

脳梗塞病巣部の ^{31}P -MRS

*明治鍼灸大学 臨床医学教室脳神経外科 **京都府立医科大学 脳神経外科教室
樋口 敏宏* 田中 忠蔵* 成瀬 昭二** 上田 聖**

要旨: 脳梗塞症例 6 例を対象に、局在 ^{31}P -MRS 測定法を用いて脳梗塞病巣部におけるリン酸代謝の変化について検討した。脳梗塞病巣部から測定される ^{31}P -MRS の総信号量は発症後時間と共に減少し、約 10 ヶ月を経過した例では健常側の約 40% までの低下を認めた。各 peak の総信号量に占める比率は、発症後 1 ヶ月以内の時期には PME、Pi の増加 ($p < 0.05$) の傾向を認めた。病巣部の pH は、健常側よりも高い値を示した ($p < 0.05$)。これらの所見は、脳梗塞発症後約 1 ヶ月以内の時期には脳エネルギー代謝障害の影響が残存し、その後には neuron や glia の量的減少が中心の変化になることが示唆された。また、pH の上昇は細胞代謝障害、特に細胞膜のイオン輸送の障害や、細胞外液スペースの量的増加などの可能性が考えられた。

 ^{31}P -MRS of Patients With Cerebral Infarction

HIGUCHI Toshihiro*, TANAKA Chuzo*,
NARUSE Shoji** and UEDA Satoshi**

* Department of Neurosurgery, Meiji College of Oriental Medicine

** Department of Neurosurgery, Kyoto Prefectural University of Medicine

Summary: Phosphorus metabolism and tissue pH in the region of cerebral infarction were investigated by localized ^{31}P -MRS. Six patients aged 48-87 years with cerebral infarction were studied using a 1.5 T whole-body MRI/S system (Gyrosan S15, Philips). The first ^{31}P -MRS measurement of each patient was performed at 2 days to 10 months after the attack and four patients were examined sequentially. ^1H -MRI revealed large lesions in middle cerebral arterial territory or cerebellar region attended with minor or moderate hemorrhage in all cases. Localized ^{31}P -MR spectra were obtained from the lesions of infarction and control brains using ISIS (Image-Selected In vivo Spectroscopy) method. Selected volume was 72-176 cm^3 . Repetition time was 2 seconds, and 15 seconds in 2 cases, and 64-640 free-induction decays were accumulated. The areas of resonance lines were determined by the curve-fitting program (NMR1, NMRi) worked on a SUN 3/160 computer.

The most outstanding characteristic of ^{31}P -MRS obtained from the lesions was a decrease of the total amount of ^{31}P signal compared with control brains. The decrease attained up to 40%. As for the pH, it showed increase in the lesions compared with control brains ($p < 0.05$). Inquiring into the proportion of each peak to total amount of ^{31}P signal, Pi peak increased compared with control brains within a month after the attack ($p < 0.05$), and PME peak tended to increase. Consequently, these results suggested that an influence of energy metabolism disturbance remains and an alteration of membrane phospholipid metabolism occurs in a subacute stage (within a month after the attack), however a decrease in the amount of neurons and glia cells is the main pathological changes in a chronic stage.

Key Words: Cerebral infarction, ^{31}P , NMR

I はじめに

^{31}P -NMRスペクトロスコピー (^{31}P -MRS) による脳虚血の研究は従来、動物実験を中心に進められてきた。特に、本法を用いることにより脳虚血急性期にはこれまでわれわれが報告してきたように^{1,2,3,4)}、脳内の高エネルギーリン酸化合物であるATP、Phosphocreatine (PCr) のpeakの急激な減少と、無機リン (Pi) のpeakの急激な増大、組織pHの低下が観察され、強い脳エネルギー代謝障害を *in vivo* でとらえることができる。また、短時間の虚血の後に脳血流を再開させるとこれらの変化が回復することが明らかとなっている。さらに、ATP、PCr、Piのほか、 ^{31}P -MRSで観察される2つのpeakは、phosphomonoesters (PME)、phosphodiester (PDE) に由来し、膜リン脂質代謝を反映すると考えられている。

