

## 磁場配向したフィブリン線維を取り巻く水分子の T<sub>2</sub> 緩和時間 T<sub>2</sub> Relaxation of Water Molecules Surrounding Magnetically Oriented Fibrin Gels

竹内 道広\*・関野 正樹\*・山口 喜久雄\*・入口 紀男\*\*・上野 照剛\*

\*東京大学大学院医学系研究科 医用生体工学 東京都文京区本郷 7-3-1 (〒113-0033)

\*\*熊本大学 総合情報基盤センター 熊本県熊本市黒髪町 2-39-1 (〒860-8555)

M. Takeuchi\*, M. Sekino\*, K. Yamaguchi\*, N. Iriguchi \*\*, and S. Ueno \*

\*Department of Biomedical Engineering, Graduate School of Medicine University of Tokyo  
7-3-1 Hongo, Bunkyo-ku, Tokyo 113-0033, Japan

\*\*Center for Multimedia and Information Technologies, University of Kumamoto  
2-39-1 Kurokami, Kumamoto 860-8555, Japan

We investigated the effect of structural differences in fibrin fibers on the T<sub>2</sub> relaxation time. Fibrin fibers have the unique characteristic of orienting themselves parallel to high magnetic fields during polymerization. Two fibrin gels were polymerized from a fibrinogen solution with and without a 7.05-T magnetic field. Water molecules in the fibrin gel that was polymerized in the high magnetic field exhibited only one relaxation time, T<sub>2</sub> = 0.35 s, whereas water molecules in the fibrin gel that was not exposed to a magnetic field during polymerization had at least two exponential components in the T<sub>2</sub> relaxation. The long component, T<sub>2</sub> = 0.35 s, was the same order as the T<sub>2</sub> of the fibrinogen solution (= 0.41 s) and the fibrin gel polymerized in the high magnetic field. The short component was T<sub>2</sub> = 0.07 s. This difference is attributed to a change in the magnetic dipole-dipole interactions between water molecules and fibrin fibers.

**Key words:** T<sub>2</sub> relaxation time, magnetically oriented fibrin gels

### 1. はじめに

生体内のプロトンの緩和時間は、組織によって大きく異なる値をとる。MRI は組織間の緩和時間の違いを画像の信号強度に反映させ、画像のコントラストを形成している。

腫瘍や虚血等の病変により細胞の構造に変化が生じた場合、特にスピン-スピン (T<sub>2</sub>) 緩和時間が大きく変化する。<sup>(1,2)</sup> この T<sub>2</sub> 緩和時間の変化が MRI を用いた病変の検出を可能にするため、T<sub>2</sub> 緩和時間の変化のメカニズムに関する研究は多数行われてきた。Bloembergen は、分子運動によるプロトンの双極子-双極子相互作用の変動を定式化し、T<sub>2</sub> 緩和時間の理論式を導いた。<sup>(3)</sup> この理論は不純物を含まない多くの液体や固体の緩和時間をよく説明する。しかし、生体組織は多種類の液体成分、高分子、イオン等を含む複雑な系である。プロトンの磁気共鳴信号の多くは、水分子に含まれるプロトンから発生する。T<sub>2</sub> 緩和時間は、水分子の周囲に存在する巨大分子によって著しく影響を受けること

が指摘されており、組織間の緩和時間の差は主として巨大分子の影響に由来すると考えられている。

高分子ゲルの構造については多くの研究がなされているが、それに含まれる液体、特に水の挙動については不明な部分が多い。生体組織中には、高分子との結合状態の違いによって複数の状態の水が存在する。<sup>(4)</sup> それぞれの状態の水は固有の T<sub>2</sub> 緩和時間を持つため、生体組織の T<sub>2</sub> 緩和時間を測定すると、一般には複数の成分が測定される。<sup>(5,6)</sup>

しかし、これら T<sub>2</sub> 緩和時間の違いに関するメカニズムの詳細は、ほとんど明らかにされていない。フィブリンやコラーゲン等いくつかの生体高分子は、強い磁化率異方性を有することが知られている。この磁化率異方性は、アミノ酸の側鎖中の環構造に含まれる電子等に由来するものである。磁化率異方性を持つ高分子は静磁場中でトルク力を受けるが、磁気エネルギーが分子運動の熱エネルギーより大きい場合、タンパク質は配向した状態で安定する。<sup>(7,8)</sup> 直線状タンパク質であるフィブリンノーゲンは、酵素トロンビンの作用により重合して線維状のフィブリンとなりゲル化する。通常フィブリンは線維がランダムな方向を向いた状態で重合するが、反応の過程で強磁場に曝露すると、線維が磁場に対して平行に配向した状態で重合する。<sup>(9)</sup>

