

総説

生物水の基礎と NMR-CT(2)
—水と老化—

The Foundation of Biological
Water and Nuclear Magnetic
Resonance (NMR)-CT (2)—
Water and Symptoms of
Senility—

片山誠二 (静岡薬科大学物理化学)

キーワード

生物水, NMR-CT, 結合水, 水和水, 構造水, タンパク質, アミノ酸, 不凍水, 緩和時間 (T_1 , T_2), FPD モデル, PD, 老化

要旨

生物水は生体内で重要な役割を演じているといわれている。この生物水の生体内での役割や機能を分子レベルで研究することは、科学者の長年の夢の一つであった。今、NMR-CTの登場によって、そのような研究が可能になろうとしている。NMR-CTは、生きたままの生物について、その組織内の水の物性 [T_1 , T_2 , プロトン密度 (PD), etc.] を指標とした画像法であることは既によく知られている。このため NMR-CT は *in vivo* の条件下における生物水の分子レベルでの情報をひき出すもっとも優れた方法と考えられている。しかし、現段階においては、観測される NMR 諸量は必ずしも生物水の真の物性を反映する結果を与えていない。現在このような欠点を補うべく、PD, T_1 , T_2 などの本来の物理量のフィジカルミーニングを損なわないような観測方法が重要視されている。このような物理量の絶対値を重視した開発が進めば、生物水について一層の理解が深まるとともに、これら生物水と関

連づけたより高度な研究の展開も可能となろう。

既に前編¹⁾では、純水の性質から始め、生体高分子と相互作用した水、組織中の水などについて、その構造、物性、状態分析、化学量論、分子運動、低温挙動など、生物水の基本的諸性質の理解に重点を置いて述べてきた。これらは主として、NMRの分析的な利用によって得られた *in vitro* の結果に基づいたものであった。

本編では、まず NMR-CT によって得られる生物水についての *in vivo* における理解や評価方法についてふれ、次に、その *in vivo* における生物水の理解を基にした研究、すなわち、生物水の機能と生長や老化、あるいは病態といった生体内の諸現象とを関連づけた研究の可能性について言及する。

1 生物水と NMR-CT

生物水の基本的な性質の理解は、*in vitro* の NMR によってほぼ確立されてきた。しかし、生物水の真の理解は生きたままの系でなされるのが理想的である。この意味で、NMR-CT は有用な手法である。NMR-CT によって得られる結果は、生きたままの系における生物水の状態を捉えるといった利点を有するが、反面、従来の分析用 NMR にはなかった種々の問題点を現在かかえている。

まず、NMR-CT 装置は映像優先に開発されてきたため、観測値が必ずしも本来の物理量を正確に反映していない。現在 T_1 、 T_2 値は改良されつつあるが、プロトン密度の評価についてはまだまだ改良の余地を残している。

第二の問題は、系の inhomogeneity である。これは分解能と関連している。生体系は、水や種々の生体分子を含む不均一や系からなっている。したがって、観測値は装置の分解能の範囲内(≒ 1 mm 幅)にあるすべてのプロトンを同時に検出し、すべての成分をあわせ含む。しかし、幸いな

ことにほとんどの生物組織は含水量が多い。このため、観測されるプロトン密度はほとんど生物水に由来する。また、パルス幅を適当に選ぶことによって不必要な成分のプロトン信号を除き、生物水からの寄与のみを残すといった測定上の技法が可能であり、すなわち、生物水の信号を選択的に取り出して観測することが可能である。この場合、観測に際し、水その他の構成成分であるタンパク質、脂質、糖などのプロトンの緩和時間をあらかじめ知っておくことが観測値の正しい評価につながる。分解能は、サンプリングのポイント数を増やせば原理的に向上するが、コンピューターの処理能力のため測定時間がかかることや、スペクトル強度が弱くなることなどの欠点を伴う。この点、装置開発上の最大の懸案となっている。

表 1 は、ヒトやウサギの正常組織について、その組織中に含まれる生物水の T_1 および T_2 の NMR-CT から得られた結果である²⁾⁻⁷⁾。 T_1 の値は、組織の種類によってそれぞれ異なった値を示している。その原因は、生物水の動態が生物組織固有の構造や機能を反映した結果のためだと理解されている。一方、観測された T_1 値はいずれもある幅で分布している。これは、同一の組織においても必ずしも均一な状態にないことを意味している。

表 2 は、NMR-CT によって得られた種々の病態状態にあるヒトの脳や肝組織の T_1 、 T_2 を示し

受 付 1986年6月4日
 最終稿受付 1986年6月4日
 別刷請求先 (〒422) 静岡市小鹿 2-2-1
 静岡薬科大学物理化学
 片山 誠二

表 1 NMR-CT によって得られた正常組織細胞中の水の緩和時間 T_1 , T_2 ²⁾

種	組織	T_1 (msec)	τ (msec)	T_2 (msec)	τ (msec)	Frequency (MHz)	参 照	
ウサギ	肝 臓	215±6	300	—	16	4. 26	Gore et al. (1983) ³⁾	
		194	200	37±11	32			
	筋 肉 (背椎)	259±7	300	21±3	16			
		241	200	28±10	32			
	皮 膚	220±10	300	—	16			
	腎 臓 (全体)	419±9	300	39±6	16			
		359	200	70±11	32			
	脊 髄	306±4	300	17±10	16			
		271	200	59±18	32			
ヒ ト	肝 臓	140~170	200	—	—	1. 7	Hutchison & Smith (1983) and Smith (1982) ⁴⁾	
		250~290	200	—	—			
	骨 格 筋	160~200	200	—	—			
		—	—	—	—			
	脳 (白質)	225~250	200	—	—			
		250~275	200	—	—			
	脂 肪	120~140	200	—	—			
		340~370	200	—	—			
	血 液	190~210	200	—	—			
		300~340	200	—	—			
	腎 臓	350~1,000	200	—	—			
		—	—	—	—			
	脳脊髄液	210~270	400	—	—	3~13	Straughan et al. (1983) ⁵⁾	
		440~580	400	—	—			
	肝 臓	220~350	400	—	—	—	—	
		240~350	400	—	—			
	脾 臓	—	—	—	—	—	—	
		—	—	—	—			
	白 質	—	—	—	—	—	—	
		—	—	—	—			
鉗子状器官 (副)	—	—	—	—	—	—		
	—	—	—	—				
鉗子状器官 (主)	—	—	—	—	—	—		
	—	—	—	—				
灰 白 質	440~590	400	—	—	—	Bydder et al. (1982) ⁶⁾		
	尾状神経核	380~480	400	—			—	
レンズ状神経核	340~410	400	—	—				
視 床 部	480~600	400	—	—				
島状皮質	440~610	400	—	—				
大脳皮質	—	—	—	—				
脳脊髄液	900~2,000	400	—	—				
	前 頭 角	—	—	—			—	
脳 (白質)	—	—	80~130	40			mag. field	Bailes et al. (1982) ⁷⁾
	—	—	90~130	40				

