

# 実験動物および人体における 局所核磁気共鳴 (TMR) の研究

## Topical Magnetic Resonance of Living Animal and Man

Derek Shaw

Oxford Research  
System L.T.D.

(訳・NMR医学研究会)

核磁気共鳴 (NMR) は、永年化学・生化学の領域で使用されてきたが、最近に至って、臨床医学の分野にも進出し始めている。これには、技術及び対象から見て2つの方向がある。1つはプロトン密度のイメージングで、この方法は Lautebur<sup>1)</sup> や Damadian<sup>2)</sup> が初めて提案したものであるが、プロトン密度の2次元又は3次元像を得る為に直線磁場勾配を用いる。この方法による像は、形の上ではX線CTスキャナーで得られる像と似ている。しかしながら、NMRは軟部組織を対象とするところに、両者の違いがある。

イメージング法の詳細については本稿の目的ではないので、巻末文献<sup>3)</sup>を参考にされたい。

### 1. 装置

NMR イメージングに用いるマグネットは、撮像域全体に亘って  $1 \times 10^{-5}$  の磁場均一性が必要である。このマグネットの磁場強度は、感度 (磁場の大きさに正比例する) と、それに伴う交流磁場の周波数の増大による種々の繁雑さ (試料内での位相変化や強度変化の影響) との妥協で決められる。後者は "Skin" 効果といわれ、人体が導体であることによって生じるもので、10~15 MHz の周波数帯で問題となる。NMR イメージングに用いられているマグネットは 0.1~0.4 T (テスラー, 1 T = 10 kG) の磁場強度、つまりプロトンでの共鳴周波数が約 5~15 MHz で、1 m 程度の開孔部を有するものである。このマグネットには、基本的に二つの形式のものがある。つまり超電導マグネットおよび電磁石 (4 コイル型) で、前者は製作費が高いが、運転コストは安い。

NMR の医学応用の第2は、高分解能 NMR スペクトル、つまりケミカルシフトによる化学的情報を含んだスペクトルを得ることを目的としたもので、これが本稿の主題である。

動物や人間に対して高分解能スペクトル法を

用いる為には、スペクトルを特定部位ないし特定臓器から発生させる方法が必要である。局所核磁気共鳴法 (Topical Magnetic Resonance, 以下 TMR と略す) では、高次の磁場勾配を用いほぼ球形の容積内を  $1 \times 10^{-7}$  という高均質性磁場にする方法がとられており、この均質磁場の領域の径は、任意に変えることができる。このマグネットは、水平な開孔部を有している超電導マグネットで Shim Coil を用いて、高分解能スペクトル法で必要とされる高均質磁場を作りあげている<sup>5)</sup> マグネットの内側には、検出容積内では磁場が一定で、検出容積外では、磁場が急激変化するような磁界を形成する為の、一対の Profiling Coil が置かれている。この結果、スペクトルは二つの成分、つまり検出容積内からの高分解能スペクトルと、周辺部からの“コブ”状のブロードスペクトルを含む。後者は、“重畳較差処理”によって簡単に除去できる。

この処理は、高速減衰の指数関数に、ナマの自由誘導減衰 (FID) 信号のコピーを乗じ、元の信号からその分を差し引くという方法で、その較差分が一般に用いられている方法によりフーリエ変換される。ローレンツ-ガウス変換や、CORSET 処理<sup>7)</sup> 等の数学的処理も随時行われ、統計学的処理も利用されている。検出容積の径は、特定部位に合わせて変えることができるが、その位置はマグネットの中心に固定されている。図 1 は、クレアチンリン酸 (PCr) の消失から判るように、健全な生存ラットの肝臓だけからのスペクトルが得られることを示したものである。一定磁場  $B_1$  を作るコイルが用いられ、 $B_0$  磁界を形成することによって、局限化がみごとに行われている。TMR は、局限部位の高分解能スペクトルを作ることを目的に設計されており、従って感度を維持し、共鳴線の分離を大きくするのに、実用上、最大の磁場強度を使用している。この感度は  $^{31}\text{P}$  の測定と、プロトン測定での利点でもあるスペクトル分散の点で特に有利となっている。高磁場での測定に於い