コラーゲン等にみられるように、生体内における線維状高分子の多くは、方向性のある構造をとって存在している。水分子中のプロトンの T<sub>2</sub> 緩和時間が、水分子と周囲の高分子との結合性相互作用の影響を大きく受けるという報告はこれまでも多数なされてきた。<sup>(10,11,12)</sup> しかしその影響が、高分子のとり構造の方向性の有無によりどのように変化するのかを調べた例はない。本研究では、方向性のある構造を持った高分子のモデルとして、磁場配向したフィブリン・ゲルを用いた。磁場中で重合したフィブリン・ゲルと、磁場外で重合したフィブリン・ゲルについて T<sub>2</sub> 緩和時間の測定を行い、フィブリン線維の構造の違いが水分子のプロトンの T<sub>2</sub> 緩和時間に及ぼす影響について検討した。

### 2. 実験方法

全てのデータは 7.05 T imaging spectrometer (Varian Associates, Inc., Palo Alto, CA)で測定した。RF コイルは内径 6 cm のクアドラチャ・ボリュームコイルである。直径 17 mm の円柱形チューブにフィブリノーゲン水溶液(3.0 mg/ml)とフィブリン・ゲルを満した。フィブリン・ゲルは、フィブリノーゲン水溶液(3.0 mg/ml)にトロンビン(1.0 U/ml)と CaCl<sub>2</sub>(200 mM)を添加し、50 分間重合させた。フィブリン・ゲルは 7.05 T の磁場中で重合したものと磁場外で重合したものの 2 種類を用意した。T<sub>2</sub> 緩和時間を Carr-Purcell-Meiboom-Gill シーケンスで測定した。ボア内の温度は 15°C であった。t=0 で 90° パルス印加後、5 ms 毎に 180° パルス印加した。スピンエコー信号は t=40, 80, …, 400 ms と t=80, 160, …, 1280 ms で取得した。緩和曲線  $S(t)=S(0)\exp(-t/T_2)$  をフーリエ変換した一連のエコー信号のピークにフィットさせ、T<sub>2</sub> 緩和時間を求めた。

### 3. 実験結果および考察

磁場中で重合したフィブリン・ゲルに含まれる水分子のプロトンは、Figure 1 に示すように、単純な指数関数型の T<sub>2</sub> 緩和にほぼ従っており、その T<sub>2</sub> 緩和時間は 0.35 s であった。しかし、磁場外で重合したフィブリン・ゲルに含まれる水分子のプロトンは、単純な指数関数型の緩和を示さず、T<sub>2</sub> 緩和に少なくとも 2 種類の成分が存在することが示唆された。Figure 2(a) に示す TE = 0.08 - 1.28 s の信号から計算された長い緩和成分は T<sub>2</sub> = 0.35 s であり、Figure 2(b) に示す TE = 0.04 - 0.4 s の信号から計算された短い緩和成分は T<sub>2</sub> = 0.07 s であった。Table 1 に、磁場外で重合され不規則な方向を向いた線維を持つフィブリン・ゲル、磁場中で重合され磁場に平行な方向を向いた線維を持つフィブリン・ゲル、ならびにフィブリノーゲン水溶液について、T<sub>2</sub> 緩和時間の測定結果を示す。

一般に T<sub>2</sub> 緩和時間に変化を及ぼす要因としては、試料の粘性や分子間相互作用のような、分子運動の相関時間に影響するパラメータの変化に由来するもの、並びに、常磁性不純物の添加時にみられるような、局所的な磁場の乱れに由来するものの二つを挙げることができる。多数の先行研究においても、生体高分子を取り巻く水分子の緩和時間に二つ以上の成分が観察された、あるいは、それらの成分に変化が認められたとの報告がなされており、そのメカニズムについては分子間相互作用の観点から解釈がなされることが多い<sup>(10,11,12)</sup>。しかし、それら先行研究の多くが、主として高分子から分子数十個程度以内の距離に存在する水分子を測定対象としているのに対して、本研究では、高分子からの分子間相互作用が及ばない距離に存在する水分子からの信号も測定対象に含めている。特に本研究で使用した試料のフィブリン濃度は非常に低い(3.0 mg/ml)ため、測定される信号の大部分は、フィブリンと分子間相互作用を

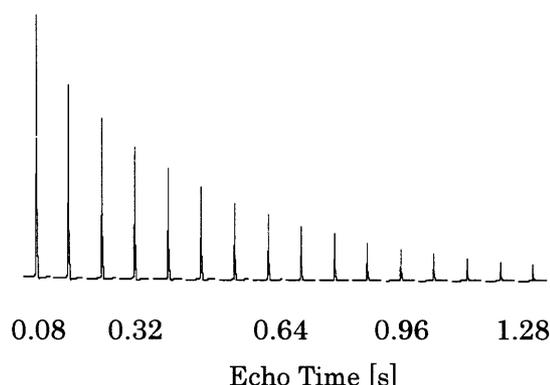


Fig. 1 T<sub>2</sub> relaxation of water molecules in a fibrin gel polymerized in a 7.05-T magnetic field. Fibrin fibers were oriented parallel to the magnetic field.

