

## 特集

## 核磁気共鳴 (NMR) による脳血流量測定法の開発

荒井俊之\*

## はじめに

麻酔薬を初めとする中枢神経作動薬は脳循環・代謝に何等かの影響を及ぼす。近年ではそれらの影響を、脳全体に及ぼす影響を検討するのではなく、脳の部位毎、即ち局所に及ぼす影響を検討する方向で研究が進んでいる。この目的に合致した手段として、動物実験においては、既に autoradiography (AG) 法が確立されており、局所脳血流量 (local cerebral blood flow,  $\ell$ CBF) や局所脳ブドウ糖消費量 (local cerebral metabolic rate of glucose,  $\ell$ CMRglu) の測定に用いられている。麻酔薬の CBF に及ぼす影響についても、例えば吸入麻酔薬であるハロタンとイソフルランの CBF に及ぼす影響を検討した場合、全脳での CBF を測定した場合は、両者の影響に差はないが、 $\ell$ CBF を測定した場合は、ハロタンとイソフルランでその影響は部位により大いに異なるといったことが AG 法を用いて証明されている<sup>1)</sup>。しかし、AG 法はすばらしい空間分解能を有する反面、動物を犠牲にして脳を摘出する、トレーサに放射性物質を用いる、結果を得るまでに大変な手間と時間を要するといった欠点をもつ。さらに、AG 法による測定が行えるのは 1 個体につき 1 回きりで、繰り返しの測定は行えない。これは、脳循環・代謝の研究手段として大きな欠点である。何故なら、例えば同じ個体で、薬物投与前の  $\ell$ CBF と投与後の  $\ell$ CBF を比較検討するといったことが行えないからである。従って、結果の解釈も統計処理に頼らざるを得ない。

繰り返しの測定が可能で、しかも臨床使用されている、というよりも臨床でしか使用されていない

い脳循環・代謝測定法に、positron emission tomography (PET) 法がある。PET による脳循環・代謝測定では、トレーサを適宜選択することにより、 $\ell$ CBF や  $\ell$ CMRglu は言うに及ばず、AG 法では測定できない局所脳酸素消費量 (local cerebral metabolic rate of oxygen,  $\ell$ CMRO<sub>2</sub>) までもが、同じ個体で繰り返し測定できる<sup>2)</sup>。しかし、PET による脳循環・代謝測定法にも欠点がある。トレーサに放射性物質を用いる点は PET が既に臨床応用されているので問題はないとしても、脳循環・代謝の研究手段として問題となるのは、PET が実施できる施設が極端に限られているという点と、PET による画像は空間分解能が著しく低く不鮮明であるという点である。PET が脳循環・代謝の研究には必須の動物実験で用いられていないのは、まさにこのためである。即ち、PET は動物実験が簡単に行えるほど多くの利用可能施設がなく、また中小動物の脳で局所の識別ができるほどの空間分解能を有さないのである。

そこで、放射線被曝の問題も無く、多くの施設で実施可能で、かつ空間分解能が高く鮮明な画像が得られる脳循環・代謝測定法として核磁気共鳴 (nuclear magnetic resonance, NMR) による方法が注目されるようになった。

## NMR による脳循環・代謝測定法

## A. NMR による画像撮影の原理

図 1 に NMR による画像を示す。NMR による画像撮影は、臨床では核磁気共鳴画像法 (magnetic resonance imaging, MRI) と呼ばれており、放射線被曝の心配もなく手軽に人体内部の各臓器の鮮明な画像が得られるので、今や臨床画像診断に必須の手段であり、多くの医療施設で日常的に実施されている。NMR による画像は、PET の画像と

