

修士学位論文

高磁場装置を用いた実験腫瘍の dynamic contrast
enhanced (DCE) -MRI 撮像による定量評価
: Fast low angle shot (FLASH) 撮像条件の検討

2017 年 1 月 5 日 提出

首都大学東京大学院

人間健康科学研究科 博士前期課程 人間健康科学専攻

放射線科学域

学修番号 : 15897616

氏 名 : 外山 沙樹

(指導教員名 : 古川 顕)

学位論文題名

高磁場装置を用いた実験腫瘍の dynamic contrast enhanced (DCE) -MRI 撮像による
定量評価 : Fast low angle shot (FLASH) 撮像条件の検討

学位の種類 : 修士 (放射線学)

人間健康科学研究科 博士前期課程 人間健康科学専攻 放射線科学域

学修番号 15897616

氏名 : 外山 沙樹

(指導教員名 : 古川 顕)

新規抗がん剤開発の前臨床段階において新規抗がん剤や放射線照射をした時どの程度治療効果が得られたかを判定する必要がある。Dynamic contrast enhanced (DCE) -MRI 撮像により形態学的な情報だけではなく、腫瘍新生血管における血管分布・血流量・血管透過性・血管外細胞外容積を導出することが可能となり治療効果判定における重要なサロゲートマーカーとなる。それらのパラメータを求める前段階としてまず、造影剤投与前の腫瘍内の縦緩和時間 (T_1) 値を variable flip angle (VFA) 法により導出する。次に、造影剤を投与し DCE-MRI 撮像により得られた信号強度 ($S(t)$) から腫瘍に集積した造影剤濃度 ($C(t)$) を求める必要がある。また、VFA 法及び DCE-MRI 撮像には fast low angle shot (FLASH) と呼ばれる撮像シーケンスが用いられる。本研究の第一の目的は 9.4 T MRI 装置を用いた VFA 法の T_1 値導出精度と時間分解能の二つの観点から、FLASH の撮像条件 (TR、 B_1 不均一性、収集条件) の検討を行うことである。第二の目的は造影剤濃度を voxel-by-voxel basis にて導出することである。第三の目的は時間分解能及び空間分解能の観

点から造影剤濃度を求める際の DCE-MRI の最適な撮像条件を検討することである。

Saturation recovery (SR) 法によって計測された T_1 値を gold standard とし、VFA 法によって導出された T_1 値とファントム計測することで FLASH の撮像条件の検討をした。まず、TR を変化させて VFA 法を施行したところ、短い TR において SR 法と比べ過小評価する傾向があった。また、長い TR での T_1 値と SR 法の T_1 値で直線近似をした直線の相関の一致度は低くなった。これらの VFA 法の誤差要因としてまず B_1 不均一性を考え、同一濃度のファントムを複数作製し異なる位置に配置し SR 法及び VFA 法により T_1 値を導出した。その結果 B_1 不均一性補正することで T_1 値のばらつきを抑えることを可能とした。しかし、補正前と補正後の T_1 値を比較すると有意差は得られず、 B_1 不均一性の補正による有用性はないと考えた。次に、VFA 法の FLASH の収集条件を 2D から 3D に変更し T_1 値を導出し、SR 法にて導出された T_1 値と比較を行った。2D FLASH にて導出された T_1 値は SR 法にて導出された T_1 値と比較して過小評価されていたのに対し、3D FLASH にて導出された T_1 値は誤差が少なく、SR 法の T_1 値と同等の値が示された。このことから、3D 収集による T_1 値導出は誤差要因の解消にあたり有用であると言える。 T_1 値導出の為に画像取得にかかる時間は VFA 法 2D FLASH、VFA 法 3D FLASH、SR 法の順で短く、VFA 法は高速 T_1 計測法と言える。

第二の目的である造影剤濃度を voxel-by-voxel basis にて導出する前段階として VFA 法による T_1 値及び S_0 導出を voxel-by-voxel basis にて行った。Voxel-by-voxel basis による T_1 値及び S_0 導出にあたり、ソフトウェアを新たに実装した。ソフトウェアの使用にあたり動作確認を行ったところ、正常にソフトウェアは動作し、信頼性の高い結果が得られた。

最後に、担がんマウスを用いて DCE-MRI 撮像を行い、voxel-by-voxel basis にて $C(t)$ を導出し、更に 2D 及び 3D FLASH の時間分解能・空間分解能の観点から撮像条件の検討を行った。2D 及び 3D FLASH いずれの撮像方法を用いても $C(t)$ map が作製可能であることが明らかとなった。空間分解能、時間分解能共に 2D FLASH の方が高い結果が得られた。動脈相における腫瘍の新生血管の評価には 3D FLASH の時間分解能は不十分であり、また空間分解能も十分でないと考えられた。一方、2D FLASH には一度に得られる撮像枚数と全撮像時間の短さについて改良が望まれる。

2D FLASH の方が時間分解能・空間分解能の観点から共に高い結果が得られた。また、voxel-by-voxel basis にて造影剤濃度の導出により腫瘍内の造影剤分布の不均一性を視覚的に評価することが可能になった。

目次

第1章 序論.....	1
1.1 研究背景.....	1
1.2 研究目的と本論文の構成.....	2
第2章 造影剤濃度定量評価における基礎知識.....	4
2.1 Gadolinium–diethylenetriaminepentaacetic acid (Gd-DTPA)	4
2.2 DCE-MRI.....	4
2.3 TK model	6
2.4 造影剤濃度 $C(t)$ の定量評価	6
2.4.1 縦緩和時間 $T_1(t)$ から $C(t)$ への変換.....	7
2.4.2 飽和回復 (SR) 法による T_1 値計測方法.....	8
2.4.3 VFA 法を用いた T_1 値の計測法.....	9
第3章 VFA 法による T_1 値計測における条件検討.....	11
3.1 繰り返し時間 (TR) の検討.....	11
3.1.1 はじめに.....	11
3.1.2 方法	12
3.1.3 結果	13
3.1.4 考察	15
3.1.5 結論	16
3.2 B_1 不均一性の検討.....	17
3.2.1 はじめに.....	17
3.2.2 方法	18
3.2.3 結果	22
3.2.4 考察	27
3.2.5 結論	27
3.3 収集条件の変更による条件検討.....	27
3.3.1 はじめに.....	27
3.3.2 方法	28
3.3.3 結果	31
3.3.4 考察	35
3.3.5 結論	36
第4章 実装した ImageJ のソフトウェアを用いた voxel-by-voxel basis による T_1 、 S_0 解析の動作確認.....	37
4.1 はじめに.....	37
4.2 方法	37

4.3 結果・考察.....	40
4.4 結論	41
第5章 担がんマウスに対する DCE-MRI の撮像条件検討	42
5.1 はじめに.....	42
5.2 方法	43
5.3 結果	47
5.4 考察	51
5.5 結論	52
第6章 まとめ.....	53
6.1 はじめに.....	53
6.2 VFA 法による T_1 値計測における条件検討.....	53
6.3 実装した ImageJ のソフトウェアを用いた voxel-by-voxel basis による T_1 、 S_0 解析	54
6.4 担がんマウスに対する DCE-MRI の撮像条件検討	54
6.5 結論及び今後の課題・展望.....	54
参考文献	56
謝辞	59
本研究に関する業績.....	60

第1章 序論

1.1 研究背景

現在の日本における死因の1位は悪性新生物によるものである。悪性新生物の2015年の罹患数は98万人で、37万人もの人々が死亡した^[1]。がんに対する治療法には手術や内視鏡下により腫瘍を取り除く外科的治療、抗がん剤を投与する化学療法、放射線を腫瘍に照射する放射線療法などがある。

これまで、マウスなどの実験動物において新規抗がん剤や放射線照射の治療効果を評価する場合、皮下移植された腫瘍の大きさをノギスで測ることで形態学的に治療効果判定していた。しかし、腫瘍は移植された部位によって生着の様子や新生血管の状態が異なるなど、腫瘍を取り巻く微小環境が腫瘍の生着や発育と密接に関係すると判明したため^[2]、皮下移植による実験では本来の治療効果が再現できない可能性が懸念される。そこで近年では、ラット由来肝癌細胞株 N1S1 をラットの肝臓に移植する^[3] というように、対象とする腫瘍を由来する臓器に移植（同所性移植）した動物モデルが多く用いられるようになってきた。

体内深部の腫瘍の大きさの変化を評価するためには断層画像を撮像して腫瘍径を計測することが必要である。現在では、主に再現性に優れているという点から magnetic resonance imaging (MRI) や computed tomography (CT) によって治療効果判定が行われている。MRI はコントラスト分解能が優れ解剖学的構造が解りやすい。一方、CT は空間分解能が高く解剖学的な構造は判別しやすいが、MRI と比べ軟部組織のコントラストが小さいという短所がある。これらの他に治療効果判定として ultrasonography (US) が用いられる場合もある。US によるイメージングは時間分解能が高く、非侵襲的に観察が可能であるが、観察者間で計測結果に誤差が生じやすいといった問題点がある。

がん治療に近年用いられる分子標的治療薬はがん細胞の増殖抑制や血管新生の阻害などの作用を有するものがある。これらは、腫瘍の大きさの変化が乏しいにも拘わらず腫瘍活動度の抑制をもたらす傾向があり、腫瘍径による治療効果判定が困難な場合がある。この問題を解決する方法として、single photon emission computed tomography (SPECT) や positron emission tomography (PET) を用いて腫瘍細胞の代謝を観察し、生存している腫瘍の体積を評価する方法がある。更に、PET と CT を同時に撮像する PET-CT 装置を用いることで代謝情報と詳細な形態学的情報を得ることができ、単一の方法よりも正確に解析することが可能になる。

腫瘍細胞の代謝機能を見る検査として *in vivo* ¹H-MR spectroscopy (MRS) を用い、代謝物を解析・定量する方法もある。腫瘍の経時変化を追跡することにより治療効果を鋭敏にとら

えることが可能になる。SPECT や PET と異なり放射性医薬品を投与する必要がないため、放射線被曝が無いことが長所である一方、感度が低いなどの短所もある。このような代謝機能を見る検査では形態学的変化よりも早期に腫瘍に対する治療効果の程度の変化を捉えることが可能である。

本研究では、MR 装置による dynamic contrast enhanced (DCE) -MRI という撮像によって治療効果判定をおこなった。DCE-MRI 撮像では腫瘍の治療効果判定の定性的または定量評価が可能となる。定性評価は横軸が時間、縦軸が腫瘍内の信号強度の time intensity curve (TIC) と呼ばれるカーブの形のタイプによって腫瘍の鑑別診断をする。しかし信号強度は無単位であり、同じ撮像対象であっても撮像する環境・撮像パラメータ等によって異なる値を示すため、治療効果判定の指標にはなりにくい。そこで腫瘍における新生血管に注目した。すなわち、新生血管の血流量、血管透過性、血管外細胞外容積のような単位を持った数値を求めることで定量評価が可能になる。これらのパラメータは経時的に腫瘍の新生血管の組織学的な変化を反映させることが可能であり、治療効果判定における重要なサロゲートマーカーとなる。例えば Timothy ら^[4]は新規抗がん剤を用いた肝細胞癌治療の効果判定に DCE-MRI 撮像し導出された血管透過性を表すパラメータを用いた。これらの数値を求める前段階として腫瘍の造影剤濃度の時間変化を求めることが必要となる。

私が調べた限り、9.4 tesla の MR 装置を用いて実験腫瘍の腫瘍内 MRI 造影剤濃度定量評価を行った報告はない。腫瘍内造影剤濃度の導出にあたり、縦緩和時間 (T_1) 計測が必要となる。 T_1 値計測として variable flip angle (VFA) 法を用いた。VFA 法は高速 T_1 値計測が可能である一方 saturation recovery (SR) 法にて導出された T_1 値を gold standard とした場合、VFA 法によって導出された T_1 値は誤差を生じやすいことが知られている^[5]。そこで私はファントムの T_1 値を SR 法及び VFA 法を用いて導出・比較し SR 法の T_1 値と誤差が小さくなる様 VFA 法における撮像条件を検討した。次に、マウス実験腫瘍を DCE-MRI 撮像し腫瘍内の造影剤濃度を voxel-by-voxel basis で導出をした。

1.2 研究目的と本論文の構成

本研究で用いる造影剤濃度導出までに必要な基礎知識や数式を第 2 章に記述した。

本研究の第一の目的は 9.4 T MRI 装置を用いた VFA 法の T_1 値導出精度と時間分解能の二つの観点から撮像条件の検討を行うことである。VFA 法における優れた T_1 値導出精度・時間分解能を有する撮像条件 (TR、 B_1 不均一性、収集条件) を明らかにした。この検討に関する方法、結果、考察を第 3 章に記述した。

本研究の第二の目的は voxel-by-voxel basis にて造影剤濃度を導出することである。Voxel-by-voxel basis の導出にあたりソフトウェアを新たに実装した。造影剤濃度を求める前段階として VFA 法による T_1 値及び S_0 導出を voxel-by-voxel basis にて行った。ソフトウェアの使用にあたり動作確認結果を第 4 章に記述した。

第三の目的は時間分解能及び空間分解能の観点から造影剤濃度を求める際の DCE-MRI の最適な撮像条件を検討することである。実験腫瘍を移植した担がんマウスに造影剤を急速静注し、収集条件を変化させ時間分解能、空間分解能の観点から撮像条件を検討した。この方法に関しての検討に関する方法、結果、考察を第 5 章に記述した。

最後にまとめとして第 6 章において、本研究によって得られた成果の意義や今後の研究展望に関して記述した。

第2章 造影剤濃度定量評価における基礎知識

2.1 Gadolinium–diethylenetriaminepentaacetic acid (Gd-DTPA)

Gd-DTPA は MRI 撮像に用いられる細胞外液性 Gd 造影剤の一種であり、低分子で早く排泄され副作用が少ないことから臨床で広く使われてきた。DCE-MRI 撮像時に Gd 造影剤を投与することで、造影剤が分布した部位は T_1 短縮効果により、信号強度が上昇する。DCE-MRI では正常解剖や腫瘍の描出能の向上、更には血行動態の評価が可能になる^[6]。

Gd-DTPA 造影剤は 1986 年乳がんにおけるがんと異形成の鑑別に初めて用いられた^[7]。それ以降 DCE-MRI の評価には主に Gd-DTPA が用いられ、DCE-MRI のモデルは Gd-DTPA を元に確立された。

2.2 DCE-MRI

DCE-MRI は造影剤を急速静注後、繰り返し MRI を撮像することで、経時的に信号強度変化を観察する手法である。造影剤を急速静注することで、造影剤は健常組織や腫瘍内の血管・細胞外に分布する様子が信号強度の時間変化として反映される。それにより腫瘍を含む組織の形態に加え血管分布、血流量、血管透過性、血管外細胞外容積を導出し定量評価することが可能になる^[8]。

DCE-MRI を施行した際の信号強度の時間変化 $S(t)$ をグラフにしたものは TIC と呼ばれる。図 2-1 は皮下に腫瘍を移植した担がんマウスの DCE-MRI から得られた TIC である。マウス皮下腫瘍の造影剤投与前の信号強度を S_0 とする。撮像を開始して約 15 秒後に造影剤を投与すると、造影剤の到達と同時に $S(t)$ が上昇し、約 80 秒後にピークを迎える。その後造影剤はゆっくり腫瘍内から排泄され $S(t)$ が次第に減少する様子が分かる。

DCE-MRI における定性評価の例として、乳がんの良悪性の鑑別に TIC のパターンを大きく三つ (type1~3) に分類したものが用いられている (図 2-2)。Type1 は時間に対する信号強度が漸増するタイプ、type2 は急速上昇後プラトーに達するタイプ、type3 は急速上昇後、低下 (洗い出される) タイプである。Type2, 3 のような例は悪性腫瘍である可能性が高いと評価される^[9, 10]。しかし、type 分類のような定性評価は観察者の主観による判断となることから観察者間で異なる診断を下すことが考えられる。

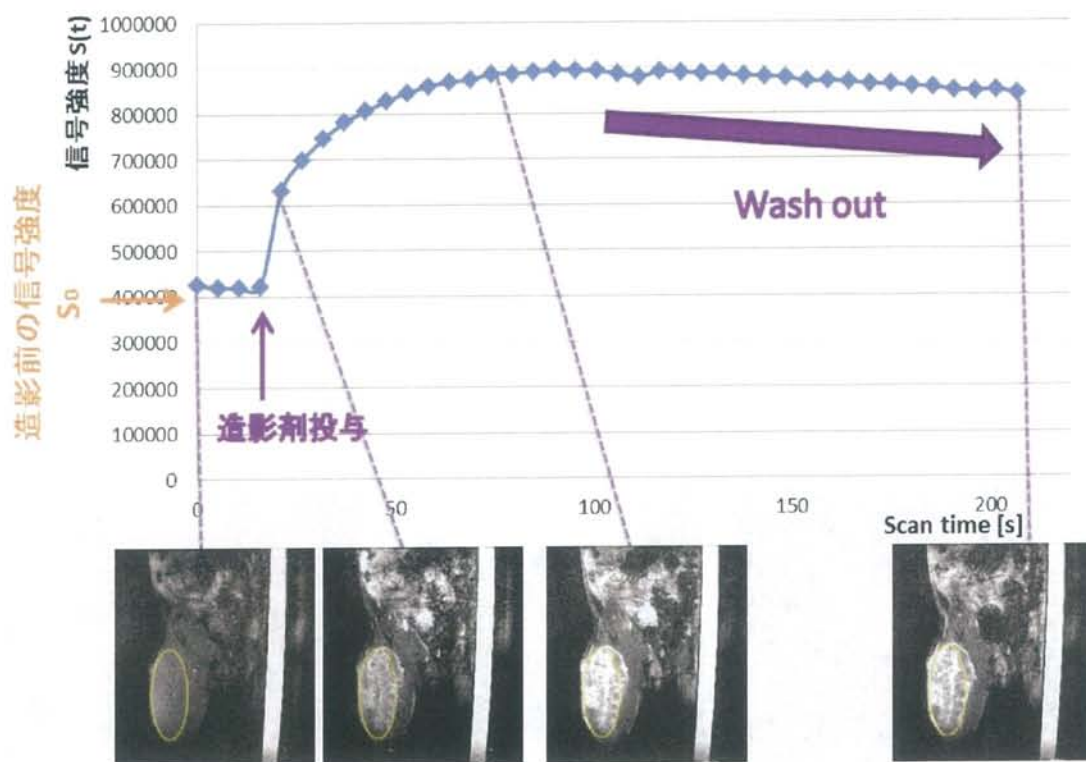


図 2-1 大腿部皮下に移植された担がんマウスの DCE-MRI の矢状面画像と TIC。S(t)は腫瘍全体を楕円形の関心領域 (ROI) の信号強度。

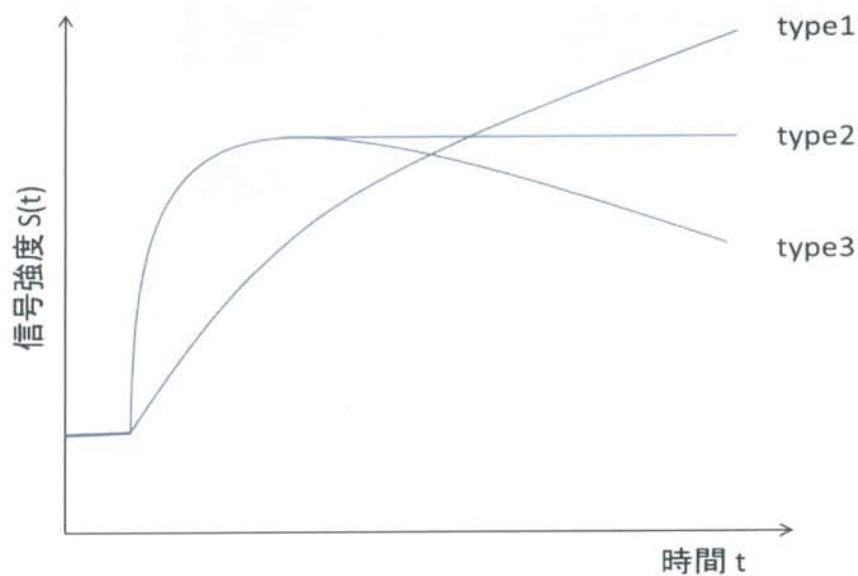


図 2-2 TIC の分類分けの模式図。Type1 は徐々に造影剤が流入し継続的に信号強度は上昇する。Type2 は造影剤が急速に流入した後 wash out せず造影剤は残存し信号強度に大きな変化は見られない。Type3 は造影剤が急速に流入し信号強度が上昇しピークを迎えその後 wash out され信号強度が低下する。乳房腫瘍では type1 が良性、type2,3 が悪性であることが多い。

2.3 TK model

TK model は Tofts, Kermode らによって提唱され、広く使われている薬物動態モデルであり、造影剤の分布を評価出来る^{[11][12]}。造影剤は血管より流入し血管外細胞外に分布する(図 2-3)。造影剤分子が血管内から血管外細胞外へ拡散する時定数を K^{trans} [min^{-1}]、血管外細胞外から血管内へ拡散する時定数を k_{ep} [min^{-1}]、血管外細胞外容積を v_e とすると、 $k_{ep} = K^{trans}/v_e$ の関係がある。 K^{trans} 及び v_e の二つのパラメータが生物学的な観点から、新生血管に対する抗がん剤の治療効果判定に際し、重要なサロゲートマーカーとして期待されている^[13, 14]。

