

## 核磁気共鳴法の生体系への応用

### — 最近の進歩〔I〕 —

中澤知男\*、杉山 宏\*\*

最近の核磁気共鳴装置の高精能化は目をみはるものがあり、それに伴い、有機化合物を扱う有機化学、生物化学の分野ではもちろんのこと、医学、生物学の分野においても、核磁気共鳴法 (NMR法) を手段とした研究報告がこのところ急速に多くなっている。本稿〔I〕では、均一磁場を用いるNMR法 (NMR-CTは除く) の原理、NMR法より得られる情報の種類について概説する。さらに実際にNMRスペクトルを測定する場合の試料の調製方法ならびに<sup>1</sup>H-NMR法が生体系へ応用されたいくつかの研究例 (尿、血液、血清等の *in vitro* NMRスペクトル、細菌等の代謝研究、生体組織、臓器の *in vivo* NMRスペクトル) について説明、紹介する。次稿〔II〕においては生体系NMR法として<sup>1</sup>H-NMR法と同じく重要な<sup>13</sup>C-NMR法、<sup>31</sup>P-NMR法、<sup>23</sup>Na-NMR法等について概説する。

キーワード：<sup>1</sup>H-NMR，代謝、臓器、

#### 1. 緒論

核磁気共鳴スペクトル (Nuclear Magnetic Resonance) は原子核のある種のもは磁石としての性質をもつという物理的性質に基づいており、その原理は1920年代後半から知られ、1945年になって実験的証明がされた。この業績により、F. BlockらとE. M. Purcellらは1952年にノーベル物理学賞を受賞している。1950年代に入ると高分解能核磁気共鳴装置が開発され、化学の分野の中でも特に有機化学者により、低分子有機化合物の構造研究に広範に用いられるようになった。装置の発達改良は急速に進み、1970年代からはコンピュータープログラムを駆使したパルスフーリエ変換NMR (FT-NMR)、および極低温 (0-4°K) で超電導 (電気抵抗が0) になる材料を用いた強力な磁石である超電導磁石の二つの開発により感度は飛躍的に向上し、複雑な有機化合物でも扱えるようになってきた。10年程前までは生体研究とは

殆んど関りが無いと思われていたこの技法が今や生体系の基礎的な研究から臨床医学に至る広範な領域に於いて今や必須なものになりつつある。NMRの生体系への応用の際の最も有利な点是非侵襲的、即ち生きたままのそのままの状態の生体系の多くのインホーメーションを得ることができる点にある。現在臨床医学で最も注目されているものの一つとして、静磁場と勾配をもつ線形磁場を必要とするNMRイメージング法がある。この方法は既に臨床診断に用いられ、大きな成果をあげており、本学放射線部荒木力助教授による著書に詳しく説明されている<sup>1)</sup>。現在NMRイメージングは生体中の水や脂質などのプロトンを一まとめにして画像化して、主として物理的情報を与えており、化学的情報は間接的に与えているに過ぎない。従ってNMRイメージングと *in vivo* NMRまたは生検で得られたサンプルによる *in vitro* NMRの両方のデータを得ることにより、NMRの情報の威力を十分に発揮することができる。本稿では通常の均一の磁場を用いるNMR法の生体系への応用に関し、最近の進歩をも含めて概説する。極く最近NMRの分野で全く新しい手法が発表された<sup>2)</sup>。NMRイメージング顕微鏡で、アフリカツメガエル (*Xenopus laevis*) の卵巣から

\* 山梨医科大学化学

\*\* 東北大学非水溶液化学研究所

(受付：昭和61年9月9日)

とった卵細胞をBarth溶液と共に内径1.1mmのガラス管の中に入れ、管に直交する厚さ 250  $\mu\text{m}$ の薄片(分解能  $10 \times 13 \mu\text{m}$ )のNMRイメージングである(図1)。VP(植物極)、AP(動物極)、N(核)、BS(Barth溶液)と識別できる。核の水のシグナルは原形質の水のそれとは異なり、細胞のまわりの自由に動きまわられる水とシグナルが同じである。このことは核の水は原形質の水よりより自由な状態にあることを示している。細胞の一部の化学組織に関する知見やその時間的変化に関する情報も得ている。

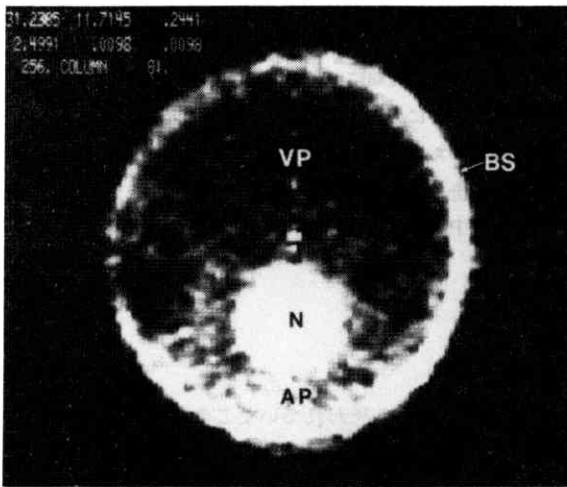


図1 アフリカツメガエルの卵細胞のNMRイメージング。文献2)より引用。

Reprinted by permission from Nature, Vol. 322, pp.190. Copyright (c) 1986. Macmillan Journals Limited.