\*京都大学医学部附属病院手術部

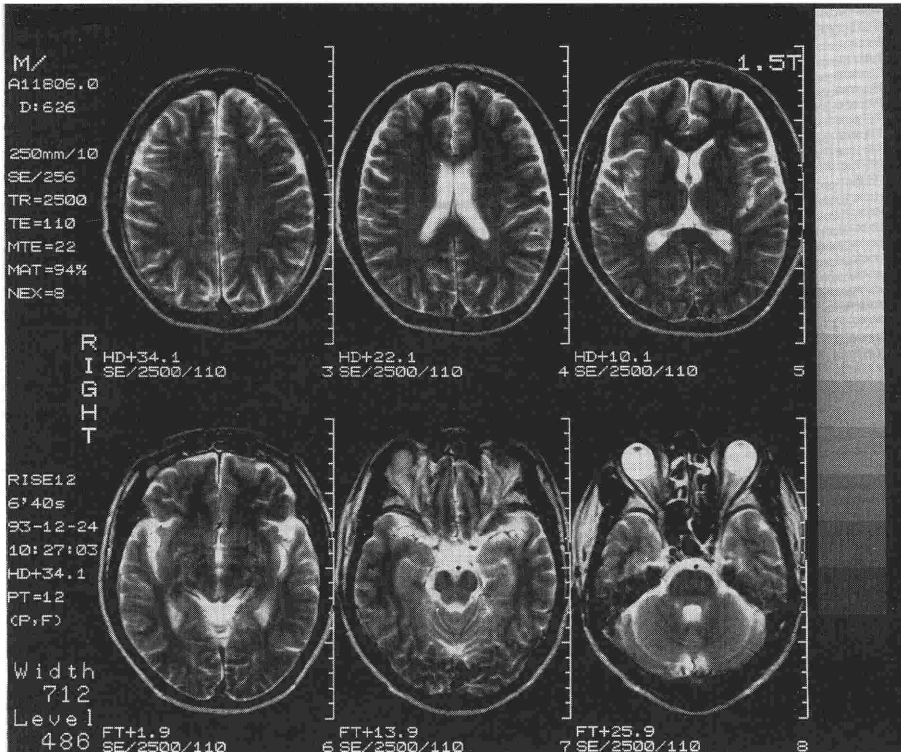


図1 健康人頭部のプロトン NMR 画像

は比較にならないほど空間分解能が高いため、多くの形態学的な情報を与えてくれる。しかし一方で、NMRの画像からはPETで得られるような $\ell$ CBF,  $\ell$ CMRglu,  $\ell$ CMRO<sub>2</sub>といった機能的な情報は全く得られない。何故NMRによる画像では機能的な情報が得られないかを説明するために、NMRによる画像撮影の原理を簡単に説明すると、まず被験者を大きな磁石の中に入れて生体内のプロトン(H<sup>+</sup>)の核スピンを一方向に並べる、次にラジオ波を照射してそのスピンを倒す、そしてラジオ波の照射により倒されたスピスが元に戻る時に生体から発生する電磁波を受信する、最後にその信号(NMR信号)を二次元フーリエ変換法を用いて画像にするというものである<sup>3)</sup>。従って理論的には、核スピンを有する物質ならずべてそのNMR信号を体外より受信し、二次元画像化するという事は可能である。しかし実際には、生体において鮮明な画像が構築できるほどの巨大なNMR信号を発生する物質は水の構成要素であるプロトンに限定されるため、通常NMR画像と言

った場合、それは生体に分布するプロトン、即ち生体における水の分布状態を視覚化しただけのものである。従って、PETが生体に投与した各種トレーサの分布状態を視覚化することにより、 $\ell$ CBF,  $\ell$ CMRglu,  $\ell$ CMRO<sub>2</sub>といった機能的な情報を与えるのと異なり、通常のNMR画像からは、生体臓器における水の分布状態即ち形態学的な情報しか得られない。

#### B. 多核 NMR による脳循環・代謝測定

以上述べたようにプロトンのNMR画像からは機能的な情報が得られないので、プロトン以外の核種(NMRでは多核と総称する)をトレーサとして用い、そのNMR信号を体外より検出することにより脳循環・代謝測定を行う試みが種々行われてきた。表1に生体NMRの対象となる核種とその自然存在比ならびにNMRに対する感度(プロトンと比較した場合の相対感度)をまとめた。我々も、この表にあるような核種の化合物を用いて、NMRによる脳循環・代謝測定を種々試みてきたので、失敗をも含むその成果を、特にCBF

