

# 総説

## TMR (topical magnetic resonance)による生体内リン化合物の測定

In vivo measurement of phosphorus energy metabolites by topical magnetic resonance

亘 弘 (岡崎国立共同研究機構生理学研究所)  
肥塚 泉 (大阪大学医学部耳鼻咽喉科)  
高田宗春 (名古屋大学医学部脳神経外科)  
成瀬昭二 (京都府立医科大学脳神経外科)

### キーワード

TMR,  $^{31}\text{P}$ -NMR, 生体内リン化合物, ラット頭部

### 要旨

TMR (topical magnetic resonance) 装置の概要ならびにその測定方法を説明する。デジタルフィルターの効果を phantom を用いて示し、これを用いたときのパルス幅測定について述べる。さらにラット頭部を用いたときのパルス幅測定と  $^{31}\text{P}$ -NMR スペクトルを示す。この  $^{31}\text{P}$ -NMR スペクトルではクレアチンリン酸、ATP、ADP などのエネルギー代謝産物が良好に観察できた。

## 1 緒言

NMR 法の医学生理学への応用は近年急速に展開され、その測定対象は摘出組織から始まり、灌流を行なっている臓器<sup>1-10)</sup>、さらには生きたままの動物<sup>11-13)</sup> というように *in vitro* より *in vivo* へと広められてきた。最近では生きた動物の局

所の NMR スペクトルを選択的に測定する事ができる TMR<sup>14-21)</sup> (topical magnetic resonance) が開発され、動物はもちろん人間の筋肉中に含まれる ATP、クレアチンリン酸などのエネルギー代謝産物の測定が行なわれるようになった。われわれはこの TMR(TMR-32)を Oxford Research System 社より借入し、phantom および生物試料、特にラット頭部を対象とした  $^{31}\text{P}$ -NMR スペクトル

ルの測定を行なったので装置の概要とその結果を報告する。

2 装置の概要

TMR-32 は超伝導磁石を用い磁場強度 ( $H_0$ ) は 1.8 テスラーで、ボアの直径は 20 cm である。マグネットの極低温 ( $4^\circ\text{K}$ ) を維持するために、1 週間あたり 100 l の液体窒素と 12 l の液体ヘリウムが必要である。

図 1 に示すように本装置ではボアの中心部に profile coil により信号選択領域(sensitive volume), つまり空間的にほぼ球状の焦点磁場 ( $H_0 + \Delta H_s$ ), を形成させている。焦点磁場の直径は profile coil に流す電流を 0 から 20 A まで可変する事により 4.0 cm から 1.5 cm まで連続して変える事が可能である。profile coil に電流を流した時、つまり焦点磁場を絞った際、生ずる熱は水(閉鎖循環方式)にて冷却している。

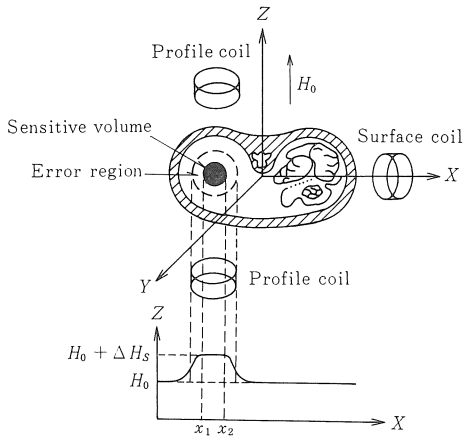


図 1 磁場焦点法の説明。  $H_0$  は Z 軸方向の静磁場を表わす。 2つの profile coil により作られた小磁場  $\Delta H_s$  が sensitive volume の部分で  $H_0$  と加重し磁場を形成する。

RF パルスの送信および信号の受信は共通の表面コイル (surface coil) にて行ない、送信受信

の切替えは PIN ダイオードを用いたダイオードスイッチにて行ない。測定は  $^{31}\text{P}$  では 32.5 MHz,  $^1\text{H}$  では 80.3 MHz で行ない, その各々の周波数に共振するコイルを作成して行ない。このコイルにより作られる被測定領域 (detective area) はコイルの大きさ, 線径, 巻数, 形状などに依存するため, 試料の大きさや目的とする部位の違いによりその都度目的に合うコイルを作成する事が必要である。あらかじめ目的とする核種の共鳴周波数付近に共振するように作製したコイルをプローブユニットのコイル台にネジ止めした後, プローブユニットをボア内に固定する。そして phase locked loop tuning unit (PTU-1000) を用いてプローブユニット内の tuning 及び matching の 2つの可変容量コンデンサー (トリマー) にてコイルの共振周波数およびインピーダンス ( $50\Omega$ )

