

生体系の水の緩和時間—高分子存在下での緩和—

恵良 聖一

岐阜大学大学院医学系研究科分子生理学分野

はじめに

生体系の水は、生体組織自身が非常にヘテロかつ複雑な系であるがゆえに通常の水（いわゆるコップの中の水）とは違った状態で存在しているであろうと考えたとしても、何ら不思議なことではない。Uedaira（上平）らによれば、生体系に限らず、一般に高分子存在下での水分子集団は、高分子（の極性表面）との相互作用の相違によって動的挙動の違った状態、すなわち結合水と自由水に大別される¹⁾ (Fig. 1)。これらのことはこれまでに本学会の大会でも何度か取り上げられて議論されている²⁾。NMR現象が発見されてからNMR-CT (MRI) として医学応用されるまでに約25年の歳月を要しているが、スピン密度、 T_1 , T_2 強調画像が一般的な撮像法の時期に、磁化移動効果を画像コントラストとしてとらえた磁化移動コントラスト法 (magnetization transfer contrast, MTCと略す) という撮像法が1989年に初めて報告された³⁾ときには、この新鮮なネーミングとともに新しい生体組織内病変検出法につながるのではという期待感も相まって、その後ただちに国内外の、特に多くの臨床系機関で撮像・報告されて、本法はまさに一世を風靡した。ところが現

在、国内外の関連学会でMTCに関する報告を耳にすることはほとんどないが、実はMRAがその応用として日常的に利用されていることは意外に知られていない。

MTC法が報告されて20年弱が経過し、本法が何たるかを知る人はほとんどいないのではと思われる現在、MTCとはいったいどのような撮像法で、どのように出現・進展し、さらに現在どのようなかたちで研究が進められているかについて、その歴史的背景も交えながら概説

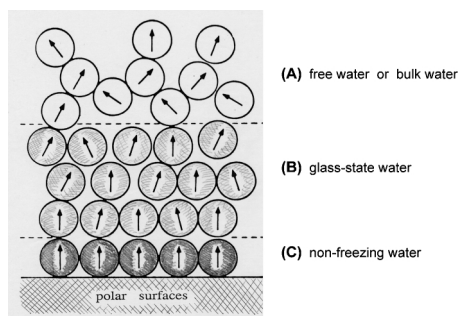


Fig. 1. Highly schematized model of water adjacent to a polar solid surfaces. Ion-dipole orientation in the vicinal layer. (A) free water or bulk water; (B) glass-state water; (C) non-freezing water.

この総説は、第34回日本磁気共鳴医学会大会教育講演「基礎」での講演を中心にまとめたものである。

キーワード cross relaxation time ($T_{1\rho}$), magnetic resonance angiography (MRA), magnetization transfer contrast (MTC), magnetization transfer ratio (MTR), water structure

する。

磁化移動コントラスト (MTC) 法と 生体組織内の水プロトンの緩和

1989年、NIHのBalabanらはまさにこの節の表題をその論文タイトルとしてMTC法を初めて世に紹介した³⁾。しかしこのときに「磁化移動」という概念が突然初めてでてきたわけではなく、高磁場NMRスペクトル測定(以下MRS)とMRIの出現経緯との間にタイムラグがあるのと同様に、関係ある複数のプロトン間には磁化移動現象が存在し、かつこの現象を利用した研究については、MRSの研究領域では既に行われていた。

もちろんBalabanらもそのようなMRSでの研究経緯^{4),5)}を経てMRIへの応用へとたどり着いている。彼らはラビットを対象に2T(あるいは4.7T)の装置を用いて、オフレゾナンス領域をラジオ波照射した場合(M_s)としない場合(M_0)との比(磁化移動比 magnetization transfer ratio (MTR), M_s/M_0)は、腎組織と骨格筋とで大きく異なる(それぞれ0.3と0.07)ことを示し、この現象は生体組織特異的なものであるために病変検出に有用な手段となり得ることを示唆した³⁾。彼らはその後たて続けに本法をあらゆる臓器・組織に応用・報告している⁶⁾。このように、1989年に報告されたMTC法は瞬く間に全世界に広がり、その翌年のSMRMでは関連した研究が雨後の筍のように多数発表された。一方国内の反応も早く、1992年の大会(札幌)ではSMRM-JMRM招請講演の演者としてBalabanが招聘されている(しかし詳細な事情は分からないが、彼の来日は実現されなかった)。