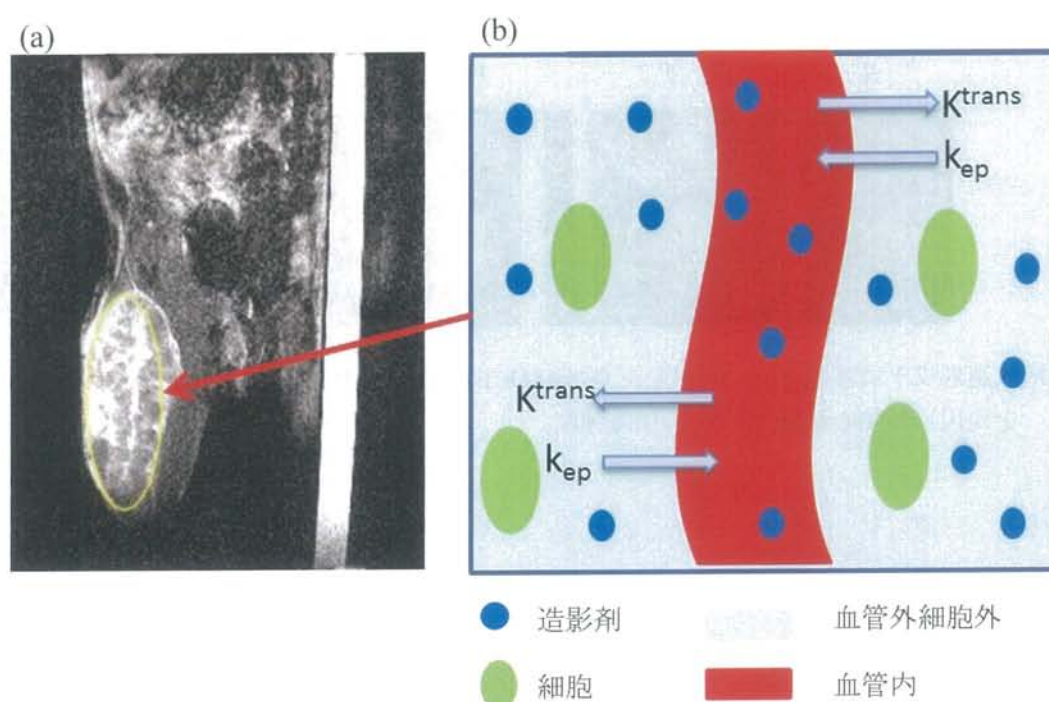


図 2-3 (a) 皮下腫瘍を移植した担がんマウスに造影剤を急速静注し DCE-MRI 撮像した矢状断面像。(b) TK model を基にした腫瘍の新生血管における造影剤分子が分布する様子の模式図。

2.4 造影剤濃度 $C(t)$ の定量評価

Dynamic CT ではヨード造影剤濃度と CT 値が直線関係にあるため、造影剤濃度の定量評価を容易に行うことが可能である。一方、DCE-MRI では Gd 造影剤濃度と MRI の信号強度との関係は直線関係ではなく、式 [1] に示すように造影剤投与後における組織の T_1 値の逆数の差に比例する。しかも T_1 は組織の置かれた静磁場強度、温度と言った環境によって変化する。

$$C(t) = \left(\frac{1}{T_1(t)} - \frac{1}{T_{1,0}} \right) \times \frac{1}{r_1} \quad [1]$$

$C(t)$: 造影剤濃度の時間変化 [mM]

$T_1(t)$: 造影剤投与後に対する T_1 値の時間変化 [s]

$T_{1,0}$: 造影剤を投与する前の T_1 値 [s]

r_1 : 造影剤の縦緩和率 [$\text{mM}^{-1}\text{s}^{-1}$]

従って、Gd 造影剤濃度を定量評価するためには、dynamic CT に比べ複雑な計算を必要とする。信号強度 $S(t)$ と造影剤濃度の時間変化 $C(t)$ [mM] が非線形の相関関係にあることを利用して求められる。その後 TK model を利用し K^{trans} や v_e の推定が可能になる。これらのパラメータは血管新生に対する抗がん剤の治療効果のサロゲートマーカーとして期待される。 $C(t)$ と K^{trans} や v_e の関係は次式で表される。

$$C(t) = v_p C_p(t) + K^{\text{trans}} \int_0^t C_p(t') e^{-K^{\text{trans}}(t-t')/v_e} dt' \quad [2]$$

v_p : plasma volume

$C_p(t)$: concentration in the blood plasma

K^{trans} : transfer constant

v_e : extravascular extracellular space

2.4.1 縦緩和時間 $T_1(t)$ から $C(t)$ への変換

組織の T_1 値は静磁場強度、温度などにより異なる値をとる。造影剤を投与すると腫瘍内に造影剤が集積し、造影剤の T_1 短縮効果により腫瘍内の T_1 値は次第に短くなり、またそれに対し信号強度 $S(t)$ は上昇する。その時の T_1 値の時間変化を $T_1(t)$ とすると、 $C(t)$ と $T_1(t)$ は非線形の相関関係であることが知られている。Fast low angle shot (FLASH) シーケンスを用いて撮像された DCE-MRI の信号強度は次式で表される。

$$S(t) = k \cdot M_0 \cdot \frac{\left[1 - \exp\left(-\frac{TR}{T_1(t)}\right) \right] \cdot \sin \alpha}{1 - \cos \alpha \cdot \exp\left(-\frac{TR}{T_1(t)}\right)} \cdot \exp\left(-\frac{TE}{T_2^*}\right) \quad [3]$$

$S(t)$: 信号強度の時間変化

k : 比例定数

M_0 : radiofrequency (RF) パルス印加直前の縦磁化成分

α : フリップ角 [$^\circ$]

TR: 繰り返し時間 [s]

$T_1(t)$: 縦緩和時間の時間変化 [s]

TE: エコー時間 [s]

T_2^* : 外部の磁場不均一性も考慮した横緩和時間

また、 $TE \ll T_2^*$ のとき、最後の項は1と近似される。従って、 k, M_0 をまとめて定数 S_0 とした場合、信号強度 $S(t)$ は次式で簡略的に表される。

$$S(t) = S_0 \frac{\left[1 - \exp\left(-\frac{TR}{T_1(t)}\right) \right] \cdot \sin \alpha}{1 - \cos \alpha \cdot \exp\left(\frac{-TR}{T_1(t)}\right)} \quad [4]$$

式 [4] を $T_1(t)$ を求める式に変形すると

$$T_1(t) = -TR \times \left(\ln \frac{S_0 \sin \alpha - S(t)}{S_0 \sin \alpha - S(t) \cos \alpha} \right)^{-1} \quad [5]$$

$C(t)$, $T_1(t)$, $T_{1,0}$, $S(t)$, S_0 の間には式 [1] 及び [5] に示された関係があり、 $C(t)$ を求めるためには DCE-MRI から求められる $S(t)$ 以外に $T_{1,0}$ と S_0 を求める必要がある。

2.4.2 飽和回復 (SR) 法による T_1 値計測方法

ここでは、一般的な T_1 値計測方法を述べる。 T_1 値の計測方法として飽和回復 (saturation recovery: SR) 法が挙げられる。SR 法は spin echo (SE) 系のパルスシーケンスを基に測定され、gradient echo (GRE) 系のパルスシーケンスを用いる VFA 法と比べると、磁場不均一性による影響を受けにくい。なぜなら、SE 系では 180° 再収集パルスを印加するためである。従って SR 法は誤差の小さい T_1 値計測が可能になる。また、SR 法以外の T_1 値計測方法として反転回復 (inversion recovery: IR) 法もある。SR 法は最初に 90° RF パルスを印加するのに対し、IR 法は最初に 180° RF パルスを印加することより、SR 法に比べ誤差の小さい T_1 値計測を可能とする。しかし、SR 法に比べ縦磁化の十分な回復に時間を要するため、計測時間は長くなる欠点がある。

SR 法にて用いられる SE の信号強度 S_{SE} は次式で表わされる。

$$S_{SE} = k \cdot M_0 \cdot \rho \left[1 - \exp\left(-\frac{TR}{T_1}\right) \right] \exp\left(\frac{TE}{T_2}\right) \quad [6]$$

K: 比例定数

M_0 : 90° RF パルス印加直前の縦磁化

ρ : プロトン密度

TE ≪ T₂ の時、最後の項は 1 と近似されるので、T₂ による影響は無視することが出来、k、f(v)、ρ をまとめて定数 S₀ とすると 90° パルスから t の間に回復する縦磁化 S_z は次式で表される。

$$S_z = S_0 \left[1 - \exp\left(-\frac{TR}{T_1}\right) \right] \quad [7]$$

式変形すると、以下のようになり T₁ 値を導出する事が可能になる。

$$T_1 = -\frac{1}{t} \left[\ln\left(1 - \frac{S_z}{S_0}\right) \right]^{-1} \quad [8]$$

本研究ではSR法を基にしたrapid acquisition with relaxation enhancement (RARE) T₁T₂map (Bruker BioSpin GmbH, Ettlingen, Germany) によって導出された T₁ 値を gold standard とした。

2.4.3 VFA 法を用いた T₁ 値の計測法

T₁ 値計測方法には上記で述べたSR法の他にVFA法を用いた方法がある。VFA法はFLASHと言うGREシーケンスを基にしており、時間分解能に優れていることが最大の特長である。FLASHにおける部分フリップ角 (flip angle、以下FA) αにおける信号強度 S(α) は次式で表される。

$$S(\alpha) = k \cdot M_0 \cdot \frac{\left[1 - \exp\left(-\frac{TR}{T_1}\right) \right] \cdot \sin \alpha}{1 - \cos \alpha \cdot \exp\left(-\frac{TR}{T_1}\right)} \cdot \exp\left(-\frac{T_E}{T_2^*}\right) \quad [9]$$

S(α) : FAがαの時の信号強度

α : FA [°]

また、TE ≪ T₂* の時、最後の項は1と近似されるので、k、M₀をまとめて定数S₀とした時、信号強度 S(α) は以下のように簡略的に表せる。

$$S(\alpha) = S_0 \frac{\left[1 - \exp\left(-\frac{TR}{T_1}\right) \right] \cdot \sin \alpha}{1 - \cos \alpha \cdot \exp\left(-\frac{TR}{T_1}\right)} \quad [10]$$

S_0 : 平衡状態の信号強度 (定数)

即ち、FLASHでFA を変えて何度か撮像し、FAごとの信号強度 $S(\alpha)$ を読み取り式 [10] に代入することで未知のパラメータの T_1 値と S_0 を求めることが出来る。*In vivo*計測においては、式 [1] にて用いる造影剤投与前の組織の T_1 値、即ち $T_{1,0}$ 値を求める必要があり、式 [10] の T_1 を $T_{1,0}$ に置き換えた以下の式 [11] を用いる。

$$S(\alpha) = S_0 \frac{\left[1 - \exp\left(-\frac{TR}{T_{1,0}}\right) \right] \cdot \sin \alpha}{1 - \cos \alpha \cdot \exp\left(-\frac{TR}{T_{1,0}}\right)} \quad [11]$$

$T_{1,0}$: 造影剤投与前の T_1 値 [s]

先にも述べたが、VFA法の最大の特長は時間分解能に優れている点である。また、それに加えて、式 [11] を用いることで $T_{1,0}$ と S_0 を同時に求めることが出来ることから、DCE-MRI撮像における造影剤濃度の定量評価においては最も広く用いられる T_1 値導出方法である^[16]。本研究では、ファントムを用いて、SR法にて導出された T_1 値をgold standardとし、最も誤差の小さいVFA法の撮像条件を検討する。

第3章 VFA 法による T_1 値計測における条件検討

3.1 繰り返し時間 (TR) の検討

3.1.1 はじめに

FLASHはTRを容易に短くすることができるので高速撮像に適している。FLASHによるVFA法は高速 T_1 値計測法として広く用いられている^[17]。誤差の小さい T_1 値の導出に加え、撮像時間の短縮も本研究の目的であることから、TRを可能な限り短くすることを考えた。ここで、TRを短縮した結果生じ得るMRIに関する現象を以下に述べる。

(1) 縦磁化の定常状態

$TR \simeq T_1$ の条件で数回RFパルスを繰り返すことで定常状態になり縦磁化 M_z が一定の値に固定される (図3-1)。VFA法で T_1 値を求める際には、縦磁化の定常状態でのscanが望ましい^[18]ため、本研究では、信号収集前に10回のdummy scanを行った。

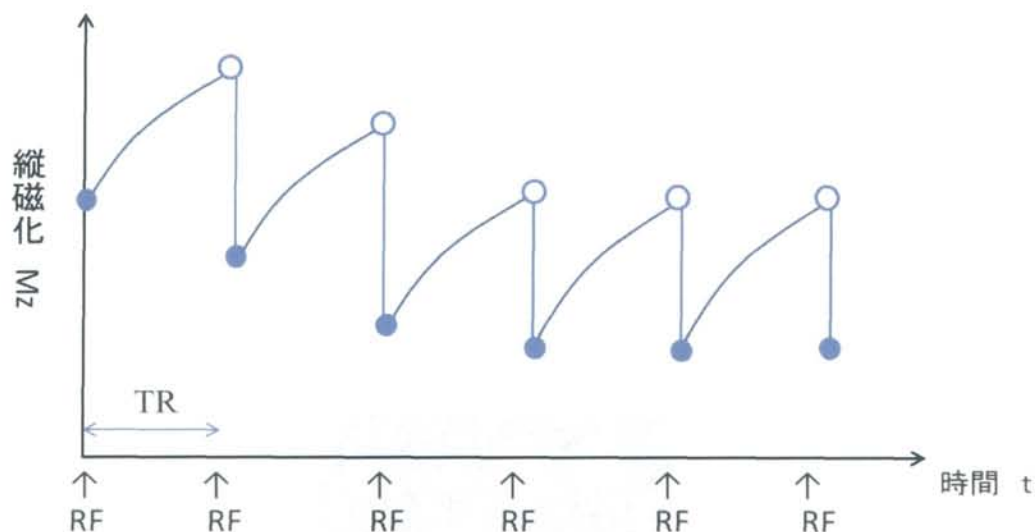


図 3-1 縦緩和回復曲線。RF パルスを数回照射することで縦磁化が定常状態になる。

●は RF パルス照射直後 ○は RF パルス照射直前

本研究では、SR法にて計測した T_1 値をgold standardとし、VFA法においてさまざまなTRで求められた T_1 値を評価し、SR法とVFA法の間の相関を検討した。

3.1.2 方法

(1) MR装置

本研究には、9.4 T 動物用MRI装置 (BioSpec 94/20 USR; Bruker BioSpin GmbH, Ettlingen, Germany) を用いた。信号の送信に72 mm径linearコイル (MRicoil T10325V3; Bruker Bio Spin, Ettlingen, Germany) を用い、受信にはマウス体幹部用8チャンネルマルチarrayコイル (MRicoil T13159V3; Bruker Bio Spin, Ettlingen, Germany) を用いた。

(2) ファントムの作製

脱イオン水100 mLの入ったビーカーにアガロース (A9414-25G, agarose low gelling temperature; Sigma-Aldrich Corp., USA) 1.0 gを入れ懸濁し、加温装置付きマグネティックスターラー (RH basic KT/C; IKA) を用いて70～80℃に加温及び溶解し、1%アガロース溶液を調製した。造影剤はGd-DTPA (マグネビスト®, 92518P; バイエル薬品株式会社, Japan) を用いた。Gd-DTPAを生理食塩水で希釈し、0.312, 0.625, 1.25, 2.50 mMのGd-DTPA溶液を調製し、アルミブロック恒温槽 (DTC-2CN, TAITEC, Japan) を用いて70℃に加温した。次に、アガロース溶液とGd-DTPA溶液を1:1の割合で調製し、最終濃度0.5%アガロースの0.156, 0.312, 0.625, 1.25 mM Gd-DTPA含有アガロースゲルを作製した。ゲルは濃度毎に4 mm NMR管に注入し冷やし固めた。

(3) ファントムの撮像

ファントム挿入時のコイルロードを最適化する観点から、0.9%NaClの生理食塩水を脱イオン水で半分の濃度に調製し0.45%NaCl溶液とした。溶液を15 mLのファルコンチューブに注入し中央に配置した。周りに前項 (2) において作製した4本のNMR管ファントムを左から濃度の高い順にコイル感度域内に配置した (図3-2)。

VFA法を用いNMR管ファントムを撮像した。VFA法におけるFLASHの撮像条件は表3-1の通り。

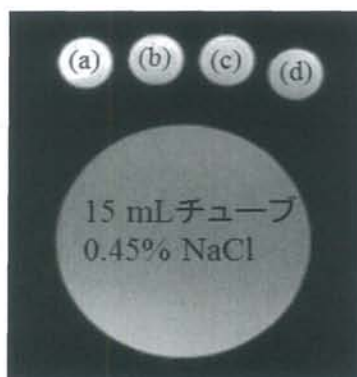


図 3-2 ファントムのMRI。中央には0.45% NaCl 含有ファントム。この上部にそれぞれGd-DTPA 濃度が (a) 1.25 mM、(b) 0.625 mM、(c) 0.312 mM、(d) 0.156 mM の溶液が入ったNMR管ファントムを配置した。

表 3-1 VFA 法の撮像条件

FOV [mm ²]	40 × 40
Matrix	256 × 256
空間分解能 [mm ²]	0.156 × 0.156
スライス数	3
スライス厚 [mm]	1
NEX	1
TR/TE [ms]	37.9, 70, 100, 400 / 2.3
Flip angle [°]	8, 15, 30, 60

T₁値のgold standardとなるSR法の撮像条件は、TR/TE = 105, 305, 705, 1405, 2905, 5405 /10 ms、256 × 256 マトリクス、0.156 × 0.156 mm²、40 × 40 mm² FOV、スライス厚 1.0 mm 、NEX 1とした。

(4) 画像解析

撮像した画像上で各濃度のファントムの中心になるべく大きなROI を設定した。ROIの信号強度 S(α) を濃度毎・FA毎に測定した。市販のソフトウェアであるカレイダグラフ (KaleidaGraph, version 4.1J, ヒューリンクス,Tokyo) を用いて、縦軸を信号強度、横軸をFAとして測定結果をプロットした。次に、式 [10] を回帰曲線の定義として計測結果の分布に最適な曲線を計算することでT₁値及びS₀を導出した。更に、計算された曲線がどれだけよく元のデータに当てはまっているかを表す相関係数Rを、ピアソンの相関係数式 [12] に基づいて導出した。

$$R = \frac{N \sum x_i y_i - \sum x_i \sum y_i}{\sqrt{N \sum x_i^2 - (\sum x_i)^2} \sqrt{N \sum y_i^2 - (\sum y_i)^2}} \quad [12]$$

次に、Gd-DTPA濃度が0.156から1.250 mMまでの4段階のファントムのT₁値について、VFA法及びSR法で導出した値と比較し両者の相関を示す重回帰係数を式 [13] より市販のソフトウェア (Excel 2010, ver. 14.0.7128.5000, Microsoft Corporation, Tokyo) を用いて求めた。

$$\text{correl}(X,Y) = \frac{Z(x-\bar{x})(y-\bar{y})}{\sqrt{Z(x-\bar{x})^2} \sqrt{Z(y-\bar{y})^2}} \quad [13]$$

3.1.3 結果

図3-3にTRを37.9 ms及び400 msに設定したFLASHでGd-DTPA濃度0.156 mMファントムをFAを変化させながら撮像した信号強度変化を示した。曲線は式 [10] に基づいた信号変化の近似曲線で、それらの相関係数はそれぞれ0.913、1.000であった。また、それぞれから求め

られた T_1 値は404 ms、668 msであった。

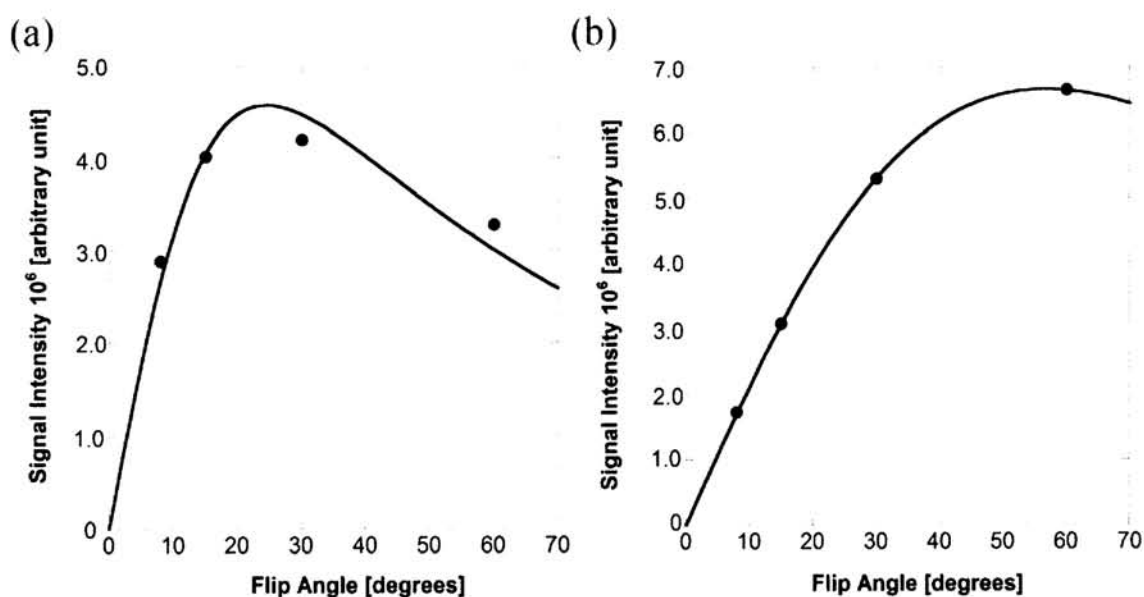


図 3-3 TR 37.9 ms (a) 及び TR 400 ms (b) に設定した FLASH における FA と 0.153 mMGd-DTPA ファントムの信号強度の関係。