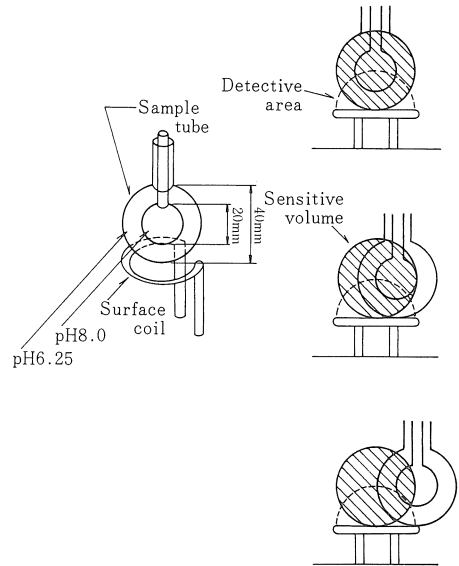


図 2 二重試料管と surface coil. 外球に 0.1 M (pH 6.25), 内球に 0.3 M (pH 8.0) 磷酸緩衝液を入れてある。右図はコイル上に形成される detective area と sensitive volume を示す。この 2つが重なる部位が実際の信号検出部位となる。

を整合させる。試料を変えた際はその体積および誘電率の違いによりコイルの共鳴周波数およびインピーダンスが変化するので、その都度これら2つの可変容量コンデンサーにて同調を取り直す必要がある。

磁場焦点の磁場強度均一性の調整 (SHIM 調整) は試料中に含まれる  $^1\text{H}$  を指標として行なう。SHIM 調整はコンソール上のブラウン管に表示される自由誘導信号 (FID) を観測しつつ行なう。SHIM 調整の際コイルは  $^1\text{H}$  測定用の 80.3 MHz に同調したものでも、 $^{31}\text{P}$  測定用の 32.5 MHz に同調したものでも良い。ただし後者の場合はプローブユニットと RF パルスの送受信器の

間にマッチングユニットを入れて、コイルのインピーダンスが 80.3 MHz で  $50\Omega$  になるようにマッチングユニットの2つの可変容量コンデンサーを調整する必要がある。

測定時に必要な各種パラメーターの設定、およびディスプレイとシステムの制御などはすべてコンソール上のキーボードで行なう。 $^{31}\text{P}$  および  $^1\text{H}$  測定時の一般的なパラメーターがあらかじめプログラムに含まれており、核種を選択すると適切なパラメーターが自動的にコンピューターのメモリー内に読み込まれるようになっている。コンソールは Honeywell 6/33 minicomputer を内蔵しておりシステム全体のコントロール、データの処理

