28 | 1.37 | 0.96 | 1.28 | 1.59 | 1.00 |
| Y | 1.24 | 1.30 | 1.22 | 1.24 | 1.23 | 1.12 |
| Z | 1.48 | 1.64 | 1.61 | 1.26 | 1.54 | 1.43 |
| CMB | 1.43 | 1.58 | 1.35 | 1.31 | 1.56 | 1.28 |

表1 各ROIにおけるADC値 $\times 10^{-3} (\text{mm}^2/\text{sec})$

ROIの大きさが3.125 mmのROI 2～ROI 6におけるADC値にはバラツキが見られる。これに対して、直径10 mmのROI 1ではX,Y,Z方向におけるADC値に大差はなかった。また、3軸方向の合成画像CMB上でのROI 1のADC値はROI 2～ROI 6のADC値のほぼ平均的な値を示す。これらの結果に基づき、ラット肝のADC解析は直径10 mmのROIのもとで行った。表2に無処置正常ラット肝(N=5)のADC値を求めた結果を示す。

| | rat1 | rat2 | rat3 | rat4 | rat5 | Mean ± SD |
|-----|------|------|------|------|------|-----------|
| X | 1.28 | 1.86 | 1.25 | 1.32 | 2.08 | 1.56±0.34 |
| Y | 1.24 | 2.38 | 1.15 | 1.38 | 1.83 | 1.60±0.46 |
| Z | 1.48 | 1.96 | 2.17 | 1.29 | 1.53 | 1.69±0.33 |
| CMB | 1.43 | 2.18 | 1.62 | 2.04 | 1.99 | 1.85±0.28 |

表2 無処置ラット肝におけるADC値 $\times 10^{-3}(\text{mm}^2/\text{sec})$

拡散強調傾斜磁場方向の違いによるADC値に有意な変化は認められず、肝のADC値は傾斜磁場印加方向には依存しなかった。XYZ合成画像における正常ラット肝のADC値の平均値および標準偏差値は $(1.85 \pm 0.28) \times 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{sec}$ であった。

次に、65%部分肝切除後1週から6週経過ラットを対象に再生肝のADC値の推移を検討した結果を図9に示す。肝切除後1週目以降で無処置コントロール群のADC値に比べて低値を示した。また、各週数経過群間でのADC値に差異は認められなかった。