たものである^{2)~7)}。病態状態の種類によって生物水の T_1 値は正常のものに比較していずれも大きく観測されている。がんや腫瘍細胞は後述するよう、病態状態の方が正常なものにくらべて組織中の含水量が多く、かつ生理機能が活発になるなどによって特徴づけられる。このことが緩和時間を長くする原因となっている。

ここで注意すべきことは、これら NMR-CT によって得られた結果は、従来の *in vitro* で得られ

た結果と単純に比較できない点にある。その理由は、従来、両者の観測周波数やパルス幅などの測定条件が異なっているため、たとえ同一のサンプルであっても異なった観測値を与えてしまうからである。したがって、NMR-CT による実験を行う際、物理量のフィジカルミーニングを損なわない方策が必要となってくる。現在、NMR-CT 測定に際し、リファレンスとなる物質 (ファントム) を用いることによって標準化を図り、統一的

表 2 NMR-CT によって得られた異常組織細胞中の水の緩和時間 T_1 , T_2 ²⁾

組織	異常状態	T_1 (msec)	T_2 (msec)	τ (msec)	Frequency(MHz)	参照
肝臓	肝硬変	180~300	—	200	1.7	Hutchison & Smith(1983) ⁴⁾
		280~450	—	400	3~13	Straughan et al.(1983) ⁵⁾
	肝がん	300~450	—	200	1.7	Hutchison & Smith (1983) ⁴⁾
		460~530	—	400	3~13	Straughan et al.(1983) ⁵⁾
	転移	390~450	—	200	1.7	Hutchison & Smith(1983) ⁴⁾
		560~810	—	400	3~13	Straughan et al.(1983) ⁵⁾
脳	神経腫	250~350	—	200	1.7	Hutchison & Smith (1983) ⁴⁾
	脳水腫	360~420	—			
	脳梗塞	320~375	—			
	脳転移	250~350	—			
	悪性腫瘍	180~450	—	40	mag. field 0.15T	Bailes et al. (1982) ⁷⁾
	梗塞	—	120~150			
	脳水腫	—	130~320			
	悪性腫瘍	—	140~480			

な物理量の評価方法が模索されている。このようなシステムの開発が進めば、*in vitro* と *in vivo* の結果の相互の比較も可能となろう。

NMR-CT はまだまだ開発の途上にあるといっ
てよい。従来の映像優先から脱し、本来のフィジ
カルミーニングを生かした開発が進めば、分子レ
ベルにおける基礎生物化学などの新しい領域の展
開も可能になると期待される。

2 生物水と生長や老化は相関関係がある か？

水質のよい地域に住む人は長生きであるとか、
水々しい女性は若やいでいるなどとよくいわれ
る。果たして、生物の生長や老化と生物水との間
には明確な相関関係があるのでしょうか。以下に
この命題にそって種々の分子レベルの検証をし
てみよう。

ヒトの平均の含水量は、胎児79%、小児75%、
大人60% (男)、50% (女) であり、年齢ととも
に小さくなる。老人のものは、大人のものよりさ
らに少なくなると推測されている。表3は^{2),8)}

¹⁵⁾、生体の各組織別の含水量を詳細にまとめたも
のである。組織の種類によって含水量が種々異な
っている。これは、組織固有の特性を反映したも
のと解される。一方、いずれの組織においても、
胎児、新生児、大人へと生長するに従って含水量
の減少がみられる。このように、加齢による含水
量の変化は、後に述べる生長や老化のメカニズム
と密接に関連していると考えられる。

がん細胞のように突然活発な生理活動を開始し
増殖するものは、一種の若がり現象として理解
されている。がん細胞内の含水量は正常な組織の
ものにくらべて著しく増加し、生物水の核磁気緩
和時間 (T_1 , T_2) は著しく長くなることが知られ
ている¹⁶⁾。この含水量や T_1 の変化は後で述べる
ように病態共通のメカニズムと密接に関連してい
るのである。いずれにしても、このような生物水
のふるまいを利用した応用は、今日、がんや腫瘍
の早期発見などの臨床面に生かされている。

以上の簡単な考察から、生物水は単なる溶媒や
反応場としての働きだけでなく、もっと積極的な
役割を有しており、その役割は、生長や老化現象
とも密接に関連したものと理解される。このよう

表 3 ヒト, ラット, マウスなどの組織に含まれる水の量²⁾

組 織	ヒト ^a およびラット ^b			マウス	参 照
	大 人	新生児	胎 児		
筋 肉	79.2 ^a	80.4 ^a	88.7 ^a	—	Documenta Geigy (1978) ⁸⁾
骨 格 筋	77.0 ^b	90.0 ^b	—	—	Hazlewood (1975) ⁹⁾
	—	—	—	75.8±0.3	Bakker (1982) ¹⁰⁾
大 腿 筋	75.4 ^b	89.5 ^b	88.6 ^b	—	Foster (personal communication)
心 臓	82.7 ^a	84.1 ^a	86.0 ^a	—	Documenta Geigy (1978) ⁸⁾
心 室 筋	77.5 ^b	83.4 ^b	86.2 ^b	—	Foster (personal communication)
皮 膚	69.4 ^a	82.8 ^a	90.1	—	Documenta Geigy (1978) ⁸⁾
脳	—	—	—	80.0	Foster (1984) ¹¹⁾
灰白質	84.3 ^a	—	—	—	Documenta Geigy (1978) ⁸⁾
	81.9 ^a	—	—	—	Gore (1982) ¹²⁾
白 質	70.6 ^a	—	—	—	Documenta Geigy (1978) ⁸⁾
	71.6 ^a	—	—	—	Gore (1982) ¹²⁾
脳	77.0±0.42 ^b (normal)	88.3±0.87 ^b (immature)	—	—	Kiricuta & Simplaceanu(1975) ¹³⁾
脾 臓	79.0 ^a	—	—	—	Documenta Geigy (1978) ⁸⁾
	—	—	—	76.7±0.6	Bakker (1982) ¹⁰⁾
	—	—	—	77.0	Raaphorst & Kruuv (1981) ¹⁴⁾
	70.4 ^b	83.6 ^b	—	—	Foster (personal communication)
腎 臓	81.0 ^a	84.1 ^a	88.4 ^a	—	Documenta Geigy (1978) ⁸⁾
	—	—	—	74.4±0.2	Bakker (1982) ¹⁰⁾
	—	—	—	75.5	Raaphorst & Kruuv (1981) ¹⁴⁾
	72.4±0.58 ^b (normal)	—	—	—	Kiricuta & Simplaceanu(1975) ¹³⁾
肺 臓	78.7 ^a	85.8 ^a	88.8 ^a	—	Documenta Geigy (1978) ⁸⁾
肝 臓	71.1 ^a	78.6 ^a	81.2 ^a	—	Documenta Geigy (1978) ⁸⁾
	—	—	—	70.0±0.7	Bakker (1982) ¹⁰⁾
	65.8±0.34 ^b (normal)	74.5±0.66 ^b (immature)	—	—	Kiricuta & Simplaceanu(1975) ¹³⁾
	70.4 ^b	73.6 ^b	79.2 ^b	—	Foster (personal communication)
脂 肪	—	—	—	12.4±0.1	Bakker (1982) ¹⁰⁾
胎 盤 (20~40週)	—	—	86.6 ^a	—	Documenta Geigy (1978) ⁸⁾
胎 児	—	—	90.8±0.5 ^b	—	Kiricuta & Simplaceanu(1975) ¹³⁾
血 液	85.0 ^a	—	—	—	Documenta Geigy (1978) ⁸⁾
	—	—	—	85.9	Raaphorst & Kruuv (1981) ¹⁴⁾
血 漿	93.0 ^a	—	—	—	Altman & Dittmer (1973) ¹⁵⁾
脳脊髄液	96~98.8 ^a	—	—	—	Altman & Dittmer (1973) ¹⁵⁾
腫瘍エールリッヒ腹水	83.8±0.8 ^b	—	—	—	Kiricuta & Simplaceanu(1975) ¹³⁾
Walker 256	83.2±0.47 ^b	—	—	—	
Walker がんのリンパ節 への転移	83.7±0.95 ^b	—	—	—	
全 身	53.4~60.2 ^a	79.0 ^a	—	—	Documenta Geigy (1978) ⁸⁾