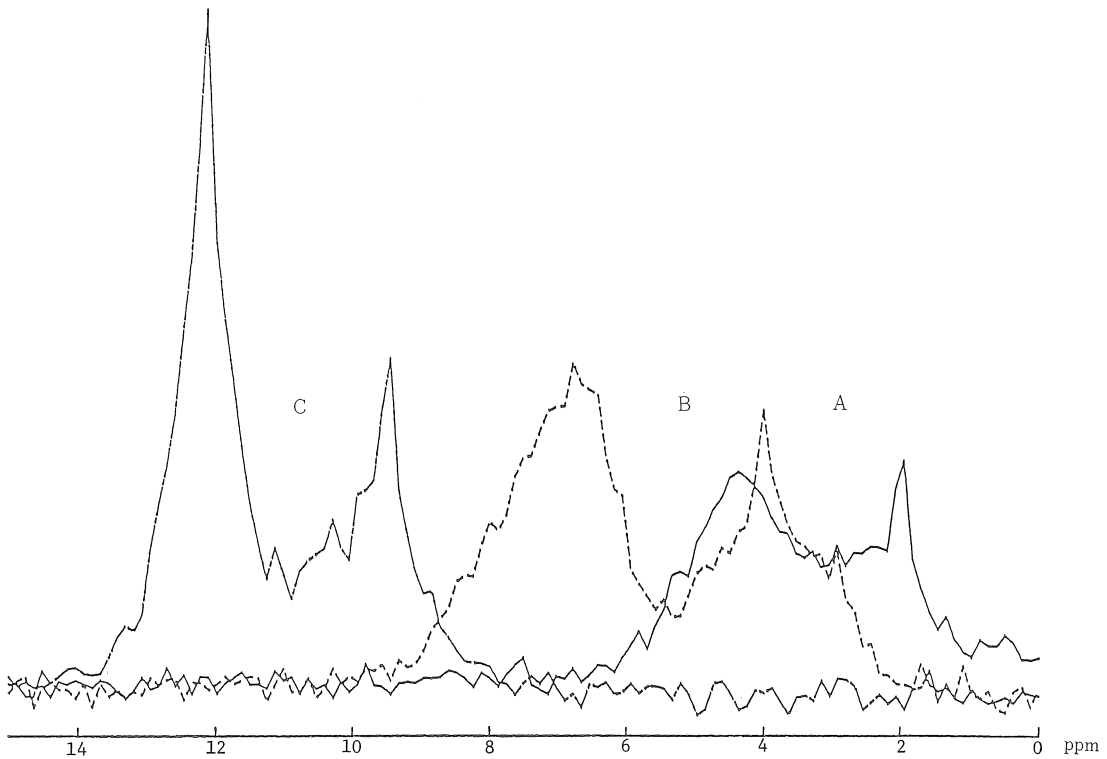


図 3 焦点磁場径を変えた時のスペクトル。

A: 40 mm, B: 21 mm, C: 18 mm

横軸はシグナルの相対的位置を示す。



絞った場合でも外球よりの信号が完全に除去できないのは、磁場焦点に対する試料のずれに加え磁場焦点中心より 2cm 下方にある表面コイルの detective area の空間的不均一性がこの影響を助長しているものと思われる。

### 3・2 デジタルフィルター

phantom 実験により得られた FID 信号に left shift, profile correction(convolution difference) および apodisation のデジタルフィルターによる window をかける事により  $T_2$  緩和の速い信号、つまり磁場焦点外の不均一磁場(図 1 の error region) 中にある試料に由来する信号を除去する事が可能となる。これらデジタルフィルターの

原理を図 4 に、またこれらを実際を使って得られたスペクトルを図 5 ~ 図 7 に示す。

### 3・3 パルス幅の決定

phantom の測定の際のパルス幅の決定を行なった。その結果を図 8 に示す。図からわかるように、信号強度の極小値は求められず、したがって  $180^\circ$  パルスの決定はできなかった。  $90^\circ$  パルスは  $35 \mu s$  付近であった。極小値が求められなかった原因としては信号選択領域に比してコイル径が小さいため、RF パルスの照射により得られる信号が種々の部位よりの総和となったためと思われる。試料の径より大きいヘルムホルツコイルを用いる場合には  $180^\circ$  パルスを求めることが可能とな