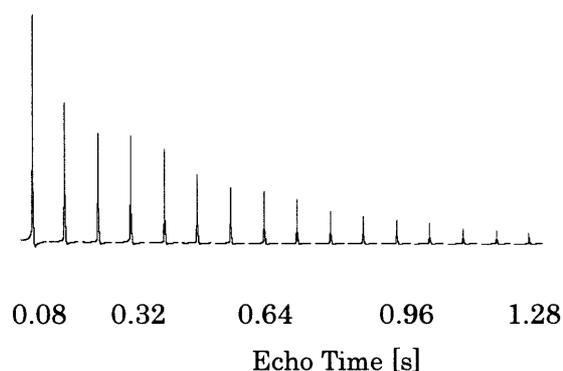


Fig.2 (a) T<sub>2</sub> relaxation of water molecules in a fibrin gel polymerized without a magnetic field. Fibrin fibers were randomly oriented. The long component was T<sub>2</sub> = 0.35 s. Te = 0.08 - 1.28 s.

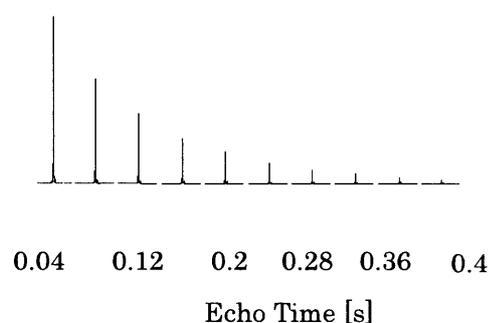


Fig. 2 (b) T<sub>2</sub> relaxation of water molecules in a fibrin gel polymerized without a magnetic field. The short component was T<sub>2</sub> = 0.07 s.

Table. 1 T<sub>2</sub> relaxation times of a fibrin gel with oriented fibers, a fibrin gel with random fibers, and fibrinogen solution.

Sample	Fibrin oriented	Fibrin random	Fibrinogen
T <sub>2</sub> [s]	0.35	0.35 0.07	0.41

及ぼし合わない距離に置かれた水分子から生じたものと考えることができる。ゆえに、本研究の測定結果を、分子間相互作用の観点から解釈することはできない。さらに、磁場配向の有無により粘性が変化するような物質は試料に含まれていない。一方で、T<sub>2</sub>緩和時間に変化を及ぼすもう一つの要因である磁場分布の変化は、一般に分子間相互作用が及ばない距離まで到達する。したがって、フィブリンの磁場配向の有無による水の緩和時間の違いは、フィブリン周囲の局所的な磁場分布の観点から解釈することが妥当である。一般に、局所的な磁場の乱れが大きいほど T<sub>2</sub> 緩和時間が短縮することを考慮すると<sup>9)</sup>、測定結果は、フィブリンを磁場中で重合させた場合に、フィブリン周囲の磁場の乱れが減少することを示している。磁場の乱れの減少について、緩和時間の測定のみからその詳細まで議論するのは難しいが、以下では、測定結果を説明することが可能なモデルについて述べる。

フィブリン周囲の磁場の乱れは、フィブリンとそれを取り巻く水分子との間で磁化率が異なることに由来するが、フィブリンが直線状の高分子であることから、その乱れはフィブリン分子の両端付近で強く発生する。フィブリンを磁場中で重合させた場合には、磁場外で重合させた場合に比べてフィブリンの重合度が増加し、より長いフィブリン線維が形成されることが報告されている<sup>9)</sup>。磁場中および磁場外で重合させた試料について、フィブリンモノマーの総量は等しいので、磁場中で重合させた場合にフィブリン線維の数が減少する。その結果、フィブリンを磁場中で重合させることで、フィブリン線維端部の乱れた磁場から影響を受けて短い T<sub>2</sub> 緩和時間を持つ水分子の割合が減少する。また、フィブリン線維は磁化率異方性を有しており、フィブリンの磁化率は線維に垂直な方向で最も大きく、線維に平行な方向で最も小さい。したがって、フィブリンが磁場に曝された場合に生じる磁化は、フィブリン線維が磁場に平行な方向を向いている場合に最小となる。フィブリン線維の周囲に生じる局所的な磁場の乱れは、フィブリンの磁化に由来する。したがって、線維の集団が磁場に平行に配向している場合の方が、各線維が不規則な方向を向いている場合に比べて、線維の周囲に形成される磁場の乱れが小さい。結果として、フィブリン線維を磁場配向させることで線維の周囲に生じる磁場の乱れが減少し、その乱れの影響を受けて短い T<sub>2</sub> 緩和時間を持つ水の割合が減少

