

9239 核磁気共鳴を用いた生体内ナトリウム(Na)画像の開発と病態解明に関する研究

助成研究者:西村 恒彦(国立循環器病センター 放射線診療部)

共同研究者:中村 雅一, 楠岡 英雄(大阪大学)

:山田 直明, 今北 哲(国立循環器センター)

生体内において、ナトリウム(Na⁺)などのイオンは、細胞内外のホメオスタシスの維持に重要な役割を担っている。しかし、これまで、生体内におけるイオン濃度の測定には、微小電極法などの限られた方法しかなく、臓器以上のレベルにおいて非侵襲的に測定することは不可能であった。しかし、近年、核磁気共鳴法(NMR)の発達により、生体内Naの画像化が可能になりつつある。本研究においては、細胞内Naの動態が臨床上使用されている超電導型NMR-CT装置(磁場強度1.5Tesla)を用いて解析可能であるか、また、可能ならば、病態の変化と関連してその動態がどの様に変化するかを、雑種成犬による異所性心移植モデルでの拒絶心筋と、脳梗塞・脳出血の臨床例を対象として、検討した。

拒絶心筋では、拒絶反応が高度となるに従い、プロトン(¹H)のT₁、T₂緩和時間は延長していた。一方、Na信号強度比は、軽度拒絶反応では増加を示さず、中等度拒絶にて増加し、高度拒絶では著明に増加していた。以上の結果は、拒絶反応の進行に伴い、細胞の不可逆的な傷害に基づく細胞内Na量の増加、ないしは浮腫による細胞外液の増加が生じるためと考えられた。一方、脳梗塞・脳出血のNaイメージでは、急性早期には正常組織と同様、ほとんど無信号であったが、時間の経過と共に著明な増加をみた。以上の結果は、組織の障害の進行と共に変化するNaポンプの機能を表現していると考えられた。

本研究の結果より、心移植後の拒絶心筋や脳梗塞・脳出血の病巣が、高磁場装置を用いたNaイメージングにより抽出できること、さらに病態の重症度がNaイメージの解析より推定できることが示唆された。Na-MRIは、画像分解能から比較すると、H-MRIに大きく劣る。従って、Naイメージングは、病的領域の局在診断法としての価値は低いと考えられる。しかし、ここで示したような、移植臓器の拒絶反応や、虚血・壊死過程などのように、細胞内外のNa動態が大きく変わるような病態では、病的過程の質的診断が可能と考えられる。これまで、ヒトにおけるNaイメージングの臨床応用では、脳梗塞、脳腫瘍症例など、脳での応用が主であった。心臓領域では、臨床応用に際し、心電図同期や表面コイルなど、なお解決しなければならない問題がある。しかし、S/N比の改善するような撮像方法の開発、パルス系列の至適化、あるいは、血流によるアーティファクトの改善などに伴い、臨床的に許容できる範囲で、心臓のNaイメージングが、将来、より容易になると考えられる。また、生体に対する安全性の高い化学シフト剤や、シフト剤を必要としない撮像法が開発され、細胞内外のNaの動態を区別できるようになれば、Na-MRIは、医療上、極めて有力な手段になると予想される。

9239 核磁気共鳴を用いた生体内ナトリウム(Na)画像の開発と病態解明に関する研究

助成研究者: 西村 恒彦(国立循環器病センター 放射線診療部)

共同研究者: 中村 雅一, 楠岡 英雄(大阪大学)

: 山田 直明, 今北 哲(国立循環器センター)

1. 研究目的

生体内において、ナトリウム(Na^+)、カリウム(K^+)などのイオンは、細胞内外のホメオスタシスの維持に重要な役割を担っている。しかし、これまで、生体内におけるこれらのイオン濃度の測定には、微小電極法などの限られた方法しかなく、まして、臓器以上のレベルにおいて非侵襲的に測定することは不可能であった。しかし、近年、核磁気共鳴法(Nuclear Magnetic Resonance: NMR)の発達により、細胞内ナトリウム・イオン、カリウム・イオン濃度の測定、さらには、それらの画像化が可能になりつつある[1]。

ナトリウム・イオンは、主として細胞外液に高濃度に存在し、細胞内濃度は生理的状态では、10mM程度と考えられている。しかし、虚血などの病的状態においては、細胞内濃度の上昇が生じることが知られている[2]。また、この細胞内ナトリウム・イオン濃度の上昇は、病態の進展とも密接に関連しているものと考えられている。本研究においては、脳梗塞、あるいは、心移植後の拒絶反応における細胞内ナトリウム・イオンの動態が、临床上使用されている高磁場NMR・イメージング装置を用いて解析可能であるか、また、可能ならば、病態の変化と関連してその動態がどの様に変化するか、検討を行った。