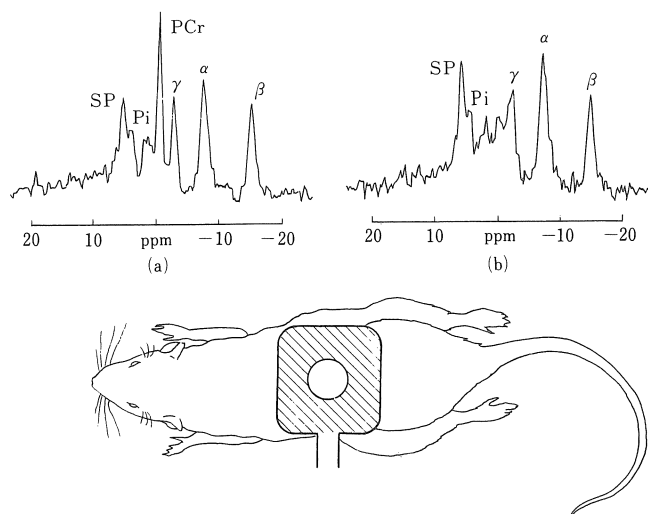
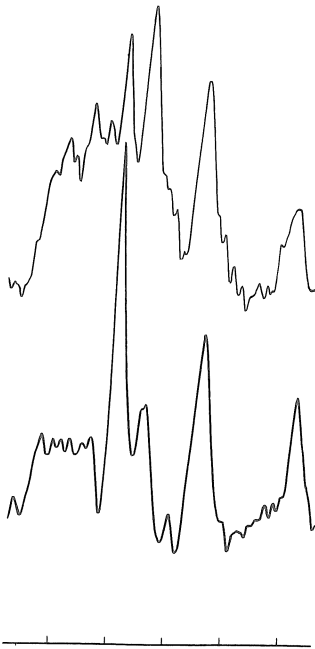


図 1

ては、高い周波数で測定されることになるので、プローブの設計が問題となる。TMR の磁場強度は 1.8 T であり、従って共鳴周波数は  $^{31}\text{P}$  で 32 MHz,  $^1\text{H}$  で 80 MHz となり、人間の胴体に適用しうる大きさのヘルムホルツコイルや、ソレノイドコイルを同調させるのは、不可能である。この点を克服する為 Surface Coil と TMR の補完機能が利用されている。主要臓器を測定するのに必要とされる径の Surface Coil は、必要な周波数で容易に同調することができる<sup>8)</sup> もし、心臓などの深部臓器を測定するのに十分な大きさの Surface Coil だけで測定すると、介在筋壁からのシグナルも現われる。しかしながら、もし Surface Coil の中央部の容積のみを、均質な磁場にする、図 2 のように高度に選択されたスペクトルが得られる。従来の研究で用いられた心臓のスペクトルとは異なり、図 2 のスペクトルは、静置するため麻酔処置された以外、何らの処置も施されていない健全ラットからのものである。このスペクトルは、検体が小さいにもかかわらず、わずか 2 分間の測定で得られたもので、より大きな人間の心臓の測定が可能であることを示している。



Spectrum a is taken with 4 cm surface coil placed on the chest and a 4 cm sensitive volume. Spectrum b is obtained with the sensitive volume reduced 2 cm.

