

核磁気共鳴と神経病理学
—NMR 画像を用いた
研究について

Nuclear magnetic resonance
(NMR) in neuropathology—
Evaluation of NMR images

安里 令人 (京都大学脳神経外科学教室)
半田 肇 (同 上)

..... キーワード

¹H-NMR imaging, Blood-brain barrier, Relaxation time, Contrast enhancement, Paradoxical enhancement, 核磁気共鳴画像, 血液脳関門, Contrast enhancement, 奇異性増強, 緩和時間

..... 要 旨

A series of the sliced rat brain were imaged by proton nuclear magnetic resonance (¹H-NMR) imaging, using a Carr-Purcell-Meiboom-Gill pulse sequence. The slices were obtained from the adult male Wistar rats, normal or suffering from the cryo-injury-induced edema at 10 minutes, 2, 6, 12, 24, 48 hr, 3, 4, 5, 6, 7 days period after injury. The imaging time was arranged 3 to 15 minutes dependently upon NMR parameters. The slice thickness was 2 mm, and pixel dimensions were 0.2×0.2 mm.

Whereas a voxel size in our images is mere 1/700 compared to that reported about the prototype human NMR imaging devices, high resolution has been realized. The spatial resolution was very fine as evidenced by the appearance of major internal structures of rat brain, and the object contrast is so high that cerebral white-gray contrast was excellent, although the difference in water concentration between them was only 7~10%.

Signal intensity in NMR images is dependent not only on the density of hydrogen nuclei but also on both T₁ and T₂ relaxation time constants in local tissue. Pathological

process might be seemed to change the local environment of hydrogen nuclei and to take effects on their relaxation times, more than to change the hydrogen density. So that the extent of edema in gray matter were clearly shown with a striking contrast. Intravenously injected EDTA-2Na-Mn leaked from the circulating blood through damaged capillary wall, and showed "paradoxical enhancement" effect on NMR images. Thus paradoxical enhancement might be available to evaluate blood-brain barrier permeability changes in NMR images.

1 はじめに

核磁気共鳴 (nuclear magnetic resonance, NMR) の緩和時間測定によって病理変化を捉えられると Damadian が報告¹⁾ して以後数年間に極めて多数のデータが得られ活発な論争が展開された^{2,3)}。だがそれらは理論的な深化を欠き現象をつきつけ合うだけの不毛なものが多く、他方、生物物理学者による一見理論的な議論も実は簡単な系での概念を生体にあてはめたもので、生体自身に立脚して解析したものとはいえなかった。そうした中で Damadian の一派は多彩な実験結果を理論的に解析する努力を持続してきたが、現在のところ充分成功したとはいえない⁴⁾。プロトン核磁気共鳴画像法 (¹H-NMR・CT) の実用化により画像データに基づいて、あるいは焦点磁場法によって選択的に、生体局所の緩和時間を非侵襲的に測定できるようになった現在、画像の読み込みの深化の意味からも病理変化と緩和データの関係が再び注目され、大量のデータが提供され始めている。けれども (切除組織を用いた *in vitro* 計測でなく) *in situ* 測定という違いはあるものの緩和データの取り扱いは依然現象論の段階にとどまっている。

緩和時間は観測プロトンの物理的・化学的環境を反映するといわれ、病理変化に付随した細胞内外の環境変化を緩和データから捉えることが期待

されるのだが、更にいうなら、NMR 測定で得られる ①プロトン密度、②化学シフト、③緩和時間 (縦緩和時間 T_1 、横緩和時間 T_2)、のうち緩和時間、特に T_1 は観測核と環境 (格子) とのエネルギー交換を解析する指標となるもので、病理変化について物理学的解析に基づいた本質論的な議論を可能にすると考えられる (プロトン密度、化学シフトは観測核を静的・量的に捉えており議論の深化には寄与しない)。事実 NMR 画像では器質的变化が出現する前に虚血病巣を診断できるとされ⁵⁾、これは虚血に伴う脳組織の機能的変化が緩和時間を変化させることによると推測される。

もちろん生体は複雑な系で生体内の水についても多相性が指摘され⁶⁾、とりわけ細胞内外の水を生体内で個別に観測できないため NMR で観ているのは多相な水の加重平均でしかない。遥かに単純な系についても緩和時間測定は様々な問題点を内包しており、得られたデータの解釈についても基本的な難しさがある⁶⁾。だが、そのような困難を伴う縦緩和データの解析なくして NMR による病理学的研究はあり得ない。私達はこのような視点から 1978 年以来神経組織を対象とした NMR による研究をすすめてきた⁷⁻⁹⁾。更に昨年末から mini-NMR imager を用いラット脳切片を対象に NMR 画像への緩和時間の寄与について基本的な検討を行ない、同時に contrast enhancement 法と緩和試薬を併用した血液脳関門障害検索法を

開発した。NMR 画像を構成する NMR 信号強度はプロトン密度に依存するだけでなく緩和時間の寄与があるため、先に述べたように病理変化に伴う組織水の分子環境の変化によって緩和時間が変化することから、NMR 画像は病理組織を良好なコントラストで描出できると考えられる。NMR・CT は臨床検討がすすめられ種々の撮像方法について緩和時間の寄与の問題が議論され¹⁰⁾、contrast enhancement 法についても報告があるが¹⁰⁾ 系統的な研究は少ない^{11,12)}。小動物を用いた実験的研究がとりわけ重要と考えられる。

