

犬と猫の脳腫瘍における **MRI** 特殊撮像の有用性

(Usefulness of advanced MR imaging in the canine and feline intracranial tumors)

和田 昌絵

犬と猫の脳腫瘍における MRI 特殊撮像の有用性

(Usefulness of advanced MR imaging in the canine and feline intracranial tumors)

和田 昌絵

日本獣医生命科学大学 大学院獣医生命科学研究科

(指導教授：長谷川大輔)

令和 2 年 3 月

目次

略語一覧

第1章 序論

1.1 序論	1
1.2 Conventional MRIにおける犬と猫の脳腫瘍の画像所見	3
1.3 ヒトの脳腫瘍における特殊撮像の画像所見	6
図および表	10

第2章 拡散強調画像 (DWI) の検討

2.1 緒言	13
2.2 材料および方法	15
2.3 結果	18
2.4 考察	19
2.5 小括	27
図および表	28

第3章 拡散テンソル画像 (DTI) の検討

3.1 緒言	34
3.2 材料および方法	36
3.3 結果	39
3.4 考察	40
3.5 小括	45
図および表	47

第4章	MR スペクトロスコピー (MRS) の検討	
4.1	緒言	53
4.2	正常犬および猫における視床の MRS の検討	
4.2.1	材料および方法	57
4.2.2	結果	59
4.2.3	考察	59
4.3	脳腫瘍症例における検討	
4.3.1	材料および方法	61
4.3.2	結果	63
4.3.3	考察	64
4.4	小括	68
	図および表	69
第5章	灌流強調画像 (PWI) の検討	
5.1	緒言	80
5.2	正常犬および猫における造影剤注入速度の検討	
5.2.1	材料および方法	84
5.2.2	結果	87
5.2.3	考察	88
5.3	脳腫瘍症例における検討	
5.3.1	材料および方法	91
5.3.2	結果	93

5.3.3 考察	95
5.4 小括	99
図および表	100
第6章 総括	108
図および表	119
謝辞	121
参考文献	122

略語一覧

ADC	apparent diffusion coefficient: : 見かけの拡散係数
Ala	alanine : アラニン
ASL	arterial spin labeling
Cho	choline : コリン
Cr	creatine : クレアチン
CSF	cerebrospinal fluid : 脳脊髄液
CT	computed tomography : コンピューター断層撮影
DSC	dynamic susceptibility contrast : ダイナミック磁化率コントラスト
DTI	diffusion tensor imaging : 拡散テンソル画像
DWI	diffusion-weighted imaging : 拡散強調画像
FA	fractional anisotropy : 異方性比率
FLAIR	fluid-attenuated inversion recovery
FOV	field of view : 撮影視野
Gln	glutamine : グルタミン
Glu	glutamate : グルタミン酸
Ins	myo-inositol : ミオイノシトール
IQR	interquartile range : 四分位範囲
Lac	lactate : 乳酸
Lip	lipid : 脂質
MPG	motion probing gradient : 運動傾斜磁場
MRI	magnetic resonance imaging : 磁気共鳴画像
MRS	magnetic resonance spectroscopy : MR スペクトロスコピー
MTT	mean transit time : 平均通過時間
NAA	N-acetyl-L-aspartate : N-アセチルアスパラギン酸

NAWM	normal-appearing white matter : 正常に見える大脳白質
NEX	number of excitations : 積算回数
PNET	primitive neuroectodermal tumor : 原始神経外胚葉性腫瘍
PWI	perfusion-weighted imaging : 灌流強調画像
rCBF	relative cerebral blood flow : 相対的脳血流量
rCBV	relative cerebral blood volume : 相対的脳血液量
RF coil	radio frequency coil : 高周波コイル
ROI	region of interest : 関心領域
TE	echo time : エコー時間
TR	repetition time : 繰り返し時間

第 1 章

1.1. 序論

犬の脳腫瘍の発生率は 1968 年に 0.01% (10 万頭あたり 14.5 頭) と報告されている [Dorn 1968] が、2013 年には 4.5% と増加している [Song 2013]。この脳腫瘍の発生率の増加には、最近の磁気共鳴画像 magnetic resonance imaging (MRI) 機器の普及が大きく関与していると思われる。以前は脳徴候を呈しても、頭蓋内を精査する方法が少なく、剖検でのみ脳腫瘍が診断されていた。そのため、剖検に至らない患者は原因不明の神経疾患と診断されていた可能性が高い。現在でも MRI 検査は比較的高価であるが、本邦、特に都心部では犬は家族の一員として屋内で飼う家庭が増え、MRI 検査を選択する飼い主が増加しているという背景もある。また、MRI やコンピューター断層撮影 computed tomography (CT) の普及により神経疾患はより迅速で正確な診断が可能になり、脳腫瘍外科や放射線治療を実施する施設も増え、治療の幅も広がってきている。そのため、画像検査である程度腫瘍性病変と非腫瘍性病変を鑑別する必要があり、人医療では高磁場の MRI が利用されている。

脳腫瘍において、犬および猫の原発性腫瘍では髄膜腫が最も多く [Snyder 2006、Troxel 2003、Motta 2012]、次に犬では神経膠腫、猫ではリンパ腫が多いと言われている [Bagley 1999、Snyder 2006]。原発性腫瘍の多くは高齢犬に発生するが、神経膠腫などは若齢でもみられる [Song 2013、Kube 2003]。髄膜腫はゴールデン・レトリバーやボクサーなどで多く、神経膠腫は短頭種 (ボストン・テリア、ブルドッグ) で多いことが報告されている [Song 2013、Snyder 2006、Sturges 2008]。そのため、頭蓋内の腫瘍性病変に関しては、犬種や年齢からもある程度の推測は可能である。猫の髄膜腫に関しては 1 匹の猫の頭蓋内に複数個の髄膜腫が比較的頻繁 (17.2%) に発生することも報告されており [Troxel 2003、Nafe 1979]、神経学的検査で多発性病変が疑われたとしても、腫瘍性病変を否定することはできない。

脳脊髄液 cerebrospinal fluid (CSF) 検査は、多くの頭蓋内腫瘍では中等度の細胞数

増加 (5~50 個/ μ l、主に単核球) と総タンパク濃度の増加が見られることが多いが、これ自体は炎症性疾患でも起こりえる非特異的所見であるため診断に有用ではない。しかし、CSF 中に腫瘍細胞がリンパ腫 [Snyder 2006、Palus 2012] や組織球性肉腫 [Tzipory 2009、Zimmerman 2006]、脈絡叢乳頭腫 [Westworth 2008]、神経膠腫 [Vandeveld 1987] で認められることがあり、その場合には診断が可能となることがある。ただし頭蓋内腫瘍が存在する場合には、頭蓋内圧亢進を伴っていることも多く、CSF の採取が困難な場合も多い。そのために、非侵襲的に実施することのできる画像検査で腫瘍性病変を評価していくことが重要となってくる。

現在、犬猫の脳腫瘍診断において MRI は中心的な役割を果たしている。MRI の最大の特徴は他の画像法と比較して多様な情報が取り出せるところにある。頭蓋内病変の臨床的な診断法としての X 線 CT は X 線の透過度の違いを画像原理とする形態的な診断が主である。螺旋状にスキャンする方法 (ヘリカルスキャン) が普及した結果、特定の平面だけでなく、任意の断面を測定・表示できるようになった。MRI と比較すると撮影時間が短く、費用は安価であるが、被曝するという欠点がある。Positron emission tomography (PET) や single photon emission CT (SPECT) は放射性核標識化合物の挙動を画像表示するもので、測定対象は水や酸素などの体内動態から受容体マッピングに至るまで様々な応用可能な高感度測定法である。問題としては、目的に応じた放射性核標識化合物を投与する必要があることや、その廃棄法、そして解像度の低さが挙げられる。それに対して MRI では、造影剤を使用する場合を別として、ほとんどの場合が体内の内在性の核を用いて形態的異常を検出する (構造的 MRI) ことができ、さらに物質の性質、種類や動きといった多様な特殊画像 (機能的 MRI) を作成することができる。これらの特殊画像を組み合わせることで、人医では脳腫瘍の種類や組織型を推測したり、外科治療計画を立てたり、あるいは放射線治療後の再発の有無を確認している。小動物臨床では、ヒトと比べ病理組織検査と併せた症例数が少ないため、まだ画像診断のみで腫瘍の種類を特定することは難しい。また、MRI が普及していると言っても、まだ通常の MRI (Conventional MRI)、つまりは構造的画像を得る撮像のみの場合が多く、ヒトで行われているような特殊撮像の報告はほとんどないのが現状である。

1.2. Conventional MRI における犬と猫の脳腫瘍の画像所見

Conventional MRI には T2 強調画像、T1 強調画像、FLAIR 画像、造影 T1 強調画像などのシーケンスがあり、これらの検査でも脳腫瘍をある程度分類する事は可能で、犬猫においても脳腫瘍画像の特徴に関して多くの報告がある [Kraft 1997, Bentley 2015, Wisner 2011]。脳腫瘍には脳実質内病変と実質外病変があり、Conventional MRI はこれらを判断するのに有用である。脳腫瘍は存在する部位によって、実質内腫瘍、硬膜内実質外腫瘍、硬膜外腫瘍に分類される。実質内腫瘍には神経膠腫（星状膠細胞腫、希突起膠細胞腫、膠芽腫）、上衣腫、脈絡叢腫瘍があり、硬膜内実質外腫瘍には髄膜腫、組織球性肉腫、神経鞘腫などが入る [Prata 1977]。硬膜外腫瘍には、骨肉腫、骨小葉性腫瘍、鼻腔内腫瘍の頭蓋内浸潤などが含まれる [Prata 1977]。リンパ腫や転移性腫瘍、血管肉腫などはどの部位にも発生する。そのため、頭蓋内腫瘍の局在部位を画像によって鑑別することは腫瘍の種類を診断する上では重要となる。これらの区別のためには mass による血管系の偏位、脳灰白質・白質の buckling（灰白質および灰白質境界部は保たれたまま白質がアコーディオン状に圧排されること）などの mass effect（圧排効果）や骨変化（猫の髄膜腫では腫瘍周囲の骨に肥厚が生じる）、腫瘍近傍のくも膜下腔の広がりや腫瘍辺縁の立ち上がりの形態などが参考にされている。Conventional MRI では特に buckling の所見や腫瘍辺縁と脳実質境界の形態の描出が明瞭であり、脳実質内か実質外かの区別が評価しやすいが、大きな腫瘍では鑑別が困難な場合もある。また腫瘍の伸展範囲の確定や腫瘍と周囲臓器との関連を明らかにすることは治療方針を決定する上で必要になってくる。以下に犬猫で認められる各脳腫瘍の Conventional MRI における画像所見について概説する。

1.2.1. 髄膜腫 Meningioma

髄膜腫は硬膜内実質外に発生し、一般的に T2 強調画像で高信号、T1 強調画像で等信号、ガドリニウム（Gd）による造影 T1 強調画像で約 60～79%は均一に増強される腫瘍であ

る [Thomas 1996, Sturges 2008, Ródenas 2011, Wisner 2011] (図 1.1 A~H)。Mass effect はほとんどの症例で認められ(猫が 97%、犬で 100%) [Troxe1 2004, Ródenas 2011, Wisner 2011]、病変周囲に脳浮腫(腫瘍周囲性浮腫)が認められることが多いが、ゆっくり進行した病変ではほとんど認められない事もある [Sturges 2008, Ródenas 2011] (図 1.1 D,H)。髄膜腫の特徴的な所見としては、造影剤投与により認められる腫瘍に近接した髄膜の肥厚(dural tail sign)像である [Graham 1998, Cherubini 2005] (図 1.1 C,G 赤矢印)。Dural tail sign は髄膜腫の犬のうち 22~82%、猫は 64%でみられると言われているが [Motta 2012, Sturges 2008, Ródenas 2011, Graham 1998]、髄膜より発生する他の腫瘍(髄膜に転移した腫瘍や組織球性肉腫など)でも認められることが多く、最近では髄膜腫の特異的所見とは言えなくなっている。嚢胞性髄膜腫(嚢胞を伴う髄膜腫の外観上・画像診断上の名称であり、病理組織学的診断名ではない)は、MRI と CT の普及により多く診断されるようになり、犬で多い傾向(猫で 6%、犬では 12.5~32%)がある [Troxe1 2004, Thomas 1996, Sturges 2008, Ródenas 2011, Graham 1998]。比較的嚢胞成分が大きく、腫瘍実質は圧迫され髄膜に沿った部分にのみ平坦にみられることが多いのが特徴である [James 2012]。そのため、腫瘍実質自体が大きくなると嚢胞成分が十分に大きいと頭蓋内圧が亢進し、生命を脅かすことも少なくない。著者は嚢胞性髄膜腫の巨大嚢胞が自然消退し、頭蓋内圧亢進を防げた稀な症例に遭遇したため、Case Report として報告している [Wada 2016]。この症例は嚢胞消失後 2 年間生存したが、明らかな嚢胞の再発や腫瘍の増大は見られないまま他疾患で死亡している。

1.2.2. 組織球性肉腫 Histiocytic sarcoma

組織球性肉腫は硬膜内実質外や硬膜外に存在する傾向があり、髄膜に沿ってびまん性に浸潤するものと孤立性腫瘤を形成するものがある [Wisner 2011]。T2 強調画像で等~高信号、T1 強調画像で等~低信号を示し、造影剤で比較的均一に増強される [Tzipory 2009] (図 1.1 I~L)。Dural tail sign を示すものが多いが [Tamura 2009] (図 1.1K 赤矢印)、著者は脳溝に深く入り込むように造影増強が認められるものが多い傾向があると考えている [Wada 2017] (図 1.1 K 青矢印)。組織球性肉腫は急速に増大し、脳実質にも浸潤すること

も多いため、mass 周囲に脳浮腫像を強く認め、強い mass effect を示す [Wisner 2011] (図 1.1 L)。

1.2.3. 神経膠腫 Gliomas

神経膠腫とはグリア細胞（神経膠細胞）に由来する腫瘍の総称であり、通常脳実質内に発生する。星状膠細胞腫 astrocytoma と希突起膠細胞腫 oligodendroglioma は MRI 画像上で明確に区別できないため、臨床的あるいは画像診断的に神経膠腫と一括され、一般的に脳実質内に T2 強調画像で高信号、T1 強調画像で低信号を示す腫瘍性病変を形成することが多い。造影 T1 強調画像で増強されない場合は低グレードが多く、リング状の増強を示す場合は悪性度が高い（高グレード）と言われている [Young 2011] (図 1.1 M～P)。不整な増強を示すこともあり、増強の程度は微小血管の増殖および血液脳関門の破綻を反映している。リング状の増強を示すものは内部に出血、壊死を伴っており、星状膠細胞腫の高悪性度型である膠芽腫 glioblastoma に特徴的である [Young 2011, Lipsitz 2003]。星状膠細胞腫と希突起膠細胞腫の違いは、両者とも腫瘍周囲に軽度の浮腫を伴うことが多いが [Ródenas 2011, Young 2011, Kraft 1997, Snyder 2006]、脳浮腫は星状膠細胞腫でより多い傾向がある [Bentley 2013]。また星状膠細胞腫は間脳に発生する頻度が高い [Snyder 2006]。希突起膠細胞腫は側脳室に近接して発生する事が多く、腫瘍の圧迫による脳室の変形は星状膠細胞腫よりも多くみられる [Bentley 2013]。

1.2.4. その他

頭蓋に発生する硬膜外腫瘍としては、頭蓋骨に発生する骨肉腫 osteosarcoma や多小葉性骨軟骨肉腫 multilobuler osteochondrosarcoma などがある。頭蓋骨に発生した多小葉性骨軟骨肉腫は T2 強調画像、T1 強調画像で混合信号強度を呈し、造影 T1 強調画像で広範囲に増強される [Lipsitz 2001] (図 1.1 Q～T)。骨腫瘍病変の脳への浸潤程度を評価するには MRI が有効であるが [Besalti 2016]、骨ないし石灰化した腫瘍病変の視覚化には CT が優れている。

このように Conventional MRI は信号強度や存在部位、画像の特徴などから犬猫でも腫瘍の鑑別に利用されている。しかし、Conventional MRI のみでは鑑別できない症例も数多く存在し、また組織型やグレーディングといった評価は困難であり、人医療において MRI 特殊撮像や PET と併せて評価されている。

1.3. ヒトの脳腫瘍における特殊撮像の画像所見

ヒトの脳腫瘍診断においても MRI が中心的な役割を果たしており、Conventional MRI (T2 強調画像、T1 強調画像、FLAIR 像、造影 T1 強調画像) の他に、拡散画像、磁化率強調画像 (T2*強調画像など)、ダイナミック磁化率コントラスト dynamic susceptibility contrast (DSC) 法による灌流強調画像、arterial spin labeling (ASL)法による脳血流画像、MR スペクトロスコピー (MRS) などが撮像される。腫瘍内出血に関しては磁化率強調画像で検出が可能であり、膠芽腫などの悪性腫瘍は出血が多い傾向がある。

1.3.1. 拡散画像 Diffusion imaging

1.3.1.1. 拡散強調画像 Diffusion-weighted imaging (DWI)

DWI は水分子の超微細な動き (ブラウン運動・拡散運動) の程度を描出する画像法で、脳腫瘍の細胞密度の評価によく用いられ、その定量値として拡散速度を表すみかけの拡散係数 apparent diffusion coefficient (ADC) が使用される。一般的に細胞密度が高くなるにつれて細胞外液の水分子の動きが悪くなるために DWI は高信号となり、悪性の脳腫瘍の ADC 値は良性のものに比べて低値を示す [Hayashida 2006, Kono 2001, Sugahara 1999, Guo 2002, Gauvain 2001]。ヒトにおいて ADC 値が低いほど予後が悪く、また治療後の生存期間も短いとの報告があり、DWI は予後評価や治療効果の指標となりうる [Haldorsen 2011]。

1.3.1.2. 拡散テンソル画像 Diffusion-tensor imaging (DTI)

DWI を基に、一定の方向へ向かって連続する神経線維を画像化したものが DTI であ

る。ヒトにおいて、DTI から得られるパラメータの解析は、髄膜腫のタイプ（組織型）の鑑別や良性・悪性の鑑別に有用とされている [Toh 2008a, Wang 2012b]。また、髄膜腫の血管造影上の血管床は DTI から得られる fractional anisotropy (FA) 値と負の相関があることも示されている [Toh 2014]。

1.3.2. MR スペクトロスコピー MR spectroscopy (MRS)

MRS は生体内の代謝産物を非侵襲的に測定することができ（その詳細については第 4 章で論じる）、主なものとして N-アセチルアスパラギン酸 (NAA) は神経細胞数、コリン (Cho) は細胞膜代謝、クレアチン (Cr) はエネルギー代謝の指標とされている。脳腫瘍はアラニン (Ala) の上昇がみられ [Majós 1999]、脂質 (Lip) や乳酸 (Lac) の出現／増加は壊死の存在を示唆する。また、脳実質外腫瘍では脳の神経細胞が含まれていないために、NAA のピークは認められない [Majós 2004]。この所見は脳実質内病変と実質外病変の鑑別に有用であるが、正常脳組織が MRS の関心領域内に入らないように注意する必要がある。一般的に高グレード神経膠腫は Cho の上昇と NAA の低下を示し、膠芽腫は Cho/NAA 比が 1 を超えるとされている。

1.3.3. MR 灌流画像 MR-perfusion imaging

MR 灌流画像、または灌流強調画像 perfusion-weighted imaging (PWI) は造影剤を使用する DSC 法と造影剤を使用しない ASL 法に分けられる。

1.3.3.1. DSC-PWI

DSC 法は通常 T2 あるいは T2*短縮効果を用い、造影剤の通過による磁化率変化を一過性の信号低下として観察し、その経時的変化から組織の灌流状態を評価する方法である。CT 灌流画像と同様に脳血液量 cerebral blood volume (CBV)、脳血流量 cerebral blood flow (CBF)、あるいは平均通過時間 mean transit time (MTT) などのパラメータを算出できる。MR 灌流画像は CT のような定量的評価も可能であるが、動脈流入関数の測定が必要であること、核医学検査と比べると再現性が悪く、スライス枚数に制限があるため全脳をカバーするこ

とが難しいことより、相対的評価を用いることが多い（そのためそれぞれ **relative (r)CBV**, **rCBF** のように表記される）。ヒトの脳腫瘍においては一般的に **rCBV** がその評価に用いられ、髄膜腫の組織型の鑑別や良性・悪性の鑑別に有用とされている [Zhang 2008a, Zhang 2008b]。一般的に **rCBV** は高グレード神経膠腫では低グレード神経膠腫に比べ高値になりやすく [Bulakbasi 2005]、膠芽腫（高グレード神経膠腫）は腫瘍血管増生が多いことを反映して非常に高い **rCBV** を示す [Saito 2012]。

1.3.3.2. ASL-PWI

ASL 法は流動する血液中のスピんにラジオ波（**radio frequency : RF**）で磁化すること（ラベリング）によって、血液そのものを内因性トレーサーとして観測領域の灌流状態を評価する方法である。脳血流評価においては **rCBF** が用いられ（ASL 法では通常 **rCBV** や **MTT** は求められない）、ヒト髄膜腫においては **DSC** 法と **ASL** 法による腫瘍灌流値が相関し、その灌流値は組織学的な血管床と相関することが報告されている [Kimura 2006]。そのため、造影剤による副作用が懸念される場合でも、造影剤を使用せずに診断することも可能となっている。

このようにヒト脳腫瘍の画像診断では **MRI** の特殊撮像を行う事によって、腫瘍の種類のみならず、その組織型の推測やグレード分類を行うことができ、予後予測も可能となっている。

1.4 本研究の趣旨

小動物臨床においては、頭蓋内病変の病理組織検体の採取には特殊な生検機器や侵襲的な外科手術が必要となるため、確定診断に至らないことが多いのが現状である。そのため、臨床診断は画像検査および治療に対する反応性に委ねられることが多い。犬や猫の脳腫瘍の大部分は前述したように **T2** 強調画像で高～等信号、**T1** 強調画像で等～低信号を示し、**Gd** 造影

剤で増強される。動物種や品種、年齢、腫瘍の位置や形状により、腫瘍の分類はある程度可能であるが、1回の撮像では腫瘍性病変と非腫瘍性病変との鑑別が困難な場合も少なくない。また、硬膜内実質外、あるいは実質内病変を Conventional MRI で存在する位置から判断することはできても、腫瘍の種類を鑑別することは難しいことが多い。硬膜内実質外腫瘍だったとしても、髄膜腫と組織球性肉腫では腫瘍の増殖スピードや予後が異なり、治療法も変わってくるためにこれらの鑑別が重要となる。また、神経膠腫に認められる造影剤のリング状増強による良性と悪性の分類は、ヒトにおいて正確ではないことも報告されている [Jenkinson 2001, Scott 2002, Law 2004]。これらの腫瘍性病変あるいは非腫瘍性病変を鑑別するには、あるいは腫瘍の組織型やグレード分類をするには、Conventional MRI のみでは限界がある。

犬において髄膜より発生する髄膜腫と組織球性肉腫は Conventional MRI では区別がつかないものも多いが、組織球性肉腫の臨床的挙動は非常に悪い [Abadie 2009, Hu 2015]。また、猫の髄膜腫は手術時に境界が明瞭で、切除後の再発率が低いことが報告されているが [Troxel 2003, Gorden 1994, Motta 2012]、犬との比較は報告されていない。MRI の特殊撮像は病変の機能的および微視的構造の情報を提供することができ、これらの腫瘍を鑑別するために人医療において臨床的に行う追加検査法となっている。しかし、これらの特殊撮像における犬猫の脳腫瘍に対する報告は、現在の所ほとんどない。著者はヒトと同様に犬や猫でも MRI の特殊撮像において頭蓋内の腫瘍性病変の鑑別が可能であると仮定した。脳腫瘍の評価を術前に、かつ非侵襲的に行うことができれば、今後の獣医療に大きく寄与できると考えている。

本研究では、2011年6月～2019年9月までに日本獣医生命科学大学動物医療センターを受診し、MRI 検査およびその後脳外科手術を受けて病理組織学的な確定診断が得られた全40例の犬猫の脳腫瘍患者において、MRI の特殊撮像である DWI (第2章)、DTI (第3章)、MRS (第4章)、および PWI (第5章) を用いた比較検討を行い、最後に犬猫の脳腫瘍診断におけるこれらの特殊撮像法の有用性について総括する (第6章)。全ての脳腫瘍症例患者を表 1.1 に示す。

表 1.1 全脳腫瘍症例患者リスト

犬

症例	犬種	初診時年齢	性別	病理組織診断
1	ミニチュア・ダックス	9歳8ヶ月	♀spay	乳頭状髄膜腫
2	フレンチ・ブルドッグ	11歳3ヶ月	♂	退形成性希突起膠細胞腫
3	ウェルシュ・コーギー・ペンブローク	9歳6ヶ月	♀	組織球性肉腫
4	ウェルシュ・コーギー・ペンブローク	10歳3ヶ月	♂	組織球性肉腫
5	ビーグル	10歳	♀	移行性髄膜腫
6	ラブラドル・レトリバー	12歳9ヶ月	♀spay	髄膜上皮性髄膜腫
7	雑種犬	10歳4ヶ月	♀	退形成性髄膜腫
8	フラットコーテッド・レトリバー	9歳10ヶ月	♀	線維性髄膜腫
9	フレンチ・ブルドッグ	9歳8ヶ月	♂	組織球性肉腫
10	トイ・プードル	10歳	♂	移行性髄膜腫
11	フレンチ・ブルドッグ	9歳2ヶ月	♂cast	退形成性希突起膠細胞腫
12	柴犬	8歳7ヶ月	♂cast	髄膜上皮性髄膜腫
13	チワワ	12歳9ヶ月	♀	頭蓋骨骨肉腫
14	ミニチュア・ダックス	12歳9ヶ月	♂	移行性髄膜腫
15	ラブラドル・レトリバー	6歳11ヶ月	♂cast	組織球性肉腫
16	ウェルシュ・コーギー・ペンブローク	14歳3ヶ月	♂cast	退形成性髄膜腫
17	キャバリア・K・C・スパニエル	7歳	♀	組織球性肉腫
18	マルチーズ	9歳3ヶ月	♀spay	顆粒細胞性髄膜腫
19	トイ・プードル	10歳4ヶ月	♀spay	多小葉性骨腫瘍
20	ミニチュア・ダックス	13歳7ヶ月	♂	移行性髄膜腫
21	シェットランド・シープドッグ	13歳1ヶ月	♀	移行性髄膜腫
22	シー・ズー	11歳7ヶ月	♂	顆粒細胞性髄膜腫

23	ノーフォーク・テリア	10歳11ヶ月	♂cast	組織球性肉腫
24	ウェルシュ・コーギー・ペンブローク	13歳2ヶ月	♂	髄膜上皮性髄膜腫
25	トイ・プードル	12歳10ヶ月	♂cast	移行性髄膜腫
26	ウェルシュ・コーギー・ペンブローク	5歳10ヶ月	♀spay	組織球性肉腫
27	フレンチ・ブルドッグ	7歳5ヶ月	♂cast	退形成性希突起膠細胞腫
28	ポメラニアン	12歳	♂	非定型髄膜腫
29	シベリアン・ハスキー	4歳2ヶ月	♂cast	移行性髄膜腫
30	雑種犬	7歳	♂	微小嚢胞性髄膜腫
31	雑種犬	11歳	♀spay	移行性髄膜腫

猫

症例	猫種	初診時年齢	性別	病理組織診断
32	アビシニアン	10歳2ヶ月	♀spay	退形成性希突起膠細胞腫
33	雑種猫	11歳7ヶ月	♂	移行性髄膜腫
34	雑種猫	15歳6ヶ月	♀spay	移行性髄膜腫
35	雑種猫	15歳6ヶ月	♀spay	砂粒腫性髄膜腫
36	ノルウェージャン・フォレストキャット	13歳5ヶ月	♂cast	砂粒腫性髄膜腫
37	雑種猫	16歳	♀spay	移行性髄膜腫
38	雑種猫	12歳1ヶ月	♀	移行性髄膜腫
39	雑種猫	14歳6ヶ月	♂cast	移行性髄膜腫
40	雑種猫	12歳1ヶ月	♂	原始神経外胚葉腫瘍 (PNET)

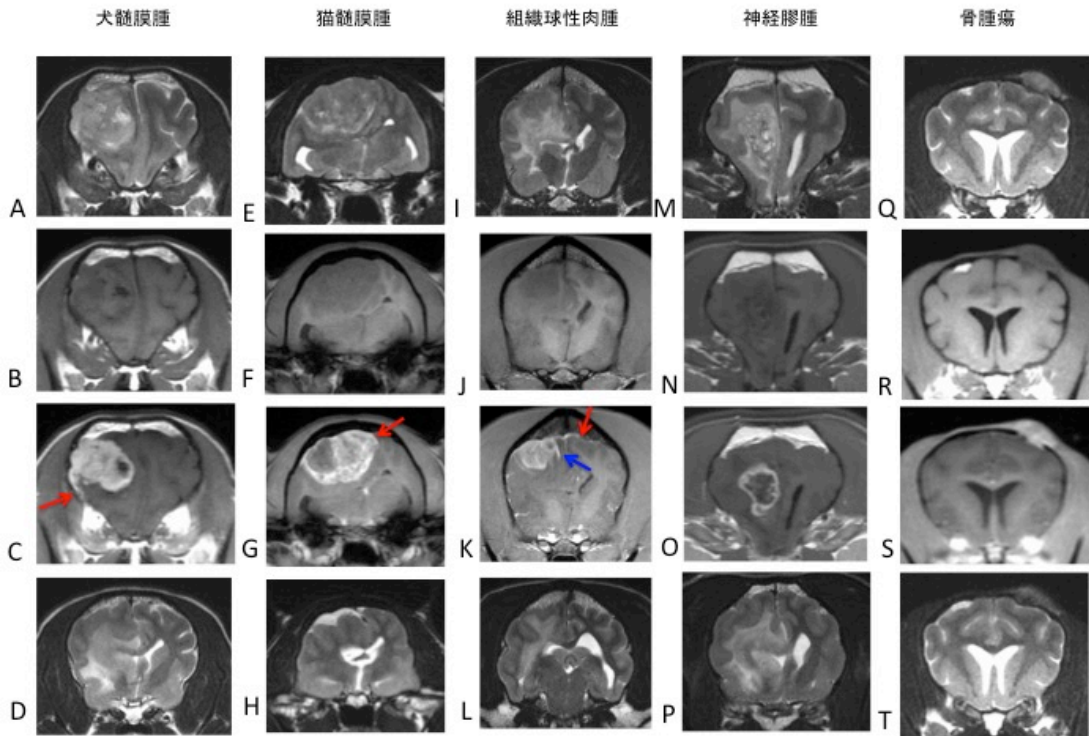


図 1.1. 各腫瘍の代表的な Conventional MRI 所見

左より犬髄膜腫（症例 20）、猫髄膜腫（症例 33）、組織球性肉腫（症例 4）、神経膠腫（症例 27）、骨腫瘍（症例 19）。最上段は T2 強調画像（A, E, I, M, Q）で、腫瘍部位の多くは等信号と高信号の混合パターンを示し、組織球性肉腫では等信号である。2 段目は T1 強調画像（B, F, J, N, R）で全ての腫瘍は等～やや低信号を示し、犬髄膜腫の一部には強い低信号が認められる。3 段目は造影 T1 強調画像（C, G, K, O, S）であり、全ての腫瘍は造影剤で境界明瞭に増強されている。髄膜腫および組織球性肉腫では dural tail sign（赤矢印）認められており、組織球性肉腫ではさらに脳回に深く入り込む像（青矢印）も見られる。最下段は腫瘍周囲の T2 強調画像（D, H, L, P, T）を示しており、犬髄膜腫、組織球肉腫、神経膠腫では脳浮腫や炎症を疑う所見が認められ、mass effect も見られる。猫髄膜腫では mass 周囲に脳脊髄液の貯留が認められるが、脳実質には脳浮腫は認められない。骨腫瘍でも周囲の脳実質内に脳浮腫は認められない。

第 2 章

拡散強調画像の検討

2.1 緒言

拡散強調画像 diffusion-weighted image (DWI) は拡散画像の最も初期から行われてきた手法であり、組織内の水分子の（微小な動きである）拡散の速さと方向をパラメータとして画像化する方法をいう。拡散の速さは様々な組織構築の影響を受け、脳内の拡散は血管内、細胞外および細胞内拡散の 3 つの区画における水分子の動きから生じる。細胞内では種々の細胞内器官や蛋白など高分子の密度が高いために拡散速度は遅くなるが、細胞外ではその制限が少ないために若干速くなる。DWI において、拡散の強い組織は低信号に、拡散の制限された組織は高信号に描出される。それゆえ、傾斜磁場をかける方向により、特に白質などの線維では線維方向に拡散しやすいため（異方性拡散）、1 方向の傾斜磁場に並行な線維では低信号に、それに直行する線維では高信号に描出される。脳の場合には正常白質の信号が変化するのは好ましくないため、異方性拡散の影響を排除した（すなわち多軸で撮像した拡散強調画像を加算平均した）等方性拡散強調画像（isotropic diffusion-weighted image; isotropic DWI）を撮像する。また中枢神経系の DWI では灌流の影響をほとんどなくし、水の拡散のみを捉えられるようにするため高い b 値を使用することが多い。 b 値とは、拡散強調画像のシーケンスを作る傾斜磁場（motion probing gradient; MPG）の強度と時間を要約した係数であり、 b 値はそのシーケンスがどれだけ拡散の影響に鋭敏であるかを表している。 b 値が大きいほど、できあがる画像に拡散の及ぼす影響が大きくなる。3T（テスラ）装置における脳の DWI では、 b 値を $1000\text{sec}/\text{mm}^2$ にして撮像することが一般的であり、拡散強調だけの画像を得るには少なくとも同条件で $b=0\text{ sec}/\text{mm}^2$ とした画像を別に撮像する必要がある。これを DWI と同時に撮像することにより、 T_2 の影響を受けない見かけの拡散係数 apparent diffusion coefficient (ADC)

を得ることができる。拡散現象は、定量的な拡散の大きさを表すために拡散係数 (D) という指標を用い、 D は自由水のランダムな拡散を表している。しかし、生体組織内では細胞膜やその他の境界などの多くの制限があるために完全に自由な拡散は起こらない。そのため、測定された生体内組織の拡散係数をより正確に表したものとしてADCを用い、 mm^2/s の単位が与えられる。ADCマップは、ボクセルごとに計算されたADCの値を表示した定量的画像である。また、DWIはT2強調画像にMPGをかけた画像のため、T2緩和が延長する(T2強調画像で高信号を呈する)病態では、DWIでも高信号となる“T2 shine-through”という現象が起こる。T2 shine-throughによる影響と真の拡散が制限された領域を鑑別するためには、ADCマップを用いた評価が必要となる。

ADCが上昇する病態は、水分含量が増えるもの全てであり、その数は多い。ADCが低下するもの、つまり拡散が制限されるものは、脳梗塞の急性期・亜急性期、静脈性梗塞、脳炎、中毒その他の細胞障害性浮腫、てんかん焦点、軸索損傷、細胞密度の高い腫瘍、脳膿瘍などの粘調な液体や出血などが挙げられる。早期の脳梗塞例におけるDWIの有用性はよく知られており、人医療では臨床でよく使用されている。DWIは30秒程度の短い時間で全脳をカバーする撮像が可能であるため、脳検査のルーチンに組み込まれている施設も少なくない。虚血後の超急性期にDWIで高信号を示す領域は非可逆的な最終梗塞部位と評価され、その領域よりも広い領域で灌流低下(灌流画像による)が見られた場合、その差に相当する領域(ischemic penumbra)については血栓溶解療法などにより最終梗塞となることを防ぐことができる領域となる [Kidwell 2003]。FLAIR像とDWIのミスマッチに関しては犬においても報告されている [Xu 2014, Liu 2015]。このように早期の脳梗塞例におけるDWIの有用性は人医療ではよく知られており、小動物臨床でも報告されている [Garosi 2006, Tidwell 2011]。しかし、犬猫の脳腫瘍に関してのDWIの報告はケースレポート程度しかない。DWIは腫瘍の細胞密度に関する情報が得られるため、ヒトでは腫瘍と感染症の鑑別 [Guzman 2002]、脳腫瘍の鑑別や悪性度の判定に使用されている [Dominguez-Pinilla 2016]。また、脳腫瘍では腫瘍周囲に脳浮腫が起こることが多いが、DWIでは拡散速度(ADC値)から血管原性浮腫と細胞性浮腫を区別することができる [Ebisu 1993]。

本章では、犬および猫の脳腫瘍症例について DWI を撮像した症例を用い、各腫瘍間における ADC 値の比較検討を行った。加えて腫瘍周囲においても、腫瘍辺縁部および腫瘍周囲浮腫領域を比較検討した。ヒトの脳腫瘍の症例において、脳腫瘍内の ADC 値を腫瘍とは反対側の正常にみえる大脳白質 normal-appearing white matter (NAWM) の ADC 値で除した相対値を比較する方法が報告されている [Guo 2002, Oh 2004, Saraswathy 2009, Qin 2018]。本研究では犬だけでなく、猫の症例も含めて検討しているため、犬と猫における正常な白質の ADC 値に差異が出る場合には、実数値で比較することができないと考えられる。このため、まず腫瘍病変とは反対側の NAWM における ADC 値を測定し、犬と猫で比較検討した。

また、腫瘍症例における ADC 値の関心領域 region of interest (ROI) の設定については、ヒトにおいて腫瘍全体を網羅するような大きい ROI を置く方法と、腫瘍内の壊死や出血部位を避けて小さな ROI を複数置く方法が行われており、これらの方法において議論が分かれている。そのため、本研究では同一個体の同一腫瘍における大きな ROI と小さな ROI についても比較検討した。

2.2 材料および方法

2.2.1 供試動物

本研究には、日本獣医生命科学大学動物医療センターに 2011 年 6 月～2019 年 9 月の間に神経症状を呈して来院した 40 頭（犬 31 頭、猫 9 頭）を用いた（表 1.1）。全ての症例は一般身体検査、血液検査、神経学的検査、X 線検査を行い、MRI 検査にて頭蓋内に病変を確認している。その後外科手術を行い、病理組織検査にて腫瘍の診断を得ている。本研究に当たっては retrospective な画像解析研究のため、実験動物倫理委員会および動物医療センター倫理委員会の承認は必要とされていない。しかしながら、全ての犬猫患者の飼い主は、動物医療センター初診時に検査データ等を研究に用いることを書面にて承諾している。

2.2.2 撮像方法

2.2.2.1 麻酔プロトコール

すべての患者で検査の12時間前から絶食・絶水とした。橈側皮静脈に18~24Gの留置針を用いて血管確保を行い、プロポフォール（プロポフォール®、日医工、富山）7mg/kgの静脈内投与にて麻酔導入を行い、気管チューブを挿管後、イソフルラン（エスカイン®、マイラン製薬、東京）（2~3%）および酸素（2 l/min）による吸引麻酔で維持管理を行った。麻酔中は人工換気を行い、1回換気量を10~20ml/kg、気道内圧12~16cmH₂O、呼吸数12回/minに設定し、管理した。麻酔中は心拍数、動脈血酸素飽和度（SpO₂）のモニタリングを行い、乳酸リンゲル液（ソルラクト®、テルモ、東京）（5ml/kg/hr）を静脈点滴した。

2.2.2.2 撮像条件

すべての動物は3.0TのMRI装置（Signa® HDxt GE Healthcare, Tokyo）を用いて撮像した。RFコイルには8チャンネルのKnee coilを用いて、動物を伏臥位に保定し、頭部をコイル内に配置した。DWIの前にConventional MRIの撮像を行った。Conventional MRIの撮像条件は以下の通りである；Fast spin echo（FSE）法T2強調画像は繰り返し時間（TR）/エコー時間（TE）=7000/81.6ms、Spin echo（SE）法fluid-attenuated inversion recovery（FLAIR）像はTR/TE/反復時間（TI）=11002/141.8/2400ms、FSE法T1強調画像および造影T1強調画像はTR/TE/TI=6.8/2.9/920ms、これらのシーケンスはスライス厚=2.0mm、スライスgap=0.5mm、FOV=15 cm×15 cm、マトリクス=128×128にて横断像を撮像した。DWI撮像条件は以下の通りである；Spin echo EPI（PLOPELLER）法、TR/TE=8000/71.5ms、スライス厚=2.0 mm、スライスgap=0.5mm、FOV=15 cm×15 cm、マトリクス=128×128、積算回数（NEX）=1、MPG方向=3軸、b値=1000sec/mm²で横断像を撮像した。DWI撮像は造影剤（ガドジアミド（Gd）0.1mmol/kg, IV）を投与する前に行