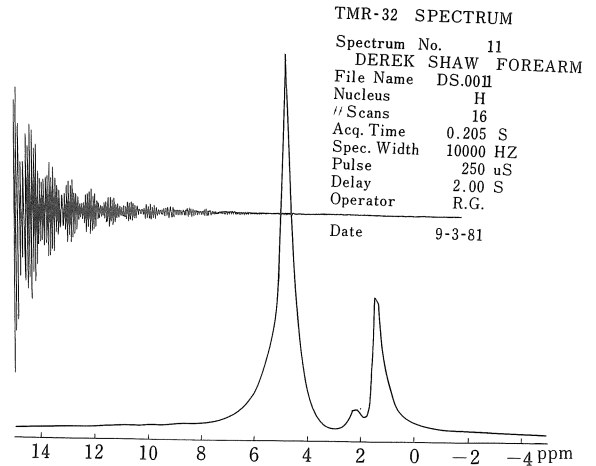
図 2

## 2. 応用

In vivo での最初のヒト組織（前腕）の高分解能プロトンスペクトルは、テネシー州ナッシュビルで行われた“The 1980 Nuclear Magnetic Resonance Imaging Symposium”で発表された（図3）。このスペクトルは、4 cm径の Surface Coil を用い TMR-32 スペクトロメータ（英国 OXFORD RESEARCH SYSTEM 社製）で、80.3 MHz で記録したもので、約 20 Hz のバンド幅をもっている。このタイプのスペクトルは、各四肢間、個人間でかなりの違いを示すが、主なピークは組織内の H<sub>2</sub>O と脂肪の CH<sub>2</sub> 鎖のプロトンからの二つである。もっと分解能を向上させれば、脂肪酸の各種のプロトン、つまり終末メチルのプロトン、メチンのプロトン、不飽和炭素と結合しているプロトンなどのラインに分離されるはずである。H<sub>2</sub>O と脂肪分の共

鳴成分の比は、検体内の筋肉繊維と貯留脂肪の比に相関すると考えてよい。女性を測定して見ると確かに、(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub> のピークの比が大きい。TMR では、これが迅速に測定できるので、筋ジストロフィーや、脂肪変性を起こしている症例の病理学的研究に、新しい技術として寄与できるかもしれない。

<sup>13</sup>C の NMR スペクトルのヒトの腕での測定を Fig. 4 に示す。腕での測定では、シグナルは脂肪のトリグセライドから得られており、このス



Proton Spectrum of human arm at 80.3 MHz.

図 3

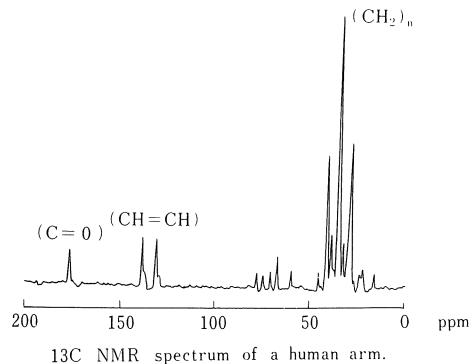


図 4

ペクトルから、飽和/不飽和炭素の比率を評価することができる。又、 $^{13}\text{C}$ は存在比が約1%しかない為、トレーサ研究も行われており、 $^{13}\text{C}$ で置換したグルコースを、経口投与したラットの肝臓のin-vivo測定で、代謝の研究が行われている<sup>10)</sup> 図3と図4のヒト前腕での $^1\text{H}$ 、 $^{13}\text{C}$ の測定は、現在数分で行われるようになった。腕はプラスチック製の架台を用いて、 $B_1$ コイルに正確に位置決めされており、“握り”強度を測定できるよう、ハンドグリップを設けた。図5は、ヒト前腕の $^{31}\text{P}$ スペクトルである。腕骨の存在と $B_0$ 、 $B_1$ 双方の磁場不均一性の為“重畳較差処理”が必要とされるが、リン原子核同志の同種核スピン結合をはっきりと示す、非常に良好な分解能をもったスペクトルが得られる。クレアチンリン酸(PCr)と無機リン(Pi)間のピークは、あまりはっきりしていないが、これ迄測定した7検体全てに認められていることから、ある程度のリン酸エステルが存在するものと思われる。Piピーク位置の計算から細胞内pH値は7.1を示している。

