

外部基準にシクロヘキサンを用いた ¹Hスペクトロスコピーの定量化

前田 尚利¹⁾ 滝 一郎¹⁾ 安藤 容子¹⁾ 松島 秀²⁾

1)名古屋第一赤十字病院放射線科

2)愛知がんセンター放射線治療部

Quantification of Brain Metabolites by ¹H Spectroscopy Using Cyclohexane as an External Reference

Hisatoshi Maeda¹⁾, Ichirou Taki¹⁾, Yoko Ando¹⁾
and Shigeru Matsushima²⁾

We tested the reliability of quantifying brain metabolite concentrations by MR spectroscopy. We employed a PRESS sequence and used a cyclohexane sample as an external standard.

The signal intensity ratios of water and cyclohexane were measured by changing the geometrical arrangement of the cyclohexane sample and water phantom with various loading factors of the coil. Choline (Cho) concentrations were calculated from the signal intensity ratios of Cho and water and compared with actual Cho concentrations (1.0 to 2.6 mmol/L). The brain metabolites Cho, creatine/phosphocreatine (Cr/PCr) and N-acetylaspartate (NAA) were evaluated in five normal volunteers and six patients with metastatic brain cancer before (0 Gy), after 20 Gy and after 40 Gy of whole brain radiotherapy.

Variation in the ratio of spectrum intensity between water and cyclohexane was less than 1.5% for various geometrical arrangements and loading factors. The error in quantification of Cho concentrations in the phantom study was 0.05 ± 0.10 mmol/L. The concentrations measured in the volunteers were: Cho 1.6 ± 0.4 mmol/L, Cr/PCr 6.4 ± 1.1 mmol/L and NAA 8.2 ± 0.1 mmol/L. There was no significant difference ($p > 0.05$) in these concentrations between the control group and the patients before, during, or after radiotherapy.

Research Code No. : 209.2

Key words : MR spectroscopy, Quantification

Received Jun. 6, 1995; revision accepted Sep. 6, 1995

1) Department of Radiology, Nagoya First Red Cross Hospital

2) Department of Radiation Oncology, Aichi Cancer Center

はじめに

¹Hスペクトロスコピー(magnetic resonance spectroscopy; MRS)の臨床応用が可能になり、脳内のコリン(choline; Cho)、クレアチン/クレアチンリン酸(creatine/phosphocreatine; Cr/PCr)、N-アセチルアスパラギン酸(N-acetylaspartate, NAA)のほかに、ミオイノシトール(myoinositol)、ブドウ糖(glucose)、乳酸(lactate)などの測定が行われている¹⁾⁻⁷⁾。悪性腫瘍⁸⁾⁻¹¹⁾、変性遺伝性疾患^{2), 3), 12), 13)}、代謝性疾患⁴⁾⁻⁶⁾、老人性痴呆^{7), 14)-16)}などの鑑別診断や病態解析、脳発育^{2), 17)-19)}の研究応用にも期待が大きい。

半定量化法として信号強度比を用いる方法^{2), 3), 8)-11), 14)-16)}が一般的であるが、信号強度は緩和時間 T1, T2 の関数であり、施設により異なる繰り返し時間(TR)やエコー時間(TE)を用いるため、施設間でのデータ比較は容易ではない。

この欠点を補うために基準信号を用いて絶対濃度を測定する方法がある。内部基準を用いる方法では、脳内の水分²⁰⁾⁻²²⁾、または代謝物(おもにCr/PCr)の濃度²³⁾が一定であると仮定して各代謝物の定量化を行う。

外部基準を用いる方法^{8), 24)-27)}では、水、テトラメチルシラン(tetramethylsilane, TMS)誘導体の重水溶液、TMSの誘導体等が用いられる。他の化学物質としてはアセトン(acetone)、クロロフォルム(chloroform)、シクロヘキサン(cyclohexane)等が考えられる(Table 1)。共鳴周波数が水、Cho, Cr/PCr, NAAから離れていること、基準となるスペクトルが多重線ではないこと、共鳴に寄与する単位体積中の水素原子密度が大きいこと、かつ安全で取り扱いが容易であることが望ましい。これよりわれわれはシクロヘキサンを外部基準信号源として選び、使用可能であるかどうか検討した。

外部基準を使用した場合、コイル負荷(loading factor)を変えたり、外部基準サンプルの位置を変えることにより信号強度が変化する。そこで水対シクロヘキサンの信号強度比をコイル負荷、外部基準サンプルの位置を変えて測定し、外部基準信号源としての信頼性について検討した。次に既知濃度のコリン水溶液を用いたファントム実験を行い、ガウス曲線近似、ローレンツ曲線近似、積分法の3種類の方法

Table 1 Chemical substances for an external reference

	chemical shift (δ)	molecular weight	specific gravity	number of H	relative number of H	boiling point	toxicity
Water	4.7	18	1	2	1.00	100	-
TMS and its derivatives	0.00	88~220	0.5~1.0	9~12	0.3~0.9	26	-
Cyclohexane	1.43	84	0.78	12	1.00	81	\pm
Toluen	2.02	92	0.87	3	0.26	110	++
Acetone	2.11	58	0.79	6	0.74	57	+
Benzene	2.13	78	0.88	6	0.61	80	\pm
Chloroform	7.33	119	1.49	1	0.11	61	++

TMS: Tetramethylsilane. δ is given in unit of PPM.

Number of H: Number of H atoms per molecule that contributes to the H spectrum.

Relative number of H: Number of hydrogen atoms per unit volume normalized to that of water.

Boiling point is given in unit of degrees centigrade.

Toxicity: -indicates that the substance is safe, \pm indicates irritable, + indicates toxic and ++ indicates highly toxic.

でスペクトルの信号強度から濃度を計算し、実際の濃度と比較した。

健常者および転移性脳腫瘍の放射線療法の前(0Gy), 20Gy, 40Gy終了後について, Cho, Cr/PCr, NAAの濃度, T2緩和時間等の*in vivo*測定を行ったので報告する。

方法と対象

シクロヘキサン(Cyclohexane, 純度99%以上, 片山化学工業, 大阪)で内径5cm長さ12cmの円筒形プラスチック容器を満たし外部基準サンプルとした。シクロヘキサンは常温で液体の物質で, 化学シフトは $\delta = 1.43$ PPM, 水との共鳴周波数の差は1.5Tのシステムでは約210Hzである。内径7cm高さ14cmの500mlのガラス容器に蒸留水と, T1緩和時間を短縮する目的で硫酸銅を約2~3mmol加えたものを3本用意し水ファントムとした。コリン(Choline, 50%水溶液, ナカライテスク, 京都)を蒸留水で希釈し, T1緩和時間を短くする目的で硫酸銅を約2~3mmol加えた。このときアルカリ性になって銅化合物の沈殿が生ずるので, 氷酢酸を0.1~0.4ml加えて沈殿物を溶かし, 4種類の濃度(1.0, 1.6, 2.1, 2.6 mmol/L)をもつコリンファントムを, 水ファントムと同型のガラス容器を用いて作製した。