った。

2.2.3 画像データ解析

DWI 撮像により得られた画像を MRI 装置内蔵の画像解析ソフト (functool, GE healthcare, Tokyo) によって ADC マップを作成した。得られた ADC マップに円形の関心領域 (region of interest: ROI) を参照画像として T2 強調画像あるいは造影 T1 強調画像を使用して腫瘍内、腫瘍周囲、反対側の正常な白質領域 (NAWM) に設置し、それぞれの ADC 値 ($\times 10^3 \text{mm}^2/\text{s}$) を計測した (図 2.1)。腫瘍内の ROI の配置方法は 2013 年に Svolos らが行っている「リボルバー法」を適用した。ROI の大きさは腫瘍内の small ROI、腫瘍周囲および NAWM は $10\sim 20\text{mm}^2$ の正円形とした。large ROI は腫瘍の大きさ、形に合わせて $10.9\sim 227.3\text{mm}$ の範囲で、腫瘍の内側境界をできるだけ覆うように大きな円形の ROI を置き、その内部に 5 つの小さな円形の ROI (small ROI) を大きな ROI (large ROI) 内に配置した (これをリボルバー法という: 図 2.1D)。腫瘍周囲の ROI は造影 T1 強調画像で造影増強を示す腫瘍縁の 10mm 以内に腫瘍周囲領域に沿って配置した (図 2.1B、E)。また、腫瘍周囲に T2 強調画像で高信号を示す領域がみられた症例においては、この部位も腫瘍周囲と同じ $10\sim 20\text{mm}^2$ の正円形で測定している。各部位において 5 回ずつ測定し、small ROI は嚢胞や壊死、出血性領域を避けるように用手で設置した。

2.2.4 統計解析

各腫瘍における腫瘍内 (small および large ROI)、腫瘍周囲の ADC 値の中央値および四分位範囲 (IQR)、NAWM の中央値および IQR を算出した。各 ADC 値を NAWM で除した ADC 比の中央値および IQR も算出した。これらの測定値を各腫瘍 (髄膜腫は犬と猫を別) において、比較検討した。正規性の検定ができる症例数のあった犬の髄膜腫は Anderson-Darling 検定を行ったが、正規分布していなかった ($p=0.038$) ため、ノンパラメトリック検定を行っている。犬と猫の髄膜腫および犬の組織球性肉腫における腫瘍間の多重比較検定には Kruskal-Wallis 検定を用いたが、神経膠腫と骨腫瘍は症例数が少ないために有意

差検定は行わず参照値とした。多重比較検定にて有意差が認められたため、犬髄膜腫と猫髄膜腫、および犬髄膜腫と組織球性肉腫における 2 群間比較には Mann-Whitney U 検定を使用した。猫の組織球性肉腫は本研究には含まれておらず非常に稀であるため、猫髄膜腫と組織球性肉腫の比較検討は行っていない。また、犬と猫の NAWM および各症例における large ROI と small ROI の比較にも Mann-Whitney U 検定を用いた。すべての統計解析は、統計ソフトウェア (Statcel 4, OMS 出版 東京) を用いて実施し、 $p<0.05$ で有意差ありと判定した。

2.3 結果

全脳腫瘍症例のうち、DWI を実施した症例を表 2.1 に示す。症例 1、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、25、27、28、29、30、33、34、35、36、37、38、39、40 の計 35 例、犬 27 頭、猫 7 頭 (うち 1 頭は頭蓋内に 2 つのタイプの腫瘍を持つ) だった。雄 20 頭、雌 14 頭 (うち 1 頭は頭蓋内に 2 つのタイプの腫瘍を持つ)、平均年齢は 11 歳 4 ヶ月であった。髄膜腫は 24 例 (移行性 12 例、髄膜上皮性 2 例、砂粒体性 2 例、線維芽細胞性 1 例、乳頭状 1 例、微小嚢胞性 1 例、退形成性 2 例、非定型 1 例、顆粒細胞性 2 例)、組織球性肉腫 6 例、退形成希突起膠細胞腫 2 例、原始神経外胚葉腫瘍 (PNET) 1 例、骨肉腫 1 例、骨の多小葉状腫瘍 1 例であった。

2.3.1 NAWM の測定結果

各腫瘍症例における反対側の NAWM の ADC 値の中央値および四分位範囲 (IQR) を表 2.2 に示す。犬の髄膜腫症例と組織球性肉腫症例の NAWM の間には有意差は認められなかったが、犬と猫の比較においては、犬の NAWM の ADC 値 ($0.821 \times 10^{-3} \text{mm}^2/\text{s}$) は猫 ($0.755 \times 10^{-3} \text{mm}^2/\text{s}$) に比べ有意に高かった ($p=0.02$)。

2.3.2 腫瘍内および腫瘍周囲の測定結果

各腫瘍における腫瘍内 (small ROI と large ROI) および腫瘍周囲 (辺縁部と T2 強調

画像で高信号の領域) の ADC 値の中央値および IQR を表 2.3 に示す。また、犬および猫の NAWM の ADC 値に有意差が認められたので、ADC 値を反対側 NAWM で除した数値である ADC 比の中央値および IQR を表 2.4 に示した。Small ROI と large ROI の両方において、犬髄膜腫、猫髄膜腫と組織球性肉腫の多重比較検定で有意差が認められ (共に $p=0.01$)、腫瘍周囲においても有意差がみられた ($p=0.04$) ため、犬髄膜腫と猫髄膜腫、犬髄膜腫と組織球性肉腫においてそれぞれ 2 群比較検定を行った。犬髄膜腫の ADC 比 (small ROI : 1.117、large ROI : 1.144) は猫髄膜腫 (small ROI : 0.965、large ROI : 1.003) や組織球性肉腫 (small ROI : 0.995、large ROI : 0.966) よりも有意に高かった (すべて $p<0.01$)。骨腫瘍や神経膠腫の ADC 比は、犬髄膜腫よりも高値を示していた。腫瘍周囲においては犬髄膜腫と猫髄膜腫 ($p=0.26$) および犬髄膜腫と組織球性肉腫 ($p=0.06$) の 2 群比較では有意差は見られなかった。腫瘍周囲の T2 強調画像で高信号を示す領域に関しては猫では存在しなかったため、犬髄膜腫と組織球性肉腫で比較検討を行い、犬髄膜腫 (ADC 比 : 1.457) は、組織球性肉腫 (ADC 比 : 1.764) よりも有意に低かった ($p=0.025$)。腫瘍内 (small ROI、large ROI)、腫瘍周囲 (辺縁および T2 強調画像で高信号領域) の ADC 比の箱ひげ図を図 2.2 に示した。

2.3.3 small ROI と large ROI の比較

症例毎に腫瘍内の small ROI と large ROI の ADC 値を比較検討し、犬髄膜腫と猫髄膜腫および骨腫瘍では全ての症例で有意差は認められなかった。組織球性肉腫においては有意差ありが 2 症例、なしが 4 症例、神経膠腫においては有意差ありが 1 症例、なしが 2 症例であった。

2.4 考察

2.4.1 NAWM の ADC 値

正常犬の拡散強調画像に関しては 2 つの報告があるが、猫の正常値に関しては著者の

知る限りでは報告はなかった。犬の報告の 1 つは 3 歳未満の正常犬における脳の DWI 研究 (1.0T) であり、大脳皮質領域の ADC 値は $0.843 \pm 0.98 \times 10^{-3} \text{mm}^2/\text{s}$ 、尾状核は $0.902 \pm 0.19 \times 10^{-3} \text{mm}^2/\text{s}$ 、視床は $0.807 \pm 0.13 \times 10^{-3} \text{mm}^2/\text{s}$ 、扁桃核は $0.915 \pm 0.16 \times 10^{-3} \text{mm}^2/\text{s}$ 、海馬は $1.044 \pm 0.16 \times 10^{-3} \text{mm}^2/\text{s}$ であった [Hartmann 2014]。他の領域と比較すると海馬で有意差が見られ、尾状核や扁桃核と比較すると視床で有意差が見られた。もう一つは、MacLellan らが 2017 年に 3.0T MRI で報告しており、大脳の灰白質の平均 ADC 値が $0.8349 \sim 0.9273 \times 10^{-3} \text{mm}^2/\text{s}$ 、白質は $0.6897 \sim 0.7332 \times 10^{-3} \text{mm}^2/\text{s}$ の範囲であった。これらの値は脳葉間で異なっており、ヒトにおける結果 (白質は灰白質と比較して ADC 値が低い) [Citation 2015] と一致した。また、ヒトにおいて年齢の増加によって ADC 値の増加が認められている [Watanabe 2013a]、犬においても ADC 値と患者の年齢との間に正の相関が見られている [MacLellan 2017]。本研究の結果は、犬の NAWM の ADC 値は $0.821 \times 10^{-3} \text{mm}^2/\text{s}$ 、猫の ADC 値は $0.7655 \times 10^{-3} \text{mm}^2/\text{s}$ であり、犬の ADC 値は猫よりも有意に高値であった ($p=0.02$)。犬の ADC 値は Hartmann らの結果に近いが、本研究の NAWM の測定部位は側頭葉の皮質下白質であり、MacLellan らが測定した部位 (後頭葉脳室周囲の白質) とは異なるため数値に多少の差異が生じた可能性も否定できない。また、猫においては DWI の正常値に関する報告は著者の知る限りなかったが、溝口の博士論文 [2015 年] でてんかん猫のコントロールとして測定された大脳白質の ADC 値は $0.82 \pm 0.07 \times 10^{-3} \text{mm}^2/\text{s}$ であり、本研究の犬の結果と類似している。

ヒトにおいて腫瘍の評価をする際、ADC 値の実数値をみる場合と、腫瘍の ADC 値を反対側の NAWM の ADC 値で除した ADC 比を用いる場合とがあり、どちらを使用するかは議論が分かれている。正常白質の ADC 値は年齢と共に増加するので ADC 比よりも ADC 値が適するという意見と [Watanabe 2013a]、腫瘍を比較する場合に ADC 値ではオーバーラップがあるが、ADC 比ではオーバーラップがなく、腫瘍の組織型などの鑑別がしやすいという報告もある [Rumboldt 2006]。本研究では、犬と猫の NAWM の ADC 値に有意差が認められたため、犬と猫の異種間で腫瘍を比較するために NAWM で除した ADC 比を用いることとした。

2.4.2 腫瘍内および腫瘍周囲の ADC

2.4.2.1 腫瘍内の ADC

腫瘍細胞の充実性は脳腫瘍の ADC 値の主要な決定因子であるといわれている [Wang 2009]。ヒトにおいて、一般的に高グレードの腫瘍組織内では水分子の拡散能力が低下することが知られており、悪性腫瘍では ADC 値は低下する [Yuan 2008]。本研究では、犬髄膜腫、猫髄膜腫、組織球性肉腫の腫瘍間で多重比較検定を行い、腫瘍内 (small ROI および large ROI の両方) において、有意差が認められた (small ROI: $p < 0.001$ 、large ROI: $p = 0.002$)。

髄膜腫における DWI の信号強度は様々であると言われており [Stadnik 2001, Kono 2001, Fulippi 2001]、ほとんどの良性髄膜腫は DWI と ADC マップで等信号を示し、悪性髄膜腫では高細胞密度のために DWI 高信号と低 ADC 値を示すことが多い [Kono 2001, Fulippi 2001]。ヒトにおいて、髄膜腫は平均 ADC 値が $0.98 \pm 0.18 \times 10^{-3} \text{mm}^2/\text{s}$ [Dorenbeck 2005]、悪性髄膜腫の平均 ADC 値は $0.64 \pm 0.05 \times 10^{-3} \text{mm}^2/\text{s}$ [Bano 2013]、 $0.645 \pm 0.09 \times 10^{-3} \text{mm}^2/\text{s}$ [Watanabe 2013]、 $0.923 \pm 0.05 \times 10^{-3} \text{mm}^2/\text{s}$ [Santelli 2010]、良性は $0.913 \pm 0.16 \times 10^{-3} \text{mm}^2/\text{s}$ [Watanabe 2013b]、 $0.964 \pm 0.05 \times 10^{-3} \text{mm}^2/\text{s}$ [Santelli 2010]、 $1.04 \pm 0.12 \times 10^{-3} \text{mm}^2/\text{s}$ [Bano 2013]、 $1.05 \pm 0.27 \times 10^{-3} \text{mm}^2/\text{s}$ [Yogi 2014] と報告されており、悪性の方が良性よりも ADC 値は低い。しかし、DWI では髄膜腫の組織学的グレーディング (良性および悪性/非定型) を予測することはできないとする報告もある [Santelli 2010]。本研究では髄膜腫のうち悪性は犬の 3 例のみであり、このうち 1 例は ADC 値が small ROI は $0.58 \times 10^{-3} \text{mm}^2/\text{s}$ 、large ROI は $0.56 \times 10^{-3} \text{mm}^2/\text{s}$ と全 17 例中最も低値であったが、もう 2 例は small ROI は $1.111 \times 10^{-3} \text{mm}^2/\text{s}$ と $0.85 \times 10^{-3} \text{mm}^2/\text{s}$ 、large ROI は $1.156 \times 10^{-3} \text{mm}^2/\text{s}$ と $0.88 \times 10^{-3} \text{mm}^2/\text{s}$ と良性の病変の中央値辺りの数値を示しており、この 3 例で悪性の髄膜腫を評価する事は困難であった。しかし、犬において髄膜腫 (大部分が良性) と組織球性肉腫 (常に悪性) は共に髄膜より発生し、Conventional MRI では区別がつきにくく、この 2 つの腫瘍は臨床的

挙動が異なるために鑑別が重要となる。ヒトにおいては頭蓋内の組織球性肉腫は発生が非常に稀であり、報告もケースレポート程度しかなく [Gomi 2012、Gill-Samra 2012、Wang 2012a]、ADC 値を測定している報告は著者の知る限りなかった。そのため、犬髄膜腫と組織球性肉腫の比較検討を行った。腫瘍内の ADC 比は small ROI、large ROI 共に組織球性肉腫 (small ROI: 0.995、large ROI: 0.966) の方が犬髄膜腫 (small ROI: 1.117、large ROI: 1.114) よりも有意に低かった (small ROI: $p=0.0002$ 、large ROI: $p=0.01$)。ADC 値も組織球性肉腫 (small ROI: $0.759 \times 10^{-3} \text{mm}^2/\text{s}$ 、large ROI: $0.770 \times 10^{-3} \text{mm}^2/\text{s}$) が、犬髄膜腫 (small ROI: $0.933 \times 10^{-3} \text{mm}^2/\text{s}$ 、large ROI: $0.947 \times 10^{-3} \text{mm}^2/\text{s}$) よりも有意に低かった。これは細胞密度の高さや核分裂の増加を反映し ADC 値が低下している可能性が考えられ、犬の組織球性肉腫はヒトの悪性腫瘍の結果と類似している。また、ヒトにおいて高グレード神経膠腫の平均 ADC 値は $1.04 \times 10^{-3} \text{mm}^2/\text{s}$ をカットオフ値として生存期間と相関する (ADC 値が低いと生存期間は短い) ことが示されており [Qu 2016]、これも犬の組織球性肉腫の結果と矛盾せず、興味深い。本研究結果より、Conventional MRI では鑑別の困難な犬の髄膜腫と組織球性肉腫は DWI を撮像することで、鑑別できるかもしれない。犬の組織球性肉腫は進行が非常に早く、外科手術にて画像上完全切除を行ったとしても再発率が高く、化学療法や放射線治療を行っても致死率の高い腫瘍である [Abadie 2009、Hu 2015]。そのため、術前に MRI 検査で髄膜腫との鑑別ができると、より迅速な対応が可能となり、生存期間の延長など今後の獣医療に貢献できる可能性を秘めている。

本研究では猫の髄膜腫 (small ROI: 0.965、large ROI: 1.003) の ADC 比は、犬の髄膜腫 (small ROI: 1.117、large ROI: 1.114) よりも有意に低く (small ROI: $p=0.0001$ 、large ROI: $p=0.003$)、組織球性肉腫と同様に細胞密度の高さに関連している可能性がある。しかし、ヒトにおいて手術時に硬い髄膜腫 ($1.01 \pm 0.26 \times 10^{-3} \text{mm}^2/\text{s}$) は軟らかい髄膜腫 ($1.11 \pm 0.29 \times 10^{-3} \text{mm}^2/\text{s}$) よりも ADC 値が有意に低いという報告がある [Yogi 2014]。ADC 値も猫の髄膜腫 small ROI: $0.727 \times 10^{-3} \text{mm}^2/\text{s}$ 、large ROI: $0.778 \times 10^{-3} \text{mm}^2/\text{s}$) は、犬の髄膜腫 (small ROI: $0.933 \times 10^{-3} \text{mm}^2/\text{s}$ 、large ROI: $0.947 \times 10^{-3} \text{mm}^2/\text{s}$) よりも有意に低値であり、猫の髄膜腫はヒトにおける硬い髄膜腫の結果よりも ADC 値が低かった。猫の髄膜腫は塊状を呈して

いて、硬く、切除が容易で、再発率も低いことが報告されている [Troxel 2003、Gorden 1994、Motta 2012]。犬では猫ほど明確に腫瘍の硬さを記している論文はないが、著者の経験上、軟らかく、一括切除が困難で、超音波破碎吸引器 (CUSA) で吸引するように腫瘍内切除を行わざるをえない症例も少なくない。このように腫瘍の性状の違いも DWI で評価できる可能性も示唆された。

その他の腫瘍として、ヒトにおいて高グレード神経膠腫の ADC 値は $0.903\sim 1.290\times 10^{-3}\text{mm}^2/\text{s}$ [Lee 2011、Xiao 2015]、低グレード神経膠腫は $1.418\pm 0.32\times 10^{-3}\text{mm}^2/\text{s}$ [Xiao 2015] と報告されており、リンパ腫は $0.59\pm 0.09\times 10^{-3}\text{mm}^2/\text{s}$ 、シュワン細胞腫は $1.33\pm 0.28\times 10^{-3}\text{mm}^2/\text{s}$ 、転移性腫瘍は $0.894\sim 1.05\times 10^{-3}\text{mm}^2/\text{s}$ であり [Dorenbeck 2005]、大腿骨の骨肉腫は $1.16\pm 0.18\times 10^{-3}\text{mm}^2/\text{s}$ と報告されている [Zeitoun 2018]。低グレードと高グレード神経膠腫を区別するために公表された最適な ADC 値は $0.6\sim 1.0\times 10^{-3}\text{mm}^2/\text{s}$ の範囲であり、これらの研究は ADC 実数値よりも NAWM で除した ADC 比を使用することを提案している [Elson 2015]。骨肉腫では最小 ADC 値と最大 ADC 値を用いることで、軟骨肉腫との鑑別が可能となるという報告もある [Yakushiji 2009]。また、犬における髄膜腫 (15 例) の ADC 値は $1.34\pm 0.34\times 10^{-3}\text{mm}^2/\text{s}$ 、神経膠腫 (6 例) は $0.96\pm 0.36\times 10^{-3}\text{mm}^2/\text{s}$ と報告されている [Sutherland-Smith 2011]。本研究において神経膠腫の ADC 値は small ROI で $1.806\times 10^{-3}\text{mm}^2/\text{s}$ 、large ROI で $1.655\times 10^{-3}\text{mm}^2/\text{s}$ 、骨腫瘍は small ROI で $1.247\times 10^{-3}\text{mm}^2/\text{s}$ 、large ROI で $1.250\times 10^{-3}\text{mm}^2/\text{s}$ であり、神経膠腫の結果は著者の予想に反して髄膜腫よりも高値を示した。悪性神経膠腫の DWI は低 ADC 値を伴う高信号を呈し [Tien 1994, Sugahara 1999, Gupta 2010, Castillo 2001, Kono 2001]、これは高細胞密度や細胞外腔の減少を反映していると報告されている [Tien 1994, Sugahara 1999, Kono 2001]。しかし、ADC 値は腫瘍細胞密度だけでなく細胞核の面積、壊死領域や核分裂像、細胞多形性などの他の要因とも関連するという報告もある [Sugahara 1999, Kono 2001]。このように ADC 値はいくつもの要因により数値の変動が起こると考えられ、ADC 値減少の解釈をより難しくしている。神経膠腫の症例のうち、低い ADC 値を示していた症例もあったが、本研究では神経膠腫の症例数が少ないために評価は難しいと思われる。今後症例数を集めて検討していく必要がある。

2.4.2.2 腫瘍周囲の ADC

原発性脳腫瘍の周囲組織への浸潤における DWI 所見については様々な議論がなされている。ADC は腫瘍浸潤の程度を決定するのに有用であるという報告もあるが [Tien 1994, Gupta 2000]、多くの研究では拡散強調画像と ADC マップで腫瘍の周囲組織への浸潤の程度を正確に決定するのは不可能であると言われている [Eis 1994, Castillo 2001, Stadnik 2001, Kono 2001]。

腫瘍周囲浮腫は、一般的には脳梗塞の際の脳浮腫と同様に血管原性浮腫および細胞障害性浮腫で構成されており、血管原性浮腫は可逆性であるが、細胞障害性浮腫は不可逆性である [Baird 1997, Loubinoux 1997]。血管原性浮腫は脳腫瘍を含め、多くの病態に関連して発生する。血管原性浮腫は DWI で様々な信号強度を呈するが、ADC 値は増加する。細胞障害性浮腫は脳梗塞や虚血、外傷に見られ、DWI で高信号を呈し、ADC 値は低下する。DWI と ADC マップは細胞障害性浮腫と血管原性浮腫を鑑別できるため、脳疾患の MRI 診断にとって非常に重要である。DWI は皮質や白質の浮腫の広がり通常 MRI よりよく描出できると言われている。血管原性浮腫は脳腫瘍に伴う脳浮腫に最も頻繁に起こるとされており、血液脳関門の局所的な破壊は毛細血管の透過性を増加させる。一般に造影剤で増強される腫瘍核を取り囲む造影剤で増強されない領域は、「腫瘍周囲浮腫」と呼ばれる [Lee 2013]。良性の髄膜腫や転移性腫瘍における腫瘍周囲浮腫は血管原性浮腫であるとされており、腫瘍細胞は存在しない。しかし、神経膠腫の腫瘍周囲浮腫には浸潤する腫瘍細胞の存在がある。そのため、最小の ADC 値はこれらの領域において最も細胞密度が高く、腫瘍細胞の増殖が盛んな領域を示唆する可能性があり、医療で利用されている [Chiang 2004, Pavlisa 2009, Krabbe 1997, Rollin 2006, Lee 2011]。

腫瘍周囲の ADC 値はヒトの高グレード神経膠腫で $1.149 \pm 0.12 \times 10^{-3} \text{mm}^2/\text{s}$ 、転移性腫瘍で $1.413 \pm 0.14 \times 10^{-3} \text{mm}^2/\text{s}$ 、ADC 比は高グレード神経膠腫で 1.466 ± 0.24 、転移性腫瘍で 1.829 ± 0.25 が報告されている [Lee 2011]。また、ヒト髄膜腫では ADC の高い患者 ($2.14 \pm 0.71 \times 10^{-3} \text{mm}^2/\text{s}$) は、ADC の低い患者 ($1.22 \pm 0.19 \times 10^{-3} \text{mm}^2/\text{s}$) と比べ、術後の腫瘍周

囲の異常所見の消失が早い(3週間から10ヶ月の範囲)が、ADC値の低い患者は腫瘍周囲の異常が継続することが報告されている[Nakamizo 2003]。本研究では、犬髄膜腫、猫髄膜腫、組織球性肉腫の腫瘍間で多重比較検定を行い、腫瘍周囲において有意差が認められた($p=0.04$)が、犬髄膜腫と猫髄膜腫、犬髄膜腫と組織球性肉腫の2群間比較では、有意差はみられなかった($p=0.26$ 、 $p=0.06$)。おそらく、猫の髄膜腫と犬の組織球性肉腫間では有意差が見られると考えられるが、T2強調画像で高信号領域が全く見られなかった猫髄膜腫のADC比が最も低かった。これは脳浮腫や腫瘍浸潤による影響と言うよりは、腫瘍による周囲の正常な脳実質の圧排に起因している可能性が考えられる。また、猫のNAWMのADC値は $0.755 \times 10^3 \text{mm}^2/\text{s}$ であり、ヒトの正常値($0.8 \times 10^3 \text{mm}^2/\text{s}$)よりも低かった。これは猫の脳実質自体が元々硬い可能性があり、猫の髄膜腫の手術時に、硬い腫瘍を切除した後に脳がしばらく窪んだままの状態となる(元に戻るのに時間がかかる)[Gorden 1994、Tomek 2006]ことと関連しているのではないかと考えられる。

T2強調画像で高信号(T2 Hi)の領域においては、犬髄膜腫のADC比(1.457)は組織球性肉腫(1.764)より有意に低かった($p=0.025$)。組織球性肉腫は再発率が高いために、周囲への浸潤が強く、ADC値が低値を示すと考えられたが、我々の予想に反して組織球性肉腫のADC値は高値を示した。組織球性肉腫には2つの増殖パターンが報告されており、軟膜および脳組織に影響を及ぼす腫瘍形成パターンとびまん性軟膜病変を示すパターンがある[Tamura 2009]。このうち、びまん性軟膜病変では周囲脳実質への腫瘍浸潤が少ない事が報告されている[Ide 2011]。本研究における組織球性肉腫の症例はこの増殖パターンの分類を行っていないが、びまん性増殖パターンが多かった可能性も考えられる。また組織球性肉腫は腫瘍の成長スピードが速く、脳への血管供給を行っている軟膜に発生することから、成長が遅くクモ膜由来の髄膜腫に比べ血管原性浮腫が生じやすく、ADC値が上昇した可能性も考えられる。同様に、DWIは腫瘍周囲の腫瘍細胞浸潤の存在を決定するのに有用ではないという報告もあり[Server 2009、van Westen 2006]、ADC値での腫瘍浸潤の評価は難しい可能性が考えられる。

2.4.3 small ROI と large ROI (ROI の大きさ)

ヒトにおいて、ROI の設置方法について議論されている。腫瘍全体を網羅するような大きな ROI で測定すると、腫瘍内部の壊死や出血、石灰化なども入ってしまうために正確性に欠けるという意見がある。逆に、腫瘍内に小さな ROI を置く方法は、ROI を置いた部位だけの結果となるために、腫瘍の特性を捉えられない可能性がある。そのため、今回我々は、large ROI と small ROI を各腫瘍間で比較検討した。髄膜腫および骨腫瘍においては、small ROI と large ROI に有意差は認められなかったが、組織球性肉腫 (33%) と神経膠腫 (66%) においては有意差が見られた。組織球性肉腫と神経膠腫は髄膜腫や骨腫瘍と比べ、腫瘍内に壊死や出血部位があるために大きな ROI ではそれを避ける事ができなかったと考えられる。そのため、これらの腫瘍間の比較にはできるだけ壊死、出血部位を避けた小さな ROI による測定が必要と思われる。

このほか、人医療では DWI で経過を追って脳腫瘍における化学療法や放射線治療に対する反応を見ることも試みられている。これは、治療中は ADC 値が増加するが、再発して腫瘍が増大し始めると、ADC 値は治療前の値に戻る傾向があることが動物実験で示されているためである [Chenevert 1997, 2000, Mardor 2001]。近年 DWI による画像診断は、脳の他にも脊髄や脊椎、体幹部でもその臨床応用が広がっている [Tsuchiya 2005, Maeda 2003, Fujiwara 2005]。特に近年、日本において体幹部の DWI で fluoro-deoxyglucose positron emission tomography (FDG-PET) と類似の腫瘍検出を目指した DWI の施行がなされている [Takahara 2004]。今後獣医療においても DWI を積極的に活用していくことで、診断の幅が広がるのではないかとと思われる。

2.5 小括

- 1) NAWM の ADC 値は犬に比べ、猫で有意に低値を示した。
- 2) 腫瘍内の ADC 比は犬髄膜腫に比べ、組織球性肉腫で低値を示し、組織球性肉腫は悪性の条件を示していた。
- 3) 腫瘍内の ADC 比は犬髄膜腫に比べ、猫髄膜腫で低値を示し、腫瘍の硬さを評価できる可能性が示唆された。
- 4) 腫瘍周囲の ADC 比による血管原性浮腫や細胞障害性浮腫の鑑別、および腫瘍浸潤の評価は困難であった。
- 5) ROI の設定 (small ROI と large ROI) は想定する腫瘍により使い分ける必要があると考えられた。

図および表

表 2.1 DWI を実施した脳腫瘍症例の品種、年齢、性、腫瘍種類

症例	犬種	年齢	性	腫瘍
1	ミニチュア・ダックス	9歳8ヶ月	♀spay	乳頭状髄膜腫
3	ウェルシュ・コーギー・ペンブローク	9歳6ヶ月	♀	組織球性肉腫
4	ウェルシュ・コーギー・ペンブローク	10歳3ヶ月	♂	組織球性肉腫
5	ビーグル	10歳	♀	移行性髄膜腫
6	ラブラドル・レトリバー	12歳9ヶ月	♀spay	髄膜上皮性髄膜腫
7	雑種犬	10歳4ヶ月	♀	退形成性髄膜腫
8	フラットコーテッド・レトリバー	9歳10ヶ月	♀	線維性髄膜腫
9	フレンチ・ブルドッグ	9歳8ヶ月	♂	組織球性肉腫
10	トイ・プードル	10歳	♂	移行性髄膜腫
11	フレンチ・ブルドッグ	9歳2ヶ月	♂cast	退形成性希突起膠細胞腫
12	柴犬	8歳7ヶ月	♂cast	髄膜上皮性髄膜腫
13	チワワ	12歳9ヶ月	♀	頭蓋骨骨肉腫
14	ミニチュア・ダックス	12歳9ヶ月	♂	移行性髄膜腫
15	ラブラドル・レトリバー	6歳11ヶ月	♂cast	組織球性肉腫
16	ウェルシュ・コーギー・ペンブローク	14歳3ヶ月	♂cast	退形成性髄膜腫
17	キャバリア・K・C・スパニエル	7歳	♀	組織球性肉腫
18	マルチーズ	9歳3ヶ月	♀spay	顆粒細胞性髄膜腫
19	トイ・プードル	10歳4ヶ月	♀spay	多小葉性骨腫瘍
20	ミニチュア・ダックス	13歳7ヶ月	♂	移行性髄膜腫
21	シェットランド・シープドッグ	13歳1ヶ月	♀	移行性髄膜腫

22	シー・ズー	11歳7ヶ月	♂	顆粒細胞性髄膜腫
23	ノーフォーク・テリア	10歳11ヶ月	♂cast	組織球性肉腫
25	トイ・プードル	12歳10ヶ月	♂cast	移行性髄膜腫
27	フレンチ・ブルドッグ	7歳5ヶ月	♂cast	退形成性希突起膠細胞腫
28	ポメラニアン	12歳	♂	非定型髄膜腫
29	シベリアン・ハスキー	4歳2ヶ月	♂cast	移行性髄膜腫
30	雑種犬	7歳	♂	微小嚢胞性髄膜腫

症例	猫種	年齢	性	腫瘍
33	雑種猫	11歳7ヶ月	♂	移行性髄膜腫
34	雑種猫	15歳6ヶ月	♀spay	移行性髄膜腫
35	雑種猫	15歳6ヶ月	♀spay	砂粒腫性髄膜腫
36	ノルウェージャン・フォレストキャット	13歳5ヶ月	♂cast	砂粒腫性髄膜腫
37	雑種猫	16歳	♀spay	移行性髄膜腫
38	雑種猫	12歳1ヶ月	♀	移行性髄膜腫
39	雑種猫	14歳6ヶ月	♂cast	移行性髄膜腫
40	雑種猫	12歳1ヶ月	♂	原始神経外胚葉腫瘍 (PNET)

表 2.2 各腫瘍における NAWM の中央値（四分位範囲：IQR）

腫瘍種類	犬				猫	
	髄膜腫	組織球性肉腫	神経膠腫	骨腫瘍	髄膜腫	神経膠腫
n 数	17	6	3	2	7	1
中央値	0.817	0.819	0.853	0.943	0.76	0.746
IQR	0.77-0.83	0.81-0.85	0.80-0.86	0.94-0.95	0.75-0.77	
中央値(IQR)		0.821 (0.78-0.85)			0.755 (0.75-0.76)	
p 値			0.02			

表 2.3 各腫瘍における腫瘍内および腫瘍周囲の平均 ADC 値 (実数値 $\times 10^{-3}\text{mm}^2/\text{s}$) の中央値 (四分位範囲)

腫瘍種類	腫瘍内				腫瘍周囲			
	n 数	small ROI	large ROI	腫瘍辺縁	n 数	腫瘍辺縁	T2 Hi 領域	T2 Hi 領域
犬髄膜腫	17	0.933 (0.85-1.14)	0.947 (0.88-1.19)	0.922 (0.83-0.98)	6	0.922 (0.83-0.98)	1.211 (1.18-1.26)	1.211 (1.18-1.26)
猫髄膜腫	7	0.727 (0.72-0.73)	0.778 (0.74-0.79)	0.818 (0.80-0.90)	0	0.818 (0.80-0.90)		
組織球性肉腫	6	0.759 (0.71-0.79)	0.770 (0.76-0.85)	1.084 (1.04-1.15)	6	1.084 (1.04-1.15)	1.407 (1.37-1.46)	1.407 (1.37-1.46)
神経膠腫	3	1.806 (1.38-2.07)	1.655 (1.39-1.99)	0.989 (0.96-1.09)	1	0.989 (0.96-1.09)	1.384	1.384
骨腫瘍	2	1.247 (1.17-1.33)	1.250 (1.12-1.33)	1.113 (1.02-1.20)	0	1.113 (1.02-1.20)		

表 2.4 各腫瘍における腫瘍内および腫瘍周囲の平均 ADC 比 (白質で除した値) の中央値 (四分位範囲)

腫瘍種類	腫瘍内				腫瘍周囲			
	n 数	small ROI	large ROI	腫瘍辺縁	n 数	腫瘍辺縁	T2 Hi 領域	T2 Hi 領域
犬髄膜腫	17	1.117 (1.07-1.35)	1.144 (1.08-1.39)	1.156 (1.07-1.33)	6	1.156 (1.07-1.33)	1.457 (1.36-1.59)	1.457 (1.36-1.59)
猫髄膜腫	7	0.965 (0.93-0.99)	1.003 (0.98-1.04)	1.077 (1.05-1.18)	0	1.077 (1.05-1.18)		
組織球性肉腫	6	0.995 (0.88-1.03)	0.966 (0.91-1.05)	1.327 (1.22-1.51)	6	1.327 (1.22-1.51)	1.764 (1.62-1.84)	1.764 (1.62-1.84)
神経膠腫	3	1.59 (1.10-2.23)	1.913 (1.62-2.31)	1.159 (1.15-1.27)	1	1.159 (1.15-1.27)	1.607	1.607
骨腫瘍	2	1.321 (1.24-1.41)	1.325 (1.25-1.40)	1.179 (1.09-1.27)	0	1.179 (1.09-1.27)		

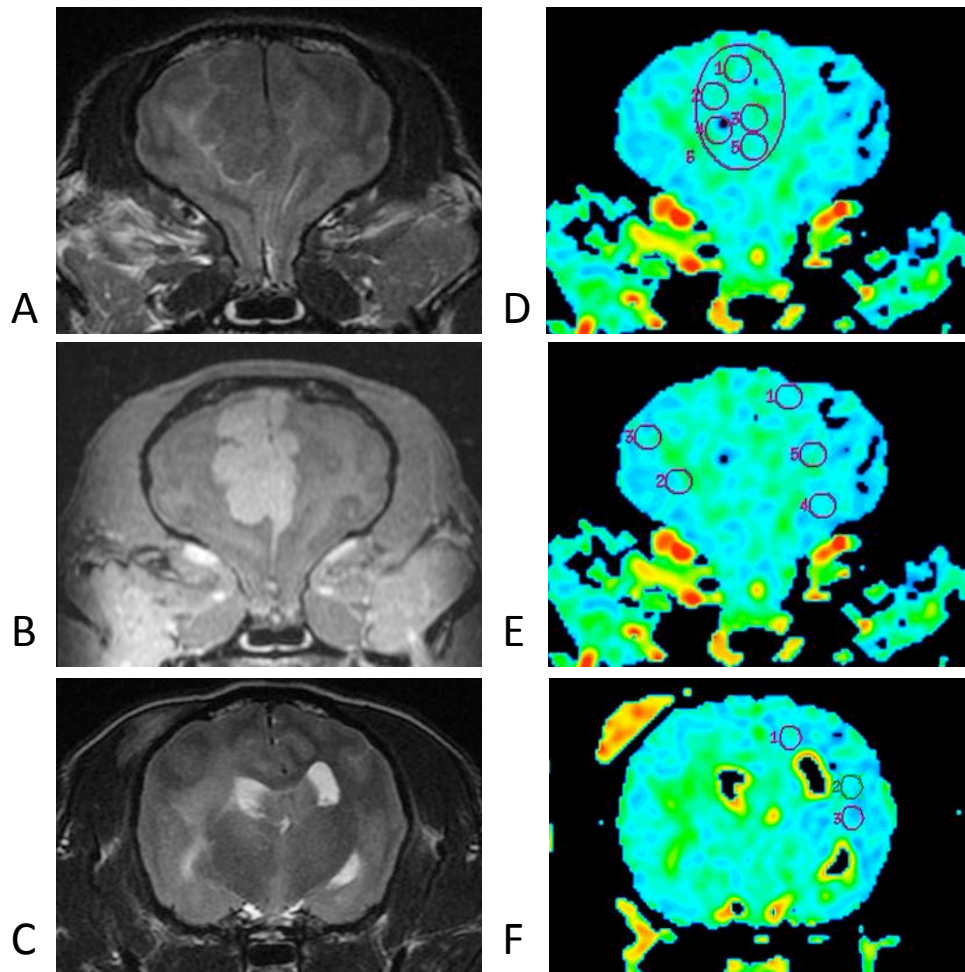


図 2.1 ROI の設置位置

A:腫瘍部位の T2 強調画像、B:腫瘍部位の造影 T1 強調画像、C: NAWM 領域の T2 強調画像、D:腫瘍内の ADC カラーマップ (リボルバー法)、E:腫瘍周囲の ADC カラーマップ、F: NAWM の ADC カラーマップ

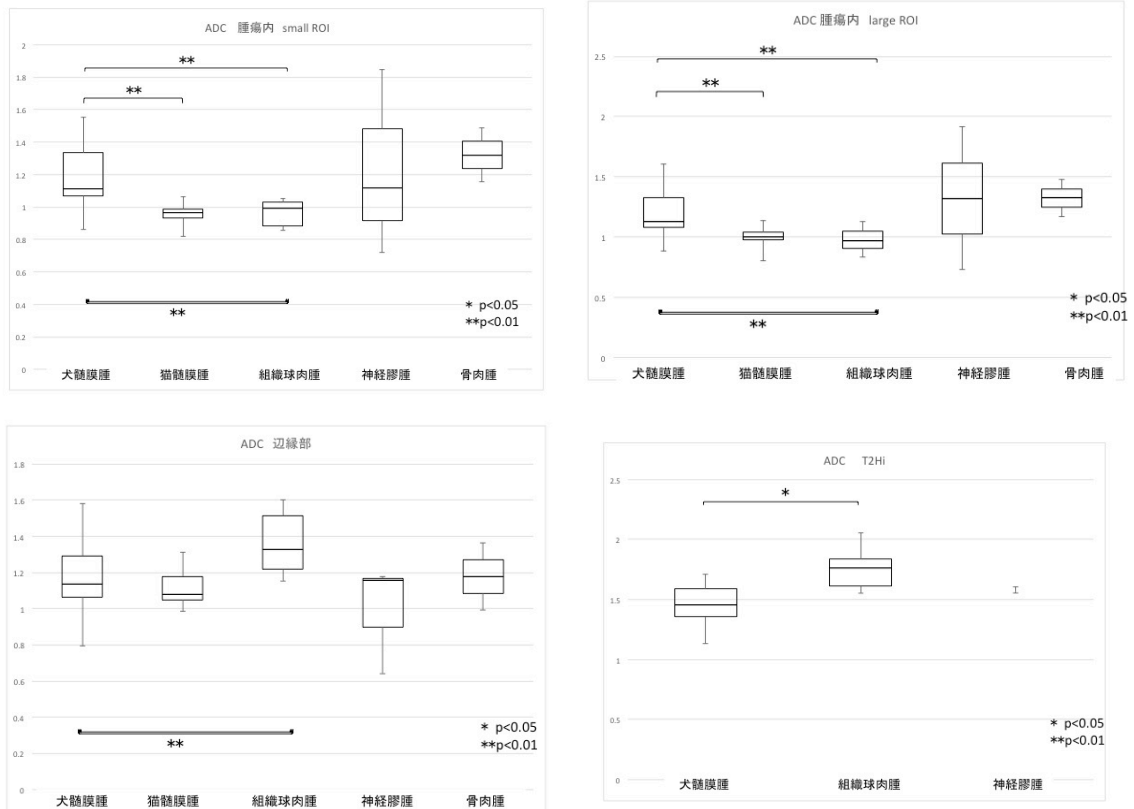


図 2.2 腫瘍内 (small ROI、large ROI)、腫瘍周囲 (辺縁部、T2 Hi 領域) の各腫瘍における ADC 比の箱ひげ図

犬髓膜腫、猫髓膜腫、組織球性肉腫の多重比較において small ROI、large ROI、辺縁部で有意差がみられた。犬髓膜腫と猫髓膜腫、犬髓膜腫と組織球性肉腫の 2 群比較においてそれぞれ small ROI と large ROI で有意差が認められ、犬髓膜腫と組織球性肉腫の T2 Hi 領域で有意差が認められた。