4種類の造影剤濃度のファントムについて、4つの異なるTRのVFA法を用いて導出された測定データとの近似曲線の間の相関係数 R を表3-2に示した。TRが短い程また造影剤濃度が低い程、相関係数は低くなった。即ち造影剤濃度が高いほど T_1 値は小さい値を取るの、 TR/T_1 が小さい程、相関係数は低くなる傾向にあると言える。

表 3-2 カーブフィッティング時の相関係数 R

濃度 [mM]	TR [ms]			
	37.9	70.0	100.0	400.0
0.156	0.913	0.982	0.994	1.000
0.312	0.986	0.998	0.999	1.000
0.625	0.997	0.999	0.999	1.000
1.250	1.000	1.000	1.000	1.000

VFA法で求めた T_1 値とSR法で求めた T_1 値との比較及び両者の相関の結果を図3-4に示した。両者の間には一次の相関関係が認められた。グラフに示すとおりVFA法のTRが400 msでは直線近似式の傾きが1に近いことが示された。一方、TRを短くすると直線近似式の傾きは1より小さくなり、これはVFA法による T_1 値の過小評価となり得ると考えられた。また、VFA法、SR法で求めた T_1 値の相関の重回帰係数はTRが400 msの時、他と比較し低い値を示した。

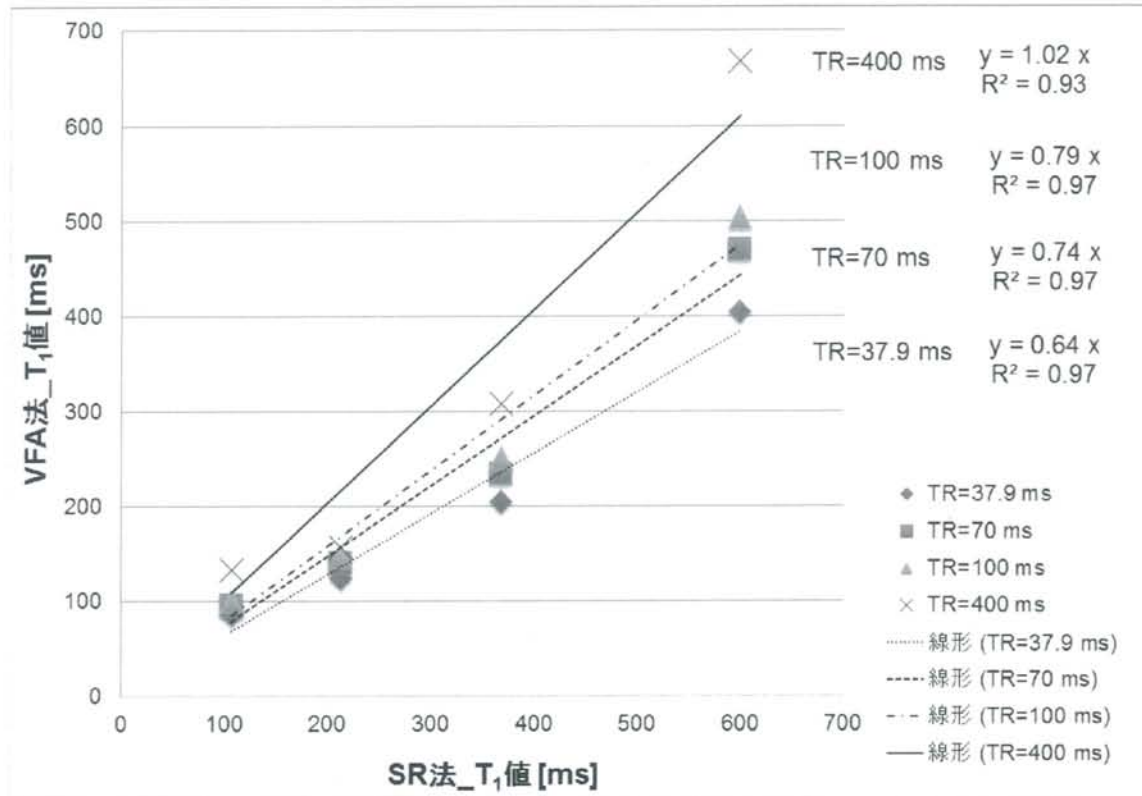


図3-4 SR法のT₁値とVFA法のT₁値との相関

3.1.4 考察

VFA法では撮像条件を変えることにより異なるT₁値が導出される事が実証された。また、撮像時間については、SR法は18分15秒であったのに対し、VFA法ではTR = 37.9 msの時は20秒、TR = 70 msの時は40秒、TR = 100 msの時は60秒、TR = 400 msの時は3分45秒と、短時間撮像でT₁値の測定が可能であった。

これまでの結果より、短いTRにおいて式 [10] に基づいてカーブフィッティングをした際、FAの変化に対する信号強度のプロットがカーブから外れていることが明らかとなった。FLASHシーケンスにおける信号強度を表す式 [10] の成立条件はT₁ ≪ TRであり、一般的にTRは縦磁化が十分に回復する5T₁が良いとされている。図3-5に、式 [10] においてα = 60、T₁ = 600、TR = t、S₀ = 1としたグラフを示した。この場合、sin(π/3) ≒ 0.866なので S(α) の最大値は0.866であり、この時縦磁化が完全回復したと言える。図より、縦磁化が十分に回復したのは、およそTR = 3000 msのときと考えられる。このことから短いTRにおいてはカーブフィッティングした時、相関係数の低下が起こるものとする。しかし、TR = 3000 msでVFA撮像した場合、計算上約30分もの時間が必要になるため、VFA法の長所である高速T₁値計測を活かすことは出来ない。このためTRの延長以外の手法による誤差の解消が今後の課題であると考えられた。

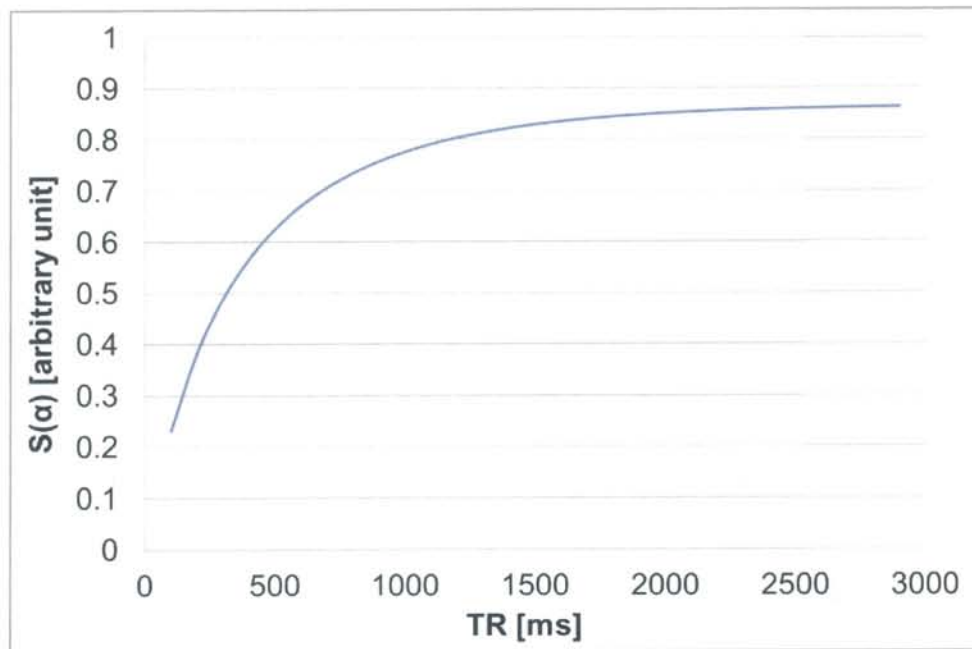


図 3-5 FA60°、 T_1 値 600 ms の時の縦緩和回復曲線

TRが37.9 msから400 msまでのVFA法で導出された T_1 値は図3-4に示す通り、SR法にて導出された T_1 値とVFA法にて導出された T_1 値は直線近似が得られ、TRが長いほど傾きが1に近づくことからSR法と誤差の小さい T_1 値が導出されることが示された。これはFramらによるファントム計測^[21]からも示された結果と一致する。

しかし、VFA法とSR法で導出された T_1 値の相関の重回帰係数はTR = 400 msの時低く、TR = 400 msで測定した際の T_1 値の誤差が懸念される。VFA法による T_1 値の測定はTRが長いことが望ましいと考えられたが、VFA法とSR法で導出された T_1 値の相関の一致度についてはそれに反する結果であった。

その問題点の原因として

(i) B_1 不均一性の影響

(ii) 2D収集によるスライスプロファイルの影響

が考えられ、解消に向け検討が必要であると考えられた。

そこでまず B_1 不均一性の補正を行い、 B_1 不均一性の補正前後で T_1 値の比較を行った^[22]。次に2D収集と3D収集でFLASHシーケンスを用いてVFA法を行い、両者で求められる T_1 値の比較をすることが必要と考えられた。

3.1.5 結論

VFA法はSR法に比べ T_1 値の高速計測が可能であった。

TRを変化させてVFA法を施行したところ短いTRにおいて T_1 値測定のカーブフィッティングの相関が低くSR法の T_1 値と比べ過小評価する傾向にあった。一方、TR = 400 msでSR法の T_1 値とVFA法の T_1 値を直線近似した直線の重回帰係数は低くなった。

3.2 B₁ 不均一性の検討

3.2.1 はじめに

3.1においてVFA法にて導出されたT₁値とSR法にて導出されたT₁値とは直線関係にあったが、TRを長く設定するに従い重回帰係数が低く導出された。その原因の一つとして、ファントムの位置の違いによるB₁不均一性を考えられた。B₁不均一性及び補正方法について以下に述べる。

GREシーケンスにて照射されるRFパルスの強さを表す高周波送信磁場をB₁とした時、FA α [radians] は式 [14] にて表される。

$$\alpha = \gamma B_1 t \quad [14]$$

γ: 磁気回転比 [radians·s⁻¹·T⁻¹]

B₁: 高周波送信磁場 [T]

t: 照射時間 [sec]

式 [14] よりB₁の強度がFAを決定する。MRI信号はFA = π/2 [rad] (= 90°) の時に最大になることを利用して、被写体全体の信号強度が最も大きくなったときのB₁強度を計測し、この時の値をFA90° 条件としてキャリブレーションを行う。しかし、スライス面に均一にRFパルスを照射できるとは限らず、例えば装置にFA60° を入力しても実際に作用するFAは50° や70° になりうる「B₁不均一性」という特性がある。これは送信コイルの形態、性能やコイルと撮像部位の距離、RF周波数、被写体の大きさなどに依存する^[23]。特に 3.0 T 以上の高磁場装置ではB₁不均一性の影響が大きいことがわかっている^[24]。このB₁不均一性によりファントムの位置によって照射されるRFパルスの大きさに誤差が生じた結果、T₁値の定量性に誤差が生じると言われている^[25]。

従って、B₁不均一性は補正することが望ましいが、これはB₁強度の分布を知ることによって可能となる。補正のスタンダードな方法としてdouble angle method (DAM) がある^[26, 27]。DAMは1933年にInskoらにより提案された方法である。DAMはGREシーケンスにおける任意のFA α₁で撮像した画像とその2倍のFA α₂を入力しGREシーケンスを用いて得られた画像からB₁強度分布を計算する。FA α₁とFA α₂で撮像した時の信号強度の理論式は式 [15] で求められる。

$$\begin{aligned} S(\alpha_1) &= S_0 \sin \alpha_1 \\ S(\alpha_2) &= S_0 \sin \alpha_2 \end{aligned} \quad [15]$$

S₀は定数でT₁及びT₂緩和時間により決定される。実際に印加されたFAをα₁' (以下、実効

FA) とする。 $\alpha_2 = 2\alpha_1$ であることを利用して二つの信号強度の比 $S(\alpha_1')/S(\alpha_2')$ を計算すると、式 [16] の様に計算される。

$$\frac{S(\alpha_1')}{S(\alpha_2')} = \frac{S(\alpha_1')}{S(2\alpha_1')} = \frac{\sin \alpha_1'}{2 \sin \alpha_1' \cos \alpha_1'} = \frac{1}{2 \cos \alpha_1'} \quad [16]$$

式 [16] を変形することで、実効FAを導出することが出来る。

$$\alpha_1' = \arccos \left(\frac{S(\alpha_2')}{2S(\alpha_1')} \right) \quad [17]$$

次に、式 [14] のFAに式 [17] の実効FAを代入すると次式より B_1 強度を求めることが可能になる。

$$B_1 = \frac{1}{\gamma t} \arccos \left(\frac{S(\alpha_2')}{2S(\alpha_1')} \right) \quad [18]$$

本研究では同一面内で異なる位置に配置した同一濃度のファントムの T_1 値を B_1 不均一性の補正前後で導出し、更にファントム間の T_1 値の変動係数を導出することで、 B_1 不均一性の補正が T_1 値の導出精度の向上に寄与するか比較・検討を行った。

3.2.2 方法

(1) MR装置

本研究には、9.4 T 動物用MRI装置 (BioSpec 94/20 USR; Bruker BioSpin GmbH, Ettlingen, Germany) を用いた。信号の送信に72 mm径linearコイル (MRicoil T10325V3; Bruker Bio Spin, Ettlingen, Germany) を使い、受信にはマウス体幹部用8チャンネルマルチarrayコイル (MRicoil T13159V3; Bruker Bio Spin, Ettlingen, Germany) を用いた。

(2) ファントムの作製

脱イオン水100 mLの入ったビーカーにアガロース3.0 gを入れ懸濁し、加温装置付きマグネティックスターラーを用いて70～80℃で加温及び溶解し、3%アガロース溶液を調製した。Gd-DTPAを生理食塩水で希釈し2.0 mMのGd-DTPA溶液を調製し70℃に加温した。次に、アガロース溶液とGd-DTPA溶液を1:1の割合で調製し、最終濃度1.5%アガロースの1.0 mM Gd-DTPA含有アガロースゲルを作製した。ゲルは2 mm径キャピラリーチューブ (ringcaps® 100/200 μ L, 845356, Hirschmann Laborgeräte GmbH & Co. KG, Germany) に注入し固めた。同一のファントムを計6本作製した。

(3) ファントム撮像

ファントム挿入時のコイルロードを最適化する観点から、0.9%NaClの生理食塩水を脱イオン水で半分の濃度に調製し0.45%NaCl溶液とした。溶液を15 mLのファルコンチューブに注入し中央に配置した。周りに前項 (2) において作製した6本のキャピラリーチューブファントムをコイル感度域内に配置した (図3-6)。

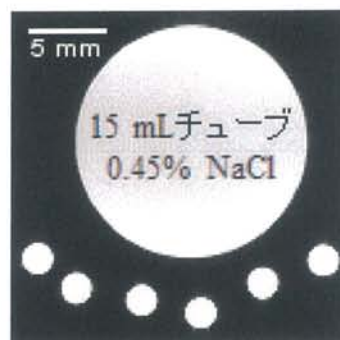


図 3-6 ファントムの MRI。中央には 0.45% NaCl 含有ファントム。この下部に NMR 管を 6 本配置した。

VFA法を用いキャピラリーチューブファントムを撮像した。VFA法におけるFLASHの撮像条件は表3-3に示した。

次に式 [17] を用いた B_1 不均一性の補正をするためのGREシーケンスの任意の二つの $FA\alpha_1$ 及び α_2 を 30° 、 60° とした。GREシーケンスの収集条件は3D収集のmulti - gradient - echo (MGE) シーケンスを用いた。撮像条件は、 $TR/TE = 1200/3.76$ ms、 $128 \times 128 \times 25$ マトリクス、 $20 \times 20 \times 75$ mm³ FOV、NEX 1とした。撮像時間は一つのFAあたり64分かかり、合計で128分を要した。この撮像を4回行った。

T_1 値のgold standardとなるSR法の撮像条件は、 $TR/TE = 105, 305, 705, 1405, 2905, 5405/10$ ms、 128×128 マトリクス、 20×20 mm² FOV、スライス厚 1.0 mm、NEX 1で撮像し、4回計測した。

表 3-3 VFA 法の撮像条件

FOV [mm ²]	20 × 20
Matrix	128 × 128
空間分解能 [mm ³]	0.156 × 0.156
スライス数	1
スライス厚 [mm]	1
NEX	1
TR/TE [ms]	37.9, 400 / 2.3
Flip angle [°]	5, 10, 15, 20, 60

(4) 画像解析

実効FAを求めるために撮像した任意のFAが30° 及び60° の二つの3D MGEシーケンスの画像をWindowsベースのPCへ転送し、汎用の画像ビューワーImageJソフトウェア (ImageJ version 1.44p; National Institutes of Health, USA) とExcelを用いて解析した。解析では、式 [17] に従ってExcel上にて実効FAをvoxel-by-voxel basisで計算をした (図3-8)。

手順として、まず、3D MGE シーケンス画像の FA30° (a) と FA60° (b) の画像を ImageJ 上で開く。次に FA30° の画像の信号強度に 2 を乗じ (c)、先ほど開いた FA60° の画像を除する (d)。更に arccos の計算を行い、radian から degree に変換することで実効 FA が導出される (e)。この場合、任意の α_1 の大きさを 30° に設定していることから、30° に近い程正確な大きさで RF パルスが印加されていると言える。画像 (e) の場合は、左に行くほど強く RF パルスが印加されており、ファントム位置によって B₁ 不均一性があることが分かる。

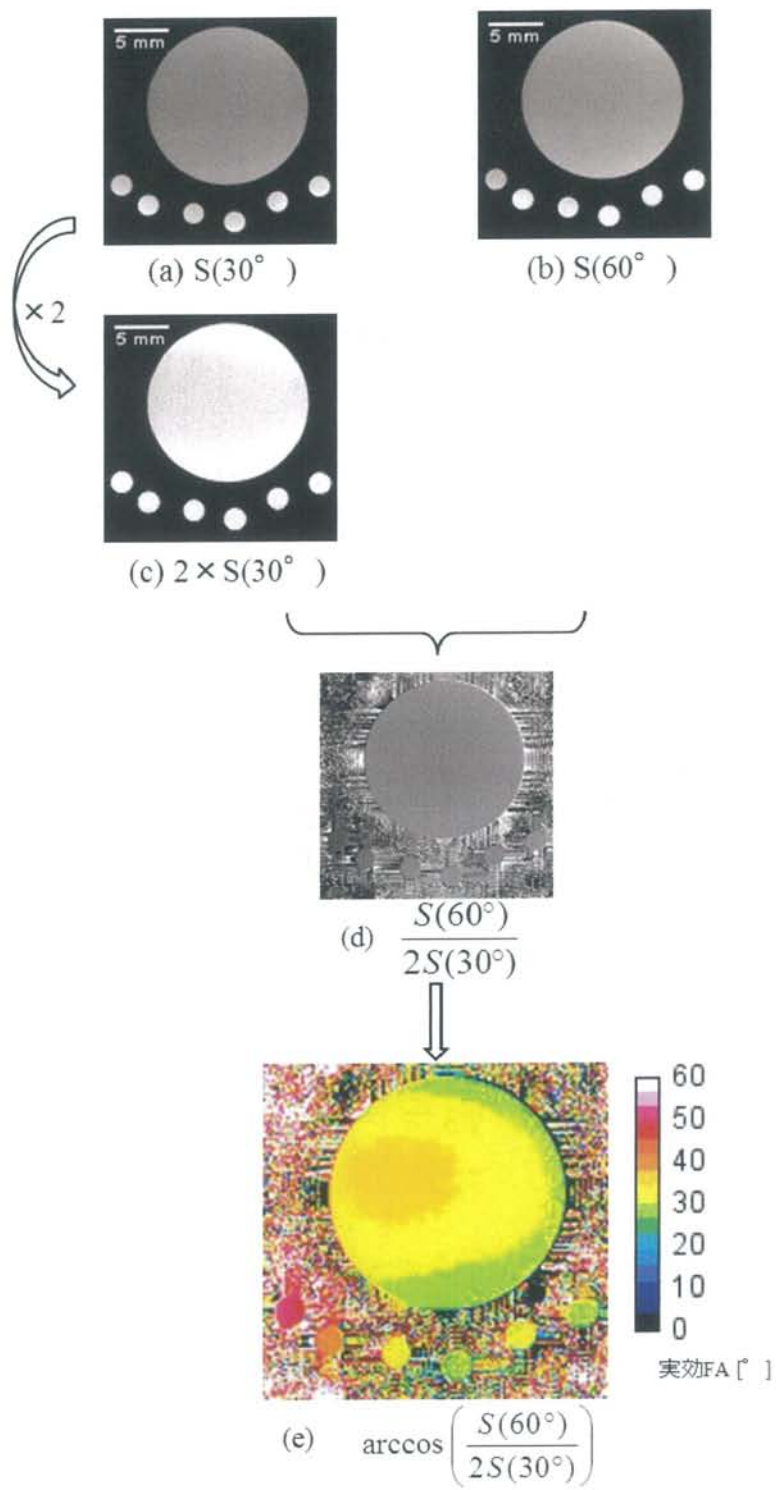


図 3-7 DAMによる実効FAの導出手順。

図3-7の (e) まで計算終了後、6本のファントムになるべく大きなROIを設定し、左からROI 1として全ROI 6までImageJ上で囲み、ROI毎に実効FAを求めた。

補正前の T_1 値の導出の際、VFAの式 [10] のFAにはそれぞれの入力FAを代入しカレイダグラフを用いて求めた。補正後の T_1 値の導出には式 [19] に入力FAと実効FAを代入し、ファントム毎に補正後のFAを求めた。

$$\text{補正後FA [degrees]} = \text{入力FA [degrees]} \times \frac{\text{実効FA [degrees]}}{30 \text{ [degrees]}} \quad [19]$$