一方、臨床用高磁場MRI/S装置の導入により、リン酸代謝の生化学的情報を非破壊的かつ無侵襲に測定できる手法として ^{31}P -MRSの臨床応用が進められてきている。さらに、局在 ^{31}P -MRS測定法の開発により脳内の限局した病巣部からの測定が可能になった⁵⁾。今回、われわれは、脳梗塞症例を対象とし、脳梗塞病巣部における局在 ^{31}P -MRSを経時的に測定して、脳エネルギー代謝、膜リン脂質代謝の変化を中心に検討を加えた。

II 対象及び方法

脳梗塞症例6例を対象とした (Table 1)。いずれも、同時に測定したMRIにて、局在 ^{31}P -MRSの測定対象となる十分な大きさの脳梗塞巣が確認された症例であり、小梗塞巣が散在するmultiple lacunar infarctionの症例は対象から除外した。なお、すべての例のMRIで軽度ないし中等度の出血巣の合併が確認された。使用した装置は、静磁場強度1.5 teslaのGyrosan S15 (Philips) で、 ^{31}P -MRSの測定には直径16cmのcoupled coilを用いた。脳局所からの測定にはimage-selected in spectroscopy (ISIS) 法⁵⁾を用い、MRIで確認された病巣部および反対側半球の解剖学的にほぼ対称の位置に同一の72~176cm³の大きさの関心領域を設定して局在 ^{31}P -MRSを測定した (Fig. 1)。測定は256~640回の加算を行い、pulse繰り返し時間 (Tr) は2秒としたが、2例では15秒の測定を追加した。ISIS法による局在測定を行う上で重要となる90° pulseの決定は、coilの中心においたhexamethyl phosphorous triamide (HMPT) とB1 fieldのcomputer simulationによるmappingから正確に求めた。得られたfree induction decay (FID) に対するdata processingはSun 3/160 computer上のNMR1 software (NMRI) を用いて行った。さらに、前出のHMPTを外部標準試料として利用しその信号強度を基準として、異なる個体や時

Table 1. Cases of cerebral infarction

no.	age	sex	location of lesion	time of study (days after attack)
1	63	M	lt. frontoparietal	23, 45, 129
2	68	F	cerebellum (lt.)	30
3	68	F	rt. frontoparietal	300
4	62	M	lt. frontoparietal	2, 5, 18
5	87	M	lt. frontoparietal	2, 8, 27
6	48	M	lt. frontoparietal	41, 56