測定を中心に以下に述べる。

### 1. $^{19}\text{F}$ 化合物を用いた CBF 測定

表 1 に明らかなように、フッ素 ( $^{19}\text{F}$ ) は、0.833 とプロトンに次いで鋭敏な NMR 感度を有し、しかも自然存在比が 100% であるので同位体濃縮の必要もなく、生体 NMR 用のプローブとして使用できる。そこで我々は、CBF 測定のためのトレーサとしてトリフルオロメタンガス (FC-23) を用い、実験動物 (ウサギ) に FC-23 を吸入させた時の脳内フッ素の NMR 信号の検出を試みた。信号検出法としては、 $^{19}\text{F}$  chemical shift imaging 法を採用した。Branch らの報告<sup>4)</sup>によると、gradient echo imaging 法にて、FC-23 吸入による脳内フッ素濃度の上昇が検出でき、その二次元画像化により  $\ell$ CBF の算出に成功したとあるが、我々の用いた chemical shift imaging 法では、脳内フッ素濃度の上昇は検出できず、この方法による CBF の測定は断念した。

### 2. $^{17}\text{O}$ 化合物を用いた CBF 測定

CBF 測定のためのトレーサとして  $\text{H}_2^{17}\text{O}$  (水-17) を用いた。まず、 $^{17}\text{O}$  NMR spectroscopy による全脳での CBF 血流測定を行った。実験動物 (ウサギ) の頸動脈より 20% 水-17 1 ml を注入し、注入前後で 4 秒毎に連続 100 回、ウサギ頭

部からの  $^{17}\text{O}$  NMR 信号を採取した (図 2 A)。CBF は、採取した信号の減衰曲線より水-17 の脳内クリアランスを求め、算出した。結果は、0.62 ml/min/g で、これまで報告されてきた値にほぼ一致し、 $^{17}\text{O}$  NMR spectroscopy による CBF 測定法の妥当性が示された<sup>5)</sup>。次いで、 $^{17}\text{O}$  chemical shift imaging 法による  $\ell$ CBF の測定を試みた。Pekar らの報告<sup>6)</sup>によると、我々が試みたのと同様の  $^{17}\text{O}$  chemical shift imaging 法にて、水-17 注入による  $\ell$ CBF の算出に成功したとあるが、我々の場合は、脳の画像を撮影することはできたが、1 時間以上もの撮影時間を要したため、 $\ell$ CBF を算出するには至らなかった。これは、Pekar らの用いた装置が 4.7 テスラという高磁場であるのに対し、我々の用いた装置は 2 テスラという中磁場であり、信号検出の点で不利であったためと考えられる。

### 3. $^2\text{H}$ 化合物を用いた CBF 測定

CBF 測定のためのトレーサとして  $^2\text{H}_2\text{O}$  (重水) を用いた。重水をトレーサとして用いた  $\ell$ CBF 測定は既に Detre らが報告しているが<sup>7)</sup>、彼等は重水をネコの頸動脈から注入しているため、生体にとって非常に侵襲度の高い測定法となっている。そこで我々は、生体にとって侵襲度の低い

