

中枢神経組織の部位別緩和
時間—2種類の異なる磁場
強度を用いて—

Proton Relaxation Time Measure-
ments in the Central Nervous
System Using Pulse NMR
Analyzer and High Resolution
NMR Spectrometer

田中忠蔵 (京都府立医科大学脳神経外科)
成瀬昭二 (同 上)
堀川義治 (同 上)
樋口敏宏 (同 上)
平川公義 (同 上)
西川弘恭 (京都府立医科大学第一生理)

キーワード

Proton relaxation time, Central nervous system, Field dependence, Two different magnetic fields

要 旨

Although NMR-CT has been used extensively in the clinical field, there are only a few basic report on the analysis of relaxation times in the biological tissues relating to NMR images. Therefore, we measured the proton relaxation times in normal and pathological states of rat central nervous system (CNS) using two different magnetic fields in order to clarify the relaxation mechanism. Moreover, we examined the specificity of biological tissues with comparing the data of standard solution of Mn-EDTA and albumin measured by the same techniques. NMR measurements were made on with two different apparatus, PC-20 NMR analyzer (^1H : 20 MHz, Bruker, West Germany) and PFT-100 NMR spectrometer (^1H : 100 MHz, JEOL, Tokyo). T_1 and T_2 were measured by the inversion recovery method and the CPMG method respectively. These measurements were carried out at 40°C (PC-20) and at 24°C (PFT-100). Water content was measured by wet/dry method after NMR measurements.

T_1 and T_2 values of standard solutions were shown to be the good correlation to their concentration by two apparatus. In the CNS, T_1 and T_2 values differed depending on each anatomical sites. T_1 values in various anatomical sites of CNS (cerebral gray matter, white matter, cerebellum, pons and spinal cord) showed the field dependence

between two magnetic fields (20 and 100 MHz), but T_2 values did not show the field dependence. Changes of T_1 in CNS showed the good correlation to water content in both normal and pathological conditions. T_2 in various regions of normal CNS had showed no correlation to water content. T_2 in various regions of the pathological CNS prolonged from their normal values correlating to their water content.

1 はじめに

NMR-CTの臨床応用が進み、従来の画像診断装置では得られなかった解剖部位の描出や組織中の水に関する情報が得られるようになった。しかし得られた画像の意味付けやデータの解析が充分に行われているとは言い難く、生体組織の縦緩和時間 (T_1) と横緩和時間 (T_2) については、今後なお *in vitro* を含めた基礎的研究が必要である。私達は従来から高分解能 NMR spectrometer (PFT-100, ^1H 共鳴周波数 100 MHz, JEOL, 東京) を用いて様々な脳神経疾患の病態解析を行って来たが¹⁻⁶⁾、今回はさらに 20 MHz の共鳴周波数の PC-20 NMR analyzer (Bruker, 西独) を用いて中枢神経部位別の ^1H 緩和時間測定を行うこととした。

PC-20 NMR analyzer は、従来、食品や油脂工業領域で緩和時間を簡単に測定するために用いられて来たものであるが、組織試料測定への応用は行われていなかった。もし本装置を生体組織の T_1 , T_2 測定に応用できるならば、組織緩和時間の基礎的研究が広く容易に行える筈である。そこで本研究では、まず PC-20 が組織試料に使えるか否かを標準試料と組織試料を用いて検定した上で、中枢神経組織の部位別緩和時間を PC-20 (20 MHz) と PFT-100 (100 MHz) とによって二つの異なる周波数で測定し、磁場依存性を検討した。また正常群と障害群とで部位別緩和時間を測定し、組織緩和時間の持つ意味について考察を加えることとした。