*In vivo*測定の対象は健常者5人(男3人女2人, 平均26 \pm 1歳, range 25~28歳), 転移性脳腫瘍の患者6人(肺がん5例, 乳がん1例, 男4人女2人, 平均60 \pm 11歳, range 52~79歳)である。使用機器は1.5 T超伝導MRI/Sシステム(Signa V4.8, GE Medical Systems, Milwaukee, Wisconsin), パードケイジ型ヘッドコイル(Quad Head Coil, GE Medical Systems, Milwaukee, Wisconsin)である。

水, シクロヘキサンのデータ収集

1個から3個の水ファントムをヘッドコイル(内径30cm)に, 中心軸がヘッドコイルの中心軸から7cm以内にくるよう

に, B_0 磁場と平行に設置した。シクロヘキサンサンプルを, 水ファントム外側にヘッドコイルエレメントとの間に少なくとも2cmの間隙が保たれるように, 磁場と平行に設置した。コイル負荷を変える目的で, 高さ18cm, 外径24cm, 内径18cmの同心円の円筒に挟まれた部位に塩化ニッケル水溶液の入ったローダ(Head SNR Phantom, GE, Milwaukee, Wisconsin)を用いた。ローダの軸を B_0 磁場と平行に設置し, 円筒内部に1個又は2個の水ファントムとシクロヘキサンサンプルを B_0 磁場と平行に設置した。実験は日を代えて1日に1回, 水ファントムの個数, および水ファントムとシクロヘキサンの配置を変化させて, ローダを用いた場合と用いない場合の2種類の負荷の状態では, それぞれ4回ずつ合計8回行った。

23 \times 23 \times 23mm³の領域(voxel of interest, VOI)を位置決め画像を用いて水ファントムの中心にとり, PRESS (PROBE.P)法自動モードにて, 中心周波数, 励起出力利得(transmission gain, TG), 受信感度(receiver gain, RG)を調整し, シミング, 水抑制パルス(CHES pulse)の最適化²⁸⁾を行った後, 水抑制パルスを外してデータ収集を行った。パラメータは, サンプリング周波数=2500 Hz, サンプリングポイント=2048とした。最初に水のスペクトルを6000/70, 135, 270/4 (TR/TE/excitations)の3点で収集した。つぎにVOIをシクロヘキサンサンプルの中心に移動し, 中心周波数, TG, RGを変えず大きさのみを6 \times 6 \times 6mm³に変更し, シクロヘキサンのスペクトルを6000/70, 135, 270/4の3点で収集した。

コリンファントムデータ収集

1個から3個のコリンファントムを, 中心軸がヘッドコイルの中心軸から7cm以内にくるよう B_0 磁場と平行に設置した。コイル負荷を変えるためにローダを用いた場合と用いない場合について, 1日に1回, それぞれ2回ずつ実験を行った。

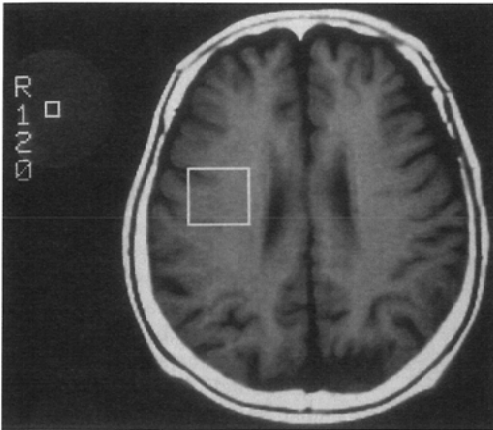


Fig.1 T1-weighted axial localizer image. One voxel of interest (VOI) on the centrum semiovale with a size of $23 \times 23 \times 23 \text{ mm}^3$ and another VOI of $6 \times 6 \times 6 \text{ mm}^3$ on the cyclohexane sample on the right side of the examinee were selected.

$23 \times 23 \times 23 \text{ mm}^3$ のVOIをコリンファントムの中心にとり、PRESS 法自動モードにて中心周波数、TG、RG、水抑制パルスを調節した後、コリンスペクトルを6000/70、135、270/32の3点で、つぎに中心周波数、TG、RGを変えず水抑制パルスを外して、水のスペクトルを6000/70、135、270/4の3点で収集した。

In vivo データ収集

シクロヘキササンサンプルを被験者の右側頭部に長軸が B_0 磁場と平行になるように設置した。シクロヘキササンサンプルの径が5cmと大きいのでヘッドコイルのエレメントと接触する場合には、コイルエレメント近傍での感度の不均一性を考慮して、サンプルとエレメントとの間にウレタン片をいれ、両者の間の距離ができれば限り2cm以上になるようにした。また脳室、脳脊髄液からの動きによるアーチファクトを避けるため、VOI設定に際しては上下2スライスを参考にして、VOIが側脳室にかからぬように壁面から5mmの距離をおいて、また脳表からはみ出して頭蓋骨にかからないように、 $23 \times 23 \times 23 \text{ mm}^3$ のVOIを右の半卵円中心上に設定した(Fig.1)。PRESS 法自動モードにて、中心周波数、TG、RG、水抑制パルスを設定した後、6000/70、135、270/32の3点でデータ収集を行った。つぎに水抑制パルスを外して、脳内の水のシグナルを6000/70、135、270、500/4、6000/1000/6、6000/1500/8の6点でデータ収集した。最後にVOIをシクロヘキササンサンプルの中心に移動し、中心周波数、TG、RGを変えることなく、大きさのみを $6 \times 6 \times 6 \text{ mm}^3$ に変更したのち、シクロヘキササンのスペクトルを6000/70、135、270/4の3点で収集した。1検査あたり約45分で終了した。

転移性脳腫瘍患者では正常部位からデータ収集をするために、右頭頂葉に転移がある場合や浮腫が存在する場合は左頭頂葉にVOIを設定した。測定は患者本人の承諾を受け、MR画像検査と同日に行った。放射線照射の2から5時間後に測定を行ったが、患者によってはその間に食事をとったり、脳浮腫をとるためのグリセオールを投与した場合もあった。放射線照射は週5回、1回2Gyで、照射前(0Gy)、照

射中(20Gy)、照射後(40Gy)の計3回測定を行った。

ファントムデータ処理

スペクトルデータをワークステーション(Sun 3/260, Sun Microsystems Inc., Raleigh, North Carolina)に移し、4096ポイントまでの0挿入(zero-filling)、2Hzの指数関数の掛け合わせ(apodization)、フーリエ変換(fast Fourier transform)をした後に、肉眼で基線がスペクトルの左右で対称になるようにモニタ上で0次の位相合わせを行った。水、シクロヘキササンについてはバックグラウンドの補正は施さなかったが、コリンについては起点と終点を傾きを1次の直線で近似し、スペクトルから引いてバックグラウンド補正を行った。スペクトル信号強度としてスペクトルの面積(area under the peak)を用い、算出にはガウス曲線近似、ローレンツ曲線近似、積分法の3つの異なる方法を使用した。ガウス曲線、ローレンツ曲線近似による算出にはSA/GE(GE, Milwaukee, Wisconsin)のプログラムによる自動算出を、積分法では起点と終点をマウスを用いて入力し算出した。スペクトルの半値幅(FWHM, full width at half maximum)はピーク値の1/2の高さにおけるスペクトルの幅から求めた。