2 試料および方法

2.1 実験モデル

体重 300~350g 雄性 Wistar 系ラット 34 匹を用い Klatzo らの方法¹³⁾ に準じて凍結損傷による脳浮腫を作成した⁸⁾。Somnopentyl[®] 腹腔内投与により麻酔したあと右頭頂部で冠状縫合より 2mm 後方、矢状縫合より 2mm 外側に直径 2mm の穿頭を行ない液化室素中で冷却した金属棒を 30 秒間当てて凍結損傷を作成した。Klatzo らは硬膜を開放し脳表を直接冷却したが、ラットの場合硬膜上から冷却しても脳表や脳内に出血させ易い。私達はごく薄く頭蓋骨内板を残しその上から金属棒を当てるようにした。この方法により出血させることなく、しかも均質な凍結損傷を容易に作成できるようになった。ラットは瀉血により殺し密封加湿箱内で病巣を含む厚さ 2mm の冠状断脳切片を得、直ちに深さ 3mm 内径 17mm のアクリル容器内に封入した。切片の断面はカバーガラスで覆い水分蒸発をできる限り防いだ。試料は氷冷保存し切片採取後 60 分以内に撮像を開始したが、このようにすれば脳組織の緩和時間は殆んど変化しない⁸⁾。脳浮腫の時間経過を検討するため、凍結損傷作成 10 分後、2, 6, 12, 24 時間後、2, 3, 4, 5, 6, 7 日後に試料を採取して撮像した。同一条件で実験を 2 回繰り返し再現性を確かめた。

2.2 マンガン投与

水溶性で安定な第一マンガン塩の 1 つである塩化マンガンが緩和試薬として用いられた¹⁴⁾ NMR 画像でも造影剤として用いた報告がある^{15,16)}。しかし塩化マンガンの水溶液は強い酸性で蛋白を凝固させ、そのままでは大量に静脈内へ投与できない。マンガンを化学的に EDTA に結合させた EDTA-2Na-Mn 塩 (Analytical grade, Nakarai Chemical LTD, Kyoto) の水溶液は中性でしかも体外排泄が速やかであって、脳、肝臓、腎臓へ蓄積されない (Asato R and Ueda T: unpublished data) ため静脈内へ大量に投与できる。脳切片採

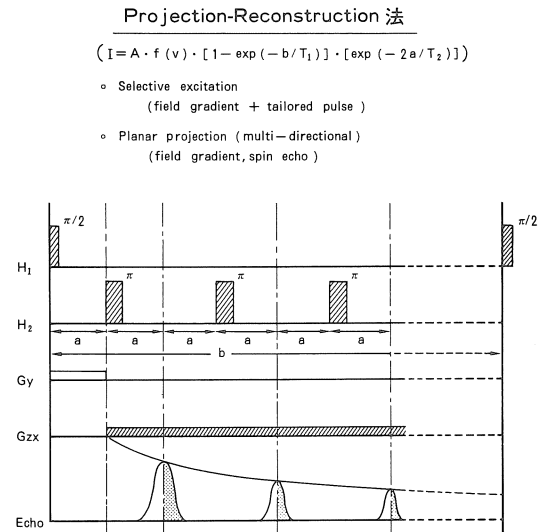


図 1 撮像のためのパルス系列

私達が用いた Carr-Purcell-Meiboom-Gill パルス系列では図 2 の回転座標系で時刻 $t=0$ で X' 軸方向に励起磁場 \vec{H}_1 を短時間与えて \vec{M}_0 を Y' 軸まで回転させ、 $t=a$ で今度は Y' 軸方向の観測磁場 \vec{H}_2 によって \vec{M}_0 を Y' 軸を中心に 180° 回転させて $t=2a$ でエコー信号を得る。勾配磁場 G_{zx} の重畳下で \vec{H}_2 は 1 回のパルス系列につき 8 回反復され、得られた 8 個のエコーを積算する。1 方向の投影データを得るのに 12 回パルス系列を反復し、そのあと投影方向を 4° 回転させて次の測定を行なった。

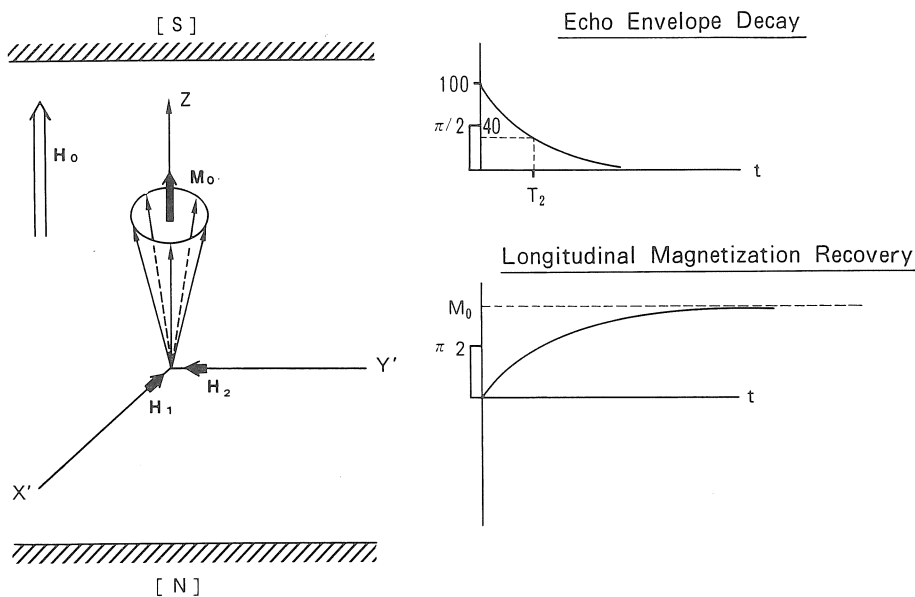


図 2 横緩和曲線と縦緩和曲線

右側上段の図に示されているように、エコー強度は T_2 を時定数とした指数函数的減衰を示す。

右側下段の図が示すように、 90° パルス（励起パルス）直後の縦磁化は 0 であるが、時間と共に T_1 を時定数とした指数函数的な回復を示す。初期値 M_0 を回復するには T_1 の 10 倍程度の時間が必要だが、実用的には 4~5 倍の時間待てば良い。