交差飽和下での縦緩和 - 交差緩和時間 (T_{1s}) の導入

磁場強度や分解能が向上するにつれてMRSは蛋白質の構造を探る有力な研究手段となってきた。話は少し遡るが、1970年代後半から80年代前半にかけての高分子の構造研究の中で、磁化移動現象を応用した論文^{7),8)}が散見される頃、Akasaka(京大理(当時))は蛋白質の構造ゆらぎの研究で、飽和移動(saturation transfer)法を用いた研究を行っていた^{9),10)}。すなわち収縮蛋白質ミオシン(高分子)と結合リガンド(ATPなどの低分子)との相互作用研究で、ミオシン分子の特定部位をラジオ波で照射した際に、この飽和が結合リガンドのみならず遊離のリガンドにも伝わることをスペクトル上で観測した。このことは、MRSにおける生体高分子特定部位のラジオ波照射が周囲の自由水にも伝播する、したがって生体高分子-水分子間相互作用の検出、すなわち生体系の水の動的挙動の検出が可能であるということを示している。この現象の理論的裏づけを検証するなかで、彼は「交差緩和時間 (T_{1s})」^{11),12)}というNMRパラメーターに着目した。

彼はこれまでに教育講演や特別講演¹³⁾というかたちで、本学会会員に対するNMRの基礎理論の理解に少なからず貢献しているが、本学会誌の前身の「NMR医学」にも「生体高分子系のプロトン核磁気緩和・交叉緩和とその応用」と題した論文(1984)¹⁴⁾をいち早く寄稿している。彼によるこの原著に加えて、日獨医報(1997,特集:交差緩和の原理と応用)のなかの総説(「交差緩和」)¹⁵⁾は非常に分かりやすくまとまっているので、MTC法をふくめた、高分子存在下での水の緩和の理論的背景や全体像を理解するのに有用である。ただ、本総説後半の理解のために、それらの中から特に「交差緩和時間 (T_{1s})」の項のみを抜粋して、以下に簡

2007年9月14日受理

別刷請求先 〒501-1194 岐阜市柳戸1-1 岐阜大学大学院医学系研究科分子生理学分野 恵良聖一

単に説明しよう（ただしこれらの箇所は、交差緩和現象を直感的に分かりやすく説明しようとするために半定量的な取り扱いをしているので、より正確な理論的背景を理解したければ、ぜひとも原著に接してもらいたい）。

“スピン拡散を伴う交差飽和下では、実効的な縦緩和時間 (T_1^*) そのものが変化する。このことを半定量的に説明するために、簡単な2-スピン系モデル (I-スピン系と S-スピン系) で解析した (Fig. 2)。このモデルの骨子は、観測されるスピン系 I の緩和時間は、そのものが本来もっている縦緩和時間 T_1 のほかに、飽和したスピン系 S への交差緩和 (交差緩和時間 T_{IS}) が加わるために、緩和速度が速くなることを示している (式(1))。このモデルは強い交差緩和で結ばれたスピン系 I に対して成り立つものである (今回のような生体高分子-水分子間相互作用研究の場合、高分子内のラジオ波照射部位が S-スピン系、周囲の水分子が I-スピン系に対応する)。

$$1/T_1^* = 1/T_1 + 1/T_{IS} \dots\dots\dots (1)$$

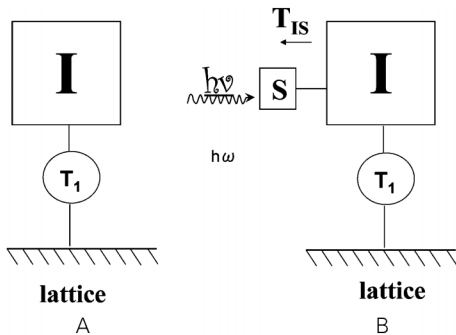


Fig. 2. A simplified model of a dipolar-coupled spin system of a biopolymer in solution. (A) A multi-spin system I coupled with the lattice (natural relaxation sink) through the T_1 process. (B) A multi-spin system I coupled with an S spin system whose magnetization is null by RF irradiation (artificial relaxation sink) through the cross-relaxation process (T_{IS}) in addition to the natural relaxation sink.