表 4 生体の加齢現象

加齢形態 物性変化	加 齢 (aging)		
	若	成	老
	生長	老化	
	Immature Fetal Neonatal Young	[Mature] [Adult]	Aged
	Tumor Cancer	Normal	
生理活動	活 発	定常状態	衰 え 復元力の低下 (ホメオスタシス)
組織細胞	未 発 達	発 達	衰 え, 萎 縮
	柔らかさ 弾力性 膨 潤	一定に達する	衰 える
含 水 量	多 い	一 定	少 なる
結合水成分	少 ない	一 定	多 なる
自由水成分	多 い	一 定	少 なる
水の拡散速度	早 い	一 定	遅 い
水の分子運動	早 い	一 定	遅 い
核磁気緩和時間 T_1, T_2	長 い	一 定	短 い

な観点に立って、生物水の物性変化を生長や老化現象の指標としたアプローチの可能性について以下に述べるが、その前に、生物の生長や老化とは一体どういうものか、従来の概念を基にして簡単ふれてみよう (表 4)。

老化の現象面におけるもっとも端的な定義は、生理機能の低下だとされている。生体内において、代謝、エネルギーや物質輸送、タンパク合成、酵素反応などの機能が加齢とともに変化することが考えられる。若い細胞はすべての機能の活動が活発である。この過程を生長という。加齢とともに次第にその機能が低下し、大人の定常状態にいたる。大人の定常状態からの機能低下は老化過程である。ここで、この機能低下の原因には諸説あり、たとえば遺伝子説、突然変異説、クロスリンク説、免疫異常説、等々があげられる。この点については成書に譲る。ここで重要なことは、

生物水が種々の生理機能を支えており、生長や老化と密接に関連しているという立場をとる点にある。一方、形態的に見た場合、細胞組織は若いほど未発達であり、生長とともに大人の発達した状態にいたる。この発達した大人の状態からの組織の萎縮 (atrophy) が老化である。この時の組織の形態は、若いほど弾力があり、柔らかく、脹らんだ状態をとる。加齢とともに次第にこの弾力や柔らかさが失われ、収縮した状態へと変化して行く。老化過程においては、この変化は顕著に進行する。ここで、この形態面を支配している因子は生物水であり、生体高分子と生物水との結合様式に由来する。

分子レベルから老化や生長を捉えた場合、若い細胞ほど組織に結合した結合水成分は少なく、自由水成分が多くなる。老化に伴って、逆に自由水成分が少なくなり結合水成分が相対的に増える。

総含水量は若いほど多く、加齢とともに少なくなる。生物水の分子運動や拡散定数などの動的性質は若いものほど大きく、加齢とともに小さくなる。したがって、核磁気緩和時間 (T_1 , T_2) は若い細胞中の生物水ほど長く、老化するに従って短くなる。分子レベルからみた生物水の挙動は、加齢とともに起こる生理機能の変化や形態的な変化とは必ずしも無縁ではなく、構造的に密接に関連した現象として理解される。

以上の考察から、生物水の NMR 諸量は生長や老化の分子レベルのよい指標になることが理解される。したがって、NMR-CT は、この方面の研究に一層威力を発揮するものと期待される。

3 加齢による生物水の物性変化

加齢とともに起こる組織中の生物水に及ぼす影響について、分子レベルで調べた例として Hazlewood¹⁾の研究をあげることができる。ラットの骨格筋組織中に含まれる生物水の NMR 信号の線幅はラットの生長とともに変化する (図 1)。線幅は加齢とともに増加し、40日齢にいたり一定値に達する。線幅は横緩和時間 (T_2) の逆数に比例することから、生物水の分子運動の尺度とみることができる。したがって、生物水の分子運動は若いラットほど活発であり、生長とともに次第に緩慢になり一定値に達すると理解される。生長過程のメカニズムは、既に述べたように細胞内で種々の生体高分子が盛んに産生され組織作りが行われる。これに伴って組織に結合した結合水成分が増え、自由水成分の相対量は減少する。したがって、この時生物水の分子運動は、原理的に Zimmerman-Britten¹⁸⁾の二相状態モデルによって取り扱うことができ、見掛の T_2 が小さくなり、すなわち、分子運動が緩慢になったものと解される。

ラット骨格筋についてさらに詳しく調べた結果が表 5 である¹⁷⁾。40日齢以上の成熟ラットと10日齢以下の未成熟ラットについて、その筋組織中に

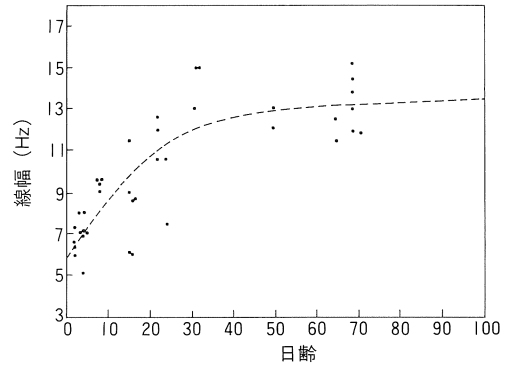


図 1 ラット骨格筋中の水の NMR 信号の線幅に及ぼす加齢の影響¹⁷⁾

表 5 ラット骨格筋中の水の NMR T_1 , T_2 と加齢

サンプル	T_1 (sec)	T_2 (sec)
純 水	2.97 ± 0.14	1.6 ± 0.11
成熟筋肉 (40日齢以上)	0.723 ± 0.049	0.047 ± 0.004
未成熟筋肉 (10日齢以下)	1.206 ± 0.055	0.127 ± 0.009

含まれる水の緩和時間 T_1 , T_2 を比較した。その結果、 T_1 , T_2 のいずれにおいても、未成熟のものより成熟したものの方が小さく観測された。これは加齢に伴って生物水の分子運動が緩慢になることを意味するが、この場合も生長のメカニズムに基づき、組織変化の影響が生物水の状態変化に反映されたものと理解される。