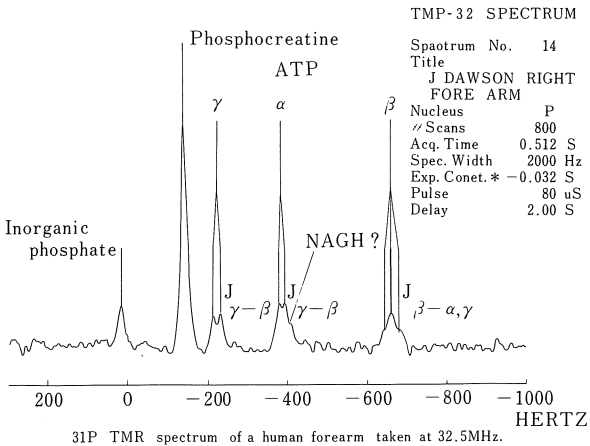


図5

腕からのスペクトルは数分で得られるので、血流障害による影響を経時的に測定することができる。図6は、上腕部に止血帯を施すこと

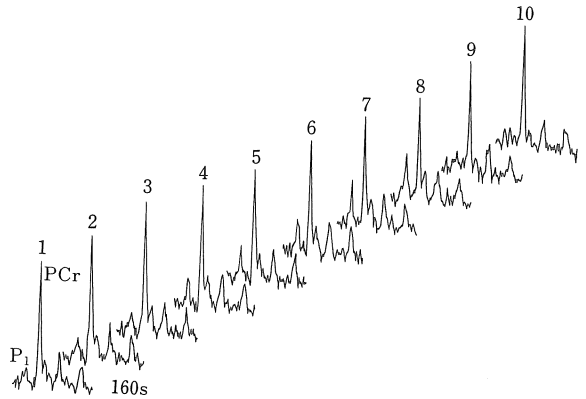


図6

によって、この影響を測定したもので、#2の測定後止血によりPCrの減少、Piの増加が顕著に示されており、#8で止血を解除後、速かにPCrとPiがもとのレベルへ復帰するのが見られる<sup>11)</sup>

TMRは、分解能は十分ではあるが、定量化の絶対較正という点では、ピーク面積が代謝生成物の濃度(mmol/kg)に比例することが確定できない為、慎重に対処する必要がある。結局絶対較正は、needle biopsyや手術で得る組織試料の化学分析値との比較に委ねられる。しかし残念ながら、満足しうる精度で絶対較正をするには化学分析とTMRの長所・欠点が補完しあうものである為、困難である。図7は、

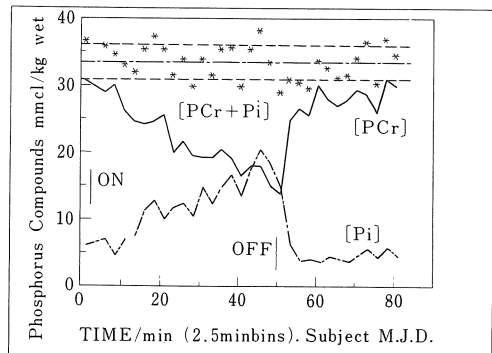


図7

58分間の完全血流停止とその後の経過を示したものである。PCr の低下とそれに対応している Pi の増加は、TMR が低酸素障害の測定に有用な装置となり得ることを示している。その他のピークは殆んど変化しないことと共に、PCr + Pi値が一定であることから、消費される飽和因数 (Pi で 1.22, PCr で 1.42) がほぼ正確であることが示され、その平均値 32.15mmol/kg は、化学分析値と完全に一致している。

これ迄の我々の実験から最も注意しなければならないことは、かなり迅速に処理した needle biopsy 法(凍結に約 6 秒を要する)でも、重大な誤差要因があること、つまり、PCr が分解し、Pi とクレアチン(Cr)が非常に高い値を示すことである。又、このことばかりでなく、ADP の濃度は Cr/PCr に比例し、AMP 濃度は (Cr/PCr)<sup>2</sup> に比例する。ADP と AMP は代謝制御に関する理論解析に重要なので、正確に測定する必要がある<sup>12)</sup>

### 3. 医学分野での高分解 NMR の

#### これからの応用面

NMR は、従来まで一般的に不可能、または非常に困難であった情報を与えてくれる無害・非侵襲的な手報である。このデータがどのように活用されるか、また、どんな活路が開けるか?、その答えは、おそらく以下に述べるところにあると思われる。

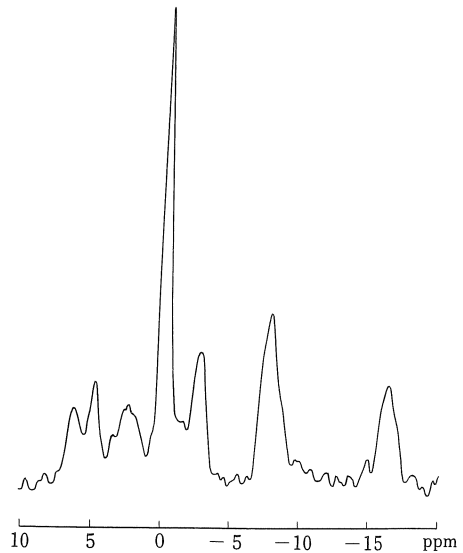
#### a. 末梢血管障害

この分野への応用は、マグネットが小さくて済む為、出発点として最も簡便なので、臨床学的トライアルとしては最初の領域となると思われる。1981年の前半から、OXFORDとPHILADELPHIAで、これらのトライアルが始まる。そこでの主要な目的は、下肢の虚血状態の定量化と薬理効果・効率のモニターにある。今後、各種の筋ジストロフィー、その進行度、及