交差緩和現象は高分子内に留まらず、自由水 (バルクの水) が大部分である高分子水溶液系で、高分子からバルクの水にも飽和が伝わる。高分子内部の水や高分子表面での結合水あるいは交換可能な官能基 (-OH や -NH など) に結合したプロトンはバルク水とかなりの速さで交換している。結合水のプロトンとバルク水のプロトンとはこの交換 (化学交換という) によって磁化を交換し合う。一方が飽和によって磁化が減少した状態にあると、この交換によって他方に飽和が伝わる。これは明らかに、双極子による飽和の接触による伝達とは異なり、実際にスピンそのものが交換することによるスピンの移動による磁化移動である (Fig. 3)。

この現象は、ラジオ波照射された蛋白質プロトンから水および低分子のリガンドへと飽和が伝わる現象として見いだされ、さらにラジオ波照射の時間依存性やラジオ波出力依存性も示された。その後同じ現象が生体組織でも示されて、これが最終的に「交差緩和」あるいは「磁化移動」イメージングに利用されている (日獨医報 (1997)¹⁵⁾より抜粋 (一部加筆)。”

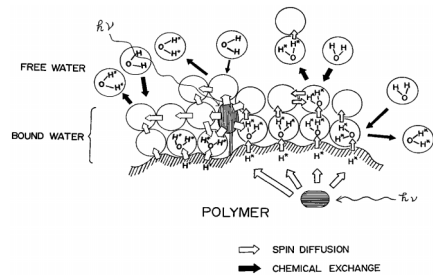


Fig. 3. Schematic model of water proton magnetization transfer in the polymer-water system. When a specific portion in polymer is irradiated by an adequate RF pulse, spin diffusion and chemical exchange occurred in this system.

交差緩和時間 (T_{IS}) イメージング

その頃 Sogami (岐阜大医 (当時)) らは, Akasaka が導入した上述の交差緩和時間 (T_{IS}) を使って蛋白質の構造研究を行っていたが, 特に蛋白質のゾル→ゲル変換における両状態の水構造の研究¹⁶⁾にはこの T_{IS} 測定が威力を発揮した. さらに彼らは, ラットの肝組織¹⁷⁾やマウスの水晶体¹⁸⁾内の水構造研究を行い, T_{IS} 測定が単なる高分子系のみならず生体組織の病態変化における水性状の変化を鋭敏にとらえることができることを示した.

研究の推移によってはその方向性が収斂していくというか, 前述の Balaban らによる MTC への研究経緯と同様のプロセスを経て, ちょうど同じ頃にまったく独立して Sogami らも動物用実験機で交差緩和時間 (T_{IS}) イメージングを撮像することを試みている. すなわち彼らは, Ueshima ら (シーメンス旭メディテック社 (当時)) との共同研究において, 2T の試作実験機を用いて, 鎖状合成高分子ゲル (ソフトコンタクトレンズの素材) のファントム^{19),20)}やラット組織²¹⁾を対象に, ラジオ波の照射部位や照射強度を変えながら撮像し, 興味ある結果を得ている. それらのうち典型的な一画像を Fig. 5 に示す. 頸部皮下に肝腫瘍を移植して2週間後のラットの前額断 MR 画像である (左側が 1/T₁ 画像, 右側が 7.1 ppm の部位を 140 Hz で f₂ 照射して得られた 1/T₁* 画像). 実際には, 前節の式(1)と Fig. 4 のフローチャートに従って, 両画像からの計算画像 (Fig. 6) として 1/T_{IS} 画像が得られる. Balaban らが報告した MTC 画像は実は MTR 画像 (M_s/M₀) に相当する. その意味では, Balaban らの「MTR 画像」と Sogami らの「1/T_{IS} 画像」とはいずれも磁化移動効果を利用したものであるが, 両者はまったく等価な画像法ではない.