2 対象

基礎資料を得るために、まず標準溶液を、次いでラット中枢神経組織を用いて測定の対象とした。

1. 標準溶液試料: 常磁性体イオンである Mn^{2+} を含む Mn-EDTA の濃度系列溶液 (0.125, 0.25, 0.5, 1, 2, 4, 8 mM) と、bovine serum albumin 溶液 (5, 7.5, 10, 15, 20 v/w %) が標準試料である。試料は各々 0.5 ml を直径 10 mm の NMR 試料管に入れ密封して測定に供した。

2. 中枢神経組織: 体重約 250 g の Wistar rat 23 尾を対象とした。対照群は正常ラット 5 尾を用い、障害群の 18 尾には、triethyl tin (TET) 1 mg/kg を連日腹腔内投与して白質に広範な細胞障害性浮腫を生ぜしめ、投与後 3 日目から 7 日目のものを測定に供した。

ラットはペントドルビタール 30 mg/kg の腹腔内投与にて麻酔後、脱血断頭した。脳組織は手術顕微鏡下に大脳と小脳、橋部に分け、大脳はさらに皮質と白質とに分離した。脊髄は愛護的に laminectomy を行って摘出し、上部と下部脊髄に分けた。測定対象は以上 6 箇所の中枢神経組織である。摘出組織は各々約 200 mg の湿重量であり、乾燥を防ぐために試料管に密封して、直ちに測定に供した。

3 NMR 測定

標準溶液およびラット対照群は異なる磁場を持

つ二つの装置にて T_1 , T_2 を測定した。障害群は PC-20 のみで測定した。

1. 広幅 Pulse NMR: PC-20 に Oscilloscope を接続し, signal intensity, phase, 90° pulse, 180° pulse を調整した。さらに transient recorder に接続してデータの書き出しと保存を可能ならしめた。 T_1 は T_1 用 ROM の application program に含まれる inversion recovery 法 (IR 法) を用いて算出した。これは種々の τ にて 8 点の FID を測定し, regression により演算して値が求められるようになっている。 T_2 は T_2 用 ROM の application program の Carr-Purcell-Meiboom-Gill pulse 系列 (CPMG 法) によった。これは 100 pulse の CPMG pulse 系列を用いるが, 実際にはこのうち 10 pulse ごとの 10 点の regression により演算している。CPMG 法の $180^\circ-\tau-180^\circ$ pulse 間隔はそれぞれの試料ごとに $\tau=100\mu\text{sec}\sim 10\text{msec}$ の間を詳細に検討して最適の τ 値を決定した。probe 内温度は 40°C に保たれており, T_1 , T_2 共測定は 4 回加算を行った。

2. 高分解能 NMR spectrometer: PFT-100 NMR spectrometer を使用した。本装置による測定方法は既報のとおりである⁵⁾。 T_1 は IR 法を用い種々の異なる τ で 13 点測定し, T_2 は CPMG 法により 80 点の測定を行った。測定は室温 (24°C) で施行した。

4 水分量測定

組織試料は NMR 測定後ただちに重量測定を行った後, 100°C 3 日間乾燥させて, 乾燥重量法により水分量を求めた⁵⁾。

5 結 果

1. 標準溶液の測定結果: Mn-EDTA 濃度と T_1 の逆数 R_1 (relaxation rate) の関係を図 1 に示した。PC-20, PFT-100 のいずれの装置を用い

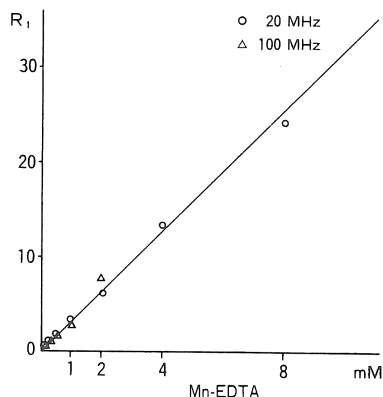


図 1 Longitudinal relaxation rate (R_1) versus various concentration of Mn-EDTA solution at 20 MHz and 100 MHz.