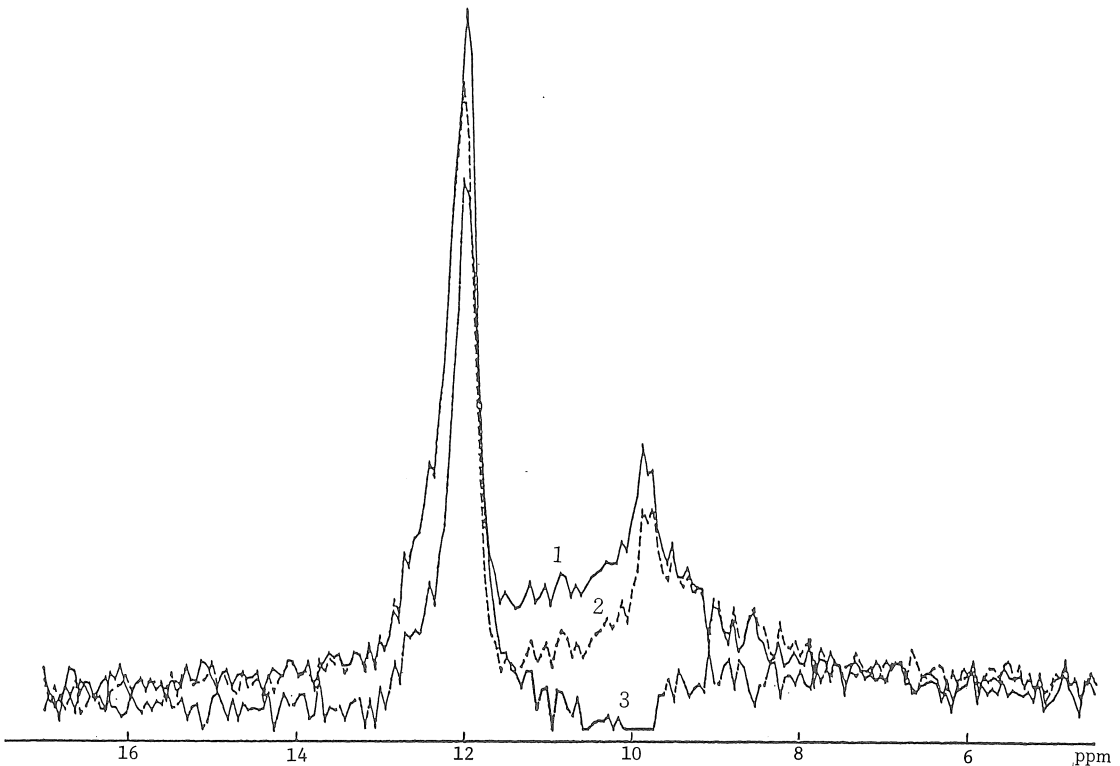


図 5 Left shift の例。1 は操作を加えてないもの。2 は左から 20 ポイント、3 は 30 ポイントを FID よりとったもの。

TMRによる生体内リン化合物の測定  
る。

### 3・4 ラット頭部の測定

体重 200g の Wistar rat をペントバルビタール (25 mg/kg 体重) 腹腔内注射麻酔下で測定を行なった。磁場焦点径は 15 mm, 表面コイルとして 25 mm  $\phi$  と 13 mm  $\phi$  の 2 ターンのものを用いた。ラットは仰臥位とし頭頂部が丁度表面コイルの上に乗るように固定した。まず  $^{31}\text{P}$  測定のためにパルス幅の測定を行ない,  $40^\circ$  パルスによって  $^{31}\text{P}$ -NMR スペクトルの測定を行なった。図 9 にパルス幅測定の結果を示す。前記 phantom の場合と同様, 信号強度の極小値は求められなかった。 $90^\circ$  パルスは  $18\ \mu\text{s}$  であり, phantom の

場合の約半分であった。これは被測定領域における水の量の差によるものと考えられる。

次に  $^{31}\text{P}$ -NMR スペクトルを図 10 に示す。スペクトルはクレアチン燐酸を 0 ppm とし, 低磁場側に  $-20\ \text{ppm}$ , 高磁場側に  $30\ \text{ppm}$  の範囲を示している。各信号の帰属は  $+2.5, +8.0, +16.5\ \text{ppm}$  とそれぞれ ATP ( $\gamma$ ) と ADP ( $\beta$ ), ATP ( $\alpha$ ) と ADP ( $\alpha$ ), そして ATP ( $\beta$ ) が対応する。また  $-5.0\ \text{ppm}$  の信号は無機燐,  $-6.5\ \text{ppm}$  の信号は糖燐化合物に対応する。その他  $-2.5\ \text{ppm}$  に見られる信号はグリセロールフォスホリエタノールアミン, グリセロールフォスホリエルコリンおよび 2,3-DPG に対応するものと思われる。