第 3 章

拡散テンソル画像の検討

3.1 緒言

拡散強調画像 (DWI) からは①水分子の拡散の速さと、②水分子の拡散の方向性 (異方性 : anisotropy) の 2 つの情報が得られる。DWI は通常の MRI 撮像シーケンスに運動傾斜磁場 (MPG) を印加することで、熱運動によってもたらされる水分子の拡散の強さを信号強度にして画像に表したものである。拡散テンソル画像 diffusion-tensor imaging (DTI) は、多方向への MPG を印加することで拡散の強さのみならず、拡散の方向・異方性の情報も画像化でき、脳においては白質の線維構造を可視化することができる。生体内では水分子の拡散は全方向に均等ではなく、細胞膜などの構造により方向による拡散の速さの違いが生じる。その現象を異方性拡散 anisotropic diffusion という。拡散異方性を楕円体モデル (方向によって大きさが異なる異方性拡散を表現する数学モデル) である「テンソル」に近似させたのが、DTI である。生体内では細胞膜によって自由な拡散が妨げられたり、微小な血流の影響を受けたりするため、拡散しやすい方向と拡散しにくい方向がある。特に大脳白質では神経線維の方向が揃っているために、神経線維に沿った拡散は非常に速く、一方で神経線維と直交する方向の拡散は非常に遅い。方向による拡散の速さの差が非常に大きいことを“異方的である (異方性が強い)” anisotropic と表現し、この平行成分と直交成分の信号強度の比率を異方性比率 (fractional anisotropy : FA) という。一方、脳脊髄液は上下、左右、前後方向ともおよそ同じ速さで拡散しているので、“等方的である (異方性が弱い)” isotropic という。

DTI の情報量は多く、表示方法も様々である。FA のスカラー量を表示するス

カラー画像やテンソルの主軸に方向を色によって表示するカラー表示画像などがある。また拡散テンソルから神経線維の走行を推定しようとする方法が拡散テンソルトラクトグラフィである。FA は、代表的な異方性の強さの指標であり、0～1 までの値をとる（単位なし）。FA の値は神経線維に富む白質で大きく（ヒトで 0.4～0.6）、その中でも脳梁や錐体路は神経線維の方向がより揃っているために FA が大きい（ヒトで 0.6～0.9）。灰白質の FA はやや小さく（ヒトで 0.1～0.3）、脳脊髄液では 0 に近い値になる。病変部では FA は低下するのが原則であり、ヒトでは脳梗塞、出血、脳腫瘍、多発性硬化症、筋萎縮性側索硬化症（ALS）、HIV 感染症、てんかん、統合失調症などの多くの疾患で低下することが知られている。各ボクセル単位で考えると、神経線維方向の信号低下が最も大きいので、これを使って神経線維の走行を画像化して、3D カラーマップに表示することができる。一般に左右方向の線維は赤、前後方向は緑、頭尾方向は青く表示する。これによって 1 枚の画像で神経線維の構築性と方向性を評価する事ができる。ボクセル単位でベクトルを連ねることにより神経線維の方向を 3D 表示することができ、これを拡散テンソルトラクトグラフィという。拡散テンソルトラクトグラフィは DTI で得られる画像を基にして神経線維束の走行を推定して描出する方法で、人医療において腫瘍の摘出の際に錐体路などの重要な神経路を損傷しないために手術計画に用いられるようになっている [Witwer 2002]。

犬における DTI の使用に関しては、実験的に脊髄挫傷を起こし経時的変化を DTI で評価する事で、脊髄の浮腫、出血、軸索およびミエリン構造の損傷を非侵襲的に評価できるという報告がある [Liu 2018]。また、DTI の拡散テンソルトラクトグラフィを用いて脊髄損傷の重症度を臨床的に評価した報告もある [Konishi 2017]。その他、正常犬猫の脳や脊髄の拡散テンソルトラクトグラフィでのカラーマップによる 3D 表示化などが複数報告されている [Anaya Gracia 2015, Jacqmot 2013, Yoon 2016, Ronen 2003, Takahashi 2010, Jacqmot 2017]。しかし、脳腫瘍の DTI を検討した case report 以外の報告は著者の知る限り認められなかった。本章では、犬および猫の

脳腫瘍症例において DTI を施行し、各腫瘍間における腫瘍内の FA 値の比較検討を行い、腫瘍周囲においても、腫瘍辺縁部および腫瘍周囲の浮腫領域を比較検討した。前章の DWI 解析と同様に反対側の NAWM の FA 値の犬と猫における比較、同一個体の同一腫瘍における大きな ROI と小さな ROI も比較検討した。

3.2 材料および方法

3.2.1 供試動物

本研究には、日本獣医生命科学大学動物医療センターに 2011 年 6 月～2019 年 9 月の間に神経症状を呈して来院した 40 頭（犬 31 頭、猫 9 頭）を用いた（表 1.1）。全ての症例は一般身体検査、血液検査、神経学的検査、X 線検査を行い、MRI 検査にて頭蓋内に病変を確認している。その後外科手術を行い、病理組織検査にて腫瘍の診断を得ている。本研究に当たっては retrospective な画像解析研究のため、実験動物倫理委員会および動物医療センター倫理委員会の承認は必要とされていない。しかしながら、全ての犬猫患者の飼い主は、動物医療センター初診時に検査データ等を研究に用いることを書面にて承諾している。

3.2.2 撮像方法

3.2.2.1 麻酔プロトコール

すべての患者で検査の 12 時間前から絶食・絶水とした。橈側皮静脈に 18～24G の留置針を用いて血管確保を行い、プロポフォール（プロポフォール®、日医工、富山）7mg/kg の静脈内投与にて麻酔導入を行い、気管チューブを挿管後、イソフルラン（エ

スカイン®、マイラン製薬、東京) (2~3%) および酸素 (2 l/min) による吸引麻酔で維持管理を行った。麻酔中は人工換気を行い、1 回換気量を 10~20ml/kg、気道内圧 12~16cmH₂O、呼吸数 12 回/min に設定し、管理した。麻酔中は心拍数、動脈血酸素飽和度 (SpO₂) のモニタリングを行い、乳酸リンゲル液 (ソルラクト®、テルモ、東京) (5ml/kg/hr) を静脈点滴した。

3.2.2.2 拡散テンソル画像の撮像条件

すべての動物は 3.0T の MRI 装置 (Signa® HDxt GE Healthcare, Tokyo) を用いて撮像した。RF コイルには 8 チャンネルの Knee coil を用いて、動物を伏臥位に保定し、頭部をコイル内に配置した。DTI の前に Conventional MRI の撮像を行った。Conventional MRI の撮像条件は以下の通りである ; Fast spin echo (FSE) 法 T2 強調画像は繰り返し時間 (TR) /エコー時間 (TE) =7000/81.6ms、FSE 法 T1 強調画像および造影 T1 強調画像は TR/TE/TI=6.8/2.9/920ms、これらのシーケンスはスライス厚=2.0mm、スライス gap=0.5mm、FOV=15 cm×15 cm、マトリクス=128×128 にて横断像を撮像した。DTI の撮像条件は以下の通りである ; シングルショットスピネコー (SE) 法、TR/TE =8000/87.1ms、スライス厚=2.4mm、FOV=15 cm×15 cm、マトリクス=128×128、NEX=2、MPG 方向=15 軸、b value =1000sec/mm²。DTI は Conventional MRI 撮像の後で、造影剤を投与する前に行った。

3.2.3 画像データ解析

DTI 撮像により得られた画像データを MRI 装置内蔵の画像解析ソフト (functool, GE healthcare, Tokyo) によって FA マップを作成した。参照画像として T2 強調画像あるいは造影 T1 強調画像を使用して、得られた FA マップ上の腫瘍内、腫瘍周囲、反対側の正常な白質領域 (NAWM) に円形の関心領域 (ROI) を設置し、それぞれの FA 値を計測した (図 3.1)。腫瘍内の ROI の配置方法は第 2 章の ADC と同

様で、2013年に Svolos らが行っている「リボルバー法」を適用した。ROIの大きさは腫瘍内の small ROI、腫瘍周囲およびNAWMは10~20mm²の正円形とした。large ROIは腫瘍の大きさ、形に合わせて10.2~208.4mmの範囲で、腫瘍の内側境界をできるだけ覆うように大きな円形のROIを置き、その内部に5つの小さな円形のROI (small ROI) を大きなROI内に配置した(これをリボルバー法という：図3.1D)。腫瘍周囲のROIは造影T1強調画像で造影増強を示す腫瘍縁の10mm以内に腫瘍周囲領域に沿って配置した(図3.1B、E)。また、腫瘍周囲にT2強調画像で高信号を示す領域がみられた症例においては、この部位も腫瘍周囲と同じ10~20mm²の正円形のROIで測定している。各部位において5回ずつ測定し、嚢胞や壊死、出血性領域を避けるように手で設置した。

3.2.4 統計解析

各腫瘍における腫瘍内 (small および large ROI)、腫瘍周囲、NAWMのFA値の中央値および四分位範囲 (IQR) を算出した。各FA値をNAWMで除したFA比の中央値およびIQRも算出した。これらの測定値を各腫瘍(髄膜腫は犬と猫を別)においても、前章のDWIの解析時と同様に比較検定を行った。正規性の検定ができる症例数のあった犬髄膜腫はAnderson-Darling testを行ったが、正規分布はしていなかった($p=0.04$) ため、ノンパラメトリック検定を行っている。犬髄膜腫と猫髄膜腫および組織球性肉腫における腫瘍間の多重比較検定にはKruskal-Wallis検定を用いたが、神経膠腫と骨腫瘍は症例数が少ないために有意差検定は行わず参照値とした。多重比較検定にて有意差が認められたため、犬髄膜腫と猫髄膜腫、および犬髄膜腫と組織球性肉腫における2群間検定をMann-Whitney U検定にて実施した。猫の組織球性肉腫は非常に稀であるため、猫髄膜腫と組織球性肉腫の比較検討は行っていない。また、犬と猫のNAWMおよび各症例におけるlarge ROIとsmall ROIの比較にもMann-Whitney U検定を用いた。すべての統計解析は、統計ソフトウェア(Statcel 4, OMS出版 東京)

を用いて実施し、 $p<0.05$ で有意差ありと判定した。

3.3 結果

全脳腫瘍症例のうち、DTI を実施した症例を表 3.1 に示す。症例 1、3、4、5、6、7、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、32、33、34、35、36、37、38、39、40 の計 36 例、犬 27 頭、猫 8 頭（うち 1 頭は頭蓋内に 2 つのタイプの腫瘍を持つ）だった。雄 20 頭、雌 15 頭（うち 1 頭は頭蓋内に 2 つのタイプの腫瘍を持つ）、平均年齢は 12 歳 11 ヶ月であった。髄膜腫は 23 例（移行性 12 例、髄膜上皮細胞性 3 例、砂粒体性 2 例、乳頭状 1 例、退形成性 2 例、非定型 1 例、顆粒細胞性 2 例）、組織球性肉腫 7 例、退形成希突起膠細胞腫 3 例、原始神経外胚葉腫瘍（PNET）1 例、骨肉腫 1 例、骨の多小葉状腫瘍 1 例であった。

3.3.1 NAWM の測定結果

各腫瘍における NAWM の FA 値の中央値および IQR を表 3.2 に示す。犬髄膜腫と組織球性肉腫の症例間で NAWM に有意差は認められなかったが、犬と猫の比較においては、犬の NAWM の FA 値 (0.39) は猫 (0.42) に比べ有意に低値であった ($p=0.005$)。

3.3.2 腫瘍内および腫瘍周囲の測定結果

各腫瘍における腫瘍内（small ROI と large ROI）および腫瘍周囲（辺縁部と T2 強調画像で高信号の領域）の FA 値の中央値および IQR を表 3.3 に示す。また、犬および猫の NAWM の FA 値に有意差が認められたので、FA 値を反対側の白質で除した数値である FA 比の中央値および IQR を表 3.4 に示した。Small ROI と large ROI の両方において、犬髄膜腫、猫髄膜腫と組織球性肉腫の多重比較検定で有意差が認めら

れ (small ROI : $p=0.03$ 、large ROI $p=0.04$)、腫瘍周囲においても有意差がみられた ($p=0.03$)。そのため、犬髄膜腫と猫髄膜腫、犬髄膜腫と組織球性肉腫において 2 群比較検定を行った。犬髄膜腫の FA 比 (small ROI : 0.419、large ROI : 0.447) は猫髄膜腫 (small ROI:0.549、large ROI:0.534) よりも有意に低かった (small ROI: $p=0.04$ 、large ROI $p=0.03$) が、組織球性肉腫 (small ROI : 0.372、large ROI : 0.369) とは有意差は認められなかった (small ROI : $p=0.19$ 、large ROI $p=0.42$)。骨腫瘍および神経膠腫の FA 比は犬の髄膜腫よりも低値を示していた。腫瘍周囲においては犬髄膜腫と猫髄膜腫 ($p=0.44$) および犬髄膜腫と組織球性肉腫 ($p=0.09$) の 2 群比較では有意差は見られなかった。腫瘍周囲の T2 強調画像で高信号を示す領域に関しては猫では存在しなかったため、犬髄膜腫と組織球性肉腫で比較検討を行い、犬髄膜腫 (FA 比:0.623) は、組織球性肉腫 (FA 比 : 0.421) よりも有意に高値を示した ($p=0.004$)。腫瘍内 (small ROI、large ROI)、腫瘍周囲 (辺縁および T2 強調画像で高信号領域) の FA 比の箱ひげ図を図 3.2 に示す。

3.3.3 small ROI と large ROI の比較

各症例毎に腫瘍内の small ROI と large ROI の FA 値を比較検討し、犬髄膜腫と猫髄膜腫および骨腫瘍、神経膠腫では全ての症例で有意差は認められなかったが、組織球性肉腫において唯一 1 例において有意差がみられた ($p=0.045$)。

3.4 考察

3.4.1 NAWM の FA 値

正常犬で報告されている平均 FA 値は灰白質で 0.1978~0.2364、白質は 0.5136~0.6144 [MacLellan 2017]、溝口の博士論文 [2015] のコントロール猫は灰白質で

0.17±0.03、白質で 0.25±0.06 であった。これらの結果はヒトにおける白質は灰白質と比較して FA 値が高いという結果と一致する。MacLellan の報告 [2017] では、FA 値と年齢の間には正の相関は示さず、左右大脳半球において有意差は認められていない。ヒトにおいて FA 値は画素値の比を計測しているために、個々の画素値における不確定要素を除いた定量可能な値として、患者の年齢や病状の指標、治療効果の指標としてある程度の再現性を持って使用されている。しかし犬では年齢や犬種により差があるという報告 [Hartmann 2014、Hobert 2013、Pease 2011] と有意差がないという報告がある [MacLellan 2017]。本研究の結果は犬の NAWM の FA 値は 0.39、猫は 0.42 であり、猫の NAWM の FA 値は犬よりも有意に高かった (p=0.005)。犬の FA 値は MacLellan ら [2017] の結果よりも低値を示していたが、MacLellan らの報告 [2017] では平均年齢は 6 歳、本研究の犬の平均年齢は 10 歳 3 ヶ月であった。犬は加齢に伴う大脳白質の脱髄 (ミエリンの減少) が報告されており [Chambers 2012]、それを反映して FA 値が低下した可能性が考えられる。本研究では犬と猫の FA 値に有意差が認められたため、DWI 同様、犬猫間で腫瘍を比較するに当たっては、FA 値を NAWM で除した FA 比を用いることとした。

3.4.2 腫瘍内および腫瘍周囲の FA

3.4.2.1 腫瘍内の FA

面白いことに第 2 章の ADC 比では犬髄膜腫に対し、猫髄膜腫と組織球性肉腫は両方とも低値を示していたが、FA 比は犬髄膜腫に対して猫髄膜腫は高値を、組織球性肉腫はやや低値を示している。これは、ADC 比が低値を示すような腫瘍でも、やはり別の病態が起きている可能性が示唆される。

ヒトにおいて DTI は神経膠腫のグレーディングに使用されることが多いが、FA

値における脳腫瘍症例の評価においては意見が分かれている。神経膠腫において低グレードと高グレードの神経膠腫を鑑別でき [Inoue 2005, Ma 2013]、平均 FA 比 (FA 値 / NAWM) と最小 FA 値は高グレードの神経膠腫 (ⅢとⅣ) の鑑別において有意差があることが報告されている [Server 2014]。一方では神経膠腫のグレーディングには使用できないという報告もある [Beppu 2003, Goebell 2006, Wieshmann 1999, Server 2014]。Inoue ら [2005] は、高グレード神経膠腫は、低グレード神経膠腫と比べて高い FA 値を発見し、Beppu らは FA 値と神経膠腫の細胞性および血管性の間に正の相関があることを報告し [Beppu 2003, 2005]、FA 値は神経膠細胞の密度増加に関連して増加することが示されている。本研究の神経膠腫は高グレードであるがすべての腫瘍の中で最も低い FA 比を呈しており、ヒトで論じられる結果と矛盾した。しかし、ヒトにおいてリンパ腫は膠芽腫よりも低い FA 値を示すことが報告されており、それは腫瘍内にリンパ腫の細胞成分が多いためと考察されている [Toh 2008b]。そのため FA 値は腫瘍細胞の種類により変わる可能性も示唆される。一方、ヒトの低グレード神経膠腫の FA 値は 0.131 ± 0.056 、高グレード神経膠腫は 0.127 ± 0.05 という報告もある [Ma 2013]。脳腫瘍における FA 値低下のメカニズムは依然として不明であるが、いくつかの報告では、FA の低下はニューロンおよび線維路の破壊による細胞外空間の増加に関連すると考察している [Sinha 2002, Brunberg 1995, Wieshmann 1999]。しかし、石灰化の存在が FA 値の低下をもたらすとも言われており [Romani 2014]、評価が困難ことも多い。

髄膜腫においても、ヒトの良性髄膜腫の FA 値は 0.21 ± 0.08 、悪性髄膜腫は 0.31 ± 0.13 で有意差があるという報告もあれば [Aslan 2018]、良性髄膜腫の FA は 0.262 ± 0.10 、悪性髄膜腫は 0.226 ± 0.05 で有意差は見られないという報告も多い [Xing 2017, Pang 2016, Van Cauter 2012]。また、ヒトで低グレード神経膠腫は 0.11 ± 0.02 、髄膜腫は 0.19 ± 0.04 で有意差があり、FA は腫瘍種類の鑑別に有用であるという報告もある [Piper 2016]。本研究における犬髄膜腫の FA 比は small ROI が 0.419、large ROI

が 0.447、組織球性肉腫の small ROI が 0.372、large ROI が 0.369 で有意差は認められなかった (small ROI : $p=0.19$ 、large ROI : $p=0.42$) が、組織球性肉腫の FA 比は髓膜腫よりもやや低値を示した。また、猫髓膜腫の FA 比は small ROI が 0.549、large ROI が 0.534、犬髓膜腫 (small ROI が 0.419、large ROI が 0.447) よりも有意に高値を示した (small ROI : $p=0.04$ 、large ROI : $p=0.03$)。ヒトの頭蓋内髓膜腫において FA 値は 1) $FA < 0.1$ は非常に軟らかい腫瘍、2) $0.1 < FA < 0.2$ は軟らかい腫瘍、3) $0.2 < FA < 0.3$ は硬い腫瘍、4) $FA > 0.3$ は非常に硬い腫瘍として評価した結果、 $FA > 0.3$ は硬い腫瘍である可能性が高く、線維性髓膜腫はこれに多く含まれることが報告されている [Romani 2014]。この基準を今回の研究に当てはめた場合、猫髓膜腫は比較的硬い腫瘍に分類される。ADC の結果と併せても、猫髓膜腫は著者の予想通り、比較的硬い腫瘍であると言える。このように腫瘍の硬さを拡散 MRI で評価ができる可能性が示唆された。

3.4.2.2 腫瘍周囲の FA

ヒトにおいて、腫瘍周囲の FA 値は、高グレード神経膠腫と低グレード神経膠腫では有意差があることが報告されており、高グレードでは FA 値は減少する [Gupta 2010]。Grade III (高グレード) の神経膠腫の腫瘍周囲には腫瘍の浸潤や線維トラクトの崩壊が明瞭であり、低グレードの場合には腫瘍周囲の線維トラクトが保存されているためと結論づけられている [Goebell 2006]。犬における椎間板ヘルニアでは、病変周囲の浮腫や脱髄などの脊髄損傷のない圧迫部位では FA 値が増加し、進行性脊髄軟化症では脊髄の神経束の喪失と線維方向の障害、出血のために FA 値は低下することが報告されており [Konishi 2017]、ヒトにおける脳内の結果を説明しうる。

ヒトにおける転移性腫瘍と髓膜腫の比較では、転移性腫瘍の腫瘍周囲浮腫領域においてびまん性の軸索損傷と線維断裂が報告されている [Zhang 1997] が、髓膜腫では線維鞘は比較的保存されている [Vaz 1998、Ide 1992]。したがって、髓膜腫より

も転移性腫瘍の腫瘍周囲領域では FA の低下がみられ、転移性病変では 0.146 ± 0.026 、髄膜腫では 0.199 ± 0.052 で報告されている [Toh 2007]。ヒトでは髄膜腫と高グレード神経膠腫を比較した報告もあり、高グレード神経膠腫は髄膜腫よりも低い腫瘍周囲浮腫の FA 比を示している [De Belder 2012]。本研究の結果は、腫瘍周囲の FA 比は犬髄膜腫 (0.76) および猫髄膜腫 (0.88) よりも、組織球性肉腫 (0.56) は低値を示し、神経膠腫 (0.755) は犬の髄膜腫と同程度であった。髄膜腫では、周囲の脳実質はゆっくり圧排されているために神経損傷が少なく、FA 比が比較的高値を示したと考えられる。しかし組織球性肉腫では腫瘍の浸潤や神経線維の断裂などによる FA 比の低下が疑われる。中でも猫の髄膜腫の FA 比は最も高く、より圧排された神経線維が狭い範囲内に多く存在する可能性が考えられ、これもまた猫髄膜腫の外科的摘出後に脳がしばらく窪んだままの状態となる (元に戻るのに時間がかかる) [Gorden 1994; Tomek 2006] ことと関連しているのではないかと考えられる。また、骨腫瘍の FA 値は最も低いが、これは骨腫瘍が頭蓋骨より発生し、脳を圧迫しているために、腫瘍周囲の測定部位は大脳皮質領域となってしまうためであろう (大脳皮質領域は白質よりも元々 FA 値が低い)。神経膠腫の FA 比は我々の予想に反して、髄膜腫と変わらず比較的高い数値を示していた。神経膠腫に関しては、症例数を増やして評価していく必要があると思われる。

細胞障害性浮腫は細胞間ナトリウムおよび水の増加によって特徴付けられ、細胞腫脹により間質腔が減少する [Spatz 2010]。血管原性浮腫は、拡張した繊維間および細胞外空間を伴う神経線維の解離を特徴とする [Zhao 2006]。血管原性浮腫のみでは FA 値は低下し、細胞傷害性浮腫は FA 値が上昇するが [Liu 2018, Ellingson 2015]、血管原性浮腫と細胞障害性浮腫は共存することがあり FA の解釈をさらに複雑にする。T2 強調画像で高信号を示す領域において、組織球性肉腫が最も低い FA 比を示しており、ADC 比と同様にこれも組織球性肉腫の腫瘍周囲には血管原性浮腫がメインに起きている可能性が示唆される。

3.4.3 Small ROI と large ROI (ROI の大きさ)

FA 値においても、large ROI と small ROI を各腫瘍間で比較検討した。髄膜腫および神経膠腫、骨腫瘍においては、small ROI と large ROI に有意差は認められなかったが、組織球性肉腫の 1 例においてのみ有意差が見られた (17%)。FA 値においては、ROI の大きさの影響は少ないと考えられた。

現在広く使用されている拡散強調画像 (DWI) や拡散テンソル画像 (DTI) は、水分子の拡散がガウス分布するという過程のもとに ADC や FA と言った定量値を測定している。しかし近年、q-space imaging (QSI) や diffusional kurtosis imaging (DKI) のような、ガウス分布を仮定しない拡散 MRI 手法がヒトにおいて報告されている。QSI は通常の DWI よりも多くのデータを用いて実際に水分子が動いた距離 (変位) を計測する手法であり [Cohen 2002]、DKI は拡散の正規分布からの逸脱の程度を尖度 (kurtosis) という指標で表現したもの (尖度は正規分布の場合に 0) である [Jensen 2005]。QSI は正常な加齢性変化におけるミエリンの減少、多発性硬化症の病変検出、変形性脊椎症における脊髄の評価などの報告があり、DKI は低グレードと高グレード神経膠腫の鑑別 [Raab 2010、Van Cauter 2012]、急性期脳梗塞の病態把握などが報告されている。今後小動物臨床においても、このような新しい拡散画像解析法を実施することで生前に診断あるいは鑑別可能な疾患が増えてくると期待される。

3.5 小括

- 1) NAWM の FA 値は犬に比べ、猫で有意に高値を示した。
- 2) 腫瘍内の FA 比は犬の髄膜腫に比べ、猫の髄膜腫で高値を示し、ADC と併せて腫瘍の硬さを評価できる可能性が示唆された。
- 3) 腫瘍周囲の FA 比は、髄膜腫よりも組織球性肉腫と神経膠腫で低値を示し、FA 比

の高値は神経損傷のない圧迫を示唆する可能性がある。

4) FA においては **small ROI** と **large ROI** はどちらも有用であると考えられる。

図および表

表 3.1 DTI を実施した脳腫瘍症例の品種、年齢、性、腫瘍種類

症例	犬種	年齢	性	腫瘍
1	ミニチュア・ダックス	9歳8ヶ月	♀spay	乳頭状髄膜腫
3	ウェルシュ・コーギー・ペンブローク	9歳6ヶ月	♀	組織球性肉腫
4	ウェルシュ・コーギー・ペンブローク	10歳3ヶ月	♂	組織球性肉腫
5	ビーグル	10歳	♀	移行性髄膜腫
6	ラブラドル・レトリバー	12歳9ヶ月	♀spay	髄膜上皮性髄膜腫
7	雑種犬	10歳4ヶ月	♀	退形成性髄膜腫
9	フレンチ・ブルドッグ	9歳8ヶ月	♂	組織球性肉腫
10	トイ・プードル	10歳	♂	移行性髄膜腫
11	フレンチ・ブルドッグ	9歳2ヶ月	♂cast	退形成性希突起膠細胞腫
12	柴犬	8歳7ヶ月	♂cast	髄膜上皮性髄膜腫
13	チワワ	12歳9ヶ月	♀	頭蓋骨骨肉腫
14	ミニチュア・ダックス	12歳9ヶ月	♂	移行性髄膜腫
15	ラブラドル・レトリバー	6歳11ヶ月	♂cast	組織球性肉腫
16	ウェルシュ・コーギー・ペンブローク	14歳3ヶ月	♂cast	退形成性髄膜腫
17	キャバリア・K・C・スパニエル	7歳	♀	組織球性肉腫
18	マルチーズ	9歳3ヶ月	♀spay	顆粒細胞性髄膜腫
19	トイ・プードル	10歳4ヶ月	♀spay	多小葉性骨腫瘍
20	ミニチュア・ダックス	13歳7ヶ月	♂	移行性髄膜腫
21	シェットランド・シープドッグ	13歳1ヶ月	♀	移行性髄膜腫

22	シー・ズー	11歳7ヶ月	♂	顆粒細胞性髄膜腫
23	ノーフォーク・テリア	10歳11ヶ月	♂cast	組織球性肉腫
24	ウェルシュ・コーギー・ペンブローク	13歳2ヶ月	♂	髄膜上皮性髄膜腫
25	トイ・プードル	12歳10ヶ月	♂cast	移行性髄膜腫
26	ウェルシュ・コーギー・ペンブローク	5歳10ヶ月	♀spay	組織球性肉腫
27	フレンチ・ブルドッグ	7歳5ヶ月	♂cast	退形成性希突起膠細胞腫
28	ポメラニアン	12歳	♂	非定型髄膜腫
29	シベリアン・ハスキー	4歳2ヶ月	♂cast	移行性髄膜腫
32	アビシニアン	10歳2ヶ月	♀spay	退形成性希突起膠細胞腫
症例	猫種	年齢	性	腫瘍
33	雑種猫	11歳7ヶ月	♂	移行性髄膜腫
34	雑種猫	15歳6ヶ月	♀spay	移行性髄膜腫
35	雑種猫	15歳6ヶ月	♀spay	砂粒腫性髄膜腫
36	ノルウェージャン・フォレストキャット	13歳5ヶ月	♂cast	砂粒腫性髄膜腫
37	雑種猫	16歳	♀spay	移行性髄膜腫
38	雑種猫	12歳1ヶ月	♀	移行性髄膜腫
39	雑種猫	14歳6ヶ月	♂cast	移行性髄膜腫
40	雑種猫	12歳1ヶ月	♂	原始神経外胚葉腫瘍 (PNET)

表 3.2 各腫瘍における反対側の NAWM の中央値（四分位範囲 IQR）

腫瘍種類	犬				猫	
	髄膜腫	組織球性肉腫	神経膠腫	骨腫瘍	髄膜腫	神経膠腫
n 数	14	6	2	2	7	2
中央値	0.405	0.418	0.379	0.323	0.436	0.37
IQR	0.38-0.42	0.41-0.43	0.36-0.40	0.31-0.34	0.42-0.45	0.36-0.37
中央値(IQR)		0.39 (0.35-0.42)			0.42 (0.41-0.44)	
p 値			0.005			

表 3.3 各腫瘍における腫瘍内および腫瘍周囲の FA 値 (実数値) の中央値 (四分位範囲)

腫瘍種類	腫瘍内				腫瘍周囲			
	n 数	small ROI	large ROI	腫瘍辺縁	n 数	T2 Hi 領域	n 数	T2 Hi 領域
犬髄膜腫	16	0.177 (0.15-0.20)	0.180 (0.16-0.20)	0.320 (0.25-0.39)	6	0.244 (0.24-0.25)	6	0.244 (0.24-0.25)
猫髄膜腫	7	0.244 (0.22-0.28)	0.220 (0.20-0.26)	0.376 (0.37-0.39)	0		0	
組織球形肉腫	7	0.157 (0.12-0.19)	0.155 (0.14-0.20)	0.235 (0.21-0.28)	6	0.172 (0.17-0.20)	6	0.172 (0.17-0.20)
神経膠腫	4	0.099 (0.07-0.12)	0.108 (0.08-0.13)	0.281 (0.24-0.30)	1	0.234	1	0.234
骨腫瘍	2	0.189 (0.15-0.23)	0.176 (0.15-0.21)	0.190 (0.18-0.96)	0		0	

表 3.4 各腫瘍における腫瘍内および腫瘍周囲の FA 比 (白質で除した値) の中央値 (四分位範囲)

腫瘍種類	腫瘍内				腫瘍周囲			
	n 数	small ROI	large ROI	腫瘍辺縁	n 数	T2 Hi 領域	n 数	T2 Hi 領域
犬髄膜腫	16	0.419 (0.38-0.54)	0.447 (0.38-0.52)	0.76 (0.58-0.90)	6	0.623 (0.59-0.72)	6	0.623 (0.59-0.72)
猫髄膜腫	7	0.549 (0.50-0.66)	0.534 (0.49-0.65)	0.877 (0.85-0.89)	0		0	
組織球形肉腫	7	0.372 (0.30-0.44)	0.369 (0.33-0.46)	0.56 (0.51-0.63)	7	0.421 (0.38-0.49)	7	0.421 (0.38-0.49)
神経膠腫	4	0.265 (0.21-0.33)	0.292 (0.22-0.36)	0.755 (0.62-0.86)	1	0.561	1	0.561
骨腫瘍	2	0.568 (0.46-0.68)	0.535 (0.46-0.61)	0.589 (0.58-0.59)	0		0	

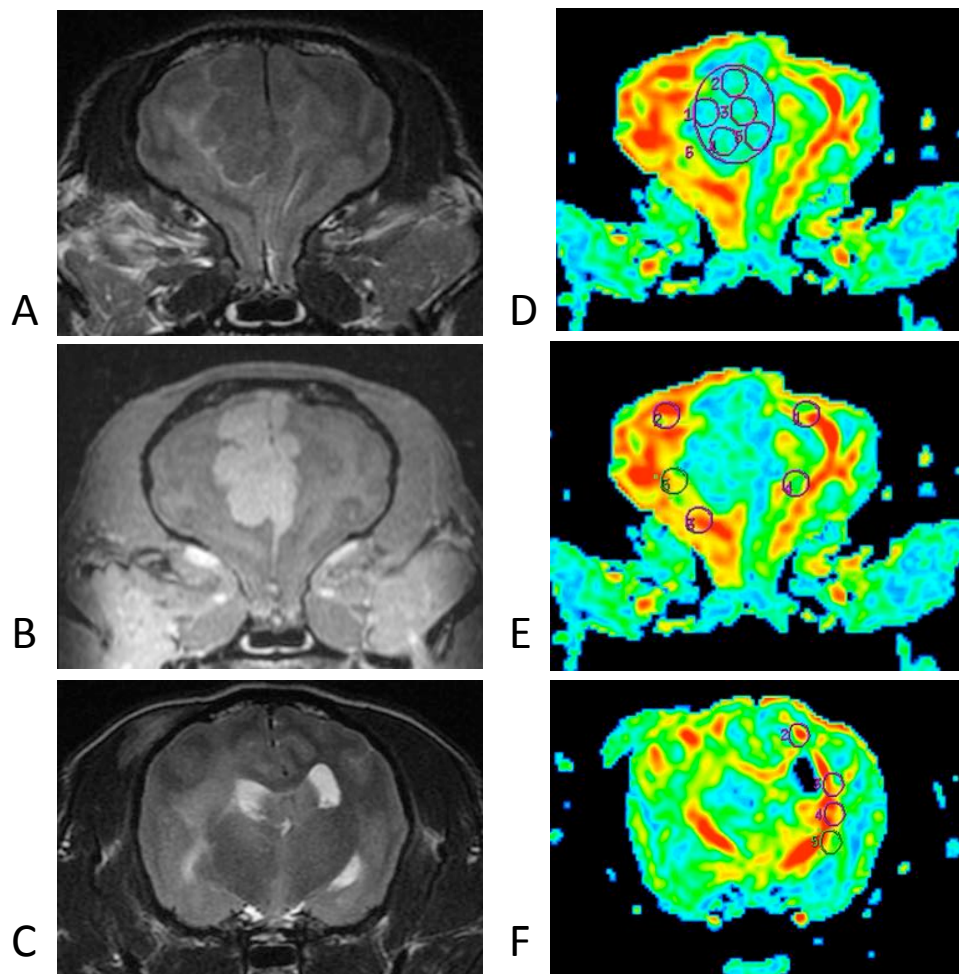


図 3.1 ROI の設置位置

A: 腫瘍部位の T2 強調画像、B: 腫瘍部位の造影 T1 強調画像、C: NAWM 領域の T2 強調画像、D: 腫瘍内の FA カラーマップ (リボルバー法)、E: 腫瘍周囲の FA カラーマップ、F: NAWM の FA カラーマップ

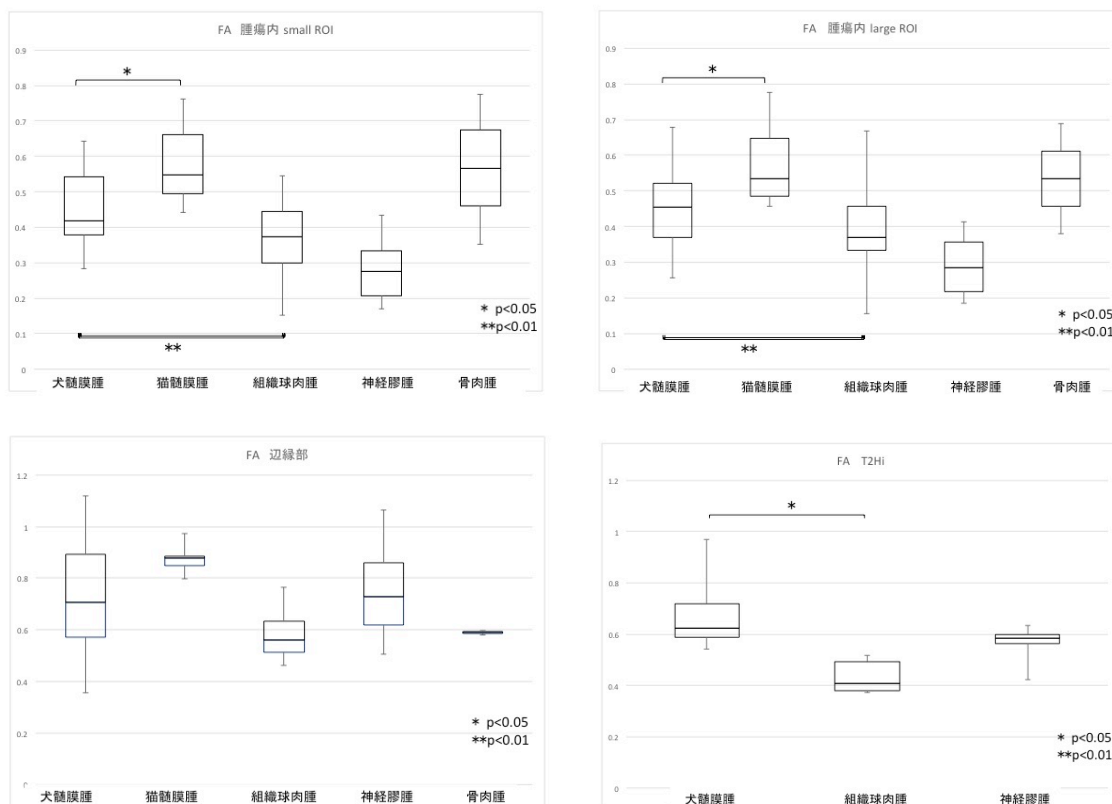


図 3.2 腫瘍内 (small ROI、large ROI)、腫瘍周囲 (辺縁部、T2 Hi 領域) の各腫瘍における FA 比の箱ひげ図

犬髓膜腫、猫髓膜腫、組織球肉腫の多重比較において small ROI、large ROI、辺縁部で有意差がみられた。犬髓膜腫と猫髓膜腫、犬髓膜腫と組織球性肉腫の 2 群比較において犬髓膜腫と猫髓膜腫の small ROI と large ROI で有意差が認められたが、犬髓膜腫と組織球性肉腫では有意差は見られなかった。また、犬髓膜腫と組織球性肉腫の T2 Hi 領域で有意差が認められた。

第 4 章

MR スペクトロスコピーの検討

4.1 緒言

臨床現場において発展と普及が著しい MRI 装置であるが、MR スペクトロスコピー-magnetic resonance spectroscopy (MRS) は技術的には MRI 以前から開発されており、第 2 次世界大戦後の 1945 年に核磁気共鳴現象が発見されてからすぐに研究と利用が始まっていた。古くから薬品の製造過程で試料に含まれている元素の割合を調べるために使用されている。人医療において MRS は生体中の代謝物を非侵襲的に測定することで、さまざまな病態解析に用いられている。MR は核磁気共鳴現象を利用して信号を得る方法であり、MRI では水に含まれる水素原子核 (^1H : プロトン) からの信号を画像化している。一方、 ^1H を標的にした MRS (^1H -MRS) は水の信号に埋もれているさまざまな代謝物からの信号を、縦軸に信号強度、横軸に周波数としたスペクトルで得る方法である。分子中の原子核の磁場は、付近に存在する原子核によって作られる磁場の影響を受け、同じ原子核であっても周囲の環境によりわずかに共鳴周波数の違いが生じる (化学シフト **chemical shift**)。そのシフトの大きさと信号強度から生体内の分子の種類・成分などを調べることができる。スペクトルの各ピークは磁場強度に依存しない ppm (百分の 1 : **parts per million**) で表される。 ^1H -MRS で得られる代表的な代謝物として、N-アセチルアスパラギン酸 **N-acetyl-L-aspartate (NAA)**、クレアチン **Creatine (Cr)** およびクレアチンリン酸 **Phosphocreatine (PCr)**、コリン含有物質 **Choline (Cho)** がある。信号を取得するエコー時間 (**TE**) の違いによって認められる代謝物が異なるが、**TE** が短い (**short TE**) 場合には上記の他にミオイノシトール **myo-inositol (Ins)**、グルタミン **Glutamine (Gln)** とグルタミン酸 **Glutamate (Glu)**