2. 心移植後の拒絶心筋におけるナトリウム・イメージング

2. 1. 目的

心臓移植後、拒絶反応の診断は、治療方針の決定、予後判定の上で重要である。しかし、現時点では右室心内膜下生検以外に、拒絶反応を鋭敏に診断する手法は報告されていない[3-5]。しかし、最近、拒絶反応時における心筋性状を、非侵襲的に評価する方法として、 ^1H (プロトン)による磁気共鳴イメージング(MRI)、 ^{31}P による磁気共鳴スペクトロスコピー(MRS)や ^{111}In -antimyosin Fabを用いたRIイメージングが開発されてきた[6-9]。また、MRIによるナトリウム・イメージングが、脳浮腫や脳梗塞の病変部位の描出に応用されつつある[10-12]。さらに、心筋梗塞作成後再開通した動物において、ナトリウム・イメージングが虚血の重症度の相関することが報告されている[13]。

本研究では、超電導型NMR-C T装置（磁場強度1.5Tesla）を用い、雑種成犬による異所性心移植モデルにて、拒絶心筋のナトリウム・イメージングの有用性を検討した。

2. 2. 対象および方法

2. 2. 1. 異所性心移植モデル

胸腔内異所性心移植を行った雑種成犬6頭を対象とした。心移植は、ドナー心を宿主（レシピエント）の胸腔内に植込んで作成した。ドナーに用いた成犬の体重は、平均14Kg（10～18Kg）、レシピエントに用いた成犬の体重は平均22Kg（18～31Kg）であった。移植後、全例にsolu-Medrol 500～1,000mg、2例にサイクロスポリン24mg/Kg/日（筋注）を投与した。ドナー心の摘出は平均4.1日（2～7日）に行った。

2. 2. 2. プロトンMRI

ドナー心およびレシピエント心を摘出後、NMR-C T装置のガントリー内に摘出心を挿入し、プロトンMRIをシーメンス社製Magnetom（1.5 Tesla, 超電導型）により撮像した。スピネコー法（繰り返し時間0.6秒/2.0秒、およびエコー時間30ミリ秒/90ミリ秒）を用い、2回スキャンを行った。アベレージングはそれぞれ1回である。スライス幅5mm厚にて3～4断面の横断断面像を得、第1、第2エコー像および T_1 、 T_2 画像を作成した。また、ジョイスティックを用いて心筋局所（右室壁、左室前壁、中隔、後隔、側壁）に関心領域（約50ピクセル位）を設定し、それぞれの部位における T_1 、 T_2 緩和時間を算出した。

2. 2. 3. ナトリウム・MRI

ナトリウム・イメージングは、前述したプロトン・イメージングと同一の装置を用いて行った。16.9MHzに同調されたナトリウム用の頭部コイルを受信、送信用に用いた。画像構成はスピネコー信号を用いて二次元フーリエ変換法をによって行った。

生体中の ^{23}Na の T_1 時間は短いため、繰り返し時間100ミリ秒を用いた。また、細胞内外液で T_2 時間は一般的に短いとされるため、エコー時間は13ミリ秒とした。プロトン共鳴に比し、微弱なナトリウム原子の共鳴を捉えるため、スライス幅2cm厚とした。測定マトリックスは64x64、画像表示のためsinc関数を用いて、256x256マトリックスに補間した。128回の積算を行い、検査時間は約13分であった。

ナトリウムの信号強度は、頭部コイルの中に同封した生食水ガラス管（塩化ナトリウム0.9W/V%含有）と対比して求めた。すなわち、プロトンによるMRIと同様に心筋局所（前述と同様の5ヶ所）に関心領域を設定し心筋局所の信号強度を求め、これと生食水との比として算出した。

2. 2. 4. 病理組織学的検索

摘出心は、10%ホルマリンで固定後、通常のヘマトキシリン・エオジン (H E) 染色を行い、MRI とほぼ同断面にて病理組織の検索を行った。病理組織における拒絶反応のスコアは、スタンフォード分類 (Billinghamら[5]による) に準じ、0 : 拒絶反応なし、1 : 軽度単核球浸潤、2 : 中等単核球浸潤と軽度心筋壊死、3 : 高度単核球浸潤と高度心壊死、とした。1、2、3はそれぞれ、軽度、中等度、高度拒絶反応である。また、拒絶反応の程度は、これらの中間段階を考慮して0.5から3.0とし、病理医により判定された。また、これらの拒絶反応スコアは、プロトン、ナトリウムによるMRI とともに、心筋局所 (前述と同様の5ヶ所) において算出した。