In vivo データ処理

水およびシクロヘキササンのスペクトルデータ処理は、ファントム実験のデータ処理と同様に行った。

Cho、Cr/PCr、NAAのスペクトルは、zero-filling、apodization、フーリエ変換をしたのち、0次、および1次の位相合わせをDISPA法²⁹⁾にて調整角が0に近くなるまで数回くり返した。それぞれのピークに対しガウス曲線近似を行い、0.95をかけ、もとのスペクトルより引き算をした後、25ポイントの平均化を行いベースラインを求めた。ベースラインをもとのスペクトルより引くことにより、バックグラウンド処理を施したスペクトル(Fig.2)を得た。スペクトル信号強度は健常人に対しては、ガウス曲線近似法および積分法で、全脳照射患者の症例については、積分法で求めた。積分法では各スペクトルの起点終点をモニタより入力した。

計算処理

水、シクロヘキササンのファントム実験で得られたそれぞれのスペクトルの信号強度を対数変換した後、最小二乗法を用いて水 $23 \times 23 \times 23 \text{ mm}^3$ のVOI中の6000/70、135、270の3点からの信号強度の $TE=0$ における外挿値(U_{H_2O})と、シクロヘキササン $6 \times 6 \times 6 \text{ mm}^3$ のVOIからの信号強度の $TE=0$ における外挿値($U_{\text{cyclohexane}}$)を求めた。これより、水対シクロヘキササンの信号強度比を式

$$R_{H_2O/\text{cyclohexane}} = U_{H_2O}/U_{\text{cyclohexane}} \cdots \cdots (1)$$

を用いて計算し、この値の平均値をin vivoの定量計算に用いた。

コリンファントム実験については、スペクトルの信号強度を対数変換し、6000/70、135、270の3点のデータから $TE=0$ に外挿されたコリン信号強度(U_{Cho})と水信号強度(U_{H_2O})をもとめ、次式^{20)、22)}でコリン濃度を計算した。

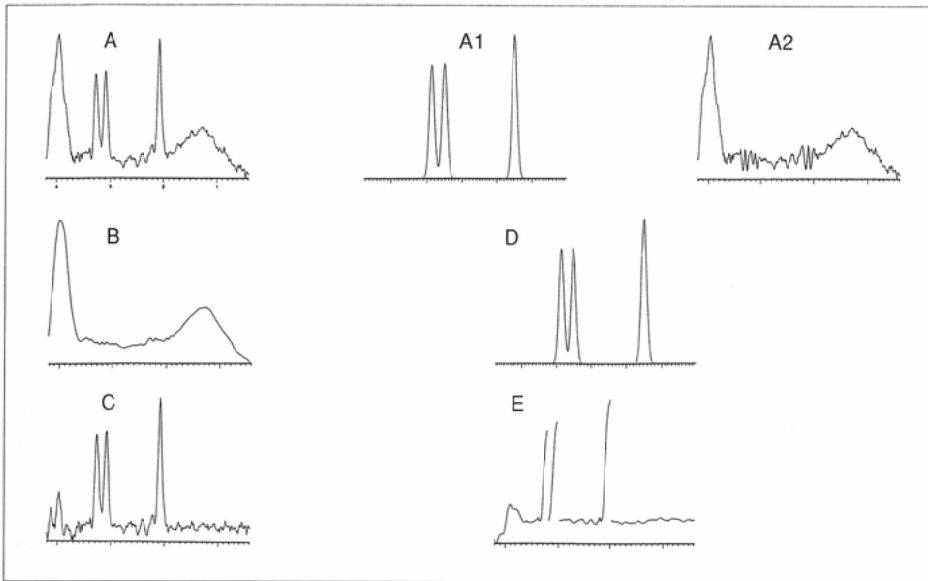


Fig.2 Baseline correction of the spectrum. Spectrum A is obtained after zero-filling, apodization, Fourier transform and phase adjustment. Three peaks, each corresponding to the Cho, Cr/PCr and NAA peaks, were approximated by Gaussian curves (A1). These Gaussian curves (A1) were multiplied by 0.95, and were subtracted from the spectrum A, yielding the background (A2). After 25 points averaging, the filtered background B was obtained from the background A2. The baseline-corrected spectrum (C) was obtained after subtracting the spectrum B from A. The signal intensity (area under the peak) was evaluated by Gaussian curve approximation (D) or by integration (E).

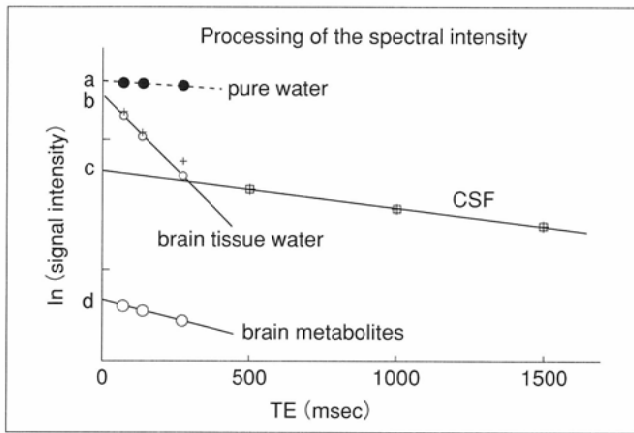


Fig.3 Data processing of the *in vivo* spectrum intensities. A hypothetical signal intensity from pure water was extrapolated to TE = 0 using the signal intensity of the external reference (cyclohexane). a is equal to U_{H_2O} in Eq. (2) in the text. The water signal detected from a localized volume in the human brain consists of the signals from the brain tissue water and cerebrospinal fluid (CSF). The double-exponential decay of the water signal (cross) was measured by varying the echo time. The signal intensities for brain tissue water and CSF were extracted with a standard least-square fitting procedure. The single-exponential decay of the signal of the brain metabolite was also measured by varying the echo time. a, b, c, and d indicate the values of extrapolated signal intensity to TE = 0 of the pure water, brain tissue water, CSF, and brain metabolite, respectively.