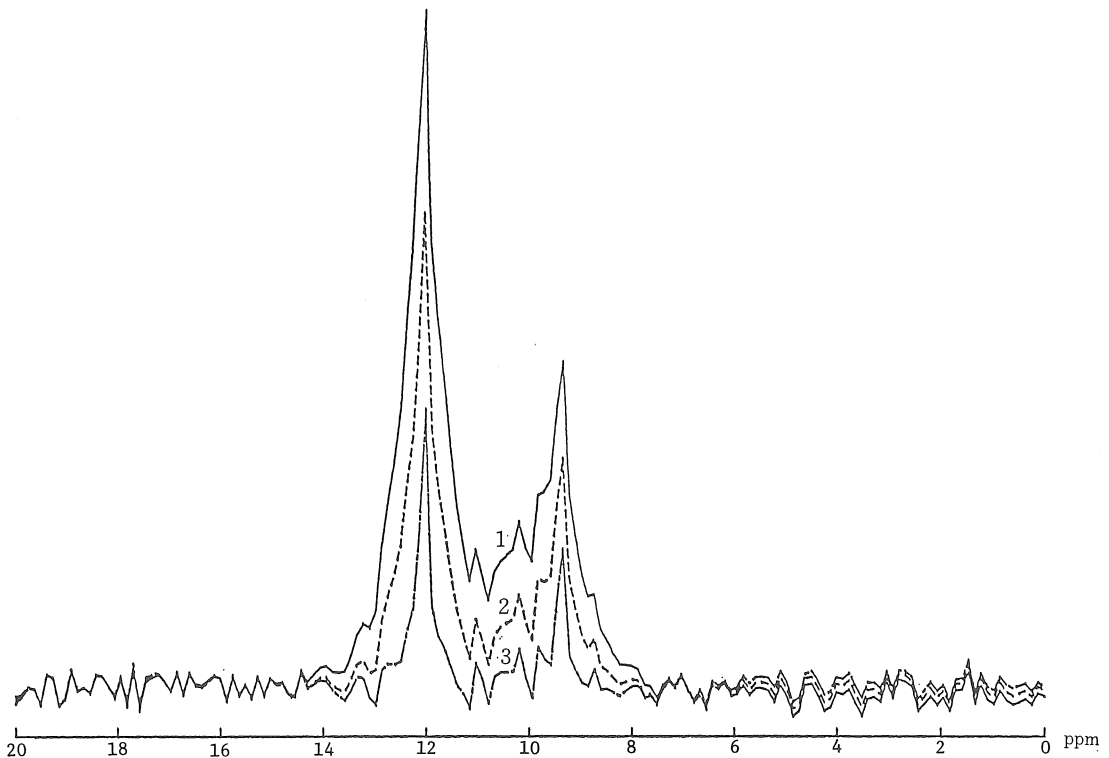


図 6 Profile correction の例。1 は操作を加えてないもの。2 は 20 Hz, 3 は 40 Hz の処理を行なったもの。

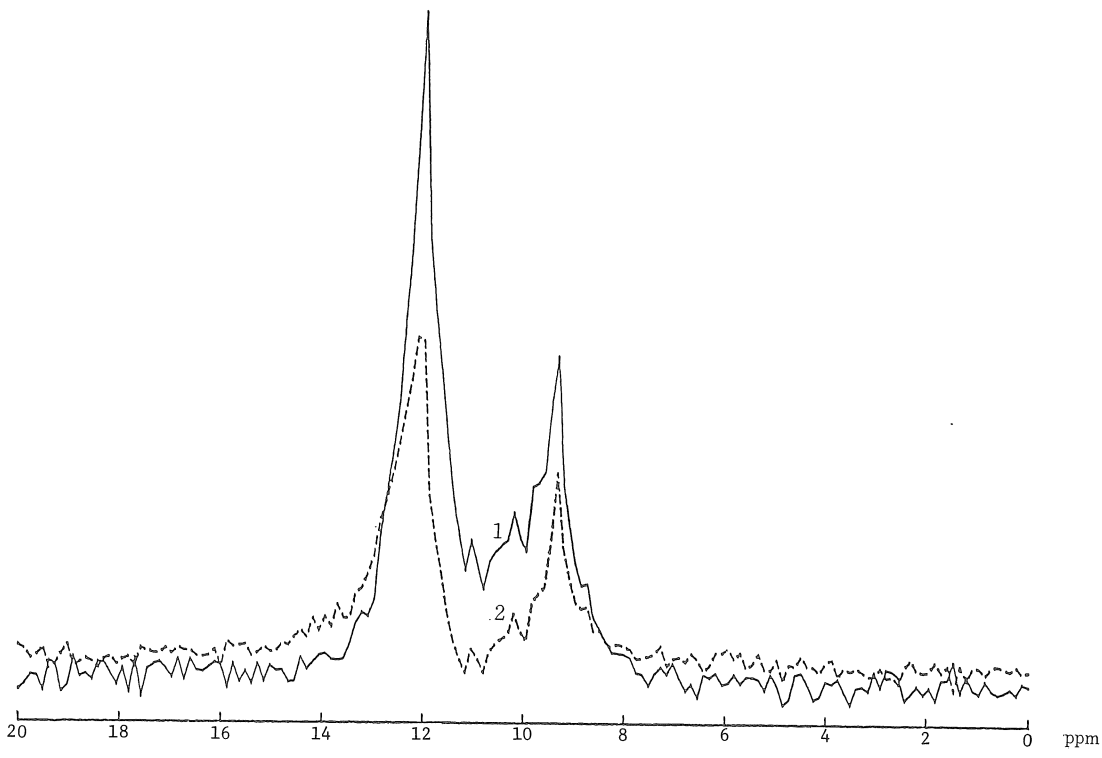


図 7 Apodisation の例. 1 は操作を加えてないもの. 2 は Apodisation を行なったもの.

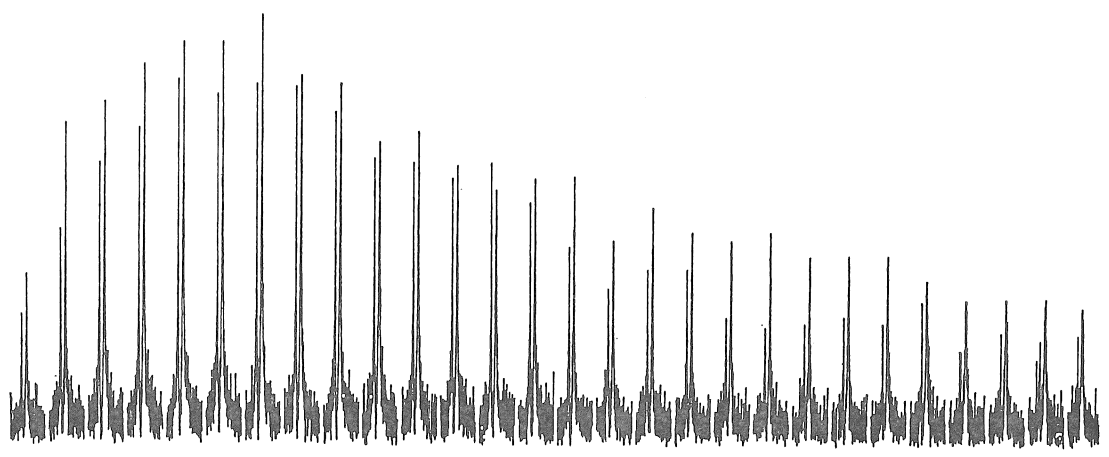


図 8 パルス幅と信号強度の関係. phantom においてパルス幅を  $5 \mu\text{sec}$  より  $5 \mu\text{sec}$  ずつ増して FID を求め, FT 後のスペクトルを順に図示. 各々のスペクトルの低磁場側 (左側) は外球の, 高磁場側 (右側) は内球のリン酸に由来する.