## 2. NMRの原理

$^1\text{H}$  (100%: 水素の同位体の中で、天然に存在する原子量1の水素即ち $^1\text{H}$ が100%であることを示す。他の水素の同位体としては $^2\text{H}$ 即ち重水素が0.015%存在する。); 1 三相対感度: 一定の磁場中に同数の原子核を置いた際に得られるNMRのシグナルの面積を $^1\text{H}$ の場合と比べた相対値)、 $^7\text{Li}$  (93%; 0.29)、 $^{11}\text{B}$  (80%; 0.014)、 $^{13}\text{C}$  (1.1%; 0.016)、 $^{19}\text{F}$  (100%; 0.83)、 $^{23}\text{Na}$  (100%; 0.093)、 $^{27}\text{Al}$  (100%; 0.206)、 $^{31}\text{P}$  (100%; 0.066)、 $^{35}\text{Cl}$  (75.5%; 0.0047)、 $^{39}\text{K}$  (93%; 0.05)などの原子は一種の磁石とみなすことができ、既ち核磁気をもってい

る。ところが有機化合物の骨格を作っている $^{12}\text{C}$ は核磁気をもっていない。このことは、Cのスペクトルを得る場合には、天然に1.1%しか存在しない $^{13}\text{C}$ に頼らざるを得ないという点ではマイナスであるが、Cの他のスペクトル、例えば $^1\text{H}$ スペクトルを測る場合には、 $^{12}\text{C}$ が磁氣的に不活性のため $^1\text{H}$ スペクトルが簡単になり解析が容易になるという点ではプラスである(後述するスピンスピン結合に関連)。核の磁氣的な性質は角運動量とスピンの二つの物理量により決る。磁性をもつ核は磁場のない場合にはバラバラの方向を向いてすべて同じエネルギー状態にある。しかし均一の磁場の中にこれらの核( $^{13}\text{C}$ 、 $^{31}\text{P}$ 、 $^1\text{H}$ のような核種)を入れた場合、磁軸を外部磁場の軸のまわりに自転しながら回転する(コマの動きにたとえられる)。即ち図2に示したような才差運動するものと、図2とは逆さ向きの、磁場と逆方向の軸をもった才差運動をするエネルギーの高い状態にあるものとの二通りに分れる(量子条件)。そのエネルギー差は、 $2\mu H_0$  ( $\mu$ ; 磁気モーメント、 $H_0$ ; 外部磁場の強さ)である(図3)。外部から才差運動の周期と同周期の高周波を照射すると、低いエネルギー状態の原子核が高いエネルギー状態へ移る遷移がおこる。この時核の吸収するエネルギーは $2\mu H_0 = h\nu$  ( $\nu$ ; 高周波の振動数)である。低エネルギー状態にある核の数は高エネルギー状態にあるものより多く(Boltzmann分布)、エネルギーを吸収して高エネルギー状態に移る確率はエネルギーを放出し

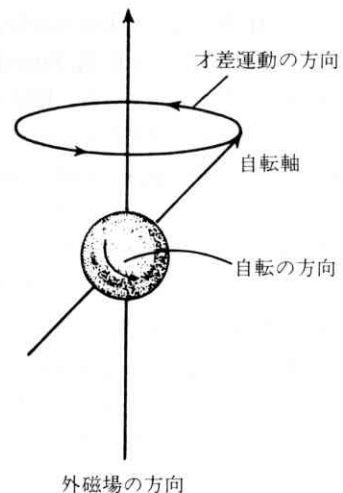


図2 原子核の才差運動 文献3) 169頁より引用。

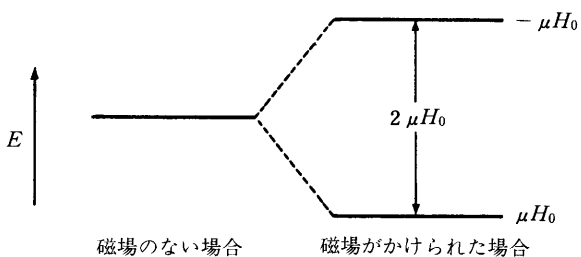


図3 磁場内の水素のエネルギー準位  
文献3) 168頁より引用。

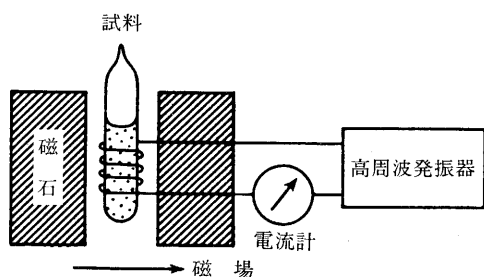


図4 核磁気共鳴測定装置の概要  
文献3) 170頁より引用。

て低エネルギー状態に移る確率と等しいので、熱平衡時には常に低準位にある核の数が多くなる。高準位にある核が低準位に移る際にエネルギーは放出されるが、この過程を緩和 (relaxation) という。緩和には高準位にある核がエネルギーを空間的に近くにある同種の核に与えるスピン-スピン緩和 ( $T_2$ ) と他の分子にエネルギーを与えるスピン-格子緩和 ( $T_1$ ) とがある。装置の概略図