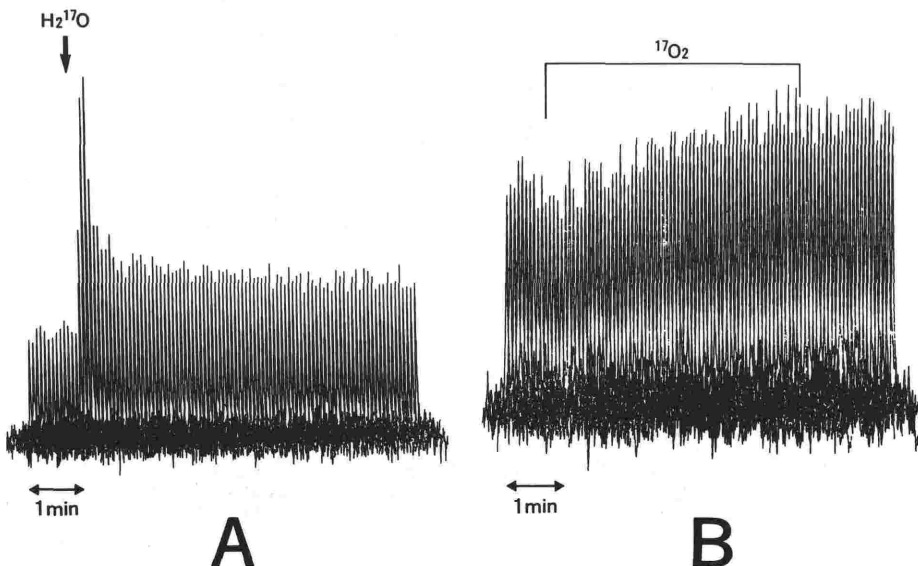


図 2 A ウサギの頸動脈より 20% 水-17 を 1 ml 注入した時、頭部から検出した  $^{17}\text{O}$  NMR 信号  
 B ウサギに 45% 酸素-17 ガスを 5 分間吸入させた時、頭部から検出した  $^{17}\text{O}$  NMR 信号

静脈注入法を採用した。まず、 $\ell$ CBF 測定の前段階として、脳梗塞モデルにおける血流分布の評価を重水を用いて行った。ウサギ脳梗塞モデルを作成し、99.8%重水生食 5 ml を静脈注入し、注入前後での脳内重水分布の変化を、 $^2\text{H}$  chemical shift imaging 法を用いて画像化し評価した。結果は、健常部に比し梗塞部での重水の分布が著明に低下しており、この方法により局所の血流分布が評価できることが分かった<sup>8)</sup>。次いで、 $^2\text{H}$  chemical shift imaging 法による  $\ell$ CBF の測定を試みた。ウサギを NMR 画像診断装置内に留置し、99.8%重水生食 5 ml の静脈注入と同時に、約 2 分かけて頭部画像を撮影するとともに動脈血の採血を行った。採血した動脈血サンプルは、画像診断装置とは別の高分解能 NMR 装置を用いて、その中に含まれる重水濃度を測定した。図 3 に重水生食注入中に撮影したウサギ頭部画像を示す。この重水生食注入による頭部画像の信号強度の変化と、重水注入中の動脈血重水濃度の変化から生体オートラジオグラフィ法にて  $\ell$ CBF を算出した。

た。この方法により求めた ICBF は、過換気、低換気等による  $\ell$ CBF の変化を良く反映した。

#### 4. $^{17}\text{O}$ 化合物を用いた CMRO<sub>2</sub> の測定

NMR にて脳酸素消費量を測定するためには、酸素-17 ( $^{17}\text{O}$ ) ガスをトレーサとして用い、「生体に投与した酸素-17ガスはミトコンドリアで代謝を受けて水-17になる」という生物学的原理を利用し、その生成された水-17を  $^{17}\text{O}$  NMR にて検出する以外に方法はない。

そこでまず、酸素-17ガス投与により生体にて確かに水-17が生成されるか否かを検討することから研究を始めた。ラットに、酸素-17ガスを吸入させ、吸入終了後直ちに全脳を摘出し、そのまま試験管に封入し、高分解能 NMR 装置にて酸素-17の NMR 信号を検出した。結果は、酸素-17ガスの吸入時間に応じて、脳内水-17濃度が上昇した<sup>9)</sup>。この結果は、Fiat らが指摘するように<sup>10)</sup>、脳以外で生成された水-17の脳への流入が無視できないため、そのまま脳酸素消費量測定に繋がるものではないが、脳循環・代謝研究における  $^{17}\text{O}$

