

ワイヤレスサーフェスコイルを用いた ^{31}P -MRS によるラット肝リン化合物の測定

生内一夫, 来見良誠, 森川茂広*, 犬伏俊郎*

滋賀医科大学外科学第一講座, *滋賀医科大学分子神経研究センター

Evaluation of Liver Phosphorus Metabolites in the Rat by ^{31}P -MRS using Wireless Surface Coil

Kazuo HAEUCHI, Yoshimasa KURUMI
Shigehiro MORIKAWA*, Toshirou INUBUSHI*

The 1st Department of Surgery, Shiga University of Medical Science

*Molecular Neurobiology Research Center, Shiga University of Medical Science.

High energy phosphate metabolism in rat liver was measured with ^{31}P -nuclear magnetic resonance (NMR) spectroscopy using a wireless surface coil technique. This technique enables us to measure phosphate metabolism *in vivo* successively under physiological conditions without either anesthesia or laparotomy. We investigated the phosphate metabolism in under normal and hepatic injured conditions, such as ischemia and drug induced dysfunction.

The ischemic model indicated a quite different phosphate metabolism in that β -ATP decreased in comparison with that under normal conditions. Furthermore the drug induced model showed a dramatic change of phosphate metabolism, where an increase of PDE was followed by a decrease of β -ATP.

These results suggest that NMR spectroscopy measured for phosphate metabolism *in vivo* can be considered to be an useful tool for qualifying liver dysfunction including transplanted hepatic failure.

Key words: Wireless Surface Coil, ^{31}P -NMR spectroscopy, Ischemic liver dysfunction, Carbon tetrachloride, Orthotopic liver transplantation

抄 録

ワイヤレスサーフェスコイルを用いた ^{31}P -

magnetic resonance spectroscopy (MRS) 測定によるラット肝リン化合物の測定を行った。この方法は麻酔や開腹の必要がなく生理的条件下での経時的測定が可能である特徴を有している。今回ラット

平成3年12月2日受理

滋賀医科大学 〒520-21 滋賀県大津市瀬田月輪町

Shiga University of Medical Science, Otsu, Shiga, 520-21, JAPAN

用の小型ワイヤレスサーフェスコイルを作成して種々の実験モデルに使用し、肝機能障害の質的診断への有用性を検討した。その結果、生理的条件下における *in vivo* でのリン化合物の測定が可能であり、さらに虚血性肝障害モデルでは β -ATP の低下、薬物性肝障害モデルでは PDE の上昇とそれに続く β -ATP の低下が観察された。このことからワイヤレスサーフェスコイルを用いた ^{31}P -MRS の測定は種々の肝機能障害をはじめ、肝移植後における肝機能障害の質的診断への有用性が示唆された。

はじめに

近年、超電導 MRI の進歩に伴い *in vivo* ^{31}P -MRS によるエネルギー代謝の測定が行われるようになり、生体での代謝機能が侵襲なく測定できるようになってきた。しかし、ラットを用いて肝臓の ^{31}P -MRS 測定する場合、肝臓の容積が小さいので、感度を上げるために通常肝臓にサーフェスコイルを装着して測定している。従来の方法では連日スペクトルを測定する際には、その都度開腹してコイルを装着するか、あるいはケーブルを体外に誘導しておく方法¹⁾があるが、連日測定することは極めて困難であった。最近、サーフェスコイルをワイヤレスとしても使用可能であることが報告²⁾され注目されている。今回、われわれはラット肝 ^{31}P -MRS 用の埋め込み型ワイヤレスサーフェスコイルを独

自に作成し、種々の病態について長期間にわたるリン化合物の測定を試み、各種肝障害モデルにおける PME, Pi, PDE, β -ATP の変動について検討した。

対象及び方法

1. 対 象

実験動物は、正常群には体重250 g-300 gの雄性 Wister 系ラット、実験群のうち肝障害モデル群には体重250 g-300 gの雄性 Wister 系ラット、さらに移植モデルには体重300 gの近交系雄性 LEW ラットを用いた。

2. ワイヤレスサーフェスコイル

従来のサーフェスコイルとワイヤレスサーフェスコイルの回路図を図1に示した。ワイヤレスサーフェスコイルは銅線およびキャパシターを用い3重巻き共鳴周波数 34.6346MHz の単同調のコイルを作成し、中央部に Hexamethylphosphoric triamide (HMPT) をキャピラリーに封入したものを標準試薬として留置し、さらにシリコンに包埋したものである (図2)。レシーバー側のコイルには銅線を用いて径5 cmの1重コイルを作製し、ラット固定用アクリル筒の外側に設置した。ワイヤレスサーフェスコイルを図3のごとくラットの肝中間葉と左外側葉の間に挿入後閉腹し、図4に示す独自の固定法を