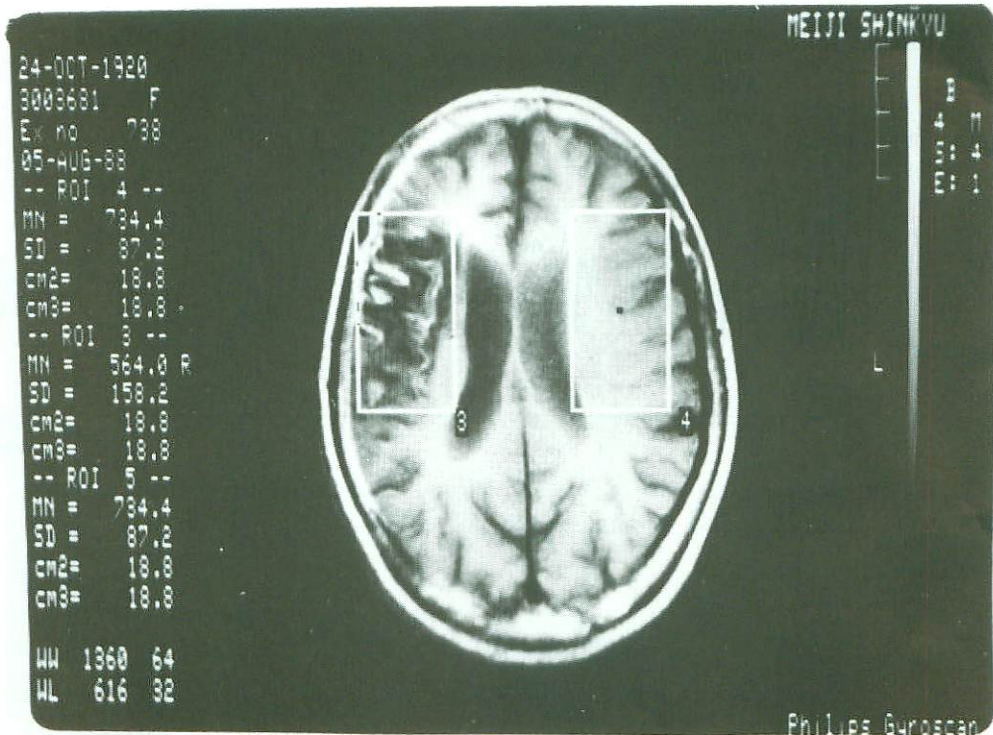


Fig. 1 MRI (Tr/Te=450/30) in case 3, which shows right frontoparietal low intensity mixed with irregular high intensity area. Both rectangular areas represent volumes of interest, from which ^{31}P -MR spectra are measured.

期において測定されたスペクトレの信号量の定量的比較を行った。そして、病巣部と健常部の各 peak の信号強度、および Pi の chemical shift から算出した組織 pH の経時的な変化などについて検討を加えた。

III 結 果

脳組織局所から測定された spectrum は全例において低磁場側から、phosphomonoesters (PME), inorganic phosphate (Pi), phosphodiester (PDE), phosphocreatine (PCr) および主として γ -, α -, β -ATP の 7 つの peak が確認された。病巣部と健常部から測定された spectrum を比較すると病巣部における全

体の S/N 比の低下、相対的な PME, Pi peak の増大の傾向が認められた (Fig. 2, 3)。各 peak の信号強度を加算した総和について病巣部と健常部を比較すると (Tr=2), 病巣部では脳梗塞発症早期より低下を認め、発症後約 10 ヶ月を経た例では約 40% に減少していた (Fig. 4)。発症後 1 ヶ月以内の時期 (亜急性期) と 1 ヶ月以後の時期 (慢性期) に分けて各 peak の総信号強度に対する比率の変化について検討すると、亜急性期の病巣部において Tr=2 の測定では Pi が統計学的に有意に増加を認め ($p < 0.05$), Tr=15 の測定では PME の増加の傾向を示した (Table 2)。脳組織 pH については、亜急性期には病巣部において健常部より有意に高値を示し

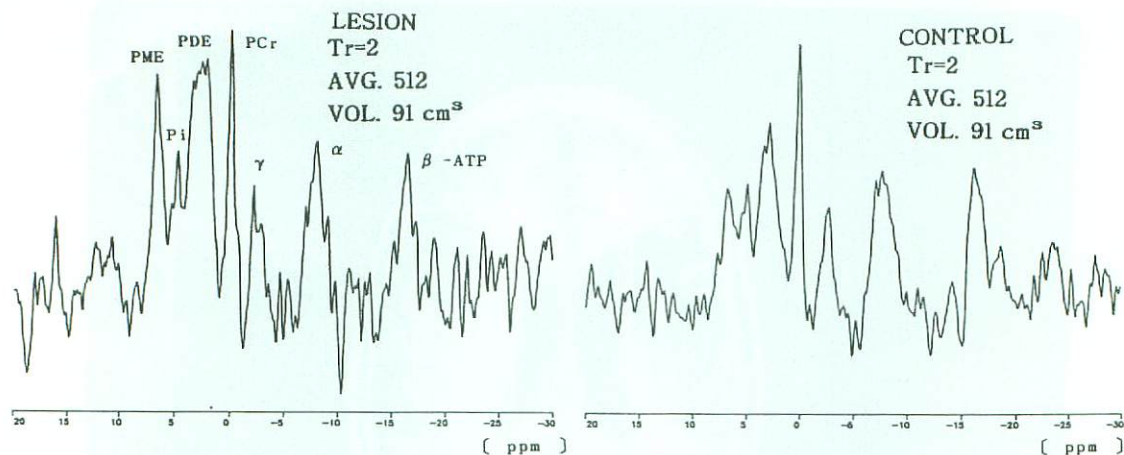


Fig. 2 ^{31}P -MR spectra in case 1, measured from lesion side (left one) and control side (right one) 23 days after the attack.