取 2 時間前に 0.1~0.2mM/100g 体重を 静脈内 および 腹腔内へ投与した。凍結損傷後 2, 6, 24, 48 時間後の ラットで 非投与群と 投与群を 対にして 比較検討し Mn-EDTA の 効果を観察した。同一実験を 2 度 反復し 再現性を 確かめた。

2.3 NMR 画像法

撮像装置は、京都大学理学部物理学教室端研究室と三洋電機中央研究所矢崎研究室が共同で開発した物を用いた。

私達 が 用いた 撮像 方法 は X 線 CT と 同 じ 投 影 再 構成 法 である (図 1)。4.7K gauss (19.8MHz) の電磁石を用い 0.1 gauss/mm の線型勾配磁場の重畳下で Carr-Purcell-Meiboom-Gill パルス系

列によるスピノエコー法で NMR 信号を得た。1 回のパルス系列で 8 個のエコーが得られるが、1 方向の投影につき 12 回パルス系列を反復し 96 個のエコーを積算して S/N 比の改善を図った。高分解能を実現するためエコーの安定化には充分注意した。通常は図 1 の a パラメーター (T_2 パラメーター) を 9msec, b パラメーター (T_1 パラメーター) を 1.6sec に定めて撮像し、1 画像の撮像時間は約 15 分であった。contrast enhancement 画像では b パラメーターを 0.3 又は 0.6sec とし、この場合撮像時間は約 3 分又は約 5 分であった。今回の実験では Y 方向のスライス面決定は行なわず G_x は用いていない (ここで、主磁場の方向を Z 軸とする)。脳切片は ZX 平面に平行に内径

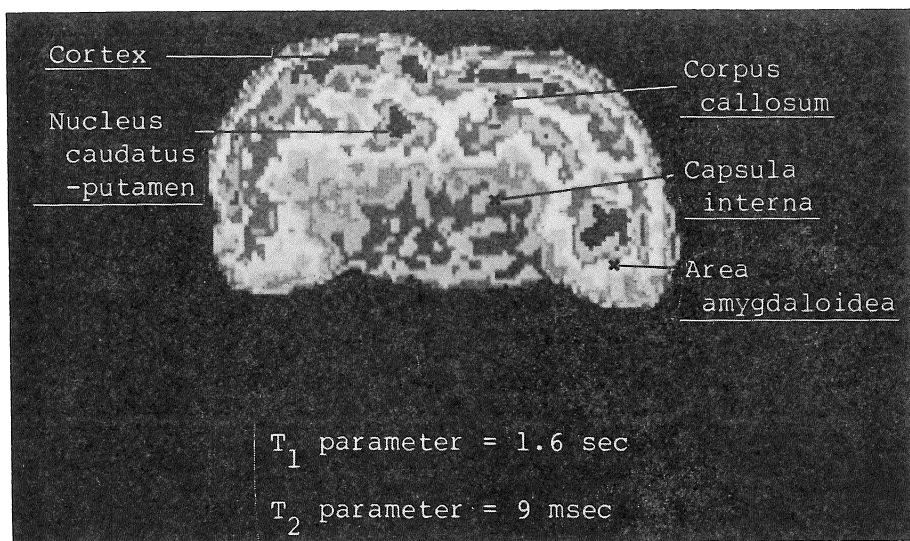


図 3 正常ラットの脳切片の NMR 画像

ラット大脳冠状断切片の NMR 画像で、切片の厚みは 2mm、撮像時間は 15 分であった。巨視的な内部構造がコントラスト良く捉えられている。私達の画像では、画面に向かって右側がラット大脳の左半球となるように表示されている。白黒表示の場合、白に近いほど信号強度が強いことを示す。(但し本稿の画像はカラー画像を白黒に焼き直した物で、信号強度表示はオリジナル画像とやや異なる)

20mm の RF (radio frequency) コイル内に挿入し 45 方向の投影データから CT のアルゴリズムに従い投影再構成法によってプロトン (水素原子核) の密度分布を計算し画像を得た。

画像は 85×85 のマトリックスを 170×170 に補間して構成され pixel の大きさは 0.2mm² である。16 階調の白黒濃淡および 16 色調のカラーで画像を表示したが白黒濃淡表示の場合は白いほど信号強度が強いことを示し、カラー表示の場合も白が最も信号強度が強いことを示す。contrast enhancement 効果の評価にあたっては window level と width を変え相対的な信号強度比を詳細に読み取った。

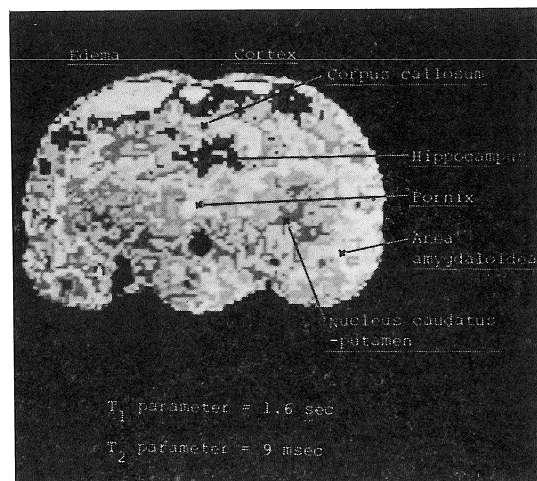


図 4 凍結損傷 10 分後の NMR 画像

切片の厚みは 2mm、撮像時間は 15 分であった。右大脳灰白質表層の白色領域が凍結損傷に伴う浮腫性病変を示す。

3 結 果

3.1 浮腫の時間経過

私達の画像の分解能は 0.2mm 以下と考えられ⁹⁾ 幅が 0.2~0.4mm である脳梁を始め脳切片の内部構造が明瞭に捉えられた(図3).

