

N M R

内山孝憲* 一守康史**

1. はじめに

核磁気共鳴現象を生体計測に応用すると無侵襲・非破壊的にしかも複数のパラメータを同一試料に対して経時的に測定できる。測定対象核としては水や脂質の情報を反映する ^1H が感度の高さゆえに測定し易くしばしば用いられるが、現在ではやや感度は劣るものの、細胞内 pH, クレアチンリン酸やアデノシン三リン酸の濃度を測定できることの重要性から ^{31}P が日常的に測定されている。さらに ^{23}Na をはじめとする他核にも応用範囲が広がりつつある。

NMR によって測定できる興味ある生理的パラメータとしては、細胞内 pH や各種リン化合物の濃度、Na イオンや Ca イオン濃度をあげることができる。これらはいずれも ^1H に比べれば感度が低いために測定が困難であったが、超伝導磁石を用いたパルス・フーリエ変換 NMR 装置の出現により脚光をあびることとなった。

2. 測定原理

静磁場中におかれた原子核はその磁気量子数に従ったエネルギー準位の分裂（ゼーマン分裂）を起こす。この分裂した準位間のエネルギー差に相当する電磁波の吸収・放出を観測するのが NMR 分光法の基本原理である。準位間のエネルギー差は、核種に固有であるので、ある核を測定する際に他の核が妨害となることはない。同一核種においては、その原子核がおかれている環境（隣接原子の種類や電子の分布状態）に起因する磁場強度のわずかな変化によって共鳴周波数が変化するた

めに、異なる物質あるいは異なる環境下におかれた同一物質を区別することができる¹⁾。

リン化合物は NMR の観測対象となる同位体、すなわち ^{31}P の自然存在比が100%であること、 ^1H 以外の核としては比較的感度が高いこと、スペクトルが単純で解釈し易く、しかも生理的に重要な物質を容易に測定できることなどの理由から早くから応用されている。また ^{31}P のスペクトルから ATP の共鳴周波数が ATP と Mg イオンとの結合によってシフトすることを利用して細胞内遊離 Mg イオン濃度を測定出来ることは注目に値する²⁻⁴⁾。

Na イオンは ^{23}Na の自然存在比が100%であること、 ^1H 以外の核としては比較的感度が高いことから測定自体は容易である。しかし、そのまま測定したのでは細胞内外に存在する Na イオンはどちらも同じ共鳴周波数をもつため細胞内外の Na イオンを分離して観測することはできない。細胞内外の Na イオンの共鳴周波数を分離するために外液にランタニド化合物を添加することが行われている。ランタニド化合物の濃度と Na イオン濃度の比を調整することによって Na の共鳴周波数をシフトさせることができる。ランタニド化合物としては Dy の化合物、DyTTHA や $\text{Dy}(\text{P}_3\text{O}_{10})_2^{7-}$ が用いられる^{5,6)}。

Ca イオンは NMR の観測対象核となりうる ^{43}Ca の自然存在比が極めて小さいために、 ^{43}Ca を直接測定することは困難である。そこで Ca イオンのキレート剤を ^{19}F で修飾した誘導体 5F-BAPTA を用いて Ca の代わりに ^{19}F を観測する。Ca イオンをキレートした 5F-BAPTA とキレートしていない 5F-BAPTA では ^{19}F の共鳴周波数が異なることを利用するものである^{7,8)}。