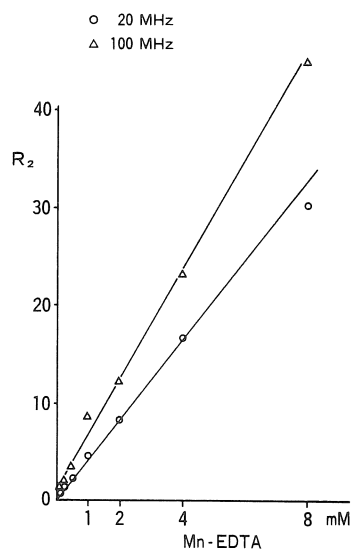


図 2 Transverse relaxation rate (R_2) versus various concentration of Mn-EDTA solution at 20 MHz and 100 MHz.

ても, R_1 と濃度とは直線的な相関関係を示した。 R_2 の場合も同様であった (図 2)。アルブミン溶液の濃度と R_1 では, 両装置共に直線的な相関関係を示した (図 3) が, R_2 との関係は直線になら

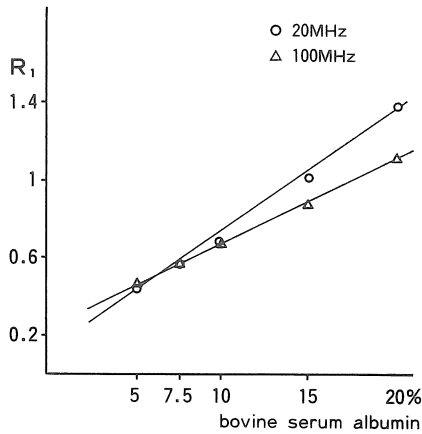


図3 R₁ versus various concentration of bovine serum albumin solution at 20 MHz and 100 MHz.

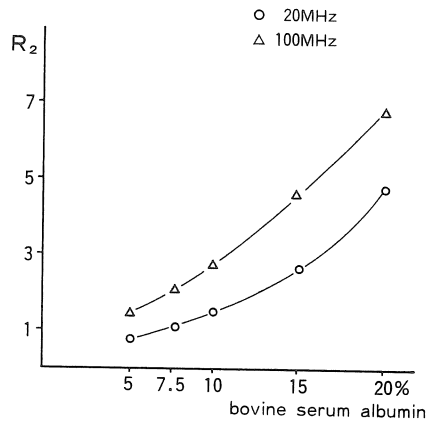


図4 R₂ versus various concentration of bovine serum albumin solution at 20 MHz and 100 MHz.

なかった (図4)。

2. 中枢神経部位別緩和時間と組織水分量:

i) 対照群: PC-20, PFT-100の部位別緩和時間 (T_1 , T_2)と水分量を表1に示した。部位別の T_1 値では、灰白質のPC-20の値が 450.0 ± 19.5 msecであるのに対し、PFT-100では 1188.9 ± 25.3 msecとPFT-100の方が値が大きかった。白質での T_1 はPC-20で 408.6 ± 8.3 msec, PFT-100で 1109.3 ± 29.9 msecと灰白質と同様にPFT-100で大きな値を示した。灰白質、白質と

も二つの装置で測定した T_1 値にははっきりした差がみられた。この部位による T_1 値の変化は表1にみられるように他の部位でも認められた。このうち橋部と脊髄では部位別の T_1 値の差はPC-20のほうがPFT-100よりも大きかった (表1)。これに対し T_2 では T_1 にみられたような部位別の値の差がみられず、灰白質、白質、小脳、橋部の T_2 はPC-20で $74 \sim 82$ msecを示すのに対し、PFT-100では $73 \sim 77$ msecとほぼ同じような値を示している (表1)。脊髄の T_2 は他の

表1 T_1 , T_2 and water content in normal central nervous system at 20 MHz and 100 MHz.