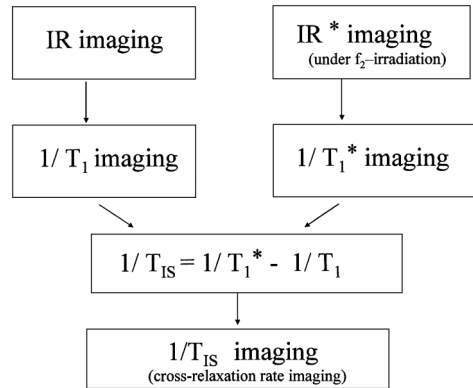


Fig. 4. Process flow chart for TIS imaging.

その後から現在まで

さて MTC 法による臨床研究は対象組織を変えて数多く実施されたので, その後の大会では「MTC」単独で1セッションが設けられるという時期もあった. すなわち, 第22回大会 (1994, 大阪) では「MTC-1とMTC-2」で12演題が, 第25回大会 (1997, 大宮) では「緩和時間・MTC」として5演題が, 第26回大会 (1998, 京都) では「MTC-FLAIR」として6演題が発表された. しかし第27回大会 (1999, 東京) の「MTC・温度」での4演題 (ポスター発表) を最後に, ついにはそのセッション名すら消えていった. ではその後の大会において MTC の研究報告はまったくなかったのか.

華々しくはなかったが, 先の岐阜大医のグループは Matsushima (愛知県がんセンター病院 (当時)) と Kinoshita (三重大医 (当時)) らとの3施設間の共同研究によって, MRS による基礎研究^{22),23)}と MRI による臨床研究^{24)~29)}を進め, 現在まで継続して研究報告している. その最新の研究成果の一部を紹介して, 本総説の締めとしたい.

MTC 法のキーポイントの一つは, ラジオ波照射の部位と強度であろう (Fig. 7). Balaban らを含めた多くのグループは, 照射部位を自由

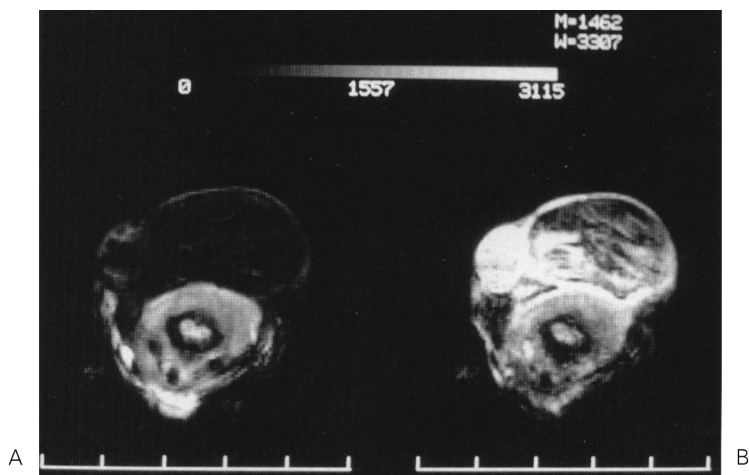


Fig. 5. Coronal MR images at the neck position of hepatoma-bearing female ACI/N rat. (A) a conventional IR image ($1/T_1$ image). (B) an IR* image (f_2 -irradiation at 7.1 ppm and $\gamma H_2/2\pi \sim 140$ Hz) ($1/T_1^*$ image). Both images were obtained with a Siemens-Asahi RS-200 2.0T system. A hemorrhagic region, which might have almost liquid states, slightly changes with f_2 -irradiation. However, a necrotic region, which might have a fibrous structure, demonstrated shortening of T_1^* .