導出された補正後FAを式 [10] に代入し、補正前と同様に T_1 値を求めた。1回の撮像につき1回実効FAを導出し、4回撮像を行ったので、1つのROIにつき4回分の実効FA並びに T_1 値の平均を導出した。

最後に、6本全てのファントムの T_1 値及び標準偏差の4回計測分の平均値を求めた。導出されたSR法及びVFA法の補正前後の T_1 値との誤差 [%] を式 [20] に従って求めた。

$$\text{誤差[\%]} = \frac{|\text{VFA法の} T_1 \text{値[ms]} - \text{SR法の} T_1 \text{値[ms]}|}{\text{SR法の} T_1 \text{値[ms]}} \times 100 \quad [20]$$

また、標準偏差 s の4回計測の平均値は式 [21] に従って求めた。

$$\sqrt{\frac{1}{3} \sum_{i=1}^4 s_i^2} \quad [21]$$

更に式 [21] に従ってSR法とVFA法におけるファントム間の T_1 値の変動係数を求めた。

$$\text{変動係数} = \frac{T_1 \text{値の標準偏差}}{T_1 \text{値の平均値 [ms]}} \quad [22]$$

3.2.3 結果

ROI毎の実効FAの4回平均を図3-8に示した。

図3-9に補正前及び補正後のカレイダグラフを用いて信号強度をプロットした図を示した。補正の前後で異なる T_1 値が導出された。B₁補正前後から求められた T_1 値はそれぞれ193 ms、135 msであった。

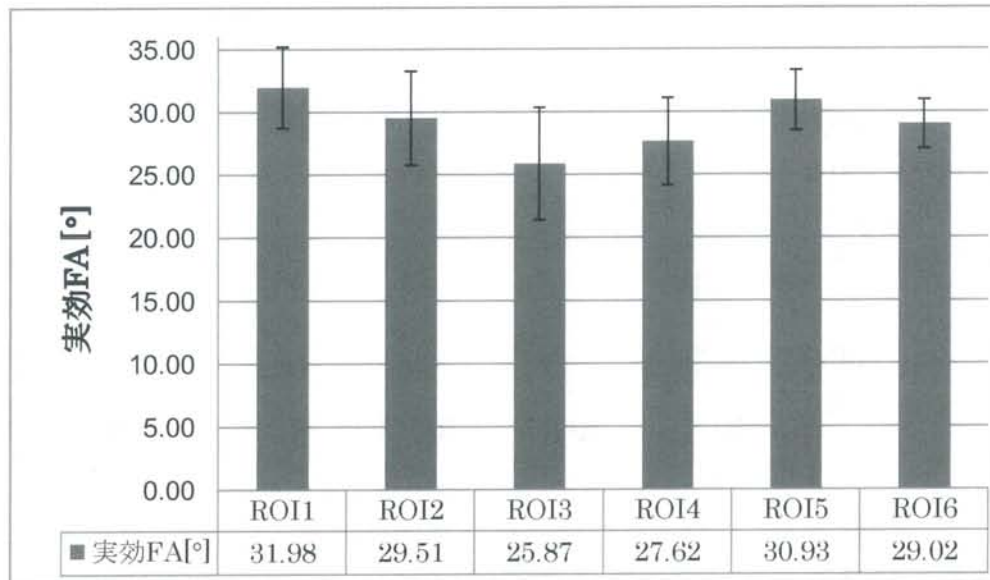


図 3-8 ROI 毎の平均実効 FA。エラーバーは 1SD (n = 4)。

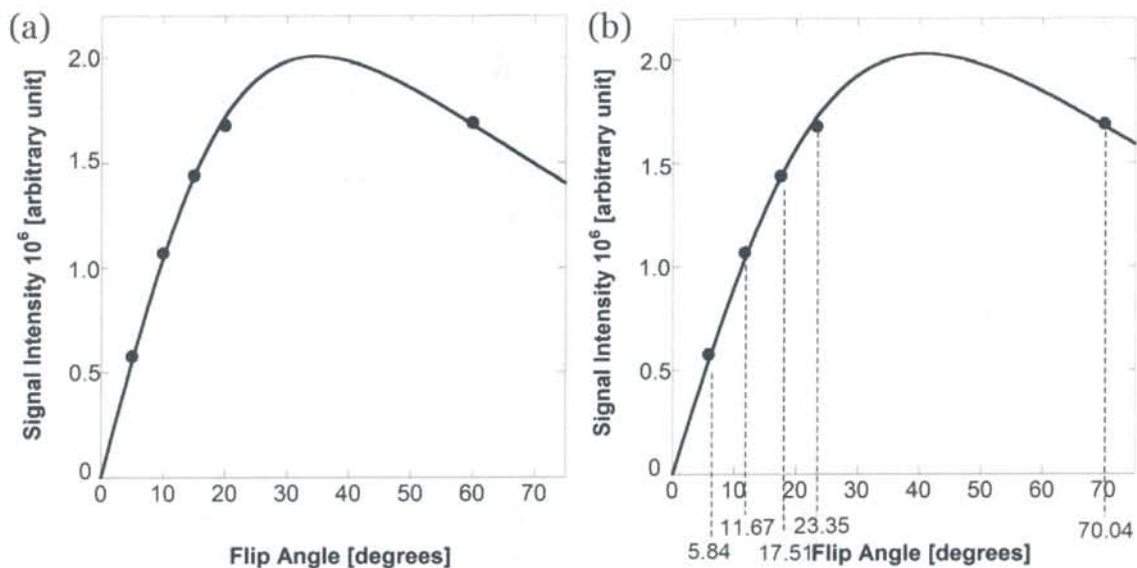


図 3-9 ROI1 の TR = 37.9 ms における FA の変化に対する信号強度の変化のプロットと式 [10] に基づいたカーブフィッティング。(a) は補正前のカーブフィッティングで横軸の FA は入力 FA である 5, 10, 15, 20, 60 [°] をプロットしている。(b) は補正後のカーブフィッティングで横軸の FA は式 [19] にて導出された補正後 FA である 5.84, 11.67, 17.51, 23.35, 70.04 [°] にプロットしている。

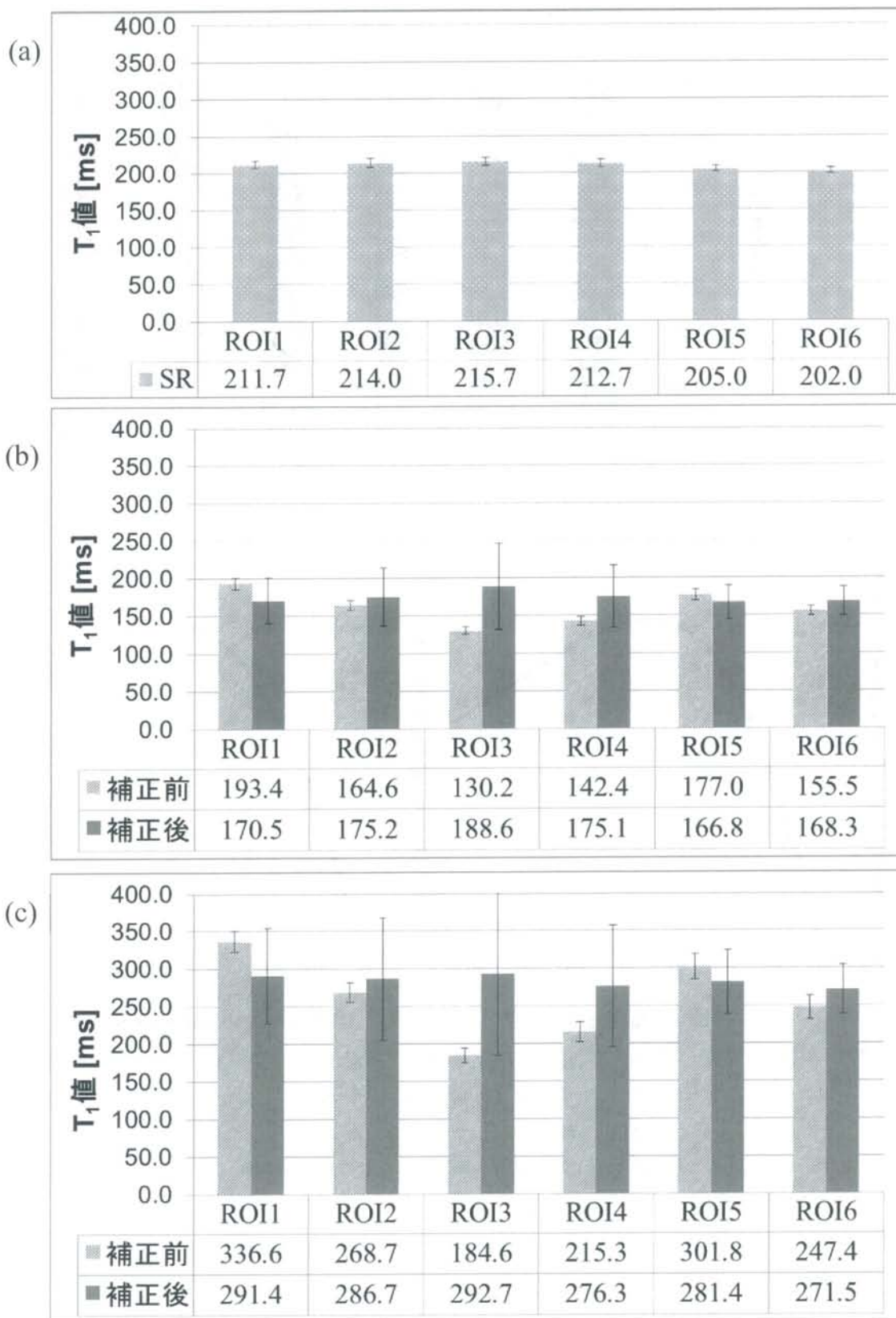


図 3-10 SR 法から導出されたファントムの T_1 値 (a) 及び $TR=37.9$ (b) 、 $TR=400$ ms (c) の VFA 法から求められた補正前、補正後の T_1 値。エラーバーは 1SD ($n=4$)。

表 3-4 SR 法における ROI 1～6 の平均 T_1 値、標準偏差、変動係数

平均 T_1 値 [ms]	標準偏差	変動係数
210.08	5.95	0.028

表 3-5 VFA 法 $TR = 37.9$ ms における ROI 1～6 の平均 T_1 値、SR 法の T_1 値との誤差、標準偏差、変動係数

	平均 T_1 値 [ms]	誤差 [%]	標準偏差	変動係数
補正前	153.20	27.08	35.35	0.231
補正後	169.67	19.24	26.72	0.157

表 3-6 VFA 法 $TR = 400$ ms における ROI 1～6 の平均 T_1 値、SR 法の T_1 値との誤差、標準偏差、変動係数

	平均 T_1 値 [ms]	誤差 [%]	標準偏差	変動係数
補正前	240.40	14.43	87.78	0.365
補正後	270.22	28.62	46.89	0.174

表 3-4～3-6 より VFA 法の $TR = 37.9, 400$ ms の時の T_1 値の変動係数を比較すると、補正により変動係数の減少が見られた。しかし、VFA 法では補正の有無に関わらず、SR 法の変動係数より大きな値となった。

図 3-11 に SR 法と VFA 法における補正前後の T_1 値の棒グラフを示した。また、 $TR = 37.9$ 及び 400 ms の時、補正前後で T_1 値を比較すると有意差は無かった。

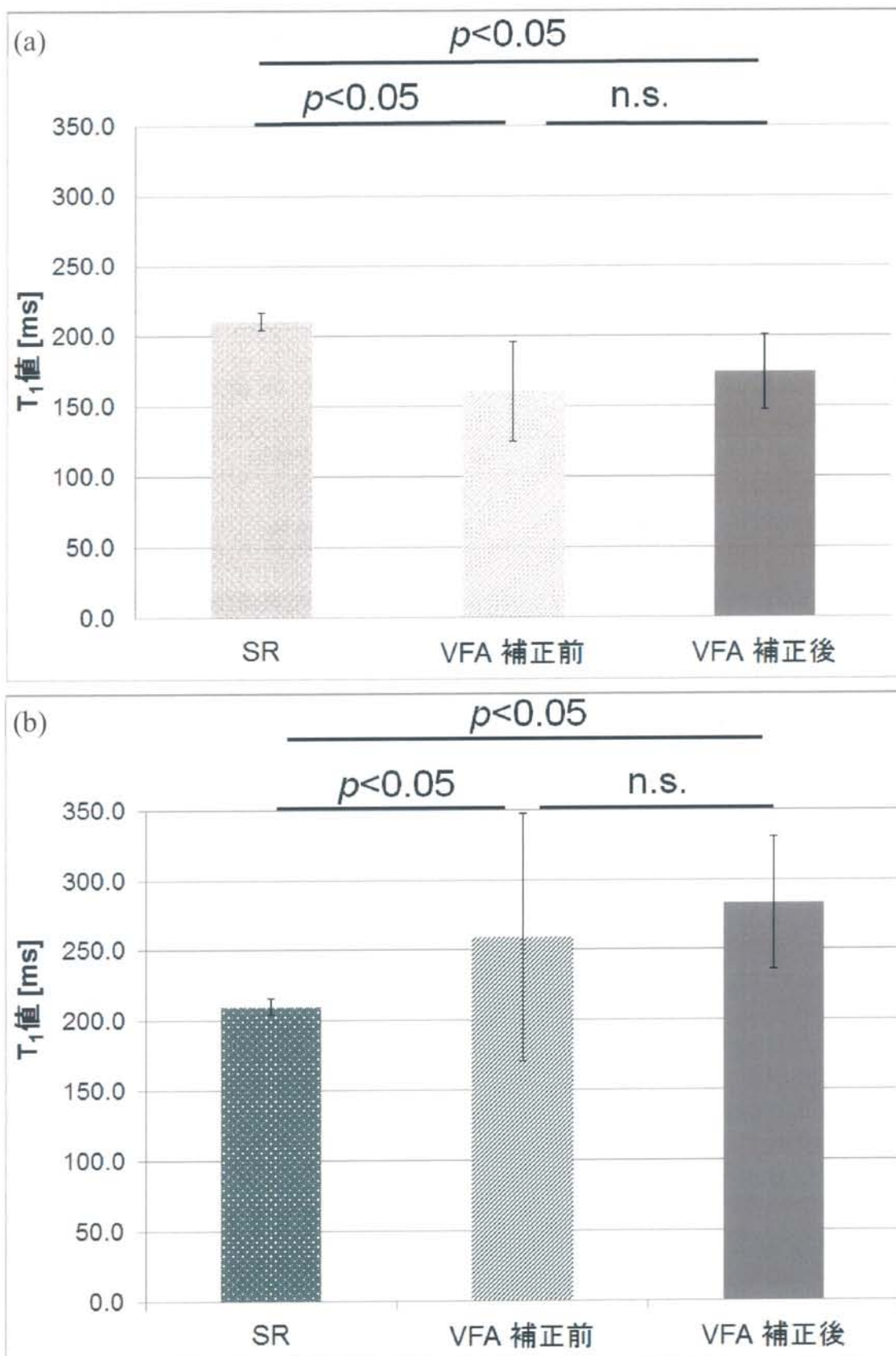


図 3-11 SR 法と VFA 法の補正前後の T₁ 値の比較。(a) は TR = 37.9 ms の時の VFA 法。(b) は TR = 400 ms の時の VFA 法である。エラーバーは標準偏差の 4 回計測の平均値。

3.2.4 考察

実際に印加されたFAはファントムの位置により異なり、同じGd-DTPA濃度であっても異なる T_1 値が導出された。この T_1 値のばらつきは B_1 不均一性の補正により減らせ得ることが知られている^[25]。実際に、今回補正を行うことで T_1 値の変動係数を減少させることが可能であった。しかし、SR法の変動係数程の減少には至らなかった。また T_1 値の誤差が小さくなるとは限らないことが判明した。このことから、 B_1 不均一性を補正することが必ずしも有用であるとは考えにくい。

今回の実験において補正をする為の撮像に約2時間を必要とした。この補正は撮像対象が変わる毎に撮像しなければならず、仮にマウスを対象とすると、1匹のマウスにつき最低2時間以上の撮像を要する。そのため、VFA法の長所である高速 T_1 値計測を活かせず、SR法にて T_1 値計測を行った方が短時間、且つ、小さい変動係数で計測可能となることを意味する。このことから B_1 不均一性の補正は本研究の目的である時間分解能の観点からもふさわしい手法とは言えない。

3.2.5 結論

B_1 不均一性の補正を行うことで T_1 値のばらつき、即ち変動係数を減少させることに成功した。しかし、SR法の変動係数ほどの改善は見られなかった。また、VFA法の T_1 値の導出精度の改善には寄与せず、更に長い撮像時間を要した。これらの事から、 B_1 不均一性の補正は、3.1における問題点であった T_1 値の誤差の改善の解決策としてふさわしいとは言えないと思われた。

3.3 収集条件の変更による条件検討

3.3.1 はじめに

3.1にてVFA法によって導出された T_1 値の誤差の原因として2D収集によるスライスプロファイルの影響が考えられた。そこでFLASHシーケンスの収集条件を2D収集から3D収集に変更した。図3-12にてFLASHのパルスシーケンスを示した。2D FLASHはRFパルスによる励起と同時にスライスグラジエントを印加するが、3D FLASHではこれを印加せず、2方向のphaseエンコードグラジエントを利用して画像収集を行う。3D FLASHでは励起ごとに被写体全体からの信号を取得しているためsignal-to-noise-ratio (SNR)が高く、更にスライスプロファイル効果の影響を回避することが可能となる。一方、2D FLASHにおいて矩形のスライスの取得には無限の印加時間を必要とするため、理論的に矩形のスライスを得ることは不可能である^[28, 29]。この影響は信号強度の誤差を生じさせ、 T_1 値の導出誤差の要因になると考えられる。

本研究ではまず、同一濃度のファントムの T_1 値を2D及び3D FLASH撮像したVFA法より導出した。SR法にて導出された T_1 値をgold standardとし、VFA法の T_1 値との有意差

を検討した。次に、濃度勾配のあるファントムの T_1 値を 2D 及び 3D FLASH 撮像した VFA 法より導出した。SR 法にて導出された T_1 値を gold standard とし、SR 法と 2D 及び 3D FLASH による VFA 法で求められた T_1 値を評価し、SR 法と VFA 法の相関性を検討した。

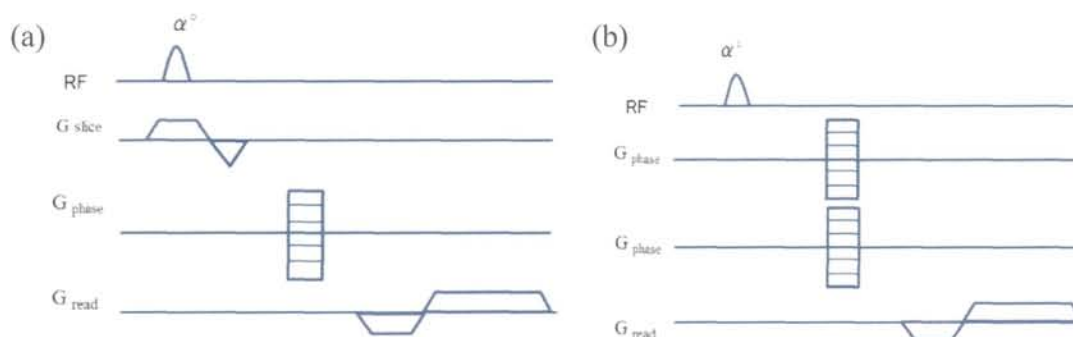


図 3-12 (a) 2D FLASH のパルスシーケンス、(b) 3D FLASH のパルスシーケンス

3.3.2 方法

[実験 1] 2D 及び 3D FLASH 撮像した VFA 法による T_1 値の比較

(1) MR装置

本研究には、9.4 T 動物用MRI装置 (BioSpec 94/20 USR; Bruker BioSpin GmbH, Ettlingen, Germany) を用いた。信号の送信に72 mm径linearコイル (MRicoil T10325V3; Bruker Bio Spin, Ettlingen, Germany) を用い、受信にはマウス心臓用4チャンネルarrayコイル (MRicoil T11426V3; Bruker Bio Spin, Ettlingen, Germany) を用いた。

(2) ファントムの作製

脱イオン水100 mLの入ったビーカーにアガロース3.0 gを入れ懸濁し、加温装置付きマグネティックスターラーを用いて70~80°Cで加温及び溶解し、3%アガロース溶液を調製した。次に100 mLの生理食塩水を加え、最終濃度1.5%のアガロースゲルを作製した。ゲルは2 mm径キャピラリーチューブに注入し冷やし固めた。同一のファントムを計6本作製した。

(3) ファントム撮像

0.9%NaClの生理食塩水を脱イオン水で半分の濃度に調製し0.45%NaCl溶液とした。溶液を15 mLのファルコンチューブに注入し中央に配置した。周りに前項 (2) において作製した6本のキャピラリーチューブファントムをコイル感度域内に配置した (図3-13)。

NMR管ファントムを2D及び3D FLASH撮像し、VFA法を施行した。FLASHの撮像条件は表3-7に示した。

T_1 値の gold standard となる SR 法の撮像条件は、 $20 \times 20 \text{ mm}^2$ FOV、 256×256 マトリクス、 $0.078 \times 0.078 \text{ mm}^2$ 空間分解能、スライス厚 2.5 mm、スライス数1、TR/TE = 105, 305, 705, 1405, 2905, 5405 / 10 msで撮像した。