In the spinal cord, T_2 was demonstrated to be separated into two components, slow and fast ones, by the PFT-100 NMR spectrometer. (T_1 , T_2 : msec, $n=5$)

	100 MHz		20 MHz		% H ₂ O
	T_1	T_2	T_1	T_2	
Gray matter	1188.9 ± 25.3	74.4 ± 1.6	450.0 ± 19.5	82.9 ± 1.7	80.2 ± 0.1
White matter	1109.3 ± 29.9	73.6 ± 1.6	408.6 ± 8.3	78.8 ± 1.1	77.8 ± 0.3
Cerebellum	1128.1 ± 33.0	73.7 ± 1.5	383.4 ± 16.1	78.6 ± 3.1	79.1 ± 0.2
Pons	998.0 ± 22.1	77.9 ± 1.7	319.7 ± 21.0	74.8 ± 3.4	74.4 ± 0.3
Upper spinal cord	998.0 ± 29.4	105.6 ± 8.5	280.8 ± 15.4	79.4 ± 4.6	70.4 ± 0.4
Lower spinal cord	1006.8 ± 22.8	113.1 ± 12.3	294.6 ± 13.3	81.2 ± 7.2	71.1 ± 0.5
		41.0 ± 4.7			

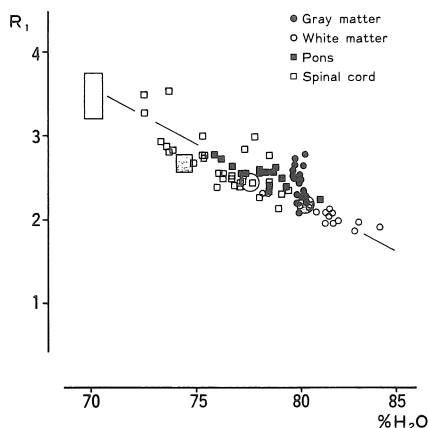


図 5 R_1 versus water content in central nervous system of TET intoxication at 20 MHz.

The values of normal central nervous system are shown by the large circles and the squares. Grayish circle and the square show the gray matter and the pons respectively, the open circle and the square show the white matter and the spinal cord respectively.

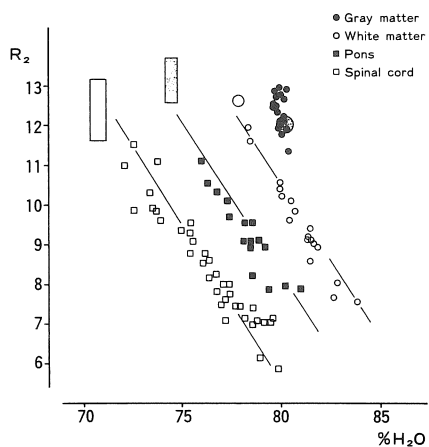


図 6 R_2 versus water content in central nervous system of TET intoxication at 20 MHz.

The meaning of the large circles and the squares is the same as those in Fig. 5.

部位と異なり, PFT-100 では早い成分と遅い成分の2成分に分かれ, その遅い成分が延長した. しかし PC-20 では T_2 値の演算は1成分として処理されるプログラムのため2成分とはならなかった.

水分量は部位により異なっている. 最小の水分含有量は上部脊髄の $70.4 \pm 0.4\%$ であり, 最大は灰白質の $80.2 \pm 0.1\%$ であった. この部位別水分量の変化には部位別緩和時間の T_1 値の変化に相関関係が認められた (表1).

ii) TET intoxication 群: PC-20 にて各部位別緩和時間を測定したが, TET intoxication の進展に従って白質や, 白質の割合が多い橋部や脊髄で T_1, T_2 の延長がみられ, 水分量の増加がみられた. 灰白質, 小脳では, T_1, T_2 , 水分量共に変化はほとんどみられなかった. 緩和時間と水分量との各々の変化を対応させるため, 変化のみられなかった小脳を除いて, 各部位別の R_1, R_2 と水分量の関係を図5,6に示した. 水分量の増加に伴って R_1 が減少 (T_1 が延長) し, R_1 と水分量との関係は, 部位別, 障害の程度にかかわらず直線的である (図5). R_2 と水分量の関係では R_1 の場合とは異なっていた. TET intoxication の進展に伴う水分量の増加に従って白質を含む部位 (大脳白質, 橋部, 脊髄) の R_2 は減少した (T_2 が延長した) が, これらの R_2 の減少は部位により値が異なるため, 部位別の平行線を画くことになった (図6).