Cooper¹⁹⁾は、種々の組織中の水の拡散速度をスピネコー法により見積った。それによると、10日齢のラビットの肝組織中の水の拡散速度は 0.25 ± 0.04 (D/Dw)、2年齢のものは 0.195 ± 0.03 となり、成熟肝の方が拡散しにくいことを示した。加齢に伴う組織の発達には結合水の増加をもたらした。その結果、生物水の拡散がおさえられると解される。このように生物水の拡散に関する結果においても加齢現象と生物水の特性との関係

表 6 ネズミの脳中の水の NMR T_1 と加齢²⁰⁾

日 齢	サンプル数	$T_1 \pm S.D.$ (秒)
1	6	1.83 ± 0.02
2	5	1.82 ± 0.06
8	4	1.78 ± 0.02
21	2	1.33 ± 0
21	6	1.26 ± 0.08

を無理なく理解することができる。

Buonanno ら²⁰⁾ は、NMR-CT によりネズミ (ゲルビル) の脳の T_1 の加齢変化を観測した (表 6)。それによると、 T_1 値は 1 日齢の 1.83 秒から加齢とともに次第に減少し、21 日齢の成熟レベルにいたり、1.3 秒の一定値に達することを示した。これらの結果もまた、生長のメカニズムによって、すなわち脳組織の発達に伴って結合水成分が自由水成分にくらべて相対的に増え、かつ総含水量が減少し、その結果、平均の分子運動が緩慢になり、 T_1 が小さくなったと理解される。

NMR-CT によるヒトの脳についての研究は、もっとも進んでいる分野である。Smith ら²¹⁾ の結果によれば、新生児の脳の白質部、灰白質部いずれも 390~430 msec の範囲の値を示した。一方、大人のそれは 225~250 msec (白質)、275~300 msec (灰白質) となり、いずれの組織においても新生児のものの方が大人のものより著しく大きい値をとることを示した (表 7)。この加齢による T_1 の減少は、新生児の脳が相対的に含水量が高いこと、および加齢とともに含水量が減少し、かつ結合水成分の比率が増えることなどの生長のメカニズムによって理解される。なおここで、種々の病態にある脳組織の T_1 は正常な大人のものと比較して大きく観測されている。大脳浮腫 (cerebral oedema) の場合は、新生児の値より著しく大きくなっている。このようにがんや腫瘍などの細胞増殖を伴う病態の場合、正常なものにくらべて活発な生理機能によって特徴づけられるため、若い細胞と同様の状態にあると解される。したが

表 7 NMR-CT によるヒト脳中の水の T_1 ²¹⁾

組 織	T_1 (msec)	
大脳皮質	白 質 (成人)	225~250
	灰白質 (成人)	275~300
	白 質 (新生児)	390~430
	灰白質 (新生児)	390~430
脳	大脳浮腫	500~600
	神経膠腫	350~450
	髄 膜 腫	350~450
	転移がん	350~450
	大脳梗塞	300~450

って、病態状態は、若い細胞と同じ緩和のメカニズムが考えられ、生物水の T_1 の増加が説明される。

Kirikuta ら²²⁾ は、ラットやマウスを中心に、その胚、成熟組織、未成熟組織、腫瘍組織、および蒸留水などについて、それぞれの T_1 、 T_2 、含水量などを調べ比較検討した (表 8)。その結果、 T_1 、 T_2 のいずれの値においても、純水 > 胚 > 病態組織 > 未成熟組織 > 成熟組織の順に小さくなることを示した。さらにこの関係は、含水量とよい相関関係を示した。この結果は、胚 → 未成熟組織 → 成熟組織の変化に伴って起こる含水量の減少、結合水成分の増加、自由水成分の減少、生理機能の減少などの加齢特有の一般的現象とよい対応関係を示している。一方、種々の病態状態にある組織中の水の T_1 値と含水量との間には相関関係がみられなかった。これは、緩和時間が必ずしも生物水の化学量論だけで決まるのではなく、むしろ病態固有の生理機能にも支配されていることを示唆している。

Lewa ら²³⁾ は、ハムスターの各組織中の生物水の T_2 値を観測した (表 9)。3 カ月齢と 6 カ月齢のものを比較した結果、肝、脾臓、皮膚のいずれの組織においても、6 カ月齢のものの方が大きな T_2 値を示した。加齢による T_2 の減少は、やはり生長のメカニズム、すなわち組織の発達によ

表 8 ラットおよびマウスの組織中の水の T_1 , T_2 および含水量²²⁾

組 織	T_1 (sec)	T_2 (sec)	含水量 (%)
胚	1.422±0.007 (5)	0.200±0.004 (5)	90.8±0.5 (5)
腫瘍組織			
エーリッヒがん (溶液+細胞)	1.818±0.016 (3)	0.226±0.0052(3)	93±3 (3)
エーリッヒがん細胞	1.15 (2)		83±0.8 (6)
Guérin	1.135±0.012 (4)	0.059±0.009 (4)	84.4±2 (6)
H-18 R	1.125 (2)	0.080 (2)	
Walker 256	1.093 (2)	0.077 (2)	83.2±0.47 (5)
R-20	1.072 (2)	0.080 (2)	
エーリッヒ固体	1.025±0.007 (3)	0.0382±0.006(3)	80.0±1 (3)
Walker がんのリンパ球への転移	0.916±0.045 (3)	0.065±0.006 (3)	83.7±0.95 (3)
未成熟組織			
脳	1.361 (2)	0.149 (2)	88.3±0.87 (3)
心 臓	0.936 (2)	0.069 (2)	86.6±0.75 (3)
肝 臓	0.527 (2)	0.043 (2)	74.5±0.66 (3)
正常組織			
脳	0.866±0.042 (3)	0.071±0.007 (3)	77±0.42 (3)
心 臓	0.873±0.027 (3)	0.046±0.011 (3)	73.3±0.39 (3)
腎 臓	0.685 (2)	0.056 (2)	72.4±0.58 (3)
肝 臓	0.340 (2)	0.030 (2)	65.8±0.34 (3)
蒸留水	2.78	1.4	

(): サンプル数

表 9 ハムスター組織細胞中の水の緩和時間 T_2 の加齢変化²³⁾

組 織	3カ月齢	6カ月齢	6カ月齢	
			黒色腫	非黒色腫
肝 臓	68±3	53±3	57±3	55±3
脾 臓	78±3	72±3	69±3	70±3
肺 (正常)	91±3	—	—	75±3
(浮腫)	—	106±3	103±3	—
皮 膚	78±3	72±3	—	—

る生物水の状態変化によって理解される。

Bottomly ら²⁴⁾は、ゲルビル (ネズミの一種) の脳や筋肉中の生物水の緩和時間 T_1 のデータを基にして^{20),25)}, 加齢とともに変化する T_1 の挙動について論じた (図2)。脳中の水の T_1 は加齢と