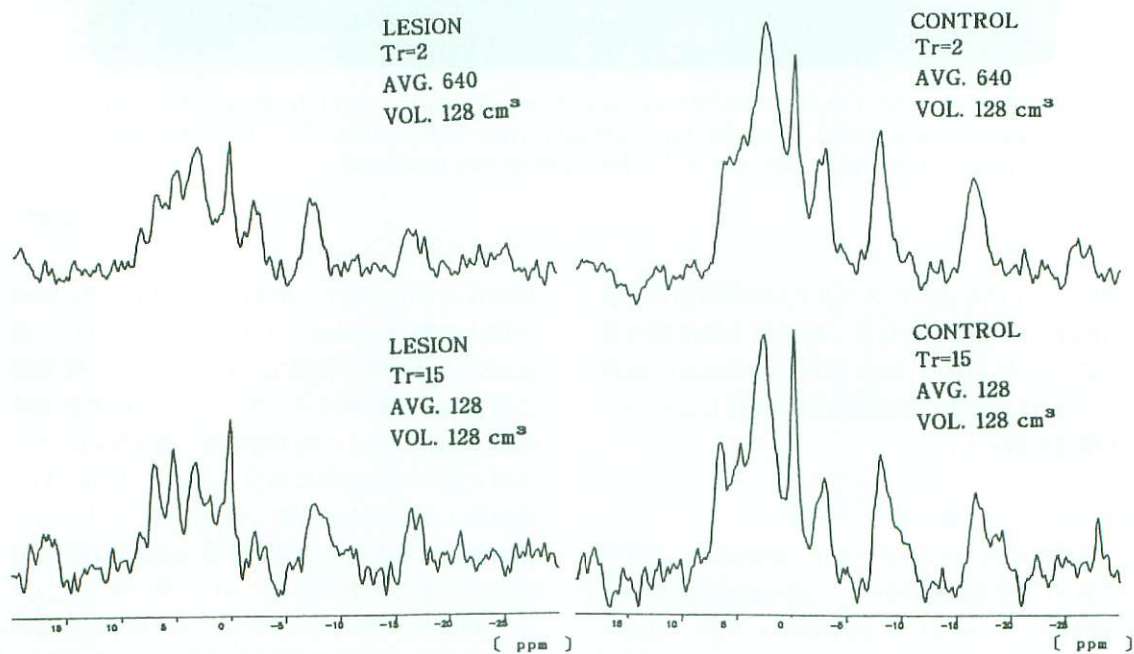


Fig. 3 ^{31}P -MR spectra in case 6, measured from lesion side (left) and control side (right) 65 days after the attack, upper spectra were measured with 2 seconds interpulse interval and lower were 15 seconds.