6 考察

NMR の医学領域への応用は, ^1H 緩和時間と ^1H や ^{31}P などの spectrum analysis⁷⁻¹¹⁾ が中心となっている. なかでも生体組織の ^1H 緩和時間は NMR の医学応用の最初の出発点¹²⁾ でありながら, 実際には十分に解析されていない. 従来, 私達は 100 MHz の高分解能 NMR を用いて基礎的研究を行って来たが, 今回は実際の NMR-CT に

用いられている程度の磁場 (^1H : 20 MHz, 0.5 Tesla) により, 生体組織の緩和時間測定の意味について検討を加えたのである。

常磁性体イオンである Mn^{2+} を含む比較的低分子量の Mn-EDTA 溶液では, 緩和時間 (T_1 , T_2) は磁場強度にかかわらずほぼ同じ値をとり, さらに溶液の濃度変化と直線的な関係を示すことがわかった。アルブミン溶液の場合には, T_1 は濃度とほぼ直線的な関係を示したが, T_2 では PFT-100, PC-20 共に濃度との間に直線関係がみられなかった。アルブミンのような高分子の物質は高濃度になるに従ってアルブミン分子の水和の影響を受ける水の割合が増加するためだとされている¹³⁾。

標準溶液試料の測定から PC-20 が生体組織試料である中枢神経の緩和時間測定は充分耐えうるという結果が予測された。そこで中枢神経系の部位別 T_1 , T_2 および組織含水量の測定を PC-20 と PFT-100 の二つの異なる磁場で行ったのである。従来, 生体組織の磁場依存性に関する詳細な検討は意外に少ない¹⁴⁾。表 1 に示す T_1 値について図示してみる (図 7)。 T_1 は 20 MHz と 100 MHz の二つの磁場で全く異なった値をとって

り, T_1 には磁場依存があることが分かった。しかし, 20 MHz と 100 MHz とで各々部位別にプロットしてみる (図 7) と, 両者の変化傾向には相関がみられた。これは異なった磁場での T_1 値の比較は困難であるが, T_1 の変化が生じた場合にその変化を比較することは可能であることを示している。これに対し T_2 の場合は, 20 MHz と 100 MHz とに一定の傾向がみられず, T_2 の磁場依存性はみられなかった。

今回, 中枢神経の部位別緩和時間測定において, 対照群つまり正常脊髄の T_2 が PFT-100 にて 2 成分を示すという興味深い結果が得られた。私達の NMR を用いた実験的脳浮腫の研究の示すところでは, 正常ラットの大脳皮質や白質の T_2 は 1 成分であり, 脳浮腫の発生・進展に従って初めて T_2 の 2 成分化とその遅い成分の延長が認められている^{5,6)}。今回も脊髄以外の中枢神経では T_2 は 1 成分であり, 脊髄でのみ 2 成分となったことが特異である。一般に脳組織では組織中の細胞膜や高分子物質に水和した水と比較的自由に動きうる水とがあり, これらが互いに速い速度で交換しているために, NMR の緩和時間測定系では 1 成分の水の状態として捕えられていると説明されている^{5,6)}。脊髄の T_2 の 2 成分化は中枢神経系のなかで脊髄のみが他の部位に比べ組織中に異なった水の環境を有しているということになり, 今後の検討が必要である。実際, 筋肉では 3 成分の水の存在状態があるとの報告¹⁵⁾もあり, 中枢神経系の T_2 の意味を検討する上でも multicomponent の考えを入れることも重要なことであろう。