$$C_{Cho} = 55.6 \frac{2}{9} \frac{U_{Cho}}{U_{H_2O}} \text{ mol/L,}$$

55.6は1L中の水のもル濃度で、2/9は水とコリンの1分子中のメチル基の共鳴スペクトルに寄与する水素原子数の比である。

*In vivo*測定においては、シクロヘキサン $6 \times 6 \times 6 \text{mm}^3$ のVOIからの信号強度のTE=0における外挿値($U_{\text{cyclohexane}}$)を求め、前述の方法で得た水対シクロヘキサン信号強度比の平均値を用いて、 $23 \times 23 \times 23 \text{mm}^3$ のVOIに相当する水の信号強度(a, Fig.3)を

$$U_{H_2O} = \bar{R}_{H_2O/cyclohexane} \times U_{\text{cyclohexane}} \dots (2)$$

より計算した。 $\bar{R}_{H_2O/cyclohexane}$ は式(1)で得られた水対シクロヘキサン信号強度比の平均値である。

脳内水分の信号強度を2つの指数関数の和に分け、それぞれの成分のTE=0に外挿された信号強度を脳組織内含有水(b, brain tissue water), 脳脊髄液(c, CSF)の信号強度とした(Fig. 3)²⁵⁾。aは $23 \times 23 \times 23 \text{mm}^3$ の純水(pure water)に相当する信号強度に等しく、c/aはVOIの設定された部位における単位体積あたりの脳脊髄液の占める割合で、 $100c/a$ はパー

セント萎縮率(atrophy index)²⁵⁾と呼ばれている。(a-c)は $23 \times 23 \times 23 \text{mm}^3$ のVOI内に存在する脳組織の体積を水で置き換えたときのTE=0における信号強度(S_{H_2O})である。 $100b/(a-c)$ は脳組織内の水分含有量をパーセントで表したものである。

Cho, Cr/PCr, NAAの濃度はTE=0に外挿したときの信号強度($S_{Cho}, S_{Cr/PCr}, S_{NAA}$)から以下の式で与えられる^{20), 22)}。

$$C_{Cho} = 55.6 \frac{2}{9} \frac{S_{Cho}}{S_{H_2O}} \text{ mol/L,} \dots (3),$$

$$C_{Cr/PCr} = 55.6 \frac{2}{3} \frac{S_{Cr/PCr}}{S_{H_2O}} \text{ mol/L,} \dots (4),$$

$$C_{NAA} = 55.6 \frac{2}{3} \frac{S_{NAA}}{S_{H_2O}} \text{ mol/L,} \dots (5),$$

2/3は水分子中の水素原子数とCr/PCrおよびNAA分子中のメチル基の共鳴スペクトルに寄与する水素原子数の比である。

T2値は直線の傾きから求めた。データ処理と計算処理にかかる時間は一人当たり20分であった。

統計処理

ファントム実験におけるガウス曲線近似法, ローレンツ曲線近似法, 積分法による値の統計的な差の検定, および

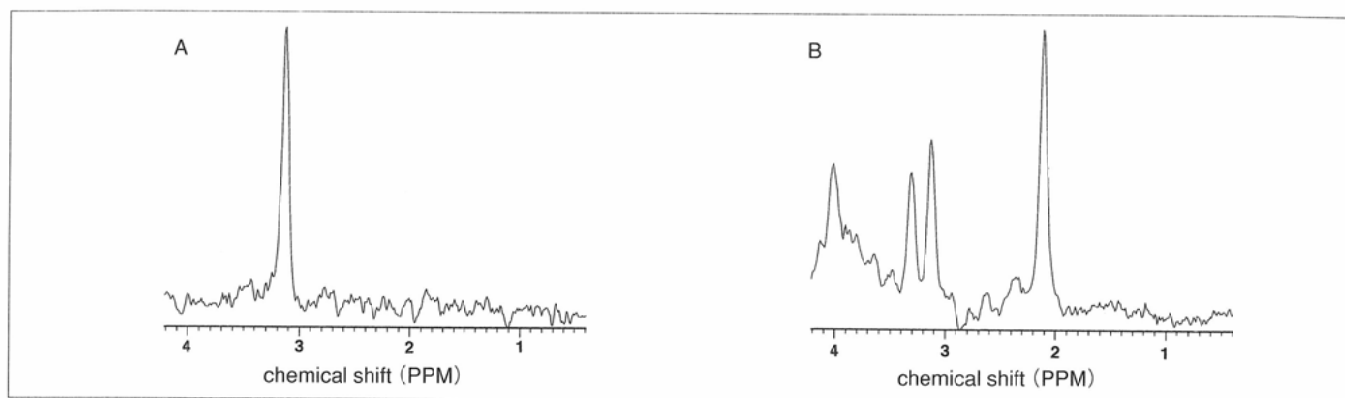


Fig.4 Choline spectrum in phantom study and metabolite spectrum in *in vivo* study. A is the spectrum of choline in a 1.0 mmol/L choline solution. B is the *in vivo* ^1H spectrum from a 25 year-old female volunteer. These spectra were obtained with acquisition parameter 6000/135.

健常人におけるガウス曲線近似法、積分法による値の統計的な差の検定には t 検定 (paired t test, double sided) を、放射線治療中の代謝物濃度の変化については分散分析 (repeated measures: ANOVA, one way analysis of variance) を、健常人の間との統計的な差については Wilcoxon の順位和検定を用いた。

結 果

ファントム実験では、水とシクロヘキサンのスペクトルの FWHM はそれぞれ 4.9 ± 1.1 Hz (range 2.7~6.5 Hz), 8.7 ± 2.2 Hz (range 5.7~12.5 Hz) であった。水のスペクトルではガウス曲線近似からの、シクロヘキサンのスペクトルではローレンツ曲線近似からのずれが大きかった。水、シクロヘキサンについては信号雑音比 (S/N) が良好でバックグラウンド補正は必要なかった。

水対シクロヘキサンの信号強度比を求めるファントム実験において、ヘッドコイルの中心軸から水ファントムの中心までの距離は、 5.0 ± 2.4 cm (range 3.1~8.4 cm) であった。またヘッドコイルの中心軸からシクロヘキサンサンプルの中心までの距離は 9.7 ± 3.2 cm (range 3.6~12.3 cm) であった。In vivo 測定時のシクロヘキサンサンプルの中心はヘッドコイルの中心軸から 10.8 ± 1.5 cm (range 8.6~12.5 cm) であった。

ローダの有無、水ファントムとシクロヘキサンサンプルの位置関係にかかわらず式 (1) より計算した $R_{\text{H}_2\text{O}/\text{cyclohexane}}$ の値はほぼ一定で、ガウス曲線近似法、ローレンツ曲線近似法、積分法でそれぞれ 58.8 ± 0.9 , 60.0 ± 1.2 , 64.5 ± 0.9 ($n = 8$) であった。ガウス曲線近似法とローレンツ曲線近似法との間には統計的有意差はないものの、これら 2 法と積分法の間には有意差 ($p < 0.005$) があった。これらの値を用いて、シクロヘキサンの T1 値はそれぞれ 1.9 sec, 2.2 sec, 2.9 sec と計算された。