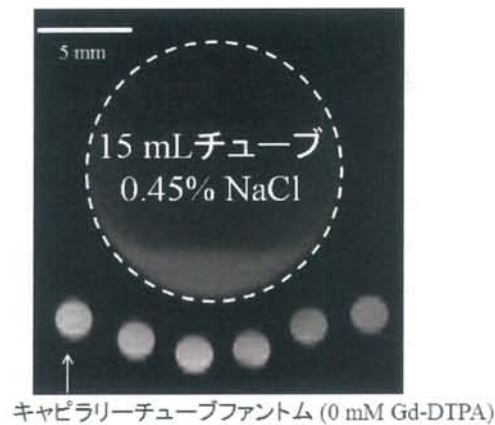


図 3-13 ファントムのMRI。点線は0.45% NaCl 含有ファントム。この下部にキャピラリーチューブファントム6本を配置した。

表 3-7 VFA 法の撮像条件

	2D FLASH	3D FLASH
FOV [mm ³]	20 × 20	20 × 20 × 40
Matrix	256 × 256	256 × 256 × 32
空間分解能 [mm ³]	0.078 × 0.078	0.078 × 0.078 × 1.250
スライス数	1	8
スライス厚 [mm]	2.50	1.25
NEX		1
TR/TE [ms]		400 / 2.3
Flip angle [°]	5, 10, 15, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90	

(4) 画像解析

2D及び3D FLASHで撮像した画像上にて各ファントムになるべく大きなROIを設定した。信号強度はファントム毎及びFA毎に読みとった。式 [10] に基づき市販のソフトウェアのカレイダグラフを用いてカーブフィッティングを行い、 T_1 値及び S_0 を導出した。次に、相関係数Rを式 [12] に基づきカーブフィッティング時のRを導出した。

SR法の T_1 値と比較するため、SR法、2D及び3D FLASHによるVFA法で導出された6つのROIの T_1 値の平均値の有意差をTukey検定によって市販のソフトウェア (IBM SPSS Statistics, Version.22, International Business Machines Corp., USA) を用いて調べた。有意水準は5%と定めた。

[実験 2] 2D 及び 3D FLASH 撮像した VFA 法による r_1 直線の比較

(1) MR装置

本研究には、9.4 T 動物用MRI装置 (BioSpec 94/20 USR; Bruker BioSpin GmbH, Ettlingen, Germany) を用いた。信号の送信に72 mm径linearコイル (MRicoil T10325V3; Bruker Bio Spin,

Ettlingen, Germany) を用い、受信にはマウス心臓用4チャンネルarrayコイル (MRicoil T11426V3; Bruker Bio Spin, Ettlingen, Germany) を用いた。

(2) ファントムの作製

脱イオン水100 mLの入ったビーカーにアガロース3.0 gを入れ懸濁し、加温装置付きマグネティックスターラーを用いて70～80℃で加温及び溶解し、3%アガロース溶液を調製した。造影剤はGd-DTPAを用いた。生理食塩水で希釈し0.2, 0.4, 0.8 mMのGd-DTPA溶液を調製しアルミブロック恒温槽を用いて70℃に加温した。アガロース溶液とGd-DTPA溶液を1:1の割合で調製し、最終濃度1.5%のアガロースの0.1, 0.2, 0.4 mM Gd-DTPA含有アガロースゲルを作製した。ゲルはGd-DTPA濃度毎に0.5 mLマイクロチューブに注入し冷やし固めた。

(3) ファントム撮像

前項 (2) にて作製したマイクロチューブファントム3本をコイル上に図3-14のように配置しFLASH撮像した。VFA法における2D及び3D FLASHの撮像条件は表3-8の通り。

T₁値のgold standardとなるSR法の撮像条件は、TR/TE = 105, 305, 705, 1405, 2905, 5405 /10 ms、128 × 64 マトリクス、0.156 × 0.156 mm²、40 × 20 mm² FOV、スライス厚 2.5 mm、NEX 1で撮像した。

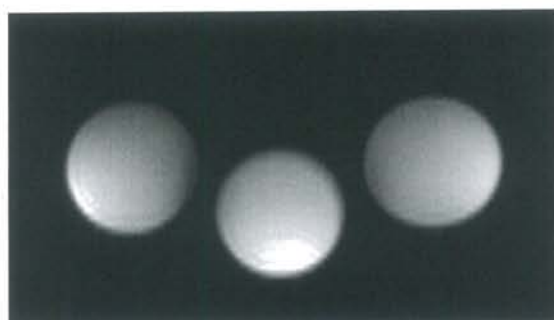


図 3-14 ファントムの MRI。Gd-DTPA 濃度は左から 0.1 mM、0.2 mM、0.4 mM にマイクロチューブファントムを配置した。

表 3-8 VFA 法の撮像条件

	2D FLASH	3D FLASH
FOV [mm ³]	40 × 20	40 × 20 × 30
Matrix	256 × 64	256 × 64 × 8
空間分解能 [mm ³]	0.156 × 0.312	0.156 × 0.312 × 3.750
スライス数	1	8
スライス厚 [mm]	3.75	3.75
NEX	1	
TR/TE [ms]	100 / 2.3	
Flip angle [°]	5, 10, 15, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90	

(4) 画像解析

実験1と同様にGd-DTPA濃度が0.1から0.4 mMまでの3段階の濃度のファントムの T_1 値を、SR法と2D及び3D FLASHによるVFA法にて導出した。SR法及びVFA法におけるGd-DTPA濃度が0.1から0.4 mMまでの3段階のファントムについて、横軸が造影剤濃度、縦軸が T_1 値の逆数でプロットし、直線近似を行い r_1 直線の式を求めグラフを作成した。また、導出された r_1 直線の重回帰係数を式 [13] よりExcelを用いて求めた。

最後に、SR法の T_1 値と比較する為、Gd-DTPA濃度が0.1から0.4 mMまでの3段階のファントムの T_1 値について、SR法及びVFA法で導出された値を比較し、両者の相関を式 [13] よりExcelを用いて求めた。

3.3.3 結果

[実験 1] 2D 及び 3D FLASH による VFA 法の T_1 値の比較

図3-15に2D及び3D FLASHのGd-DTPA濃度0.1 mMファントムをFAを変化させながら撮像した際の信号強度変化を示した。曲線は式 [10] に基づいた信号変化の近似曲線で、それらの相関係数はそれぞれ0.983、1.000であった。また、それぞれから求められた T_1 値は750 ms、1496 msであった。

SR法にて導出された T_1 値及び、2D及び3D FLASHによるVFA法にて導出された T_1 値と相関係数Rを表3-9に示した。2D及び3D FLASHで比較した時、相関係数の平均値は2Dの方が低く、信号変化は式 [10] に完全には従わなかった。また、SR法で求めた T_1 値を100%とすると、3D FLASHによるVFA法で導出された T_1 値は110%、2D FLASHによるVFA法で導出された T_1 値は55%であり、2D FLASHの方が誤差が大きく、過小評価となった。

図3-16はSR法と2D及び3D FLASHによるVFA法で導出された全てのファントムの T_1 値の平均値を比較したものである。SR法と3D FLASHによるVFA法で導出された T_1 値は有意差が無いことが分かった。一方、2D FLASHによって導出された T_1 値はSR法にて導出された値と有意差があり、2D FLASHで導出された T_1 値は誤差が大きいと言える。

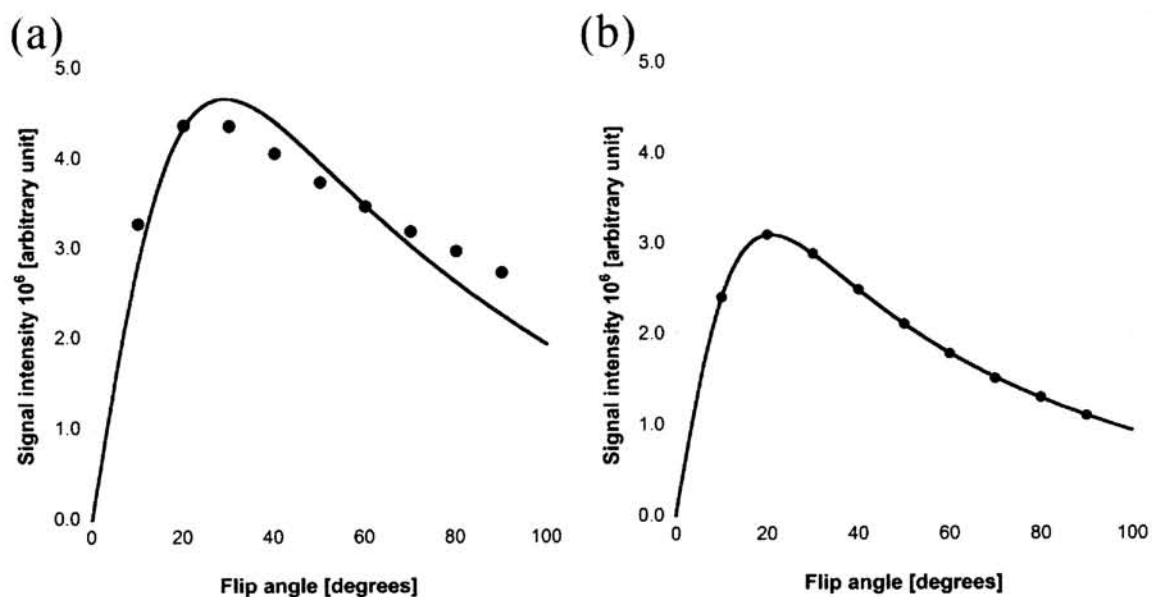


図 3-15 カレイダグラフを用いたカーブフィッティング(a) 2D FLASH、(b) 3D FLASH

表 3-9 1.5%アガロースゲルファントム (Gd-DTPA 非含有) の T_1 値と相関係数

サンプル番号	SR	2D FLASH		3D FLASH	
	T_1 [ms]	T_1 [ms]	相関係数 R	T_1 [ms]	相関係数 R
1	2870	1790	0.9837	3642	0.9995
2	2830	1670	0.9807	3503	0.9991
3	2860	1529	0.9834	3066	0.9998
4	2850	1495	0.9836	3054	0.9998
5	2790	1410	0.9787	2720	0.9993
6	2850	1476	0.9894	2781	0.9997
平均	2842 (100%)	1562 (55%)	0.9832	3128 (110%)	0.9995
SD	28.58	141.23		374.44	

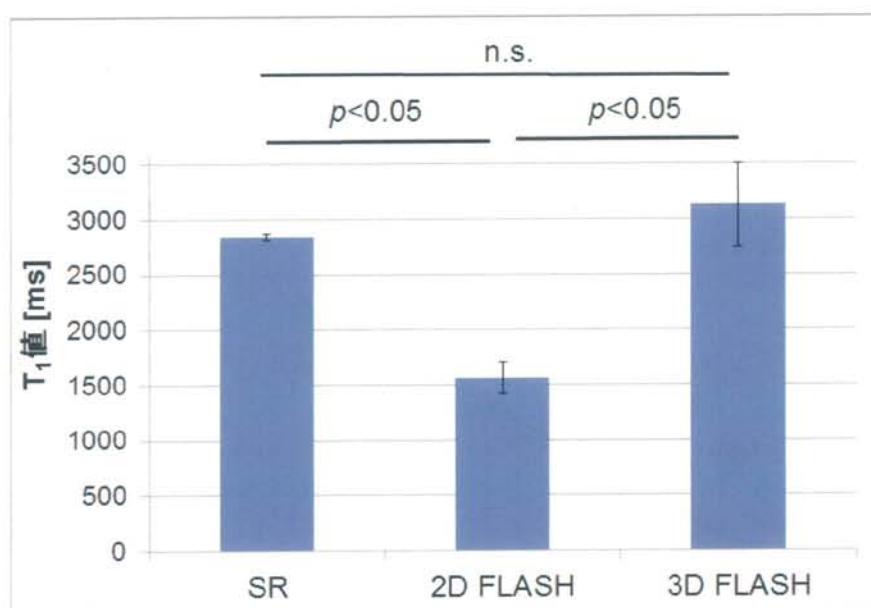


図 3-16 全ファントムの T_1 値の平均値。エラーバーは 1SD (n=3)。

[実験 2] 2D 及び 3D FLASH による VFA 法の r_1 直線の比較

Gd-DTPA 濃度毎の T_1 値の結果を表 3-10 に示した。

縦軸が T_1 値の逆数、横軸が Gd-DTPA 濃度の r_1 直線を図 3-17 に示した。SR 法の r_1 直線に比べ 2D FLASH の r_1 直線の傾きが大きい。SR 法及び VFA 法にて求めた T_1 値を比較した図 3-18 より 3D FLASH の T_1 値の傾きが 1 に近く、3D FLASH の方が SR 法の T_1 値と比べ誤差が小さいと言える。

表 3-10 Gd-DTPA 濃度毎の T_1 値

Gd-DTPA 濃度 [mM]	T_1 [ms]		
	SR	2D FLASH	3D FLASH
0.1	1180	750	1496
0.2	768	450	795
0.4	455	307	468

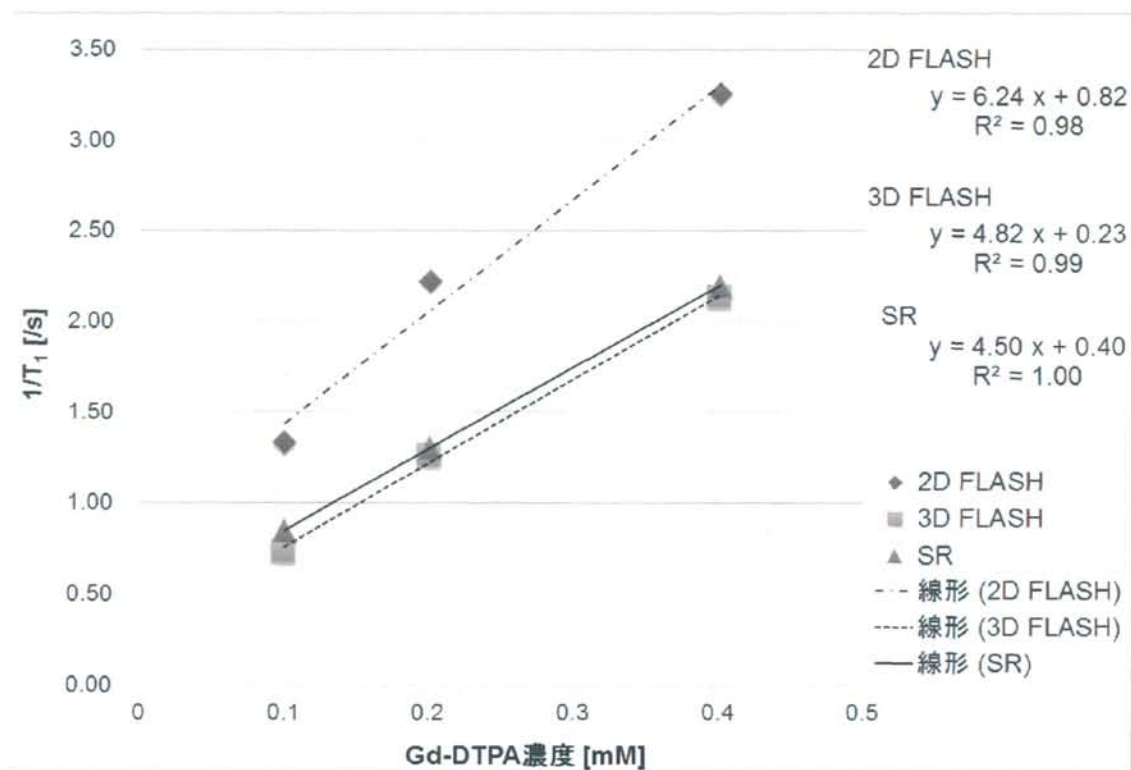


図 3-17 SR 法、2D 及び 3D FLASH による VFA 法によって導出された r_1 直線。

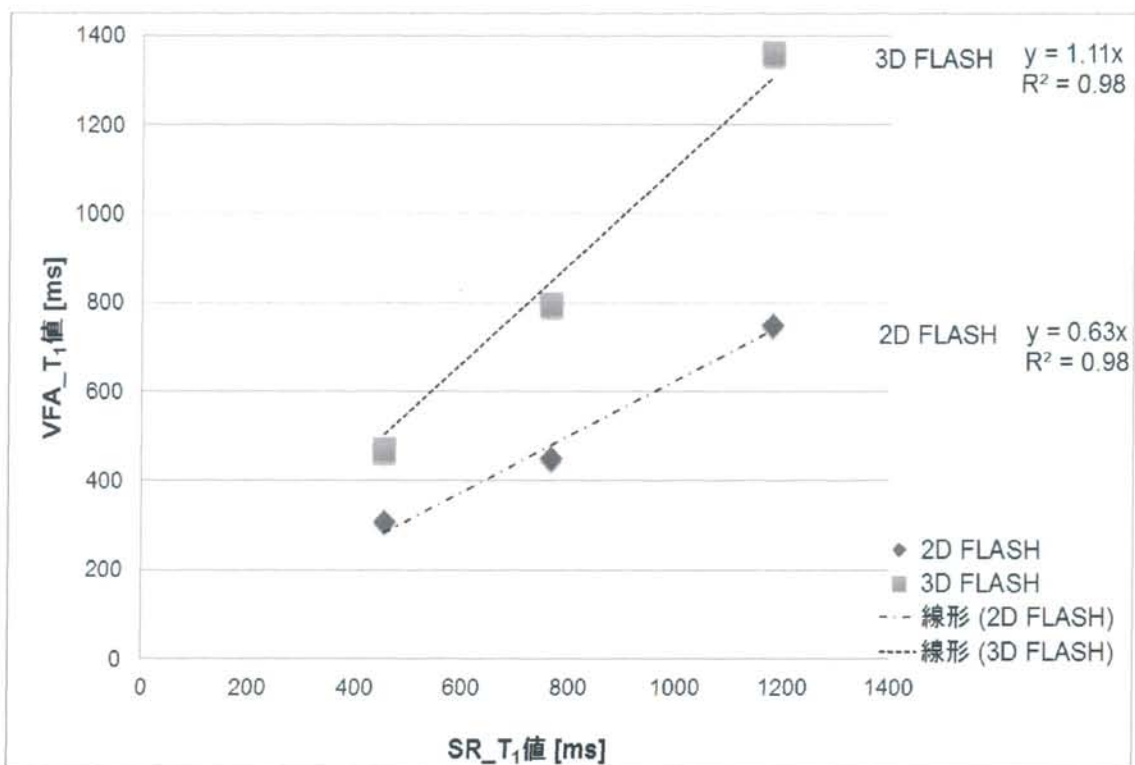


図 3-18 SR 法と VFA 法との T_1 値の相関。

3.3.4 考察

図 3-15 より、FLASH の信号強度を表す式 [10] に基づいてカーブフィッティングしたところ、3D FLASH の方が相関係数が高くなった。3D FLASH では式 [10] の理論式と実測値が合致しやすい一方で、2D FLASH では合致していない。理論式が成立するための条件が実際の 2D FLASH で満たされていない可能性があると考ええる。一般的に FLASH の式 [10] が満たされる条件は

$$(i) T_1 \ll TR$$

$$(ii) TE \ll T_2^*$$

などが挙げられる。条件 (i) は今回 SR 法の T_1 値の平均が 2842 ms であった一方、TR が 100 ms であったことから、2D 及び 3D FLASH の条件でも満たされておらず、2D FLASH にだけ見られる結果とは考えにくい。また、条件 (ii) は 2D 及び 3D FLASH 共に同一濃度のファントム且つ同一の TE を用いて撮像を行ったため、(i) と同様に 2D FLASH にだけ見られる結果とは考えにくい。他に理論式が成立しない原因として、2D FLASH はスライスプロファイル効果があることが知られており、信号強度の実測値に誤差が生じると考えられる。今回、2D FLASH のスライスプロファイルを調べる実験は行っていないため、どの程度実際にスライスプロファイルの影響を受けたのかは定かではない。Brookes らの報告によると^[30]、2D FLASH シーケンスに印加する FA が大きいほど、凹型に RF パルスが印加される。これにより印加される FA とそれに対応する RF パルスの大きさに比例関係が成立しなくなり、この凹型がスライスプロファイルの不均一性に影響を与えているのだとしている (図 3-19)。

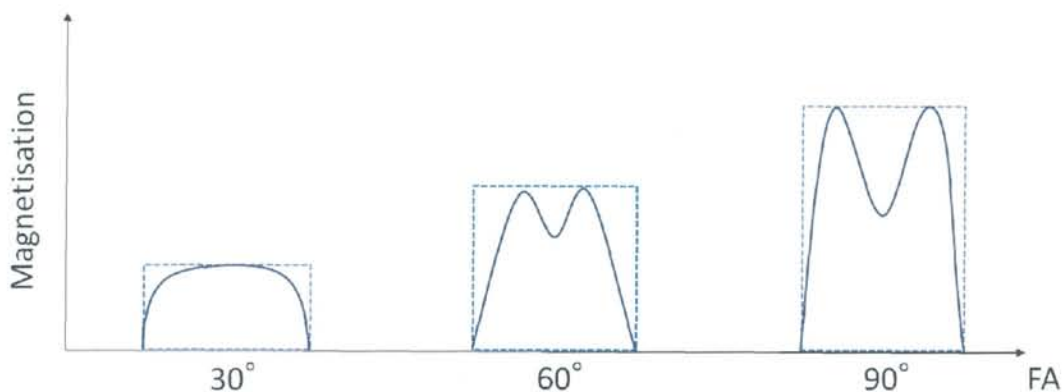


図 3-19 FA 毎に印加される RF パルスの強さの模式図。点線のような矩形で RF パルスが印加されるのが理想であり、印加される FA と矩形の面積が比例関係にあることで正確な大きさに RF パルスが印加されていると言える。しかし、FA が大きくなるほど凹型に印加されることで比例関係が成立せず、印加される RF パルスの大きさに誤差が生じる。