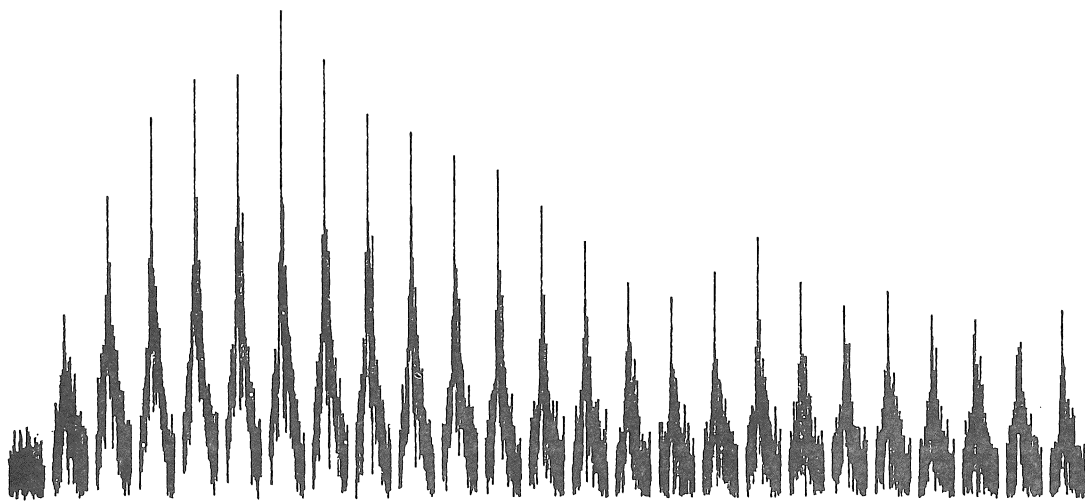


図9 パルス幅と信号強度の関係. ラット頭部においてパルス幅を $1\mu\text{sec}$ より $2\mu\text{sec}$ ずつ増してFIDを求め、FT後のスペクトルを順に図示.

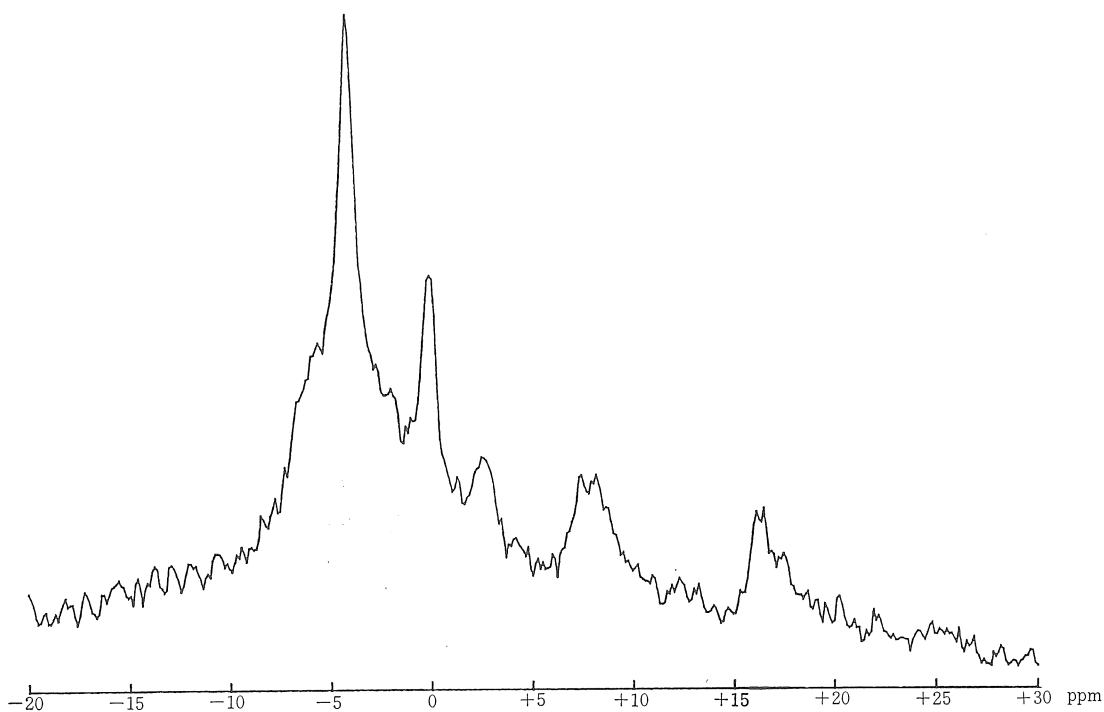


図10 ラット頭部の $^{31}\text{P}$ -NMRスペクトル.  
各シグナルの帰属は本文参照.