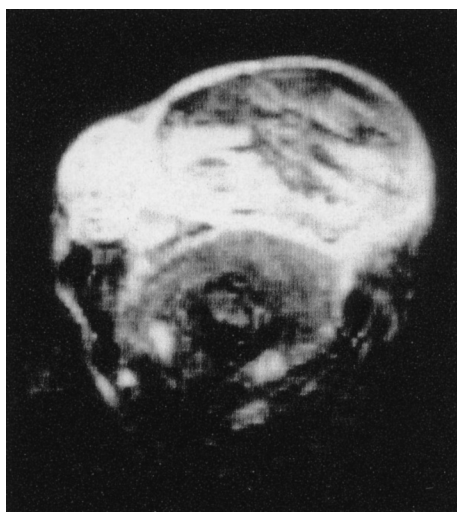


Fig. 6. $1/T_{1S}$ image was obtained by subtracting the $1/T_1$ image (Fig. 5A) from $1/T_1^*$ image (Fig. 5B), according to the flow chart shown in Fig. 4.

水の共鳴周波数からかなり離れた部位に設定している。これは、自由水を直接照射するのをできるだけ避けたいのと、遠い照射部位だとアーチファクトが少なくなることによってイメージング構成が容易になるからだと思われる。一方 Sogami らは、研究開始当初の時点で既に、照射部位と強度をいろいろ変えていくと画像コントラストも様々に変化していくことを見いだしている（その詳細な意味づけは別にして）。

その後の 3 施設間での系統的な共同研究によって、その問題に対する意味づけが、鎖状合成高分子ゲルファントム^{25)~27)}や乳腺（乳がん）組織^{24),27)~29)}を対象にして検討された。その結果、水の共鳴周波数から遠い部位の照射ではコラーゲン（かなりの高分子）などの細胞外マトリックスの情報をより反映した画像（線維成分強調画像）が、一方比較的近い部位の照射では、水酸基を多く含む細胞内の構造情報（親水的な環境）をより反映した画像（細胞成分強調

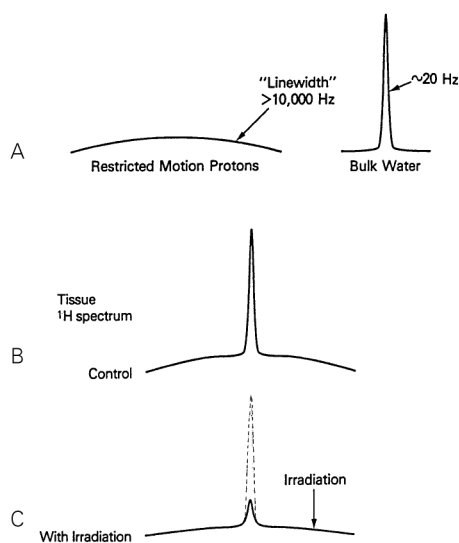


Fig. 7. Schematic of the saturation transfer experiment conducted between protons with restricted motion ($^1\text{H}_r$) and bulk water ($^1\text{H}_f$). (A) the individual line shapes of $^1\text{H}_r$ and $^1\text{H}_f$. (B) both populations together as observed in biological tissues. (C) the predicted result if $^1\text{H}_r$ and $^1\text{H}_f$ are exchanging magnetization: a decrease in the $^1\text{H}_r$ signal.

画像) が得られることが分かった (Fig. 8). 細胞・組織の構造情報が非侵襲的に得られるとなると, 臨床的には“細胞・分子イメージング”への展開が期待される^{30),31)}.

おわりに

スピン間の磁化移動効果を画像コントラストとしてとらえた MTC 法. 現在では, 生体組織 (固体に近い) と血液 (液体=流体) における磁化移動効果の顕著な相違を利用して MRA として汎用されている. その MTC 法を MRI の世界に初めて応用した国内外の二つのグループ (Balaban らと Sogami らのグループ) の研究経緯を中心に概説してきた. もちろん当然のことであるが, MTC 研究がこの 2 グループのみで行われてきたわけではない. 今回の研究経緯

に少なからず直接かかわってきた者の一人として, 歴史的経緯を踏まえつつできるだけ話が散逸しないようにまとめたつもりである.