び早期診断の可能性についての多くの情報の発表が期待される。

#### b. 脳梗塞

脳は、研究を行うのに非常に困難な器管である。図 8 に示すように、脳からも簡単にスペクトルを得ることができるので、その代謝状態をモニターできる。このような根本的なデータの利用は、現在、迅速・正確に決定を下すことが困難な診断に、役立つかも知れない。脳損傷の X 線診断は、本質的には、二次障害である水腫に基礎を置いている為、異常は水腫の発生迄、検出されにくい。



31p spectrum of the brain of anesthetised rat obtained with 20cm surfacecoil and 40mm sensitive volume.

図 8

#### c. 移植臓器の Viability

臓器の保存方法に関する有用な情報が既に得られている。移植前の腎臓のスクリーニングが OXFORD の Dr. G. Radda のグループで始められており、pH から判定する腎臓のいわゆる“健康度”と移植後の機能有効度の相関を確立することを目的としている<sup>13)</sup>腎の機能低下が虚血によるものか感染によるものかの識別を NMR ができるかどうか、今後の研究に待たれる。

#### d. 心筋虚血

TMR法での心臓の測定は、動いている器官のため、簡単では無いが、この技術上の問題はいずれ解決できると思われる。これが解決すれば、心筋の健康度と治療効果に関する貴重な情報が Needle biopsy のリスク無しに得られるであろう。

#### 4. 結語

NMRの応用分野は上述だけにとどまらない。例えば、本稿で紹介した研究はスポーツ医学でも重要性を持つ。また、肝臓や腎臓疾患に関して何を知り得るか？、更に癌の化学でNMRは我々に何を語ってくれるのか？、NMRの医学面での最初の応用は、プロトンのT-1による癌の検出であったが<sup>1)</sup> KoulcherやDamadianらによる<sup>31</sup>Pのin vitro測定でも sugar phosphateと無機リンが高いレベルであることが示されている<sup>14)</sup> 予備的なin vivo測定結果でも、動物の腫瘍組織が異常に高いレベルの sugar phosphateと無機リンを有し、その細胞内pHの低さが現在注目されている<sup>15)</sup> 本稿の目的はin vivo chemistryの測定に於けるNMRの幾つかの役割と背景を紹介することにあった。NMRイメージングが、X線CTイメージには無い新たな情報を与えてくれるかどうか、その分解能より秀れたものとなるか？、特長であるその安全性がどの程度まで重視されるか、今後を注目したい。筆者は、高分解能NMRが安全な非侵襲的in vivo chemistry測定をなし得ることを示し、臨床医学の分野に新たな次元が開けることを希望している。今後、医療や患者管理に適用されるであろう、in vivoでの代謝生成物濃度、反応比、組織特性、薬理効果の測定の可能性が、どんな反響を生じるか、これもまた、今後明らかになってくるであろう。

本稿を記すにあたり、御助力を賜った下記の方々に厚く謝意を表しておく。

G. K. Radda, D. G. Gadian

Dept. of Biochemistry, Oxford University

J. M. Dawson, D. R. Wilkie

Dept. of Physiology, University College

London.