を図4に示した。核が吸収する周波数  $\nu_{obs}$  は  $\gamma$  (磁気回転比; 核固有の定数) と  $H_0$  と  $\sigma$  (しゃへい定数) により決る。 $\sigma$  は原子核の周りの環境、即ち化学結合、化学構造の違いにより、核の周りに外部磁場を弱める局部的磁場が発生することを示している。従って環境が違えば核の  $\nu_{obs}$

$$\nu_{obs} = \frac{\gamma}{2\pi} (1 - \sigma) H_0, \quad \delta = \frac{\nu_{obs} - \nu_{ref}}{\nu_{ref}} \times 10^6$$

は違い、 $H_0$  を大きくすると  $\nu_{obs}$  も大きくなる。基準物質のある核の吸収を  $\nu_{ref}$  とし、 $\nu_{ref}$  から  $\nu_{obs}$  がどれ位離れているかの相対的目安  $\delta$  を化学シフト (Chemical shift) という。 $\nu_{ref}$  として TMS,  $(CH_3)_4Si$ , テトラメチルシランの  $^1H$ , DSS,  $(CH_3)_3Si(CH_2)_3SO_3Na$  の  $^1H$  などが使われる。核の周りの環境と  $\delta$  との関係はそれぞれの核について表にまとめられているので必要に応じ、それを参照するとよい。何種類かの核のシグナルが観察された時は、その面積は核の数に比例する。

### 3. NMRより得られる情報

高分解能 NMR スペクトルは極めて多くの情報を含んでいる。測定が非侵襲的であるので、時間経過を追うことができ、また試料も回収できる。しかし主たる欠点は検知可能なシグナルを出すのに高濃度 (約0.2mmol以上) が必要になることである。

#### 3-1. 化合物の構造解析、同定および定量

図5にエタノールの  $^1H$ -NMR スペクトルを示した。 $\delta$ , 化学シフトより H の環境 ( $\delta$  の表より例えば  $-OCH_2-$

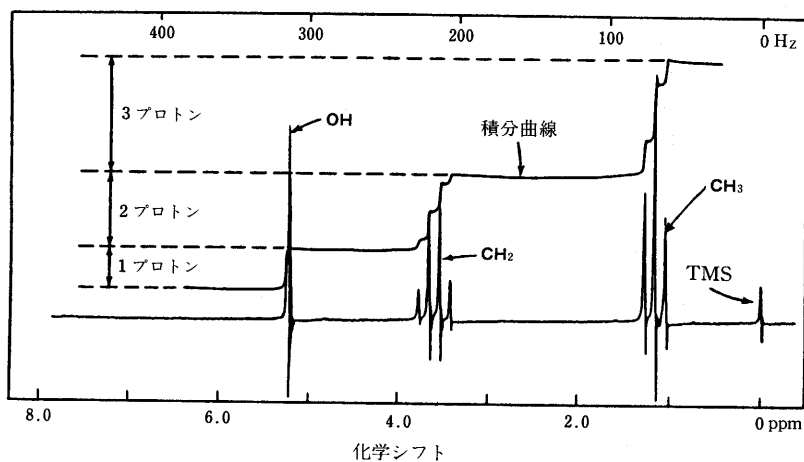


図5 エタノールの  $^1H$ -NMR スペクトル

のHは $\delta 3.5$  ppm付近にシグナルがあることが予想される。)、シグナルの積分値からのHの数、シグナルの分裂の様子(型式)よりエタノールであることが確定する。分裂型式とはスピンスピン結合と言われ、磁性を持つ二つの原子核が互いに近くに存在すると、そのシグナルは互いに分裂する現象を言う。また該当する原子核のシグナルの強度(積分値)より定量することもできる。

なお注意しなければならないことは、生体試料の組織等分子運動が束縛されている物質のシグナルは巾が広くなりすぎ実際には観測されない。これら組織に含まれる比較的小さな分子のシグナルが観測される。

### 3-2. NMRによるpH測定

無機リン酸は中性pH近辺では、主として



の平衡として存在し、 $^{31}\text{P}$ -NMRスペクトルの化学シフトより、生体系のpHを測ることができる(図6)。

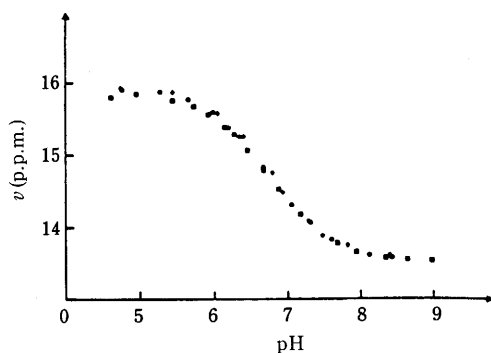


図6 無機リン酸の化学シフトと溶液のpHとの関係(基準物質 methylenedi phosphonate) 文献4)より引用。

### 3-3 代謝に関連した情報

エネルギー変換の情報は $^{31}\text{P}$ -NMR(ATP, ADPなどの濃度、増減)、物質代謝は $^1\text{H}$ 、 $^{13}\text{C}$ -NMR(代謝物質の同定、定量、経時変化)がたいへん有効である。