生体組織内での磁化移動現象, すなわち生体系の水性状問題のもつ物理的意味 (physical meaning) がすべて明らかになったわけではないので, この問題は今でもひろく磁気共鳴医学の中の重要な研究課題の一つであることに間違いはない. プリオン病をはじめとして近年話題の神経変性疾患は「蛋白質のコンフォメーション病」とも言われ, 蛋白質の異常凝集体の蓄積・伝播が原因と考えられている. これまで概説してきた「生体高分子-水分子間の相互作用研究」の視点から眺めると, 生体系の水性状の変化がこれら難病の成因に深くかかわっている可能性も示唆されるなか, これらの病態生理を解明するうえでも, 少しでも多くの磁気共鳴医学領域の研究者に参入して取り組んでもらいたい魅力的な研究領域であろう.

文 献

- 1) 上平 恒, 逢坂 昭. 生体系の水. 東京: 講談社サイエンティフィック, 1989
- 2) 上平 恒. 第 9 回大会 (特別講演「水の性質と水和」, 1987, 岡崎); 第 30 回大会 (シンポジウム「生体内水に関する一般論と生理作用などとの関連」, 2002, 東京)
- 3) Wolff SD, Balaban RS: Magnetization transfer contrast (MTC) and tissue water proton relaxation *in vivo*. *Magn Reson Med* 1989; 10: 135-144
- 4) Hsieh PS, Balaban RS: ^{31}P imaging of *in vivo* creatine kinase reaction rates. *J Magn Reson* 1987; 74: 574-579
- 5) Hsieh PS, Balaban RS: Saturation and inversion transfer studies of creatine kinase kinetics in rabbit skeletal muscle *in vivo*. *Magn Reson Med* 1988; 7: 56-64
- 6) Balaban RS, Ceckler TL: Magnetization transfer contrast in magnetic resonance imaging. *Magn Reson Quarterly* 1992; 8: 116-137

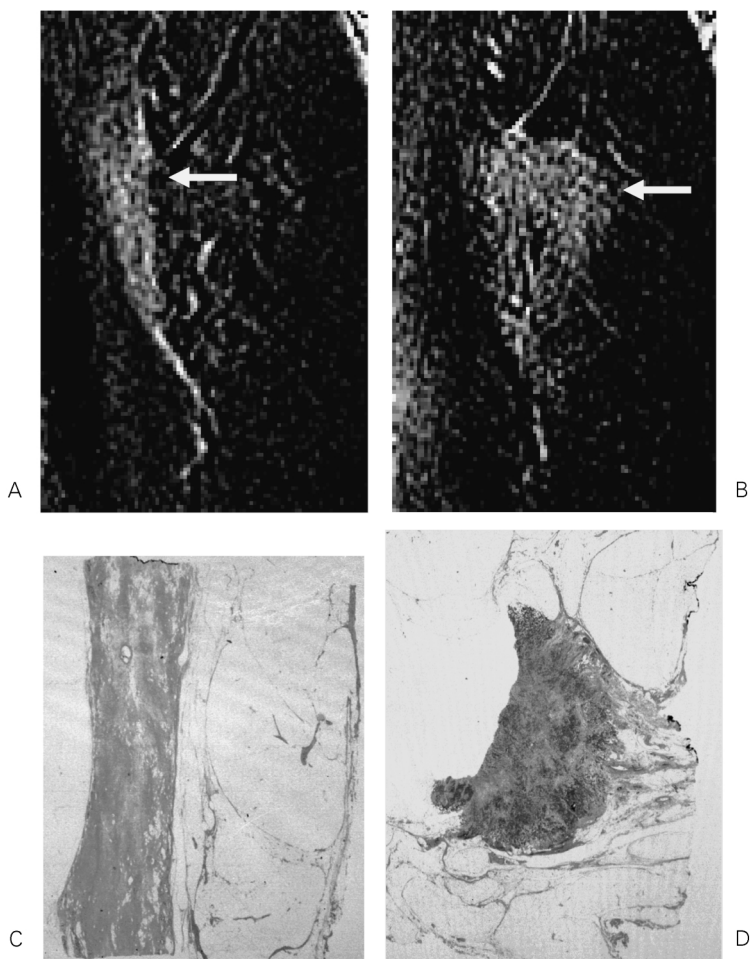


Fig. 8. Equivalent cross relaxation rate (ECR) images and photomicrographs of non-scirrhous breast carcinoma. (A) ECR image at frequency offset of 19 ppm downfield from water resonance (far position). (B) ECR image at frequency offset of 7 ppm downfield from water resonance (near position). (C) Photomicrograph image obtained at the same slice as (A). (D) Photomicrograph image obtained at the same slice as (B). In Fig. 8(A), the high ECR area was related to the fibrous stromal component. In Fig. 8(B), the high ECR area was related to the cell rich component in the non-scirrhous breast carcinoma.