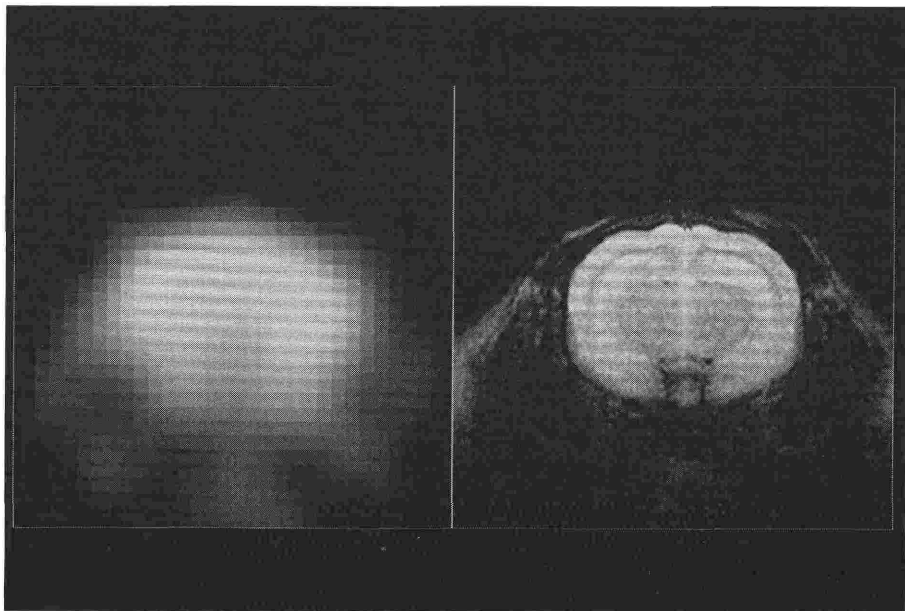


図 3 99.8%重水生食 5 ml 静脈注入中  $^2\text{H}$  chemical shift imaging 法にて撮影したウサギ頭部画像 (左) と比較のためのプロトン NMR 画像 (右)

NMR の有用性を示唆したものであった。

次に、 $^{17}\text{O}$  NMR spectroscopy による全脳での  $\text{CMRO}_2$  測定を行った。予め、水-17の使用により CBF を算出したウサギに、45 % 酸素-17ガスを 5 分間吸入させ、吸入前後で、ウサギ頭部からの水-17の NMR 信号を収集した (図 2 B)。 $\text{CMRO}_2$  は、収集した信号の増加曲線により脳以外の組織で生成された水-17の脳への流入による信号の増分を差し引いて算出した。結果は、 $2.9 \mu\text{mole}/\text{min}/\text{g}$  で、これまで報告されてきた値にほぼ一致し、CBF の場合と同様に、 $^{17}\text{O}$  NMR spectroscopy による  $\text{CMRO}_2$  測定法の妥当性が示された<sup>5)</sup>。

さらに、 $^{17}\text{O}$  chemical shift imaging 法による  $\text{CMRO}_2$  の測定を試みたが、前述の水-17を用いた ICBF 測定同様、磁場強度 2.0 テスラの装置では、酸素-17の微弱な NMR 信号を短時間に検出し画像化することが困難であったため、 $\text{CMRO}_2$  の測定は一旦断念した。しかし、種々の検討の結果、 $\text{CMRO}_2$  測定の場合は、 $\text{CMRO}_2$  測定の場合と異なり、

画像撮影に少々時間がかかっても、合成積分法を応用することにより、 $\text{CMRO}_2$  の値が算出できることが理論的に証明できたため、研究を再開した。図 4 に約 20 分かけて撮影したネコ頭部の酸素-17 画像を示す。この画像から発展して、 $^{17}\text{O}$  NMR による  $\text{CMRO}_2$  の測定が可能になるか否かは今後の課題である。

#### 5. $^{13}\text{C}$ 化合物を用いた $\text{CMRglu}$ の測定

NMR にて脳グルコース代謝率を測定するためには、 $^{13}\text{C}$  で標識したグルコースをトレーサとして用い、その代謝産物を  $^{13}\text{C}$  NMR にて検出するのが一般的な方法である。しかし、表 1 に示したように、 $^{13}\text{C}$  は検出感度が低いため、 $^{13}\text{C}$  を直接検出するより、 $^{13}\text{C}$  に隣接する  $^1\text{H}$  を検出する方が有利である。この方法の開発は、共同研究者である滋賀医科大学の犬伏教授を中心として行われ、詳細は誌上発表されている<sup>11)</sup>。