2. 3. 結果

レシピエント心におけるプロトンの T_1 、 T_2 緩和時間は、それぞれ平均827ミリ秒、43ミリ秒であった。また、ナトリウム・イメージングでは、レシピエント心は抽出されなかった。

高度の拒絶反応を示したドナー心の1例では、心筋局所における T_1 緩和時間は、1,250~1,400ミリ秒 (平均 $1,336 \pm 49$ ミリ秒; 平均 \pm SD)、 T_2 緩和時間は53~78ミリ秒 (平均 61 ± 9 ミリ秒) と延長していた。また、ナトリウム・イメージングで拒絶心筋は明瞭に抽出され、ナトリウムの信号強度比は0.44~0.53 (平均 0.50 ± 0.02) と増加していた。

一方、軽度拒絶反応を示した心筋の局所における T_1 緩和時間は906~1,010ミリ秒 (平均 965 ± 38 ミリ秒)、 T_2 緩和時間は47~55ミリ秒 (平均 51 ± 3 ミリ秒) と軽度延長していた。しかし、ナトリウム・イメージングでは、拒絶心筋は抽出されず、ナトリウム信号強度比は0.12~0.20 (平均 0.18 ± 0.03) であった。

ドナー心6例の心筋局所における軽度、中等度、高度拒絶反応は、それぞれ8、10、お

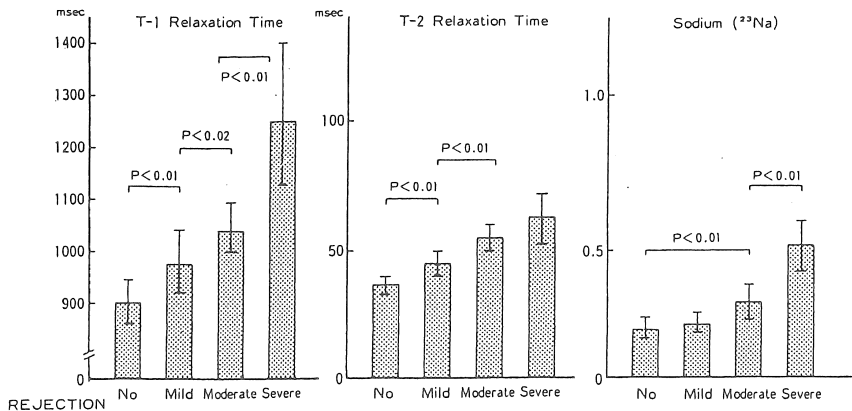


Fig.1 T_1 、 T_2 relaxation times, and signal intensity ratio of ^{23}Na in myocardium rejected after transplantation.

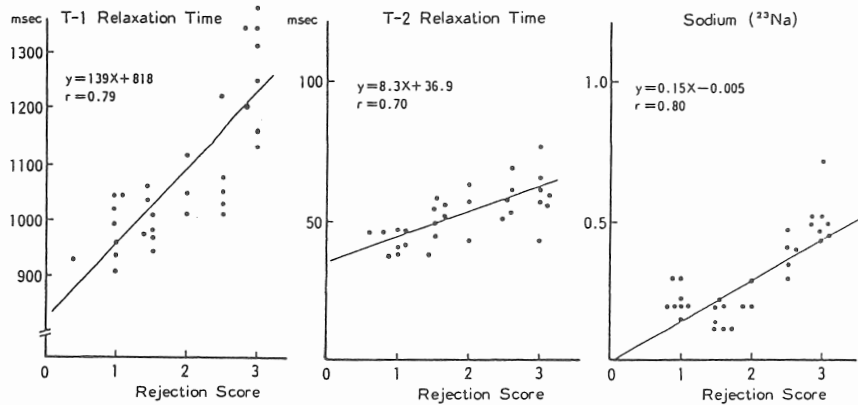


Fig.2 The relationship between rejection score and T_1 、 T_2 relaxation times or signal intensity ratio of ^{23}Na in myocardium.