コリンファントム実験におけるコリンのスペクトルと *in vivo* 測定における脳の代謝物のスペクトルを Fig.4 に示した。In vivo における Cho, Cr/PCr, NAA, 水およびシクロヘキサンのスペクトルの FWHM はそれぞれ、 4.8 ± 0.5 Hz

(range 4.0~5.6 Hz), 5.1 ± 0.7 (range 4.2~6.6), 4.7 ± 0.8 (range 3.6~6.2), 4.8 ± 0.9 (range 3.4~6.4), 13.1 ± 1.8 (range 10.7~15.9) であった。Fig.5 に脳内の水, Cho, Cr/PCr, NAA の信号強度の TE による変化の代表例を示した。化学的定量によるコリン濃度と、MRS による測定濃度の関係を Fig.6 に示す。実線は一致直線 ($y = x$) である。一致直線からのずれは、ガウス曲線近似法、ローレンツ曲線近似法、積分法でそれぞれ 0.29 ± 0.14 mmol/L, 0.35 ± 0.28 mmol/L, 0.05 ± 0.10 mmol/L と、積分法が他の 2 法に比べ、より一致直線に近かった ($P < 0.005$)。

ガウス曲線近似法と積分法を用いた健常人の Cho, Cr/PCr, NAA 濃度, T2 緩和時間, 脳内水分含有量, パーセント萎縮率の MRS による *in vivo* 測定結果を Table 2 に示した。ファントム実験と同様に, Cho, Cr/PCr, NAA 濃度については、ガウス近似法が積分法よりも大きな数値を与える傾向があったが、水分含有量は逆に小さな値を示した。ガウス曲線近似法と積分法の間には統計的な有意差はみられなかった。

Fig.7 に全脳照射 6 例の 0Gy, 20Gy, 40Gy における Cho, Cr/PCr, NAA の濃度変化の *in vivo* 測定結果を示した。放射線照射中の濃度変化、または正常例との濃度差も統計的には認められなかった ($p > 0.05$)。

Fig.8 にそれぞれの代謝物の T2 値を示した。NAA の T2 値については 0Gy, 20Gy の値が正常例との間に有意差 ($P < 0.05$) が認められたものの、その他の T2 値については放射線照射中の変化、および正常例との間に統計的な差は認められなかった。

考 察

MRS による定量化を行う場合、絶対濃度を知ることが望ましい。内部基準を用いる方法では脳内の水が比較的良好に使われる²⁰⁾⁻²²⁾。今回の健常人の測定においても脳組織内の水分含有量は積分法で $61 \pm 3\%$ と比較的一定であり、充分基準信号として用いることができると考えられる。しかしながらわれわれの経験では幼児、放射線による全脳照射後、グリセロール投与後などでは水分量は 85% から 50% まで変

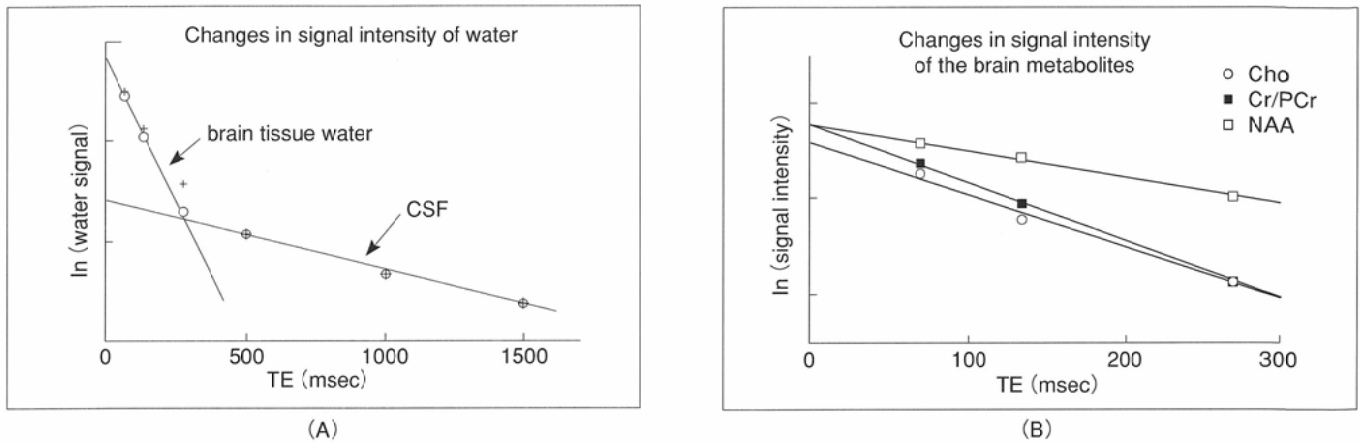


Fig. 5 Changes of the signal intensities of water and brain metabolites for different TE. Fig.A shows the double-exponential decay of the water (+); the brain tissue water and the CSF. Fig.B shows the single-exponential decay of the brain metabolites; Cho, Cr/PCr and NAA. The data was obtained in the same subject as in Fig.4B.

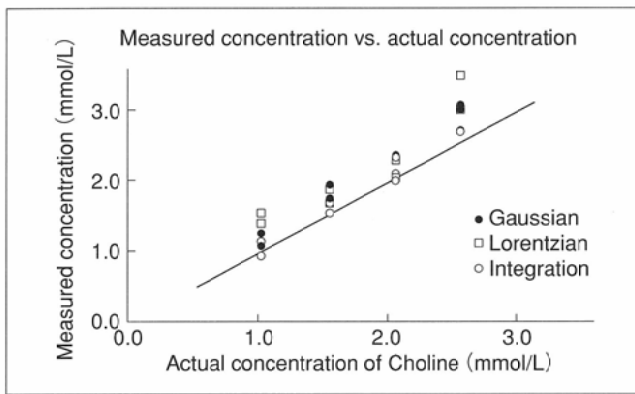


Fig.6 Correlation between the actual concentrations and the concentrations measured by using MRS in the choline phantom studies. Spectrum intensities (area under the peak) of Cho were evaluated with Gaussian curve fitting, Lorentzian curve fitting and integration methods. Deviations from the identity line $y = x$ were 0.29 ± 0.14 mmol/L, 0.35 ± 0.28 mmol/L and 0.05 ± 0.10 mmol/L for the Gaussian curve fitting, Lorentzian curve fitting and integration method, respectively. The integration method yielded values closer to the identity line than the Gaussian, or Lorentzian curve fitting method ($p < 0.005$). Other two methods overestimated the concentration.

Table 2 Concentration of the brain metabolites and the T2 values in the normal volunteers (n=5).

	Concentration (mmol/L)			T2 (msec)						
	Cho	Cr/PCr	NAA	Cho	Cr/PCr	NAA	Tissue Water	CSF	Water Content	Atrophy Index
Gauss curve fitting	1.7	7.1	9.0	343	210	401	84	685	58%	2%
	0.5	1.3	0.5	166	29	12	1	80	3%	1%
Integration method	1.6	6.4	8.2	320	201	392	84	666	61%	2%
	0.4	1.1	0.1	137	22	12	2	96	3%	1%

Lower columns are the values of the standard deviation.