### 3-4. 金属イオン結合

ATPは体内では $\text{Mg}^{2+}$ イオンと結合していることが知られているが、ATPの化学シフトが $\text{Mg}^{2+}$ と結合する時の変化をみることにより、結合の程度がわかる。

### 3-5. 速い反応の追跡

クレアチンリン酸よりATPへの反応(生化学反応の速いもの)はNMRを用いた飽和移動法(Saturation Transfer)という手法で速さがわかる。

### 3-6. コンパートメント化

同種の化合物でもその環境が異なると化学シフトが違ってくる。異なるプールを識別するに足る程のシグナルが認められる場合、コンパートメント化について情報をうる。

### 3-7. 分子の可動性

分子が不動化されるにつれ共鳴の線巾が増大する傾向にある。これを利用する。

### 3-8. イメージング<sup>1)</sup>

### 3-9. 臓器、組織等のいきのよさ

長時間虚血の結果おこる不可逆的障害やとり出した臓器、筋肉等のいきのよさを調べるのにNMRは理想的に適している( $^1\text{H}$ -NMR,  $^{31}\text{P}$ -NMR法)。

## 5. 測定試料の調製

普通の有機化合物は1 mg ~ 10 mgを0.5 ml程の溶媒に溶かして径5 mmのガラス管に入れて測る。生体より採取する試料は血液、尿等のような液体状のものや臓器、皮膚、筋肉組織などの固形状のものを5 mm、10 mmまたは15 mmの径のガラス管に2 ~ 3 cmの高さにつめてそのまま測る。最近ではマウスがそのまま入る大口径の測定室をもち、イメージングおよび化学シフト測定の間方ができる機種が主流になってきている。取り出した心臓、肝臓、腎臓等は人工塩類溶液を灌流し、生きたままの状態測定する。測定室に入らない大きな試料やある特定の部位を測定したい場合臓器を露出させ、特殊のコイル(表面コイル; コイルの近くの臓器の表面近くの部分が測定される。)を用いたり、特定の生体内の臓器に磁場焦点をつくるような局所磁場共鳴法により測定される。

## 6. $^1\text{H}$ -NMR法の生体系への応用

$^1\text{H}$ -NMR法では $^1\text{H}$ が天然に同位体としてはほぼ100%存在し、他の核種に比べ、検出感度が高い。従って試料が少なくてもよく、また測定時間も短かくてすむ。一般の有機化合物は多くのHを含むので、P、Cに比べ、多くの情報は得られるが、高分子化合物になると、含まれるHの数が多くなり、スペクトルは大変複雑になり、シグナルが重なってしまい、詳細な解析は困難になってくる。このため $^1\text{H}$ -NMR法の生体系への応用はPなどより遅れたが、ここ数年の間に装置がさらに高分解能になり、

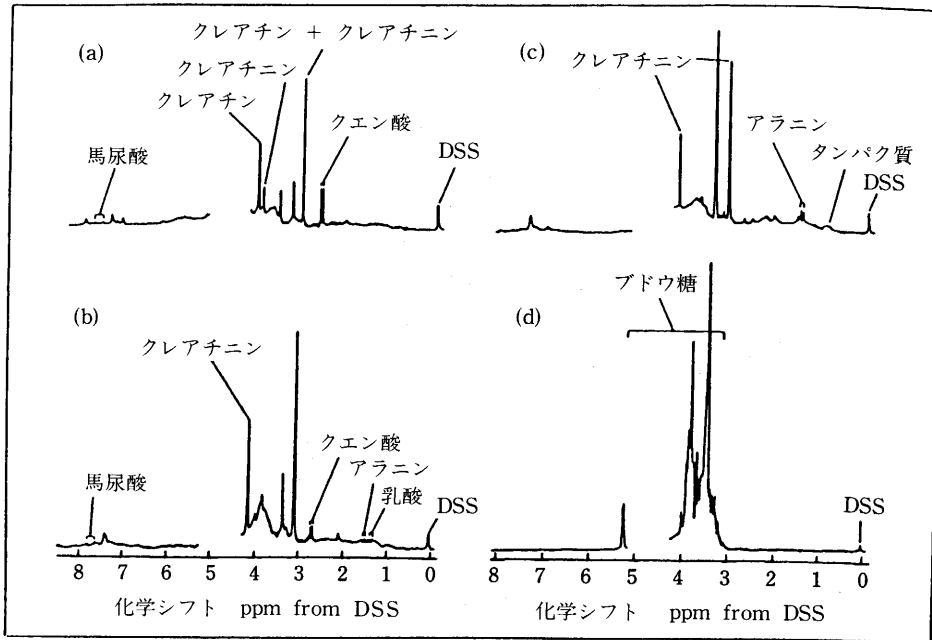


図7 人尿の<sup>1</sup>H-NMRスペクトル。(100MHz).  
 (a), (b),健康人の尿, (c)慢性腎不全患者の尿, (d)糖尿病患者の尿  
 文献5)より引用。