- 7) Kalk A, Berendsen HJC : Proton magnetic relaxation and spin diffusion in proteins. *J Magn Reson* 1976 ; 24 : 343-366
- 8) Edzes HT, Samulski ET : Cross relaxation and spin diffusion in the proton NMR of hydrated col-

- lagen. *Nature* 1977 ; 265 : 521-523
- 9) Akasaka K, Konrad M, Goody RS : Selective spin diffusion. A novel method for studying motional properties of biopolymers in solution. *FEBS Lett* 1978 ; 96 : 287-290

- 10) Akasaka K : Intermolecular spin diffusion as a method for studying macromolecule-ligand interactions. *J Magn Reson* 1979 ; 36 : 135-140
- 11) Akasaka K : Longitudinal relaxation of protons under cross saturation and spin diffusion. *J Magn Reson* 1981 ; 45 : 337-343
- 12) Akasaka K : Spin diffusion and the dynamic structure of a protein. *Streptomyces subtilisin inhibitor*. *J Magn Reson* 1983 ; 51 : 14-25
- 13) 赤坂一之. 第6回大会 (教育講演「スピン緩和時間は何で決まるか」, 1985, 東京); 第15回大会 (特別講演「スピン緩和とタンパク質のダイナミクス」, 1990, 岐阜); 第23回大会 (教育講演「生体系の水のNMR」, 1995, 東京); 第28回大会 (シンポジウム「NMRと蛋白質機能」, 2000, 京都)
- 14) 赤坂一之 : 生体高分子系のプロトン核磁気緩和. 交叉緩和とその応用. *NMR医学* 1984 ; 4 : 48-56
- 15) 赤坂一之 : 交差緩和. *日獨医報* 1997 ; 42 : 31-44
- 16) Sogami M, Nagaoka S, Era S, Inouye H, Kuwata K, Kida K, Watari H, Shiga K, Akasaka K : Water structure in modified bovine plasma albumin (BPA*) gel and bovine mercaptalbumin. ^1H -n.m.r. studies. *Int J Peptide Protein Res* 1986 ; 28 : 130-140
- 17) Era S, Kato K, Sogami M, Nagaoka S, Kuwata K, Takahashi M, Suzuki E, Miura K, Watari H, Akasaka K : Comparative ^1H NMR studies on water structure in hepatic tissue and protein gel. *Biomed Res* 1986 ; 7(Suppl 2) : 41-46
- 18) 天野 肇, 河合憲司, 恵良聖一, 桑田一夫, 藤井裕子, 曾我美 勝, 亘 弘 : ^1H -NMRによる蛋白質ゲル, ソフトコンタクトレンズ及び水晶体内水構造の研究. *岐阜大医紀* 1990 ; 38 : 100-115
- 19) 上嶋康裕, 豊島日出夫, 牧 壮, 曾我美 勝, 桑田一夫, 恵良聖一, 加藤一夫, 亘 弘 : 交差緩和時間イメージング. *日磁医誌* 1989 ; 9 (Suppl 2) : 169
- 20) Ueshima Y, Sogami M, Kato K, Iwama T, Yanai S, Maki T, Era S, Watari H : New IR imaging under cross saturation —Cross relaxation from protein to water. 9th SMRM Abstracts 1990 ; 585
- 21) 桑田一夫, 上嶋康裕, 山井 智, 加藤一夫, 岩間 亨, 恵良聖一, 牧 壮, 曾我美 勝, 亘弘 : 交差緩和時間 (T_{1s}) による新しいイメージング法. *日磁医誌* 1990 ; 10(Suppl 2) : 216
- 22) Sogami M, Era S, Kinosada Y, Matsushima S, Kato K, Tomida M, Hirabayashi T : Basic studies on the equivalent cross-relaxation rate imaging (equivalent CRI) —phantom studies. *NMR Biomed* 2001 ; 14 : 367-375
- 23) Sogami M, Uyesaka N, Era S, Kato K : Saturation transfer in human red blood cells with normal and unstable hemoglobin. *NMR Biomed* 2003 ; 16 : 19-28
- 24) Matsushima S, Sasaki F, Kinosada Y, Maeda H, Sogami M, Era S, Yatabe Y, Miura S, Ohsaki H, Sakamoto J : Saturation transfer ratio imaging in invasive ductal carcinomas of the breast. *Magn Reson Imaging* 2000 ; 18 : 379-385
- 25) Matsushima S, Takasu A, Inai Y, Hirabayashi T, Era S, Sogami M, Kinosada Y : Saturation transfer ratio imaging in magnetic resonance imaging : a novel physical parameter for evaluation of hydrophilicity of synthetic copolymer gels. *Polymer J* 2000 ; 32 : 828-833
- 26) Matsushima S, Takasu A, Inai Y, Hirabayashi T, Era S, Sogami M, Kinosada Y : Equivalent cross-relaxation rate in magnetic resonance imaging : a novel physical parameter for evaluation of conditions of water in synthetic copolymer gels. *Polymer J* 2001 ; 33 : 236-241
- 27) Matsushima S, Takasu A, Inai Y, Hirabayashi T, Era S, Sogami M, Sasaki F, Ohsaki H, Kinosada Y : Equivalent cross-relaxation rate imaging in synthetic copolymer gels and invasive ductal carcinomas of the breast. *Magn Reson Imaging* 2002 ; 20 : 285-293
- 28) Matsushima S, Sarumaru S, Ohta D, Era S, Sogami M, Sasaki F, Inaba T, Kinosada Y : Equivalent cross relaxation rate image for decreasing a false negative case of sentinel lymph node biopsy. *Magn Reson Imaging* 2003 ; 21 : 1045-1047
- 29) Matsushima S, Sasaki F, Yamaura H, Iwata H, Ohsaki H, Era S, Sogami M, Inaba T, Uike M, Kinosada Y : Equivalent cross-relaxation rate imaging for sentinel lymph node biopsy in breast carcinoma. *Magn Reson Med* 2005 ; 54 : 1300-

