

高磁場MRIのマウス・ラットへの適用に関する基礎的研究

学位論文内容の要旨

本研究はマウス・ラットなどの実験小動物へのMRI適用の可能性を検討するために行われた。小型動物を対象に分解能の高いMR画像を得ようとする場合、画像の構成単位(pixel)を出来るだけ小さくし、しかも高S/N比のMRI信号を得る必要がある。そのため、高磁場と強傾斜磁場が要求され、かつ動物体やRFコイルを組み込んでもそれらの磁場が乱されないことが要求される。そのため、本研究では磁場均一性が優れ、7.05Tの高磁場を作る超伝導マグネットを使用し、特殊にデザインされたコイルを組み込んだMRI装置を用い、モデル疾患臓器(急性肝炎期、慢性肝炎期および肝癌期のLECラット肝臓)への診断学的適用性を検討した。さらに、マウス脳の局所解剖学的画像化への適用性についても検討した。しかしながら、LECラット肝臓の場合、その内部に高濃度の常磁性金属が存在していることから(正常の40~50倍)、高磁場の適用には幾つか克服しなければならない問題点があることが判った。第1に、常磁性金属が多量に存在すると組織内の磁場環境が変化し、共鳴周波数が大きくずれて、組織内水と中性脂肪のプロトンのケミカルシフトに大きな差が生じ、励起パルス幅や強度の変更が必要となるかも知れないこと、第2に、常磁性金属の濃度が高いと組織プロトンの緩和時間が短縮することから、弱い信号強度によるコントラストの悪い画像が得られる可能性があった。また、通常のマウス・ラットへの適用性に関しても、高磁場の効果だけで緩和時間に影響が生じ、単に均一性の優れた高磁場と強グラジエントコイルを適用するだけでは実際に局所解剖学的分解能の良いMR画像が得られるか否か明確ではなかった。

本研究ではこれらの問題点を検討するため、まずLECラット肝臓の7.05T高磁場MRS(磁気共鳴スペクトロメトリー)により信号成分の分析を行い、高濃度常磁性金属の組織内水及び中性脂肪のプロトンのケミカルシフトへの影響を調べた。そのデータに基づき最適な励起パルス幅と強度を選択した。次に、7.05Tの磁場下で磁化反転回復法及びCPMG法により肝臓のT₁とT₂緩和時間を測定し、それらに対する高濃度常磁性金属の影響を調べた。その測定値に基づきMRIパラメータ強調指数を計算し、信号強度へのT₁緩和時間、T₂緩和時間及びプロトン密度それぞれの相対寄与について検討した。最終的に肝炎発症前、急性肝炎期、慢性肝炎期及び肝癌期のLECラット肝臓を外部磁場7.05T及び傾斜磁場0.3mT/cmで撮像を行い、上述の計算結果と総合し、診断法としての本高磁場MRIの妥当性を検討した。次に、高磁場(7.05T)で磁場均一性に優れ、しかもサンプル挿入による磁場の乱れを補正する機能を有する縦型マグネットに、さらに10倍強い傾斜磁場コイル(3.5mT/cm)を組み込み、局所解剖学的分解能を示すMR画像が得られるか否かをC57BL/6マウス頭部を対象に検討した。

MRSにより、LECラット肝臓のプロトンのMRI信号は水と脂肪の2成分によって構

成されているが、その主成分は水であることが判明した。また、ウイスターラットでも同様の結果が得られた。一方、水と脂肪成分のケミカルシフトの差は、LEC及びウイスターラットとも約3.0ppmであることが判り、ケミカルシフトへの金属の影響はほとんど無視できることが判明した。以上のことから、LECラットのMRIを行う際、プロトンの励起パルス幅(水成分を中心に2~4kHz)とその強度は正常なラットとほぼ同じ条件で良いことが判った。

次に、LECラット肝臓の T_1 と T_2 緩和時間について、肝炎発症前、急性肝炎期及び慢性肝炎期の摘出肝臓を対象に測定したところ、急性肝炎期の肝臓においてのみ両緩和時間の短縮が起こっていることが観察された。原子吸光光度法により銅と鉄の含有量を測定したところ、銅はどのステージでも変化が無く、鉄は急性肝炎期において有意に増加していた。このことから、急性肝炎期における T_1 、 T_2 緩和時間の短縮は鉄に起因していると考えられた。次に、MR撮像条件として、TR(繰り返し時間、ms)/TE(エコー時間、ms)を500/20、2,000/80及び2,000/20の3つに設定し、各ステージで測定された T_1 と T_2 緩和時間を用い、各条件下でのMR信号強度とその信号強度へのMRパラメーター(T_1 と T_2 緩和時間及びプロトン密度)の相対寄与を計算により求めた。その結果TR/TE=2,000/20の条件において信号強度が最も大きく、TR/TE=2,000/80の条件で最も小さくなる結果が得られた。実際にMRIを行ったところ、計算結果どおりTR/TE=2,000/20の条件でコントラストの良い画像が得られ、TR/TE=2,000/80では暗く、判別困難な画像が得られ、TR/TE=2,000/20で撮像された画像では、3つのパラメーターのうち、 T_1 と T_2 緩和時間の相対寄与は小さく、プロトン密度の相対寄与が最大であることが判明した。以上のことから、LECラット肝臓のように常磁性金属が高濃度に存在する組織のMRIを高磁場下で行う場合、プロトン密度の相対寄与が最大となるような条件(本実験ではTR/TE=2,000/20)が適していると示唆された。各ステージのラットにおいて実際にこの条件でMRIを行ったところ、急性肝炎期肝臓に高信号を示す領域が観察され、病理学的検査との比較から肝炎による組織変性部位に一致していることが判明した。このことから、TR/TE=2,000/20の撮像条件下で得られたMR画像は正確に組織変性を反映するものであることが判った。このことは、例えば高磁場下のMRIでしかも常磁性金属が多く存在していても、その撮像の条件を的確に選択すれば実験小動物の病変部の診断法としての適用性は十分に満たされるものであることを示唆していた。