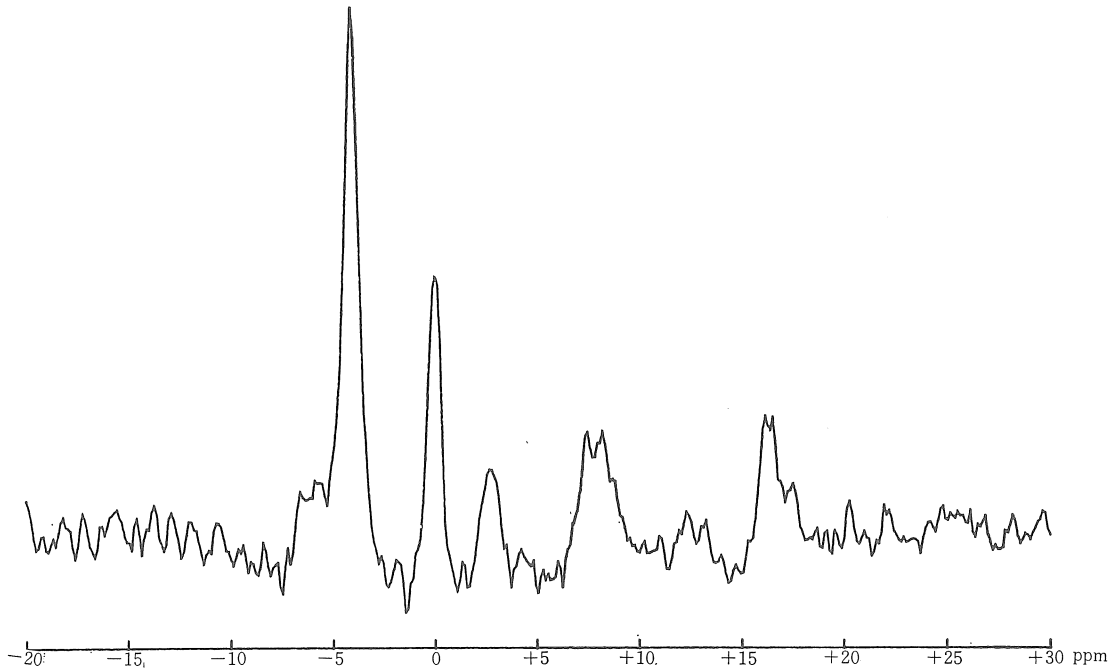


図 11 図 10 に Profile correction および Apodization のデータ処理を行なったもの。

図 11 は図 10 にある profile correction および apodisation の window をかけたものである。図 10 にある広い吸収は骨の無機燐，細胞膜中の燐脂質および不均一磁場中に存在する試料に帰因するものと考えられる。

ラットの頭部には咬筋や眼筋，後頭筋など大量の筋肉が存在しているため図 10 および図 11 のスペクトルにはこれら筋肉中に存在する燐化合物由来の信号が混在している事が考えられる。この問題を解決するためこれらの筋群を外科的に取り除いた後測定をするという方法を試みた。この方法によりこれら筋群に由来する信号をほとんど除外する事ができ脳のみ由来する信号の検出が可能になる。

#### 4 おわりに

TMR 装置の概要ならびに phantom およびラット頭部を用いた測定および結果について述べた。このような生きたままでのエネルギー代謝物質の測定が行なえることは、脳機能の研究に大きな威力を発揮するものと思われる。最後に TMR の借入について便宜をはかって下さった Oxford Research System 社，コロンビア貿易（株）に感謝します。