凍結損傷による浮腫領域は信号強度増強部として画像に現われ、損傷を加えて10分後に既に明瞭な変化を認めた(図4). 画像上の病巣は組織学的変化よりやや広範に及ぶような印象を受けた. 灰

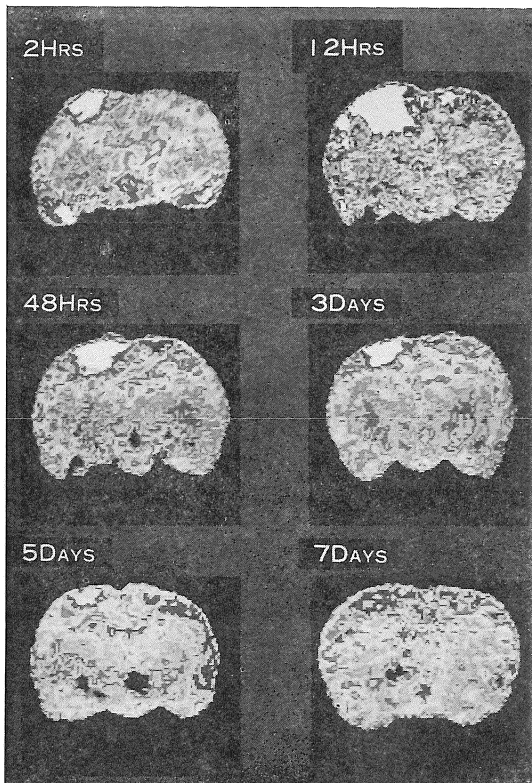


図5 脳浮腫の経時変化
各脳切片は凍結損傷作成後2, 12, 48時間, 3, 5, 7日後に撮像した. 切片の厚さはすべて2mmで撮像時間は15分であった. 右頭頂部灰白質に白色の領域として示されている浮腫性病変の時間的な変化が良く捉えられている.

白質内で浮腫は次第に増強して深部に広がり、損傷作成12時間後に最大となった. 浮腫性変化は損傷部から垂直に深部へと広がり、側方へは殆んど広がらず、また信号強度は損傷を加えた皮質表層直下が最も強く、その部分を中心とした周辺への信号強度勾配が全経過を通じて認められた. 浮腫性変化は損傷後6時間頃に脳梁に達し、24~48時間にかけて脳梁内を拡散していくのが観察されたが灰白質での変化はこの時期には既に消褪傾向を示した. 脳梁での明瞭な浮腫性変化は72時間以後の画像では認められなかった. 72時間では浮腫性変化は縮小して脳梁を離れ、以後次第に褪縮して7日後には殆んど左右差を認めなくなった(図5).

NMR画像でwindow処理を行なうと信号強度分布を詳細に検討できるが、先に述べたように凍結損傷5日後まで、灰白質表層直下の凍結病巣を頂点とし同心円状に広がる信号強度勾配を浮腫性病変領域内で観察できた(図6). この同心円の

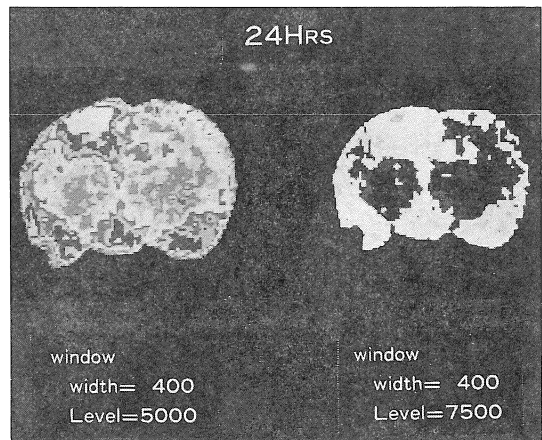


図6 Grading操作
window levelが5000の画像(左側)で一様に見える浮腫領域内部の信号強度勾配がlevelを7500に変えた右側の画像で良く示された. 信号強度は含水量を反映しており、この方法によって浮腫液の拡散状態を検討できると考えられた. 凍結損傷24時間後.

大きさは時間経過に伴って変化したが生中心部分の健側灰白質と比較した相対的な信号強度は殆んど変化しなかった。

3・2 contrast enhancement, paradoxical enhancement

パラメーター b を 1.6sec から 0.6sec に短縮すると NMR 信号強度が著明に減弱し、この効果は浮腫性病変領域で著しかった(図7)。私達はこれをパラメーター依存の reversed enhancement 効果と名付けた。

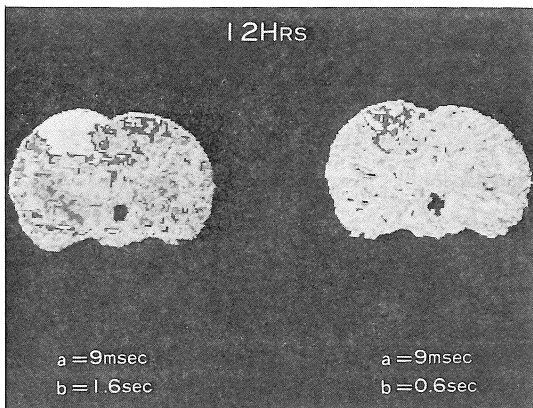


図7 Reversed enhancement

パラメーター $b=1.6\text{sec}$ でコントラスト良く描出されている浮腫性病変が(左側) $b=0.6\text{sec}$ では極めて不明瞭になった(右側)。凍結損傷12時間後(See Text)。