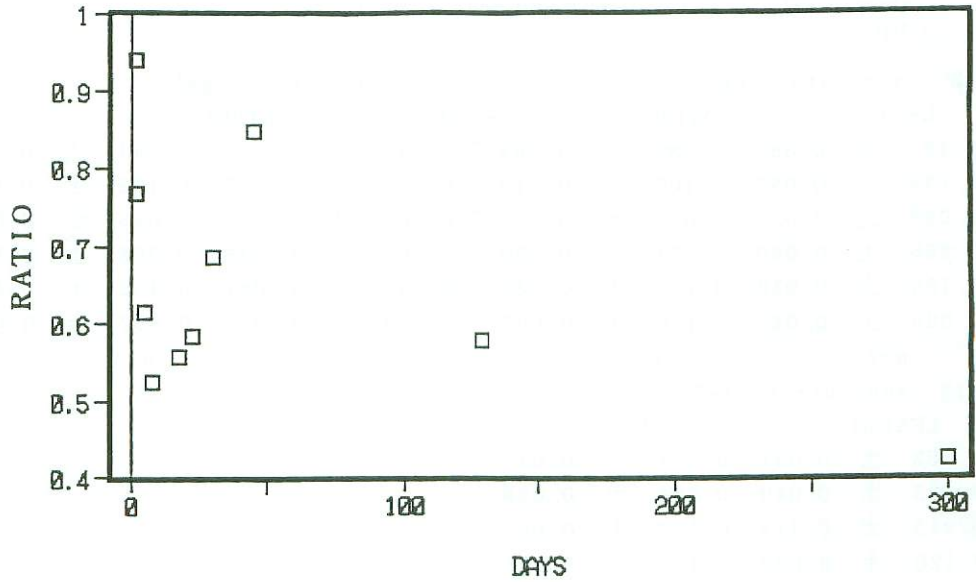


Fig. 4 Sequential changes in the proportion of the total amount of ^{31}P signal measured from cerebral infarction to that from control brain.

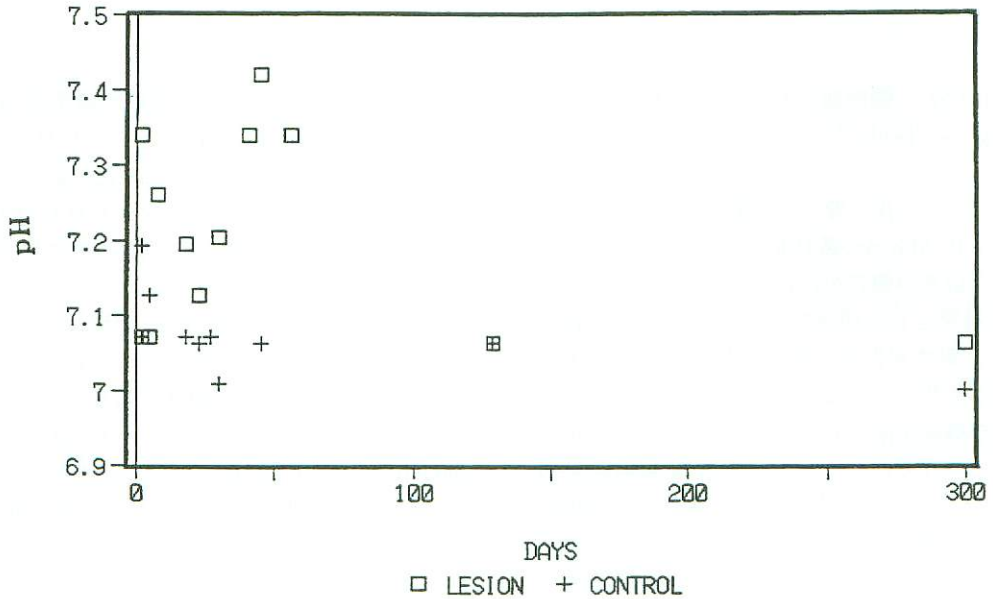


Fig. 5 Sequential changes in the values of brain tissue pH.

Table 2 Values of pH and ratios of each substance to total amount of ³¹P signal in cerebral infarction

A) Tr=2 subacute stage ^{a)}						chronic stage ^{b)}							
	LESION			CONTROL				LESION			CONTROL		
pH	7.181	±	0.093	7.085	±	0.054**	7.245	±	0.153	7.041	±	0.029**	
PME	0.134	±	0.056	0.109	±	0.018	0.137	±	0.027	0.165	±	0.025	
Pi	0.088	±	0.028	0.059	±	0.020**	0.087	±	0.039	0.045	±	0.002	
PDE	0.365	±	0.060	0.371	±	0.039	0.369	±	0.046	0.368	±	0.032	
PCr	0.126	±	0.038	0.117	±	0.028	0.097	±	0.041	0.132	±	0.005	
ATP ^{c)}	0.096	±	0.022	0.116	±	0.007	0.103	±	0.021	0.097	±	0.007	
	n=7			n=7			n=5			n=3			