*慶応義塾大学理工学部

**東海大学医学部生理学 II

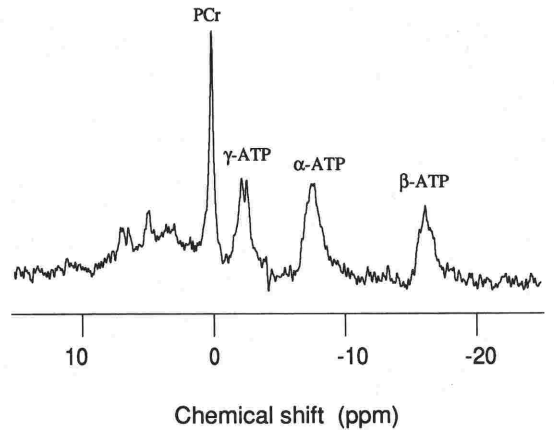
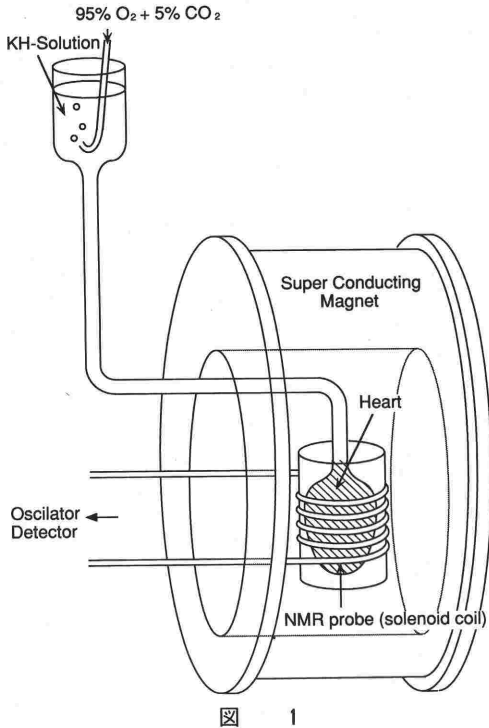


図 3

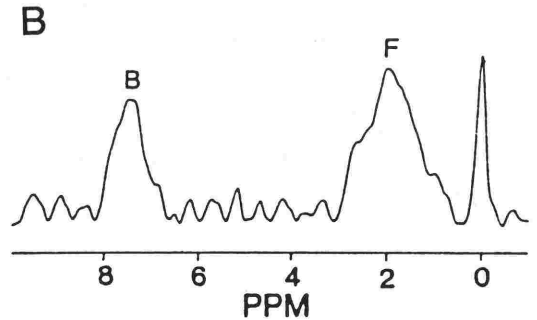
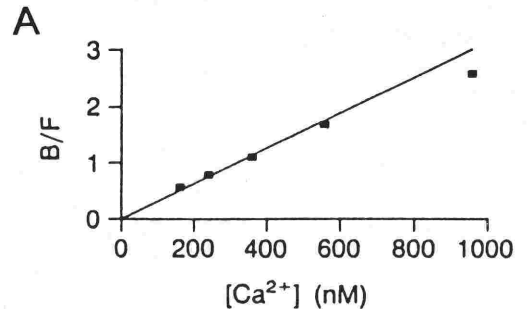


図 4

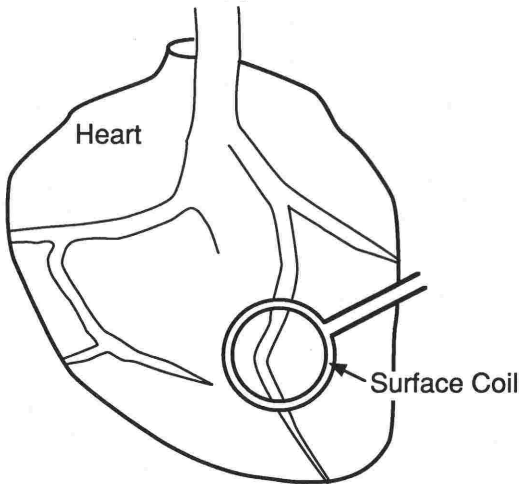


図 2

3. 装置構成

パルス・フーリエ変換 NMR 装置はパルス NMR 部とフーリエ変換部に大別することができる。パルス NMR 部は、磁石、高周波パルス発生部、プローブ、受信・検波・増幅部で構成される。高周波発信器からの高周波出力はゲート回路によって DC パルス発生器からの出力で変調されて高周波パルスとなる。高周波パルスを励起コイ