生体系に関する報告が次々に発表されるようになった。生体系には溶媒としての多量の水が存在し、イメージング法ではこの水のシグナルを見るわけであるが、代謝物などは水に対して、 $1/10^4 \sim 10^5$ しか存在しないので、水の強大なシグナルが、微弱な代謝物のシグナルの観測を困難にする場合が多い。このため水のシグナルを消去する二、三の方法(ホモゲイト法、スピネコー法など)が開発されている。以下<sup>1</sup>H-NMR法が生体系に応用されたいくつかの例を紹介する。

血液(血清)、尿等の体液試料は<sup>1</sup>Hスペクトルを通して生体の病態に関する情報を与える。人尿試料0.3mlを前処理なしでそのまま5ミリ管に入れ、ホモゲイト法で水のシグナルを消去し、測定する(測定時間13分)。健康人と患者(糖尿病と腎疾患)尿では明瞭な差異が現われる(図7)。他の方法ではできないクレアチンとクレアチニンの同時定量ができ、共存物の測定値に対する干渉はない<sup>5)</sup>。血清はその0.5mlを用いて2~5分で測定される。各種ガン患者血清の<sup>1</sup>Hスペクトルには統計上87%の高率で有意に高い乳酸が出現することを見い出している<sup>6)</sup>。尿の<sup>1</sup>Hスペクトルは先天性代謝異常症の診断にも有効に用いられる。図8にフェニルケトン症の尿のスペク

トルを示したが<sup>7a)</sup>、他のアミノ酸代謝異常症、有機酸代謝異常症の尿のスペクトルも報告されている<sup>7b)</sup>。

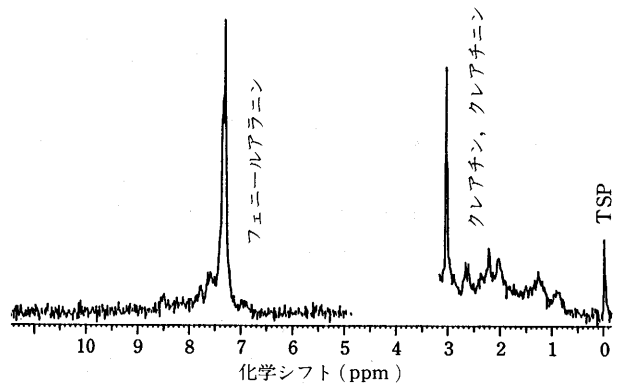


図8 フェニルケトン症の尿の<sup>1</sup>H-NMRスペクトル。  
 文献7a)より引用。

無傷の赤血球をH<sub>2</sub>O緩衝液中に懸濁し、測定したスペクトルを図9に示した。スピネコーのパルスを使用する方法(スピネコー法)で、溶媒の水、ヘモグロビンの大部分のシグナルは消去され、シグナルのいくつかは反転している。ヘモグロビン(H)、ATP(A)、エル