などが観察できる。

脳腫瘍の診断においては、神経細胞の存在の指標となる NAA、細胞膜に存在し、細胞膜・細胞の代謝亢進の指標となる Cho、細胞内に存在し、病的状態でも比較的安定した値を示す Cr、糖の嫌気性代謝により生成される乳酸 (Lac)、星状膠細胞に高濃度に含まれる Ins が有用である。ヒトの脳腫瘍では、一般的にグレードの高い腫瘍の方が NAA は低下し、Cho の上昇が見られることから、グレード III・IVの脳腫瘍では Cho/NAA が高くなる傾向にあり、Lac の上昇も認められる [Dawoud 2014]。しかし、壊死の存在により Cho の低下が生じることもあるため、通常の MRI 画像と併せ、慎重に評価しなければならない。

以下に各代謝産物の特徴を簡単に示す。

- ①N-アセチルアスパラギン酸 N-acetyl-L-aspartate (NAA : ピークは 2.0ppm) は、脳内に大量に存在するアミノ酸で、神経細胞で生成され、軸索から細胞外液へ一定の割合で流出し、希突起膠細胞で代謝分解される。
- ②クレアチン (Cr : ピークは 3.0ppm) は Creatine と Phosphocreatine (PCr) の2つの化合物として観察することは難しく、通常 3.0ppm に総クレアチン total creatine (t-Cr) として観察される。脳内において t-Cr は神経細胞、神経膠細胞を問わず、すべての細胞に共通して存在し、細胞内の ATP 濃度を一定に保つ働きをしており、エネルギー代謝の指標となる。
- ③コリン Choline (Cho : ピークは 3.2ppm) には細胞膜の主な構成物質であるホスホコリンと形質膜の主成分であるレシチンおよびその代謝産物がある。Cho のピークは細胞膜の分解・合成の指標とされ、発育しているほ乳類やヒトの脳では誕生時に高く、次第に低下する。
- ④乳酸 Lactate (Lac:ピークは 1.3ppm) は一般に正常組織で観察することはできず、血流低下などで酸素欠乏状態になると嫌気代謝が進み検出されるようになる。すなわち、

¹H-MRS における Lac ピークは嫌気代謝の指標となる。

⑤脂質 Lipid (Lip : ピークは 0-2ppm) は正常脳では認められないが、short TE を用いた場合には脳腫瘍の壊死を反映して捉えることができる。

⑥アラニン alanine (Ala : ピークは 1.48ppm) は非必須アミノ酸で、このピークは正常安静時には見られない。飢餓組織での蛋白分解の過程でアラニンのピークが見られることがあり、そのためアラニンのピークは飢餓状態の組織や髄膜腫、細菌性膿瘍で認められる。

⑦グルタミン Glutamine (Gln : ピークは 2.1ppm)、グルタミン酸 Glutamate (Glu) は正常脳でも観察される。Glu は興奮性神経伝達物質であり、シナプス前細胞から細胞外へ放出される。Gln と Glu はよく似た構造を示すため、ケミカルシフトも非常に近く、2.1ppm 付近で両者が重なった状態で観察される。Gln は浸透圧を調節する作用をもつため、細胞内に Gln が過剰に存在すると浮腫や細胞腫脹を起こすことが言われている。

⑧ミオイノシトール myo-inositol (Ins : ピークは 3.5ppm) は星状膠細胞における濃度が高く、神経膠細胞の増殖と相関が高いと言われている。Ins/Cr は腫瘍の悪性度と反比例の関係（高悪性度の神経膠腫で低く、低悪性度の神経膠腫で高い）を示すことが報告されている [Sherbeny 2014、Howe 2003、Castillo 2000]。

ヒトにおいて、脳腫瘍における ¹H-MRS の臨床応用として腫瘍タイプの分類やグレード分類、嚢胞性腫瘍および壊死性腫瘍と脳膿瘍の鑑別や放射線治療後の再発性脳腫瘍と放射線壊死の鑑別などに利用されている [Orphanidou-Vlachou 2013、Sherbeny 2014、Dowling 2001]。特に MRS による診断が有用な疾患は、Conventional MR 画像のみでは診断が難しい神経膠腫の悪性度評価、髄外病変と髄内病変の鑑別、脳膿瘍との鑑別、放射線壊死と再発の鑑別、腫瘍性病変と鑑別が困難な脳血管性病変、変性疾患、炎症性病変である。これらは MRS を追加することでその診断

の大きな助けとなる。

犬においては正常犬でのMRSの報告がいくつかあり [Ono 2014、Carrera 2015]、異常病変に関してはSandhoff病 [Ito 2018]やダニ媒介性脳炎 [Sievert 2017]、炎症性病変や腫瘍性病変などの頭蓋内病変 [Carrera 2016、Stadler 2014] での報告がある。これらの報告では、炎症性病変と腫瘍性病変の鑑別は可能であったが、腫瘍間の比較検討で有意差は見られていない。そのため、本章の目的は犬猫の脳腫瘍においてMRSを用いた腫瘍間の比較評価を行う事である。それに当たり、本章ではまず正常犬および正常猫のMRS測定を行い、本学MRI装置における基準値を定義し、次に脳腫瘍患者のMRSにおける各代謝物を正常犬（あるいは猫）と比較検討を行った。

4.2 正常犬および猫における視床の MR スペクトロスコピーの検討

4.2.1 材料および方法

4.2.1.1 供試動物

研究には、健常犬（すべてビーグル犬）11頭（7歳2ヶ月～10歳2ヶ月：平均8歳9ヶ月、雄6頭、雌5頭）および健常猫（すべて雑種猫）11頭（1歳11ヶ月～5歳2ヶ月：平均2歳2ヶ月、雄5頭、雌6頭）を用いた。すべての動物において一般身体検査、血液・生化学検査、および神経学的検査は正常であった。この正常動物を用いた研究は日本獣医生命科学大学動物実験委員会および生命倫理委員会の承認（承認No.27K-8, S27K-8）を受けて実施した。

4.2.1.2. 撮像方法

4.2.1.2.1 麻酔プロトコール

すべての動物は検査の12時間前から絶食・絶水とした。橈側皮静脈に18～24Gの留置針を用いて血管確保を行い、プロポフォール（プロポフォール[®]、日医工、富山）を犬で7mg/kg、猫で10mg/kg 静脈内投与にて麻酔導入を行い、気管チューブを挿管後、イソフルラン（エスカイン[®]、マイラン製薬、東京）（2～3%）および酸素（2.0 l/min）による吸引麻酔で維持管理を行った。麻酔中は人工換気を行い、1回換気量を10～20ml/kg、気道内圧12～16cmH₂O、呼吸数12回/minに設定し、管理した。また、体温を36～37度に維持し、MRI本体付属のペリフェラルゲーティングワイヤー（光学脈波同期法 E881PD、GE Yokogawa Medical System, Japan）を用いて心拍数のモニタリングを行った。麻酔中は乳酸リンゲル液（ソルラクト[®]、テルモ、東京）（5 ml/kg/hr）を静脈点滴した。麻酔管理中・覚醒後に動物に問題は認められなかった。

4.2.1.2.2 MR スペクトロスコピーの撮像条件

すべての動物は 3.0T の MRI 装置 (Signa® HDxt GE Healthcare, Tokyo) を用いて撮像した。RF コイルには 8 チャンネルの Knee coil を用いて、動物を伏臥位に保定し、頭部をコイル内に配置した。MRS は通常の MRI 撮像の後で、造影剤を投与する前に行った。MRS 撮像前に 3D T2 cube (TR/TE= 3200/77.74、スライス厚=0.6mm、FOV=15×15cm、マトリクス=256×256、NEX=1) を撮像し、多断面再構成を行った。そうして作成された sagittal、dorsal、transverse の 3 方向の断面を用いて左右の視床に側脳室や頭蓋外領域を避けて 1 つずつ関心領域 (volume of interest : VOI) を設定し、それぞれ撮像した。VOI のサイズは 10×10×10mm を基準とし、各個体において微調整した。MRS の撮像条件は以下の通りである ; Single voxel PRESS (prove point resolved spectroscopy) 法、TR/TE = 2000/35 ms (short TE)、FOV=22 cm×22 cm、マトリクス=512×512、NEX=8 回。本研究では short TE を用いた。

4.2.1.3 スペクトラム解析

MRS 撮像により得られた MRS データを MRS 解析ソフトウェアである LC Model (version6-3-1A, LASystems, 日本) へと移行し、LC Model を用いて代謝産物濃度 (単位 : mmol/L) の解析を行った。測定項目として Lip、Lac、Ala、NAA、Glu、Cr、Cho、および Ins を用いた。また、MRS では磁場強度や環境ノイズなどの影響により信号強度が安定しないため、代謝産物比で評価することも多い。代謝産物比を用いる場合、Cr が最も安定した数値を示すために、Cr で割った値 (Cr 比) を用いることが一般的である。このため Cr との比率も解析に用いた。

4.2.1.4 統計解析

正常犬および正常猫の F 検定にて Lip、Lac、Ala、Glu、Cr では正規分布が見られた (各 p=0.81、p=0.95、p=0.10、p=0.06、p=0.48) が、その他の代謝産物 (NAA、

Cho、Ins) では正規分布が認められなかった (各 $p=0.007$ 、 $p=0.007$ 、 $p<0.001$) ので、ノンパラメトリック検定を行っている。犬および猫における各代謝物ピークの中央値および四分位範囲 (IQR) を算出した。左右視床における 2 群間の有意差検定は Wilcoxon 符号付順位和検定を用いた。また、犬と猫の有意差検定には Mann-Whitney U 検定を行った。すべての統計解析は、統計ソフトウェア (Statcel 4, OMS 出版 東京) にて行い、 $p<0.05$ で有意差ありと判定した。

4.2.2 結果

正常犬および正常猫における中央値および IQR を表 4.1 に示す。また、正常犬および正常猫の代表的な MR スペクトルを図 4.1、4.2 に示した。正常猫は犬と比べ、Glu (実数値 : $p<0.001$ 、Cr 比 : $p=0.02$) と Cr (実数値 : $p<0.01$) は有意に高値を示し、Cho (実数値、Cr 比共に $p<0.001$) は低値を示した。有意差の見られた Glu、Cr、Cho の箱ひげ図を図 4.3 に示した。左右大脳半球の比較を犬 (表 4.2 : 実数値、表 4.4 : 相対値である Cr 比) および猫 (表 4.3 : 実数値、表 4.5 : 相対値である Cr 比) で示した。左右大脳半球の比較において犬の Lac の実数値でのみ有意差が認められた ($p=0.04$) が、その他には有意差は見られなかった。

4.2.3 考察

正常犬における MRS に関してはいくつか報告されている。Ono らは 1.5T (single voxel 法、short TE=15ms) で若齢、成犬、老齢における MRS を検討し、若齢犬は Cho/Cr 比が著しく高く、NAA/Cr は低かった。これは発育時の髄鞘形成に関連していると考察している。この報告では成犬 (3~5 歳) における大脳 (後頭葉) の NAA は 90.17 ± 6.34 、Cr は 60.64 ± 2.94 、Cho は 73.67 ± 3.30 、Lac は 2.54 ± 2.54 (以

上の値は信号強度であり、mmol/L ではない) であり、NAA/Cr は 1.50 ± 0.18 、Cho/Cr は 1.21 ± 0.06 、NAA/Cho は 1.23 ± 0.11 、Lac/Cr は 0.05 ± 0.05 であった [Ono 2014]。Carrea らは 3.0T (single voxel 法、short TE=32ms) で成犬のビーグル 10 頭の報告をしており、後頭葉で NAA は 7.28 ± 0.46 、Cho は 1.89 ± 0.11 、Cr は 6.93 ± 0.39 、Glu は 12.37 ± 1.11 、Ins は 8.73 ± 0.50 (mmol/L)、NAA/Cr 比は 1.04 ± 0.04 、Cho/Cr は 0.27 ± 0.10 、Glu/Cr は 1.78 ± 0.10 、Ins/Cr は 1.26 ± 0.06 であった [Carrera 2015]。この報告では、脳葉および左右において代謝産物に相違が認められており、Cr 濃度は基底核や小脳で高く、頭頂葉、後頭葉、視床で低かった。また、Sievert らは 3.0T (single voxel 法、short TE=16ms) で正常なビーグル犬 10 頭をコントロールとして代謝産物の測定をしており、視床で NAA は 7.85 ± 0.35 、Cho は 2.22 ± 0.16 、Cr は 6.20 ± 0.44 、Glu は 11.21 ± 1.01 、Ins は 7.28 ± 0.4 (mmol/L) と報告している [Sievert 2017]。

本研究の正常犬の視床における中央値は、NAA は 9.85、Cr は 6.87、Cho は 2.90、Lip は 1.13、Lac は 0.76、Ala は 0、Glu は 13.39、Ins は 8.84 (mmol/L) であり、3.0T を使用している既報論文と比較的類似している。また、犬の Lac 以外では明らかな左右差は認められず、これは Carrera らの報告と矛盾する。本研究の測定部位は視床のみであり、他の脳葉は検討していないために有意差がでなかった可能性もあるが、ヒトにおいても左右差がないという報告もある [Tedeschi 1995]。正常猫における MRS の報告は著者の知る限りなかったが、本研究の結果では NAA は 10.08、Cre は 7.60、Cho は 2.44、Lip は 1.94、Lac は 1.17、Ala は 0.28、Glu は 17.18、Ins は 9.46 (mmol/L) であり、犬の結果と比べ、Glu と Cr は有意に高値を示し、Cho は低値を示した。Cho は哺乳動物では加齢と共に低下することが知られているが [Barker 2010]、今回猫の平均年齢は 2 歳、犬は 8 歳と犬の方が高齢であり、年齢とは関連なく、品種の違いによる差異が疑われる。正常犬と正常猫における基準値に有意差が認められたため、腫瘍症例との比較においては犬の症例は犬の基準値と、猫の症例は猫の基準値と比較する必要があると考えられた。

4.3 脳腫瘍症例における検討

4.3.1 材料および方法

4.3.1.1 供試動物

本研究には、日本獣医生命科学大学動物医療センターに 2011 年 6 月～2019 年 9 月の間に神経症状を呈して来院した 40 頭（犬 31 頭、猫 9 頭）を用いた（表 1.1）。全ての症例は一般身体検査、血液検査、神経学的検査、X 線検査を行い、MRI 検査にて頭蓋内に病変を確認している。その後外科手術を行い、病理組織検査にて腫瘍の診断を得ている。本研究に当たっては retrospective な画像解析研究のため、実験動物倫理委員会および動物医療センター倫理委員会の承認は必要とされていない。しかしながら、全ての犬猫患者の飼い主は、動物医療センター初診時に検査データ等を研究に用いることを書面にて承諾している。

4.3.1.2 撮像方法

4.3.1.2.1 麻酔プロトコール

すべての患者で検査の 12 時間前から絶食・絶水とした。橈側皮静脈に 18～24G の留置針を用いて血管確保を行い、プロポフォール（プロポフォール®、日医工、富山）7mg/kg の静脈内投与にて麻酔導入を行い、気管チューブを挿管後、イソフルラン（エスカイン®、マイラン製薬、東京）（2～3%）および酸素（2 l/min）による吸引麻酔で維持管理を行った。麻酔中は人工換気を行い、1 回換気量を 10～20ml/kg、気道内圧 12～16cmH₂O、呼吸数 12 回/min に設定し、管理した。麻酔中は心拍数、動脈血酸素飽和度（SpO₂）のモニタリングを行い、乳酸リンゲル液（ソルラクト®、テルモ、東京）

(5ml/kg/hr) を静脈点滴した。

4.3.1.2.2 MR スペクトロスコピーの撮像条件

すべての動物は 3.0T の MRI 装置 (Signa® HDxt GE Healthcare, Tokyo) を用いて撮像した。RF コイルには 8 チャンネルの Knee coil を用いて、動物を伏臥位に保定し、頭部をコイル内に配置した。MRS は通常の MRI 撮像の後で、造影剤を投与する前に行った。MRS 撮像前に 3D T2 cube (TR/TE= 3200/77.74、スライス厚=0.6mm、FOV=15×15cm、マトリクス=256×256、NEX=1) を撮像し、多断面再構成を行った。そうして作成された sagittal、dorsal、transverse の 3 方向の断面を用いて腫瘍を網羅し、側脳室を避けるように VOI を 1 つ設定 (single voxel 法) した。VOI のサイズは 10×10×10mm を基準とし、3D T2 Cube より再構成した画像を用いて固形腫瘍内で最大のボクセルを配置した。MRS の撮像条件は以下の通りである ; Single voxel PRESS 法、TR/TE=2000/35 (short TE)、スライス厚=10 mm、FOV=22 cm×22 cm、マトリクス=512×512、NEX=8 回。撮像時間延長が可能な症例では、反対側の正常な視床領域においても VOI を設定し、同様の撮像条件で撮像した。

4.3.1.3 MRS データ解析

本章の 4.2.1.3 と同様に、MRS 撮像により得られた MRS データを LC Model を用いて代謝産物濃度の解析を行った。測定項目は Lip、Lac、Ala、NAA、Glu、Cr、Cho、Ins を用いた。代謝産物比 (／Cr) について、ヒトでは腫瘍内の Cr は低値を示すことが報告されており、代謝産物比として腫瘍の Cr を使用することが難しいために腫瘍の反対側の正常脳における MRS の測定を同時に行い、正常側の Cr 濃度を使用することが多い [Tsougos 2012]。本研究でも腫瘍の Cr が低値を示していたが (結果 4.3.2.2 参照)、反対側の正常な脳の MRS 測定を行っていない症例もあった。そのため、

代謝産物比の比較には反対側の正常にみえる脳の Cr 値、あるいは測定のできなかつた症例に関しては正常犬および正常猫の Cr 値を使用し、計算した。また、脳腫瘍のグレイディングには NAA や Cho の単独よりも NAA/Cho 比および Cho/NAA 比が感度および特異度が高いことがヒトにおいて報告されているため [Law 2003、Poptani 1995]、NAA/Cho 比および Cho/NAA 比も計算した。

4.3.1.4 統計解析

Mann-Whitney U 検定を用いて犬髄膜腫(n=6)の各代謝産物を先行研究(4.2)で得られた正常犬の視床(n=22)と統計学的に比較した。組織球性肉腫、神経膠腫、骨肉腫および猫髄膜腫は症例数が少ないため統計解析は行わず、参照値とした。統計解析は、統計ソフトウェア(Statcel 4, OMS 出版 東京)を用いて実施し、 $p < 0.05$ で有意差ありと判定した。

4.3.2 結果

全脳腫瘍症例のうち、MRS を実施した症例を表 4.6 に示す。症例 7、9、11、12、13、15、17、18、20、21、22、23、27、37、38 の計 15 例、犬 13 頭、猫 2 頭だった。雄 8 頭、雌 7 頭、平均年齢は 10 歳 6 ヶ月であった。髄膜腫は 8 例(移行性 4 例、髄膜上皮性 1 例、退形成性 1 例、顆粒細胞性 2 例)、組織球性肉腫 4 例、退形成希突起膠細胞腫 2 例、骨肉腫 1 例であった。

4.3.2.2 腫瘍症例における代謝産物の実数値について

各腫瘍症例における代謝産物実数値の中央値および IQR を表 4.7 に示した。正常犬と比較して、犬髄膜腫は Cr ($p < 0.001$)、NAA ($p < 0.001$) および Ins ($p = 0.01$) が有意に低く、Ala ($p = 0.002$)、Lip ($p = 0.03$) が有意に高値を示した。また、統計学

的解析を行えなかったものの、組織球性肉腫においても Cr、NAA が低く、Ala、Lip、Cho は高値を示し、神経膠腫は NAA が低く、Ala、Cho、Lip、Lac が高値を示した。骨肉腫は NAA、Glu が低く、Ala、Lip、Lac は高値を示し、Cr は検出されなかった。猫髄膜腫は正常猫と比較して、Cr、Cho、NAA、Ins が低く、Ala、Lip が高値を示し、Lac は検出されなかった。各腫瘍の代表的な MR スペクトルを図 4.4 (犬髄膜腫)、図 4.5 (猫髄膜腫)、図 4.6 (組織球性肉腫)、図 4.7 (神経膠腫)、図 4.8 (骨肉腫) に示した。

4.3.2.3 腫瘍症例における代謝産物比について

各腫瘍症例における代謝産物比の中央値および IQR を表 4.8 に示した。正常犬と比較して、犬髄膜腫は NAA/Cr ($p < 0.001$) および Ins/Cr ($p = 0.01$)、NAA/Cho ($p < 0.001$) が有意に低く、Ala/Cr ($p = 0.002$)、Lip/Cr ($p = 0.03$)、Cho/NAA ($p < 0.001$) は有意に高値を示した。また、組織球性肉腫においても NAA/Cr、NAA/Cho が低く、Ala/Cr、Lip/Cr、Cho/NAA は高値を示し、神経膠腫は NAA/Cr、NAA/Cho が低く、Ala/Cr、Lip/Cr、Lac/Cr、Cho/NAA が高値を示した。骨肉腫は NAA/Cr、NAA/Cho が低く、Ala/Cr、Lip/Cr、Lac/Cr が高値を示した。猫髄膜腫は正常猫と比較して、NAA/Cr、Cho/Cr、Ins/Cr、NAA/Cho が低く、Ala/Cr、Lip/Cr、Cho/NAA が高値を示した。

4.3.3 考察

犬における腫瘍の MRS の以前の報告は腫瘍性病変として全ての腫瘍をまとめて NAA は 1.214、Cho は 2.666、Cr は 1.292 (mmol/L)、NAA/Cho は 0.465、NAA/Cr は 0.997、Cho/Cr は 2.106、このうち髄膜腫 (n=10) の NAA は 1.014、Cho は 2.009、Cr は 1.068 (mmol/L)、NAA/Cho は 0.455、NAA/Cr は 0.924、Cho/Cr は 2.120、神経膠腫 (n=7) の NAA は 1.369、Cho は 2.928、Cr は 1.436 (mmol/L)、NAA/Cho は 0.512、

NAA/Cr は 0.984、Cho/Cr は 2.191 と報告されている [Stadler 2014]。本研究結果はこの報告と比較的類似した数値となっている。また、他の報告では、腫瘍性疾患の NAA は 2.15 ± 1.52 、Cho は 3.67 ± 1.11 、Cr は 2.93 ± 1.54 、Glu は 6.44 ± 4.42 、Ins は 4.31 ± 3.00 、Lac は 0.51 ± 1.83 、Lip は 12.3 ± 37.12 (mmol/L) と報告されており、炎症性疾患より NAA、Cr、Glu が低下し、Cho は有意に増加していた [Carrera 2016]。この報告では対照群の Cr と比較して、疾患群の Cr 濃度は低く、安定しないことを示しており、本研究でも全ての腫瘍症例において Cr は低値を示した。これはヒトの結果とも一致している [Nagendank 1996、Hazany 2007]。ヒトにおいて Cr はクレアチンキナーゼのない髄膜腫、悪性リンパ腫、転移性腫瘍などでは Cr ピークが欠損することが言われている [Hazany 2007]。また、極度に障害された組織、低酸素状態にある組織や細胞分裂が盛んな腫瘍組織などでも Cr ピークが低下することが報告されている [Nagendank 1996、Matsumura 2005、Isobe 2002、Hattingen 2008]。脳の星状膠細胞は Cr を合成することが可能で、グアニジノ酢酸を Cr 合成の中間体として放出することができるが、星状膠細胞腫以外の腫瘍細胞における Cr 合成は明らかに少なくなる [Dringen 1998]。そのため、星状膠細胞腫以外の腫瘍において Cr 濃度の低下は腫瘍の悪性度の重要な指標であることが示唆されている [Nagendank 1996、Isobe 2002、Hattingen 2008]。本研究の結果では他の腫瘍と比べ、犬と猫の髄膜腫の Cr はより低く、骨肉腫では Cr は検出されなかった。この結果は Cr キナーゼの欠損に由来すると考えられる。

本研究では、全ての腫瘍症例において正常犬や正常猫と比較して NAA が低値を示していた。ヒトの臨床診断において NAA の低下はニューロンの消失（不可逆性）や軸索損傷を反映していると考えられており、脳腫瘍や脳虚血の病態では NAA が低下することが言われている。また、神経膠細胞や髄膜細胞は NAA をほとんど持たないので、神経膠腫や髄膜腫、悪性リンパ腫、転移性腫瘍ではこのピークは消失する。犬において、非感染性髄膜脳炎よりも脳腫瘍の NAA は有意に低下し、髄膜腫では NAA はま

まったく検出されていない [Carrera 2016]。本研究では猫髄膜腫の 1 例において NAA が全く検出されない症例があったが、その他では少なからず検出されている。しかし、猫髄膜腫および犬髄膜腫は正常犬猫と比較して有意に低い NAA を示し、その他の腫瘍よりも低値を示しており、ヒトの結果と類似すると考えられた。また、骨肉腫は最も低値を示していたが、骨肉腫は骨に由来する腫瘍であるため、NAA を持たない可能性が考えられる。

コリン (Cho) のピークは細胞膜の分解・合成の指標とされ、増殖中の腫瘍組織では上昇し、髄膜腫、下垂体腺腫では顕著なピークを示すと言われている。ヒトの腫瘍内 Cho/Cr は高グレード神経膠腫 (4.48 ± 2.09) や転移性腫瘍 (4.23 ± 2.02) よりも低グレード神経膠腫 (2.23 ± 0.512) において有意に低いという報告が多く [Dawoud 2014, Chen 2006, Martinez-Bisbal 2009, Shokry 2012]、これは細胞増殖 [Chen 2006] や細胞死の割合の増加 [McKnight 2007] と相関することも報告されている。Cho/NAA においても高グレード神経膠腫 (7.81 ± 1.72) や転移性腫瘍 (7.49 ± 2.03) よりも低グレード神経膠腫 (1.99 ± 0.86) において有意に低かった [Dawoud 2014, Liu 2012, Server 2010]。つまり Cho/Cr と Cho/NAA は悪性度の増加に伴い増加する [Brandao 2013]。本研究において、組織球性肉腫と神経膠腫で Cho は高く、猫髄膜腫、骨肉腫で低かった。神経膠腫は 2 例とも退形成希突起膠細胞腫であり、高グレードのために Cho の高値が見られたと考えられる。また、組織球性肉腫について、ヒトでの報告は著者の知る限りないが、増殖の盛んな腫瘍のために Cho の高値を示した可能性がある。しかし、ヒトの髄膜腫で知られる Cho の顕著なピークは、本研究における犬猫の髄膜腫では検出されず、特に猫においては非常に低値を示した。猫の髄膜腫は進行が遅いことが報告されており [Troxel 2003]、腫瘍の増殖スピードと関連している可能性が考えられる。

乳酸 (Lac) は高グレード神経膠腫において腫瘍中心部で血管新生が腫瘍増殖に追いつかずに嫌気代謝が行われるため、高値を示すと報告されている [Sutton 1992]。

また、マクロファージは脳浮腫の状態ではエネルギー源として乳酸塩を使用することができ、膜破壊後のマクロファージの活性化の結果として Lac が増加することが言われている [Barker 2010]。本研究では神経膠腫の症例（2例とも退形成性希突起膠細胞腫）において最も Lac が高く、これらの結果と一致した。

脂質 (Lip) はヒトにおいて転移性腫瘍や結核腫などの慢性肉芽腫で高く、特に未分化神経膠腫で高頻度に見られると言われている [Mora 2019]。転移性腫瘍や原発性悪性腫瘍の場合には、細胞膜破壊や壊死が起こるために Lip のピークが検出される [van der Graaf 2010]。低グレード神経膠腫では Lip のピークは検出されないが、高グレード神経膠腫や希突起膠細胞腫では Lip が検出されている [Kosui 2012]。犬においても神経膠腫、リンパ腫、髄膜腫において Lip が検出されている [Carrera 2016]。Lip の存在は必ずしも壊死を表すものではなく、嚢胞の存在に関連していることも報告されている [Brandao 2013]。本研究では全ての腫瘍症例において正常犬および正常猫よりも Lip は高値（10倍以上）を示していた。中でも神経膠腫や組織球性肉腫は数値が高く、細胞膜の破壊や壊死の存在が疑われる。Lac および Lip の存在は高グレードの腫瘍を示唆することが報告されており [Bulik 2013]、Lac と Lip の高値を示した本研究の神経膠腫は、MRS の結果から悪性度が高いことを推測できるのではないかと考えられた。

ヒトの髄膜腫において Ala の存在が多く報告されており [Hazany 2007、Cho 2003、Demir 2006]、Cho の増加、Cr と NAA の低下に加えて Ala の存在が特徴的であるという報告もある [van de Craaf 2010、Demir 2006]。しかし以前の犬の髄膜腫の報告では Ala は検出されていない [Carrera 2016、Stadler 2014]。本研究では全ての脳腫瘍において Ala の高値が認められ、中でも犬および猫の髄膜腫においてより高値を示しており、これはヒトの結果と一致する。また、犬と猫の髄膜腫では Cr と NAA の低値も見られており、これらが Ala ピークと併せて、ヒトと同様に髄膜腫の特徴と言える可能性がある。ただし、ヒトで見られる Cho の増加は比較的ゆっくり増殖する犬

猫の髄膜腫では見られないのかもしれない。

本研究における制限は MRS 撮像を実施できた腫瘍症例数が少ない事である。MRS の測定には約 1.0cm の正方形の VOI を、側脳室を含めた周囲組織を避けて設定する必要があり、腫瘍が小さすぎる場合や、VOI の設置が困難な位置に腫瘍が存在する場合には測定することができず、撮像時間も他のシーケンスよりも長いために症例数の確保が困難であった。犬猫の腫瘍症例とヒトの腫瘍症例が全く同じ結果を示すとは限らないが、本研究ではヒトの結果と類似するものと、異なる結果を示すものが存在した。また、分光法による腫瘍のオーバーラップはヒトにおいても多く報告されており、本研究でも各腫瘍間でオーバーラップは見られている。そのため、MRS の脳腫瘍における有効性を評価するには、今後も症例数を重ね、さらに検討していく必要があると考えられる。

4.4 小括

- 1) 正常犬と正常猫の視床における MRS の比較では Glu (犬<猫)、Cr (犬<猫)、Cho (犬>猫) に有意差がみられた。
- 2) 正常猫では左右の視床の各代謝産物に有意差は見られなかったが、正常犬では Lac にのみ有意な左右差がみられた。
- 3) 犬と猫の髄膜腫において Ala 高値、NAA と Cr の低値がみられ、ヒトの髄膜腫の特徴と一致したが、ヒト髄膜腫と異なり Cho は低値を示した。
- 4) 神経膠腫の症例は悪性（退形成性希突起膠細胞腫）であったが、Cho、Lip および Lac の高値より悪性の特徴を有しており、MRS において神経膠腫の悪性度を推測できる可能性が示唆された。

図および表

表 4.1 正常犬および正常猫の各代謝産物濃度と代謝産物比（犬と猫の比較）

	化学シフト (ppm)	犬 (n=22)		猫 (n=22)	
		実数値(mmol/L)	/Cr	実数値(mmol/L)	/Cr
Lip	0-2	1.13 (0.01-2.07)	0.16 (0.01-0.30)	1.94 (0.24-3.38)	0.24 (0.03-0.52)
p 値		0.42	0.52		
Lac	1.33	0.76 (0.15-1.69)	0.11 (0.02-0.25)	1.17 (0.26-2.07)	0.17 (0.04-0.24)
p 値		0.74	0.94		
Ala	1.48	0 (0-1.28)	0 (0-0.18)	0.28 (0-0.91)	0.04 (0-0.13)
p 値		1.97	1.97		
NAA	2	9.85 (9.20-10.6)	1.42 (1.35-1.46)	10.08 (9.42-10.5)	1.33 (1.23-1.47)
p 値		0.72	0.1		
Glu	2.1	13.39 (11.7-15.4)	1.98 (1.70-2.14)	17.18 (15.4-18.2)	2.17 (2.04-2.47)
p 値		<0.001*	0.019*		
Cr	3	6.87 (6.67-7.16)	1	7.66 (6.88-7.92)	1
p 値		0.009*			
Cho	3.3	2.90 (2.73-2.98)	0.42(0.39-0.44)	2.44 (2.28-2.67)	0.34(0.30-0.36)
p 値		<0.001*	<0.001*		
Ins	3.5	8.84 (8.58-9.36)	1.28 (1.19-1.35)	9.46 (8.69-10.4)	1.28 (1.17-1.43)
p 値		0.06	0.85		

Lip : 脂質、Lac : 乳酸、Ala : アラニン、NAA : N-アセチル-L アスパラキナーゼ、Glu : グルタミン、Cr :

クレアチン、Cho : コリン、Ins: ミオイノシトール、* : p<0.05

表 4.2 正常犬の左右大脳半球の比較 (実数値 mmol/L)

	Lip		Lac		Ala		NAA		Glu		Cr		Cho		Ins	
	R	L	R	L	R	L	R	L	R	L	R	L	R	L	R	L
中央値	2.09	0.54	0.65	1.47	0	0.4	9.75	10.06	14.18	13.15	6.82	7.08	2.76	2.92	8.74	8.88
(IQR)	(0.09-4.23)	(0-1.15)	(0.06-1.05)	(0.46-2.36)	(0-1.09)	(0-1.17)	(9.23-10.3)	(9.13-10.7)	(12.7-16.2)	(11.4-13.6)	(6.67-7.05)	(6.72-7.30)	(2.73-2.94)	(2.78-3.03)	(8.45-10.1)	(8.63-9.55)
p 値	0.18	0.04*	0.04*	0.5	0.5	0.53	0.37	0.37	0.37	0.37	0.37	0.59	0.37	0.37	0.37	0.37

Lip : 脂質、Lac : 乳酸、Ala : アラニン、NAA : N-アセチル-L-アスパラキナーゼ、Glu : グルタミン、Cr : クレアチン、Cho : コリン、Ins:ミオイノシトール、* : p<0.05

表 4.3 正常猫の左右大脳半球の比較 (実数値 mmol/L)

	Lip		Lac		Ala		NAA		Glu		Cr		Cho		Ins	
	R	L	R	L	R	L	R	L	R	L	R	L	R	L	R	L
中央値	2.22	0.84	0.59	1.28	0	0.34	9.69	10.1	16.33	17.3	7.69	7.36	2.35	2.47	9.79	9.3
(IQR)	(1.29-4.42)	(0.02-2.41)	(0.10-1.86)	(0.49-1.99)	(0-0.86)	(0-1.01)	(9.31-10.3)	(9.72-11.2)	(14.9-19.3)	(15.6-17.7)	(6.89-7.90)	(6.99-8.06)	(2.23-2.72)	(2.37-2.65)	(9.12-10.8)	(7.95-10.0)
p 値	0.18	0.48	0.48	0.58	0.58	0.33	0.33	0.66	0.66	0.76	0.76	0.59	0.59	0.21	0.21	0.21

Lip : 脂質、Lac : 乳酸、Ala : アラニン、NAA : N-アセチル-L-アスパラキナーゼ、Glu : グルタミン、Cr : クレアチン、Cho : コリン、Ins:ミオイノシトール、* : p<0.05

表 4.4 正常犬の左右大脳半球の比較 (Cr 比)

	Lip		Lac		Ala		NAA		Glu		Cho		Ins	
	R	L	R	L	R	L	R	L	R	L	R	L	R	L
中央値	0.3	0.07	0.1	0.21	0	0.06	1.42	1.45	2.04	1.71	0.41	0.42	1.27	1.3
(IQR)	(0.02-0.61)	(0.01-0.15)	(0.07-0.31)	(0-0.15)	(0-0.17)	(1.38-1.42)	(1.30-1.52)	(1.85-2.27)	(1.65-2.05)	(0.39-0.43)	(1.21-1.32)	(1.17-1.39)		
p 値	0.18	0.06	0.75	0.86	0.37	0.86	0.86	0.72						

Lip : 脂質、Lac : 乳酸、Ala : アラニン、NAA : N-アセチル-L アスパラキナーゼ、Glu : グルタミン、Cr : クレアチン、Cho : コリン、Ins: ミオイノシトール、* : p<0.05

表 4.5 正常猫の左右大脳半球の比較 (Cr 比)

	Lip		Lac		Ala		NAA		Glu		Cho		Ins	
	R	L	R	L	R	L	R	L	R	L	R	L	R	L
中央値	0.36	0.1	0.09	0.19	0	0.05	1.33	1.33	2.25	2.16	0.35	0.34	1.32	1.18
(IQR)	(0.16-0.65)	(0-0.33)	(0.01-0.23)	(0.07-0.23)	(0-0.10)	(0-0.14)	(1.21-1.38)	(1.29-1.52)	(1.90-2.62)	(2.08-2.35)	(0.30-0.35)	(0.30-0.35)	(1.25-1.45)	(1.11-1.36)
p 値	0.18	0.42	0.58	0.66	0.53	0.82	0.11							

Lip : 脂質、Lac : 乳酸、Ala : アラニン、NAA : N-アセチル-L アスパラキナーゼ、Glu : グルタミン、Cr : クレアチン、Cho : コリン、Ins: ミオイノシトール、* : p<0.05