B) Tr=15 subacute stage ^{a)}						
	LESION			CONTROL		
PME	0.183	±	0.031	0.124	±	0.014**
Pi	0.133	±	0.040	0.084	±	0.039
PDE	0.313	±	0.114	0.379	±	0.042
PCr	0.120	±	0.023	0.179	±	0.038
ATP ^{c)}	0.084	±	0.021	0.078	±	0.009
	n=4			n=2		

values are means ± SD. ^{a)} within 1 month after an attack

^{b)} after 1 month ^{c)} value of total ATP ratio divide by 3

^{**}P<0.05, significance was tested by Student's t test for unpaired data.

($p < 0.05$), 慢性期にもpHの高い傾向を認めた (Fig. 5, Table 2) .

IV 考 察

最近³¹P-MRSの臨床応用によりヒト脳を対象とした研究の報告が行われるようになった. 新生児を対象とした研究では PME peak が著明に高く, 新生児仮死の例ではPCr/Pi比が正常児に比べて明らかに低下しており, この値が生命予後及び機能予後を推定する上で信頼し得る指標になるとされている^{6,7,8)}. また, 脳腫瘍病巣部から測定された³¹P-MRSでも腫瘍の病理組織学的相違に関わらず PME peak が高いこと, そして放射線療法や化学療法による治療効果と PME peak の低下が高い相関を示すことが確認されている^{9,10,11,12,13,14)}. さらに, Alz-

heimer 病の脳組織では幼弱な脳や腫瘍組織において高値を示すPME peakとともにPDE peakが高値を示すことがin vitroの研究において確認されている^{15,16)}. PME peakやPDE peakがどのような代謝基質を反映しているのかについては, 従来より種々の研究が行われたが^{14,15,16,17,18)}, 現在 PME peak は phosphorylethanolamine が主で他に phosphorylcholine が含まれており, いずれも膜リン脂質の前駆体であると考えられている. また, PDE peak については glycerophosphorylethanolamine や glycerophosphorylcholine を反映し, これらはいずれも膜リン脂質の分解産物であると考えられている. 従って, 幼弱な脳や腫瘍組織においてPME peakが高いのは活発な細胞増殖が行われていることを示し, Alzheimer 病の脳組織でPMEおよび

PDE peak が高くなるのは膜リン脂質合成障害と細胞変性を示すものと解釈される。

一方、 ^{31}P -MRSを用いた脳梗塞病巣の代謝変化の研究は従来、動物実験モデルを対象として脳虚血直後のエネルギー代謝を中心に検討されてきた。その結果、虚血導入直後から高エネルギーリン酸化合物であるATP、PCrの急激な減少と、Piの急激な増大、組織pHの低下がとらえられ、虚血によりKrebs回路以下の好氣的エネルギー産生系の強度な障害と嫌気性解糖の亢進が急速に進むことが確認された。また、虚血が短時間であれば血流を再開させることによりこれらの変化は回復することが明かとなっている。ヒト脳を対象とした研究においては、このような急激な脳エネルギー代謝障害を報告した例は少ない。わずかに、急性期の例においてPCr/Pi比が有意に低下し、pHは3日以内はacidosisを呈しその後alkalosisに転じることが報告されている¹⁹⁾。慢性期においてはリン酸化合物の総信号量の低下が特徴的であるとする報告が多いが^{14,15,16,17,18,19,20)}、これに加えて病巣部のpHが健常部に比べて高値を示すという報告²¹⁾もある。測定装置、局在測定のためのpulse sequence、脳梗塞発症後測定までの時間の違いなどがあり単純な比較は困難であるが、われわれの得た亜急性期におけるPiの高値、全経過を通じての ^{31}P の総信号量の低下、pHの上昇はこれらの報告とはほぼ一致する所見であった。すなわち、亜急性期における脳エネルギー代謝障害の残存と全経過を通じてのneuronとglia cellの減少を示すものである。脳組織pHの上昇は細胞代謝障害、特に細胞膜のイオン輸送の障害や、細胞外液スペースの量的増加などの可能性が考えられる。さらに、われわれの研究では亜急性期の病巣部においてPMEの増加が確認された。この所見は、より定量的な変化を反映する繰り返し時間15秒の測定において認められたものである。従来の報告では、相対的に長い T_1 による飽和効果を相殺するには不十分な、短い繰り返し時間を用いた測定が行われていたためにとらえられなかったものと考えられた。