ともに次第に減少し、20日齢の成熟レベルへと変化する。一方、筋の T_1 値は、胚から1日齢までは T_1 値の変化はほとんどみられないが、その後、加齢とともに T_1 値は減少し成熟レベルに達する。これらの結果もまた、組織細胞の発達に伴って生物水の状態が変化し、その影響が T_1 の減少として現れたものとして理解される。

Beall ら²⁶⁾は、ヒト胸部がん細胞の各種セルラインの生長速度 (二倍増殖) と生物水の緩和時間との関係を調べた (図3)。その結果、がん細胞の増殖速度と T_1 値との間によい相関関係があり、増殖速度が速いほど T_1 値が大きいかを示した。なおこの場合、 T_1 値と含水量との間には相関関係がみられなかった。この結果は、 T_1 値が水の化学量論による因子よりも、むしろ病態固

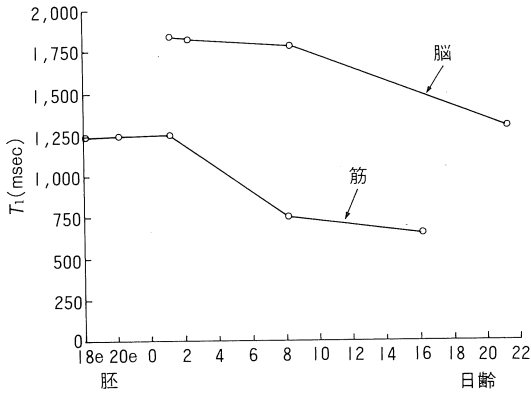


図2 ネズミの脳およびトリの筋肉中における水の緩和時間 T_1 の加齢変化²⁴⁾

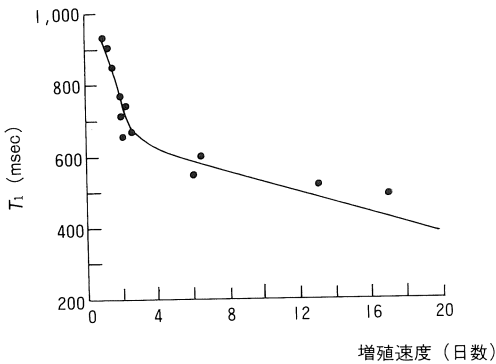


図3 ヒト胸がん細胞の各種セルラインにおける増殖速度 (2倍に増殖) と T_1 ²⁶⁾

有の活発な生理機能による因子によって支配されていることを示唆している。

加齢による赤血球中の水の核磁気緩和時間の挙動は他の組織とまったく異なっている。Cameronら²⁷⁾は、生後2~4日、15~17日、および75日経たマウスの赤血球中の水の T_1 、 T_2 の値を観測した(表10)。その結果、 T_1 、 T_2 いずれの場合も加齢とともに増加することが示された。この変化は他の組織の挙動と逆である。一般には、加齢とともに組織が発達し、それに伴って生物水の平均的な分子運動が遅くなり、その結果、緩和時間は一

表10 マウス赤血球中の水の T_1 および T_2 の加齢変化²⁷⁾

生後の経過日数	T_1 (msec)	T_2 (msec)	含水量(%)
2~4	704±45	142±3	71.6±1.9
15~17	750±9	183±10	—
75	768±11	184±3	63±1.9

般に小さくなるのが普通である。したがって、この場合は組織の発達以外の効果が特別に効いていると考えるのが妥当のようである。その原因の一つとして常磁性イオンや無機イオンの影響をあげることができる。Cameronら²⁷⁾は、加齢による無機イオンの変化を刻明に調べ、緩和時間との対応関係を検討した。

Conlonら^{28)~34)}は、NMR 緩和時間 (T_2) の測定により、ヒト赤血球中の水の拡散交換速度 (msec) を調べた(表11)。25°Cにおいては、成人のものは11.0±0.4、胎児のものは16.4となった。この結果は、大人の拡散速度が胎児のものより大きいことを示しているが、Cameronら²⁷⁾の赤血球についての結果と同様に、加齢による組織の発達による解釈では説明ができない。この場合、常磁性イオンなどの影響による解釈が妥当のようである。なお、23°→25°→37°C と温度が高くなるに従って交換速度が大きくなっているが、これは熱エネルギー kT によって交換速度が加速されると解され、温度による動的性質の通常概念として無理なく理解される。

生物組織の生長・老化に伴う生物水の物性変化をみてきたが、生きた状態と死んだ状態の差異はどのように理解すればよいのであろうか。一般に *in vitro* における組織サンプルは生きた個体から切り離された状態、すなわち生理機能がストップした死んだ状態にある。したがって、NMR-CTによって得られた *in vivo* の結果と、分析用NMRによって得られた *in vitro* の結果との差を比較すれば、生物の生と死の本質的な差異を知ることができると考えられる。しかし、現状では、この

表 11 ヒト赤血球中の水の拡散交換時間 (msec)²⁸⁾

	37°C	方法	参照
成熟細胞			
8.4±2.0 (23°C, n=7)	—	³ HHO	Paganelli & Solomon ²⁹⁾
11.0±2.7 (23°C, n=10)	—	³ HHO	Barton & Brown ³⁰⁾
13.0±4.0 (22°C, n=10)	8.9±1.6 (n=5)	³ HHO	Vieira et al. ³¹⁾
—	8.2±0.31(n=8)	NMR (T_2)	Conlon & Outhred ³²⁾
11.0±0.4 (25°C, n=9)	7.15±0.15(n=10)	NMR (T_2)	} Conlon & Outhred ²⁸⁾
12.2±1.0 (20°C, n=12)	—	NMR (T_2)	
16.7 (25°C)	9.4	NMR (T_1)	Shporer & Civan ³³⁾
21.7±2.9 (25°C)	—	NMR (T_1)	Fabry & Eisenstadt ³⁴⁾
胎児細胞			
17.9±4.1 (23°C, n=17)	—	³ HHO	Barton & Brown ³⁰⁾
16.4 (25°C)	10.4	NMR (T_1)	Conlon & Outhred ²⁸⁾

n : サンプル数

比較はきわめて難しい。その理由として、まず NMR-CT における物理量の評価が現状では必ずしも充分でないこと、次に、従来の観測周波数、パルス幅などの測定条件が分析用 NMR と NMR-CT では異なっている場合が多いこと、さらに、生きた組織の生理機能は生体全体によって制御されているが、死んだ組織はこの制御機構が解け、内部の酵素が一斉に働きだし分解が進む、このためサンプルの状態が時々刻々変化し、サンプルの保存状態や経過時間などに著しく依存して観測値が異なること、などがあげられる。

Stout ら³⁵⁾の *in vitro* における ivy bark (蔦の樹皮) の結果は示唆的である (表 12)。生きた組織中の水の T_1 や T_2 値は死んだ状態のものよりも大きく観測された。このことは、生きた状態がある生理機能の支配下にあり、細胞内と細胞外とのアクセスがある制御下に置かれている。このため、死んだ状態のものより緩和が速くなったものと解される。いずれにしても、死んだ状態のものは生きた生物の加齢とは別のメカニズムによって支配されていると考えられる。