化したので水分量を60%として計算すると式(3)から(5)より代謝物濃度は最大40%の誤差が生ずる. したがって, 脳組織内の水分は新生児¹⁸⁾の場合や病的変化が存在する場合には内部基準とはなりにくい.

外部基準としてシクロヘキサンを選んだが, その他の物質としては, 水, アセトン, トルエン, ベンゼンなどが考えられる (Table 1). 外部基準として用いる場合, 共鳴ピークが水, Cho, Cr/PCr, NAAの各ピークから離れており, 単位体積当たりの共鳴に寄与する水素原子の数が多いこと

が望ましい.

水 ($\delta = 4.7$ PPM) を外部基準にする方法²⁴⁾があるが, これは水自身のスペクトルを基準とするために, 生体からの水信号の漏れ (spill over) を捨てる可能性がある.

TMSは単位体積当たりの共鳴に寄与する水素原子数が水のそれと比べ, 0.9と高くかつ $\delta = 0.0$ PPMと水のピークより充分離れているが, 沸点が 26° と低く, 圧力容器に入れる必要があり実用的でない. TMSの誘導体は実際に外部基準信号源として使用されており^{25), 26)}沸点も高く, $\delta = 0.0$ PPMと

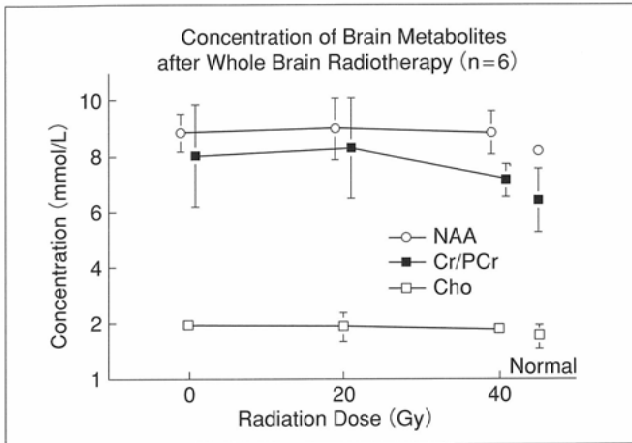


Fig.7 Brain metabolite concentrations before, middle-of, and after whole brain radiotherapy. The horizontal line is the radiation dose. The concentrations were measured at 0Gy, 20Gy, and 40Gy. The right-hand side shows the values obtained from 5 normal volunteers. There were no significant ($p > 0.05$) changes in concentration during radiotherapy, and no significant differences between the patients and normal volunteers.

理想的であるが、やや高価である。

シクロヘキサン、トルエン、アセトン、ベンゼン、クロロフォルムは可燃性である。このうちトルエン、アセトン、クロロフォルムは毒性麻酔作用があり、爆発の危険もあるのでわれわれは使用しなかった。シクロヘキサン、ベンゼンについては両者ともに毒性は低い、単位体積当たりの共鳴に寄与する水素原子数が多く、共鳴周波数も水からより離れているシクロヘキサンを外部基準としてわれわれは選択した。

シクロヘキサンのT1値は、約2 secと長いので、T1縦緩和の飽和の影響は無視することができない。温度変化によるT1、T2値の変化を避けるために、シクロヘキサンサンプルを常時検査室に置き、断熱材を巻くことにより温度変化を防ぐことが必要である。また引火性、刺激性があり、容器からの漏れがないよう取り扱いには十分な注意が必要である。

シクロヘキサンを強い磁場の中に入れると、シクロヘキサン自身および容器にも磁化が生じ、これによる磁場の乱れが発生する。円筒形の基準サンプルを用いた場合、そのサイズが小さいほど磁化の勾配が大きくなり、VOI中での磁場の均一性の劣化が生じ、傾斜磁場による歪みのために正確にサンプル中心にVOIを設定することが困難になると考えられる。このような理由で外部基準サンプルは大きいサイズの方が好ましい。ヘッドコイル内に頭とシクロヘキサンサンプルを入れるのに適当な大きさとして、径5cm長さ12cmの円筒形プラスチック容器をわれわれは選んだ。

ヘッドコイル内のB₁フィールドの分布はコイルエレメントに近いところで不均一になる。コイルエレメントから3.3 cm離れたヘッドコイルの内側でB₁フィールドの均一性はほぼ100%であるが、コイルエレメントから2.5 cmの所では最大5%の感度低下がある³⁰⁾。したがって、シクロヘキサンサンプルはできうる限りコイルエレメントから離して使用する

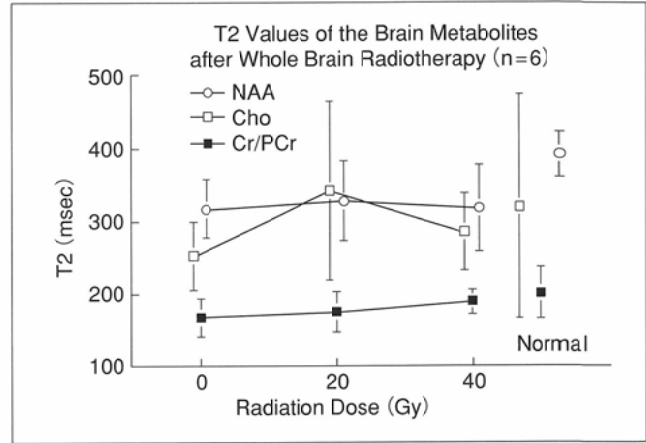


Fig.8 T2 relaxation times before, middle-of and after whole brain radiotherapy. The horizontal line is the radiation dose. The T2 values were measured at 0Gy, 20Gy and 40Gy. There were no significant changes in T2 during radiotherapy. Significant differences in T2-NAA ($p < 0.05$) were observed between the normal volunteers and the patients at 0Gy and 20Gy doses.