ルによって試料に照射し、試料が放出した電磁波をコイルによって検出、フーリエ変換して NMR スペクトルを得る。

高周波パルスを照射する励起コイルおよび試料が放出する電磁波を検出するコイルはそれぞれ独立なコイルが用いられることもあるが、生体計測用のコイルはしばしば励起・検出兼用のコイルが用いられる。測定対象によってソレノイドコイルと表面コイルが用いられる。ソレノイドコイルではコイル内に Langendorff 灌流した心臓などの臓器を入れる (図 1)。表面コイルでは灌流臓器

や開胸もしくは開腹した実験動物の臓器にコイルを接して配置して測定する(図2)¹⁾。

4. NMR スペクトル

図3, 4に NMR スペクトルの例を示した。図3は ^{31}P のスペクトルの例であり, Pi の化学シフトから細胞内 pH を, PCr や ATP のピーク面積からそれらの濃度を, α -ATP と β -ATP のピークの共鳴周波数の差から遊離 Mg イオン濃度を知ることができる。

図4 Bは ^{19}F の NMR スペクトルであり, ピーク B が Ca イオンと結合した 5F-BAPTA のピークを, ピーク F が結合していない 5F-BAPTA のスペクトルを示す⁷⁾。これらのピーク面積の比と解離定数から Ca イオン濃度を知ることができる(図4 A)。

5. ま と め

高磁場の装置の出現によって NMR を用いて観測可能な核種が多くなり, それに伴って取得できる生理的パラメータも多くなってきている。また試薬の開発や, 領域選択性の高い効率の良いコイルの設計, パルスシーケンスの開発によりさらに応用範囲が広がることが期待される。

一方, MRI でなじみの深い磁気共鳴信号の画像化であるが, ^{31}P の画像化が研究段階ではあるものの, 成果をあげつつある。ATP やクレアチンリン酸の MR 画像 (CSI, chemical shift imag-

ing) が得られるようになれば, 診断はもとより生理機構の解明に寄与するところが大きいと考えられる。

文 献

- 1) 小杉善雄, 朝井英彰: 「広領域の NMR—化学・バイオ・医学」, 現代工学社。
- 2) Gupta, R. K., Benovic, J. L. and Rose, Z. B.: Magnetic Resonance Studies of the Binding of ATP and Cations to Human Hemoglobin, *J. Biol. Chem.*, **17**:6165-6171, 1978.
- 3) Gupta, R. K., Benovic, J. L. and Rose, Z. B.: The Determination of the Free Magnesium Level in the Human Red Blood Cell by ^{31}P NMR.
- 4) Gupta, R. K. and Moore, R. D.: ^{31}P NMR Studies of Intracellular Free Mg^{2+} in Intact Frog Skeletal Muscle, *J. Biol. Chem.*, **255**:3987-3993, 1980.
- 5) Ogino, T., Shulman, G. I., Avison, M. J., Gullan, S. R. and Hollander, J. A. D.: ^{23}Na and ^{39}K NMR Studies of Ion Transport in Human Erythrocytes, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **82**:1099-1103, 1985.
- 6) Ogino, T., Hollander, J. A. D. and Shulman, R. G.: ^{39}K , ^{23}Na , and ^{31}P NMR Studies of Ion Transport in *Saccharomyces cerevisiae*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **80**:5185-5489, 1983.
- 7) Marban, E., Kitakaze, M., Kusuoka, H., Porterfield, J. K., Yue, D. T. and Chacko, V. P.: Intracellular Free Calcium Concentration Measured with ^{19}F NMR Spectroscopy in Intact Ferret Hearts, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **84**:6005-6009, 1987.
- 8) Smith, G. A., Hesketh, R. T., Metcalfe, J. C., Feeny, J. and Morris, P. G.: Intracellular Calcium Measurements by ^{19}F NMR of Fluorine-labeled Chelators, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **80**:7178-7182, 1983.