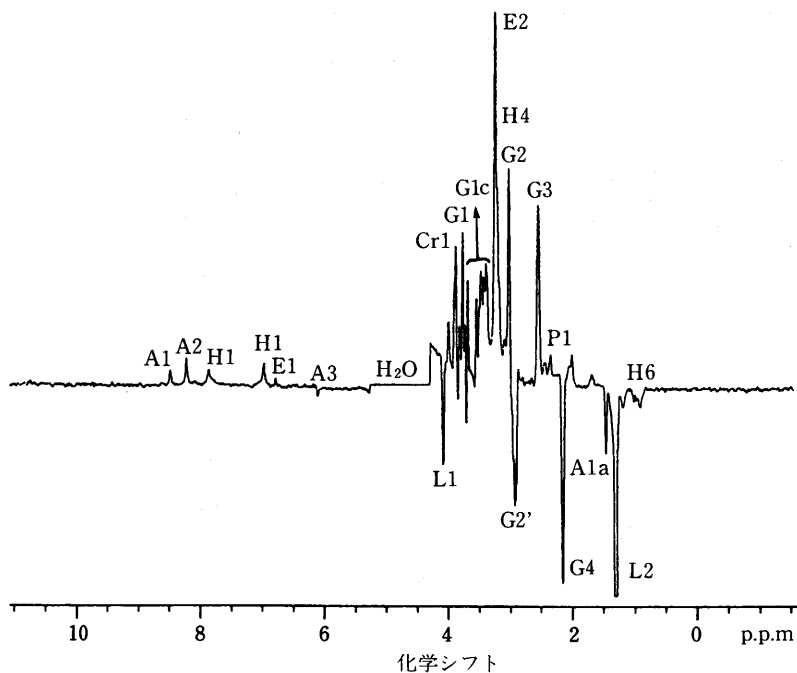


図9 無傷の赤血球のスペクトル。  
文献8)より引用。

ゴチオネイン (E)、クレアチン (Cr)、乳酸 (L)、グルコース (Glc)、グルタチオン (G)、ピルビン酸 (P) およびアラニン (A) は同定することができる。この赤血球の懸濁液にグルコースを加え、その代謝によりおこる乳酸の生成や酸化型のグルタチオンの還元の様子を $^1\text{H}$ スペクトルにより調べている。さらにヘモグロビンのヒスチジン残基のC 2 位のプロトンの化学シフトより赤血球内のpHも測られている<sup>8)</sup>。高感度の装置を用いて、生きた Friend 白血病細胞またはこの細胞質体抽出物の $^1\text{H}$ スペクトルより12の氨基酸とその他19の代謝中間体を確認している。ジメチルスルホキシドの作用により Friend 白血病細胞が赤血球様に分化する過程において原形質のホスホリルコリンの量が4倍に増えることを見出ししている<sup>9)</sup>。

パルスNMR法を用いてDuchenne筋ジストロフィーの10人の患者の赤血球内の水の平均滞留時間を測ったところ、健康人の9人の平均のそれに比較して有意に長いことがわかった。滞留時間は膜透過性に反比例する値であるので、筋ジストロフィーによる膜の異常性が存在することを示している<sup>10)</sup>。

$^1\text{H}$ -NMR法は細菌等の代謝研究にも応用されている。

培養液に細菌等を加え、その浮遊液をそのまま測定する。 $^{13}\text{C}$ -NMR法が併用される場合が多い。E. Coliによる0.1 mol グレコースのM9培地中での嫌氣的代謝によりA:コハク酸、B:ピルビン酸、C:酢酸、D:乳酸、E:エタノール生成の経時変化を図10に示した。各スペクトルは5分間積算し、約0.1 mmolの代謝産物が検出できた<sup>11)</sup>。

トキソプラズマ (原虫、*Toxoplasma gondii*) の糖の代謝がNMR法により調べられている。この原虫は *in vivo* でしか培養できないのでマウスの腹腔内に接種し、4日後に採取した腹水からガラスフィルター濾過により腹腔細胞を除き虫体を集める。この虫体の生理食塩水浮遊液 ( $5.2 \times 10^8$  cell/ml) 10ml にブドウ糖を加え、37°C でインキュベートし、経時的 (0.5~24 h) に0.7ml ずつとり、遠心上澄液について $^1\text{H}$ スペクトルを測定すると、乳酸と酢酸の産生していることがわかった<sup>12)</sup>。梅毒トレポネーマの近縁株のライター・トレポネーマ (*Treponema phagedenis*) の糖代謝が $^1\text{H}$ -および $^{13}\text{C}$ -NMR法により検討され、グルコースより出発して培養液中にエタノール、酢酸、ギ酸、アラニンが1:1:0.5:0.5のモル比で産生していることが報告されている<sup>13)</sup>。

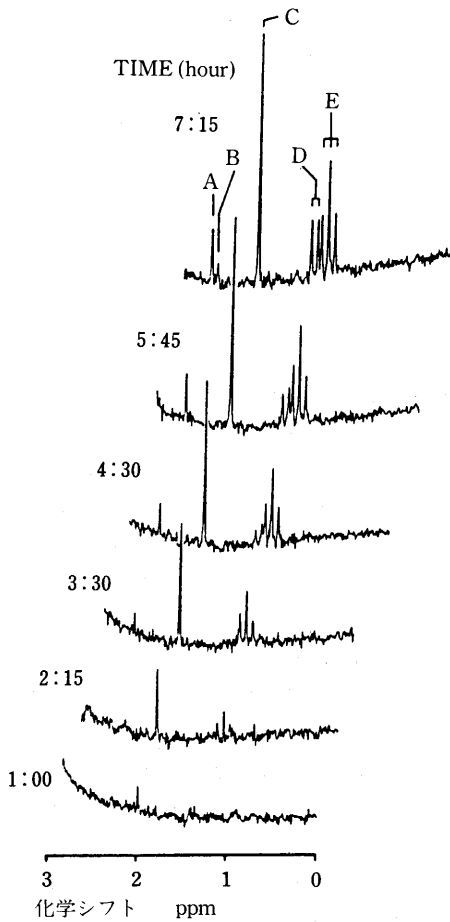


図10 E. coliのグルコース代謝の経時変化  
文献11)より引用。

Reprinted with permission from Biochemistry, Vol. 17, page 4743, (1978).  
Copyright (1986) American Chemical Society.