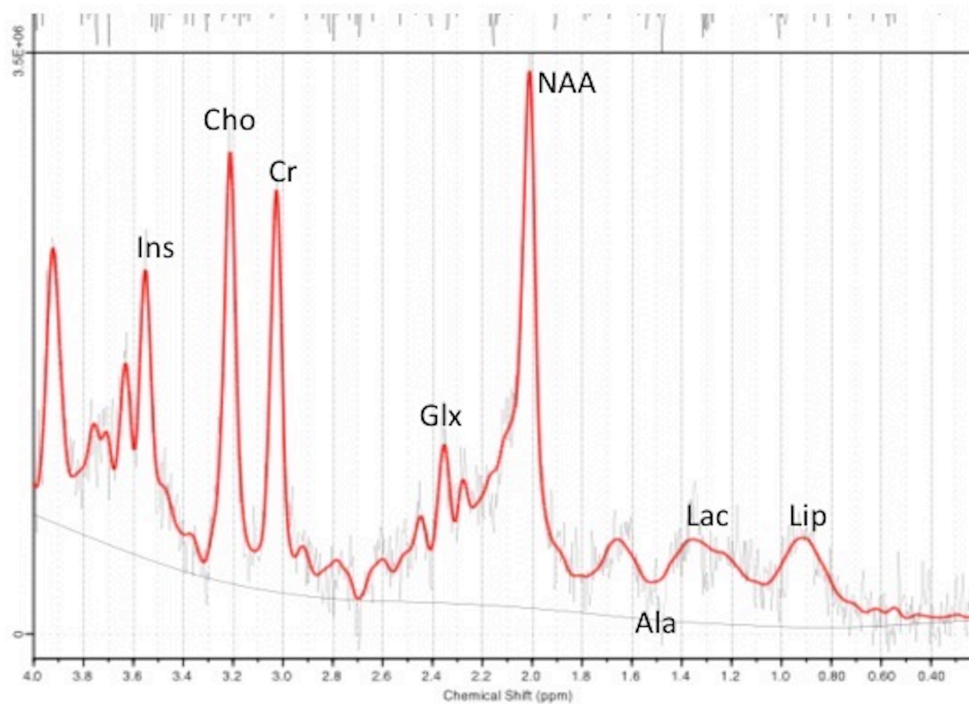


図 4.1 正常犬のMR スペクトル

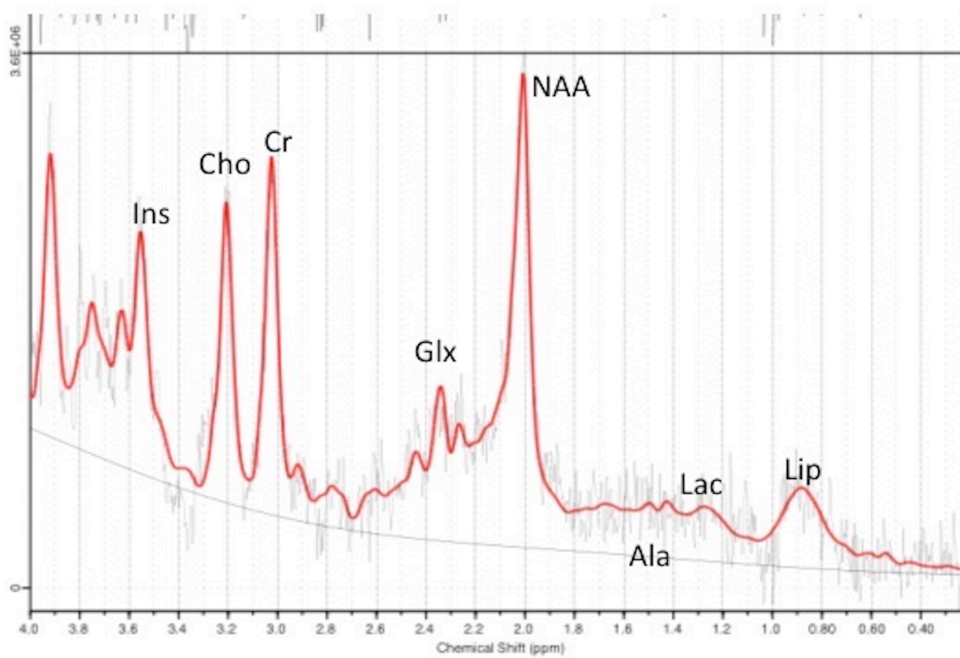


図 4.2 正常猫のMR スペクトル

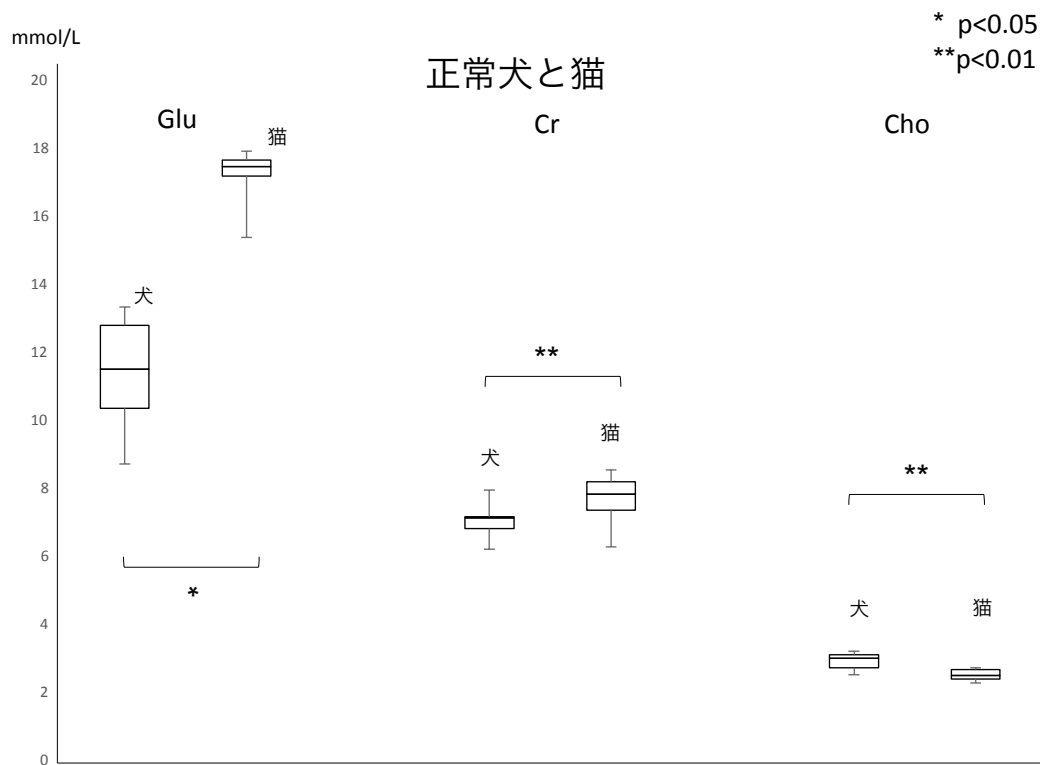


図 4.3 正常犬と正常猫の箱ひげ図

正常犬に比べて、猫では Glu ($p=0.02$) と Cr ($p<0.01$) が有意に高く、Cho ($p<0.001$) は有意に低値を示した。

表 4.6 : MRS を実施した脳腫瘍症例の品種、年齢、性、腫瘍種類

症例	犬種	初診時年齢	性別	病理組織診断
7	雑種犬	10 歳 4 ヶ月	♀	退形成性髄膜腫
9	フレンチ・ブルドッグ	9 歳 8 ヶ月	♂	組織球性肉腫
11	フレンチ・ブルドッグ	9 歳 2 ヶ月	♂cast	退形成性希突起膠細胞腫
12	柴犬	8 歳 7 ヶ月	♂cast	髄膜上皮性髄膜腫
13	チワワ	12 歳 9 ヶ月	♀	頭蓋骨骨肉腫
15	ラブラドル・レトリバー	6 歳 11 ヶ月	♂cast	組織球性肉腫
17	キャバリア・K・C・スパニエル	7 歳	♀	組織球性肉腫
18	マルチーズ	9 歳 3 ヶ月	♀spay	顆粒細胞性髄膜腫
20	ミニチュア・ダックス	13 歳 7 ヶ月	♂	移行性髄膜腫
21	シェットランド・シープドッグ	13 歳 1 ヶ月	♀	移行性髄膜腫
22	シー・ズー	11 歳 7 ヶ月	♂	顆粒細胞性髄膜腫
23	ノーフォーク・テリア	10 歳 11 ヶ月	♂cast	組織球性肉腫
27	フレンチ・ブルドッグ	7 歳 5 ヶ月	♂cast	退形成性希突起膠細胞腫
症例	猫種	初診時年齢	性別	病理組織診断
37	雑種猫	16 歳	♀spay	移行性髄膜腫
38	雑種猫	12 歳 1 ヶ月	♀	移行性髄膜腫

表 4.7 正常動物および各種瘍症例における代謝産物の実数値 (mmol/L) の中央値および四分位範囲 (IQR)

代謝産物	n 数	Lip	Lac	Ala	NAA	Glu	Cr	Cho	Ins
正常犬	中央値	1.13	0.76	0	9.85	13.39	6.87	2.9	8.84
	(IQR)	(0.01-2.07)	(0.15-1.69)	(0-1.28)	(9.20-10.6)	(11.7-15.4)	(6.67-7.16)	(2.73-2.98)	(8.58-9.36)
正常猫	中央値	1.94	1.17	0.28	10.08	17.18	7.66	2.44	9.46
	(IQR)	(0.24-3.38)	(0.26-2.07)	(0-0.91)	(9.42-10.5)	(15.4-18.2)	(6.88-7.92)	(2.88-2.67)	(8.69-10.4)
犬髄膜腫	中央値	25.65	1.74	8.7	3.1	19.53	1.5	2.99	3.11
	(IQR)	(5.47-47.1)	(0.15-7.58)	(4.78-10.4)	(2.15-3.96)	(9.71-20.7)	(0.49-2.43)	(2.00-3.22)	(1.92-4.36)
	p 値	0.029*	0.43	0.0017*	0.0002*	0.218	0.0002*	0.695	0.014*
猫髄膜腫	中央値	24.44	0	5.98	0.75	14.43	1.85	1.13	5.07
	(IQR)	(22.6-26.3)	(3.19-8.77)	(0.37-1.12)	(7.22-21.7)	(1.29-4.34)	(0.82-1.43)	(3.26-6.88)	
繊維球性肉腫	中央値	48.56	0	2.38	4.2	14.22	3.35	5.42	5.67
	(IQR)	(40.4-50.8)	(0-0.61)	(1.18-3.67)	(3.70-4.91)	(10.8-17.1)	(2.51-4.34)	(3.76-7.35)	(3.90-8.06)
神経膠腫	中央値	43.91	17.86	2.98	1.31	10.56	5	5.86	6.41
	(IQR)	(22.1-65.7)	(13.9-21.8)	(1.49-4.47)	(1.13-1.51)	(8.09-13.0)	(3.99-6.02)	(5.19-6.52)	(5.60-7.22)
骨肉腫	中央値	130.6	6.218	4.014	0.549	0	0	0.874	0

Lip : 脂質、Lac : 乳酸、Ala : アラニン、NAA : N-アセチル-L アスパラキナーゼ、Glu : グルタミン、Cr : クレアチン、Cho : コリン、Ins : ミオイノシトール、

* : p < 0.05

表 4.8 正常動物および各腫瘍症例における代謝産物の対クレアチン比および NAA/Cho、Cho/NAA の中央値および四分位範囲 (IQR)

代謝産物	n 数	Lip	Lac	Ala	NAA	Glu	Cho	Ins	Cho/NAA	NAA/Cho
正常犬	22	中央値 (IQR)	0.16 (0.01-0.90)	0 (0-0.18)	1.42 (1.35-1.46)	1.98 (1.70-2.14)	0.42 (0.39-0.44)	1.28 (1.19-1.35)	3.4 (3.12-3.74)	0.29 (0.27-0.32)
正常猫	22	中央値 (IQR)	0.24 (0.03-0.52)	0.04 (0-0.13)	1.33 (1.23-2.47)	2.17 (2.04-2.47)	0.34 (0.30-0.36)	1.28 (1.17-1.43)	4.18 (3.90-4.40)	0.24 (0.21-0.25)
犬髄膜腫	6	中央値 (IQR)	3.69 (0.79-6.77)	1.25 (0.69-1.50)	0.45 (0.31-0.57)	2.81 (1.40-2.98)	0.43 (0.29-0.46)	0.44 (0.28-0.62)	1.09 (0.46-1.50)	1.49 (0.67-3.04)
猫髄膜腫	2	中央値 (IQR)	3.39 (3.09-3.69)	0 (0.43-1.17)	0.1 (0.05-0.15)	1.93 (0.97-2.90)	0.15 (0.11-0.19)	0.72 (0.46-0.98)	0.43 (0.21-64)	0.58 (0.29-0.87)
組織球性肉腫	4	中央値	6.53	0	0.57	1.93	0.74	0.77	0.92	1.08
神経膠腫	2	中央値 (IQR)	6 (5.13-7.29)	3.44 (0-0.08)	0.4 (0.17-0.53)	2.05 (1.38-2.45)	1.08 (0.48-1.06)	1.06 (0.50-1.16)	0.22 (0.77-1.14)	4.53 (0.94-1.57)
骨肉腫	1	中央値	19.01	0.91	0.08	0	0.13	0	1.59	0.63

Lip: 脂質、Lac: 乳酸、Ala: アラニン、NAA: N-アセチル-L アスパラキナーゼ、Glu: グルタミン、Cr: クレアチン、Cho: コリン、Ins: ミオイノシトール、

* : p < 0.05

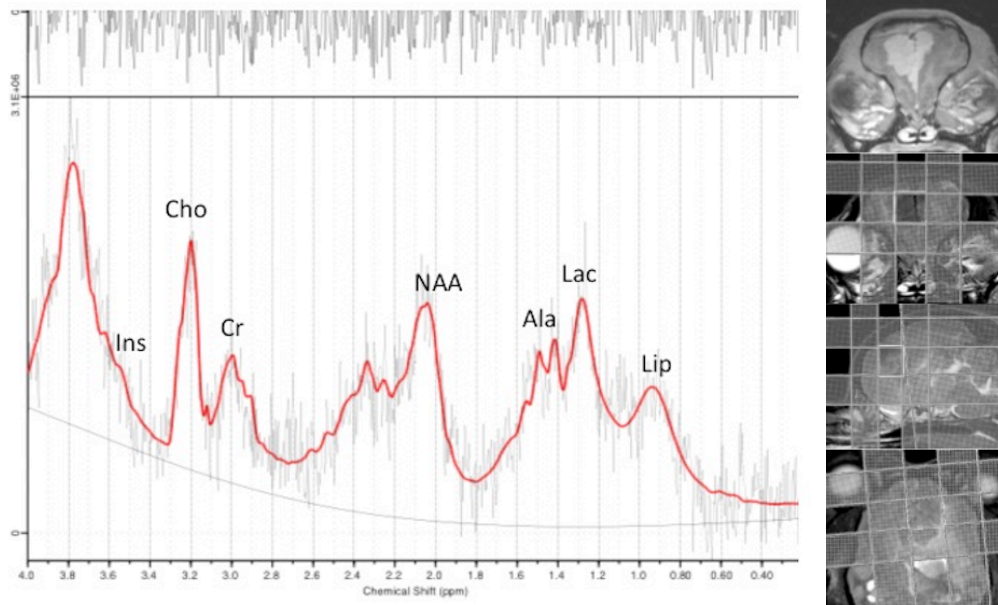


図 4.4 犬の髄膜腫の MR スペクトル

症例 28：顆粒細胞性髄膜腫、シー・ズー、11 歳 7 ヶ月齢、雄。Cr、NAA、Ins の低下と Ala、Lip の上昇を認める。右側の画像は、上から病変部造影 T1 強調横断像および、MRS を測定した VOI 設定位置（T2 強調横断・矢状断・水平断）。

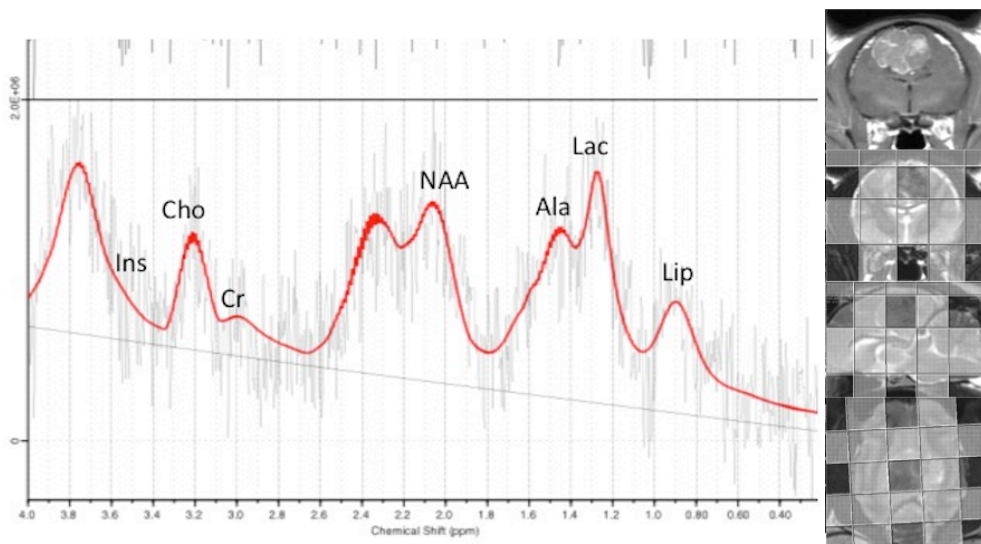


図 4.5 猫の髄膜腫の MR スペクトル

症例 17：移行性髄膜腫、雑種猫、16 歳、不妊雌。Cho、Cr、NAA、Ins の低下、Ala、Lip の上昇を認める。右側の画像は、上から病変部造影 T1 強調横断像および、MRS を測定した VOI 設定位置（T2 強調横断・矢状断・水平断）。

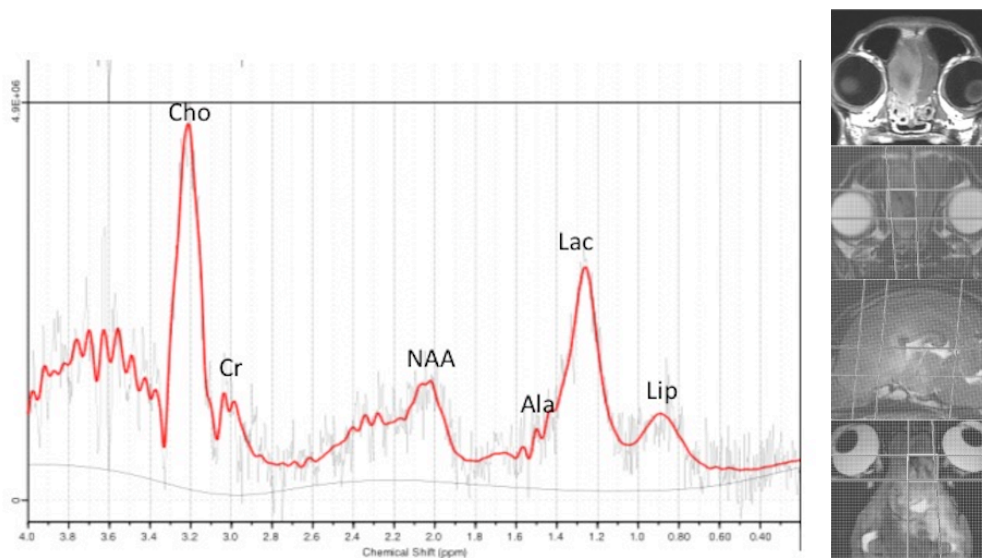


図 4.6 組織球性肉腫の MR スペクトル

症例 30：組織球性肉腫、ノーフォーク・テリア、10 歳 11 ヶ月、去勢雄。Cho、Ala、Lip の上昇、Cr、NAA の低下を認める。右側の画像は、上から病変部造影 T1 強調横断像および、MRS を測定した VOI 設定位置（T2 強調横断・矢状断・水平断）。

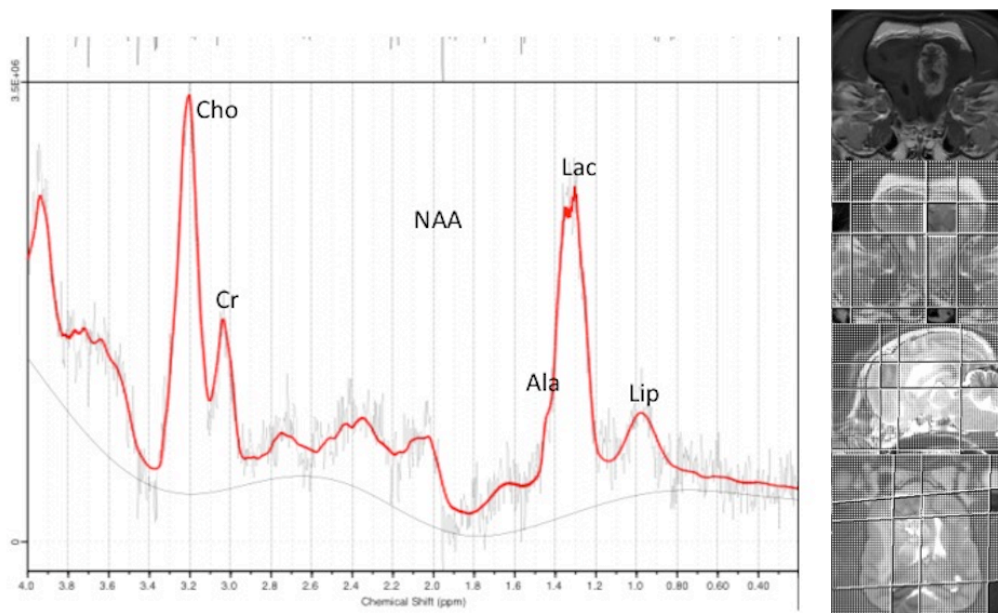


図 4.7 神経膠腫の MR スペクトル

症例 35：退形成希突起膠細胞腫、フレンチ・ブルドッグ、7 歳 5 ヶ月、去勢雄。Cho、Ala、Lac の上昇、Cr、Naa の低下を認める。右側の画像は、上から病変部造影 T1 強調横断像および、MRS を測定した VOI 設定位置（T2 強調横断・矢状断・水平断）。

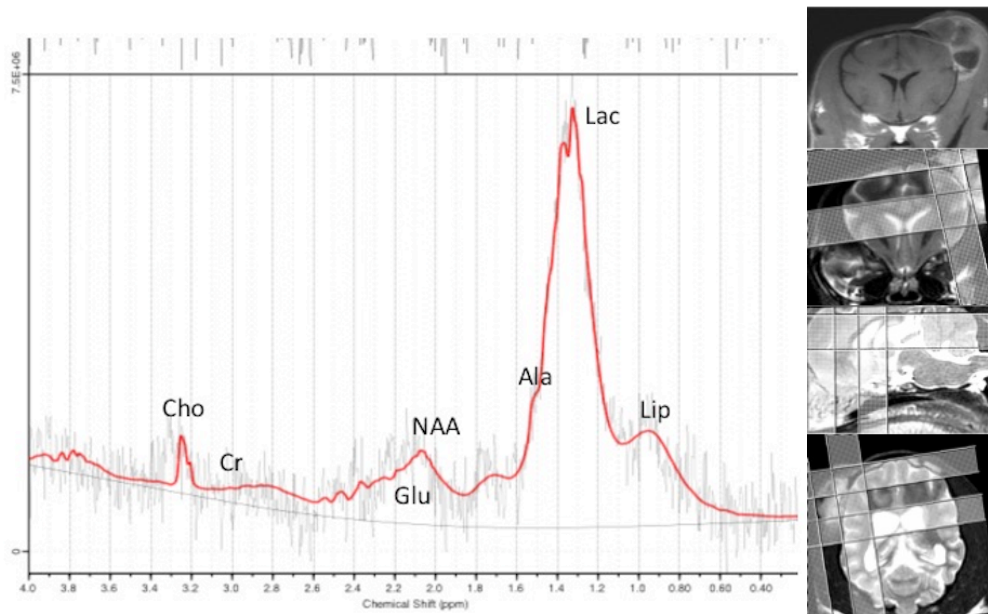


図 4.8 骨肉腫の MR スペクトル

症例 19：骨肉腫、チワワ、12 歳 9 ヶ月、雌。Ala、Lac、Lip の上昇、Cho、NAA、Glu の低下を認め、Cr ピークは認められない。右側の画像は、上から病変部造影 T1 強調横断像および、MRS を測定した VOI 設定位置 (T2 強調横断・矢状断・水平断)。

第 5 章

灌流強調画像の検討

5.1 緒言

現在、人医療において脳循環動態を評価する手段としては positron emission tomography (PET) が最も有用とされているが、装置の普及率と経済面からその臨床的汎用性は低い。そのため single photon emission computed tomography (SPECT) や CT 灌流画像を使用した簡便法が広く行われている。しかし近年、MRI の技術的進歩に伴い、高速撮像により MRI でも灌流強調画像 perfusion-weighted imaging (PWI) (あるいは MR 灌流画像 MR perfusion と呼ばれる) を用いて脳循環動態の評価が可能となった。PWI は放射線被曝がなく、また短時間で施行できるため PET や SPECT よりも患者に対する負担は少ない。また、PWI 以外の MRI 撮像も同時に行う事ができるため、一度の検査で多くの情報を得ることができ、人医療でも広く使用されてきている。Perfusion (灌流) とは、厳密には単位時間に組織の単位容積当たりに供給される血液量のことを示し、灌流画像は毛細血管レベルの血流動態を評価する。PWI の撮像には造影剤を使用する dynamic susceptibility contrast (DSC) 法と造影剤を使用しない arterial spin labeling (ASL 法) がある。人医療において造影剤を用いない ASL 法は造影剤アレルギーのある患者や重篤な腎障害のある患者、血管確保の困難な患者への適用が考えられているが、画像解像度は良いものの、一般に信号雑音比 (SNR) が低く (画質が悪く)、撮像に時間がかかるという欠点がある。そのため、一般的に使用される PWI は造影剤を使った DSC 法であり、この方法では短い撮像時間で高い画質の脳灌流画像を多数のスライスに渡りに同時に撮像することができる。濃いガドリニウム (Gd) 造影剤が存在すると、その周囲の磁場が変化して信号が低下する。この磁場変

化に伴う信号変化を利用して、血液脳関門で造影剤が血管から漏れ出ない脳の血流を評価するのが PWI である。CT 灌流画像ではヨード造影剤の濃度と CT 値の直線性が良いために定量解析には向いているが、PWI では Gd 造影剤の濃度と MR 信号とは直線関係がないため対数で変換する必要がある、定量解析には向いていない。また、定量的に測定をするためには流入動脈も測定しなければならず、通常は定性的評価(相対的評価)が行われることが多い。

PWI で得られるパラメータとしては①(相対的)血液量、②(相対的)血流量、③平均通過時間などがある。①脳血液量 **relative cerebral blood volume (rCBV [ml/100g])** は局所の脳組織に占める血管床における体積を示す指標で、正常の大脳皮質で 4%前後、正常の白質でその半分程度である。②脳血流量 **relative cerebral blood flow (rCBF [ml/100g/min])** は血管床を単位時間に流れる血液量の指標で、局所に供給される酸素やブドウ糖の量はこの血流量に依存する。血流量は局所を通過する血液の速度に依存し、rCBV を MTT で除して計算する ($rCBF=rCBV/MTT$) ③平均通過時間 **mean transit time (MTT [sec])** は脳組織を通過する血液スピードの指標で、同じ血管床(血液量)を持つ場合、通過時間が短い組織の方が血流は多くなる。例えば、同じ大脳皮質でも高血流の領域では MTT が相対的に短く、低血流の領域では MTT が相対的に長い。

ヒトにおける PWI の最も重要な適応疾患は急性期脳梗塞であり、感度と特異性が高いことが報告されている [Lev 1999、Ueda 1999]。拡散強調画像 (DWI) と共に PWI を施行して、**diffusion-perfusion mismatch** (急性期脳梗塞では拡散異常域よりも灌流異常域が広いことが多く、その mismatch 部分) を評価する。DWI 異常域は非可逆的な梗塞に陥る部分 (コア) であるが、PWI 異常域は血流量が低下し、組織の機能障害はあるものの、まだ可逆的な状態で早期再灌流による梗塞を逃れる可能性がある部分 (ペナンプラ) であり、ペナンプラを推定することができる [Henninger 2007、Neumann-Haefelin 1999]。急性脳虚血では MTT が延長し、MTT 延長域は rCBV や

rCBF 異常域よりも広い範囲に存在し [Karonen 2000]、MTT が著名に延長した領域 (4 秒以上) では不可逆的な梗塞に陥るとされている [Thijis 2001、Lin 2003]。さらにヒト医療では放射線治療や化学療法後の腫瘍再発の鑑別にも PWI が使用されている [Kim 2017、Bennett 2017]。

その他の適応として腫瘍性病変が挙げられ、脳腫瘍では、主に神経膠腫における悪性度診断で用いられることが多い。脳腫瘍における PWI 撮像も、一般的には造影剤の急速注入による DSC 法が行われている。脳腫瘍の診断においては rCBV、rCBF、MTT の 3 つの脳血行動態パラメータのうち、最も安定している rCBV が使用されることが多い [Smith 2004、Wong 2009]。DSC 法の評価の一貫性を保つため、注入速度 injection rate (IR) に関する研究が多く行われている [Lev 1997、Heiland 2001]。CT perfusion において造影剤ピーク濃度とピーク到達時間の検討により最適な画像を得るには 4ml/sec の注入速度が必要という報告があり、PWI と併せて検討されている [Ishida 2009]。PWI では、3ml/sec よりも遅い速度で注入すると、rCBF が過小評価されるという報告がある [van Osch 2003]。CT/MRI 灌流強調画像ガイドライン 2006 [CT/MR 灌流画像実践ガイドライン合同策定委員会, 2006] では、CT 灌流画像では造影剤の総量 30-60ml を自動注入器を用いて IR 3-5ml/sec、PWI では造影剤の総量 0.1mmol/kg を IR 5ml/sec で注入し、20ml の生理食塩水 (5ml/sec) で後押しするのが望ましいとされている。そのため、犬猫においても CT perfusion を行う際に 4ml/sec の注入速度で造影剤を注入するために外頸静脈を使用していることが多い [Kawata 2006]。しかしながら、外頸静脈を使用する造影方法は臨床的にルーチンに実施するのが難しく、あまり普及していないのが現状である。しかし、MRI で使用する造影剤の量(0.1~0.2ml/kg)は、CT で使用する量 (1~2ml/kg) よりも少ないため、頸静脈ではなく、橈側皮静脈から注入ができる可能性がある。本研究の目的の 1 つは、橈側皮静脈から注入できる造影剤の速度の検証と、正常な犬と猫の PWI における 1ml/sec と 4ml/sec の造影剤注入速度 (IR) による脳の血行動態変化について比較検討することで

ある。

獣医療における PWI は犬の脳梗塞でも有用性が報告されている [Lu 2013、Kawata 2006]。加えてヒトの水頭症患者で脳室周囲の白質における rCBF の減少が報告されているが [Ziegelitz 2014、Virhammar 2017]、これも犬において同様の結果を示している [Schmidt 2017]。ヒト脳腫瘍において、rCBV が神経膠腫のグレーディングに有効であると言われており、高グレード神経膠腫では血管新生の増加による rCBV の高値が報告されている [Svolos 2013、Sacconi 2006]。しかし、犬猫の脳腫瘍における PWI の報告は著者の知る限りなかった。そのため、本研究の 2 つ目の目的は犬猫の脳腫瘍における PWI の有用性を評価することである。

5.2 正常な犬および猫における造影剤注入速度の検討

5.2.1 材料および方法

5.2.1.1.1 予備実験

最初に健常犬猫各 2 頭において、通常の留置針（犬 22G、猫 24G）にて造影剤注入の速い流速（IR 4ml/sec あるいは 3ml/sec）に耐えられ、画像を得ることができるかを検討した。

5.2.1.1.2 本実験の供試動物

研究には、健常犬 8 頭（6 歳 2 ヶ月～8 歳 6 ヶ月、雄 5 頭、雌 3 頭、体重 9.4kg～11.7kg）、健常猫 6 頭（3 歳 11 ヶ月～4 歳 5 ヶ月、雄 3 頭、雌 3 頭、体重 2.6kg～4.2kg）を用いた。すべての動物において一般身体検査、血液・生化学検査、および神経学的検査は正常であった。本研究は日本獣医生命科学大学の動物実験委員会および生命倫理委員会の承認（承認番号：28K-2, S28K-2, 29K-5, S29K-5）を得て実施した。

5.2.1.2 撮像方法

5.2.1.2.1 麻酔プロトコール

すべての動物は検査の 12 時間前から絶食・絶水とした。橈側皮静脈に 18～24G の留置針を用いて血管確保を行い、プロポフォール（プロポフォール®、日医工、富山）を犬で 7mg/kg、猫で 10mg/kg 静脈内投与にて麻酔導入を行い、気管チューブを挿管後、イソフルラン（エスカイン®、マイラン製薬、東京）（2～3 %）および酸素（2.0 l/min）による吸引麻酔で維持管理を行った。麻酔中は人工換気を行い、1 回換気量を 10～

20ml/kg、気道内圧 12~16cmH₂O、呼吸数 12 回/min に設定し、管理した。また、体温を 36~37 度に維持し、MRI 本体付属のペリフェラルゲーティングワイヤー（光学脈波同期法 E881PD、GE Yokogawa Medical System, Japan）を用いて心拍数のモニタリングを行った。麻酔中は乳酸リンゲル液（ソルラクト®、テルモ、東京）（5 ml/kg/hr）を静脈点滴した。麻酔管理中・覚醒後に動物に問題は認められなかった。IR 1ml/sec と 4ml/sec の各 PWI 撮像は最低 72 時間をおいて別の日に行った。

5.2.1.2.2 灌流強調画像の撮像条件

すべての動物は 3.0T の MRI 装置（Signa® HDxt GE Healthcare, Tokyo）を用いて撮像した。RF コイルには 8 チャンネルの Knee coil を用いて、動物を伏臥位に保定し、頭部をコイル内に配置した。PWI の前に Conventional MRI の撮像を行った。Conventional MRI の撮像条件は以下の通りである；Fast spin echo（FSE）法 T2 強調画像は繰り返し時間（TR）/エコー時間（TE）=7000/81.6ms、FSE 法 T1 強調画像および造影 T1 強調画像は TR/TE/TI=6.8/2.9/920ms、これらのシーケンスはスライス厚=2.0mm、スライス gap=0.5mm、FOV=15 cm×15 cm、マトリクス=128×128 にて横断像を撮像した。PWI 撮像はまず造影剤注入を行わず、Pre PWI シーケンスを試撮し、撮像領域、信号強度およびノイズを確認した。Pre PWI で適切な画像を描出後、同一撮像領域にて PWI 本撮像を実施した。Pre および本撮像の PWI 撮像条件は以下の通りである；Gradient echo-echo planer imaging（GRE-EPI）法、TR/TE=2000/32、スライス厚=3.0mm、FOV=15 cm×15 cm、マトリクス=128×128、NEX=1。Pre 撮像では Total slice of images=20、本撮像では Total slice of images=1000 以外は上記と同一。本撮像の造影剤にはガドジアミド（オムニスキャン®、第一三共、東京）を使用し、注入には定量性を保持するために MRI 対応自動注入器（スペクトリス・ソラリス、バイエル、大阪）を用いた。この自動注入器の最低注入量は 1.3ml であり、通常の MRI 検査で投与する造影剤投与量 0.2ml/kg を投与するには最低でも 6.5kg の体重

が必要だった。全ての猫の個体で、この最低注入量に達しなかったため、猫は体表面積計算（体重 $\text{kg}^{2/3} \times 0.1 = \text{体表面積} [\text{mm}^2]$ ）で造影剤を投与した。PWI 撮像開始 4 秒後から犬で 0.2ml/kg (0.1mmol/kg)、猫で 7.3ml/mm^2 (3.2mmol/mm^2) (50kg のヒトの体表面積当たりの造影剤量で換算) の造影剤を橈側皮静脈より $\text{IR } 1\text{ml/sec}$ あるいは 4ml/sec で投与した後、生理食塩水 12ml を同一の速度で後押し注入した。

5.2.1.3 画像データ解析

PWI 撮像により得られた画像を MRI 装置内蔵の画像解析ソフト (functool, GE healthcare, Tokyo) にて $r\text{CBV}$ 、 $r\text{CBF}$ および MTT のカラーマップを作成した。得られたカラーマップ上に円形の関心領域 (ROI) を左右の大脳白質、扁桃核、視床、大脳皮質、海馬に設置し、各パラメータを計測した。ROI を設置した各断面における T2 強調画像および各パラメータ ($r\text{CBV}$ 、 $r\text{CBF}$ および MTT) のカラーマップを図 5.1 (犬)、5.2 (猫) に示した。ROI の大きさは $8.2 \sim 27.5\text{mm}^2$ の正円形とし、各部位において 5 回ずつ測定した。本研究で使用した MRI 機器では定量的評価を実施できない (定量的評価に必要な動脈流入関数の正確な測定ができない) ため、全てのパラメータ ($r\text{CBV}$ 、 $r\text{CBF}$ 、 MTT) の測定値を大脳白質 (皮質下白質) におけるそれらの値で除し、その数値を統計解析に用いる相対的評価 (定性的評価) 法を用いた [Wu 1999]。

5.2.1.4 統計解析

犬および猫における各部位 (左右の大脳白質、扁桃核、視床、大脳皮質、海馬) の各パラメータ ($r\text{CBV}$ 、 $r\text{CBF}$ 、 MTT) の中央値および IQR を算出した。 $\text{IR } 1\text{ml/sec}$ および 4ml/sec 群の全てのパラメータにおいて、左右大脳 ROI の 2 群間検討を行った。全ての犬 ($n=8$) および猫 ($n=6$) の $\text{IR } 1\text{ml/sec}$ と 4ml/sec 群で測定を行った全領域において左右に有意差が認められなかったため、犬で 16 大脳半球 ($n=8 \times 2$)、猫で 12 大脳半球 ($n=6 \times 2$) として解析を行った。全領域のパラメータにおいて、犬の IR

1ml/sec 群と 4ml/sec 群、猫の 1ml/sec 群と 4ml/sec 群で 2 群間の比較検定を行った。これら全ての 2 群間の有意差検定は Wilcoxon 符号付順位和検定を用いた。すべての統計解析は、統計ソフトウェア (Statcel 4, OMS 出版 東京) を用いて実施し、 $p < 0.05$ で有意差ありと判定した。

5.2.2 結果

5.2.2.1 予備実験結果

犬の橈側皮静脈に留置針 22G、猫では留置針 24G を設置 (各 2 頭ずつ) し、IR 4ml/sec の流速でも留置が耐えられ、画像を得られることを確認したため、本研究では IR 1ml/sec と 4ml/sec の比較を行うこととした。

5.2.2.2. 犬における IR 1ml/sec および 4ml/sec の相対的評価

IR 1ml/sec および 4ml/sec の条件下の各灌流パラメータにおける大脳白質で除した相対的数値 (各領域 rCBV/大脳白質 rCBV の中央値および IQR、各領域 rCBF/大脳白質 rCBF の中央値および IQR、各領域 MTT/大脳白質 MTT の中央値および IQR) を表 5.1 に示した。いずれの IR 群の全ての領域においても左右差は認められなかった。

IR 1ml/sec および 4ml/sec の比較を行った各パラメータの中央値および IQR を表 5.3 に示した。IR 4ml/sec における海馬の rCBV (3.55) および rCBF (3.60) は 1ml/sec における海馬の rCBV (2.55) および rCBF (2.47) と比較して有意に増加していた (それぞれ $p=0.049$ 、 $p=0.01$)。また、IR 4ml/sec における視床の rCBV (0.99) および大脳皮質の MTT (0.89) は、1ml/sec における視床の rCBV (1.02) および大脳皮質の MTT (0.97) より有意に低下していた (それぞれ $P=0.03$ 、 $p=0.049$)。その他の領域において有意差は認められなかった。

5.2.2.3 猫における IR 1ml/sec および 4ml/sec の相対的評価

IR 1ml/sec および 4ml/sec の条件下の各灌流パラメータにおける大脳白質で除した相対的数値を表 5.2 に示した。いずれの IR 群の全ての領域においても左右差は認められなかった。

IR 1ml/sec および 4ml/sec の比較を行った各パラメータの中央値および IQR を表 5.4 に示した。IR 4ml/sec における扁桃核の rCBF (1.58)、視床の rCBV (1.22) および大脳皮質の rCBV (1.17) は、1ml/sec における扁桃核の rCBF (1.32)、視床の rCBV (1.01) および大脳皮質の rCBV (1.00) と比較して有意に高値であった(それぞれ $p=0.049$ 、 $p=0.02$ 、 $p=0.04$)。その他の領域において有意差は認められなかった。

5.2.3 考察

5.2.3.1 正常犬および猫における左右差

本研究では犬および猫の同一動物種で IR 1ml/sec と 4ml/sec の条件を用いた際に、それぞれ左右各脳領域の測定値に有意差は認められなかった。ヒトの腫瘍性疾患や血管性病変の評価における脳灌流の相対的評価を行う際には、同側の白質は障害による異常値を示すことがあるために、病変部位と反対側の NAWM で除した値を使用するのが一般的である [Svolos 2013a]。本研究における結果は、獣医療においてもヒトと同様の評価法を使用できることが示唆された。また、ヒトにおいて、正常脳では MTT は全脳を通じてほぼ均一という特徴がある [山田 2008]。rCBF と rCBV は比例関係が成り立っており、皮質領域では rCBF と rCBV が高く、白質では rCBF と rCBV が低い傾向にあることが言われているが [山田 2008、宮地 2003]、本研究結果より犬および猫においても同様の傾向があることが示された。

5.2.3.2 正常犬における IR の比較

犬における IR 1ml/sec と比較して 4ml/sec の海馬における rCBV と rCBF に有意な増加が認められた。猫においても有意差はないが、4ml/sec の海馬における rCBV と rCBF は 1ml/sec の値よりも高値を示していた。海馬は虚血に対して脆弱であることが言われており [黒岩 2006]、他の脳組織に比べて海馬の血流が豊富であることが関連していると考えられた。また、視床の rCBV および大脳皮質の MTT は IR 1ml/sec と比較して 4ml/sec で有意な減少が認められた。rCBF や rCBV は、低流速の IR に比べて高流速では造影剤が組織に到着後急激に立ち上がるピーク時間の誤差により過小評価される可能性があることが報告されており [Smith 2004、Wong 2009]、その影響も考えられる。しかしその場合にはその他の部位にも影響が出る可能性が高い。視床の rCBV は大脳白質に対する視床の比率を評価しているため、低流速の IR と比較して高流速の場合には視床に対する大脳白質の灌流が増加した可能性も考えられる。また、MTT は組織虚血では非常に長くなることが報告されており [Wong 2016]、MTT が短くなるということはその部位の灌流増加を現している。犬において、有意差は出ていないが、視床以外の部位では 1ml/sec と比較して全体的に 4ml/sec の方が MTT は低く、一般的には大脳皮質の方が白質よりも血管床が豊富で高灌流であることと関連している可能性がある。