高磁場MRIをさらに50及び116週齢の肝癌期のLECラットにも適用した。まず試みにヒトの肝実質性細胞癌(HCC)の場合にならひ、 T_1 緩和時間が相対的に大きく反映される条件TR/TE=500/20で撮像したところ、肝臓内に幾つかの高信号領域が観察された。上述のTR/TE=2,000/20でも結果は同様であった。肝癌のような大きい組織病変になると、TR/TE=500/20でも十分に画像化が可能になるものと思われた。高信号領域はHCCに相当していると考えられた。

最後に、7.05T縦型マグネットにさらに強い傾斜磁場コイル(3.5mT/cm)を組み込んだ装置によりマウス頭部の撮像を行った。この装置では、TEを10.4msと上述の装置よりもさらに短く設定できるので、よりプロトン密度を反映したMRIが可能であった。さらに高外部磁場と強傾斜磁場であることから、理論的に撮像断面のスライス厚を極端に薄くできるので、実際にTR/TE=3,000/10.4、スライス厚1mmあるいは0.3mmの条件でMRIを行ったところ、高い局所解剖学的分解能を示す画像が得られた。矢状断面像では、脳の各部位が同定できること、さらに灰白質と白質が明瞭に区別できることが判明した。冠状断面像においても各部位を同定できたが、特に海馬におけるCA1~3領域が明瞭に区別できることが特徴的であった。これらの結果は、実験小動物を用いた脳研究にこのマイクロイメージング法の適用が可能であることを示唆していた。

学位論文審査の要旨

主査	教授	桑原	幹典
副査	教授	橋本	晃
副査	教授	藤永	徹
副査	助教授	稲波	修

学位論文題名

高磁場MRIのマウス・ラットへの適用に関する基礎的研究

マウス・ラットなどの実験小動物疾患モデルにMRIを適用する場合、対象となる臓器を明瞭に画像化する事が必要となる。そのため、画像構成単位すなわちMR信号を得る体積を出来るだけ小さくすることが要求される。すなわち、ピクセルサイズを小さくし、かつスライス厚を薄く取れば良いことになる。しかしながら、この時S/N比の良い信号を得る事が必要である。

申請者は、実験小動物のMRIを行うに当たり、高S/N比と小ピクセルサイズの条件を満たすため、均一性の優れた7.05Tの高磁場を用い、さらにスライス厚を薄くするため傾斜度の強い0.3mT/cmのグラジエントコイルを用いることを計画した。そのため、強グラジエントコイルを内蔵するOxford社の超伝導マグネットに、自作の送信および受信用鞍型コイルをセットし、東芝ワークステーション上にてイメージングソフトSISCOを操作し、LECラットの急性・慢性肝炎期および肝癌期の肝臓をスライス厚1mmにて撮像した。通常、大中動物用MRIでは0.5~1.0Tの磁場、0.02mT/cmのグラジエントコイル、スライス厚5mmが適用されていることから、それに比べ申請者の撮像条件は実験小動物疾患臓器の撮像により適しているように思われた。しかしながら、LECラット肝臓の場合、高濃度の常磁性金属(通常40~50倍)が存在するため、高磁場下でのMRIに幾つか問題が生じた。すなわち、高濃度常磁性金属により磁場環境が変化し、それに伴い共鳴周波数にずれが生じ、さらに組織のプロトンの緩和時間が短縮することが判明した。最初の問題はプロトンの励起パルスの幅や強度の、第二の問題は画像信号強度の低下に伴う低画質の問題を提起した。そのため、申請者はMRS(磁気共鳴スペクトロスコピー)法によりLECラット肝臓プロトンの共鳴周波数ならびにケミカルシフトへの高濃度常磁性金属の影響を調べた。さらに、T1およびT2緩和時間を測定し、MRIパラメーター強調指数を計算することによりMR画像低画質化の原因を探った。その結果、LECラット肝臓のMRI信号の主成分は水のプロトンであること、常磁性金属のケミカルシフトへの影響が小さいことを明らかにし、最適な励起パルス幅および強度値を決定した。また、緩和時間がいずれも急性肝炎期の肝臓で有意に短縮することを観察し、それが常磁性鉄イオンによるものであり、それに伴い画質の低下が起こる事を明らかにした。しかしながら、低画質化がプロトン密度の相対寄与が最大となる条件での撮像で克服されることを示し、実際に肝炎期および肝癌期での組織の病理学的診断可能なMR画像の撮像に成功した。

申請者は、LECラットの実験に止まらず、局所解剖学的分解能のさらなる向上を目指し、10倍のグラジエント(3.5mT/cm)コイルを用いて麻酔下C57BL/6マウス頭部の撮像をスライス厚0.3mmにて行った。その結果、白質と灰白質が明瞭に区別でき、海馬におけるCA1~3領域が同定できる高画質のMR画像が得られた。本画像法は今日MRマイクロイ

メージング法と呼ばれているが、本研究はより詳細な組織像を描画する方法としてその可能性を示唆したものといえる。

以上のように、申請者は高磁場MRIの実験小動物への適用における問題点を明らかにし、実際の使用の可能性を示した。よって、審査員一同は申請者が博士(獣医学)の学位を受ける資格を有するものと認めた。