臓器中に含まれる代謝物は臓器または組織(ラットの場合)の一部をとり、生理食塩水中でホモジナイドし、遠心上澄液の<sup>1</sup>Hスペクトルの測定により、その代謝物が同定されることが報告されている<sup>14)</sup>。

<sup>1</sup>Hスペクトルは *in vivo* での生体の測定にも応用されている。ラットを麻酔し、太ももの部分に馬蹄型のコイルを固定し測定したのが、生きた足の<sup>1</sup>Hスペクトル(図11)である。スピネコーのパルスを使用して多量に存在する水と脂質のシグナルは除くかあるいは小さくしてある。筋肉よりの抽出物のスペクトルや既に知られた代謝物のシグナルの化学シフトを参考にして脂質(1、2、3、9のシグナル)、クレアチンリン酸(4、7)、

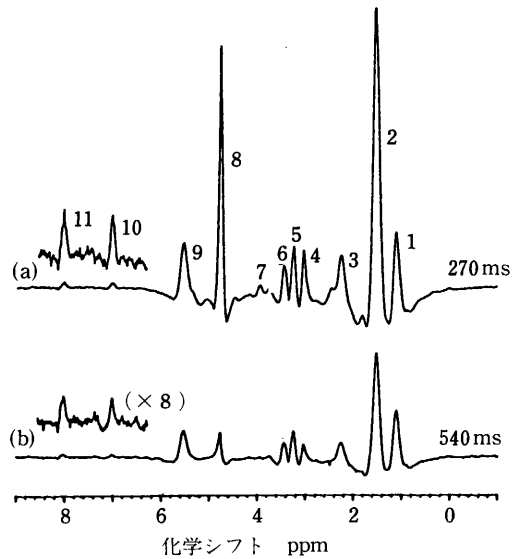


図11 ラットの足の *in vivo* <sup>1</sup>H-NMR スペクトル。  
(a)と(b)は測定に用いるパルスが異なる。  
文献15)より引用。

タウリン(5、6)、水(8)、アンセリン(10、11)が代謝物として見ることが出来る。細胞内pHはアンセリンの化学シフトより6.98~7.04と求められた<sup>15)</sup>。脳のスペクトルも測られている。ラットを麻酔し、固定装置に入れ頭部に小さな表面コイルを付け測定された。シグナルを同定するため、生きた脳の凍結したものよりの抽出物のシグナルと比較している。図12には、このようなラットに対して呼吸の酸素を25%(A)より4%に減少させ(B:5分、C:17分)、再び酸素を25%に上げ(D:14分、E:41分)した時、それに伴い乳酸のシグナル(Lac)が一旦大きくなり、もとの状態にもどる様子が、スペクトル上に正確に表われていることを示している<sup>16)</sup>。多くの動物の心臓のスペクトルも測られている。ラットから取り出した心臓を灌流させ、酸素と栄養を補給し生きた状態のスペクトルには、タウリン、カルニチン、クレアチン、クレアチンリン酸、グリセリド、乳酸のシグナルが確認され、他の組織同様酸素の補給が少なくなるといくつかの代謝物の濃度変化、特に乳酸の濃度が増大することが報告されている<sup>17)</sup>。

1971年に Damadian はラットガン組織における水のスピネー格子緩和時間( $T_1$ )が正常組織の $T_1$ 値よりも大きいことを見出した<sup>18)</sup>。その後の研究により多くの組織について同様な結果が報告されている。一般に何らか

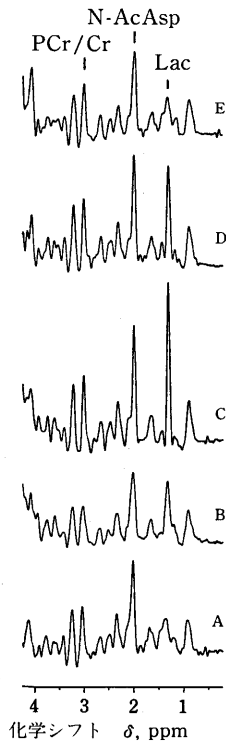


図12 ラットの脳の *in vivo*  $^1\text{H}$ -NMR スペクトル。  
文献16) より引用。

の組織に結合していて、動きの鈍くなった水の緩和時間は短かく、自由な水の緩和時間は長いことが知られている。このガン組織における緩和時間の増大は、組織の中に自由水の含量が増えているためとされているが、まだはっきりしたことはわかっていない。最近 Hollis はある種のゆっくり成長するガンの  $T_1$  値は必ずしも正常のものより長くはならないことを示し、 $T_1$  が決定的なガン診断のパラメーターにはならないことを報告している<sup>19)</sup>。

以上生体系のいくつかの分野に応用された  $^1\text{H}$ -NMR 法について概説したが、次稿では  $^{31}\text{P}$ 、 $^{13}\text{C}$ 、 $^{23}\text{Na}$ -NMR 法等について説明する。

なお有益な御助言をいただいた本学病理学須田耕一助教授に感謝いたします。

## 文 献

1) 荒木 力著 (1984) NMR-CT 入門 (南江堂)  
2) Aguayo, J.B., Blackband, S.J., Schoeniger, J., Mattingly, M.A., and Hintermann, J. (1986)

Nuclear magnetic resonance imaging of a single cell. *Nature*, **322**, 190-191.