また Mn-EDTA 投与群では $b=1.6\text{sec}$ で浮腫性病変領域の信号が弱められ(図8)著しい例では正常灰白質より信号強度が低下した(図9)。しかし同じ脳切片の撮像でパラメーター b を 0.3 又は 0.6sec にすると浮腫性病変領域と正常灰白質との信号強度差が著しく拡大され、浮腫性病変が明示された(図8, 9)。NMR 画像に対する Mn-EDTA のこのような効果を、私達は paradoxical enhancement 効果と名付けた。

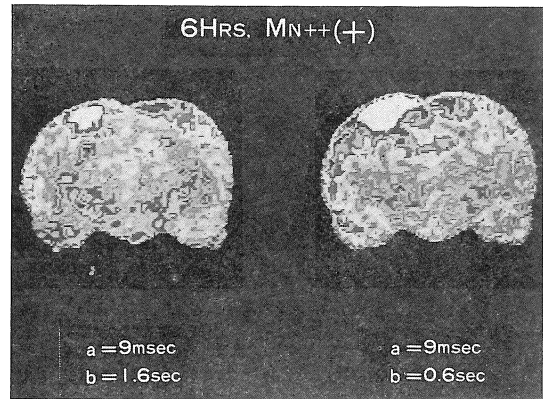


図8 Paradoxical enhancement

パラメーター b を 1.6sec から 0.6sec に変えると図7とは逆に浮腫領域が強く増強された。凍結損傷6時間後、Mn-EDTA 投与2時間後(See Text)。

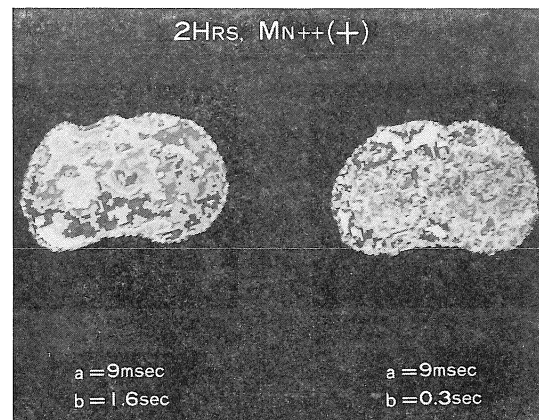


図9 Paradoxical enhancement

$b=1.6\text{sec}$ では図5の画像で認められた浮腫性病変が消失した(左側)。 $b=0.3\text{sec}$ にすると病変領域が描出された(右側)。凍結損傷2時間後、Mn-EDTA 投与2時間後(See Text)。

4 考 按

4・1 核磁気共鳴画像の特質

核磁気共鳴画像法によれば放射線を用いずに生

物体の断面像を撮像できる。プロトン核磁気共鳴画像法 ($^1\text{H-NMR}\cdot\text{CT}$) で得られる画像はプロトン(水素原子核)の組織内密度分布を反映するが、脳組織に含まれるプロトンのうち水以外の分子中のプロトンからの共鳴信号は幅が広くて高さが低く、NMR 画像構成には寄与しないと考えられる(図10)。このため、蛋白や脂質中のプロトンは灰白質と白質でプロトン全体の14%及び25%を占めるが、画像には反映されない(表1)。従って私達の脳切片画像は水プロトンの密度分布を反映しており、水の組織内濃度分布に基づいていると

表1 Fraction of hydrogen in brain (guinea pig)
From Basic Neurochemistry, Little, Brown, 1972; J Neurochem 7: 259-263, 1961; J Neurochem 9: 115-118, 1962.

	Gray matter	White matter
protein	7%	8%
lipid	7%	17%
water	86%	75%
total % in tissue	64.66	63.99

考えられる。だが NMR 画像で信号強度はプロトン密度だけで決まるのではなく、緩和時間の寄与がある。

NMR 画像法では多重パルスを用いて信号を得る方法が一般的であり、また1個の信号から直ちに1枚の画像は構成できず、何回か測定を繰り返して集積したデータを処理し画像を得る。このような条件下ではプロトン密度だけでなく縦緩和時間 (T_1 : 観測核と環境との相互作用を反映する)、横緩和時間 (T_2 : 観測核とそれと取りまく同種核との相互作用を反映する) 及び巨視的なプロトンの移動(たとえば血液の移動)が信号強度に反映される。私達は Carr-Purcell-Meiboom-Gill パルス系列を用いたスピネコー法よりプロトン信号を得(1回のパルス系列で8個のエコー信号を測定する)、パルス系列を12回反復して1方向の投影データを得た。この場合 Davis らが指摘した¹¹⁾ ように、第1エコーの信号強度は次の式で表わされる。

$$I = A \cdot [1 - \exp(-b/T_1)] \cdot [\exp(-2a/T_2)] \quad [1]$$

ここで A はプロトン密度により決まる定数、 T_1 、 T_2 は観測核の緩和時間、a、b は図1に示す変数である。[1]式は信号強度 I がプロトン密度 A のみによって決まらず、a、b が一定条件下では T_1 が短いほど、 T_2 が長いほど信号強度が大きくなることを示している。私達は多数個のエコーを積算しているため [1] 式を直接当てはめられないが、