よび12セグメントであった。そこで、拒絶反応の程度と T_1 、 T_2 緩和時間、およびナトリウム信号強度比との関係を検討した(図1)。 T_1 、 T_2 緩和時間は、正常例に比し、軽度拒絶反応で延長していた。また、拒絶反応が高度となるに従い T_1 、 T_2 緩和時間は延長した。一方、ナトリウム信号強度比は、軽度拒絶反応では増加を示さず、中等度拒絶反応にて増加し、高度拒絶反応では著明に増加していた。さらに、心筋局所における拒絶反応のスコアと、 T_1 、 T_2 緩和時間、ナトリウム信号強度比の関係を検討したところ、図2に示す如く、良好な相関を示した。

2. 4. 考察

本研究の結果より、心移植後の拒絶心筋が高磁場装置を用いたナトリウム・イメージングにより抽出できること、さらに拒絶心筋の重症度がナトリウム・イメージングの解析より推定できることが示唆された。

拒絶心筋のプロトンMRIについては、拒絶部位が高信号領域として抽出できることが報告されている[6, 7, 14]。また、犬の摘出心やラット摘出心を用いた実験で、 T_1 、 T_2 緩和時間が、拒絶反応の重症度に一致して延長することが示されている[6, 7]。今回の成績でもこの事実は認められたが、病理所見との対比から、心筋浮腫、細胞浸潤や心筋壊死を反映しているものと考えられる。しかし、生体中で精度高く心筋の T_1 、 T_2 緩和時間を測定するのは現状では困難である。一方、ナトリウム・イメージングにおいても、拒絶スコアとナトリウム信号強度比に良好な相関を認めた。また、 T_1 、 T_2 緩和時間と異なり、ナトリウム信号強度比は、中等度、高度拒絶反応で優位に増加していた。このことは、拒絶反応の進

行に伴い、細胞の不可逆的な傷害に基づく細胞内ナトリウム量の増加、ないしは浮腫により細胞外液の増加が生じるためと考えられる。

3. 脳のナトリウム・イメージング

3. 1. 目的

ナトリウム (^{23}Na) MRI はヒトの脳のナトリウム・イオンの分布を画像として観察することのできる唯一の方法である。しかし、 ^{23}Na の緩和時間は T_1 、 T_2 時間ともにかかなり短いので、プロトンMRIのように、組織間の緩和時間の差を画像化することは困難である。したがって、ナトリウムMRIでは脳組織のナトリウム・イオンの平均密度が観察されるにすぎない。ナトリウムの脳組織平均濃度はプロトン (^1H) の約1700分の1と低く、さらに、 ^{23}Na のNMR相対感度は ^1H の10分の1と低い。しかも、細胞内 ^{23}Na 信号の50%近くは検出不能であり、これらの点でナトリウムMRIはプロトンMRIに比し、著しく不利である。

これまでに、脳腫瘍、脳梗塞、脳出血例におけるナトリウム画像が報告されている[11, 15, 16]。本研究では、脳梗塞、脳出血の発作後、継時的にナトリウムMRIを得ることで、脳細胞内におけるナトリウム動態を検討した。

3. 2. 方法および対象

対象は、脳梗塞・脳出血の急性期に国立循環器病センターに入院した患者である。

脳ナトリウム・イメージングは、拒絶心筋における方法とほぼ同様である。すなわち、シーメンス社製Magnetom (1.5 Tesla, 超電導型) により撮像した。16.9MHzに同調されたナトリウム用の頭部コイルを受信、送信用に用い、画像構成はスピンエコー信号を用いて二次元フーリエ変換法をによって行った。繰り返し時間は100ミリ秒、エコー時間は13ミリ秒、スライス幅は2 cm厚とした。

3. 3. 結果

正常脳組織は、ナトリウム画像上、ほとんど無信号の領域となり、脳室、くも膜下のみが高信号領域として見られた。

脳梗塞急性期例（内頸動脈閉塞症、発症2日後）では、X線CT、プロトンMRIでは主として左の中大脳動脈領域にそれぞれ低吸収域、高信号域が認められた。しかし、ナトリウム画像では、ほぼ同様の領域において高信号が認められた。この高信号は、間質の浮腫と、細胞内ナトリウム・イオン濃度の増加の双方の合併によりもたらされているものと思われる。一方、これより早期の発症4時間後、ないし12～14時間後のナトリウム画像では、虚血領域におけるナトリウム信号の増加は見られなかった。

脳出血例では、発症1～2日では、X線CT、プロトンMRI共、出血巣を明瞭に描出

したのに対し、ナトリウム画像では明かではなかった。出血巣の信号強度は、4-7病日ではわずかに増大し、2-3週後には著明な増加をみた。

3. 4. 考察

以上の結果は、脳梗塞では、発症12~14時間後までは虚血領域の細胞内ナトリウム・イオン濃度はさほど増加していないこと、すなわち細胞のNaポンプ機能はいまだ保たれていること、を示唆していると思われる。