生物組織が正常な状態からずれて、ある種の病態状態に置かれた場合、その状態は、生長や老化

表 12 つたの樹皮中の水の緩和時間 T_1 , T_2 ³⁵⁾

サンプルの状態	緩和時間	
	成分 a	成分 b
	T_2 (msec)	
つた (生)	77	10
(死)	21	5
	T_1 (msec)	
つた (生)	163	15
(死)	22	13

あるいは生と死などの現象と比較して、どのように分子レベルで把握されるべきかを考察してみよう。

がん腫瘍に関する Damadian ら¹⁶⁾の初期の *in vitro* の結果によれば、生物水の緩和時間 T_1 は、いずれの組織においても、腫瘍組織のものの方が正常のものより著しく大きく観測されている。またこの時、含水量も正常組織のものより腫瘍組織のものが多い。これらの結果は、がんや腫瘍組織が正常組織細胞から突然異常を起こし、タンパク質の合成、代謝、酵素反応などの生理機能が活発になったことと密接に関連している。これらの現象は、若い細胞における現象と同様のメカニ

表 13 病態状態にあるマウスおよびラットの組織中の水の緩和時間 T_1 の経時変化^{36)~38)}

組 織	病 態	経 過	正常 (コントロール) T_1	投与 T_1
マウス	肝臓 (ホモジナイズ) 腹腔内投与	Day 1	700	820
		Day 2	800	830
		Day 3	750	790
		Day 4		
		Day 5	500	720
マウス	血 液 腹腔内投与	Day 1	1,380	1,580
		Day 2	1,380	1,380
		Day 3	1,380	1,580
		Day 4	1,380	1,580
		Day 5	1,380	1,610
ラット	血 清 発がん物質投与	1 week (A)	750 msec	770 msec
		2 weeks (A)	740 msec	780 msec
		4 weeks (A)	700 msec	810 msec
		4 weeks (B)	770 msec	780 msec

ズムによって把握することができる。

Floydら^{36)~38)}は、エーリッヒ腹水がんをマウスに腹腔内投与し、その後の肝臓組織中の水の T_1 の経時変化を調べた (表 13)。正常なもの (コントロール)、および投与したもの、いずれの場合においても T_1 値は2日目まで増えるが、以後減少した。ここで、投与したものの T_1 値の変化がコントロールのものの変化にくらべて高い水準で推移した。この正常なもの、投与したものの T_1 値の差異ががん細胞による影響である。がん細胞が外部から浸入してきた場合、体の内では元の正常な状態を維持しようとして、代謝や免疫などの生理機能が活発に働くと考えられる。このために投与されたものの方が T_1 値が大きくなったものと解される。一方、血液の T_1 値の変化においては、正常なマウスではほとんど経時変化をしないが、投与されたものは2日目をミニマムにして最初下降し、以後上昇した。この場合の変化は、血液ががん細胞投与の影響を受けているのは明らかであるが、肝臓における挙動と逆の経時変化を示している。このような挙動は、生理機能に関連すると考えられるが、その原因は定かではな

い。しかし、加齢とともに組織細胞中の水の T_1 は減少するが、血液中の T_1 のみは逆に増加するという一般的な挙動と無関係ではないと考えられる。

Floydら³⁸⁾はまた、発がん物質をラットに投与した時の血液中の水の T_1 値の経時変化を調べた。投与されたラットの方がコントロールのものより大きな値を示し、かつ、時間経過とともに増加することを示した。

Hollisら^{36),39)}は、Morrisヘパトーマをラットの足から投与し、投与後の種々の組織細胞中の水の T_1 値の変化を調べた (表 14)。血液についての結果によれば、投与されたものと正常なものとの T_1 値の差を $\Delta T_1 (=T_1 \text{ can} - T_1 \text{ nor})$ とすれば、時間経過とともに、 ΔT_1 は最初正の値で推移し、8日目でいったん差異がなくなった後、再び顕著に増加した。この結果は、Floydらの血液における結果と同様のものであった。

血液以外の他の組織についての結果によれば、46日経過したものとコントロールとの差 ΔT_1 は、脾臓においては 140 msec ともっとも大きく、肝臓の 120 msec、腎臓の 75 msec となり、がん細胞を

表 14 病態にあるラットの組織細胞中の水の緩和時間 T_1 の経時変化^{36),39)}

組織	病態	経過	ΔT_1 (T_1 がん— T_1 正常)
ラット 血清	Morris 肝がん投与	Day 5	+ 45 msec
		Day 8	+ 0 msec
		Day 12	+ 55 msec
		Day 15	+ 60 msec
		Day 20	+ 55 msec
		Day 21	+ 75 msec
		Day 28	+100 msec
		Day 40	+160 msec
		Day 46	+210 msec
ラット 肝臓 腎臓 脾臓 心臓 骨格筋	Morris 肝がん投与 (足より)	46日後の 変化 ΔT_1	up 120 msec
			up 75 msec
			up 140 msec
			no change
			no change

投与された方 (TBA) の T_1 値が大きく観測された。その他の組織においてはコントロールとの差異がみられなかった。この結果、組織細胞の種類によってがん細胞に対する応答が異なっていること、また、免疫や代謝などに関連深い組織細胞ほど外部からの侵入物に対して敏感に応答することなどが明らかである。

このように、がん細胞や発がん物質を投与した場合、正常な状態から急激に異常な状態に置かれるため、生体は正常な状態に復元しようとする。この時、免疫や代謝などの生理機能が活発に働く。この影響が種々の組織細胞に現れ、その結果が生物水の T_1 に反映されると解される。ここで、正常な状態への復元する能力はホメオスタシスという。この復元力は老化とともに低下するため老化のパロメーターとして考えられている。このように考えれば、老化と病態とは生理機能が変化するという点で同類の現象とみなすことができる。生物水の T_1 の変化をモニターとした研究例として、その他にも大腸菌⁴⁰⁾やビールス⁴¹⁾などに感染した組織についての経時変化、外科手術⁴²⁾や血管を縛った時などの経時変化⁴³⁾、さらには、日

リズムの研究⁴⁴⁾、あるいは軽度の腫瘍から悪性のがんにいたるまでの組織の傷み具合を T_1 値で指標化する試み⁴⁵⁾、などにみられる。

以上の研究例から、加齢とともに起こる生物組織内の変化を生物水の物性変化として捉えることは機構的に無理なく理解される。

4 生物水と生長・老化

前節において生物水の性質が生長や老化などの生物現象にいかに対応して変化するかを示してきた。ここで、生物水と生長や老化現象との関連性をより明確にするために、生物水の機能や役割についてもう少し積極的な意味づけを行い、より明確かつ一般的な把握を試みてみよう。

細胞を構成する種々の生体高分子は、生体内で必ずなんらかの役割を有し、生理機能を果たしている。この生体高分子が持つ生理機能が十分に発揮されるためには生物水の存在が必須である。生物水が生体高分子と相互作用する様式は、生体高分子の回りに結合水が結合し、さらに、その周辺に十分な自由水が取り囲んだ状態をとる時、生体