べきである。

一方、コイル負荷が変化することにより、水ファントム、シクロヘキサンサンプルからの信号は影響を受ける。しかしながら両者とも同様な影響を受けるので、信号強度比の値には影響しない。

シクロヘキサンサンプルの設置場所の変化のみからの水対シクロヘキサンの信号強度比への影響と、コイル負荷の変化のみからの影響を別々に調べる実験は行わなかったものの、ファントム実験においてシクロヘキサンサンプルの中心の位置をヘッドコイルの中心より4cmから12cm(平均9.7cm)と変えても、また水ファントムの本数、ローダの有無により負荷を変え、TGを7.0dBから12.5dB(80から270ワットの出力に当たり、新生児から成人男子のTGに相当)まで変化させても、水対シクロヘキサンの信号強度比はSDが1.5%以内とほぼ一定であった。したがって、外部に置かれたシクロヘキサンサンプル中の6×6×6mm³からの信号強度を測定することにより、脳内の23×23×23mm³の容積に相当する水からの信号強度を式(2)より算出することができ、*in vivo*計測にこの値を用いることができるものと考えられた。信号強度(S)は共鳴する原子の数N₀、T1、T2から、比例定数を省いて近似式として $S = N_0(1 - \exp(-TR/T1))\exp(-TE/T2)$ で与えられる。TRを充分長くとり、TEを短くすれば、SはN₀に近い値となるが、TRを長くすることにより検査時間が長くなる。一方TEを短くすると、バックグラウンド(グルタミン、グルタメート等からの信号)が大きくなり、スペクトル信号強度の測定に誤差が入るので、TEを短くすることにも限界がある。そこで異なるTEよりTE=0における外挿値を計算し、N₀を求めた。諸家のデータ^{23), 24), 26)}によれば、Cho, Cr/PCr, NAAのT1値は1500msec以下なので、TRを6 secと充分長くとることにより、T1飽和による誤差は2%以下で無視できると考えられた。

コリンのファントム実験において、スペクトルの信号強

度を求めるために、ガウス曲線近似法、ローレンツ曲線近似法、積分法を用いた。ガウス曲線近似法、ローレンツ曲線近似法ともに、実際のコリン濃度よりも高い測定値が得られた。コリンファントム実験におけるスペクトル(Fig.4(A))が示すように、バックグラウンドは決して低くはないので基線の採り方によって、測定値が変化することが考えられる。しかしながら、同じ基線を積分法でも用いており、積分法で求めた測定値は実際のコリン濃度の値とよく一致しているので、基線の採り方のみによる誤差とは考えにくい。不均一磁場によってスペクトルに歪みが生じて、スペクトルの面積の積分値は変化しないと考えられ、むしろスペクトルに決まった形の関数を当てはめて面積を求めたことが原因であると考えられた。また、今回のわれわれの実験においても、積分法が化学的に定量されたCho濃度をよく反映していたので、全脳照射患者の*in vivo*測定値の処理、および健常人との比較には積分法を用いた値を使用した。

ベースライン補正を行う方法として、それぞれのピークに対しガウス曲線近似をくり返し、ガウス曲線で与えられる面積の収束値を見つける方法が考えられる。まず1回目に近似するガウス曲線に0.8から1.0の間の定数をかける。このガウス曲線をもとのスペクトルから引くことにより、バックグラウンド処理を施す(Fig.2(A)→A1→A2→B))。新しく得られたスペクトル(Fig.2(C))に対し、ガウス曲線近似を行う(Fig.2(D))。このガウス曲線を1回目のように定数をかけることなしにもとのスペクトルから引き、再度ベースラインを求め、バックグラウンド処理を施し、再びガウス曲線近似を行う。このようにガウス曲線近似を何度か繰り返して面積の収束を調べたが、いずれの値を用いても面積は増加発散してしまうか、もしくは減少して0に収束してしまい、最初のガウス曲線近似にかける定数が0.95の場合が一番緩やかな増加又は減少を示したので、今回は0.95の値を用いて1回のみを反復とした。実際にはガウス曲線にかける数値を1.0から0.85まで変えても同様なバックグラウンドとなり、信号強度の変化は数%以内で、全くバックグラウンドを差し引かない場合には、バックグラウンド処理をした場合に比べ、信号強度は約20%高くなった。

代謝物濃度の測定値には諸家の報告がある^{18), 20)-27), 31)}。MRSおよび化学的定量法を用いた測定では、Choの濃度は1.3から2.2mmol/Lまでの値が報告されている。化学的定量法では水溶性のコリン化合物は1.6mmol/L以下であるとされ、脂溶性のものは20mmol/L存在するとされている¹⁹⁾が、脂溶性のものはMRS信号への寄与は少ないと考えられる。今回の測定では健常者で1.6mmol/L(積分法)の値が得られ、水溶性コリンのみが信号強度に反映していると考えられる。今回の測定では健常者で1.6mmol/L(積分法)の値が得られ、水溶性コリンのみが信号強度に反映していると考えられる。健常者におけるCho濃度とChoのT2値の測定変動が他のCr/PCr, NAAと比べ大きかったが、これはFig.4(B)にもみられるように、高い周波数側にCr/PCrとの重なりがあり、低い周波数側にもバックグラウンドがあって、正確なベースライン補正ができた

かったためと考えられた。

MRSを用いたCr/PCrの測定値は5.3から11.6mmol/Lまでの値が報告されている。われわれが得た値6.4mmol/Lは、Christiansen²²⁾, Kreis²⁶⁾, Hennig²⁷⁾等のMRSで得られた値とよく一致するものの、化学的定量法で得られた値よりも若干低い値といわれている²⁶⁾。

MRSを用いたNAAの測定値は8.2から17mmol/Lまでの報告がある。脳の抽出物³¹⁾および動物実験³²⁾では約6mmol/Lである。われわれの得た値8.2mmol/Lはこれらの値よりも2.2mmol/L高いが、これらは他のN-acetyl化合物からの寄与や、グルタメート、グルタミンによる影響と考えられている²⁷⁾。

このように各施設間で測定値に若干のばらつきがあるので、各施設での正常値および正常範囲を決めることが必要であると考えられた。

松島等の報告³³⁾では照射量の増加にしたがって、Cho/CrとCho/NAAの信号強度比(peak areaの比)が上昇し、Cr/NAAが低下すると報告している。われわれの症例でも、統計的な有意差はみられなかったが、照射量が大きくなるに従い、ChoとNAAの濃度変化は少ないものの、Cr/PCrの濃度の低下傾向(Fig.7)とChoのT2時間の延長傾向(Fig.8)がみられた。T1緩和の影響を考慮していないこと、データ収集方法が異なることなどから簡単な比較はできないものの、彼らの結果とは相矛盾しない結果を得た。

今回報告した定量法は45分と若干長い検査時間を要し、かつ得られたデータの解釈にも未だ定説はない。しかしながら非侵襲的な検査であり、病態の解析などの臨床応用面におけるMRSの重要性は今後増すものと考えられ、データ収集法と臨床例における*in vivo*の測定結果を合わせ報告した。

結 論

- (1)シクロヘキサンを外部基準として使用することが可能であることが示された。
- (2)スペクトルの信号強度(area under the peak)の算出には積分法が適当であると考えられた。
- (3)健常人のCho, Cr/PCr, NAAの濃度測定を*in vivo* MRSで行った。
- (4)放射線による全脳照射症例における脳のCho, Cr/PCr, NAAの濃度測定を*in vivo* MRSで行ったが、照射中の濃度変化、および健常人との濃度差は認められなかった。

本論文を書くにあたり、御示唆をいただいた名古屋大学医学部付属病院放射線科の石垣武男教授、名古屋市立大学医学部付属病院放射線科の伴野辰雄助教授、GE横河メディカル社の浅井信雄氏、新井宣行氏、検査に協力していただいた名古屋第一赤十字病院の酒井秀造、安藤雄一、安藤昌彦、金 康秀、浅井 暁、加藤陽子、児玉睦代、高見澤潤一の諸先生方に感謝の意を表します。