一方、脳出血では、血腫はナトリウム・イオン濃度の低い微小領域より形成され、初期にはNaポンプにより低Na濃度が維持されるが、急性後期にはポンプ機能の消失により、信号強度の増大がもたらされると考えられる。亜急性期にこの微小領域が破壊されると、内液が漏出し、さらに信号強度を上げることを示唆している。

4. 今後の課題

従来、NMRイメージングは、主として、プロトン (^1H) MRI に限定されていたが、ナトリウム (^{23}Na) も高磁場装置ではイメージングが可能となっている。 ^{23}Na は、 ^1H に比し信号強度が弱く、 ^1H に対する相対感度は9.3%、生体中における平均感度が1/1,000である。しかし、Delayreら[10]は、5.2テスラの高磁場でラット心で ^{23}Na 含有液(145mM)で灌流させ、ナトリウム・イメージを得ている。また、Hilalら[11,12]は2.7テスラの超電導型スキャナでネコならびにヒトでの頭部のナトリウム・イメージングに成功している。一方、Cannonら[13]は、成犬を用いて冠動脈閉塞1時間、再開通1時間の虚血モデルを作成、摘出心の虚血部位の ^{23}Na 含量の増加と、NMR信号強度が相関することを示している。

ナトリウムMRIは、画像分解能から比較すると、プロトンMRIに大きく劣る。したがって、ナトリウム・イメージングは、病的領域の局在診断法としての価値は低いと考えられる。しかし、ここで示したような、移植臓器の拒絶反応や、虚血・壊死過程などのように、細胞内外のナトリウム・イオンの動態が大きく変わるような病態では、病的過程の質的診断が可能と考えられる。これまで、ヒトにおけるナトリウム・イメージングの臨床応用では、脳梗塞、脳腫瘍症例など、脳での応用が主であった。心臓領域では、臨床応用に際し、心電図同期や表面コイルなど、なお解決しなければならない問題がある。しかし、S/N比の改善するような撮像方法の開発、パルス系列の至適化、あるいは、血流によるアーティファクトの改善などに伴い、臨床的に許容できる範囲で、心臓のナトリウム・イメージングが、将来、より容易になると考えられる。また、細胞内外でのナトリウム・イオンの区別に関しては、化学シフト剤（例えば、dysprosium(III) tripolyphosphateなど）の使用も考えられる[17]。将来、生体に対する安全性の高い化学シフト剤や、シフト剤を必要としない撮像法が開発され、細胞内外のナトリウム・イオンの動態を区別できるよう

になれば、MRIによるナトリウム・イメージングは、医療上、極めて有力な手段になると予想される。

参考文献

1. Liebling MS, Gupta RK: A comparison of intracellular sodium ion concentration in neoplastic and nonneoplastic human tissue using ^{23}Na NMR spectroscopy. *Ann New York Acad Sci* 508:149-161, 1987
2. Pike MM, Kitakaze M, Marban E: ^{23}Na -NMR measurements of intracellular sodium in intact perfused ferret hearts during ischemia and reperfusion. *Am J Physiol* 259:H1767-H1773, 1990.
3. Baumgartner WA, Peitz BA, Oyer PE, et al: Cardiac transplantation. *Curr Probl Surg* 16: 1-61, 1979
4. Caves PK, Stinson EB, Billingham ME, et al: Diagnosis of human cardiac allograft rejection by serial cardiac biopsy. *J Thorac Cardiovasc Surg* 66: 461-464, 1973
5. Billingham ME: Diagnosis of cardiac rejection by endomyocardial biopsy. *Heart Transplant* 1: 25-30, 1981
6. Tscholakoff O, Aherne T, Yee ES, et al: Cardiac transplantation in dogs; Evaluation with MR. *Radiology* 157: 697-702, 1985
7. Ratner AV, Barrett LV, Gang DL: Alterations of the proton nuclear magnetic resonance spin-lattice relaxation time (T_1) in rejecting cardiac allograft. *J Am Coll Cardiol* 3: 538, 1984
8. Canby RC, Evanochko WT, Barrett LV, et al: Monitoring the bioenergetics of cardiac allograft rejection using in vivo P-31 nuclear magnetic resonance spectroscopy. *J Am Coll Cardiol* 9:555-564, 1987
9. Addonizio LJ, Micheler RE, Marboe C, et al: Imaging of cardiac allograft rejection in dogs using Indium-111 monoclonal antimyosin Fab. *J Am Coll Cardiol* 9:555-564, 1987
10. Delayer JL, Ingwall J, Malloy C, et al: Gated Sodium-23 Nuclear magnetic resonance imaging of an isolated perfused working rat heart. *Science* 212:935-936, 1981
11. Hilal SK, Mandsley AA, Simon HE, et al: In vivo NMR imaging of Sodium-23 in the human head. *J Comput Assist Tomogr* 9:1-7, 1985