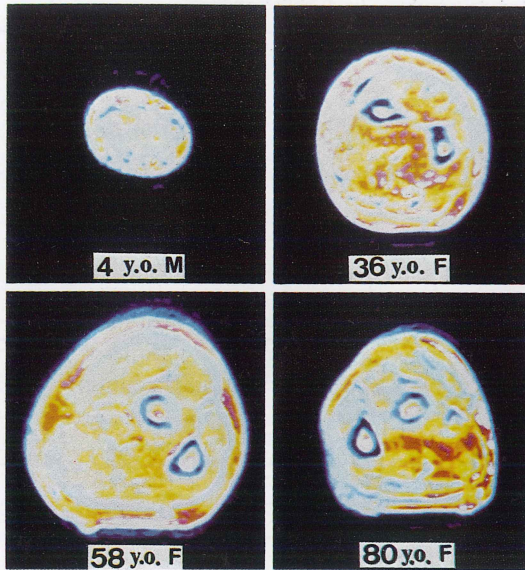


図4 ヒト上腕横断面の NMR-CT 像 (プロトン
デンシティ)

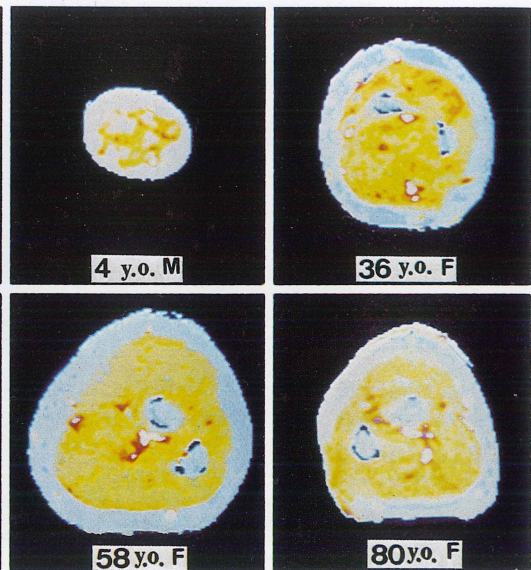


図5 ヒト上腕横断面の NMR-CT 像 (T_1)

高分子固有の機能が発揮されるのである。もし、生物水がなく、生体高分子が単独に置かれた場合、単なる化合物でしかなく、本来備わっている機能を果たすことができない。生物水と生体高分子との間に相補的な協同効果が有効に働いた時に初めて生体高分子固有の機能が発揮されると考える立場をとるのである。

このような観点に立てば、生物水の機能と生長や老化現象とを関連づけたより一般的な把握が容易となる。たとえば、生長過程においては、生体内のタンパク質その他の生体高分子の産生、酵素反応や代謝、物質やエネルギー輸送など活発な生理機能によって特徴づけられるが、この時、おのおの生体高分子に賦与された固有の生理機能は、生体高分子をとりまく十分な生物水に支えられ、かつ生体高分子と生物水との間の相補的な協同効果によって生まれるのである。一方、老化過程においては、生体高分子や器官などの分解、構造変化、凝集、萎縮などが起こるが、この時、生体高分子をとりまく生物水の量が減少し、そのた

め生物水と生体高分子間との相補的な協同効果が小さくなり、その結果、生体高分子固有の生理機能が低下する。

このように考えると、なんらかの原因で生理機能の変化が起これば、その影響が生体高分子や生物水に同時に現れることになる。したがって、この生物水の状態変化を NMR-CT でモニターすれば、結局、生長や老化などの現象を分子レベルで観察することが可能である。このような観点に立った研究例として、ヒトの上腕の生長・老化に関するパイオニア的な研究についてふれてみよう。

ヒトの4世代(4歳男子、36歳女子、58歳女子、80歳女子)の上腕組織の肘下数センチ付近の横断面の NMR-CT 断層写真を観測し、上腕部の骨、上皮、筋、皮脂、血液などの組織の加齢による変化を調べた。プロトンデンシティ像は図4に、 T_1 像は図5に示した。その結果、形態的な面から、4歳の子供の上腕組織は、上皮、皮脂層、筋肉、骨などの区分が不明瞭であり、未発達であることがうかがえる。36歳、58歳の上腕組織

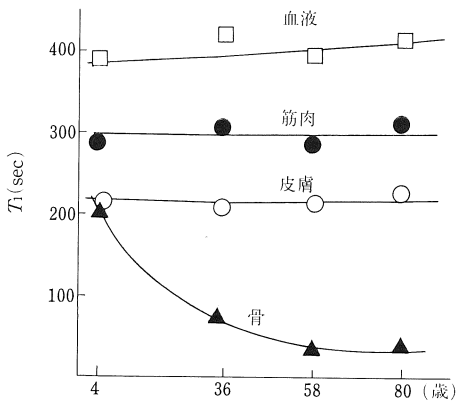


図 6 ヒト上腕横断面の各組織中の水の緩和時間 T_1 の加齢変化

は、上皮、皮脂層、筋肉、骨などの相互の区分が明瞭であり、複雑に入り込んでいて、組織がよく発達しているのが認められる。80歳の上腕組織は、上皮、皮脂層、筋肉などの間の区分が部分的に崩れ、一部に片寄りがみられる。このように上腕組織には加齢による形態変化が顕著に現れている。一方、各組織中の生物水の物性変化（プロトン密度、 T_1 ）より、上皮、皮脂層、筋肉、骨などのプロトン密度は加齢とともに減少するが、とくに骨においてはその傾向が著しいものがあつた。このプロトン密度の値は、組織中の正確な含水量を必ずしも反映しないが、相対的な傾向としての意味を失っていない。一方、上腕組織中の生物水の T_1 値は、上皮、皮脂層、筋肉の各組織ともに加齢による顕著な変化がみられなかったが、骨においては、加齢とともに顕著な減少がみられた（図6）。物理量としての T_1 値の観測精度が上がれば、 T_1 変化からさらに詳細な加齢変化も議論可能になると考えられる。

老化現象は個体差が大きく、結果にばらつきが生じるのが普通である。したがって、同一個体における経時変化を追うのが理想的であるが、ヒトの場合など実際問題として時間的に無理である。したがって、サンプル数を増やして統計的処理に

よってカバーする必要があるが、この点検討の余地を残している。

以上、NMR-CT から得られる生物水の物性変化を基にして、生きた生体系における生長・老化・病態といった生体现象を捉える研究は今やっと端緒についたばかりである。したがって、このような研究手法は、現段階では必ずしも確立されたものとはいえない。しかし、このような発想による研究は新しいフィールドの開拓を可能にし、大変魅力に富んだものとして注目される。NMR-CT は、このような手法の機軸として重要な役割を演じると期待される。

最後に、NMR-CT 測定に御支援いただきました旭化成・豊島日出夫氏、山下昌哉氏、森脇正司氏に、また、本総説 1, 2 を起こすに当たり適切な御助言を賜りました。放医研・福田信男先生に謝意を表したい。