#### 参考文献

- 1) Lauterbur P: Image formation by induced local interactions. *Nature*, 242, 190, 1973.
- 2) Damadian R, Minkoff L, Goldsmith M, Stanford M, Koutcher J: Field Focusing NMR (Fonar) Proc. 20th Ampere Congress, 253 — 260, 1976.
- 3) Nuclear magnetic imaging in medicine. Ed. Kaufman L, Margulis A. R, and Crooks L. Igaku-Shoin Inc, New York, 1981.
- 4) Gordon RE, Hanley PE, Shaw D, Gadian DG, Radda GK, Styles PE, Bore PJ, Chan L: Localisation of metabolites in animals using <sup>31</sup>P TMR. *Nature*, 287, 736 — 738, 1980.
- 5) Shaw D: Fourier transform nmr spectroscopy. Elsevier, 1976.
- 6) Campbell ID, Dawson CD, Williams RJP, Xavier AV: Resolution enhancement in aqueous solutions., *J. Magn. Res.* 11, 172, 1973.
- 7) Cresshull ID, et. al: CORSET a TMR shaping function. TMR Applications Note No. 123.
- 8) Ackerman JJH, Grove TH, Wong GG, Gadian DG, Radda GK: Mapping of metabolites in whole animals by <sup>31</sup>P NMR using surface coils. *Nature*, 283, 167 — 170, 1980.
- 9) Shaw D, Gordon RE, Hanley PE, Gadian DG, Radda GK, Styles P: Topical magnetic resonance studies of the human arm. *Proceedings of Nuclear Magnetic Resonance Imaging Symposium*, Nashville, Tennessee. In press.

- 10) Alger JR, Gordon RE, Shulman RE and Shaw D : In-vivo  $^{13}\text{C}$  in animals. In press.
- 11) Chalovich JM, Burt CT, Danon MJ et.al : Phosphodiesterases in muscular dystrophies. Ann. N. Y. Acad. Sci. 317, 649 — 668, 1979.
- 12) Dawson MJ, Edwards RE, Wilkie DR, Gadian DG, Radda GK, Cresshull ID, Gordon RE, Shaw D :  $^{31}\text{P}$  NMR studies of metabolites in the human forearm. Physiol. Soc. 24, 1981.
- 13) Bore PB, Chan L, French M, Gadian DG, Radda GK, Ross B, Styles P :  $^{31}\text{P}$  NMR of isolated human kidney. In press 1981.
- 14) Koutcher JA, Damadian R : Spectra differences in  $^{31}\text{P}$  NMR of normal and malignant tissue. Physiol. Chem. Phys. 9, 181 — 187, 1977.
- 15) Stephens AN, Iles RA, Griffiths JR, Gordon RE, Shaw D : TMR studies of tumours. Bioscience Report, to be published, 1981.

## 緩和時間

原子や分子中の核に、外から磁場 $H_0$ を加えても、核が感じる磁場の大きさは、正確には $H_0$ ではない。その原因は2つある、第一は、不対電子によるもので、磁場を強める。しかし、これはあまり一般的ではない。より重要なのは、第二の原因で、それは、電子の軌道運動によって $H_0$ と逆向きに生じる磁場によるものである。したがって、核が感じる磁場は、外から加えた $H_0$ より小さく、共鳴周波数 $\nu$ は

$$\nu = (r/2\pi)H_0(1 - \sigma)$$

となる。ここでは $r$ は回転磁化、 $\sigma$ は遮蔽定数である。

化学結合によって、電子密度の分布や、電子の軌道運動が変化する。このため、化学結合の様子によって $\sigma$ が異ってくる。化学種によって、共鳴周波数にずれが生じるので、このずれを化学シフトという。例えば、エタノール  $\text{CH}_3 - \text{CH}_2 - \text{OH}$  の3種のプロトンはそれぞれ化学シフトが異なり、異った周波数で共鳴する。磁場の均一

## 化学シフト

度を上げていくと、これら3種のプロトンの信号を分離して観測することができ、3本の共鳴線が得られる。さらに分解能を上げていくと、電子を介しての核スピンと核スピンとの相互作用による分裂を観測することもできる。このような状態で得られるNMRスペクトルを、高分解能スペクトルという。

高分解能スペクトルの測定から、分子の同定を行うことができる。例えば、リンの高分解能スペクトルの測定から、生体中のエネルギー代謝の様子を知ることができる。ATP、ADP、無機リン、クレアチンリン酸の化学シフトは、それぞれ異なり、それらの共鳴線が分離して観測される。信号強度は化学種の存在量に比例するので、エネルギー代謝に伴うそれぞれの化学種の増減を知ることができる。このように in vivo 高分解能スペクトルは、生体機能に関し、非常に重要な知見を与えてくれる。