12. Hilal SK, Maudsley AA, Simon HE, et al: In vivo NMR imaging of tissue sodium in the intact cat before and after acute cerebral stroke. AJNR 4:245-249, 1983
13. Cannon PJ, Maudsley AA, Hilal SK, et al: Sodium nuclear magnetic resonance imaging of myocardium tissue of dogs after coronary artery occlusion and reperfusion. J Am Coll Cardiol 7:573-579, 1986
14. Nishimura T, Sada M, Sasaki H, et al: Identification of cardiac rejection with magnetic resonance imaging in heterotopic heart transplantation model. Heart and Vessels 3:135-140, 1987
15. 成富博章: 脳血管障害例における ^{23}Na -MRイメージと細胞の生死。神経放射線の進歩 1:102-106, 1991
16. Turski PA, et al: Experimental and human brain neoplasm: Detection with in vivo sodium MR imaging. Radiology 163:245-249, 1987
17. Gupta PK, Gupta P: Direct observation of resolved resonances from intra- and extracellular sodium-23 ions in NMR studies of intact cells and tissue using dysprosium(III) tripolyphosphate as paramagnetic shift reagent. J Magn Reson 47:344-350, 1982

Development of Sodium-Imaging in Living Body Using Nuclear Magnetic Resonance and its Application to Analysis of Pathophysiology

Tsunehiko Nishimura, Masakazu Nakamura, Hideo Kusuoka,
Naoaki Yamada*, Satoshi Imakita*

Osaka University Medical School

* Department of Radiology, National Cardiovascular Center

Summary

Sodium ion (Na^+) plays a very important role in maintaining intra- and extracellular homeostasis. However, techniques to measure Na^+ in living body were limited to microelectrodes, and non-invasive method has not been available. Recently, nuclear magnetic resonance (NMR) is providing a new method to image the distribution of Na^+ in living body. This study focuses on the feasibility of Na^+ imaging using clinical NMR-CT machine (field strength: 1.5 Tesla). The changes in kinetics of intra- and extracellular Na^+ were also investigated from the viewpoint of pathophysiology.

In myocardium after the heterotopic heart transplantation, T_1 and T_2 relaxation times of proton (^1H) measured by H-MRI prolonged with the severity of rejection. Signal intensity of Na of myocardium rejected mildly was almost identical to normal one. Sodium signal increased in moderate rejection, and markedly increased in severe rejection. These results suggest that progress in rejection increases intracellular Na through irreversible damage and extracellular one through edema, resulting in the increase of signal intensity in Na image. In patients with cerebral infarction or hemorrhage, the lesion showed no signal of Na during early acute phase as was observed in normal tissue. However, signal intensity of Na at the lesion increased after late acute phase. These results suggest that the function of Na^+ pump deteriorates with progress of tissue damage, resulting in the increase of Na signal.

Our results strongly indicate that it is possible to get Na image from myocardium rejected after transplantation and brain tissue in infarction or hemorrhage by clinical NMR-CT machine. Furthermore, the pathophysiological condition of the lesion could be estimated by the analysis of Na image. The temporal resolution of Na-MRI is clearly less than that of H-MRI. Nevertheless, Na-MRI has the remarkable advantage to diagnose pathophysiological condition involving the change in intra- and extracellular Na^+ , observed in myocardium rejected after transplantation or in brain tissue with ischemia and necrosis. Recent progress in Na-MRI makes it possible to get Na image in human brain, but its application to human hearts has several problems to be solved such as ECG-gating. Improvement of S/N ratio, optimization of pulse sequences, and reduction of artifacts due to blood flow are necessary to clinical application of Na-MRI in cardiology. New chemical shift reagents with high safety to human body, or new technique to discriminate intra- and extracellular Na^+ without chemical shift reagents are also requested. Once these new techniques required are developed, Na-MRI will come to be a powerful tool in clinical medicine.