5.2.3.3 正常猫における IR の比較

猫においては、IR 1ml/s と比較して 4ml/s の扁桃核の rCBF、視床と大脳皮質の rCBV で有意な上昇が認められた。本研究において猫の rCBF と rCBV は犬に比べて全体的に低値を示している。猫の脳血管は非常に細いために、脳灌流を捉えにくい可能性がある。ヒトにおいて PWI 撮像時の IR の違いによって、病変が過小評価されてしまうということが報告されており [Ishida 2009]、低流速の IR よりも 5ml/sec の高

流速の IR が推奨されている。猫では少ない脳灌流を IR を速くすることで補い、病変の過小評価を防ぐことが可能となるのではないかと考えられた。

最後に、本研究では橈側皮静脈を使用して、犬で 22G、猫で 24G の留置針を用いて 4ml/sec の注入速度による撮像が可能であった。これは獣医療において MRI を撮像する際に一般的に留置を確保する橈側皮静脈を用いても十分検査できることを示唆している。

5.3 脳腫瘍症例における検討

5.3.1 材料および方法

5.3.1.1 供試動物

本研究には、日本獣医生命科学大学動物医療センターに 2011 年 6 月～2019 年 9 月の間に神経症状を呈して来院した 40 頭（犬 31 頭、猫 9 頭）を用いた（表 1.1）。全ての症例は一般身体検査、血液検査、神経学的検査、X 線検査を行い、MRI 検査にて頭蓋内に病変を確認している。その後外科手術を行い、病理組織検査にて腫瘍の診断を得ている。本研究に当たっては retrospective な画像解析研究のため、実験動物倫理委員会および動物医療センター倫理委員会の承認は必要とされていない。しかしながら、全ての犬猫患者の飼い主は、動物医療センター初診時に検査データ等を研究に用いることを書面にて承諾している。

5.3.1.2 撮像方法

5.3.1.2.1 麻酔プロトコール

すべての患者で検査の 12 時間前から絶食・絶水とした。橈側皮静脈に 18～24G の留置針を用いて血管確保を行い、プロポフォール（プロポフォール®、日医工、富山）7mg/kg の静脈内投与にて麻酔導入を行い、気管チューブを挿管後、イソフルラン（エスカイン®、マイラン製薬、東京）（2～3%）および酸素（2 l/min）による吸引麻酔で維持管理を行った。麻酔中は人工換気を行い、1 回換気量を 10～20ml/kg、気道内圧 12～16cmH₂O、呼吸数 12 回/min に設定し、管理した。麻酔中は心拍数、動脈血酸素飽和度（SpO₂）のモニタリングを行い、乳酸リンゲル液（ソルラクト®、テルモ、東京）

(5ml/kg/hr) を静脈点滴した。

5.3.1.2.2 PWI の撮像条件

すべての動物は 3.0T の MRI 装置 (Signa® HDxt GE Healthcare, Tokyo) を用いて撮像した。RF コイルには 8 チャンネルの Knee coil を用いて、動物を伏臥位に保定し、頭部をコイル内に配置した。PWI の前に Conventional MRI の撮像を行った。Conventional MRI の撮像条件は以下の通りである ; Fast spin echo (FSE) 法 T2 強調画像は繰り返し時間 (TR) /エコー時間 (TE) =7000/81.6ms、FSE 法 T1 強調画像および造影 T1 強調画像は TR/TE/TI=6.8/2.9/920ms、これらのシーケンスはスライス厚=2.0mm、スライス gap=0.5mm、FOV=15 cm×15 cm、マトリクス=128×128 にて横断像を撮像した。PWI 撮像はまず造影剤注入を行わず、Pre PWI シーケンスを試撮し、撮像領域、信号強度およびノイズを確認した。Pre PWI で適切な画像を描出後、同一撮像領域にて PWI 本撮像を実施した。Pre および本撮像の PWI 撮像条件は以下の通りである ; Gradient echo-echo planer imaging (GRE-EPI)法、TR/TE=2000/32、スライス厚=3.0mm、FOV=15 cm×15 cm、マトリクス=128×128、NEX=1。Pre 撮像では Total slice of images=20、本撮像では Total slice of images=1000 以外は上記と同一。本撮像の造影剤にはガドジアミド (オムニスキャン®、第一三共、東京) を使用し、注入には定量性を保持するために MRI 対応自動注入器 (スペクトリス・ソラリス、バイエル、大阪) を用いた。この自動注入器の最低注入量は 1.3ml であり、通常の MRI 検査で投与する造影剤投与量 0.2ml/kg を投与するには最低でも 6.5kg の体重が必要だった。全ての猫の個体で、この最低注入量に達しなかったため、猫は体表面積計算 (体重 kg^{2/3}×0.1=体表面積 [mm²]) で造影剤を投与した。PWI 撮像開始 4 秒後から犬で 0.2ml/kg (0.1mmol/kg)、猫で 7.3ml/mm² (3.2mmol/mm²) (50kg のヒトの体表面積当たりの造影剤量で換算) の造影剤を橈側皮静脈より IR 1ml/sec あるいは

4ml/sec で投与した後、生理食塩水 12ml を同一の速度で後押し注入した。

5.3.1.3 画像データ解析

PWI 撮像により得られた画像を MRI 装置内蔵の画像解析ソフトにて rCBV、rCBF および MTT のカラーマップを作成した。得られたカラーマップに ROI を参照画像として T2 強調画像あるいは造影 T1 強調画像を使用して腫瘍内 (small ROI と large ROI) および腫瘍周囲、NAWM に設置し、各パラメータを計測した (図 5.3)。腫瘍内の測定において、明らかな壊死、嚢胞、出血、石灰化は可能な限り避け、腫瘍周囲は造影剤で増強される腫瘍マージンの外 1 cm 以内の領域に手で配置した。ROI の大きさは 10.6~142.8mm² の正円形とし、各部位において 5 回ずつ測定した。相対的 rCBV 比、rCBF 比、MTT 比は NAWM から得た NAWM-rCBV、NAWM-rCBF、NAWM-MTT で除した値を用い、算出した。

5.3.1.4 統計解析

腫瘍内 (small ROI と large ROI) および腫瘍周囲、反対側の脳白質における各パラメータ (rCBV、rCBF、MTT) の中央値および IQR を算出した。各症例における腫瘍内の small ROI と large ROI の比較には Mann-Whitney U 検定を用いた。すべての統計解析は、統計ソフトウェア (Statcel 4, OMS 出版 東京) を用いて実施し、 $p<0.05$ で有意差ありと判定した。

5.3.2 結果

全脳腫瘍症例のうち、PWI を実施した症例を表 5.5 に示す。症例 20、21、22、23、24、27、31、38、39、40 の計 10 例、犬 7 頭、猫 3 頭だった。雄 7 頭、雌 3 頭、

平均年齢は 11 歳 11 ヶ月であった。髄膜腫は 7 例（移行性 5 例、髄膜上皮性 1 例、顆粒細胞性 1 例）、組織球性肉腫 1 例、神経膠腫 2 例（退形成希突起膠細胞腫 1 例、原始神経外胚葉腫瘍（PNET） 1 例）であった。IR は 1ml/sec が 8 例（症例 26、27、28、29、30、31、32、35）、4ml/sec が 2 例（症例 39、40）であった。

5.3.2.1 腫瘍内の rCBV、rCBF、MTT

各腫瘍における腫瘍内（small ROI と large ROI）の各パラメータの相対的数値（rCBV 比： $rCBV/NAWM-rCBV$ 、rCBF 比： $rCBF/NAWM-rCBF$ 、MTT 比： $MTT/NAWM-MTT$ ）の中央値および IQR あるいは 1 例の場合はその相対値を表 5.6 に示した。腫瘍内の small ROI と large ROI の各パラメータの相対的数値を比較検討し、全ての症例で有意差は認められなかった。

IR 1ml/sec を行った髄膜腫の症例は 6 例あり、small ROI および large ROI の rCBV 比、rCBF 比は 4ml/sec の 1 例よりも低値を示した。また、神経膠腫の症例は各 IR で 1 例ずつであり、1ml/sec の症例の small ROI および large ROI の rCBV 比、rCBF 比は 4ml/sec よりも低値を示した。組織球性肉腫の症例は IR 1ml/sec の 1 例のみであり、small ROI および large ROI の rCBV 比、rCBF 比は 1ml/sec の中で最も低値を示した。MTT 比は全ての腫瘍において大きな差は見られていない。

5.3.2.2 腫瘍周囲の rCBV、rCBF、MTT

各腫瘍における腫瘍周囲の各パラメータの相対的数値（rCBV 比、rCBF 比、MTT 比）の中央値および IQR あるいは 1 例の場合はその相対値を表 5.6 に示した。

IR 1ml/sec を行った 6 例の髄膜腫症例の rCBV 比および rCBF 比は全ての腫瘍の中で最も低値を示した。IR 4ml/sec を行った髄膜腫の症例は 1 例であり、rCBV 比および rCBF 比は全ての症例の中で最も高値を示した。組織球性肉腫の症例（IR 1ml/s の 1 例のみ）の rCBV 比および rCBF 比は 4ml/sec の髄膜腫の症例よりも低値を示し

たが、神経膠腫の症例（IR 1ml/sec、4ml/sec）よりも高値を示した。MTT 比は全ての腫瘍において大きな差は見られていない。

5.3.3 考察

5.3.3.1 腫瘍内の脳灌流

DWI や DTI と同様、PWI においても腫瘍内に設置する ROI の大きさの検討を行った。しかし、PWI においてはどの腫瘍の各症例においても large ROI と small ROI の間に有意差は認められなかった。そのため、参照画像として T2 強調画像や造影 T1 強調画像で明らかな嚢胞や出血、壊死領域を避けて ROI を設置することができれば、PWI 評価においては腫瘍内の ROI の設置はどちらの方法 (small ROI および large ROI) も使用できると考えられた。

PWI は人医療において神経膠腫のグレーディングに有用であるという報告が多く存在する [Lee 2014、Tsougos 2012]。神経膠腫は Conventional MRI で造影されないものが良性で、リング状の造影増強を示すものが悪性の可能性が高いことが言われている [Young 2011]。しかし、造影されない腫瘍のうち 15～45%は悪性であり、この評価法には限界があることも報告されている [Mihara 1995]。そのため、Conventional MRI だけでなく、PWI も併せて評価する必要性が示されており、高グレードの神経膠腫ほど rCBV が増加することが報告されている [Lee 2014]。また、造影増強部位は rCBV が非造影部位よりも有意に高いことも言われている [Di Stefano 2014]。これは神経膠腫の悪性度の指標の一つとして腫瘍血管床の増加があり [Saito 2012]、rCBV は神経膠腫内の細胞密度と微小血管密度の両方に相関することに起因すると報告されている [Sadeghi 2008]。しかし、高グレードの神経膠腫では rCBV が細

胞増殖と相関するが、rCBV と腫瘍細胞密度との相関は確認できないという報告もある [Price 2011]。ヒトにおける腫瘍内の rCBV 比 (IR 5ml/sec) は低グレード神経膠腫で 2.32~3.66、高グレード神経膠腫で 6.33~7.14、転移病変は 4.45 と、高い rCBV 比は高グレードの神経膠腫の可能性が高いことが報告されている [Calli 2006、Svolos 2013a]。本研究の神経膠腫の症例は 2 例とも高グレード神経膠腫に属し、IR 1ml/sec の症例の rCBV 比の small ROI は 1.64、large ROI は 1.83、rCBF 比の small ROI は 1.74、large ROI は 1.83、4ml/sec の rCBV 比の small ROI は 4.13、large ROI は 4.57、rCBF 比の small ROI は 4.56、large ROI は 4.83 であり、IR4ml/sec の症例は 1ml/sec よりも高値を示した。また髄膜腫の症例は全て良性腫瘍に属し、IR 1ml/sec の症例の rCBV 比の small ROI は 2.34、large ROI は 2.11、rCBF 比の small ROI は 1.77、large ROI は 1.94、4ml/sec の rCBV 比の small ROI は 4.13、large ROI は 3.94、rCBF 比の small ROI は 4.25、large ROI は 4.16 であり、IR4ml/sec の症例は 1ml/sec よりも高値を示した。これらの結果から低流速の IR では病変が過小評価される可能性が考えられた。ヒトにおける他の報告では、腫瘍内の rCBV 比は転移病変で 8.92 ± 03.61 、高グレード神経膠腫で 10.95 ± 6.55 、非定型髄膜腫で 8.85 ± 4.40 で、これらの腫瘍間では有意差は見られていない [Svolos 2013b]。本研究における 4ml/sec の髄膜腫と神経膠腫症例の rCBV 比、rCBF 比は同じような値を示しており、ヒトにおける結果と類似する。本研究の組織球性肉腫の症例 (1ml/sec) は全ての症例の中でも最も低値を示したが、組織球性肉腫の症例はヒトにおける PWI の報告がないために判断は難しい。しかし、ヒトにおける結果は 4~5ml/sec の IR を使用しているが、本研究の 4ml/sec の症例はヒトの値よりも全体的に低値を示している。これはヒトの脳と比べ犬猫の脳血管は細いため脳灌流量が PWI では捉えにくい可能性が考えられた。

5.3.3.2 腫瘍周囲の脳灌流

腫瘍周囲の rCBV はヒトにおいて低グレード神経膠腫で 0.96 ± 0.36 、高グレー

ド神経膠腫で 2.67 ± 1.06 、髄膜腫で 0.98 ± 0.33 という報告 [Svolos 2013a] や、別の報告では腫瘍周囲の rCBV は転移病変で 1.23 ± 0.38 、高グレード神経膠腫で 1.81 ± 0.99 、髄膜腫で 1.35 ± 0.31 であり、高グレードの神経膠腫の rCBV 比は高値を示すと言われている [Svolos 2013b]。これは高グレードの神経膠腫は腫瘍自体が非常に血管新生が強く、腫瘍周囲では実質病変にも血液を供給するため、あるいは腫瘍の浸潤により血管供給が増えるためと言われている [Lehmann 2009]。逆に純粋な血管原性浮腫だけが起こる一般的には非浸潤性腫瘍と言われている髄膜腫では、制限された容積内における液体濃度の増加（つまり浮腫）により局所の血液量減少が起こると言われている [Uematsu 2003]。本研究における神経膠腫の症例は 2 例とも高グレードであったが、rCBV 比が 1.06 および 0.93、rCBF 比が 1.1 および 1.25 であり、ヒトの結果よりも非常に低値を示した。また、IR 1ml/sec および 4ml/sec に大きな差はなかった。また、髄膜腫の IR 1ml/sec 症例においては rCBV 比および rCBF 比は 0.73 と非常に低く、4ml/sec の症例は rCBV 比が 2.03、rCBF 比が 2.40 であり、1ml/sec は過小評価される可能性も考えられる。しかし、4ml/sec の髄膜腫周囲は高グレードの神経膠腫周囲よりも高値を示しており、4ml/sec の方が過大評価された可能性も否定できない。また、rCBV と rCBF は前述したように大脳白質よりも大脳皮質で高値が示すことから、髄膜腫は硬膜内髄外より発生するために腫瘍周囲領域は大脳皮質であり、神経膠腫は脳実質内より発生するために腫瘍周囲は白質領域の可能性が高い。そのため髄膜腫の腫瘍周囲の rCBV 比と rCBF 比が高値を示した可能性も考えられる。しかし、これはヒトの脳腫瘍においても同様であり、ヒトの PWI の結果では低グレードの神経膠腫と髄膜腫の腫瘍周囲の rCBV は大きな差はない。本研究では神経膠腫の症例数が少ないために、今後症例数を増やして検討する必要があると思われる。

また、人医療において脳腫瘍の評価には DSC 法で rCBV が、ASL 法では rCBF を用いて評価されることが多く、MTT はもっぱら脳梗塞の評価に使用されている。本研究において脳腫瘍の腫瘍内および腫瘍周囲の MTT は腫瘍の種類や IR の違いによっ

て大きな差は認められず、ヒトと同様脳腫瘍の評価には適切ではないと考えられた。

本研究における制限は脳腫瘍の症例数が非常に少ない事である。他の撮像法と比べると撮像時間が長く、特に 4ml/sec の IR の場合には脳腫瘍の臨床例では注入時に留置から漏れる事象が多く認められ、症例数の確保が困難であった。犬において IR の検討を行った論文では、11kg 以上の正常犬では投与速度 3ml/sec、造影剤量 0.1mol/kg が可能だが、11kg 以下の正常犬では 1.5ml/sec、0.2ml/kg の投与速度と投与量で利用できる灌流画像が得られたことを報告している [Stadler 2017]。本研究でも正常犬においては 1ml/sec の IR で使用できる画像を得ることはできたが、腫瘍症例においてはヒトと同様過小評価される可能性があった。しかし、ヒトにおける CT/MR 灌流画像実践ガイドライン 2006 で 3ml/sec 程度の IR であれば解析はできると記載されており (Heiland 2001)、3ml/sec の IR の脳腫瘍症例の検討も今後は必要と思われる。

今回は DSC 法による脳灌流の評価を行ったが、ASL 法は造影剤注入を必要としないために、アレルギー反応による副作用がなく、人医療において頻用されつつある。また DSC 法との比較においても高い相関を示すことが報告されている [Ma 2017、Bisdas 2009]。本研究の予備実験として少数の犬と猫を用いた ASL 法の撮像を試みたが、犬では PWI を描出できたが、猫ではうまく描出できなかった。そのため今回は DSC 法のみでの検討を行った。造影剤を使用しないで PWI を得ることができれば、造影剤による副作用や注入速度を維持するために太い留置の設置などを考慮することなく撮像することができるようになる。今後は ASL 法の撮像方法も含め研究行う事で、PWI の広い普及につながる可能性があると考えられた。

5.4 小括

1) 正常犬猫の脳における各灌流パラメータに左右差が見られなかったため、脳灌流の定性的評価を行う際には、ヒトと同様 NAWM で除した相対値を使用できると考えられた。

2) 正常犬猫において橈側皮静脈に犬で 22G、猫で 24G の留置針を用いて、IR4ml/sec による撮像が可能であった。

3) 脳腫瘍症例の腫瘍内において rCBV 比と rCBF 比は IR 1ml/sec よりも 4ml/sec で高値を示し、IR が遅いと病変を過小評価する可能性が示唆された。

4) MTT は腫瘍内および腫瘍周囲の両方において脳腫瘍の評価には適切ではないと考えられた。

図および表

表 5.1 犬の両側大脳半球の比較（大脳白質で除した相対値）

部位	IR 1ml/s (n=8)						IR 4ml/s (n=8)					
	rCBV		rCBF		MTT		rCBV		rCBF		MTT	
	R	L	R	L	R	L	R	L	R	L	R	L
扁桃核	中央値 (IQR)	1.42 (1.25-1.68)	1.11 (0.87-1.69)	1.36 (1.09-1.54)	1.32 (0.96-2.27)	1.02 (0.91-1.15)	0.95 (0.86-1.03)	1.36 (1.08-1.87)	1.23 (1.16-2.34)	1.07 (0.90-1.74)	1.00 (0.86-1.07)	0.87 (0.79-1.13)
P 値	0.44		0.78		0.16		0.12		0.09		0.78	
視床	中央値 (IQR)	0.98 (0.91-1.09)	1.06 (0.96-1.12)	1.22 (0.98-1.29)	1.13 (1.05-1.25)	0.84 (0.81-0.95)	0.88 (0.85-0.92)	1.00 (0.92-1.07)	1.18 (0.97-2.28)	0.92 (0.81-1.10)	0.90 (0.86-0.93)	0.87 (0.75-0.97)
P 値	0.48		0.67		1		0.3		0.07		0.89	
大脳皮質	中央値 (IQR)	2.66 (2.44-3.12)	2.40 (1.94-2.94)	2.71 (2.39-3.34)	2.33 (2.08-3.12)	1.02 (0.89-1.06)	0.94 (0.88-0.99)	2.88 (2.43-2.99)	3.16 (2.71-3.54)	2.83 (2.15-3.02)	0.92 (0.88-0.98)	0.87 (0.83-0.90)
P 値	0.07		0.12		0.48		0.26		0.16		0.07	
海馬	中央値 (IQR)	2.30 (2.09-2.71)	2.60 (2.38-2.83)	2.41 (2.30-2.50)	2.59 (2.28-3.00)	0.93 (0.91-1.03)	0.95 (0.92-1.04)	3.69 (3.09-4.66)	4.32 (3.38-5.05)	3.43 (2.41-3.74)	0.93 (0.90-0.96)	0.94 (0.87-1.01)
P 値	0.4		0.4		0.78		0.09		0.09		0.48	

rCBV：相対的脳血液量、rCBF：相対的脳血流量、MTT：平均通過時間、IR：造影剤注入速度、IQR：四分位範囲。*：有意差あり（P<0.05を有意差ありとした）

表 5.2 猫の両側大脳半球の比較（大脳白質で除した相対値）

部位	IR 1ml/s (n=6)						IR 4ml/s (n=6)					
	rCBV		rCBF		MTT		rCBV		rCBF		MTT	
	R	L	R	L	R	L	R	L	R	L	R	L
扁桃核	中央値	1.22	1.59	1.30	1.41	0.92	1.05	1.41	1.51	1.58	1.59	0.96
	(IQR)	(1.07-1.60)	(1.55-1.63)	(1.17-1.38)	(1.18-1.57)	(0.86-0.95)	(0.97-1.13)	(1.24-1.68)	(1.30-2.38)	(1.47-1.66)	(1.45-2.05)	(0.89-1.03)
	P 値	0.35	0.75	0.75	0.25	0.17	0.35	0.46				
視床	中央値	0.99	1.51	1.12	1.12	0.90	0.90	1.15	1.23	1.15	1.21	0.95
	(IQR)	(0.97-1.03)	(1.30-2.38)	(1.10-1.18)	(1.09-1.17)	(0.87-0.95)	(0.84-0.98)	(0.98-1.23)	(0.98-1.28)	(1.12-1.33)	(1.12-1.42)	(0.90-1.03)
	P 値	0.07	0.75	0.75	0.75	0.75	0.75	0.92	0.75	0.92	0.75	0.75
大脳皮質	中央値	0.95	1.00	0.96	1.05	0.93	0.94	1.19	1.17	1.14	1.28	1.04
	(IQR)	(0.75-1.12)	(0.76-1.20)	(0.85-1.11)	(0.93-1.10)	(0.87-1.03)	(0.81-1.10)	(1.54-1.98)	(1.11-1.37)	(0.97-1.32)	(1.12-2.15)	(0.99-1.06)
	P 値	0.75	0.35	0.35	0.75	0.75	0.92	0.92	0.92	0.92	0.17	0.17
海馬	中央値	1.55	1.63	1.49	1.63	1.07	1.06	1.81	2.01	1.67	1.95	1.07
	(IQR)	(1.28-2.03)	(1.54-1.92)	(1.16-1.68)	(1.25-1.86)	(1.02-1.15)	(1.03-1.08)	(1.54-1.98)	(1.94-2.20)	(1.46-1.83)	(1.71-2.15)	(1.03-1.13)
	P 値	0.17	0.07	0.07	0.60	0.60	0.12	0.07	0.12	0.07	0.07	0.92

rCBV：相対的脳血液量、rCBF：相対的脳血流量、MTT：平均通過時間、IR：造影剤注入速度、IQR：四分位範囲。*：有意差あり（P<0.05を有意差ありとした）

表 5.3 犬の流速の比較 (n=16) (大脳白質で除した相対値)

部位		rCBV		rCBF		MTT	
		1ml/s	4ml/s	1ml/s	4ml/s	1ml/s	4ml/s
扁桃核	中央値	1.29	1.15	1.36	1.19	0.96	0.94
	(IQR)	(0.92-1.69)	(0.90-1.83)	(1.02-1.98)	(1.05-1.93)	(0.87-1.12)	(0.79-1.10)
	P 値	0.61		0.76		0.64	
視床	中央値	1.02	0.99	1.16	1.03	0.87	0.90
	(IQR)	(0.92-1.10)	(0.75-1.06)	(1.05-1.28)	(0.84-1.24)	(0.82-0.93)	(0.77-0.95)
	P 値	0.03*		0.12		0.90	
大脳皮質	中央値	2.65	2.72	2.42	2.88	0.97	0.89
	(IQR)	(2.26-2.97)	(2.02-3.02)	(2.29-3.28)	(2.35-3.44)	(0.88-1.04)	(0.84-0.94)
	P 値	0.33		0.35		0.049*	
海馬	中央値	2.55	3.55	2.47	3.60	0.94	0.93
	(IQR)	(2.09-2.83)	(2.48-4.00)	(2.30-2.54)	(2.68-4.56)	(0.92-1.04)	(0.88-0.94)
	P 値	0.049*		0.01*		0.38	

rCBV : 相対的脳血液量、rCBF : 相対的脳血流量、MTT : 平均通過時間、IR : 造影剤投与速度、SD : 標準偏差。* : 有意差あり

表 5.4 猫の流速比較 (n=12) (大脳白質で除した相対値)

部位		rCBV		rCBF		MTT	
		1ml/s	4ml/s	1ml/s	4ml/s	1ml/s	4ml/s
扁桃核	中央値	1.56	1.42	1.32	1.58	1.06	0.96
	(IQR)	(1.09-1.65)	(1.27-1.75)	(1.14-1.52)	(1.44-1.68)	(1.01-1.11)	(0.90-1.08)
	P 値	0.18		0.049*		0.39	
視床	中央値	1.01	1.22	1.12	1.17	0.90	0.96
	(IQR)	(0.96-1.07)	(0.93-1.26)	(1.10-1.19)	(1.08-1.31)	(0.84-0.96)	(0.92-1.04)
	P 値	0.02*		0.75		0.18	
大脳皮質	中央値	1.00	1.17	1.02	1.23	0.93	1.00
	(IQR)	(0.72-1.16)	(1.03-1.37)	(0.88-1.12)	(1.03-1.37)	(0.86-1.06)	(0.94-1.05)
	P 値	0.04*		0.059		0.53	
海馬	中央値	1.60	1.96	1.49	1.77	1.06	1.07
	(IQR)	(1.41-2.04)	(1.76-2.07)	(1.19-1.82)	(1.63-1.97)	(1.01-1.11)	(1.02-1.11)
	P 値	0.14		0.18		0.69	

rCBV : 相対的脳血液量、rCBF : 相対的脳血流量、MTT : 平均通過時間、IR : 造影剤投与速度、SD : 標準偏差。* : 有意差あり

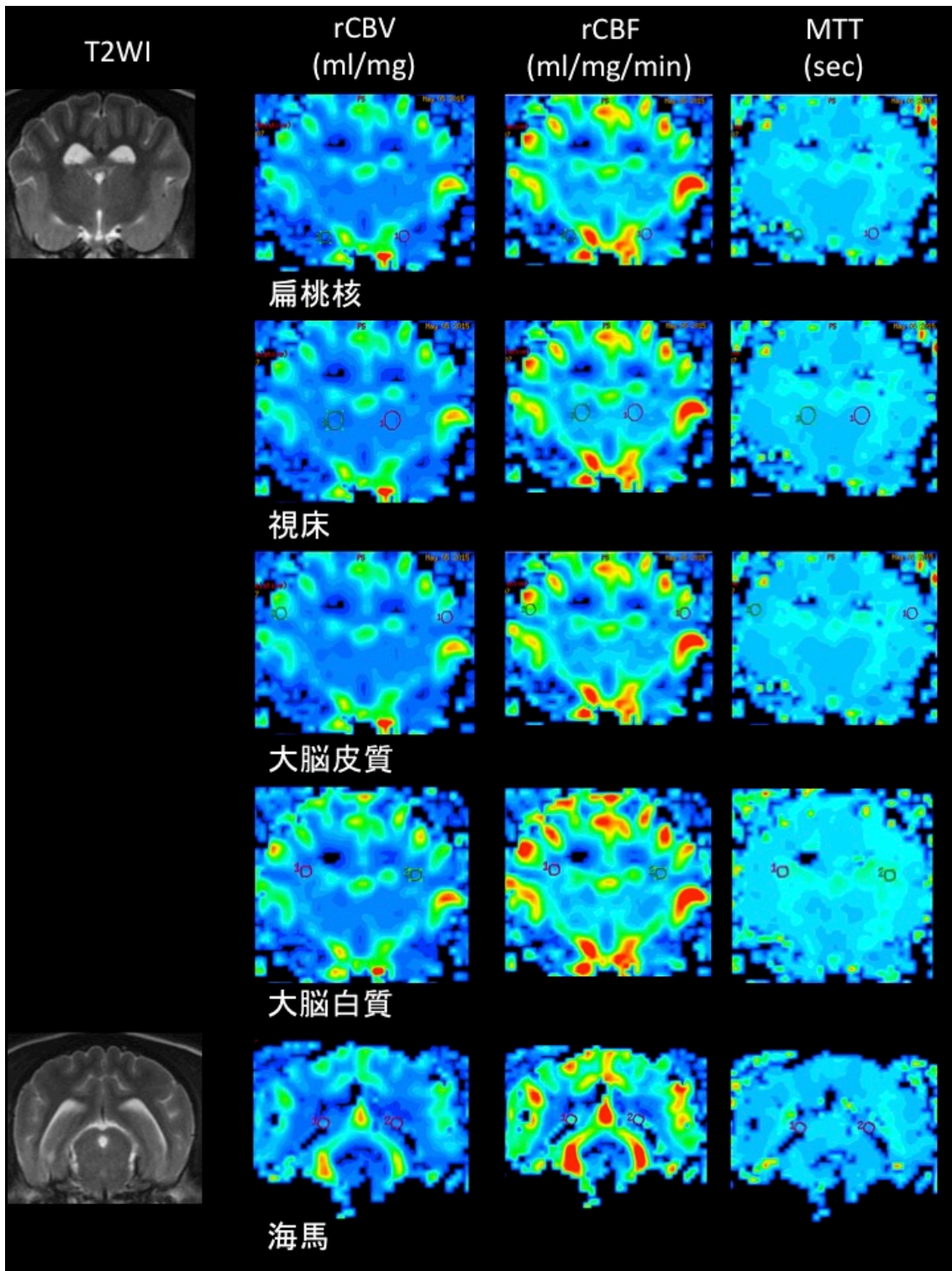


図 5.1 正常犬における灌流パラメータの各測定部位

左から T2 強調画像、rCBV マップ、rCBF マップ、MTT マップ。各測定部位を円形の ROI で示した。各パラメータは ROI の位置や大きさを変えずに測定できる。

rCBV：相対的脳血液量、rCBF：相対的脳血流量、MTT：平均通過時間

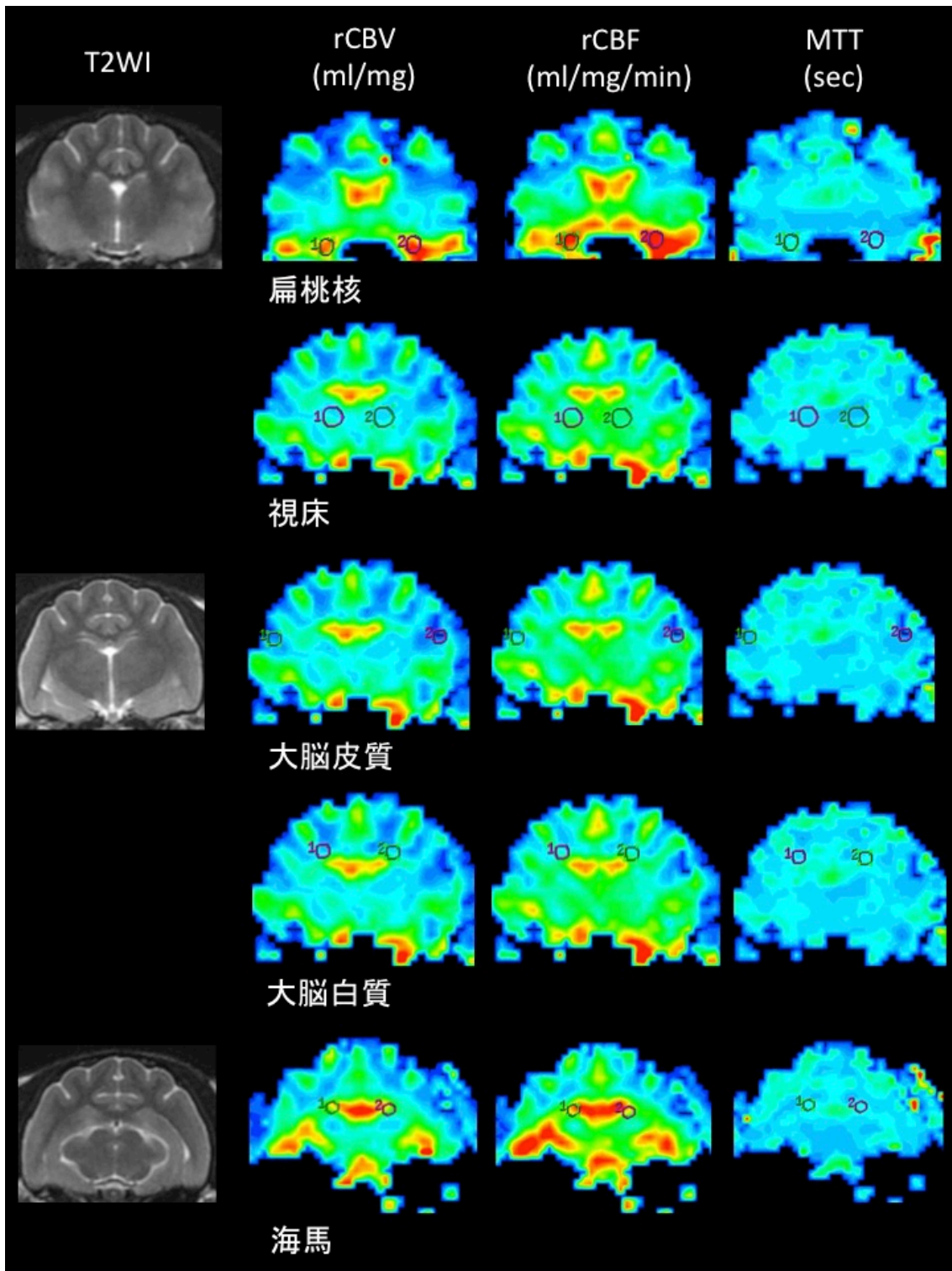


図 5.2 正常猫における灌流パラメータの各測定部位

左から T2 強調画像、rCBV マップ、rCBF マップ、MTT マップ。各測定部位を円形の ROI で示した。各パラメータは ROI の位置や大きさを変えずに測定できる。

rCBV : 相対的脳血液量、rCBF : 相対的脳血流量、MTT : 平均通過時間

表 5.5 PWI 撮像を実施した脳腫瘍症例の犬種、年齢、性別、腫瘍種類

症例	犬種	初診時年齢	性別	病理組織診断
20*	ミニチュア・ダックス	13 歳 7 ヶ月	♂	移行性髄膜腫
21*	シェットランド・シープドッグ	13 歳 1 ヶ月	♀	移行性髄膜腫
22*	シー・ズー	11 歳 7 ヶ月	♂	顆粒細胞性髄膜腫
23*	ノーフォーク・テリア	10 歳 11 ヶ月	♂cast	組織球性肉腫
24*	ウェルシュ・コーギー・ペンブローク	13 歳 2 ヶ月	♂	髄膜上皮性髄膜腫
27*	フレンチ・ブルドッグ	7 歳 5 ヶ月	♂cast	退形成性希突起膠細胞腫
31**	雑種犬	11 歳	♀spay	移行性髄膜腫

症例	猫種	初診時年齢	性別	病理組織診断
38*	雑種猫	12 歳 1 ヶ月	♀	移行性髄膜腫
39*	雑種猫	14 歳 6 ヶ月	♂cast	移行性髄膜腫
40**	雑種猫	12 歳 1 ヶ月	♂	原始神経外胚葉腫瘍 (PNET)

* : 1ml/sec 症例、** : 4ml/sec 症例

表 5.6 脳腫瘍症例の各部位における rCBV、rCBF、MTT (反対側の NAWM で除した相対値) の中央値および四分位範囲 (IQR)

腫瘍	流速	small ROI			large ROI			腫瘍周囲		
		rCBV	rCBF	MTT	rCBV	rCBF	MTT	rCBV	rCBF	MTT
髄膜腫										
n=6	1ml/s	2.34(1.84-3.17)	1.77(1.62-2.43)	1.14(1.06-1.15)	2.11(1.93-2.92)	1.94(1.79-1.98)	1.12(1.10-1.13)	0.73(0.48-0.83)	0.73(0.52-0.95)	1.01(1.00-1.01)
n=1	4ml/s	4.13	4.25	1.38	3.94	4.16	1.34	2.03	2.40	1.19
組織球性肉腫										
n=1	1ml/s	1.25	0.97	1.20	1.40	1.03	1.27	1.63	1.50	1.04
神経膠腫										
n=1	1ml/s	1.64	1.74	0.91	1.83	1.83	0.83	1.06	1.10	0.94
n=1	4ml/s	4.13	4.54	1.08	4.57	4.83	1.12	0.93	1.25	0.88

rCBV : 相対的脳血液量、rCBF : 相対的脳血流量、MTT : 平均通過時間、IR : 造影剤投与速度、SD : 標準偏差。* : 有意差あり (P<0.05) を有意差ありとした

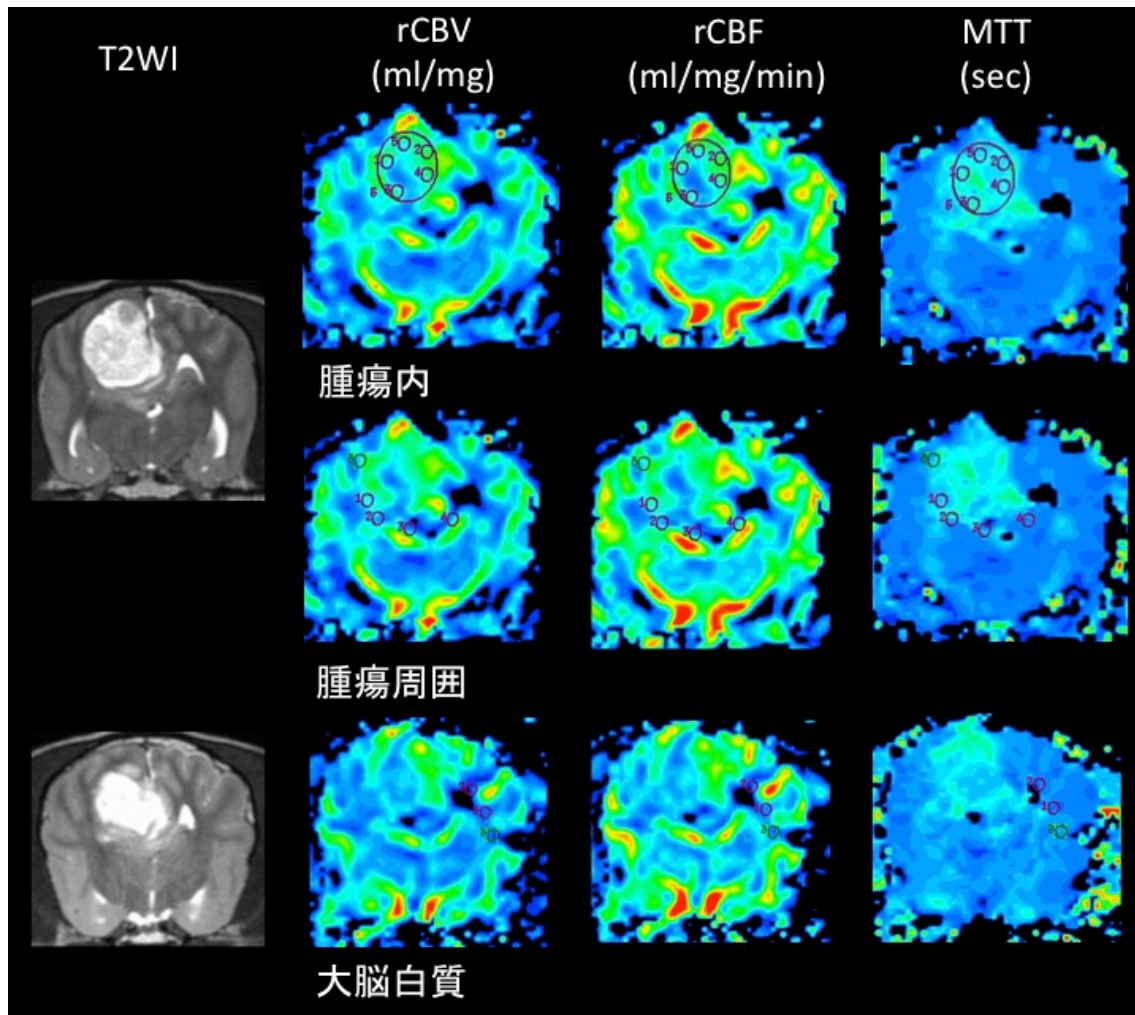


図 5.3 : ROI の設置位置

上段：腫瘍内（small ROI と large ROI）の各パラメータ（rCBV、rCBF、MTT）のカラーマップ、中断：腫瘍周囲のカラーマップと同部位の T2 強調画像、下段：反対側の NAWM のカラーマップと同部位の T2 強調画像

rCBV：相対的脳血液量、rCBF：相対的脳血流量、MTT：平均通過時間

第 6 章

総括

本研究は犬猫の脳腫瘍における非侵襲的診断法として MRI 特殊撮像の有用性を評価することを目的として、拡散強調画像 (DWI)、拡散テンソル画像 (DTI)、MR スペクトロスコピー (MRS) および灌流強調画像 (PWI) の検討を行った。最近小動物臨床において MRI の普及により脳腫瘍の症例が増加しつつあり、その治療に関しても化学療法だけでなく、顕微鏡を用いた外科療法や放射線治療を行う事のできる施設も増えてきている。化学療法や放射線治療を実施するに当たり、腫瘍の種類を特定することができると治療に対する効果の推測や予後判定も可能となる。しかし、現時点では腫瘍の種類の特定には病理組織学的評価が不可欠であり、そのためには外科的治療あるいは外科的な手法を用いた脳生検を先行する必要がある。ただ、費用やリスクの面からそれらが困難な症例または希望しない飼い主が数多く存在するのも事実である。しかし、通常 MRI 検査で行われる Conventional MRI では鑑別しにくい脳腫瘍も存在する。髄膜腫と組織球性肉腫は髄膜より発生し、Conventional MRI では似たような形態を示すことが多いが、この 2 種類の腫瘍は臨床的挙動が異なり、予後も変わってくるために外科手術よりも前にこれらの腫瘍の鑑別をある程度行うことが重要となってくる。また、脳底部に腫瘤が存在するために外科治療が実施できず放射線治療を行う場合には、脳腫瘍と膿瘍の鑑別が必要となる。人医療においては MRI の特殊撮像を Conventional MRI と組み合わせて実施することで診断精度を上げている。著者は犬猫の脳腫瘍症例においても、ヒトと同様 MRI の特殊撮像における脳腫瘍の鑑別が可能であると仮定し、2011 年 6 月～2019 年 9 月までに日本獣医生命科学大学動物医療センターを受診し、MRI 検査および脳外科手術を受けて病理組織学的な確定診断が得られた全 40 例の犬猫の脳腫