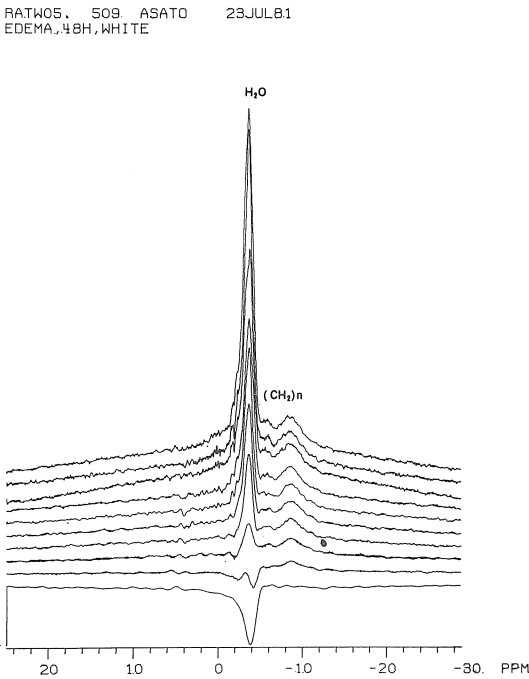


図10 ラット脳組織の NMR スペクトル
切除脳組織を用いた T_1 実験を示す。それぞれの $^1\text{H-NMR}$ スペクトルは Nicolet FT-1180 NMR スペクトロメーター (300 MHz, 京都大学工学部石油化学教室) を用い、室温で測定された。主要な共鳴信号のうち左側の鋭く大きなピークが水プロトン由来のもので、脂肪鎖のプロトンからの信号は幅で高さが低いことが分る。

矢張り T_1 が短く T_2 が長いほど信号強度は大きくなると云える。

静磁場 \vec{H}_0 に置かれたプロトンの核スピンは磁場の方向に配向して Z 軸を中心に才差運動を始め +Z 方向に巨視的磁化 \vec{M}_0 を生じる。Carr-Purcell-Meiboom-Gill パルス系列では時刻 $t=0$ で X 軸方向に励起パルス \vec{H}_1 を与えて \vec{M}_0 を X 軸を中心に 90° YZ 平面内で回転させ、XY 平面に置かれた受信コイルに誘起される電流として NMR 信号を得る。この NMR 信号の強度は主として核スピン-スピン相互作用及び磁場の不均一性に基づく才差運動の位相のズレによって急速に減衰するが、時刻 $t=a$ で Y 軸方向に観測パルス \vec{H}_2 を与えて \vec{M}_0 を Y 軸を中心に 180° 回転させると位相のズレが回復され、 $t=2a$ でエコー信号を得ることができる。観測パルス \vec{H}_2 をパルス間隔 $2a$ で反復することにより数個のエコーを連続して得ることができるが(図1), エコー強度は指数函数的に減少する。この減衰の時定数が T_2 であり、 T_2 が長いほど減衰の程度はゆるやかである(図1; 図2の echo envelope)。私達は連続的に得られた8個のエコーを積算したが、そのようにすると T_2 が長いプロトンほど信号強度が強くなるのが分る。他方、磁化 \vec{M}_0 は励起パルス \vec{H}_1 を与えた後指数函数的な回復過程を示し、その時定数が T_1 であるが、一度励起されたプロトンが熱力学的な平衡状態に復帰するには少なくとも T_1 の10倍程度の時間が必要である(NMR測定上は T_1 の5倍程度の時間を置けば、ほぼ問題無いと云われている)。このとき T_1 が短いほど初期値 M_0 を早く回復し、同じ時間で T_1 の長いプロトンは M_0 より小さな値にしか復帰しない(図2)。私達の撮像ではパルス系列の繰り返し時間(パラメーター b)を最適値の30~50%にとったため磁化が完全に熱力学的な平衡状態に復帰する前に次のパルス系列が始まり、 T_1 が長いプロトンほどこの影響を強く受けることが分る。即ち T_1 が長いプロトンほど回復が不十分な状態で次のパルス系

列が開始されるため、そのときの初期値は M_0 より小さくなり、これは信号強度に対して見かけ上プロトン密度が減少したのと同じ減弱効果を与える。このように私達の撮像法でも T_2 が長く T_1 が短いプロトンほど強い信号強度を示すことが分る。

以上で見てきたように画像の基礎になる NMR 信号の強度はプロトン密度だけでなくプロトン緩和時間の寄与を受けるが、病的組織ではプロトン密度が変化するだけでなく病理変化に伴う局所の分子環境の変化に起因する効果によってプロトン緩和時間に顕著な変化を認めることが報告されており³⁾、このため NMR 画像は病的組織を非常にコントラストよく描出できる。これに対し X線 CT は本質的に組織の比重に対応した画像を示しており、疾病に伴う化学変化は反映し得ない¹⁷⁾。

ところで、緩和時間の違いをいかにコントラスト良く示すかはパルス系列の種類及び、[1]式が示すように、パルス系列のパラメーター値に依存する。従って NMR 画像の質は測定法によって変化し¹²⁾、またパラメーター値を変えることによって contrast enhancement を行なえるが(図8)逆に contrast が不明瞭になることもある(図7)。

4・2 浮腫性病変の時間経過

私達の脳切片画像は脳組織内の含水量分布を反映する。私達の画像で含水量差7~10%程度の灰白質と白質が、良好なコントラストで描出された(図3)。

脳浮腫組織では T_2 延長が T_1 よりも著明で⁸⁾プロトン密度が強調されるため、浮腫に伴う含水量変化が数%以内であるにも拘らず¹⁸⁾灰白質の病変がコントラストよく捉えられた(図4, 5)。このため微小区域での病変の強さの差を容易に評価でき(図6)、凍結損傷作成10分後の病変の拡がりも容易に観察できた(図4)。10分後の画像で凍結病巣と反対側の灰白質表層にも軽度の変化が認められたが、これは頭蓋骨が冷却され対側半