#### 6. $^{31}\text{P}$ NMR による脳エネルギー代謝の評価

$\text{CMRO}_2$  や  $\text{CMRglu}$  の変化と密接に関係している脳エネルギー代謝を評価するため、 $^{31}\text{P}$  NMR

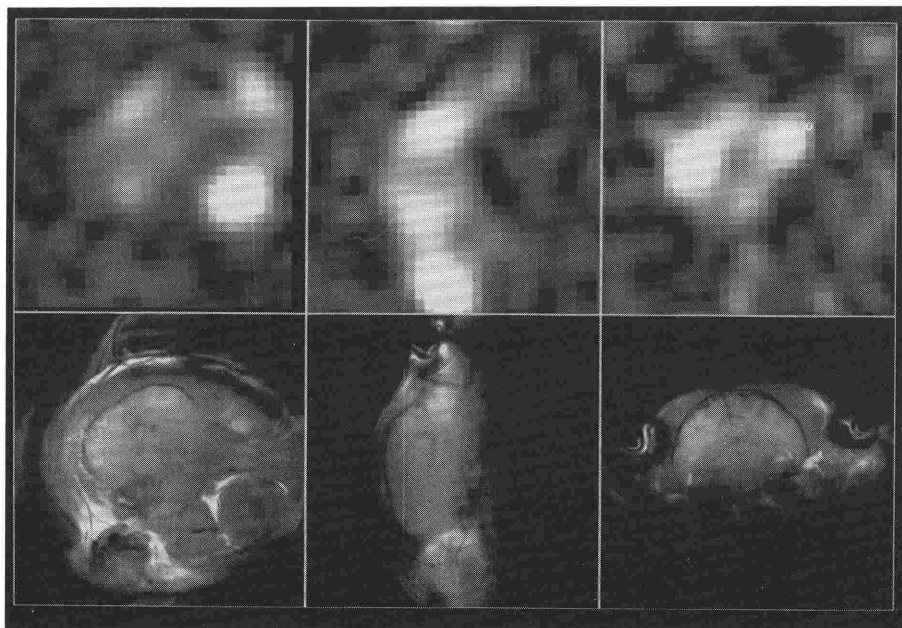


図 4  $^{17}\text{O}$  chemical shift imaging 法により自然存在の水-17の分布を撮影したネコ頭部画像 (上段) と比較のためのプロトン NMR 画像 (下段)

表1 生体NMRの対象となる核種

核種	天然同位体比(%)	相対感度
$^1\text{H}$	99.985	1
$^2\text{H}$	0.015	$9.65 \times 10^{-3}$
$^{13}\text{C}$	1.108	$1.59 \times 10^{-2}$
$^{17}\text{O}$	0.037	$2.91 \times 10^{-2}$
$^{19}\text{F}$	100	$8.33 \times 10^{-1}$
$^{23}\text{Na}$	100	$9.25 \times 10^{-2}$
$^{31}\text{P}$	100	$6.63 \times 10^{-2}$

を用いて内因性ATPの増減を定量評価する研究に取り組んだ。しかし、 $^{31}\text{P}$  NMRの対象としては脳より肝臓の方が信号検出の点で有利であるので、肝エネルギー代謝の評価をすることから研究を始めた。

a.  $^{31}\text{P}$  and  $^2\text{H}$  NMR spectroscopyによる人為的低血圧施行時の肝血流量の測定と肝エネルギー代謝の評価

ウサギにプロスタグランディン(PG)またはニカルジピン(NC)を用いた人為的低血圧を施し、その間の肝血流量の変化を重水と $^2\text{H}$  NMR spectroscopyを用いて測定し、一方で肝エネルギー代謝の評価を $^{31}\text{P}$  NMR spectroscopyを用いて行った。結果は、PG、NCともに低血圧時の肝血流量の低下は見られたが、PGではNCと異なり、この間の肝エネルギー代謝の悪化は見られなかった<sup>12)</sup>。

b.  $^{31}\text{P}$  NMR spectroscopyによるラット肝エネルギー代謝に及ぼす低酸素の影響

ウサギにイソフルラン、セボフルラン並びにハロタンによる全身麻酔を施し、更に低酸素状態に晒した時の肝エネルギー代謝の評価を $^{31}\text{P}$  NMR spectroscopyを用いて行った。結果として、ハロタン麻酔時の低酸素は、肝エネルギー代謝を著しく障害するのに対し、イソフルランやセボフルランによる麻酔時には低酸素による肝エネルギー代謝の障害は軽度であるということがわかった。