瘍患者において、MRI の特殊撮像である DWI (第 2 章)、DTI (第 3 章)、MRS (第 4 章)、および PWI (第 5 章) を用いた比較検討を行い、最後にこれらの撮像法を組み合わせさせた評価を行った。

第 2 章では、小動物臨床においても脳梗塞の診断に汎用されつつある DWI を脳腫瘍 35 例に適用し評価した。DWI の評価には見かけの拡散係数 (ADC) を使用した。それに当たりまず腫瘍と反対側の正常にみえる白質 (NAWM) における ADC 値を犬と猫で比較検討し、犬の ADC 値は猫よりも有意に高値を示した。そのため、犬と猫の腫瘍を比較するために腫瘍の ADC 値を NAWM の ADC 値で除した相対的数値である ADC 比を用いて評価を行った。腫瘍内においては犬髄膜腫と比較して猫髄膜腫と組織球性肉腫は有意に低い ADC 比を示した。ADC 値は腫瘍細胞の充実性と相関することが報告されており、一般的に悪性腫瘍では ADC 値が低下する。また、ADC 値の低下は生存期間の短縮と相関し、また腫瘍の硬さと負の相関を示すことも報告されている。本研究結果において、組織球性肉腫は犬髄膜腫と比較して ADC 比が低く、実際に組織球性肉腫は悪性度が高く、生存期間が短いという臨床像に一致した。一方猫髄膜腫は、同様に犬髄膜腫と比較して低い ADC 比を示し、実際的に猫髄膜腫は硬い腫瘍であるという臨床的事実と一致した。本研究の神経膠腫の ADC 比は以前の犬の報告と、骨肉腫の ADC 比はヒトの骨肉腫の報告と近似していた。しかし、DWI で検討した神経膠腫の症例は全て高グレードの神経膠腫であったが、著者の予想に反して髄膜腫や組織球性肉腫よりも高い ADC 比を示し、ヒトで行われているような神経膠腫の悪性度を ADC で評価することはできなかった。しかし、低グレードの神経膠腫との比較検討も必要と思われた。

腫瘍周囲においては犬髄膜腫、猫髄膜腫、組織球性肉腫の多重比較検定において有意差が認められた。猫の髄膜腫周囲の ADC 比が最も低く、これは腫瘍による周囲の正常な脳組織の強い圧排に起因する可能性がひとつ挙げられる。ヒトにおいては腫瘍周

周囲の ADC 値の低下は周囲への腫瘍細胞の浸潤に関連することが報告されているが、組織球性肉腫や神経膠腫の周囲では犬髄膜腫周囲よりも高値を示した。また、血管原性浮腫では ADC 値が増加し、細胞性浮腫では ADC 値が低下するが、腫瘍周囲の T2 強調高信号領域の ADC 比も組織球性肉腫や神経膠腫の周囲では犬髄膜腫周囲よりも高値を示した。そのため、腫瘍周囲への浸潤を ADC 比で評価するのは困難であった。

ADC 測定時の円形の関心領域 (ROI) の設置方法に関して、腫瘍全体を網羅する大きな ROI (large ROI) と腫瘍内部の壊死や出血、石灰化を避けるように配置する小さな ROI (small ROI) を比較検討した。髄膜腫と骨腫瘍では有意差は見られなかったが、組織球性肉腫と神経膠腫で有意差が見られたため、ADC の測定においては推測している腫瘍の種類によって測定方法を考える必要があることが示唆された。

第 3 章では拡散の方向や神経線維の損傷を評価できる DTI を 35 例の脳腫瘍症例において検討を行った。DTI の評価には異方性比率 (FA) を使用した。DTI においても NAWM における FA 値を犬と猫で比較検討した結果、犬の FA 値は猫よりも有意に低値を示した。そのため、DWI と同様、FA 比を用いて評価を行った。腫瘍内の FA 比は犬髄膜腫に対して猫髄膜腫は有意に高値を示し、組織球性肉腫はやや低値を示したが、有意差は認められなかった。神経膠腫の FA 比は全ての腫瘍のなかで最も低値を示し、骨腫瘍は最も高値を示した。FA 値は神経線維束の損傷や破壊により低下することや、腫瘍の硬さに比例して増加することが報告されている。猫髄膜腫や骨腫瘍は拡散の方向が一定しない、あるいは比較的硬い腫瘍である可能性が考えられた。また、人医療において DTI は神経膠腫のグレーディングに使用されることが多く、FA 値は神経膠細胞の細胞密度に比例して増加すると言われているが、ニューロンや神経線維の破壊により高グレードの神経膠腫の方が低グレードの神経膠腫よりも低い FA 値を示すという報告もある。本研究における神経膠腫の症例は全て高グレード神経膠腫であったため FA 比が低かった可能性が考えられるが、症例数が少ないために判断は難しい。

腫瘍周囲において犬および猫の髄膜腫よりも組織球性肉腫と神経膠腫で FA 比は低値を示した。高グレードの神経膠腫では腫瘍の浸潤や線維トラクトの崩壊が明瞭なため低値を示し、低グレードの場合には腫瘍周囲の線維トラクトが保存されているために高値を示すことが報告されている。組織球性肉腫や神経膠腫は腫瘍周囲への腫瘍浸潤や周囲脳実質の破壊が疑われ、髄膜腫では神経損傷のない圧迫を示唆していると考えられる。中でも猫髄膜腫は最も高い FA 比を示しており、より圧排された神経線維が多く存在するためと考えられた。また、骨腫瘍は最も低い FA 比を示しており、これは骨腫瘍の周囲は脳皮質であり、脳皮質は白質よりも FA 値が低いことに関連している可能性がある。腫瘍周囲の T2 強調高信号領域においては、犬髄膜腫や神経膠腫のそれと比較して組織球性肉腫で低い FA 比を示した。血管原性浮腫のみでは FA 値は低下し、細胞障害性浮腫は FA 値が上昇することが報告されており、ADC 比と同様に組織球性肉腫周囲には血管原性浮腫が起きている可能性が示唆された。

FA 測定における ROI の設置方法に関しても、large ROI と small ROI を比較検討したが、全ての腫瘍において有意差は認められなかった。そのため、FA の測定においては small ROI と large ROI のどちらの方法も有用であることが示唆された。

第 4 章では生体内の代謝産物を非侵襲的に測定することのできる MRS の検討を行った。それに当たり、本研究で使用した MRI 装置における正常動物での基準値を知る必要があったため、まずは正常犬および正常猫の MRS 測定を行い、次に 15 例の脳腫瘍症例の MRS における各代謝物の比較検討を行った。本研究における代謝産物の測定項目は脂質 (Lip)、乳酸 (Lac)、アラニン (Ala)、N-アスパラギン酸 (NAA)、グリシン (Glu)、クレアチン (Cr)、コリン (Cho)、ミオイノシトール (Ins) を用い、実数値 (mmol/l) および正常な生体内では最も安定している Cr で除した代謝産物比として評価した。正常犬と正常猫の代謝産物において Glu、Cr、Cho で有意差がみられたため、腫瘍症例との比較においては犬の症例は犬の基準値と、猫の症例は猫の基準値

と比較検討した。

15 例の脳腫瘍症例では、全ての腫瘍において腫瘍内の Cr は低値を示したため、反対側の正常に見える脳（視床）の Cr 値、あるいは測定のできなかった症例に関しては正常犬および正常猫の Cr 値を使用し、代謝産物比を計算した。Cr はエネルギー代謝に必要なクレアチンキナーゼの存在する神経細胞内に認められるが、髄膜や頭蓋骨には存在せず、また細胞分裂の盛んな腫瘍組織でも低下することが報告されている。そのため Cr は髄膜腫で非常に低く、骨肉腫ではピークが欠損しており、組織球性肉腫や神経膠腫でも低下したと考えられる。また、NAA/Cr も全ての腫瘍において正常よりも低値を示していた。NAA の低下はニューロンの不可逆的な消失や軸索損傷に起因し、神経膠細胞や髄膜細胞は NAA をほとんど持たないことと関連していると思われる。Cho は組織球性肉腫と神経膠腫で高く、猫髄膜腫、骨腫瘍で低かった。Cho のピークは細胞膜の分解・合成の指標とされ、増殖中の腫瘍組織では上昇し、ヒトでは髄膜腫、下垂体腺腫では顕著なピークを示すと言われている。また、高グレード神経膠腫では低グレード神経膠腫よりも高値を示すことが報告されている。MRS で検討した神経膠腫の症例は全て高グレードの神経膠腫であったことと、組織球性肉腫は細胞増殖が盛んなことに関連して高値を示したと考えられる。しかし、人医療において髄膜腫に認められる Cho の顕著なピークは本研究では認められず、特に猫においては非常に低値を示した。これは猫の髄膜腫の増殖スピードが非常に遅いことと関連している可能性がある。その他、Lip と Lac の上昇が人医療では高グレード神経膠腫で認められるが、本研究の神経膠腫においても認められており、MRS は神経膠腫のグレーディングに有用である可能性が示唆された。また、ヒトの髄膜腫において Cho の増加、Cr と NAA の低下に加えて Ala の存在が特徴的であるという報告がある。本研究の髄膜腫の症例は Ala の高値を示しており、Cr と NAA の低下と併せてヒトと同じような特徴を有している可能性がある。

第 5 章では脳の循環動態を評価することで腫瘍血管形成の研究に広く使用され

ている PWI の検討を行った。PWI で得られるパラメータは脳血液量 (rCBV)、脳血流量 (rCBF)、平均通過時間 (MTT) である。MRS と同様、本研究で使用した MRI 装置における各パラメータの犬と猫の基準値を知る必要があった。また、本研究では造影剤を用いて造影剤の磁場変化により脳の血流を評価する DSC 法を使用した。人医療において造影剤の注入速度 (IR) の違いにより病変が過小評価されることが報告されており、IR に関する研究が多く行われている。そのため、まずは正常犬および正常猫において IR 1ml/sec および 4ml/sec の比較検討を行い、次に脳腫瘍患者の PWI における各パラメータの検討を行った。本研究で使用した MRI 装置では定量的評価を実施できないため、全てのパラメータの測定値 (rCBV、rCBF、MTT) を同一個体の大脳白質の値で除し、その数値 (rCBV 比、rCBF 比、MTT 比) を統計解析に用いる相対的評価法を用いた。

正常犬と正常猫の大脳における各部位 (左右の大脳白質、扁桃核、視床、大脳皮質、海馬) の PWI において各パラメータに左右差は認められなかった。また、MTT 比は脳の各部位においてほぼ均一な数値を示し、皮質領域では rCBV 比と rCBF 比が高く、視床では rCBV 比と rCBF 比が低い傾向を示した。これはヒトの正常脳における結果と一致する。正常犬における IR の比較において、IR 1ml/sec と比較して 4ml/sec の海馬における rCBV 比と rCBF 比に有意な上昇が認められた。猫においても有意差はないが、4ml/sec の海馬における rCBV 比と rCBF 比は 1ml/sec の値よりも高値を示していた。海馬は虚血に対して脆弱であることが言われており、他の脳組織に比べて海馬の血流が豊富であることが関連していると考えられた。また、視床の rCBV 比および大脳皮質の MTT 比は IR 1ml/sec と比較して 4ml/sec で有意な減少が認められた。視床の rCBV 比は大脳白質に対する視床の比率を評価しているため、低流速の IR と比較して高流速の場合には視床に対する大脳白質の灌流が増加した可能性が 1 つ挙げられる。また、MTT 比が短くなるということはその部位の灌流の増加を現しており、一般的には大脳皮質の方が白質よりも血管床が豊富で高灌流であることに関連している可能性

がある。正常猫における IR の比較において、IR 1 ml/sec と比較して 4 ml/sec の扁桃核の rCBF 比、視床と大脳皮質の rCBV 比で有意な上昇が認められた。また、本研究において猫の rCBF 比と rCBV 比は犬に比べて全体的に低値を示していた。猫の脳血管は非常に細いために、脳灌流を捉えにくい可能性が示唆される。もしかしたら、猫では少ない脳灌流に対し IR を速くすることで補い、病変の過小評価を防ぐことが可能となるのではないかと考えられた。また、本研究では橈側皮静脈を使用して、犬で 22G、猫で 24G の留置針を用いて 4 ml/sec の注入速度による撮像が可能であった。これは獣医療において MRI を撮像する際に一般的に留置を確保する橈側皮静脈を用いても十分検査できる可能性が示唆された。

10 例の脳腫瘍症例において腫瘍内と腫瘍周囲における各パラメータの比較検討を行った。DWI や DTI と同様、腫瘍内に設置する ROI の大きさ (small ROI および large ROI) の検討を行い、PWI ではどの腫瘍においても各パラメータに有意差は認められなかった。そのため、PWI 評価においては腫瘍内の ROI の設置はどちらの方法 (small ROI および large ROI) も有用であることが示唆された。

脳腫瘍症例のうち IR 1ml/sec を行った髄膜腫症例は 6 例であったが、その他組織球性肉腫、神経膠腫は各 1 例、IR 4ml/sec を行った症例は髄膜腫と神経膠腫各 1 例であった。IR 1ml/sec を行った症例において腫瘍内の rCBV 比と rCBF 比は髄膜腫で最も高く、組織球性肉腫で最も低かった。IR 4ml/sec を行った髄膜腫と神経膠腫の rCBV 比と rCBF 比に大きな差はなかったが、IR 1ml/sec を行った症例よりも両者共に高値を示していた。このことから、ヒトと同様低流速の IR では病変が過小評価される可能性が示唆された。また、本研究の全ての症例において各パラメータの数値はヒトの数値よりも全体的に低値を示していた。これはヒトの脳と比べ犬猫の脳血管は細いために脳灌流量を PWI では捉えにくい可能性が考えられた。人医療において PWI は神経膠腫のグレーディングに有用であると言われているが、本研究で検討を行った神経膠腫は 2 例とも高グレードの神経膠腫であり、低グレードとの比較はできなかった。今後低グ

レード神経膠腫と比較していくことで、より PWI の有用性を評価できるのではないかと考える。

ヒトにおいて高グレード神経膠腫は腫瘍自体の血管新生が非常に強く、腫瘍周囲では実質病変に血液を供給するため、あるいは腫瘍の浸潤により血管供給が増えるために高グレード神経膠腫の腫瘍周囲の rCBV 比は高値を示す。逆に純粋な血管原性浮腫だけが起こる髄膜腫では脳浮腫により周囲の血液量の局所の減少が起こるために rCBV 比は低値を示すと言われている。本研究において IR 1ml/sec を行った中で rCBV 比と rCBF 比は髄膜腫が最も低く、組織球性肉腫で高値を示した。IR 4ml/sec を行った髄膜腫は全ての症例の中で最も高い rCBV 比と rCBF 比を示した。組織球性肉腫はヒトにおける神経膠腫と同様の病態により、高い rCBV 比を示した可能性は考えられるが、IR 4ml/sec の髄膜腫における高値に関してはヒトの病態と矛盾する。しかし、本研究で PWI を検討した症例数が非常に少ないために、この結果のみで評価をすることは困難で、今後症例数を増やして検討していく必要があると考える。また、人医療において MTT 比はもっぱら脳梗塞の評価に使用されている。本研究においても腫瘍内および腫瘍周囲の MTT 比は腫瘍の種類や IR の違いによって大きな差は認められず、ヒトと同様脳腫瘍の評価には適切ではないと考えられた。

最後に、本研究で行った各種特殊撮像の結果および Conventional MRI の特徴を腫瘍内（表 6.1）および腫瘍周囲（表 6.2）に分けて表に示した。人医療においてはこれらの特殊撮像による腫瘍の鑑別やグレード分類が行われているが、これらのうち一つの特撮像だけで評価を行うのは難しく、いくつかの特撮像を組み合わせることで診断精度が上がる事が多く報告されている [Ma 2013、Gaudino 2016、Lin 2017、Cuccarini 2016、Xiao 2015、Sauwen 2016]。本研究で鑑別を行いたかった腫瘍としては Conventional MRI では区別のつきにくい犬の髄膜腫と組織球性肉腫の鑑別、犬髄膜腫と猫髄膜腫の性状の違い（手術時に猫の髄膜腫は塊状で切除できるが、犬は軟らかい

腫瘍も多い)、Conventional MRI でリング状に増強される神経膠腫の鑑別などが挙げられる。これらの腫瘍について各シーケンスを組み合わせで考察していきたい。

犬の髄膜腫と組織球性肉腫はともに Conventional MRI では造影剤で均一に増強され、dural tail sign を伴う硬膜内実質外腫瘍であるが、組織球性肉腫では腫瘍の増殖スピードが速いために腫瘍周囲に広範囲の脳浮腫を伴い、かつ mass effect が強いことが多い。しかし、髄膜腫でも腫瘍周囲の脳浮腫は約半分の症例で認められている。また、著者は組織球性肉腫は軟膜より発生するために脳溝に深く入り込む造影像が特徴的な所見であると考えていたが[Wada 2017]、この像もまた髄膜腫で認められたため、Conventional MRI ではこの 2 つの腫瘍の鑑別は難しいと考える。DWI では腫瘍内の ADC 比は髄膜腫よりも組織球性肉腫で低値を示し、DTI における FA 比も低値を示した。ADC 値は腫瘍細胞の充実性や腫瘍の硬さと負の相関を示すことが言われており、悪性腫瘍ほど低 ADC 値を示す。FA 値は神経線維の損傷や破壊により低下し、腫瘍の硬さに比例して増加することが言われている。そのため、ADC 比と FA 比を組み合わせで考察すると組織球性肉腫は髄膜腫よりも腫瘍細胞の充実性が高く、神経線維の損傷や破壊が強く、かつ柔らかい性状といった、ヒトにおける悪性度の高い腫瘍の特徴が示唆される。また、ADC 値の低下は人医療において生存期間の短縮と相関することも言われており、これも犬の組織球性肉腫の特徴と一致する。さらに、MRS においても高悪性度の腫瘍で認められる Lac と Lip の上昇が組織球性肉腫では認められている。腫瘍周囲においては、髄膜腫よりも組織球性肉腫で ADC 比は高値を示し、FA 比はやや低値を示した。一般的には ADC 値は周囲への腫瘍細胞の浸潤により低下し、血管原性浮腫では増加することが言われている。PWI において組織球性肉腫の腫瘍周囲の rCBV 比と rCBF 比は髄膜腫よりも高値を示し、脳灌流が高い可能性が考えられた。ADC 比と FA 比を組み合わせると、組織球性肉腫は腫瘍の成長スピードが速く、また脳への血管供給を行っている軟膜に発生することから、成長が遅くも膜由来の髄膜腫に比べ血管原性浮腫が強く起こっていると考えられるが、PWI の結果より腫瘍浸潤の可能性も

否定できないと考えられた。

犬髄膜腫と猫髄膜腫においてはDWIにおける腫瘍内のADC比は犬よりも猫で低値を示し、DTIにおけるFA比は高値を示した。ADC比は猫髄膜腫では組織球性肉腫と同様低値であるが、FA比が高いことから、硬い腫瘍である可能性が示唆された。また、MRSにおいて猫髄膜腫ではヒトにおいて特徴的と言われるChoの増加は認められず、むしろ正常猫よりも低値を示した。もしかしたらChoの低下はゆっくり増殖する猫髄膜腫の特徴と言えるのかもしれない。また、腫瘍周囲においてもADC比は犬よりも猫で低値を示し、DTIでFA比は高値を示した。また、猫の正常白質のADC値は犬やヒトの正常白質のADC値よりも低く、猫の脳実質自体が元々硬い可能性も考えられた。これは猫の髄膜腫の手術時に、硬い腫瘍を切除した後に脳がしばらく窪んだままの状態となる（元に戻るのに時間がかかる）ことと関連しているのではないかと考えられた。

神経膠腫はConventional MRIで造影されないものが良性（低グレード）で、リング状の造影増強を示すものが悪性（高グレード）の可能性が高いことが言われているが、造影されない腫瘍のうち15～45%は悪性であり、この評価法には限界がある。また、リング状増強を示す膿瘍、高グレード神経膠腫と転移性病変の鑑別にはADCとFAの組み合わせが各々で評価するよりも特異性80%～100%に改善するという報告がある[Salice 2016]。高グレード神経膠腫は一般的に低ADC値を示すが本研究では高値を示し、ヒトの報告と矛盾した。しかしFA比は全ての腫瘍の中で最も低値を示し、ヒトの報告と一致した。また、MRSではヒトにおいて高グレード神経膠腫は高Choおよび高Lac、高Lipのピークを示し[Cuccarini 2016、Kuesel 1994]、NAAは低下する[Bulik 2013]ことが言われており、これは本研究結果とも一致している。本研究の神経膠腫は全て高グレードであったため、低グレード神経膠腫との比較はできなかったが、PWIも人医療において神経膠腫のグレーディングに有用であることが報告されている[Lee 2014、Tsougos 2012] ために低グレード神経膠腫との比較ができるとよりこれ

らの特殊撮像を組み合わせた診断の有用性を評価できる可能性が示唆された。

本研究で検討を行った脳腫瘍の分類は Armed Forces Institute of Pathology による動物の WHO 分類 [Koestner 1999] を使用しているが、最新の分類では、顆粒細胞性髄膜腫が髄膜腫の分類から外れて顆粒細胞腫として独立しており、また髄膜腫の各組織型もヒト髄膜腫と同様にグレード分類されるようになっている [Motta 2012、Vandeveldel 2012、Higgins 2016、Miller 2019]。本研究では髄膜腫の組織型の検討や神経膠腫のグレーディング分類は行っていないが、今後症例数を増やして検討していくことで、ヒトと同様これらの鑑別も可能となってくる可能性が考えられた。最近では q-space imaging (QSI) や diffusional kurtosis imaging (DKI) のような、新しい拡散 MRI 手法がヒトにおいて実施されている。QSI は正常な加齢性変化におけるミエリンの減少、多発性硬化症の病変検出、変形性脊椎症における脊髄の評価などの報告があり [Fatima 2013、Assaf 2002]、DKI は低グレードと高グレード神経膠腫の鑑別、急性期脳梗塞の病態把握などが報告されている [Raab 2010、Van 2012]。また、本研究で行った MRS は single voxel 法（任意に設定した 1 つの VOI の信号のみを収集する方法）であるが、multi voxel 法という広く設定した VOI を細かく区切り、それぞれの voxel のスペクトルをまとめて収集する方法がある。これは巨大な腫瘍の内部で代謝産物の分布がどのように変化しているかを知ることができるという利点があるが、撮像にさらに時間がかかるという欠点がある。PWI においても造影剤を使用しない ASL 法が、造影剤に対するアレルギーが多い人医療においては実施されている。ASL 法はヒトにおいても DSC 法よりも画質が悪いことが言われており、脳血流の捉えにくい小動物においては条件設定を含めた検討が必要となると思われるが、このような他の特殊撮像も今後は検討していくことも必要ではないかと考える。脳腫瘍の組織診断が難しい獣医療において、これらの MRI の特殊撮像を行うことで非侵襲的に脳腫瘍を鑑別することができれば、獣医療の発展に大きく寄与することができると考えられた。

図および表

表 6.1 : 腫瘍内の各種腫瘍の Conventional MRI における特徴および各種特殊撮像の本研究結果

腫瘍種類	Conventional MRI	DWI	DTI	MRS	PWI
犬髄膜腫	T2WI : 高信号	ADC 比は 1.13	FA 比は 0.43	Cr, NAA, Ins の低値	rCBV 比は 4.0 (4ml/sec)、2.2
	T1WI : 等信号			Ala, Lip の高値	(1ml/sec)、rCBF 比は 4.2
猫髄膜腫	GdTIWI : 均一に増強	ADC 比は 0.99	FA 比は 0.54	Cr, Cho, NAA, Ins の低値	(4ml/sec), 1.85 (1ml/sec), MTT
	dural tail sign			Ala, Lip の高値	比は 1.1
組織球形肉腫	T2WI : 等~高信号	ADC 比は 0.97	FA 比は 0.37	Cr, Naa の低値	1ml/sec の rCBV 比は 1.37、
	T1WI : 等~低信号			Ala, Lip. Lac の高値	rCBF 比は 1.00、MTT 比は 1.0
神経膠腫	GdTIWI : 均一に増強				
	dural tail sign 脳溝に深く入り込む像				
骨腫瘍	T2WI : 高信号	ADC 比は 1.70	FA 比は 0.27	NAA の低値	rCBV 比は 4.35 (4ml/sec)、
	T1WI : 等信号			Ala, Cho, Lip, Lac の高値	1.7(1ml/sec)、rCBF 比は 4.6
	GdTIWI : 増強なし or リング状増強				(4ml/sec), 1.78 (1ml/sec), MTT 比は 1.1
骨腫瘍	T2WI, T1WI : 低信号	ADC 比は 1.32	FA 比は 0.54	NAA の低値	
	GdTIWI : 増強			Ala, Lip, Lac の高値	

DWI : 拡散強調画像、DTI : 拡散テンソル画像、MRS : MR スペクトロスコピー、PWI : 灌流強調画像、T2WI : T2 強調画像、T1WI : T1 強調画像、GdTIWI : 造影 T1 強調画像、ADC : 見かけの拡散係数、FA : 異方性比率、Ala : アラニン、Cho : コリン、Cr : クレアチン、Ins : ミオイノシトール、NAA : N-アセチルアスパラギン酸、Lac : 乳酸、Lip : 脂質、rCBV : 相対的脳血流量、rCBF : 相対的脳血流量、MTT : 平均通過時間

表 6.2 : 腫瘍周囲の各種瘍の Conventional MRI における特徴および各種特殊撮像の本研究結果

腫瘍種類	Conventional MRI	DWI	DTI	PWI
犬髄膜腫	周囲の浮腫は軽度 ADC 比は 1.16 T2 Hi の ADC 比は 1.46	FA 比は 0.76 T2 Hi の FA 比は 0.62	rCBV 比は 2.0 (4ml/sec)、 rCBF 比は 2.4 (4ml/sec)、 MTT 比は 1.1 程度	
猫髄膜腫	ADC 比は 1.08	FA 比は 0.88		
組織球形肉腫	周囲の浮腫が強く、広範囲 (Mass effect が強い)	ADC 比は 1.33 T2 Hi の ADC 比は 1.76	FA 比は 0.56 T2 Hi の FA 比は 0.42	1ml/sec の rCBV 比は 1.6、rCBF 比は 1.5、 MTT 比は 1.0
神経膠腫	脳浮腫を伴う	ADC 比は 1.16 T2 Hi の ADC 比は 1.61	FA 比は 0.76 T2 Hi の FA 比は 0.56	rCBV 比は 0.9 (4ml/sec)、1.1 (1ml/sec)、 rCBF 比は 1.3 (4ml/sec)、1.1 (1ml/sec)、 MTT 比は 0.9 程度
骨腫瘍	ADC 比は 1.18	FA 比は 0.59		

DWI : 拡散強調画像、DTI : 拡散テンソル画像、MRS : MR スペクトロスコピー、PWI : 灌流強調画像、T2WI : T2 強調画像、T1WI : T1 強調画像、GdTT1WI : 造影 T1 強調画像、ADC : 見かけの拡散係数、FA : 異方性比率、T2 Hi : T2 強調画像高信号領域、Ala : アラニン、Cho : コリン、Cr : クレアチン、Ins : ミオイノシトール、NAA : N-アセチルアスパラギン酸、Lac : 乳酸、Lip : 脂質、rCBV : 相対的脳血流量、rCBF : 相対的脳血流量、MTT : 平均通過時間

謝辞

本論文を終えるに当たり多大なるご指導ご鞭撻を賜りました日本獣医生命科学大学臨床獣医学部門治療学分野 I (獣医放射線学教室) の藤田道郎教授、長谷川大輔教授および藤原亜紀講師に深く御礼申し上げます。また、本研究に際して、ご尽力いただきました同研究室の溝口俊太、濱本裕仁、湯祥彦、浅田李佳子、水野郷志の各氏に深く感謝致します。

また研究の遂行、論文執筆等に多大なご指導とご支援をいただいた日本獣医生命科学大学名誉教授であり、株式会社 ORM 神経病・読影センターの代表取締役社長の織間博光先生に深く感謝いたします。

参考文献

Abadie J, Hédan B, Cadieu E, et al. Epidemiology, pathology, and genetics of histiocytic sarcoma in the Bernese mountain dog breed. *J Hered*. 2009 100: S19-27

Anaya Gracia MS, Hernandez Anaya JS, Marrufo Melendez OM, et al. In vivo study of cerebral white matter in the dog using diffusion tensor tractography. *Vet Radiol Ultrasound*. 2015 56: 188-195.

Aslan K, Gurbey HP, Tomak L, et al. The diagnostic value of using combined MR diffusion tensor imaging parameters to differentiate between low- and high-grade meningioma. *Br J Radiol*. 2018 91: 20180088.

Assaf Y, Ben-Bashat D, Chapman J, et al. High b-value q-space analyzed diffusion-weighted MRI: application to multiple sclerosis. *Magn Reson Med*. 2002 47: 115-126.

Bagley RS, Gavin PR, Moore MP, et al. Clinical signs associated with brain tumors in dogs: 97 cases (1992-1997). *J Am Vet Med Assoc*. 1999 215: 818-819.

Baird AE, Benfield A, Schlaug G, et al. Enlargement of human cerebral ischemic lesion volumes measured by diffusion-weighted magnetic resonance imaging. *Ann Neurol*. 1997 41: 581-589.

Bano S, Waraich MM, Khan MA, et al. Diagnostic value of apparent diffusion coefficient for the accurate assessment and differentiation of intracranial meningiomas. *Acta Radiol Short Rep*. 2013 23: 2047981613512484.

Barker PB, Bizzi A, Stefano ND, et al. Introduction to MR spectroscopy. In: Clinical MR spectroscopy. Cambridge, England: Cambridge University Press, 2010 : 1–19.

Bennett IE, Field KM, Hovens CM, et al. Early perfusion MRI predicts survival outcome in patients with recurrent glioblastoma treated with bevacizumab and carboplatin. *J Neurooncol.* 2017 131: 321-329.

Bentley RT. Magnetic resonance imaging diagnosis of brain tumors in dogs. *Vet J* 2015 205: 204-216.

Bentley RT, Ober CP, Anderson KL, et.al. Canine intracranial gliomas: relationship between magnetic resonance imaging criteria and tumor type and grade. *Vet J.* 2013 198: 463-71

Beppu T, Inoue T, Shibata Y, et al. Measurement of fractional anisotropy using diffusion tensor MRI in supratentorial astrocytic tumors. *J Neurooncol.* 2003 63: 109-106.

Beppu T, Inoue T, Shibata Y, et al. Fractional anisotropy value by diffusion tensor magnetic imaging as a predictor of cell density and proliferation activity of glioblastomas. *Surg Neurol.* 2005 63: 56-61.

Besalti O, Caliskan M, Can P, et al. Imaging and surgical outcome of spinal tumors in 18 dogs and one cat. *J Vet Sci.* 2016 30 ;17 :225-234.

Bisdas S, Kirkpatrick M, Giglio P, et al. Cerebral blood volume measurements by perfusion-weighted MR imaging in gliomas: Ready for prime time in predicting short-term outcome and recurrent disease. *AJNR Am J Neuroradiol.* 2009 30: 681-688.

Brandao LA, Shiroishi MS, Law M. Brain tumors : a multimodality approach with diffusion-weighted imaging, diffusion tensor imaging, magnetic resonance spectroscopy, dynamic susceptibility contrast and dynamic contrast-enhanced magnetic resonance imaging. *Magn Reson Imaging Clin N Am.* 2013 21: 199-239.

Brunberg JA, Chenevert TL, McKeever PE, et al. In vivo MR determination of water diffusion coefficients and diffusion anisotropy : correlation with structural alteration in gliomas of the cerebral hemispheres. *AJNR Am J Neuroradiol.* 1995 15: 361-371.

Bulakbasi N, Kocaoglu M, Farzaliyer A, et al. Assessment of diagnostic accuracy of perfusion MR imaging in primary and metastatic solitary malignant brain tumors. *AJNR Am J Neuroradiol* 2005 26: 2187-2199.

Bulik M, Jancalek R, Vanicek J, et al. Potential of MR spectroscopy for assessment of glioma grading. *Clin Neurol Neurosurg.* 2013 115: 146-153.

Calli C, kitis O, Yuntan N, et al. Perfusion and diffusion MR imaging in enhancing malignant cerebral tumors. *Eur J Radiol.* 2006 58: 394-403.

Carrera I, Richter H, Beckmann K, et al. Evaluation of intracranial neoplasia and noninfectious meningoencephalitis in dogs by use of short echo time, single voxel proton magnetic resonance spectroscopy at 3.0 Tesla. *Am J Vet Res.* 2016 77: 452-462.

Carrera I, Richter H, Meier D, et al. Regional ,metabolite concentrations in the brain of healthy dogs measured by use of short echo times, single voxel proton magnetic resonance spectroscopy at 3.0 Tesla. *Am J Vet Res.* 2015 76: 129-141.

Castillo M, Smith JK, Kwock L, et al. Apparent diffusion coefficients in the evaluation of high-grade cerebral gliomas. *AJVR Am J Neuroradiol* 2001 22: 60-64.

Castillo M, Smith JK, Kwock L. Correlation of myo-inositol levels and grading of cerebral astrocytomas. *AJNR Am J Neuroradiol*. 2000 21: 1645-1649.

Chen J, Huang SL, Li T, et al. In vivo research in astrocytoma cell proliferation with ¹H-magnetic resonance spectroscopy correlation with histopathology and immunohistochemistry. *Neuroradiology*. 2006 48: 312-318.

Chambers JK, Uchida K, Nakayama H. White matter myelin loss in the brains of aged dogs. *Exp Gerontol*. 2012 47: 263-269.

Chenevert TL, McKeever PE, Ross BD, et al. Monitoring early response of experimental brain tumors to therapy using diffusion magnetic resonance imaging. *Clin Cancer Res* 1997 3: 1457-1466.

Chenevert TL, Stegman LD, Taylor JM, et al. Diffusion magnetic resonance imaging an early surrogate marker of therapeutic efficacy in brain tumors. *J Natl Cancer Inst* 2000 92: 2029-2036.

Cherubini GB, Mantis P, Martinez TA, et al. Utility of magnetic resonance imaging for distinguishing neoplastic from non-neoplastic brain lesions in dogs and cats. *Vet Radiol Ultrasound*. 2005 46: 384-387.

Chiang IC, Kuo YT, Struckey S, et al. Distinction between high-grade gliomas and solitary metastases using peritumoral ³-T magnetic resonance spectroscopy, diffusion, and perfusion imagings. *Neuroradiol*. 2004 46: 619-627.

Cho YD, Choi GH, Lee SP, et al. (1)H-MRS metabolic patterns for distinguishing between meningiomas and other brain tumors. *Magn Reson Imaging*. 2003 21: 663-672.

Citation [white matter] In: Encyclopedia and dictionary of medicine, nursing, and allied health online. Available at: www.medical-dictionary.the-free-dictionary.com. Accessed Dec 13, 2015.

Cohen Y, Assaf Y. High b-value q-space analyzed diffusion-weighted MRS and MRI in neuronal tissues-a technical review. *NMR Biomed* 2002 15: 516-542.

CT/MR 灌流画像実戦ガイドライン合同策定委員会 CT/MR 灌流画像実戦ガイドライン2006. 日本放射線科専門医会・医会、日本磁気共鳴医学会、ASIST-Japan

Cuccarini V, Erbetta A, Farinotti M, et al. Advanced MRI may complement histological diagnosis of lower grade gliomas and help in predicting survival. *J Neurooncol*. 2016 126: 279-288.

Dawoud MAE, Sherif MF, Eltomey MA. Apparent diffusion coefficient and Magnetic resonance spectroscopy in grading of malignant brain neoplasms. *Egypt J Radiol Nucl Med*. 2014 45: 1215-1222.

De Belder FE, Oct AR, Van Heche W, et al. Diffusion tensor imaging provides an insight into the microstructure of meningiomas, high-grade gliomas, and peritumoral edema. *J Comput Tomogr*. 2012 36: 577-582.

Demir MK, Iplikcioglu AC, Dincer A, et al. Single voxel proton MR spectroscopy findings of typical intracranial meningiomas. *Eur J Radiol*. 2006 60: 48-55.

Di Stefano AL, Bergsland N, Berzero G, et al. acing contrast-enhancing gliomas: perfusion MRI in grade III and grade IV gliomas according to tumor area. *Biomed Res Int.* 2014; 2014: 154350.

Dominguez-Pinilla N, Martinez-de Aragón A, Diéguez Tapias S, et al. Evaluating the apparent diffusion coefficient in MRI studies as a mean of determing paediatric brain tumour stages. *Neurologia* 2016 31: 259-465.

Dorenbeck U, Grunmald IQ, Schlaier J, et al. Diffusion-weighted imaging with calculated apparent diffusion coefficient of enhancing extra-axial masses. *J Neuroimaging* 2005 15: 341-347.

Dorn CR, Taylor DO, Schneider R, et al. Survey of animal neoplasms in Alameda and Contra Costa Counties, California. II. Cancer morbidity in dogs and cats from Alameda County. *J Netl Cancer Inst.* 1968. 40: 307-318.

Dowling C, Bollen AW, Noworolski SM, et al. Preoperative proton MR spectroscopic imaging of brain tumors : correlation with histopathologic analysis of resection specimens. *AJNR Am J Neuroradiol.* 2001 22: 604-612.

Dringen R, Verleysdonk S, Hamprecht B, et al. Metabolism of glycine in primary astroglial cells : synthesis of creatine, serine, and glutathione. *J Neurochem.* 1998 70: 835-840.

Ebisu T, Naruse S, Horikawa Y, et al. Discrimination between different types of white matter edema with diffusion-weighted MR imaging. *J Magn Reson Imaging.* 1993 3: 863-868.