球表面も影響を受けたためと考えられ、この病変は2時間後の画像では消失した。浮腫は凍結病巣から深部へ楔状に伸展して脳梁に達し12時間後に最強となるが、側方へは殆んど拡がらなかった。脳梁内を側方へ拡がって行く様子が24~48時間後に認められたが、このとき灰白質病変は既に収縮傾向を示しており、脳梁病変も72時間後には消失した。灰白質病変は次第に縮小し、7日後には殆んど左右差を認めなくなった。ラットは大脳白質が未分化であり凍結損傷実験では灰白質での浮腫性変化が主要な病像で、その頂点は12~24時間に在ると考えられる。一方猫を用いた場合は白質病変が主と云われ、灰白質では含水量変化も僅かだと報告されており¹⁸⁾、この場合浮腫病変は48~78時間で最も強度とされる。ラットにも猫での結果をそのまま演用し浮腫性変化が48~72時間で頂点に達するという議論があるが¹⁹⁾、含水量を示標とする場合ラットのような小動物で灰白質・脳梁につき個別に精密な測定を行なうことは困難であり、私達の結果によれば12~24時間が頂点と考えられる。このような灰白質病変の時間経過は、猫を用いた Klatzo の組織学的研究¹³⁾ とよく一致した。Klatzo の結果では白質で線維間隔が縮小したあと astrocyte の膨化が72時間以降に著明になるとされる¹³⁾。ラットの脳梁は厚さが0.2mm程度と薄く画像の分解能の点で限界があり、そのため脳梁での修復過程を十分に捉えられなかった可能性もあるが、これらの点に関する解析を現在進めている。

4・3 paradoxical enhancement 効果と血液脳関門障害

血液脳関門(BBB と略す)の障害は脳病変に伴う主要な病理変化の1つであるが、臨床上有いは実験的研究において BBB 機能を知ることは重要である。生体内でそのような検討を行なう場合は解剖学的構造を視覚化した画像に依る必要があるが、従来の方法では不十分であった。X線 CT

では造影剤濃度とX線減弱係数との間に直線関係があり、BBB 障害部位では造影剤の血管外漏出が認められるため contrast enhancement 効果を指標に BBB 機能を検索することが可能だと云われてきた²⁰⁾。しかし同じ投与量と投与方法で enhancement 効果が一様でないこと、血管床増大が enhancement 効果の一方の要因となることなどから、結果の解釈は不明確であった。また ⁸²Rb-PET で血管外への ⁸²Rb 漏出を画像化でき感度が優れているが²¹⁾、脳断面の解剖図は得られず、しかも分解能が劣る。われわれは EDTA-2Na-Mn 塩の relaxation rate enhancement 効果と a, b パラメーターによる contrast enhancement 効果を組み合わせることにより BBB 障害を NMR 画像を用いて検索する方法を開発した。Mn⁺⁺, Co⁺⁺ などの常磁性金属は水溶液のプロトン NMR 緩和時間を著明に短縮し、画像を修飾する。マンガンは通常の水溶性塩の形では静脈内に投与できないが EDTA と化学的に結合させることにより水溶液の pH は7.0になり、加えて体外排泄が良好なため大量投与が可能になる(Asato R and Ueda T: unpublished data)。

Mn-EDTA 非投与例で T₁ パラメーター b を 0.6sec にすると 1.6sec の画像に比べ浮腫領域のコントラストが著明に低下した(図7)。先に検討したように T₂ の延長と T₁ の短縮は信号強度を強める働きがあるが、それはパルス系列のパラメーターの条件にも依る。浮腫組織では T₂, T₁ とともに延長しているが⁸⁾、b=1.6sec では T₂ 延長の寄与が優勢で信号強度が増強される。しかし b=0.6sec では T₁ 延長の寄与が優勢になるため信号が弱められ reversed enhancement が起こったと考えられる。一方 Mn-EDTA 投与例では BBB 障害部で血管壁を透過した Mn-EDTA が浮腫組織に分布し、その部位のプロトン NMR 緩和時間を短縮すると考えられる。b=1.6sec では T₂ 短縮の寄与が大きくて信号強度が弱められ、浮腫領域と健常部とのコントラストが低下し、甚しい場合に

は浮腫性変化を認めなくなると考えられる (図9). しかし $b=0.3\text{sec}$ では T_1 短縮の寄与が優勢となり、浮腫領域が著明に摘出された (図9). Mn-EDTA は同一条件で健常脳切片画像には何ら効果を示さず、このことは Mn-EDTA が BBB 障害部だけで画像に影響を与えることを意味しており、BBB 障害部から漏出した Mn-EDTA が脳組織に分布していることを示している. Mn^{++} はパラメーター a , b が持つ信号強度の増強作用に対してこのように特異な効果を示し、私達はそれを paradoxical enhancement 効果と名付けた. NMR 画像で Mn-EDTA の paradoxical enhancement 効果は BBB 障害を示すと考えられる. ラットの凍結損傷脳浮腫で、損傷作成 24 時間後までは paradoxical enhancement を認めたが 48 時間では不確実であった. BBB は機能概念であり多種の溶質に応じて多様な機構が想定される²²⁾. EDTA-2Na-Mn (mol. wet. 429.16) は ^{82}Rb などの金属イオン群と ^{131}I -Albumin など巨大分子の中間に位置する物質に対する barrier 機構を検索できると考えられる.