NMR を用いた脳浮腫の解析から, 私達は「 T_1 は水分量を反映する⁵⁾」ことを述べてきた。今回, PC-20 で得られた正常中枢神経組織の T_1 の平均値の逆数 R_1 と水分量との関係を部位別に分けて図 8 に示したが, R_1 と水分量がこの場合も直線的な相関関係にあることがみられた。中枢神経組織においては, 正常部位別 (図 8), TET intoxication による水分量増加の状態の部位別 (図 5) に

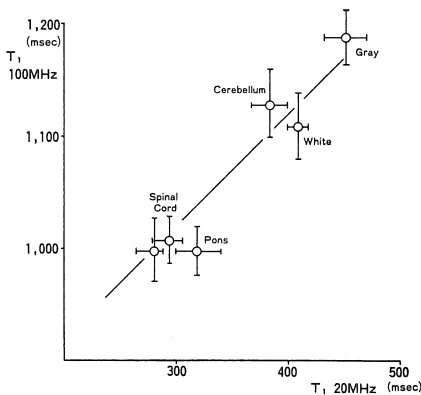


図 7 Field dependence of T_1 in central nervous system at 20 MHz and 100 MHz.

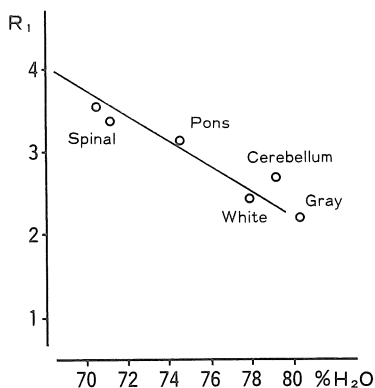


図 8 R_1 versus water content in normal central nervous system at 20 MHz.

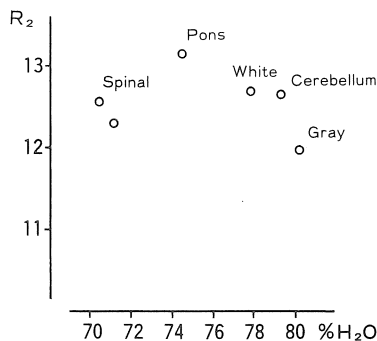


図 9 R_2 versus water content in normal central nervous system at 20 MHz.

かわらず、「 T_1 は水分量を反映する」ことが確認された。

生体組織の T_2 は T_1 に比べ複雑である。脳浮腫の T_2 変化を解析すると、TET のような細胞障害性浮腫では T_2 の変化は水分量の増加に伴う 1 相性の延長 (T_1 と同様の) であり、血管性脳浮腫の場合にはこの変化が 2 相性であった⁵⁾。また虚血性脳浮腫での T_2 の変化は 1 相性であったが、変化の割合は TET の場合と異なっていた⁶⁾。従って脳浮腫の T_2 は、水分量の増加に伴って延長するものの、その延長の仕方が増加した浮腫液に含まれる高分子物質 (蛋白質など) により影響を受けると考えられる。正常対照群と TET intoxication における部位別 T_2 測定の結果によれば、中枢神経組織の T_2 値は水分量と一定の関係が見い出せず、むしろ T_2 はその部位あるいは組織型ごとに固有な値を持っている (図 9) が、浮腫が進展すると水分量に比例して各部位に関係なく、各々の固有値から一定の割合で値が延長するのである (図 6)。

本研究では、標準溶液試料と中枢神経の部位別緩和時間を PC-20 (20MHz) と PFF 100 (100 MHz) とで行い、PC-20 NMR analyzer の医学領域への応用の有用性を検証し、中枢神経浮腫の緩和時間測定の結果をもとに緩和時間の意義につ