実験 1 及び 2 から、3D FLASH によって導出された T_1 値は SR 法の T_1 値と比較した時、妥当な値が得られた。

今回、SR法による撮像時間は5分15秒であり、VFA法では9つのFAの撮像にかかった時間は2D FLASHの時は36秒、3D FLASHの時は5分であった。SR法及び2D FLASHは一度に1ス

ライスのための撮像である一方、3D FLASHは8スライス撮像が可能であり、SR法で8スライス撮像を行うと42分要し、2D FLASHでは4分50秒を要する。導出にかかる全体の撮像時間はSR法と3D FLASHによるVFA法を比較しても大きな差は無いが、3D FLASHの方がより多くの情報を得ることが出来、VFA法は高速 T_1 値計測法であることが示された。

3.3.5 結論

3D FLASH の VFA 法では 2D FLASH と比べ、SR 法で導出された T_1 値と誤差の小さい、相関の高い T_1 値を導出することが可能であった。

第4章 実装した ImageJ のソフトウェアを用いた voxel-by-voxel basis による T_1 、 S_0 解析の動作確認

4.1 はじめに

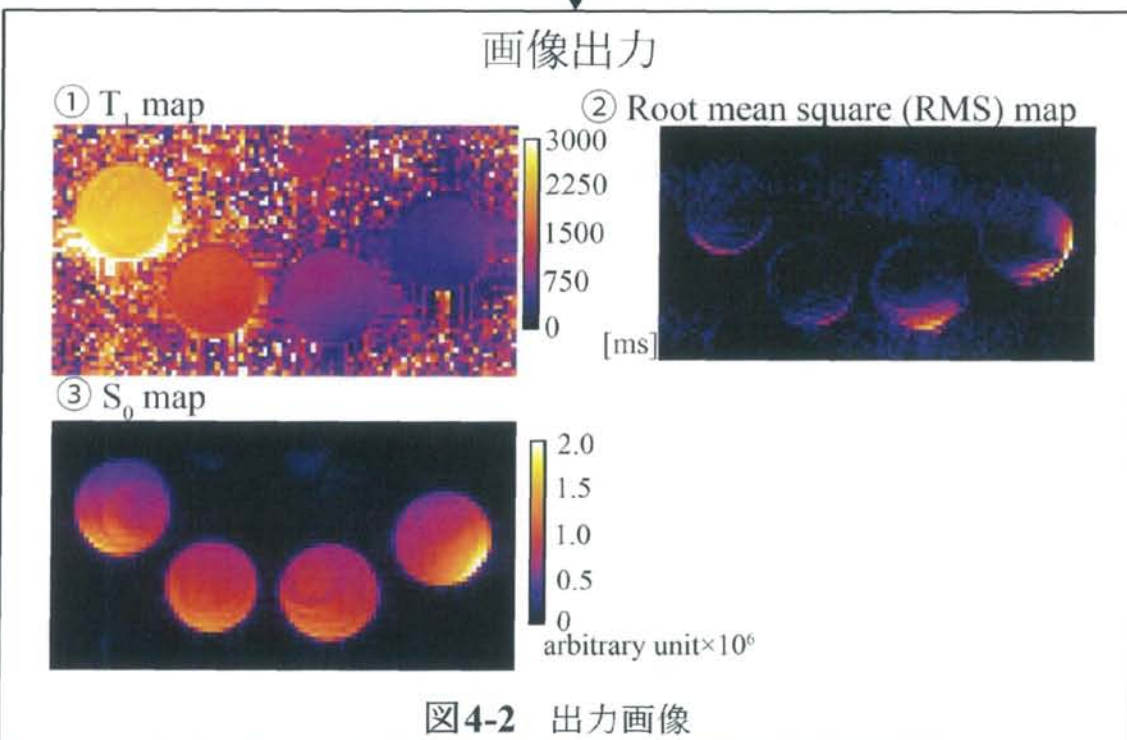
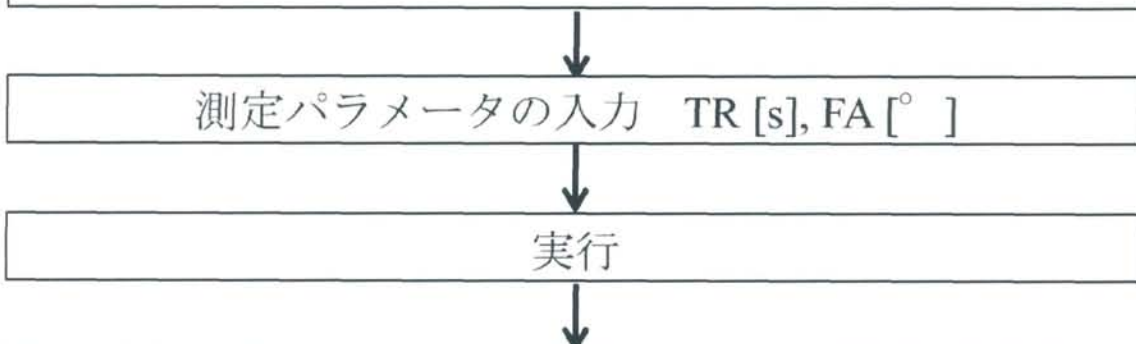
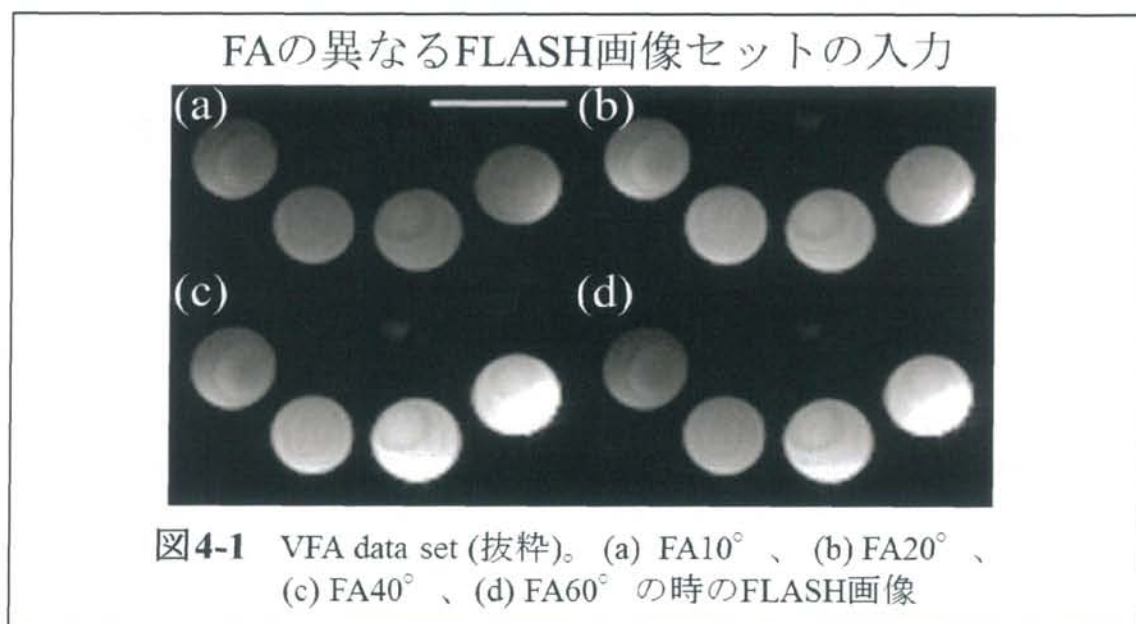
本章では、VFA 法による T_1 値及び S_0 の導出を、前章までの ROI basis ではなく、voxel-by-voxel basis に発展させるために開発された専用ソフトウェアの動作確認及び精度評価を実施した。このソフトウェアは汎用の画像ビューワー ImageJ のプラグインとして実装した。このソフトでは Digital imaging and communication in medicine (DICOM) 形式の MRI data set を入力すると、 T_1 map, S_0 map が出力される。このソフトウェアの利用によって、高分解能で撮像枚数が多い data set であっても容易に計算することが可能になり、更に ROI 内の T_1 値、及び S_0 の不均一分布に対応が可能となる。

今回実装したソフトウェアを用いて voxel-by-voxel basis で導出された T_1 値、 S_0 の値が ROI basis と同様の値として導出されるか精度評価を行った。

4.2 方法

(1) ImageJを用いたプラグインの導出方法の概略

入力画像としてFAを変化させて撮像したFLASH画像 (VFA data set) (図4-1) を用意する。プラグインを起動させ、撮像したFLASHのTR [ms]、FA [°] を入力すると、 T_1 map、 S_0 map、root mean square (RMS) map (図4-2) が出力され、voxel-by-voxel basis で T_1 値及び S_0 を求めることが可能となる。



(2) MR装置

本研究には、9.4 T 動物用MRI装置 (BioSpec 94/20 USR; Bruker BioSpin GmbH, Ettlingen, Germany) を用いた。信号の送信に72 mm径linearコイル (MRicoil T10325V3; Bruker Bio Spin, Ettlingen, Germany) を用い、受信にはマウス心臓用4チャンネルarrayコイル (MRicoil T11426V3; Bruker Bio Spin, Ettlingen, Germany) を用いた。

(3) ファントムの作製

脱イオン水100 mLの入ったビーカーにアガロース3.0 gを加温装置付きマグネティックスターラーを用いて70~80°Cで加温及び溶解し3%アガロース溶液を調製した。造影剤はGd-DTPAを用いた。生理食塩水で希釈し0.1, 0.2, 0.4, 0.8 mMのGd-DTPA溶液を調製し70°Cに加温した。アガロース溶液とGd-DTPA溶液を1:1の割合で調製し、最終濃度1.5%アガロースの0.05, 0.1, 0.2, 0.4 mM Gd-DTPA含有アガロースゲルを作製した。ゲルはGd-DTPA濃度毎に0.5 mLマイクロチューブに注入し冷やし固めた。

(4) ファントム撮像

図4-3のように前項 (3) にて作製したマイクロチューブファントムを配置した。

T_1 値、 S_0 を求めるため、3D FLASH を用いてVFA法を施行した。FLASHシーケンスの撮像条件は、TR/TE = 100/1.87 ms、 $128 \times 64 \times 128$ マトリクス、 $40 \times 20 \times 40 \text{ mm}^3$ FOV、スライス数128、 $0.312 \times 0.312 \times 0.312 \text{ mm}^3$ 空間分解能、NEX 1、FA = 5, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70 [°] とした。VFA法による撮像及び T_1 値導出は合計4回行った。

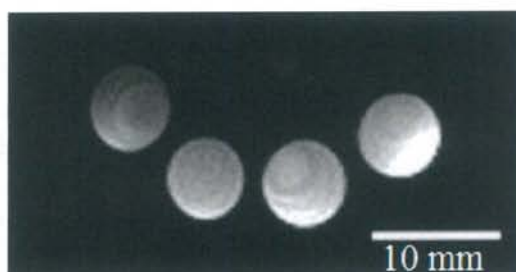


図 4-3 ファントムの MRI。Gd-DTPA 濃度は左から 0.05 mM、0.1 mM、0.2 mM、0.4 mM とマイクロチューブファントムを配置した。

(5) 画像解析

得られた3D FLASH画像data setより、ファントム中心部を通るスライスを選び、上述のソフトウェアを用い、 T_1 map及び S_0 mapを得た。ROI basisとの比較のため、得られた T_1 map、 S_0 map上にてファントム毎にROIを設定し値を読み取った。

ROI basisにてvoxel-by-voxel basisとの同一スライスにて T_1 値及び S_0 を算出した。算出方法は前章に記述したとおりである。要約すると、ファントム内に設定したROIの中の信号強度を濃度毎・FA毎に読みとった。次に、カレイダグラフを用い、縦軸が信号強度、横軸がFAになるようにプロットをし、式 [10] を用いて T_1 値及び S_0 を導出した。

横軸がROI basisの T_1 値及び S_0 、縦軸をvoxel-by-voxel basisの T_1 値及び S_0 でプロットし、Pearson検定により相関係数を求めた。また、直線近似式と両者の相関を式 [13] よりExcelを用いて求めた。

4.3 結果・考察

ソフトウェアは正常に動作し、ファントムの T_1 map 及び S_0 map が得られた。

ROI basis と voxel-by-voxel basis にて求めたファントム毎の T_1 値及び S_0 の相関を表したグラフを図 4-4 にて示した。

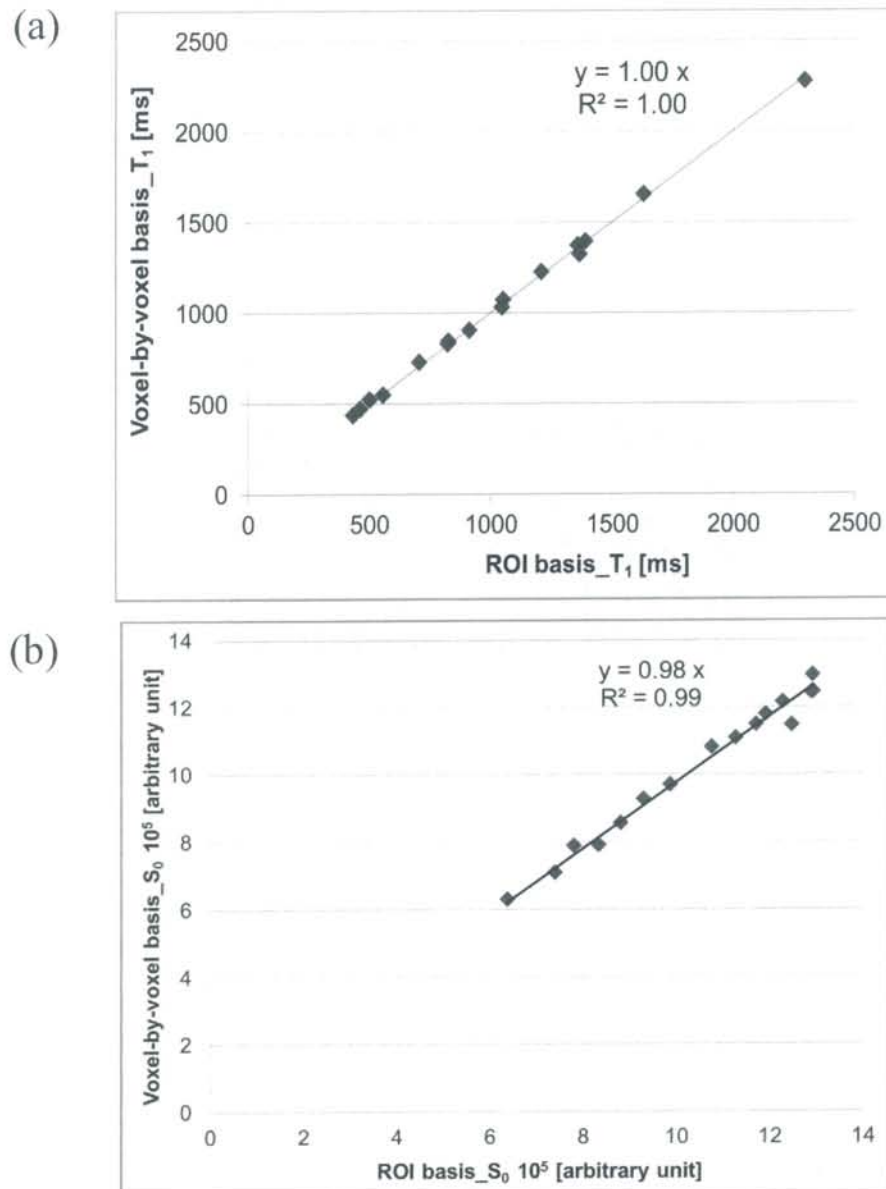


図 4-4 ROI basis と voxel-by-voxel basis との T_1 値の相関 (a)、 S_0 の相関 (b)

ROI basis と voxel-by-voxel basis にて求めた T_1 値及び S_0 の直線近似式によると傾きが 1 に近いことが示された。また、Pearson 検定による ROI basis と voxel-by-voxel basis における T_1 値及び S_0 の相関係数は 0.999、0.993 であり、強い相関が得られた。このことから、今回用いたソフトウェアの出力結果は妥当と考えられた。

プラグインを利用することで、ROI basis で求めた T_1 値及び S_0 と相関性の強い値を voxel-by-voxel basis で求められることが確認できた。今後、マウスの DCE-MRI 撮像により voxel-by-voxel basis にて $S(t)$ map を取得し、式 [1] 及び [11] をプラグインを用いて計算することにより、造影剤濃度の時間変化 $C(t)$ を voxel-by-voxel basis にて求めることが可能となる。Voxel-by-voxel basis にて $C(t)$ を導出することで、腫瘍内の造影剤分布の不均一性を評価することが可能となる。

カレイダグラフや Excel を用いた ROI basis における T_1 値及び S_0 導出は数値の読み取りや入力に大いに時間を要し、典型例として 1 例につき 20 分ほどの時間を要した。一方、voxel-by-voxel basis における ImageJ を用いた T_1 値及び S_0 導出はマクロ化することで大幅な時間短縮が可能であり、典型例として 1 例につき 5 分ほどで導出可能であった。今後造影剤濃度を導出するにあたり、更なる効率化の観点からも今回使用したソフトウェアは有用であると考えられた。

4.4 結論

今回 T_1 値及び S_0 を VFA 法で求めるにあたり、ImageJ に実装したソフトウェアを用いることで voxel-by-voxel basis で求めることが可能となった。また、ROI basis で求まる値と同等の値が得られたことより、今回用いたソフトウェアの出力結果は信頼性が高いと考えられた。

第5章 担がんマウスに対する DCE-MRI の撮像条件検討

5.1 はじめに

造影剤濃度を求める為に、まず造影剤投与前に VFA 法により式 [11] を用いて腫瘍の $T_{1,0}$ 値及び S_0 を求める。次に造影剤を急速静注し DCE-MRI 撮像し、 T_1 値の時間変化 $T_1(t)$ を式 [5] を用いて求める。最後に式 [1] より造影剤濃度の時間変化 $C(t)$ が求められる。

今までの実験から、ファントムにおいて VFA 法による T_1 値及び S_0 を導出する際は 3D FLASH で T_1 値を導出する事で、SR 法で導出される T_1 値と同等の値が得られることが示された。

次の課題として、DCE-MRI 撮像を行う際の時間分解能と空間分解能の観点から撮像条件の検討を行った。DCE-MRI を行うことで、信号強度の時間変化を見る事が可能となり、その撮像は FLASH シーケンスを用いて行った。また、このとき撮像する画像の時間分解能が高いほど、造影剤が腫瘍に集積する様子を細かく観察することが可能となる。仮に、撮像にかかる時間より造影剤が腫瘍に集積する方が早いと、time to peak を逃してしまい、式 [2] で導出される K^{trans} 、 v_e などのパラメータの値の誤差が大きくなると考えられる。この撮像時間は TR、NEX、マトリクス数、収集条件によって変化し、TR が長く NEX が多い程 S/N が向上する。また、同じ FOV においてマトリクス数が多いほど空間分解能が向上する。一方、撮像時間が長くなる事から時間分解能は低下する。FLASH の収集条件を 2D から 3D に変更すると、3D は撮像対象の全体が撮像範囲となるので、撮像時間は長くなる傾向にある。

本研究では、2D 及び 3D FLASH で DCE-MRI を施行し、時間分解能、空間分解能の観点から比較・検討をした。また、第 4 章にて述べた ImageJ のプラグインを用いて $C(t)$ を voxel-by-voxel basis で導出した。

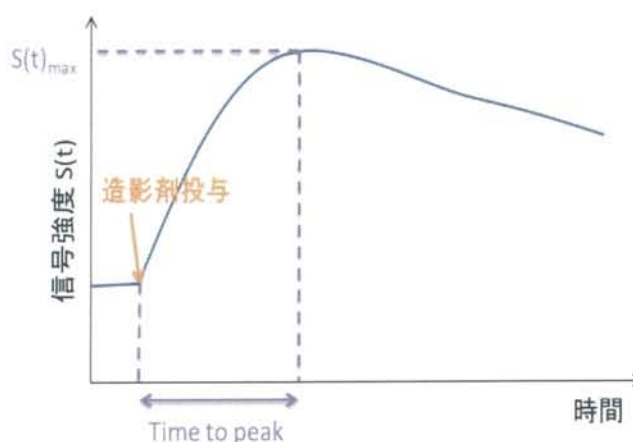


図 5-1 DCE-MRI 施行時の TIC。信号強度が一番大きくなる時を $S(t)_{max}$ とした時の時間を time to peak と言う。

5.2 方法

(1) MRI 装置

本研究には、9.4 T 動物用MRI装置及びマウス体幹部用コイルを用いた。

(2) 動物モデルの作製

本動物実験は国立がん研究センター動物倫理委員会の承認を得て実施した（承認番号 K15-023）。

A) 2D FLASH

EMT6/S180 マウスモデルの作製 (n=3)

日本エスエルシー株式会社 (浜松) より購入した近交系マウス (Balb/cCrSlc) の左腰背部外側皮下にマウス肉腫由来細胞株 Sarcoma180 (S180) 腫瘍を 3.0×10^6 cells/head 移植した。S180 細胞は、国立がん研究センター 先端医療開発センター 機能診断開発分野にて腹水継代で維持されている細胞を使用した。S180 細胞を移植した翌日、右腰背部外側皮下にマウス乳癌由来細胞株 EMT6 (CRL-2755; ATCC) を 5×10^6 cells/head 移植した。EMT6 移植後 6 日目に撮像を行った。

B) 3D FLASH

EMT6 乳癌マウスモデルの作製 (n=1)