5 結論

1. ラットの凍結損傷による脳浮腫で NMR 画像上、灰白質病変は 12 時間後に頂点に達し 24 時間以降は消褪した.
2. 脳梁では 24~48 時間後の画像で病変の出現を認めた. 72 時間以後には変化を認めなかった.
3. NMR 信号の強度はプロトン密度だけでなく、 T_1 , T_2 緩和時間の寄与を受ける. 病変に伴う局所の分子環境の変化が緩和時間を変化させるため、NMR 画像はコントラストよく病変を描出できる.
4. NMR 画像ではパルス系列のパラメーターにより contrast enhancement が行なえる.
5. Mn-EDTA の paradoxical enhancement 効果を用いて BBB 障害を NMR 画像で検索でき

る.

6 謝辞

稿を終えるにあたり、御指導を賜りました京都大学理学部物理学教室・端恒夫教授に深甚の謝意を捧げます. また快く実験の機会を与えて下さいました京都大学工学部石油化学教室・森島績助教授に感謝致します. mini-NMR・CT の実験機は三洋電機 (株) 中央研究所矢崎研究室の八田純一、菰池光高両研究員らによって開発されたもので、八田主任研究員には特にお世話を戴きました. 厚く御礼申し上げます.

本論文の要旨は第 2 回 NMR 医学研究会 (1982 年 7 月 於東京) にて発表した.

文献

- 1) Damadian R: Tumor detection by nuclear magnetic resonance. *Science* 171: 1151-1153, 1971.
- 2) 齊藤肇: 生体組織の水およびイオン. In 赤坂一之, 飯塚哲太郎, 京極好正, 森島績 (編). *NMR の生化学への応用*, 化学同人, 京都, 1976, p. 153-169.
- 3) Hazlewood CF: A view of the significans and understanding of the physical properties of cell-associated water. In Drost-Hansen W (ed) *Cell-Associated Water*. Academic Press, New York, 1979, p. 165-259.
- 4) Damadian R. ed: *NMR 19: NMR in Medicine*. Springer-Verlag, New York, 1981.
- 5) Buonanno FS: personal communication.
- 6) 赤坂一之, 井元敏明: 第 4 章の補遺. In ファラー, ベッカー (赤坂一之, 井元敏明共訳) *パルスおよびフーリエ変換 NMR*. 吉岡書店, 京都, 1976, p. 147-161.
- 7) 西川弘恭, 安里令人ら: 陽イオンの神経組織内代謝への影響のリン NMR による研究. 第 26 回日本生化学会近畿支部例会抄録集, 京都, 1979 年

- 6月8日。
- 8) Asato R, Murata T, et al.: NMR: Its application to the experimental study of hydrocephalus and brain edema. *Brain and Nerve* 33: 603-609, 1981.
 - 9) Asato R, Handa H, et al.: Nuclear magnetic resonance (NMR) imaging of brain edema from sliced rat brain. Preliminary report. *Brain and Nerve* 34: 881-886, 1982.
 - 10) Abstracts of the First Annual Meeting of the Society of Magnetic Resonance in Medicine, Boston, Massachusetts, August 16-18, 1982.
 - 11) Davis PL, Kaufman L, et al.: NMR characteristics of normal and abnormal rat tissues. In Kaufman L, Crooks LE, Margulis AR (eds) *Nuclear Magnetic Resonance Imaging in Medicine*. Igaku-Shoin, Tokyo, 1981, p. 71-100.
 - 12) Young IR, Bailes DR, et al.: Initial clinical evaluation of a whole body nuclear magnetic resonance (NMR) tomograph. *J Comput Assist Tomogr* 6: 1-18, 1982.
 - 13) Klatzo I, Piraux A, et al.: The relationship between edema, blood-brain-barrier and tissue elements in a local brain injury. *J Neuropath Exp Neurol* 17: 548-564, 1958.
 - 14) Ashley DL, Goldstein FH: The application of dextran-magnetite as a relaxation agent in the measurement of erythrocyte water exchange using pulsed nuclear magnetic resonance spectroscopy. *Biochem Biophys Res Commun* 97: 114-120, 1980.
 - 15) Brady TJ, Goldman MR, et al.: Proton nuclear magnetic resonance imaging of regionally ischemic canine hearts: Effect of paramagnetic proton signal enhancement. *Radiology* 144: 343-347, 1982.
 - 16) Mendonca Dias MH, Lauterbur PC, et al.: The use of paramagnetic contrast agents in vivo studies. In Abstracts of the First Annual Meeting of the Society of Magnetic Resonance in Medicine, Boston, Massachusetts, August 16-18, 1982, p. 105-106.
 - 17) Oldendorf WF: Some possible application of computerized tomography. *J Comput Assist Tomogr* 4: 141-144, 1980.
 - 18) Reulen HJ, Graham R, et al.: The role of tissue pressure and bulk flow in the formation and resolution of cold-induced edema. In Pappius HM, Feindel W (eds) *Dynamics of Brain Edema*. Springer-Verlag, New York, 1976, p. 103-112.
 - 19) Long DM, Mazwill R, et al.: A new therapy regimen for brain edema. In Pappius HM, Feindel W (eds) *Dynamics of Brain Edema*. Springer-Verlag, New York, 1976, p. 293-300.
 - 20) Gado MH, Phelps ME, et al.: An extravascular component of contrast enhancement in cranial computed tomography. Part II: Contrast enhancement and the blood-tissue barrier. *Radiology* 117: 595-597, 1975.
 - 21) Yen C, Budinger TF: Evaluation of blood-brain barrier permeability changes in rhesus monkeys and man using ^{86}Rb and positron emission tomography. *J Comput Assist Tomogr* 5: 792-799, 1981.
 - 22) Davson H: The blood-brain barrier. *J Physiol* 255: 1-28, 1976.