文 献

- 1) 片山誠二：生物水の基礎と NMR-CT(1). NMR 医学, 6: 3-18, 1986.
- 2) R. Mathur-De Vr e: *Br. J. Radiol.*, 57: 955, 1984.
- 3) J.C. Gore, F.H. Doyle & J.M. Pennock: *Nuclear Magnetic Resonance Imaging* (ed. by C.L. Partain, A.E. James, F.D. Rollo, et al.), W.B. Saunders, London, 1983, p. 94-106.
- 4) J.M.S. Hutchison & F.W. Smith: *Nuclear Magnetic Resonance Imaging* (ed. by C.L. Partain, A.E. James, F.D. Rollo, et al.), W.B. Saunders, London, 1983, p. 231-249; F.W. Smith: *NMR Imaging, Proceedings of an International Symposium on Nuclear Magnetic Resonance Imaging held at Winston-Salem, North Carolina, 1982*, p. 125-132.
- 5) K. Straughan, D.H. Spencer & G.M. Bydder: *Nuclear Magnetic Resonance Imaging* (ed. by C.L. Partain, A.E. James, F.D. Rollo, et al.), W.B. Saunders, London, 1983, p. 195-206.
- 6) G.M. Bydder & R.E. Steiner: *Neuroradiology*, 23: 231-240, 1982; G.M. Bydder, R.E. Steiner, I.R. Young, et al.: *Am. J. Roentgenol.*, 139:

- 215-236, 1982.
- 7) D.R. Bailes, I.R. Young, D.J. Thomas et al.: *Clin. Radiol.*, 33: 395-414, 1982.
 - 8) D. Geigy: Tables scientifiques (ed. by K. Diem & C. Lentner), Gregory, Basel, 1978, p. 526-533.
 - 9) C.F. Hazlewood: Colloques Internationaux du C.N.R.S. N° 246 "L'eau et les systèmes biologiques," 1975, p. 289-296.
 - 10) C.J.C. Bakker: Proceedings of Symposium on Physics and Clinical Impact of NMR Imaging, Nederlandse Vereniging Voor Klinische Fysica, Amsterdam, April 27, 1982.
 - 11) M.A. Foster: Magnetic Resonance in Medicine and Biology, Pergamon Press, Oxford, 1984.
 - 12) J.C. Gore: NMR Imaging. Proceedings of an International Symposium on Nuclear Magnetic Resonance Imaging, held at Winston-Salem, North Carolina, 1982, p. 15-23.
 - 13) I.C. Kricuta & V. Simplaceanu: *Cancer Res.*, 35: 1164-1167, 1975.
 - 14) G.P. Raaphorst & V. Kruuv: *Physiol. Chem. Physics*, 13: 251-258, 1981.
 - 15) P.L. Altman & D.S. Ditter (eds.): Biology Data Book 2, 1973, p. 1206.
 - 16) R. Damadian, K. Zanar, D. Hor, et al.: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 71: 1471, 1974.
 - 17) C.F. Hazlewood, B.L. Nichols, D.C. Chang, et al.: *Jhons Hopkins Med. J.*, 128(71): 117-131, 1971.
 - 18) J.R. Zimmermann, W.E. Brittin: *J. Phys. Chem.* 61: 1328, 1957.
 - 19) R.L. Cooper, D.B. Chang, A.C. Young, et al.: *Biophys. J.*, 14: 161-177, 1974.
 - 20) F.S. Buonanno, I.L. Pykett, R.J. Brady, et al.: *Stroke*, 14: 178-184, 1983.
 - 21) F.W. Smith: *Pediatr. Radiol.*, 13: 141-147, 1983.
 - 22) I.-C. Kiricuta & V. Simplăceanu: *Cancer Res.*, 35: 1164-1167, 1975.
 - 23) C.J. Lewa & Z. Zbytniewski: *Bulletin du Cancer*, 63: 69-72, 1976.
 - 24) P.A. Bottomley, T.H. Foster, R.E. Argersinger, et al.: *Med. Phys.*, 11: 425-448, 1984.
 - 25) L.K. Misra, P.A. Narayama, P.T. Beall, et al.: Proceedings of the 2nd Annual Meeting of the Society of Magnetic Resonance in Medicine, 1983, p. 264-265.
 - 26) P.T. Beall, B.R. Brinkley, D.C. Chang, et al.: *Cancer Res.*, 42: 4124-4130, 1982.
 - 27) I.L. Cameron, H.C. Dung, K.E. Hunter, et al.: *J. Cell. Physiol.*, 116: 409-414, 1983.
 - 28) T. Conlon & R. Outhred: *Biochem. Biophys. Acta*, 511: 408-418, 1978.
 - 29) C.V. Paganelli & A.K. Solomon: *J. Gen. Physiol.*, 41: 259-277, 1957.
 - 30) T.C. Barton & D.A.J. Brown: *J. Gen. Physiol.*, 47: 839-849, 1964.
 - 31) F.L. Vieira, R.I. Sháafi & A.K. Solomon: *J. Gen. Physiol.*, 55: 451-466, 1970.
 - 32) T. Conlon & R. Outhred: *Biochem. Biophys. Acta*, 288: 354-361, 1972.
 - 33) M. Shporer & M.M. Civan: *Biochem. Biophys. Acta*, 385: 81-87, 1975.
 - 34) M.E. Fabry & M. Eisenstadt: *Biophys. J.*, 15: 1101-1110, 1975.
 - 35) D.G. Stout, P.L. Steponkus & R.M. Cotts: *Plant Physiol.*, 62: 636-641, 1978.
 - 36) P.T. Beall, D. Medina & C.F. Hazlewood: NMR in Medicine (ed. by R. Damadian), Springer-Verlag, 1981, p. 39-57.
 - 37) R.A. Floyd, et al.: *Cancer Res.*, 34: 89, 1974.
 - 38) R.A. Floyd, T. Yoshida & J.S. Leigh: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 72: 56, 1975.
 - 39) P.P. Hollis, et al.: *J. Natl. Cancer Inst.*, 52: 807, 1974.
 - 40) J.N. Udall, L.A. Alvarez, D.C. Chang, et al.: *Physiol. Chem. Physics*, 9: 13-20, 1977.
 - 41) G. Valensin, E. Gaggelli, E. Teizzi, et al.: *Microbiologica*, 5: 195-205, 1982.
 - 42) L.E. Todd, J.L. Perez, G. Elizondo, et al.: *Physiological Chemistry and Physics and Medical NMR*, 15: 27-29, 1983.
 - 43) R.J. Herfkens, R. Sievers, L. Kaufman, et al.: *Radiology*, 147: 761-764, 1983.
 - 44) J.D. de Certaines, J.P. Moulinoux, L. Benoist: et al.: *Life Sciences*, 31: 505-508, 1982.
 - 45) K.J. Olszewski, J. Adamski, J. Bućko, et al.: *Acta Physica Polonica*, A 58: 859-865, 1980.