日本エスエルシー株式会社より購入した近交系マウス (Balb/cCrSlc) を右大腿部皮下にマウス乳癌由来細胞株 EMT6 を 2.5×10^6 cells/head 移植した。移植後 11 日目に撮像を行った。

(3) MR 撮像

DCE-MRI 撮像時、マウスに投与する造影剤は生理食塩水で 10 倍希釈した Gd-DTPA 溶液を用いた。造影剤投与時、MRI 装置のボア内の寝台を動かさずに造影剤を投与出来るよう、予めカテーテルを作製した (図 5-2)。

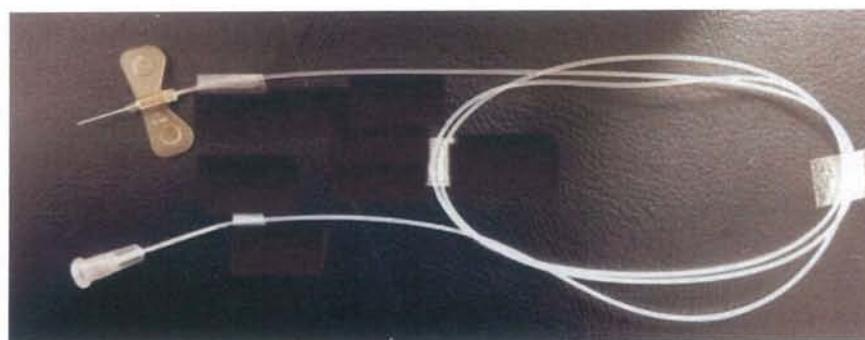


図 5-2 作製した造影剤注入用カテーテル。チューブの長さを 90 cm にしたことでボア内にいるマウスまで届く。

マウスを 1-2%のイソフルレン、酸素、亜酸化窒素の混合ガスをフェイスマスクを使って吸入させ全身麻酔下に置いた。持続的に麻酔を供給しながらマウスの尾静脈に作製したカテーテルの針を刺し血管を確保する。

マウスを受信コイルのついた寝台に置き、撮像中の体動を抑えるため腫瘍部を中心にテープで固定し、足を伸展させ固定した。また、撮像中のマウスの呼吸および直腸温を専用のシステム (Model 1025; SA Instruments, Inc., Stony Brook, NY, USA) を使ってモニタした。マウスの頭尾方向が静磁場方向と一致するように、MRI 装置のボア内に寝台を配置した。受信用 array コイルは皮下腫瘍の直上に置いた。送信コイルのチューニングとマッチングは、検査毎に手動で調整した。

位置決め画像を取得後、turbo rapid acquisition with relaxation enhancement 法 (TurboRARE 法) を用いてマウスに皮下移植した腫瘍の軸位面と矢状断面の T_2 強調画像を撮像した。撮像条件は、 $TR/TE = 1375/27$ ms、 $FOV = 40 \times 40$ mm²、 $matrix\ size = 256 \times 256$ 、スライス厚 = 1.0 mm、NEX 2 とした。

DCE-MRI 撮像を行うスライスの位置決めは 2D FLASH は取得した矢状面及び軸位面の T_2 強調画像を基に二つの腫瘍が同時に最も腫瘍径が大きくみえる様、矢状面像を 3 スライス選択した。3D FLASH は取得した軸位面、矢状断面の T_2 強調画像を基に実験腫瘍全体が映るような撮像範囲を設定した。

次に造影剤投与前の腫瘍の $T_{1,0}$ 値および S_0 を求める為に VFA 法を施行し、VFA data set 画像を取得した。2D FLASH の VFA 法の撮像条件は $TR/TE = 37.9/2.3$ ms、 $FOV = 40 \times 20$ mm²、 $matrix\ size = 256 \times 128$ 、スライス厚 = 1.0 mm、NEX 1、 $FA = 8, 15, 30, 60$ [°] とした。3D FLASH の VFA 法の撮像条件は $TR/TE = 100/1.9$ ms、 $FOV = 40 \times 30 \times 30$ mm³、 $matrix\ size = 128 \times 96 \times 64$ 、NEX 1、 $FA = 5, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70$ [°] とした。

最後に DCE-MRI 撮像を施行した。2D FLASH における DCE-MRI 撮像は全部で 40 フレーム行い、最初の 4 フレームは造影剤を投与していない状態で撮像し、5 フレーム目の撮像開始と同時に Gd-DTPA 造影剤 0.16 mL を用手的に急速静注した。一方、3D FLASH における DCE-MRI 撮像は全部で 9 フレーム行い、最初の 1 フレームは造影剤を投与していない状態で撮像し、2 フレーム目撮像開始の 2 秒前に Gd-DTPA 造影剤 0.16 mL を用手的に急速静注した。DCE-MRI 撮像条件は表 5-1 の通り。3D FLASH における DCE-MRI 撮像は GRAPPA を使用した。なお、全体撮像時間は装置の性能上可能な範囲で最大の撮像時間とした。

表 5-1 DCE-MRI 撮像条件

	2D FLASH	3D FLASH
FOV [mm ³]	40 × 20	40 × 30 × 20
Matrix	256 × 128	128 × 96 × 64
空間分解能 [mm ³]	0.16 × 0.16 × 1.00	0.312 × 0.312 × 0.312
スライス数	3	64
時間分解能 [s/frame]	5.3	67
TR/TE [ms]	37.9 / 2.3	100 / 1.9
Repetition	40	9
全体撮像時間 [s]	212	550
Flip angle [°]	60	

(5) 画像解析

まず、VFA 法による $T_{1,0}$ 及び S_0 map の取得には実装した ImageJ のソフトウェアを用いて行った。プラグインの使用方法の概略は 4.2 にて述べた。

次に、ImageJ のプラグインを用いて $C(t)$ map を得た。プラグインの使用方法の概略は以下のとおりである。VFA 法によって先ほど得られた $T_{1,0}$ map、 S_0 map 及び DCE-MRI によって得られた $S(t)$ map を用意する (図 5-3)。次にプラグインを起動させ、DCE-MRI 撮像した時の FLASH の TR [ms]、FA [°]、 r_1 [mM⁻¹s⁻¹] を入力する。これにより、 $C(t)$ map [mM] が出力され (図 5-4)、voxel-by-voxel basis で $C(t)$ map を求めることが可能となった。また、 r_1 の値は予め行ったファントム撮像の結果より、2D FLASH には 3.06、3D FLASH には 4.02 の値を用いた。

得られた $C(t)$ map 上にて図 5-5 に示すように ROI を設定した。EMT6 腫瘍について ROI 内の $C(t)$ の値を読み取り、横軸が時間、縦軸が $C(t)$ のグラフを作成した。

画像セットの入力

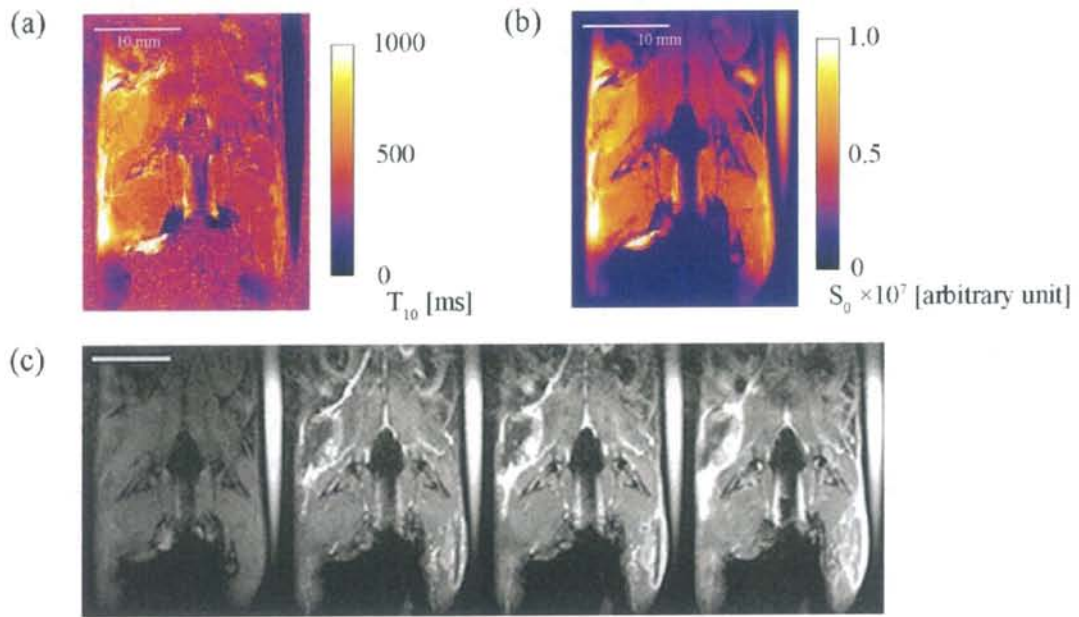


図5-3 (a) T_{10} map, (b) S_0 map, (c) DCE-MRI より得られた $S(t)$ map (抜粋)



測定パラメータの入力 TR [s], FA [$^{\circ}$], r_1 [$mM^{-1}s^{-1}$]



実行



$C(t)$ の画像出力

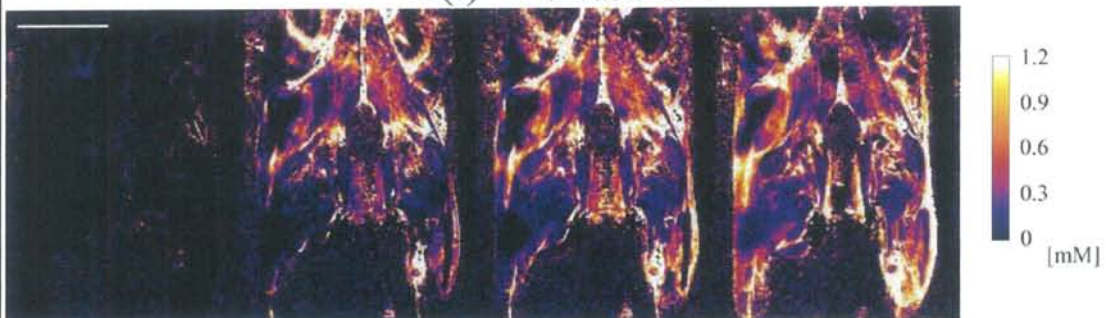


図5-4 $C(t)$ map (抜粋)

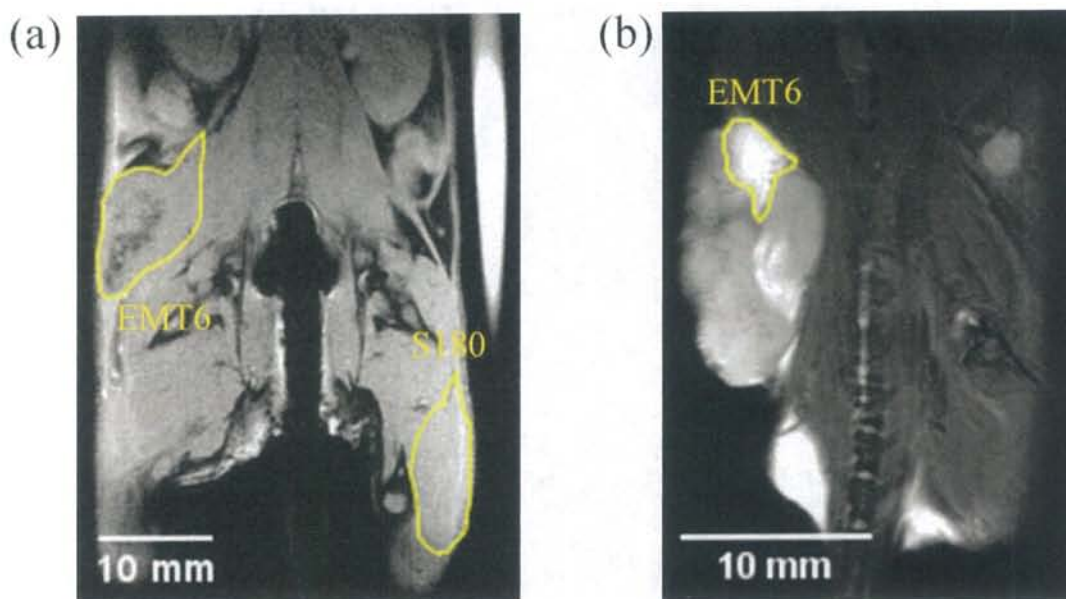


図 5-5 (a) 2D FLASH DCE-MRI に用いたマウスの T_2 強調軸位面像の一例。画面左側に EMT6、画面右側に S180 が描出されている。(b) 3D FLASH DCE-MRI に用いたマウスの T_2 強調矢状面画像。黄色の枠線は $C(t)$ 導出に用いた ROI を表す。

5.3 結果

表 5-1 に示す通り撮像時間は 1 フレームあたり 3D FLASH は 61.1 秒であったのに対し、2D FLASH は 5.3 秒であり、いずれのデータからも $C(t)$ の導出は可能であった。2D FLASH は 3D FLASH の約 11 倍の速さで撮像することが可能であり、高い時間分解能を有することが示された。

空間分解能については図 5-6、5-7 にて 2D FLASH と 3D FLASH における DCE-MRI data set の $S(t)$ map 画像と造影剤濃度の時間変化 $C(t)$ map 画像の比較をするが、3D FLASH においては各ピクセルを視覚的に認識可能な map 画像となった。画像からも 2D FLASH の方が高い空間分解能を得られ、解剖学的な構造や腫瘍内の新生血管分布の詳細な観察が可能となっていた。

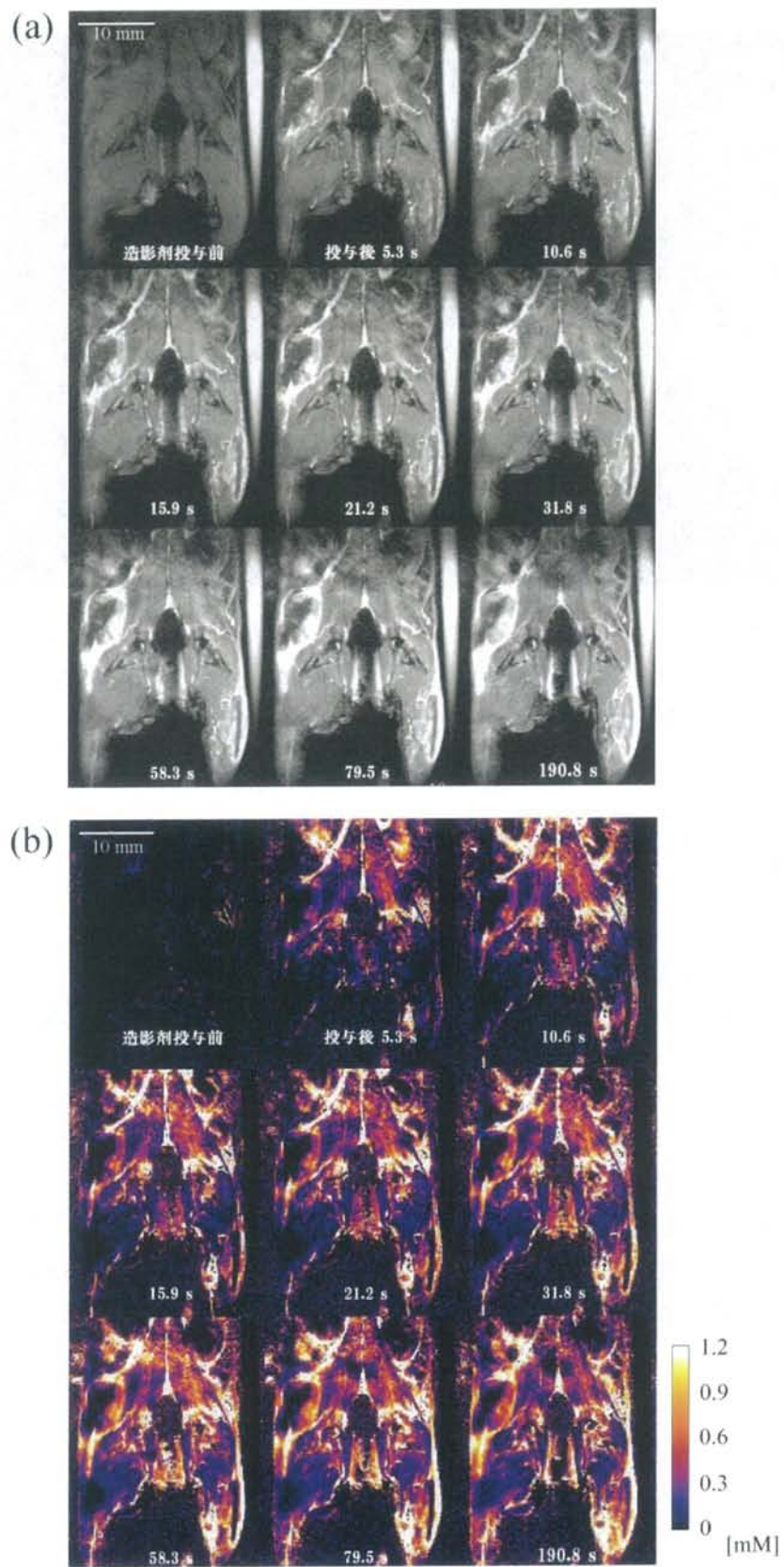
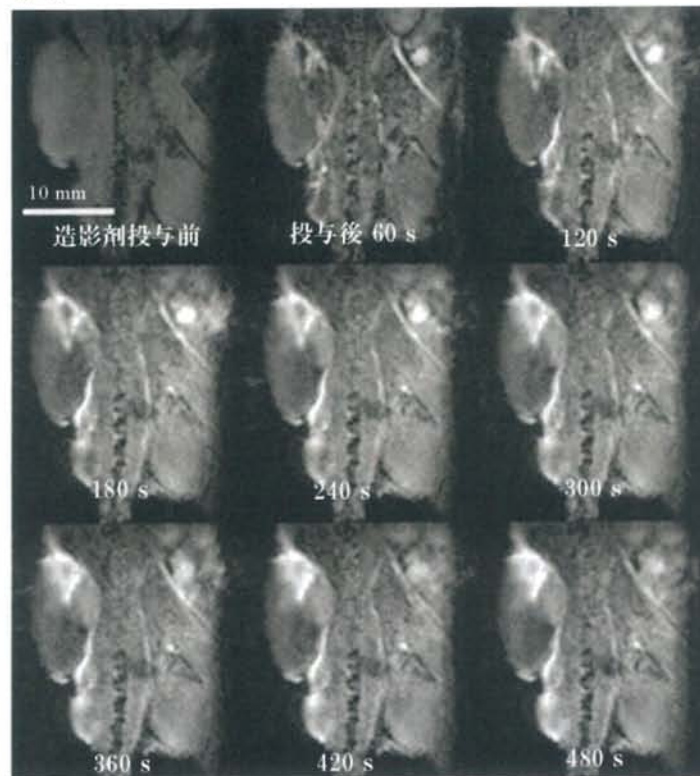


図 5-6 2D FLASH による DCE-MRI より得られたマウス矢状断面 $S(t)$ map 画像 (抜粋) (a)と、(a) に対応した $C(t)$ map (b)。

(a)



(b)

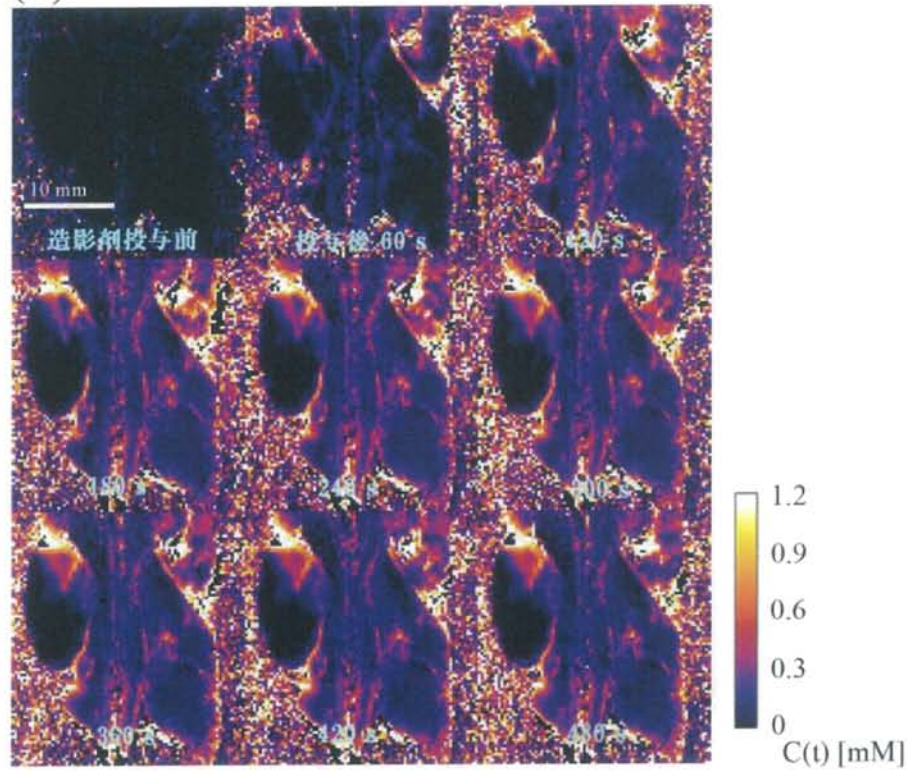


図 5-7 3D FLASH による DCE-MRI より得られたマウス矢状断面 $S(t)$ 画像 (抜粋) (a)。 (a) に対応した $C(t)$ map (b)。