- Eis M, Els T, Hoehn-Berlage M, et al. Quantitative diffusion MR imaging of cerebral tumor and edema. *Acta neurochir Suppl* 1994 60: 344-346.
- Ellingson BM, Salamon N, Hilly LT. Advances in MR imaging for cervical spondylotic myelopathy. *Eur Spine J.* 2015 24: 197-208.
- Elson A, Bovi J, S池rM, et al. Evaluation of absolute and normalized apparent diffusion coefficient (ADC) values within the post-operative T2/FLAIR volume as advance prognostic indicators in glioblastoma. *J Neurooncol.* 2015 122: 549-558.
- Fatima Z, Motosugi U, Hori M, et al. Age-related white matter changes in high b-value q-space diffusion-weighted imaging. *Neuroradiology.* 2013 56: 253-259.
- Fujiwara H, Oki K, Momoshima S, et al. PROPRLER diffusion-weighted magnetic resonance imaging of acute spinal epidural hematoma. *Acta Radiol.* 2005 46: 439-542.
- Fulippi CG, Edgar AM, Ulug AM, et al. Appearance of meningiomas on diffusion-weighted images: correlating diffusion constants with histopathologic findings. *AJNR Am J Neuroradiol* 2001 22: 65-72.
- Garosi L, McConnel JF, Platt SR, et al. Clinical and topographic magnetic resonance characteristics of suspected brain infarction in 40 dogs. *J Vet Intern Med.* 2006 20: 311-321.
- Gaudino S, Russo R, Verdolctti T, et al. Advanced MR imaging in hemispheric low-grade gliomas before surgery; the indications and limits in the pediatric age. *Childs Nerv Syst.* 2016 32: 1813-1822.

Gauvain KM, McKinstry RC, Mukherjee P, et al. Evaluating pediatric brain tumor cellularity with diffusion-tensor imaging. *AJR Am J Roentgenol.* 2001 177: 449-454.

Goebell E, Paustenbach S, Vaeterlein O, et al. Low-grade and anaplastic gliomas: differences in architecture evaluation with diffusion-tensor MR imaging. *Radiology* 2006 239: 217-222.

Gomi K, Tanaka M, Yoshida M, et al. Primary cerebellar histiocytic sarcoma in a 17-month-old girl. *J Neurosurg Pediatr.* 2012 10:126-129.

Gorden L.E, Thacher C., Matthiesen D.T., et al. Results of craniotomy for the treatment of cerebral meningioma in 42 cats. *Vet Surg.* 1994 23; 94-100.

Graham JP, Newell SM, Voges AK, et al. The dural tail sign in the diagnosis of meningiomas. *Vet Radiol Ultrasound.* 1998 39: 297–302.

Gill-Samra S, Ng T, Dexter M, et al. Histiocytic sarcoma of the brain. *J Clin Neurosci.* 2012 19:1456-1458.

Guo AC, Cummins TJ, Dash RC, et al. Lymphomas and high-grade astrocytomas: Comparison of water diffusibility and histologic characteristics. *Radiology.* 2002 224: 177-183.

Gupta A, Shah A, Young RJ, et al. Imaging of brain tumors: functional magnetic resonance imaging and diffusion tensor imaging. *Neuroimaging. Clin N Am.* 2010 20; 379-400.

Gupta RK, Cloughesy TF, Sinha U, et al. Relationships between choline magnetic resonance spectroscopy, apparent diffusion coefficient and quantitative histopathology in human glioma. *J Neurooncol* 2000 50: 215-226.

Guzman R, Barth A, Lövblad KO, et al. Use of diffusion-weighted magnetic resonance imaging in differentiating purulent processes from cystic brain tumors. *J Neurosurg.* 2002 97: 1101-1107.

Haldorsen IS, Espeland A, Larsson EM. Central nervous system lymphoma : characteristic findings on traditional and advanced imaging. *AJNR* 2011 32: 984-992.

Hartmann A, Söffler C, Failling K, et al. Diffusion-weighted magnetic resonance imaging of the normal canine brain. *Vet Radiol Ultrasound.* 2014 55: 592-598

Hattingen E, Raab P, Franz K, et al. Prognostic value of choline and creatine in WHO grade II gliomas. *Neuroradiology.* 2008 50: 759-767.

Hayashida Y, Hirai T, Morisgita S, et al. Diffusion weighted imaging of metastatic brain tumors comparison with histologic type and tumor cellularity. *AJNR Am J Neuroradiol.* 2006 27:1419-1425.

Hazany S, Hesselink JR, Healy JF, et al. Utilization of glutamate / creatine ratios for proton spectroscopic diagnosis of meningiomas. *Neuroradiology.* 2007 49: 121-127.

Heiland S, Reith W, Forsting M, et al. How do concentration and dosage of the contrast agent effect the signal change in perfusion-weighted magnetic resonance imaging? A computer simulation. *Magn Reson Imaging.* 2001 19: 813-820.

Henninger N, Fisher M. Stimulating Circle of Willis Nerve Fibers Preserves the Diffusion-Perfusion Mismatch in Experimental Stroke. *Stroke*. 2007 38: 2779-2786.

Higgins RJ, Bollen AW, Dickinson PJ, et al. Tumors of the nervous system. In: Meuten DJ, eds. *Tumors in domestic animals*, 5th ed. pp. 834-891, Wiley, 2016

Hobert MK, Stein VM, Dziallas P, et al. Evaluation of normal appearing spinal cord by diffusion tensor imaging, fiber tracking, fractional anisotropy, and apparent diffusion coefficient measurement in 13 dogs. *Acta Vet Scand* 2013 24: 55:36. doi: 10.1186/1751-0147-55-36.

Howe FA, Barton SJ, Cudlip SA, et al. Metabolic profiles of human brain tumors using quantitative in vivo ¹H magnetic resonance spectroscopy. *Magn Reson Med*. 2003 49: 223-232.

Hu H, Barker A, Harcourt-Brown T, et al. Systematic Review of Brain Tumor Treatment in Dogs. *J VET Intern Med*. 2015 29: 1456-1463.

Ide M, Jimbo M, Kubo O, et al. Peritumoral brain edema associated with meningioma – histological study of the tumor margin and surrounding brain. *Neurol Med Chir (Tokyo)*. 1992 32: 65-71.

Ide T, Uchida K, Kagawa Y, et al. Pathological and immunohistochemical features of subdural histiocytic sarcomas in 15 dogs. *J Vet Diagn Invest*. 2011 23: 127-132.

Inoue T, Ogasawara K, Beppu T, et al. Diffusion tensor imaging for preoperative evaluation of tumor grade in gliomas. *Clin Neurol Neurosurg*. 2005 107: 174-180.

Ishida M, Sakura H, Murashima S, et al. Absolute blood contrast concentration and blood signal saturation on myocardial perfusion MRI : estimation from CT data. *J Magn Reson Imaging* 2009 29: 205-210.

Isobe T, Matsumura A, Anno I et al. Quantification of cerebral metabolites in glioma patients with proton MR spectroscopy using T2 relaxation time correction. *Magn Reson imaging*. 2002 20: 343-349.

Ito D, Ishikawa Jeffery ND, et al. Two-Year Follow-Up Magnetic Resonance Imaging and Spectroscopy Findings and Cerebrospinal Fluid Analysis of a Dog with Sandhoff's Disease. *J Vet Intern Med*. 2018 32: 797-804.

Jacqmot O, Van Thielen B, Fierens Y, et al. Diffusion tensor imaging of white matter tracts in the dog brain. *Anat Rec*. 2013 296: 340-349.

Jacqmot O, Van Thielen B, Michotte A, et al. Comparison of Several White Matter Tracts in Feline and Canine Brain by Using Magnetic Resonance Diffusion Tensor Imaging. *Anat Rec*. 2017 300: 1270-1289.

James FM, da Costa RC, Fauber A, et.al. Clinical and MRI findings in three dogs with polycystic meningiomas. *J Am Anim Hosp Assoc*. 2012 48): 331-338.

Jenkinson M, Smith S. A global optimisation method for robust affine registration of brain images. *Med Image Anal*. 2001 5: 143-156.

Jensen JH, Helpert JA, Ramani A, et al. Diffusion kurtosis imaging : the quantification of non-gaussian water diffusion by means of magnetic resonance imaging. *Magn Reson Med*. 2005 53: 1432-1440.

Karonen JO, Liu Y, Vanninen RL, et al. Combined perfusion- and diffusion-weighted MR imaging in acute ischemic stroke during the 1st week a longitudinal study. *Radiology*. 2000 217: 886-894.

Kawata M, Sekino M, Takamoto S, et al. Retrograde cerebral perfusion with intermittent pressure augmentation provides adequate neuroprotection : diffusion- and perfusion-weighted magnetic resonance imaging study in an experimental canine model. *J Thorac Cardiovas Surg* 2006 132: 933-940.

Kidwell CS, Alger JR, Saver JL. Beyond mismatch: evolving paradigms in imaging the multimodel magnetic resonance imaging. *Stroke*. 2003 34: 2729-2735.

Kim TH, Yun TJ, Park CK, et al. Combined use of susceptibility weighted magnetic resonance imaging sequences and dynamic susceptibility contrast perfusion weighted imaging to improve the accuracy of the differential diagnosis of recurrence and radionecrosis in high-grade glioma patients. *Oncotarget*. 2017 21; 8: 20340-20353.

Kimura H, Takeuchi H, Koshimoto Y, et al. Perfusion imaging of meningiomas by using continuous arterial spin-labeling: comparison with using dynamic susceptibility-weighted contrast-enhanced MR images and histopathologic features. *AJNR Am J Neuroradiol*. 2006 27: 85-93.

Koestner A, Bilzer T, Fatzer R, et al. *Histological Classification of Tumors of the Nervous System of Domestic Animals*. Washington, DC: Armed Forces Institute of Pathology 1999.

- Konishi Y, Satoh H, Kuroiwa M, et al. Application of fiber tractography and diffusion tensor imaging to evaluate spinal cord diseases in dogs. *J Vet Med Sci.* 2017 28: 418-424.
- Kono K, Inoue Y, Nakayama K, et al. The role of diffusion-weighted imaging in patients with brain tumors. *AJVR Am J Neuroradiol* 2001 22: 1081-1088.
- Kosui E, Tsougos I, Tsolaki E, et al. Spectroscopic evaluation of glioma grading at 3T: the combined role of short and long TE. *Scientific World Journal.* 2012 : 546171
- Krabbe K, Gideon P, Wagn P, et al. MR diffusion imaging of human intracranial tumors. *Neuroradiology* 1997 39: 483-489.
- Kraft, SL, Gavin, PR, DeHaan, C, et.al. Retrospective review of 50 canine intracranial tumors evaluated by magnetic resonance imaging. *J Vet Intern Med.* 1997 11: 218–225.
- Kube SA, Bruyette DS, Hanson SM. Astrocytomas in young dogs. *J Am Anim Hosp Assoc.* 2003 39: 288-293.
- Kuesel AC, Sutherland GR, Halliday W, et al. 1H MRS of high grade astrocytomas: mobile lipid accumulation in necrotic tissue. *NMR Biomed.* 1994 7: 149-155.
- 黒岩俊彦. 一過性脳虚血後の緩徐進行病変：脳組織・MRI画像の経時的変化と神経再生医療. *脳循環*2006 18; 170-175.
- Law M, Yang S, Babb JS, et al. Comparison of cerebral blood volume and vascular permeability from dynamic susceptibility contrast-enhanced perfusion MR imaging with glioma grade. *AJNR Am J Neuroradiol.* 2004 25: 746-755.

Law M, Yang S, Wang H, et al. Glioma grading: sensitivity, specificity, and predictive values of perfusion MR imaging and proton MR spectroscopic imaging compared with conventional MR imaging. *AJNR Am J Neuroradiol.* 2003 24: 1989-1998.

Lee EJ, Ahn KJ, Lee EK, et al. Potential role of advanced MRI techniques for the peritumoural region in differentiating glioblastoma multiforme and solitary metastatic lesions. *Clin Radiol.* 2013 68: 689-697.

Lee EJ, terBrougge K, Mikulis D, et al. Diagnostic value of peritumoral minimum apparent diffusion coefficient for differentiation of glioblastoma multiforme from solitary metastatic lesions. *AJR Am J Roentgenol.* 2011 196: 71-76.

Lee KM, Kim EJ, Jahng GH, et al. Value of perfusion weighted magnetic resonance imaging in the diagnosis of supratentorial anaplastic astrocytoma. *J Korean Neurosurg Soc.* 2014 56: 261-254.

Lehmann P, Vallee JN, Sliou G, et al. Dynamic contrast-enhanced T2*-weighted MR imaging: A peritumoral brain oedema study, *J Neuroradiol.* 2009 36: 88-92.

Lev MH, Kulke SF, Sorensen AG, et al. Contrast-to-noise ratio in functional MRI of relative cerebral blood volume with sprodiamide injection. *J Magn Reson Imaging.* 1997 7: 523-527.

Lev MH, Rosen BR. Clinical applications of perfusion MR imaging. *Neuroimaging Clin N Am.* 1999 9: 309-331.

Lin Y, Xing Z, She D, et al. IDH mutant and 1p/19q co-deleted oligodendrogliomas: tumor grade stratification using diffusion-, susceptibility-, and perfusion-weighted MRI. *Neuroradiology*. 2017 59: 555-562.

Lin W, Lww JM, Lee YZ, et al. Temporal relationship between apparent diffusion coefficient and absolute measurements of cerebral blood flow in acute stroke patients. *Stroke* 2003 34: 64-70.

Lipsitz, D, Higgins RJ, Kortz, GD, et.al. Glioblastoma multiforme: Clinical findings, magnetic resonance imaging, and pathology in five dogs. *Veterinary Pathology* 2003 40: 659– 669.

Lipsitz, D, Levitski RE, Berry WL. Magnetic resonance imaging features of multilobular osteochondrosarcoma in 3 dogs. *Vet Radiol Ultrasound*. 2001 42: 14-19.

Liu C, Yang D, Li J, et al. Dynamic diffusion tensor imaging of spinal cord contusion : A canine model. *J Neurosci Res*. 2018 96: 1093-1103.

Liu S, Xu X, Cheng Q, et al. Simple quantitative measurement based on DWI to objectively judge DWI-FLAIR mismatch in a canine stroke model. *Diagn Interv Radiol*. 2015 21: 348-354.

Liu ZL, Zhou Q, Zeng QS, et al. Noninvasive evaluation of cerebral glioma grade by using diffusion-weighted imaging-guided single-voxel proton magnetic resonance spectroscopy. *J Int Med Res* 2012 40: 76-84.

Loubinoux I, Volk A, Borredon J, et al. Spreading of vasogenic edema and cytotoxic edema assessed by quantitative diffusion and T2 magnetic resonance imaging. *Stroke* 1997 28: 419-426.

Lu SS, Liu S, Zu QQ, et al. Multimodal magnetic resonance imaging for assessing lacunar infarction after proximal middle cerebral artery occlusion in a canine model. *Chin Med J*. 2013 126: 311-317.

Ma H, Wand Z, Xu K, et al. Three-dimensional arterial spin labeling imaging and dynamic susceptibility contrast perfusion-weighted imaging value in diagnosing glioma grade prior to surgery. *Exp Ther Med*. 2017 13: 2691-2698.

Ma L, Song ZJ. Differentiation between low-grade and high-grade glioma using combined diffusion tensor imaging metrics. *Clin Neurol Neurosurg*. 2013 115: 2489-2495.

MacLellan MJ, Ober CP, Feeney DA, et al. Diffusion-weighted magnetic resonance imaging of the brain of neurologically normal dogs. *Am J Vet Res*. 2017 78: 601-608.

Maeda M, Sakuma H, Maier SE, et al. Quantitative assessment of diffusion abnormalities in benign and malignant vertebral compression fractures by line scan diffusion-weighted imaging. *AJR Am J Roentgenol*. 2003 181: 1203-109.

Majós C, Cucrella G, Aguiera C, et al. Intraventricular meningiomas: MR imaging and MR spectroscopic findings in two cases. *AJNR Am J Neuroradiol* 1999 20: 882-885.

Majós C, Julià-Sapé M, Alonso J et al Brain tumor classification by proton MR spectroscopy: comparison of diagnostic accuracy at short and long TE. *AJNR Am J Neroradiol.* 2004 25: 1696-1704.

Mardor Y, Roth Y, Lider Z, et al. Monitoring resonance to convention-enhanced taxol delivery in brain tumor patients using diffusion-weighted magnetic resonance imaging. *Cancer Res* 2001 61: 4971-4973.

Martinez-Bisbal MC, Celda B. Proton magnetic resonance spectroscopy imaging in the study of human brain cancer. *Q J Nucl Med Mol Imaging.* 2009 53: 618-630.

Matsumura A, Isobe T, Anno I, et al. Correlation between choline and MIB-1 index in human gliomas. A quantitative in proton MR spectroscopy study. *J Clin Neurosci.* 2005 12: 416-420.

McKnight TR, Lamborn KR, Lowe TD, et al. Correlation of magnetic resonance spectroscopy and growth characteristics within Grade II and III gliomas. *J Neurosurg.* 2007 106: 660-666.

Mihara F, Numaguchi Y, Rothman M, et al. Non-enhancing supratentorial malignant astrocytomas : MR features and possible mechanisms. *Radiat Med.* 1995 13: 11-17.

Miller AD, Miller CR, Rossmeis JH. Canine primary intracranial cancer: A clinicopathologic and comparative review of glioma, meningioma, and choroid plexus tumors. *Front Oncol* 2019 9:1151.

宮地利明 MRIによる脳血流動態評価の現状 日本放射線技術学会雑誌 2003 59: 1494-1501.

溝口俊太 家族性自然発症性てんかんネコのてんかん原性領域における病態解析：脳波、画像および病理学的検討 2015年度日本獣医生命科学大学博士論文

Mora P, Pons A, Cos M, et al. Magnetic resonance spectroscopy in posterior fossa tumours: the tumour spectroscopic signature may improve discrimination in adults among haemangioblastoma, ependymal tumours, medulloblastoma, and metastasis. *Eur Radiol.* 2019 29: 2792-2801.

Motta L, Mandara MT, Skerritt Gc, et al. Canine and feline intracranial meningiomas: an updated review. *Vet J.* 2012 192: 153-65.

Nafe LA. Meningiomas in cats: A retrospective clinical study of 36 cases. *J Am Vet Med Assoc.* 1979 174: 1224-1227.

Nagendank WG, Sauter R, Brown TR, et al. Proton magnetic resonance spectroscopy in patients with glial tumors : a multicenter study. *J Neurosurg.* 1996 84: 449-458.

Nakamizo A, Inamura T, Yamaguchi S, et al. Diffusion-weighted imaging predicts postoperative persistence in meningioma patients with peritumoural abnormalities on magnetic resonance imaging. *J Clin Neurosci.* 2003 10: 589-593.

Neumann-Haefelin T, Wittsack HJ, Wenserski F, et al. Diffusion- and Perfusion-Weighted MRI The DWI/PWI Mismatch Region in Acute Stroke. *Stroke.* 1999 30: 1591-1597.

Oh J, Henry RG, Prizkall A, et al. Survival analysis in patients with glioblastoma multiforme: predictive value of choline-to-n-acetylaspartate index, apparent

diffusion coefficient, and relative cerebral blood volume. *J Magn Reson Imaging*. 2004 19: 546-554.

Ono K, Kitagawa M, Ito D, et al. Regional variations and age-related changes detected with magnetic resonance spectroscopy in the brain of healthy dogs. *Am J Vet Res*. 2014 75: 179-186.

Orphanidou-Vlachou E, Auer D, Brungler MA, et al. (1)H magnetic resonance spectroscopy in the diagnosis of paediatric low grade brain tumors. *Eur J Radiol*. 2013 82: 295-301.

Palus V, Volk HA, Lamb CR, et al. MRI features of CNS lymphoma in dogs and cats. *Vet Radiol Ultrasound*. 2012 53: 44-49.

Pang H, Ren Y, Dang X, et al. Diffusion kurtosis imaging for differentiating between high-grade glioma and primary central nervous system lymphoma. *J Magn Reson Imaging*. 2016 44: 30-40.

Pavlsa G, Rados M, Pavlsa G, et al. The differences of water diffusion between brain tissue infiltrated by tumor and peritumoral vasogenic edema. *Chin Imaging*. 2009 33: 96-101.

Pease A, Miller R. The use of diffusion tensor imaging to evaluate the spinal cord in normal and abnormal dogs. *Vet Radiol Ultrasound*. 2011 53: 492-497.

Piper RJ, Mikhael S, Wardlaw JM, et al. Imaging signatures of meningioma and low-grade glioma: a diffusion tensor, magnetization transfer and quantitative longitudinal relaxation time MRI study. *Magn Reson Imaging*. 2016 34: 596-602.

Poptani H, Gupta RK, Roy R, et al. Characterization of intracranial mass lesions with in vivo proton MR spectroscopy. *AJNR Am J Neuroradiol.* 1995 16: 1593-1503.

Prata RG. Diagnosis of spine cord tumors in the dog. *Veterinary Clinics of North America* 1997 7: 165-185.

Price SJ, Green HA, Dean AF, et al. Correlation of MR relative cerebral blood volume measurements with cellular density and proliferation in high-grade gliomas: an image-guided biopsy study. *AJNR Am J Neuroradiol.* 2011 32: 501-506.

Qin L, Li A, Qu J, et al. Normalization of ADC dose not improve correlation with overall survival in patients with high-grade glioma (HGG). *J neurooncol.* 2018 137: 313-319.

Qu J, Qin L, Cheng S, et al. Residual low ADC and high FA at the resection margin correlate with poor chemoradiation response and overall survival in high-grade glioma patients. *Eur J Radiol.* 2016 85: 657-664.

Raab P, Hattingen E, Franz K, et al. Cerebral gliomas: diffusional kurtosis imaging analysis of microstructural differences. *Radiology.* 2010 254: 876-881

Ródenas, S, Pumarola, M, Gaitero, L, et.al. Magnetic resonance imaging findings in 40 dogs with histologically confirmed intracranial tumours. *The Veterinary Journal* 2011 187, 85–91.

Rollin N, Guyotat J, Streichenberger N, et al. Clinical relevance of diffusion and perfusion magnetic resonance imaging in assessing intra-axial brain tumors. *Neuroradiology.* 2006 48: 150-159.

Romani R, Tang WJ, Mao Y, et al. Diffusion tensor magnetic resonance imaging for predicting the consistency of intracranial meningiomas. *Acta Neurochir.* 2014 156: 1837-1845.

Ronen I, Kim KH, Garwood M, et al. Conventional DTI vs. slow and fast diffusion tensors in cat visual cortex. *Magn Reson Med.* 2003 49: 785-790.

Rumboldt Z, Camacho DL, Lake D, et al. Apparent diffusion coefficients for differentiation of cerebellar tumors in children. *AJNR Am J Neuroradiol.* 2006 27: 1362-1369.

Sacconi B, Raad RA, Lee J, et al. Concurrent functional and metabolic assessment of brain tumors using hybrid PET/MR imaging. *J, Neurooncol.* 2006 127: 287-293.

Sadeghi N, D'Haene N, Decaestecker C, et al. Apparent diffusion coefficient and cerebral blood volume in brain gliomas: relation to tumor cell density and tumor microvessel density based on stereotactic biopsies. *AJNR Am J Neuroradiol.* 2008 29: 476-482.

Saito T, Yamasaki F, Kajiwarra Y, et al. Role of perfusion-weighted imaging at 3T in the histopathological differentiation between astrocytoma and oligodendroglial tumors. *Eur J Radiol* 2012 81: 1863-1869.

Salice S, Esposito R, Ciavardelli D, et al. Combined 3 Tesla MRI Biomarkers Improve the Differentiation between Benign vs Malignant Single Ring Enhancing Brain Masses. *PLoS One.* 2016 13: 11: e0159047.

Santelli L, Ramondo G, Dwlla Puppa A, et al. Diffusion-weighted imaging dose not predict histological grading in meningiomas. *Acta Neurochir.* 2010 152: 1315-1319.

Saraswathy S, Crawford FW, Lamborn KR, et al. Evaluation of MR markers that predict survival in patients with newly diagnosed GBM prior to adjuvant therapy. *J Neurooncol.* 2009 91: 69-81.

Sauwen N, Accu M, Van Cauter S, et al. Comparison of unsupervised classification methods for brain tumor segmentation using multi-parametric MRI. *Neuroimage Clin.* 2016 30: 12: 753-764.

Schmidt MJ, Kolecka M, Kirberger R, et al. Dynamic Susceptibility Contrast Perfusion Magnetic Resonance Imaging Demonstrates Reduced Periventricular Cerebral Blood Flow in Dogs with Ventriculomegaly. *Front Vet Sci.* 2017 22; 4: 137.

Scott J, Brasher P, Servick R, et al. How often are nonenhancing supratentorial gliomas malignant? A population study. *Neurology.* 2002 59: 947-949.

Server A, Graff BA, Josefsen R, et al. Analysis of diffusion tensor imaging metrics for gliomas grading at 3T. *Eur J Radiol.* 2014 83: e156-165.

Server A, Kulle B, Maehlen J, et al. Quantitative apparent diffusion coefficients in the characterization of brain tumors and associated peritumoral edema. *Acta Radiol.* 2009 50: 682-689.

Server A, Josefsen R, Kulle B, et al. Proton magnetic resonance spectroscopy in the distinction of high-grade cerebral gliomas from single metastatic brain tumors. *Acta Radiol.* 2010 51: 316-325.

Sherbeny AE, EL-Shafey MH, Biomy SL, et al. Diagnostic yield of combined magnetic resonance spectroscopy and diffusion weighted imaging in intracranial neoplasms. *Egypt J Radiol Nucl Med.* 2014 45: 849-858.

- Shokry A. MRS of brain tumors diagrammatic representations and diagnostic approach. *Egypt J Radiol Nucl Med* 2012 43: 603-612.
- Sievert C, Richter H, Bevkman K, et al. Comparison between proton magnetic resonance spectroscopy findings in dogs with tick-borne encephalitis and clinically normal dogs. *Vet Radiol Ultrasound* 2017 58: 53-61.
- Sinha S, Bastin ME, Whittle IR et al. Diffusion tensor MR imaging of high-grade cerebral gliomas. *AJNR Am J Neuroradiol.* 2002 23: 520-527.
- Smith MR, Lu H, Trochet S, et al. Removing the effect of SVD algorithmic artifacts present in quantitative MR perfusion studies. *Magn Reson Med.* 2004 51: 631-634.
- Snyder, J.M., Shofer, F.S., Winkle, T.J., et.al. Canine intracranial primary neoplasia: 173 cases (1986–2003). *J Vet Intern Med.* 2006 20: 669–675.
- Song RB, Vite CH, Bradley CW, Cross JR. Postmortem evaluation of 435 cases of intracranial neoplasia in dogs and relationship of neoplasm with breed, age, and body weight. *J Vet Intern Med.* 2013. 27: 1143-1152.
- Spatz M. Past and recent BBB studies with particular emphasis on changes in ischemic brain edema: dedicated to the memory of Dr. Igor Klatzo. *Acta Neurochir Suppl.* 2010 106: 21-27.
- Stadler KL, Ober CP, Feeney DA, et al. Multivoxel proton magnetic resonance spectroscopy of inflammatory and neoplastic lesions of the canine brain at 3.0 T. *Am J Vet Res* 2014 75: 982-989.

Stadler KL, Pease AP, Ballegger EA. Dynamic susceptibility contrast magnetic resonance imaging protocol of the normal canine brain. *Front Vet Sci.* 2017 21:4:41.

Stadnik TW, Chaskis C, Michotte A, et al. Diffusion-weighted MR imaging of intracerebral masses: comparison with conventional MR imaging and histologic findings. *AJVR Am J Neuroradiol* 2001 22: 969-976.

Sturges, BK, Dickinson, PJ, Bollen, AW, et.al. Magnetic resonance imaging and histological classification of intracranial meningiomas in 112 dogs. *J Vet Intern Med.* 2008 22: 586–95.

Sugahara T, Korogi Y, Kochi M, et al. Usefulness of diffusion-weighted MRI with echo-planar technique in the evaluation of cellularity in gliomas: *J Magn Reson Imaging* 1999 9: 53-60.

Sutherland-Smith J, King R, Faissler D, et al. Magnetic resonance imaging apparent diffusion coefficients for histologically confirmed intracranial lesions in dogs. *Vet Radiol Ultrasound.* 2011 52: 142-148.

Sutton LN, Wang Z, Gusnard D, et al. Proton magnetic resonance spectroscopy of pediatric brain tumors. *Neurosurgery.* 1992 31: 195-202.

Svolos P, Tsolaki E, Kapsalaki E, et al. Investigating brain tumor differentiation with diffusion and perfusion metrics at 3T MRI using pattern recognition techniques 3T magnetic resonance imaging. *Magn Reson Imaging* 2013 31: 1567-1577.

Svolos P, Tsolaki E, Theodorou K, et al. Classification methods for the differentiation of atypical meningiomas using diffusion and perfusion techniques at 3-T MRI. *Clin Imaging*. 2013 37: 856-864.

Tedeschi G, Bertoloni A, Ringhini A, et al. Brain regional distribution pattern of metabolite signal intensities in young adults by proton magnetic resonance spectroscopic imaging. *Neurology*. 1995 45: 1384-1391.

Takahashi E, Dai G, Wang R, et al. Development of cerebral fiber pathways in cats revealed by diffusion spectrum imaging. *Neuroimage*. 2010 15: 1231-1240.

Takahara T, Imai Y, Yamashita T, et al. Diffusion weighted whole body imaging with background body signal suppression (CWIBS): technical improvement using free breathing, STIR and high resolution 3D display. *Radial Med*. 2004 22: 275-282.

Tamura S, Tamura Y, Nakamoto Y, et al. MR imaging of histiocytic sarcoma of the canine brain. *Vet Radiol Ultrasound*. 2009 50: 178-181.

Tidwell AS, Robertson ID. Magnetic resonance imaging of normal and abnormal brain perfusion. *Vet Radiol Ultrasound*. 2011 52: 62-71.

Tien RD, Felsberg GJ, Friedman H, et al. MR imaging of high-grade cerebral gliomas: value of diffusion-weighted echoplanar pulse sequences. *AJR Am J Roentgenol* 1994 162: 671-677.

Thijis VN, Adami A, Neumann-Haefelin T, et al. Relationship between severity of MR perfusion deficit and DWI lesion evolution. *Neurology*. 2001 9: 1205-1211.

Thomas, WB, Wheeler, SJ, Kramer, R, et.al. Magnetic resonance imaging features of primary brain tumors in dogs. *Vet Radiol Ultrasound*. 1996 37: 20–27.

CH, Castillo M, Wong AM, et al. Differentiation between classic and atypical meningiomas with use of diffusion tensor imaging. *AJNR Am J Neuroradiol*. 2008 29: 1630-1635.

Toh CH, Castillo M, Wong AM, et al. Primary cerebral lymphoma and glioblastoma multiforme : differences in diffusion characteristics evaluated with diffusion tensor imaging. *AJNR Am J Neuroradiol*. 2008 29: 471-475.

Toh CH, Wei KC, Chang CV, et al. Assessment of angiographic vascularity of meningiomas with dynamic susceptibility contrast-enhanced perfusion-weighted imaging and diffusion tensor imaging. *AJNR Am J Neuroradiol*. 2014 35: 263-269.

Toh CH, Wong AM, Wei KC, et al. Peritumoral edema of meningiomas and metastatic brain tumors: differences in diffusion characteristics evaluated with diffusion-tensor MR imaging. 2007 49: 489-494.

Tomek A., Cizinauskas S., Doherr M., et al. Intracranial neoplasia in 61 cats: localisation, tumour types and seizure patterns. *J Feline Med Surg*. 2006 8; 243-253.

Troxel, M.T., Vite, C.H., Massicotte, C., et.al. Magnetic resonance imaging features of feline intracranial neoplasia: Retrospective analysis of 46 cats. *J Vet Intern Med*. 2004 18: 176–189.

Troxel M.T., Vite C.H., Van Winkle T.J., et al. Feline intracranial neoplasia: retrospective review of 160 cases (1985-2001). *J Vet Intern Med*. 2003 17; 850-859.

MT, Vite CH, Winkle TJ, et al. Feline intracranial neoplasia: Retrospective review of 160 cases (1985-2001). *J Vet Intern Med.* 2003 17: 850-859.

Tsougos I, Svolos P, Kousi E, et al. Differentiation of glioblastoma multiforme from metastatic brain tumor using proton magnetic resonance spectroscopy, diffusion and perfusion metrics at 3 T. *Cancer Imaging.* 2012 26: 423-436.

Tsuchiya K, Fujiwara A, Suzuki Y. Diffusion tractography of the cervical spinal cord by using parallel imaging. *ANJR Am J Neuroradiol.* 2005 26; 398-400.

Tzipory L, Vernau KM, Sturges BK. et.al. Antemortem diagnosis of localized central nervous system histiocytic sarcoma in 2 dogs. *J Vet Intern Med.* 2009 23: 369-374.

Ueda T, Yuh WT, Maley JE, et al. Outcome of acute ischemic lesions evaluated by diffusion and perfusion MR imaging. *AJNR Am J Neuroradiol.* 1999 20: 983-989.

Uematsu H, Maeda M, Ihoh H. Peritumoral brain edema in intracranial meningiomas evaluated by dynamic perfusion-weighted MR imaging: a preliminary study. *Eur Radiol.* 2003 13: 758-762.

Van Cauter S, Veraart J, Sijibers J, et al. Gliomas: diffusion kurtosis MR imaging in grading. *Radiology.* 2012 263: 492-501.

Van der Graaf M. In vivo magnetic resonance spectroscopy : basic methodology and clinical applications. *Eur Biophys J.* 2010 39: 527-540.

Vandeveld M, Higgins RJ, Oevermann A. Neoplasma. In: *Veterinary Neuropathology: Essentials of theory and practice*, 1st ed. pp. 129-156, Wiley, 2012

- Vandeveld M, Rochard A, Fankhauser R. Cerebrospinal fluid studies in neurologically sick dogs and cats. *Schweiz Arch Tierheilk* 1987 129: 443-456.
- Van Osch MJ, Vonken EJ, Wu O, et al. Model of the human vasculature for studying the influence of contrast injection speed on cerebral perfusion MRI. *Magn Reson med*. 2003 50: 614-622.
- Vaz R, Borges N, Cruz C, et al. Cerebral edema associated with meningiomas: the role of peritumoral brain tissue. *J Neurooncol*. 1998 36: 285-291.
- van Westen D, Latt J, Englund E, et al. Tumor extension in high grade gliomas assessed with diffusion magnetic resonance imaging: values and lesion-to brain ratios of apparent diffusion coefficient and fractional anisotropy. *Acta Radiol*. 2006 47: 311-319.
- Virhammar J, Laurell K, Ahlgen A, et al. Arterial Spin-Labeling Perfusion MR Imaging Demonstrates Regional CBF Decrease in Idiopathic Normal Pressure Hydrocephalus. *AJNR Am J Neuroradiol*. 2017 38: 2081-2088.
- Wada M, Hasegawa D, Hamamoto Y, et al. A canine case with cystic meningioma showing miraculous reduction of the cystic lesion. *J Vet Med Sci*. 2016 78: 101-104.
- Wada M, Hasegawa D, Hamamoto Y, et al. Comparisons among MRI signs, apparent diffusion coefficient, and fractional anisotropy in dogs with a solitary intracranial meningioma or histiocytic sarcoma. *Vet Radiol Ultrasound*. 2017 58: 422-432.
- Wang J, Li T, Chen H, et al. A case of primary central nervous system histiocytic sarcoma. *Clin Neurol Neurosurg*. 2012 114:1074-1076.

Wang S, Kim S, Chawla S, et al. Differentiation between glioblastomas and solitary brain metastases using diffusion tensor imaging. *Neuroimage*. 2009 44: 653-660.

Wang S, Kim S, Zhang Y. et al. Determination of grade and subtype of meningiomas by using histogram analysis of diffusion-tensor imaging metrics. *Radiology* 2012 262: 584-592.

Watanabe M, Sakai O, Ozonoff A, et al. Age-related apparent diffusion coefficient changes in the normal brain. *Radiology*. 2013 266: 575-582.

Watanabe Y, Yamasaki F, Kajiwara Y, et al. Preoperative histological grading of meningiomas using apparent diffusion coefficient at 3T MRI. *Eur J Radiol*. 2013 82: 658-663.

Westworth DR, Dickinson PJ, Vernau W, et al. Choroid plexus tumors in 56 dogs. *J Vet Intern Med*. 2008 22: 1157-1165.

Wieshmann UC, Clark CA, Symms, MR, et al. Reduced anisotropy of water diffusion in structural cerebral abnormalities demonstrated with diffusion tensor imaging. *Magn Reson Imaging*. 1999 17: 1269-1274.

Wisner ER, Dickinson PJ, Higgins RJ. Magnetic resonance imaging features of canine intracranial neoplasia. *Vet Radiol Ultrasound*. 2011 52: S52-61.

Witwer BP, Moftakhar R, Hasan KM, et al. Diffusion-tensor imaging of white matter tracts in patients with cerebral neoplasm. *J Neurosurg*. 2002 97: 568-575.

Wong KK, Fung SH, New PZ, et al. Technical Pitfalls of Signal Truncation in Perfusion MRI of Glioblastoma. *Front Neurol*. 2016 2; 7: 121.

Wong KK, Tam CP, NG M, et al. Improved residue function and reduced flow dependence in MR perfusion using least-absolute-deviation regularization. *Magn Reson Med.* 2009 61: 418-428.

Wu RH, Bruening R, Noachtar S, et al. MR measurement of regional relative cerebral blood volume in epilepsy. *J Magn Reson Imaging.* 1999 9: 435-440.

Xiao HF¹, Chen ZY², Lou X, et al. Astrocytic tumour grading: a comparative study of three-dimensional pseudocontinuous arterial spin labelling, dynamic susceptibility contrast-enhanced perfusion-weighted imaging, and diffusion-weighted imaging. *Eur Radiol.* 2015 25: 3423-3430.

Xing F, Tu N, Koh TS, et al. MR diffusion kurtosis imaging predicts malignant potential and the histological type of meningioma. *Eur J radiol.* 2017 95: 286-292.

Xu XQ, Zu QQ, Lu SS, et al. Use of FLAIR imaging to identify onset time of cerebral ischemia in a canine model. *AJNR Am J Neuroradiol.* 2014 35: 311-316.

Yakushiji T, Oka K, Sato H, et al. Characterization of chondroblastic osteosarcoma: gadolinium-enhanced versus diffusion-weighted MR imaging. *J Magn Reson Imaging.* 2009 29: 895-900.

山田恵、赤澤健太郎、西村恒彦 臨床脳循環代謝測定の前線 2. MRIを用いた臨床脳循環代謝測定の前線 脳循環代謝 2008 19: 101-104.

Yogi A, Koga T, Azama K, et al. Usefulness of the apparent diffusion coefficient (ADC) for predicting the consistency of intracranial meningiomas. *Clin Imaging* 2014 38: 802-807.

Yoon H, Park NW, Ha YM, et al. Diffusion tensor imaging of white and grey matter within the spinal cord of normal Beagle dogs: Sub-regional differences of the various diffusion parameters. *Vet J.* 2016 215: 110-117.

Young, BD, Levine, JM, Porter, BF, et al. Magnetic resonance imaging features of intracranial astrocytomas and oligodendrogliomas in dogs. *Vet Radiol Ulytrasound.* 2011 52: 132–141.

Yuan W, Holland SK, Jones BV, et al. Characterization of abnormal diffusion properties of supratentorial brain tumors: a preliminary diffusion tensor imaging study. *J Neurosurg Pediatr.* 2008 1: 263-269.

Zeitoun R, Shokry AM, Ahmed Khaleel S, et al. Osteosarcoma subtypes: Magnetic resonance and quantitative diffusion weighted imaging criteria. *J Egypt Natl Canc Inst.* 2018 30: 39-44.

Zhang H, Rödiger LA, Shen T., et al. Preoperative subtyping of meningiomas by perfusion MR imaging. *Neuroradiology* 2008 50: 835-840

Zhang H, Rödiger LA., Shen T., et al. Perfusion MR imaging for differentiation of benign and malignant meningiomas. *Neuroradiology* 2008 50: 525-530. Zhang

Zhang M, Olsson Y. Hematogenous metastases of the human brain – characteristics of peritumoral brain changes : a review. *J Neurooncol.* 1997 35: 81-89.

Ziegelitz D, Starck G, Kristiansen D, et al. Cerebral perfusion measured by dynamic susceptibility contrast MRI is reduced in patients with idiopathic normal pressure hydrocephalus. *J Magn Reson Imaging.* 2014 39: 1533-1542.

Zimmerman K, Almy F, Carter L, et al. Cerebrospinal fluid from a 10-year-old dog with a single seizure episode. *Vet Clin Pathol.* 2006 35: 127-131.