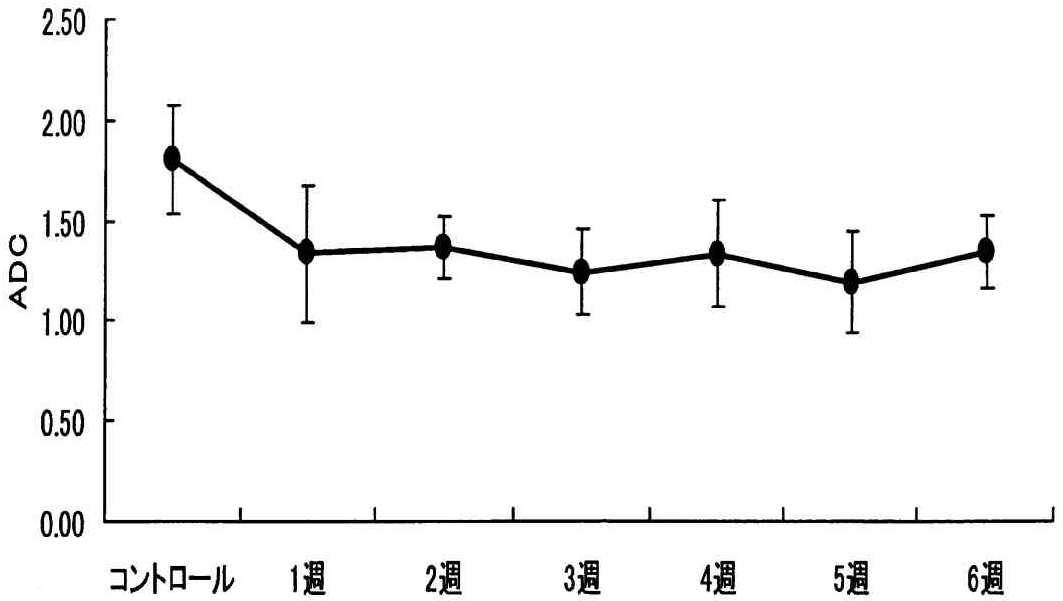


図9 部分肝切除前後でのADC値の推移

図10に肝切除後の各週数における摘出残存肝の重量の推移を示す。肝切除1週目で残存肝の重量は無処置コントロールラットの肝重量レベルに回復していることがわかる。

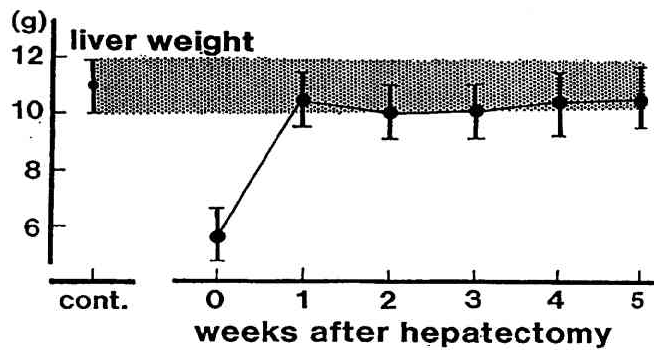


図10 残存肝重量の推移

次に、図11～図14に無処置ラット肝および部分肝切除後1週、4週および8週経過ラットから摘出した再生肝の組織電子顕微鏡像(×4,000)を示す。



図 11 無処置ラット肝組織像



図 12 肝切 1 週経過再生肝の組織像



図 13 肝切 4 週経過再生肝の組織像



図 14 肝切 8 週経過再生肝の組織像

考察

まず、脱イオン水とアセトンから成るファントムを対象に拡散強調画像計測を行い、得られた撮像データをオフラインでADC解析システムに取り込みADC値を求めた。脱イオン水で $2.07 \times 10^{-3} \text{mm}^2/\text{sec}$ 、アセトンで $3.91 \times 10^{-3} \text{mm}^2/\text{sec}$ と既報のADC値とほぼ一致しており、本システムの測定精度が妥当なことを確認した。

腹部臓器を対象とした拡散強調MRIでは心拍動や呼吸による motion artifact が大きな問題である。しかし、超高速撮像法である EPI (Echo-planar imaging) 法に依れば 20ms 程度で1枚の撮像が可能となり、motion artifact は大幅に軽減された。一方、頭部はともかく腹部に適用する場合は息止めや呼吸同期によって撮像されることが多い。しかし、これらの手法を動物に適用することは不可能である。そこで、本研究では motion artifact を避けるために心臓と横隔膜からできるだけ離れた位置における体軸断面を選定した。

これまでに報告されたヒト正常肝におけるADC値は、拡散強調傾斜磁場強度の大きさによって異なり ($0.69 \sim 2.28 \times 10^{-3} \text{mm}^2/\text{sec}$ と幅が大きい。現時点でラット肝のADC値の報告は見当たらないが、本研究で得た正常ラット肝のADC値は $(1.85 \pm 0.28) \times 10^{-3} \text{mm}^2/\text{sec}$ であり、上記ADC値の範囲内であった。また、Chanら (Abdominal Imaging, 26:161-165 (2000)) によればヒト正常肝実質のADC値は $(1.98 \pm 0.37) \times 10^{-3} \text{mm}^2/\text{sec}$ と、本測定値と比較的よい一致を示している。一方、部分肝切除後の残存肝のADC値は1週目以降で正常ラット肝のADC値よりも低値を示した。図11~図14に示した再生肝の組織像からわかるように、部分肝切除後肝細胞の核の腫大化、核小体の肥大化が起きている。すなわち、再生肝は残存肝葉の代償性肥大である。脳梗塞超急性期には細胞性浮腫が生じ、これによって細胞間隙が狭小化されて拡散係数が低下

することが知られている。従って、再生肝における ADC 値の低下は部分肝切除後の残存肝の代償性肥大に伴う拡散の低下を反映しているものと考えられる。