これらa.並びにb.の研究で用いた方法は、脳エネルギー代謝の評価にも応用可能と考えられた。

c. プロトンNMRによる脳循環・代謝測定

多核NMRによる脳循環・代謝測定は、表1に挙げた核種のうち $^{23}\text{Na}$ を除いては、そのすべてを使用し、トレーサとしての有用性並びに測定法としての妥当性をすべて検討した。その結果、言えることは、① $^2\text{H}$  NMRによる脳全体のCBF測

定や $^{17}\text{O}$  NMRによる脳全体のCBF並びに $\text{CMRO}_2$ の測定は可能であり、その測定値の精度も高い、② $\ell$ CBF並びに $\ell$ CMRO<sub>2</sub>の測定に関しては、その基礎となる画像が図3や図4に示したように不鮮明で、これらの画像から脳の細部にわたり正確な $\ell$ CBF並びに $\ell$ CMRO<sub>2</sub>の値を算出することは困難である、③NMRによる脳循環・代謝測定は、図1に示したようなプロトン画像の鮮明さを活かした方法が望ましい、ということである。しかし既に述べたように、生体において鮮明な画像が構築できるほどの巨大なNMR信号を発生する物質は水の構成要素であるプロトンのみであり、このプロトン画像を撮影することを一般にMRIと称するが、通常の方法ではこのMRIにて $\ell$ CBFや $\ell$ CMRO<sub>2</sub>を測定することはできない。それでは、MRIにて $\ell$ CBFや $\ell$ CMRO<sub>2</sub>を測定するための方法が何かあるのかということになるが、まずCBF測定に関してはトレーサとしての水の使用が考えられる。水は、その組織拡散性と安全性から考えて、CBF測定のためのトレーサとして非常に有用で、PETでも $\ell$ CBFを測定する場合には放射性の水が使われている<sup>13)</sup>。この放射性の水というのは、通常は16である酸素の質量数が15で、放射性を持つ酸素-15からできた水のことである。従って、MRIにおいてもCBF測定のためのトレーサとして水が候補に挙げられるが、何度も述べたように、MRIの画像自体が生体に分布する水から構成されているので、通常の水をトレーサに用いても画像に何等変化は生じず、従ってCBFは測定できない。ところが、PETでのCBF測定に水-15を使用するように、MRIでのCBF測定にも水-17という特殊な水を使用することができる。この水-17というのは、表1にも掲載したが、酸素の安定同位元素である酸素-17からできた水のことであり、水-15と異なり非放射性であり、生体にとって全く無害である。

この水-17は、酸素-17そのもののNMR信号を検出することも可能であることは既に述べたが、MRIで使用する場合は、そのプロトン画像に及ぼす影響を利用してCBFを測定するのである。我々が行った方法と結果の詳細については、シンポジウムで述べたし、また現在データを整理中であるので、ここでは記載しないが、この方法の原理と応用についてはHopkinsらの文献に詳しい

14,15).

## 結 語

NMRの技術は現在なお発展中である。特に臨床で用いられているMRI装置の性能向上と医療施設への普及は目覚ましく、多くの医療施設で、ますます速く、ますます綺麗にMRI画像が撮影できるようになってきている。このような状況を考えた場合、多核NMRによる脳循環・代謝測定法の開発という基礎的な研究を積み重ねる一方で、今すぐにも臨床応用が可能な脳循環・代謝測定法の開発を行うことが急務であると考えられる。そのためには、トレーサとして人体に無害な物質を用いる必要があり、また画像撮影装置としては現在稼働しているMRI装置がそのまま使用できる必要がある。水-17を用いた $\ell$ CBF測定は、以上の要求を満たす方法と考えられるが、水-17投与による画像の変化が小さい、水-17が高価であるといった欠点もあって、今すぐに実用化できるわけではない。しかし、この方法の完成は、酸素-17ガスをを用いた $\ell$ CMRO<sub>2</sub>の測定にも発展していく可能性があり、現在の問題点を克服してできるだけ早い時期に実用化されることが望ましいと考える。