いても考察を加えた。磁場の異なる装置を用いて緩和時間を測定した結果、生体組織の磁場依存性を確定・検証することができたことは NMR-CT を比較検討する際の実務上重要なデータを提供するばかりでなく、*in vitro* 緩和時間の基礎的研究のステップになるものと思う。

「本研究の一部は昭和 58 年度文部省科学研究費試験研究 2 (58870075) の助成を受けた」。

文 献

- 1) 成瀬昭二, 堀川義治, 田中忠蔵他: 核磁気共鳴法 (NMR) による脳浮腫の研究— ^1H 緩和時間の経時的変化—。脳神経 33: 569-575, 1981.
- 2) 成瀬昭二, 堀川義治, 田中忠蔵他: 核磁気共鳴法 (NMR) によるヒト脳腫瘍の分析— ^1H 緩和時間と X 線 CT との対比—。CT 研究 4: 13-18, 1982.
- 3) 堀川義治, 成瀬昭二, 田中忠蔵他: ^1H —核磁気共鳴法による脳浮腫の研究—常磁性体 (Mn) 投与による緩和時間への影響と水の存在部位に関して—。神経外傷 4: 97-102, 1982.
- 4) 成瀬昭二, 堀川義治, 田中忠蔵他: 核磁気共鳴法によるグリセロールの脳浮腫改善作用の検討, 脳神経 34: 805-809, 1982.
- 5) S. Naruse, Y. Horikawa, C. Tanaka, et al.: Proton nuclear magnetic resonance studies on brain edema. J. Neurosurg 56: 747-752, 1982.

- 6) K Hirakawa, S. Naruse, Y. Horikawa, et al.: Proton NMR study on brain edema. in *Recent Progress in the Study and Therapy of Brain Edema.* (eds) K. G. Go, A. Baethmann New York: Plenum Publishing Corp, 271-282, 1984.
- 7) 成瀬昭二, 堀川義治, 田中忠蔵他: Topical magnetic resonance (TMR) による虚血脳の *in vivo* エネルギー代謝の研究—虚血時および再開通時のリン化合物の経時変化—。脳神経 **35**: 603-609, 1983.
- 8) S. Naruse, S. Takada, I. Koizuka, et al.: *In vivo* ^{31}P NMR studies on experimental cerebral infarction. *Jap. J. Physiol.* **33**: 19-28, 1984.
- 9) 田中忠蔵, 成瀬昭二, 堀川義治他: 脳組織, 脳腫瘍の proton NMR spectra. *医学のあゆみ* **128**: 653-655, 1984.
- 10) S. Naruse, Y. Horikawa, C. Tanaka, et al.: *In vivo* measurement of energy metabolism and the concomitant monitoring of electroencephalogram in experimental cerebral ischemia. *Brain Res.* **296**: 370-372, 1984.
- 11) 堀川義治, 成瀬昭二, 田中忠蔵他: Topical magnetic resonance (TMR) による虚血脳の *in vivo* エネルギー代謝の研究—EEG, r -CBF との対比および PFC, グリセロールの治療効果に関して—。NMR 医学 **4**: 66-74, 1984.
- 12) R. Damadian: Tumor detection by nuclear magnetic resonance. *Science*, **171**: 1151-1153, 1971.
- 13) R. Cooke, R. Wien: The state of water in muscle tissue as determined by proton nuclear magnetic resonance. *Biophys. J.* **11**: 1002-1017, 1971.
- 14) C. R. Ling, M. A. Foster, J. M. S. Hutchison: Comparison of NMR water proton T_1 relaxation times of rabbit tissues at 24 MHz and 2.5 MHz. *Phys Med Biol.* **25**: 748-751, 1980.
- 15) C. F. Hazlewood, D. C. Chang, B. L. Nichols, et al.: Nuclear magnetic resonance transverse relaxation times of water protons in skeletal muscle. *Biophys. J.* **14**: 583-606, 1974.