また、動物実験モデルを用いた研究において有意なPMEの増加が報告²²⁾されており、われわれの結果を裏付けるものである。この所見は、脳組織の損傷修復過程におけるgliosisに伴う活発な細胞増殖を示すものか、Alzheimer病の場合のように膜リン脂質合成障害や細胞変性を示すものと推定される。

以上のように ^{31}P -MRSは、エネルギー代謝や膜リン脂質代謝を無侵襲、非破壊的に測定できる画期的な手法として臨床応用が進められ、多くの知見が蓄積されつつある。しかしながら、現在なお局在測定法の正確性、低い空間分解能、長い測定時間、定量的評価の困難などの問題がある。これらの問題に対しては装置の高磁場化や、測定感度の向上を目指す装置、測定法の改良、 T_1 値測定による測定値の補正などが試みられている。さらにchemical shift imaging法による各代謝基質の画像化および ^1H や ^{13}C などの多核種への応用によって、近い将来、より広範囲の生化学的情報がMRSにより測定可能となることが期待される。

V 結 語

- 1) 局在 ^{31}P -MRS測定法を用いて、脳梗塞病巣部におけるリン酸代謝の変化について検討した。
- 2) 脳梗塞病巣部から測定される ^{31}P -MRSの総信号量は発症後時間と共に減少し、約10ヶ月を経過した例では健常側の約40%までの低下を認めた。
- 3) 病巣部のpHは、健常側よりも高い値を示した ($p < 0.05$)。
- 4) 各peakの総信号量に占める比率に注目すると、発症後1ヶ月以内の時期には病巣部では、PME、Piの増加 ($p < 0.05$) を認めた。
- 5) 以上より、脳梗塞発症後約1ヶ月以内の時期には脳エネルギー代謝障害の影響が残存すると同時に、膜リン脂質代謝の障害が存在し、その後にはneuronやgliaの量的減少が中心の変化になることが示唆された。