腫瘍に設定した ROI 内の造影剤濃度時間変化 $C(t)$ を図 5-8 に示した。2D FLASH における $C(t)$ は造影剤投与後急激に上昇し、3 例とも約 100 秒後にプラトーに達した。3D FLASH における $C(t)$ は、2D FLASH で見られた様な急激な $C(t)$ の上昇は見られず、徐々に造影剤濃度が上昇し 500 秒経過後もプラトーは見られなかった。

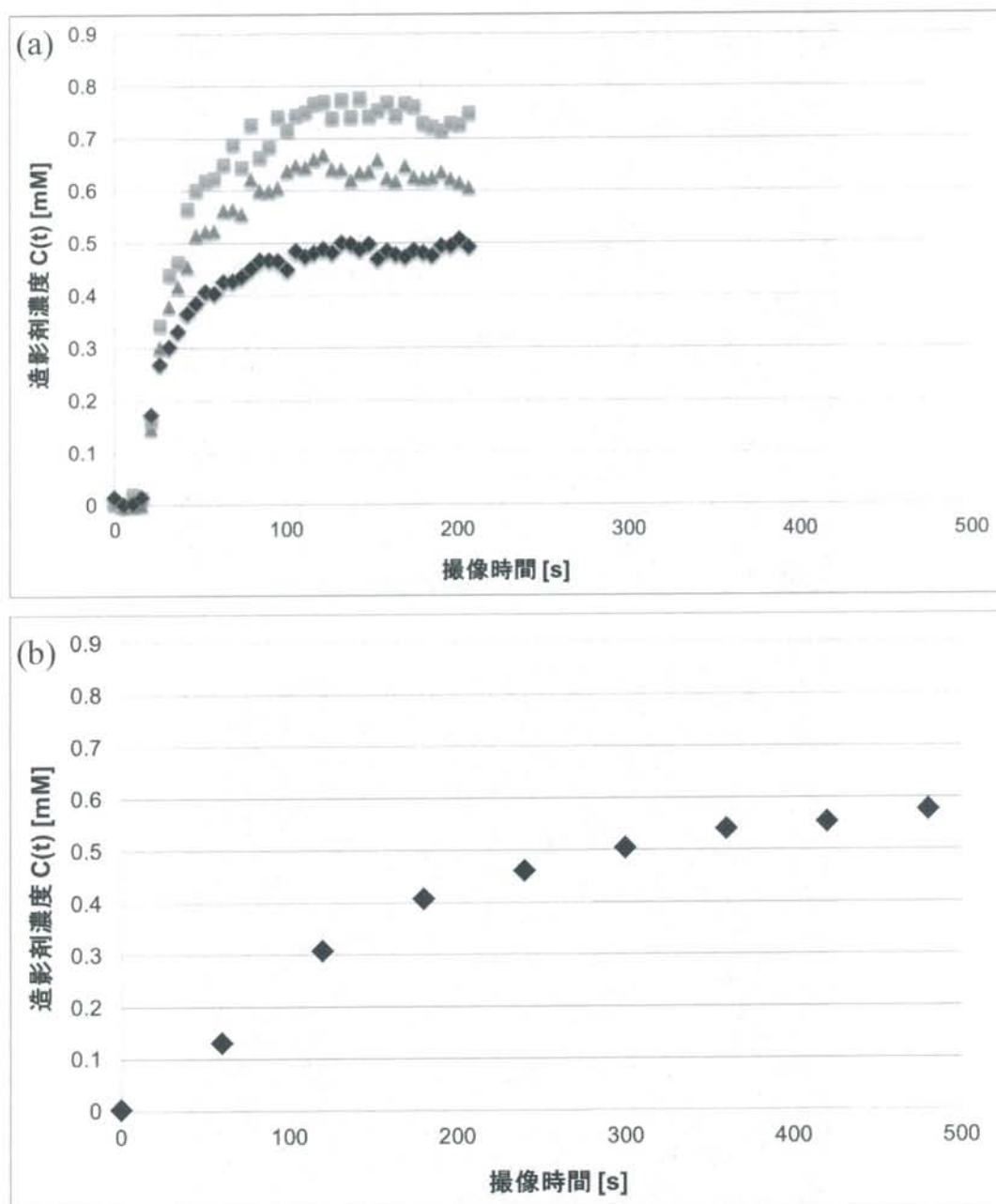


図 5-8 ROI 内の EMT6 腫瘍造影剤濃度の時間変化 $C(t)$ 。(a) 2D FLASH ($n=3$)、(b) 3D FLASH ($n=1$)。

5.4 考察

図 5-9 は 2D 及び 3D FLASH によって導出された造影剤投与 180 秒後の $C(t)$ map の腫瘍部を拡大した図である。Voxel-by-voxel basis にて $C(t)$ が導出され腫瘍内の造影剤分布が示されているが、3D FLASH で得られた $C(t)$ map はピクセルが目立つ画像であり、空間分解能が十分とは言えない。腫瘍内の造影剤分布や薬剤分布、治療効果を判定するためには、少なくとも 2D FLASH における空間分解能が求められるであろうと思われた。

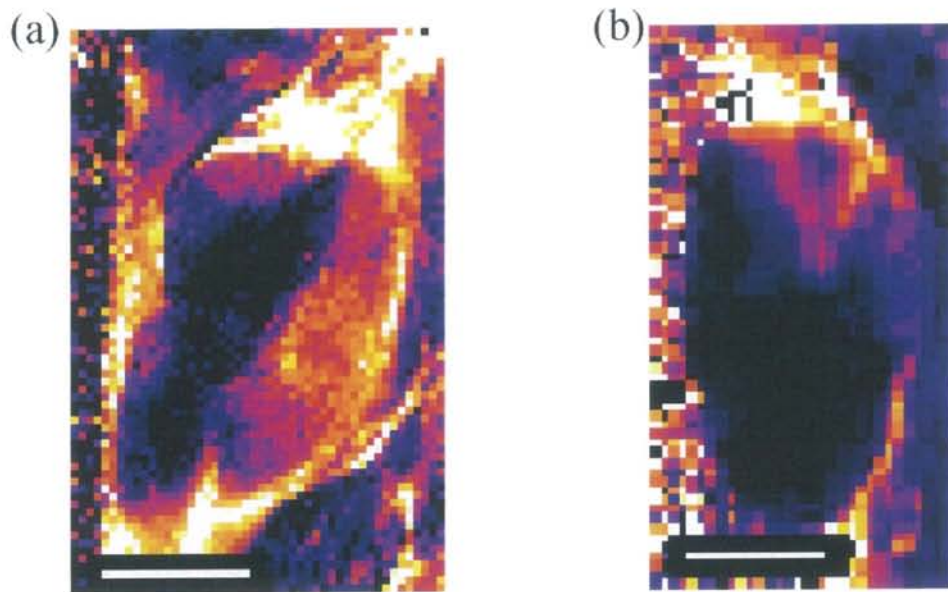


図 5-9 造影剤投与後 180 秒後の 2D FLASH (a) と 3D FLASH (b) DCE-MRI によって導出された $C(t)$ map。画像左下のスケールバーは 3 mm を表す。

2D 及び 3D FLASH いずれにおいても、マウス腫瘍の $C(t)$ map の作製が可能であったが、時間分解能は前者が各フレーム 5.3 秒であったのに対し、後者は 67 秒と約 11 倍の開きがあった。一方、全撮像時間は前者が 212 秒であったのに対し、後者は 550 秒と後者は長時間撮像が可能であった。

一般的には、腫瘍の新生血管を評価するためには動脈相における時間分解能の高い情報が求められる。一方、血管外細胞外への造影剤の分布を評価するためには、必ずしも高い時間分解能は求められないが比較的長い撮像時間が求められる。従って、実際に腫瘍の新生血管ならびに血管外細胞外の評価には造影剤投与後、まず 2D FLASH にて撮像し引き続いて 3D FLASH を行うなどの工夫が必要であろうと思われる。

しかし、現時点では 2D FLASH が 1 度に 3 スライスしか撮像できない点及び 3D FLASH の空間分解能が十分でない点は技術の改良が待たれる。また、3 章で示したように、2D FLASH による VFA 法から導出される T_1 値は 3D FLASH による VFA 法あるいは SR 法から求められる T_1 値に比較して過小評価される問題の解決が求められる。

5.5 結論

マウスの腫瘍を用いた動物実験で、2D 及び 3D FLASH いずれの撮像方法を用いても C(t) map が作製可能であることが明らかとなった。空間分解能、時間分解能共に 2D FLASH の方が高い結果が得られた。動脈相における腫瘍の新生血管の評価には 3D FLASH の時間分解能は不十分であり、また空間分解能も十分でないと考えられた。一方、2D FLASH には一度に得られる撮像枚数と全撮像時間の短さについて改良が望まれる。

第6章 まとめ

6.1 はじめに

本研究では、9.4 T 装置を用いた造影剤濃度分布の経時的な定量評価に向け撮像条件の検討をした。まず、造影剤濃度導出に必要なパラメータの T_1 値及び S_0 を VFA 法により導出した。VFA 法を用いる事で短時間に T_1 値導出が可能となるが、一方で SR 法に比べ様々な誤差要因があることが知られている。本研究ではファントムを用いた VFA 法による T_1 値導出における誤差要因を解消するための撮像条件検討を行った。更に、担がんマウスを用いて DCE-MRI 撮像を行い、2D 及び 3D FLASH による $C(t)$ map の画像評価ならびに問題点の検討を行った。次に ImageJ に実装したソフトウェアを用いて voxel-by-voxel basis の造影剤濃度を導出し、ROI basis による結果と比較し精度を検討した。

6.2 VFA 法による T_1 値計測における条件検討

VFA 法を用いて T_1 値を導出するにあたって以下の傾向が確認された。

- (i) VFA 法で T_1 値を導出する際の FA と信号強度の関係をカーブフィッティングした際の相関係数は対象物の T_1 値に対して TR が長い方が (TR/T_1 が大きいほど) 高い値を示した。
- (ii) VFA 法より導出された T_1 値と SR 法から導出された T_1 値は直線の相関関係が認められたが、VFA 法の TR が長いほど両者を直線近似した際の直線の傾きは 1 に近い値をとった。しかし、両者の相関の重回帰係数は TR が 400 ms の時ほかの TR よりやや低い値をとった。

次に、VFA 法の精度をより向上させるため、 B_1 不均一性の補正と収集条件 (3D FLASH の適応) を試みた。その結果、 B_1 不均一性の補正では VFA 法で導出された T_1 値のばらつきは多少補正されたが、 T_1 値の有意な改善は認められなかった。収集条件を 2D 収集から 3D 収集に変更した結果、2D FLASH で導出された T_1 値は SR 法によるものより過小評価の傾向が見られたが、3D FLASH で求められた T_1 値は SR 法で求められたものと有意差のないものであった。また、 T_1 値導出にあたり、撮像に要する時間は 2D FLASH による VFA 法、3D FLASH、SR 法の順で短くなり、VFA 法は高速 T_1 計測法と言える。

6.3 実装した ImageJ のソフトウェアを用いた voxel-by-voxel basis による T_1 、 S_0 解析

実装した ImageJ のソフトウェアを用いた voxel-by-voxel basis による T_1 、 S_0 解析の評価では、正常に動作し信頼性の高い結果が確認された。そこで、本法を担がんマウスの研究に用いることとした。

6.4 担がんマウスに対する DCE-MRI の撮像条件検討

マウスの腫瘍を用いた動物実験で、2D 及び 3D FLASH いずれの撮像方法を用いても $C(t)$ map が作製可能であることが明らかとなった。空間分解能、時間分解能共に 2D FLASH の方が高い結果が得られた。動脈相における腫瘍の新生血管の評価には 3D FLASH の時間分解能は不十分であり、また空間分解能も十分でないと考えられた。一方、2D FLASH には一度に得られる撮像枚数と全撮像時間の短さについて改良が望まれる。

6.5 結論及び今後の課題・展望

MRI 装置を用いて VFA 法を行うことにより、SR 法に比較して短時間に対象の T_1 値及び S_0 が導出可能であり、またそのデータを ImageJ のソフトウェアで解析することで voxel 毎の T_1 値及び S_0 が求められることが明らかとなった。さらに、その結果を DCE-MRI の結果と合わせることで、組織の造影剤分布の経時的変化が voxel-by-voxel basis に導出できることが明らかとなった。2D FLASH と 3D FLASH を比較すると、3D FLASH の方が SR 法と比較して誤差の少ない T_1 値が導出できた。しかし、3D FLASH の時間分解能は 2D FLASH と比較して劣り、特に動脈相の造影剤分布の解析には不十分であることがマウスの実験からも明らかとなった。また、3D FLASH による空間分解能は 2D FLASH と比較して劣り、今回のマウス腫瘍の実験例の経験から腫瘍内の造影剤分布の評価には不十分であると思われる。

造影剤の経時的な体内動態を解析するには少なくとも 2D FLASH の時間分解能が好ましく、今後は 2D FLASH の課題である T_1 値の計測誤差の問題の解決と本法で求めた造影剤分布の理論値との精度の検証が必要である。検証の為に造影後すぐに腫瘍を摘出し Gd(III) の微量分析が必要である^{[31][32]}が、Gd 微量分析には Gd 造影剤のキレートを遊離させる必要があり、現時点では技術的に容易ではない。

本研究では、Gd-DTPA を用いた DCE-MRI の結果から voxel-by-voxel basis の造影剤分布を経時的かつ定量的に評価し得る可能性が示された。本法は理論的には人体への応用が可

能であり、今後薬剤の体内動態や腫瘍の集積の評価に応用されることが期待される。

参考文献

1. Hori M, Matsuda T, Shibata A *et al*: Cancer incidence and incidence rates in Japan in 2009: a study of 32 population-based cancer registries for the Monitoring of Cancer Incidence in Japan (MCIJ) project. *Japanese journal of clinical oncology* 45(9):884-891.2015,
2. Kamb A: Wtha's wrong with our cancer models? *Nature Reviews Drug Discovery* 4(2):5.2005,
3. Thompson SM, Callstrom MR, Knudsen B *et al*: Development and preliminary testing of a translational model of hepatocellular carcinoma for MR imaging and interventional oncologic investigations. *Journal of vascular and interventional radiology : JVIR* 23(3):385-395.2012,
4. Yap T, Olmos D, Brunetto A: Phase I Trial of a Selective c-MET Inhibitor ARQ 197 Incorporating Proof of Mechanism Pharmacodynamic Studies. *Journal of Clinical Oncology* 29(10):1271-1279.2011,
5. Coolen B, Geelen T, Paulis L: Three-dimensional T1 mapping of the mouse heart using variable flip angle steady-state MR imaging. *NMR in biomedicine* 24(2):154-162.2011,
6. Larsson HB, Courivaud F, Rostrup E *et al*: Measurement of brain perfusion, blood volume, and blood-brain barrier permeability, using dynamic contrast-enhanced T(1)-weighted MRI at 3 tesla. *Magnetic resonance in medicine* 62(5):1270-1281.2009,
7. Heywang SH, D. Schmidt, H.: MR imaging of the breast using gadolinium-DTPA. *J Comput Assist Tomogr* 10(2):199-204.1986,
8. Barnes SL, Whisenant JG, Loveless ME *et al*: Practical dynamic contrast enhanced MRI in small animal models of cancer: data acquisition, data analysis, and interpretation. *Pharmaceutics* 4(3):442-478.2012,
9. Kuhl CK, Mielcareck P, Klaschik S *et al*: Dynamic breast MR imaging: are signal intensity time course data useful for differential diagnosis of enhancing lesions? *Radiology* 211(1):101-110.1999,
10. Shen F, Lu J, Chen L *et al*: Diagnostic value of dynamic contrast-enhanced magnetic resonance imaging in rectal cancer and its correlation with tumor differentiation. *Molecular and clinical oncology* 4(4):500-506.2016,
11. Tofts P, Kermode A: Measurement of the blood-brain barrier permeability and leakage space using dynamic MR imaging. 1. Fundamental concepts. *Magnetic resonance in medicine* 17(2):357-367.1991,
12. Khalifa F, Soliman A, El-Baz A *et al*: Models and methods for analyzing DCE-MRI: a review. *Medical physics* 41(12):124301.2014,
13. Othman AE, Falkner F, Kessler DE *et al*: Comparison of different population-averaged arterial-input-functions in dynamic contrast-enhanced MRI of the prostate: Effects on pharmacokinetic parameters and their diagnostic performance. *Magnetic resonance imaging* 34(4):496-501.2016,
14. Liang J, Sammet S, Yang X *et al*: Intraindividual in vivo comparison of gadolinium contrast agents for pharmacokinetic analysis using dynamic contrast enhanced magnetic resonance

- imaging. *Invest Radiol* 45(5):233-244.2010,
15. Wang HR, SJ. Lee, JN.: Optimizing the precision in T_1 relaxation estimation using limited flip angles. *Magn Reson Med* 5(5):399-416.1987,
16. Andreisek G, White L, Yang Y: Delayed gadolinium-enhanced MR imaging of articular cartilage: three-dimensional T_1 mapping with variable flip angles and B_1 correction. *Radiology* 252(2):865-873.2009,
17. Wang L, Schweitzer ME, Padua A *et al*: Rapid 3D- T_1 mapping of cartilage with variable flip angle and parallel imaging at 3.0T. *J Magn Reson Imaging* 27(1):154-161.2008,
18. 荒木 力: MRI 完全解説第二版.学研メディカル秀潤社, 東京:226.2010,
19. Cheng H, Wright G: Rapid high-resolution T_1 mapping by variable flip angles: Accurate and precise measurements in the presence of radiofrequency field inhomogeneity. *Magnetic resonance in medicine* 55(3):566-574.2006,
20. Kuribayashi H, Sekino M, Minowa T *et al*: Accuracy of equilibrium magnetization mapping in sliced two-dimensional spoiled gradient-recalled echo pulse sequence with variable flip angle. *J Magn Reson Imaging* 38(5):1245-1250.2013,
21. Fram E, Herfkens R, Johnson G: Rapid calculation of T_1 using variable flip angle gradient refocused imaging. *Magnetic resonance imaging* 5(3):201-208.1987,
22. Clique H, Cheng HL, Marie PY *et al*: 3D myocardial T_1 mapping at 3T using variable flip angle method: pilot study. *Magnetic resonance in medicine* 71(2):823-829.2014,
23. Wang J, Qiu M, Yang QX *et al*: Measurement and correction of transmitter and receiver induced nonuniformities in vivo. *Magnetic resonance in medicine* 53(2):408-417.2005,
24. Dieringer M, Deimling M, Santoro D: Rapid parametric mapping of the longitudinal relaxation time T_1 using two-dimensional variable flip angle magnetic resonance imaging at 1.5 Tesla, 3 Tesla, and 7 Tesla. *PloS one* 9(3):e91318.2014,
25. Pineda FD, Medved M, Fan X *et al*: B_1 and T_1 mapping of the breast with a reference tissue method. *Magnetic resonance in medicine* 75(4):1565-1573.2016,
26. E.K. Insko LB: Mapping of the Radiofrequency Field. *Magnetic Resonance, Series A* 103(1):82-85.1993,
27. Saekho S, Boada FE, Noll DC *et al*: Small tip angle three-dimensional tailored radiofrequency slab-select pulse for reduced B_1 inhomogeneity at 3 T. *Magnetic resonance in medicine* 53(2):479-484.2005,
28. Parker G, Barker G, PS. T: Accurate multislice gradient echo T_1 measurement in the presence of non-ideal RF pulse shape and RF field nonuniformity. *Magn Reson Med Sci* 45(5):838-845.2001,
29. Zheng J, Venkatesan R, Haacke E *et al*: Accuracy of T_1 measurements at high temporal resolution: feasibility of dynamic measurement of blood T_1 after contrast administration. *J Magn Reson Imaging* 10(4):576-581.1999,
30. Brookes J, Redpath T, Gilbert F *et al*: Accuracy of T_1 Measurement in Dynamic Contrast-Enhanced Breast MRI Using Two- and Three-Dimensional Variable Flip Angle Fast Low-Angle shot. *J Magn Reson Imaging* 9(2):163-171.1999,

31. Barge A, Cravotto G, Gianolio E *et al*: How to determine free Gd and free ligand in solution of Gd chelates. A technical note. *Contrast media & molecular imaging* 1(5):184-188.2006,
32. Telgmann L, Sperling M, Karst U: Determination of gadolinium-based MRI contrast agents in biological and environmental samples: a review. *Anal Chim Acta* 18(764):1-16.2013,
33. Parker GJ, Roberts C, Macdonald A *et al*: Experimentally-derived functional form for a population-averaged high-temporal-resolution arterial input function for dynamic contrast-enhanced MRI. *Magnetic resonance in medicine* 56(5):993-1000.2006,

謝辞

本研究をまとめるにあたり、多大なるご指導を頂きました首都大学東京 人間健康科学研究科 放射線科学域 古川顕教授に深く感謝致します。

本研究を行うにあたり、国立がん研究センター東病院 機能診断開発分野 分野長 藤井博史先生には、素晴らしい研究環境を与えて頂いただけでなく、様々なご指導、ご助言を頂きました。深く感謝致します。

国立がん研究センター東病院 機能診断開発分野 ユニット長 山口雅之先生には、本研究全般にわたり常にお世話になり、ご指導、ご鞭撻を頂きました。研究を行う上での基礎的なことから高度な内容まで、丁寧で熱心なご指導を頂き、研究者に必要な能力や姿勢について多くのことを学び、感じる事ができました。心より深く感謝致します。

本研究に関する業績

1. 外山沙樹、山口雅之、藤井博史、古川顕：9.4 テスラにおける実験腫瘍の定量的 DCE-MRI:FLASH 撮像条件の検討、第 20 回 NMR マイクロイメージング研究会、千葉、2016