- 1304
- 30) 松島 秀, 西尾福英之, 恵良聖一, 稲葉吉隆,
紀ノ定保臣: Cellular imaging of axillary lymph
node by ECR. 日本分子イメージング学会第2
回総会・学術集会 講演要旨集 2007; 149
- 31) Matsushima S, Nishiofuku H, Iwata H, Era, S,
Inaba Y, Kinosada Y: Equivalent cross-relaxation
rate imaging of axillary lymph nodes in
breast cancer. J Magn Reson Imaging 2008: in
press

Water Proton Spin Relaxation in Living Tissues

Seiichi ERA

*Department of Physiology and Biophysics, Gifu University Graduate School of Medicine
1-1 Yanagido, Gifu 501-1194*

I present an historical overview and brief introduction to magnetization transfer (MT) phenomena and MT contrast (MTC) imaging, which provide unique information about the interactions between macromolecules and water in living tissues. Special characteristics of water are generally recognized to result from the interactions of water molecules with biological macromolecules that exert a strong influence on the nuclear magnetic resonance (NMR) relaxation times of water protons. The presence of cross relaxation and spin diffusion strongly modify the mechanism of proton longitudinal relaxation for a macromolecule at high magnetic field. Wolff and Balaban (1989) were the first to produce images with MTC using a continuous wave off-resonance saturation transfer experiment. At the same time, Sogami and associates (1989) independently obtained cross-relaxation time (T_{1s}) images; T_{1s} is thought to be a tissue-specific NMR parameter under MT phenomena. After these observations, many reports describing MTC were published. Currently time-of-flight magnetic resonance angiography combined with MT effect appears as the most common application as a result of obviously improved suppression of stationary background signal. Recent advances in MT experiments are also described.