なお、論文の一部は第117回日本医学放射線学会中部地方会にて報告した。

文 献

- 1) Miller BL: A review of chemical issues in ^1H NMR spectroscopy: N-acetyl-L-aspartate, creatine and choline. *NMR Biomed* 4: 47-52, 1991
- 2) Grodd W, Krageloh-Mann I, Klose U, et al: Metabolic and destructive brain disorders in children: Findings with localized proton MR spectroscopy. *Radiology* 181: 173-181, 1991
- 3) Davie CA, Wenning GK, Barker GJ, et al: Differentiation of multiple system atrophy from idiopathic Parkinson's disease using proton magnetic resonance spectroscopy. *Ann Neurol* 37: 204-210, 1995
- 4) Ross BD, Jacobson S, Villamil F, et al: Subclinical hepatic encephalopathy: Proton MR spectroscopic abnormality. *Radiology* 193: 457-463, 1994
- 5) Kreis R, Ross B, Farrow NA, et al: Metabolic disorders of the brain in chronic hepatic encephalopathy detected with ^1H MR spectroscopy. *Radiology* 182: 19-27, 1992
- 6) Kreis R, Ross B: Cerebral metabolic disturbances in patients with subacute and chronic diabetes mellitus: Detection with proton MR spectroscopy. *Radiology* 184: 123-130, 1992
- 7) Shonk TK, Moats RA, Gifford P, et al: Probable Alzheimer disease: Diagnosis with proton MR Spectroscopy. *Radiology* 195: 65-72, 1994
- 8) Jayasundar R, Raghunathan P, Banerji AK: Proton MRS similarity between central nervous system non-Hodgkin lymphoma and intracranial tuberculoma. *Magn Reson Imag* 13: 489-493, 1995
- 9) Kuesel AC, Sutherland GR, Halliday W: ^1H MRS in high grade astrocytomas: Mobile lipid accumulation in necrotic tissue. *NMR Biomed* 7: 149-155, 1994
- 10) Ott D, Hennig J, Ernst T: Human brain tumors: Assessment with *in vivo* proton MR spectroscopy. *Radiology* 186: 745-752, 1993
- 11) Arnold DL, Shoubridge EA, Villemure JG, et al: Proton and phosphorus magnetic resonance spectroscopy of human astrocytomas *in vivo*. Preliminary observations on tumor grading. *NMR Biomed* 3: 184-189, 1990
- 12) Austin SJ, Connely A, Gadian DG, et al: Localized ^1H NMR spectroscopy in Canavan's disease: A report of two cases. *Magn Reson Med* 19: 439-445, 1991
- 13) Murata T, Koshino Y, Omori M, et al: *In vivo* proton magnetic resonance spectroscopy study on premature aging in adult Down's syndrome. *Biol Psychiatry* 34: 290-297, 1993
- 14) Christiansen P, Schlosser A, Henriksen O: Reduced N-Acetylaspartate content in the frontal part of the brain in patients with probable Alzheimer's disease. *Magn Reson Imag* 13: 457-462, 1995
- 15) Longo R, Giorgini A, Magnaldi S, et al: Alzheimer's disease histologically proven studied by MRI and MRS: Two cases. *Magn Reson Imag* 11: 1209-1215, 1993
- 16) Shiino A, Matsuda M, Morikawa S, et al: Proton magnetic resonance spectroscopy with dementia. *Surg Neurol* 39: 143-147, 1993
- 17) 橋本俊顕, 田山正伸, 宮崎雅仁, 他: 脳の ^1H -MRS - 発達による変化-. *脳と発達* 26: 26-31, 1994
- 18) Kreis R, Ernst T, Ross BD: Development of the human brain: *In vivo* quantification of metabolite and water content with proton magnetic resonance spectroscopy. *Magn Reson Med* 30: 424-437, 1993
- 19) Hope PL, Moorcraft J: Magnetic resonance spectroscopy. *Clin Perinatol* 18: 535-548, 1991
- 20) Christiansen P, Henriksen O, Stubgaard M, et al: *In vivo* quantification of brain metabolites by ^1H -MRS using water as an internal standard. *Magn Reson Imag* 11: 107-118, 1993
- 21) Barker PB, Soher BJ, Blackband SJ, et al: Quantification of proton NMR spectra of the human brain using tissue water as an internal concentration reference. *NMR Biomed* 6: 89-94, 1993
- 22) Christiansen P, Toft P, Larsson HBW, et al: The concentration of N-acetyl aspartate, creatine + phosphocreatine, and choline in different parts of the brain in adulthood and senium. *Magn Reson Med* 11: 799-806, 1993
- 23) Frahm J, Bruhn H, Gyngell ML, et al: Localized proton NMR spectroscopy in different regions of the human brain *in vivo*. Relaxation times and concentrations of cerebral metabolites. *Magn Reson Med* 11: 47-63, 1989
- 24) Narayana PA, Fotedar LK, Jackson EF, et al: Regional *in vivo* proton magnetic resonance spectroscopy of brain. *J Magn Reson* 83: 44-52, 1989
- 25) Ernst T, Kreis R, Ross B: Absolute quantitation of water and metabolites in the human brain. I. Compartments and water. *J Magn Reson* 102B: 1-8, 1993
- 26) Kreis R, Ernst T, Ross B: Absolute quantitation of water and metabolites in the human brain. II. Metabolite concentrations. *J Magn Reson* 102B: 9-19, 1993
- 27) Hennig J, Pfister H, Ernst T, et al: Direct absolute quantification of metabolites in the human brain with *in vivo* localized proton spectroscopy. *NMR Biomed* 5: 193-199, 1992
- 28) Webb PG, Sailasuta N, Kohler SJ, et al: Automated single-voxel proton MRS: Technical development and multisite verification. *Magn Reson Med* 31: 365-373, 1994
- 29) Craig EC, Marshall AG: Automated phase correction of FT NMR spectra by means of phase measurement based on dispersion versus absorption relation (DISPA). *J Magn Reson* 76: 458-475, 1988
- 30) Hayes CE, Edelstein WA, Schenck JF, et al: An efficient, highly homogeneous radiofrequency coil for whole-body NMR imaging at 1.5 T. *J Magn Reson* 63: 622-628, 1985
- 31) Dunlop DS, McHale DM, Lajtha A: Decreased brain N-acetylaspartate in Huntington's disease. *Brain Res* 580: 44-48, 1992
- 32) Koller KJ, Zaczek R, Coyle JT: N-acetyl-aspartyl-gultamate: Regional levels in rat brain and the effects of brain lesions as determined by a new HPLC method. *J Neurochem* 43: 1136-1142, 1984
- 33) 松島 秀, 紀ノ定保臣: ^1H -MRSによる急性放射線脳障害の評価. *医用電子生体工学* 31: 49-56, 1993