## 文 献

- 1) Hansen TD, Warner DS, Todd MM, et al : Distribution of cerebral blood flow during halothane versus isoflurane anesthesia in rats. *Anesthesiology* 69 : 332-337, 1988
- 2) 畑澤 順, 松澤大樹 : PETのイメージング—脳代謝の測定—, 脳代謝とその異常 (山村雄一監修), 中山書店, 東京, 1989, pp371-375
- 3) Kean D, Smith M : Magnetic resonance imaging. Williams & Wilkins, Baltimore, 1986, pp6-20
- 4) Branch CA, Helpert JA, Ewing JR, et al : <sup>19</sup>F NMR im-

- aging of cerebral blood flow. *Magn Reson Med* 20 : 151-157, 1991
- 5) Arai T, Mori K, Nakao S, et al : In vivo oxygen-17 nuclear magnetic resonance for the estimation of cerebral blood flow and oxygen consumption. *Biochem Biophys Res Commun* 179 : 954-961, 1991
- 6) Pekar J, Ligeti L, Ruttner Z, et al : In vivo measurement of cerebral oxygen consumption and blood flow using <sup>17</sup>O magnetic resonance imaging. *Magn Reson Med* 21 : 313-319, 1991
- 7) Detre JA, Subramanian VH, Mitchell MD, et al : Measurement of regional cerebral blood flow in cat brain using intracarotid <sup>2</sup>H<sub>2</sub>O and <sup>2</sup>H NMR imaging. *Magn Reson Med* 14 : 389-395, 1990
- 8) Kito K, Arai T, Mori K, et al : Deuterium chemical shift imaging for the estimation of cerebral perfusion in rabbit infarction model. *J Anesthesia* 7 : 447-453, 1993
- 9) Arai T, Nakao S, Mori K, et al : Cerebral oxygen utilization analyzed by the use of oxygen-17 and its nuclear magnetic resonance. *Biochem Biophys Res Commun* 169 : 153-158, 1990
- 10) Fiat D, Lyon RC, Ruttner Z, et al : In vivo <sup>17</sup>O NMR study of rat brain during <sup>17</sup>O<sub>2</sub> inhalation. *Magn Reson Med* 24 : 370-374, 1992
- 11) Inubushi T, Morikawa S, Kito K, et al : <sup>1</sup>H-detected in vivo <sup>13</sup>C NMR spectroscopy and imaging at 2T magnetic field : Efficient monitoring of <sup>13</sup>C-labeled metabolites in the rat brain derived from 1-<sup>13</sup>C-glucose. *Biochem Biophys Res Commun* 191 : 866-872, 1993
- 12) Kito K, Arai T, Mori K, et al : Hepatic blood flow and energy metabolism during hypotension induced by prostaglandin E<sub>1</sub> and nicardipine in rabbits : An in vivo magnetic resonance spectroscopic study. *Anesth Analg* 77 : 606-612, 1993
- 13) Huang S-C, Carson RE, Hoffman EJ, et al : Quantitative measurement of local cerebral blood flow in humans by positron computed tomography and <sup>15</sup>O-water. *J Cereb Blood Flow Metabol* 3 : 141-153, 1983
- 14) Hopkins AL, Barr RG : Oxygen-17 compounds as potential NMR T<sub>2</sub> contrast agents : Enrichment effects of H<sub>2</sub> <sup>17</sup>O on protein solutions and living tissues. *Magn Reson Med* 4 : 399-403, 1987
- 15) Kwong KK, Hopkins AL, Belliveau JW, et al : Proton NMR imaging of cerebral blood flow using H<sub>2</sub> <sup>17</sup>O. *Magn Reson Med* 22 : 154-158, 1991