文 献

- 1) Naruse S, Horikawa Y, Tanaka C, et al : Measurements of in Vivo Energy Metabolism in Experimental Cerebral Ischaemia Using ^{31}P -NMR for the Evaluation of Protective Effects of Perfluorochemicals and Glycerol. *Neurol Res* 6 : 169~175, 1984.
- 2) Horikawa Y, Naruse S, Hirakawa K, et al : In Vivo Studies of Energy Metabolism in Experimental Cerebral Ischemia Using Topical Magnetic Resonance. Changes in ^{31}P -Nuclear Magnetic Resonance Spectra Compared with Electroencephalograms and Regional Cerebral Blood Flow. *J Cereb Blood Flow Metabol* 5 : 235~240, 1985.
- 3) 樋口敏宏, 成瀬昭二, 堀川義治ら : 実験的虚血脳のエネルギー代謝の多様性— in vivo ^{31}P -NMRによる観察— . *脳卒中* 8 : 433~439, 1986.
- 4) Higuchi T, Naruse S, Horikawa Y, et al : Pathophysiological Investigation of Experimental Cerebral Ischaemia Using in Vivo ^{31}P -NMR Spectroscopy and ^1H -MRI. *Acta Neurochirurgica, Suppl* 43 : 172~176, 1988.
- 5) Ordidge R J, Connelly A and Lohman J A B : Image-Selected in Vivo Spectroscopy (ISIS). A New Technique for Spatially Selective NMR Spectroscopy. *J Magn Reson* 66 : 283~294, 1986.
- 6) Cady E B, De L Costello A M, Joan Dawson M, et al : Non-invasive investigation of Cerebral Metabolism in Newborn Infants by Phosphorus Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy. *Lancet* i : 1059~1062, 1983.
- 7) Younkin D P, Delivoria-Papadopoulos M, Leonard J C, et al : Unique Aspects of Human Newborn Cerebral Metabolism Evaluated with Phosphorus Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy. *Ann Neurol* 16 : 581~586, 1984.
- 8) Delpy D T, Cope M C, Cady E B, et al : Cerebral Monitoring in Newborn Infants by Magnetic Resonance and Near Infrared Spectroscopy. *Scand J Clin Lab Invest* 47, Suppl 188 : 9~17, 1987.
- 9) Maris J M, Evans A E, McLaughlin A C, et al : ^{31}P Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopic Investigation of Human Neuroblastoma in Situ. *N Engl J Med* 312 : 1500~1505, 1985.
- 10) Oberhaensli R D, Hilton-Jones D, Bore P J, et al : Biochemical Investigation of Human Tumours in vivo with Phosphorus-31 Magnetic Resonance Spectroscopy. *Lancet* ii : 8~11, 1986.
- 11) Segebarth C M, Baleriaux D F, Arnold D L, et al : MR Image-guided P-31 MR Spectroscopy in the Evaluation of Brain Tumor Treatment. *Radiology* 165 : 215~219, 1987.
- 12) Thomsen C, Jensen K E, Achten E, et al : In Vivo Magnetic Resonance Imaging and ^{31}P Spectroscopy of Large Human Brain Tumours at 1.5 Tesla. *Acta Radiologica* 29 : 77~82, 1988.
- 13) 田中忠蔵, 成瀬昭二, 堀川義治ら : 脳腫瘍・脳血管障害の局在 ^{31}P -MRS. *CT研究* 10 : 539~545, 1988.
- 14) Bottomley P A : Human in Vivo NMR Spectroscopy in Diagnostic Medicine : Clinical Tool or Research Probe? *Radiology* 170 : 1~15, 1989.
- 15) Pettegrew J W, Moosy J, Withers G, et al : ^{31}P Nuclear Magnetic Resonance Study of the Brain in Alzheimer's Disease. *J Neuropathol Exp Neurol* 47 : 235~248, 1988.
- 16) Pettegrew J W, Panchalingam K, Moosy J, et al : Correlation of Phosphorus-31 Magnetic Resonance Spectroscopy and Morphologic Findings in Alzheimer's Disease. *Arch Neurol* 45 : 1093~1096, 1988.
- 17) Glonek T, Kopp S J, Kot E, et al : P-31 Nuclear Magnetic Resonance Analysis of Brain : The Perchloric Acid Extract Spectrum. *J Neurochem* 39 : 1210~1219, 1982.
- 18) Gyulai L, Bolinger L, Leigh Jr, J S, et al : Phosphorylethanolamine—the Major Constituent of the Phosphomonoester peak observed by ^{31}P -NMR on developin dog brain. *FEBS* 178 : 137~142, 1984.
- 19) Levine S R, Welch K M A, Helpner J A, et al : Clinical Investigation of Ischemic Stroke by Serial 31-Phosphorus NMR Spectroscopy (abstr). In : Book of abstracts : Society of Magnetic Resonance in Medicine 1987. vol 2. Berkley, Calif : Society of Magnetic Resonance in Medicine, 536, 1987.
- 20) Bottomley P A, Drayer B P and Scott Smith L : Chronic Adult Cerebral Infarction Studied by Phosphorus NMR Spectroscopy. *Radiology* 160 : 763~766, 1986.

- 21) Sappey-Marinier D, Hubesch B, Deicken R, et al: Altered ^{31}P Metabolites and pH in Chronic Stroke and Deep White Matter Lesions (abstr). In: Book of abstracts: Society of Magnetic Resonance in Medicine 1989. Berkley, Calif: Society of Magnetic Resonance in Medicine, 1070, 1989.
- 22) Houkin K, Nakada T, Suzuki N, et al: ^{31}P Magnetic Resonance Spectroscopy of Chronic Cerebral Infarction in Rats. NMR in Biomedicine 2:83~86, 1989.