する。

以上述べた 2 つのモデルから、T<sub>2</sub> 緩和時間の短い成分が測定された結果を説明できる。続いて、T<sub>2</sub> 緩和時間の長い成分および短い成分の割合について検討する。乱れた磁場の影響を受けて長い成分を持つ水分子あるいはその構成要素であるプロトンを「プロトン A」、乱れた磁場の影響を受けないプロトンを「プロトン B」とする。2 種類のプロトンをともに含む試料の T<sub>2</sub> 緩和は、次の式で表すことができる。

$$S(t) = A \exp\left(-\frac{t}{T_{2A}}\right) + B \exp\left(-\frac{t}{T_{2B}}\right) \quad (1)$$

ここで S(t) は時間 t における測定信号、T<sub>2A</sub> (= 0.35 s) および T<sub>2B</sub> (= 0.07 s) はそれぞれプロトン A およびプロトン B の T<sub>2</sub> 緩和時間である。A および B はそれぞれ 90° パルス照射直後のプロトン A およびプロトン B の信号強度であり、これらは各プロトンの存在比に比例する。信号減衰の測定結果に式(1)の関数をフィットさせて、A および B の値を計算すると、磁場外で重合させた試料は A : B = 0.71 : 0.29、磁場中で重合させた試料は A : B = 0.89 : 0.11 であった。すなわち、フィブリンを磁場配向させることで、プロトン B の割合は、29 % から 11 % に減少すると推定された。

以上のように、フィブリン線維を取り巻く水分子に含まれるプロトンの T<sub>2</sub> 緩和時間は、線維の持つ配向構造の影響を受けることが明らかになった。また、この結果はフィブリンの持つ磁化率異方性に基づいて説明できることが示された。

**謝辞** 本研究は文部科学省研究費補助金特別推進研究 (No.12002002) の援助によった。

## 文 献

- 1) R. Damadian: *Science* **171**, 1151(1971).
- 2) M. Shporer, M. Hass, and M. Civan: *Biophys. J.* **16**, 601(1976).
- 3) N. Bloembergen, E.M. Purcell, and R.V. Pound: *Phys. Rev.* **73**, 679(1948).
- 4) I.D. Kuntz: *J. Am. Chem. Soc.* **93**, 514(1971).
- 5) C.F. Hazlewood, D.C. Chang, B.L. Nichols, and D.E. Woessner: *Biophysics J.* **14**, 583(1974).
- 6) M.D. Does, and J.C. Gore: *Magn. Reson. Med.* **47**, 274 (2002).
- 7) F.T. Hong, D. Mauzerall, and A. Mauro: *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* **68**, 1283 (1971).
- 8) T. Higashi, A. Yamagishi, T. Takeuchi, N. Kawaguchi, S. Sagawa, S. Onishi, and M. Date: *Blood* **82**, 1328 (1993).

- <sup>9)</sup> J. Torbet, J. M. Freyssinet, and G. Hudry-Clergeon: *Nature* **289**, 91 (1981).
- <sup>10)</sup> Y. Tanaka, S. Nakaya, Y. Yoshioka, Y. Yoshida, H. Hanaoka, R. Kawamura, and N. Yasuda: *Blood Coagul. Fibrinolysis* **2**, 243 (1991).
- <sup>11)</sup> R.A. Clark, A.T. Watanabe, W.G. Jr. Bradley, and J.D. Roberts: *Radiology* **175**, 201 (1990).
- <sup>12)</sup> C.C. Blackmore, C.W. Francis, R.G. Bryant, B. Brenner, and V.J. Marder: *Invest. Radiol.* **25**, 1316 (1990).
- <sup>13)</sup> H.Y. Carr, and E.M. Purcell: *Phys. Rev.* **94**, 630 (1954).
- <sup>14)</sup> S. Meiboom, and D. Gill: *Rev. Sci. Instr.* **29**, 688 (1958).

2003年10月28日受理, 2004年1月15日採録