## 文献

- 1) Burt CT, Glonek T, Bárány M, et al. Phosphorous-31 nuclear magnetic resonance detection of unexected phosphodiester in muscle. *Biochemistry* 1976; 15: 4850-4853
- 2) Gadian DG, Radda GK, Richards RE, et al. *Biochemical Application of Magnetic Resonance*. Shulman RG. Academic Press Inc., New York 1979: 463-533
- 3) Taylor GJ, et al. <sup>31</sup>P NMR studies of heart physiology. Hollis DP, Nunnally RL, *J Mag Reson* 1978; 29: 319-330
- 4) Gadian DG, et al. Observation of tissue metabolites using <sup>31</sup>P nuclear magnetic resonance. Hoult DI, Busby RJW, *Nature* 1974; 252: 285-287
- 5) Takeda H, Chance B. Rapid ATP assays in perfused mouse liver by <sup>31</sup>P NMR. McLaughlin AC, *Proc Nat Acad Sci USA* 1979; 76: 5445-5449
- 6) Murakami M, Imai Y, Morimoto T, et al. Phosphorus nuclear magnetic resonance of perfused salivary gland. *Biochem Biophys Acta* 1983 (in press)
- 7) Nishikawa H, Fujii T, Yamada S, et al. <sup>31</sup>P nuclear magnetic resonance study on perfused brain slices of guinea pig. *J Biochem* 1980; 87: 663-666
- 8) Sehr PA, Radda GK, Bore PJ, et al. A model kidney transplant studies by phosphorus nuclear magnetic resonance. *Biochem Biophys Res Commun* 1977; 77: 195-202
- 9) Yoshizaki K, Phosphorus nuclear magnetic resonance studies of phosphorus metabolites in frog muscle. *J. Biochem* 1978; 84: 11-18
- 10) Yoshizaki K, Nishikawa H, Yamada S, et al. Intracellular pH measurement in frog muscle by means of <sup>31</sup>P-nuclear magnetic resonance. *Jpn. J. Physiol* 1979; 29: 211-225
- 11) Ackeman J. J. H, Grove T. H, Wong G. G, et al. Mapping of metabolites in whole animals by <sup>31</sup>P NMR using surface coils. *Nature* 1980; 283: 167-170
- 12) Kogure K, Namon R, Alonso O. Nuclear magnetic resonance-Brain imaging and high energy phosphates. *J. Cerebral Blood Flow and Metabolism* 1981; 1, Suppl. 1: s70-s71
- 13) Thulborn K, du Boulay GH, Radda GK. In vivo, non-invasive measurement of energy metabolism and pH by <sup>31</sup>P NMR in experimental stroke: Correlation with cerebral edema. *J Cerebral Blood Flow and Metabolism* 1981; 1, Suppl 1: s80-s81
- 14) Tanaka K, Yamada Y, Shimizu T, et al. Fundamental investigation (in vitro) for a non-invasive method of tumor detection by nuclear magnetic resonance. *Biotelemetry* 1974; 1: 337-350
- 15) Balaban RS, Gadian DG, Radda GK. Phosphorous nuclear magnetic resonance study of the kidney in vivo. *Kidney International* 1981; 20: 575-579
- 16) Nature S, Takada S, Koizuka I, Watari H. In vivo <sup>31</sup>P-NMR studies on experimental cerebral infarction *Jpn. J. Physiol.* 1983; 33: 19-28
- 17) Gadian DG, Radda GK, Ross B, et al. Examination of a myopathy by phosphorus nuclear magnetic resonance. *Lancet* 1981; ii: 774-775
- 18) Gordon RE, Hanley PE, Shaw D, et al. Localization of metabolites in animal using <sup>31</sup>P topical magnetic resonance. *Nature* 1980; 287: 736-738
- 19) Gordon RE, Hanley PE, Shaw D. Topical magnetic resonance. *Progress in Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy*; 15: 1-47
- 20) Griffiths JR, Stevens AN, Iles RA, et al. <sup>31</sup>P NMR investigation of solid tumours in the living rat. *Bioscience Reports* 1981; 1: 1319-325
- 21) Radda GK, Bore PJ, Gadian DG, et al. <sup>31</sup>P NMR examination of two patients with NADH-Co Q reductase deficiency. *Nature* 1982; 295: 608-609
- 22) Welsh FA, O'Connner MJ, Marcy VR, et al. Factors limiting regeneration of ATP following temporary ischemia in cat brain. *Stroke* 1982; 13: 234-242
- 23) Delpy DP, Gordon RE, Hope PL, et al. Non-invasive investigation of cerebral ischemia



昭和 57 年度 厚生科学研究費による NMR の医学利用に関する  
研究班（有水班）の活動報告

NMR の臨床利用にともない、高い磁場環境による人体の影響が懸念される。班研究の主目的は磁場の人体影響とその安全性を目的としている。研究は昭和 59 年 3 月末まで継続予定であるが、昭和 57 年中に得られる主な研究内容としては

- 1 NMR 映像装置を病院内に設置する場合に、人体および周辺環境に対する影響を可及的  
少なくする方策を検討し検討結果をガイドラインとしてまとめる。
- 2 磁場環境内の作業者について磁場による身体的影響があるか否かについて広くアンケー  
ト調査を行いその結果をまとめる。
- 3 新しい NMR 映像装置を医療へ導入するためには安全性および有効性に関し、一定基準  
の臨床的知見をあらかじめ得ることが義務づけられているが、この臨床的知見用のプロト  
コールを作成し知見の便に供する。