- 3) 野副鉄男、北原喜男、伊東 徹、高瀬嘉平、村田一郎、浅尾豊信、竹下 齊著 (1975) 有機化学「上」  
広川書店
- 4) Garlick, D.B., Radda, G.K., and Seeley, P.J. (1979) Studies of acidosis in the ischaemic heart by phosphorus nuclear magnetic resonance. *Biochem. J.*, **184**, 547-554.
- 5) 松下和弘 (1985) 人尿、人血清の  $^1\text{H}$ -NMR. *新医療*, **12**, 59-63.
- 6) Ohsaka, A., Yoshikawa, K., and Matsushashi, T. (1979) Detection by proton nuclear magnetic resonance of elevated lactate concentration in serums from patients with malignant tumors. *Japan J. Med. Sci. Biol.*, **32**, 305-309.
- 7) a) Yamaguchi, S., Koda, N., Eto, Y., and Aoki, K. (1984) Rapid screening of metabolic disease by proton NMR urinalysis. *Lancet*, **2**, 284.  
b) idem. (1985) Quick screening and diagnosis of organic acidemia. *J. Pediatr.*, **104**, 620-622.
- 8) Brown, F.F., Campbell, I.D., Kuchel, P.W., and Rabenstein, D.C. (1977) Human erythrocyte metabolism studies by  $^1\text{H}$  spin echo NMR. *FEBS Lett.*, **82**, 12-16.
- 9) Agris, P.F. and Campbell, I.D. (1982) Proton nuclear magnetic resonance of intact Friend leukemia cells; Phosphorylcholine increase during differentiation. *Science*, **216**, 1325-1327.
- 10) Ashley, D.L. and Goldstein, J.H. (1981) Nuclear magnetic resonance evidence for abnormal water transport in Duchenne muscular dystrophy erythrocytes. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **100**, 364-369.
- 11) Ogino, T., Arata, Y., Fujisawa, S., Shoun, H., and Beppu, T. (1978) Proton correlation nuclear magnetic resonance studies of anaerobic metabolism of *Escherichia coli*. *Biochemistry* **17**, 4742-4745.
- 12) Ohsaka, A., Yoshikawa, K., and Hagiwara, T. (1982)  $^1\text{H}$ -NMR spectroscopic studies of aerobic glucose metabolism in *Toxoplasma Gondii* ha-



- rvested from peritoneal exudate of experimentally infected mice. *Physiol. Chem. Phys.*, 14, 381-384.
- 13) Ohsaka, A., Yoshikawa, K., Yamada, S., and Sugihara, T., (1981)  $^1\text{H}$ - and  $^{13}\text{C}$ -NMR spectroscopic study of glucose metabolism in *Treponema phagedenis*. *Physiol. Chem. Phys.*, 13, 159-164.
- 14) Harada, H., Maeiwa, M., Yoshikawa, K., and Ohsaka, A. (1984) Identification and quantitation by  $^1\text{H}$ -NMR of metabolites in animal organs and tissues. *Forensic Sci. Int.*, 24, 1-7.
- 15) Williams, S.R., Gadian, D.G., Proctor, E., Sprague, D.B., and Talbot, D.F. (1985) Proton NMR studies of muscle metabolites in vivo. *J. Mag. Reson.*, 63, 406-412.
- 16) Behar, K. L., Den Hollandeer, J.A., Stromski, M.E., Ogino, T., Schulman, R.G., Petroff, O.A. C., and Prochard, J.W. (1983) High resolution  $^1\text{H}$  nuclear magnetic resonance study of cerebral hypoxia *in vivo*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 80, 4945-4948.
- 17) Ugurbil, K., Petein, M., Maidan, R., Michürski, S., Cohn, J.N., and From, A.H. (1984) High resolution proton NMR studies of perfused rat hearts. *FEBS Lett.*, 167, 73-78.
- 18) Damadian, R. (1971) Tumor detection by nuclear magnetic resonance. *Science*, 171, 1151-1153.
- 19) Hollis, D.P. (1984) Nuclear magnetic resonance studies of cancer and heart disease. *Bull. Mag. Reson.*, 1, 27-37.

#### Abstract

### The application of nuclear magnetic resonance to intact biological systems Recent development (Part 1)

Tomoo NAKAZAWA\* and Hiroshi SUGIYAMA\*\*

High resolution NMR spectrometers have been highly improved during the last decade and concurrently recent developments in NMR spectroscopy have been remarkable. This spectroscopic method in research works plays an important role not only in the field of organic and biological chemistry, but also nowadays in the field of biology and medicine.

In this review, the introduction is devoted to general description on recent NMR spectroscopy except NMR-CT and on what informations on intact biological systems are obtained by means of this spectroscopic method. Then, from the standpoint of application of NMR to living tissue and organs, it is described how to prepare the samples for measurement of NMR spectra and recent results studied by means of  $^1\text{H}$ -NMR spectroscopic method are outlined.

---

\* Department of Chemistry

\*\* Chemical Institut of Non-aqueous Solution, Tohoku University