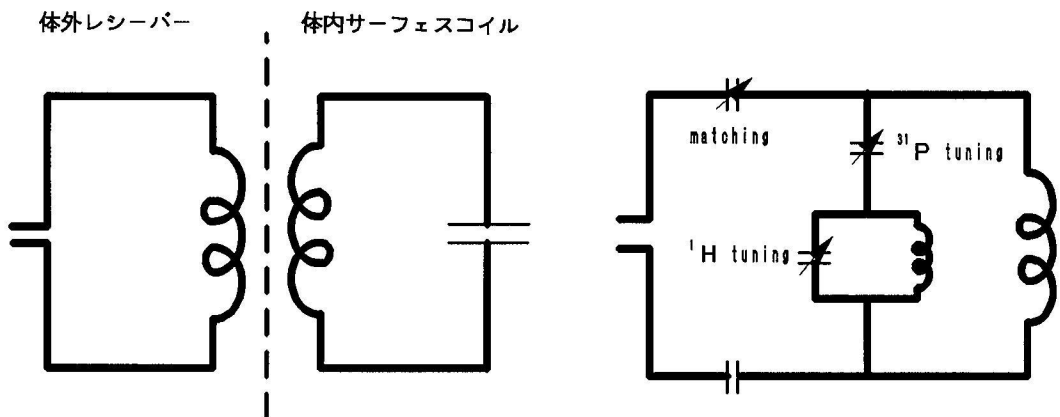


図1 今回比較した2種類のサーフェスコイル回路図
 左：今回作製したワイヤレスサーフェスコイル回路図
 右：2重同調有線サーフェスコイルの回路図

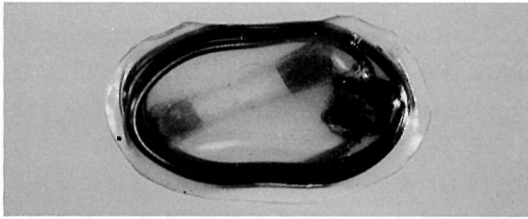


図2 著者らの作成したコイル
3重巻き共鳴周波数34.6346MHzの単同調のコイルで中央部には Hexamethylphosphoric Triamide (HMPT) を標準試薬として設置してありシリコンに包埋している。

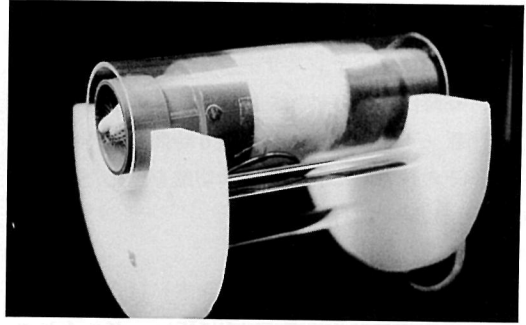


図4 ³¹P-MRS 測定時のラット固定法
アクリル筒内にラットを設置。周囲を暗くしておくと強く固定することなく測定が可能である。



図3 ワイヤレスサーフェスコイルのラット肝への装着
肝の中間葉と左外側葉の間に挿入し固定する。写真は同所性肝移植後のラットへ装着しているところを示す。

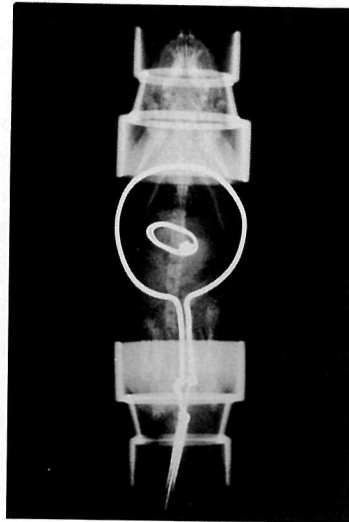


図5 ³¹P-MRS 測定時のラットのX線写真
レーザーコーイルはサーフェスコイルが中心となるように設置する。実際の測定にはオシロスコープを使用して位置を決定する。

用い無麻酔下に ³¹P-MRS を測定した。測定時のラットにおけるサーフェスコイルとレーザーコーイルの位置関係をX線写真に示した(図5)。

3. ワイヤレスサーフェスコイルの検定

ワイヤレスサーフェスコイルの検定のために、従来の有線サーフェスコイルとの比較を行った。Wister 系ラットを用い、Pentobarbital 40mg/kgを腹腔内投与し、肝中間葉と左外側葉の間に有線サーフェスコイルを挿入した状態で ³¹P-MRS を測定した。測定終了後、同一のラットにワイヤレスサーフェスコイルを装着し、開腹後同一条件下で測定を

行ない、各スペクトルを比較検討した。

4. 実験群

1) 正常群 (n = 5) は、ジエチルエーテル麻酔下に開腹し、ワイヤレスサーフェスコイルを植え込み、6時間後に第一回目の測定を行い、以後1日1回7日間にわたり ³¹P-MRS を測定し、スペクトルの経時の変化を観察した。

2) 虚血肝障害モデル群 (n = 5) は、中村ら³⁾の方法に従い、ジエチルエーテル吸入麻酔下にボタ

ン法⁴⁾で門脈を下大静脈に端側吻合後、肝中間葉と左外側葉間にワイヤレスサーフェスコイルを植え込み、48時間後に肝動脈を結紮切離し作成した。測定は門脈一下大静脈短絡作成後6時間、24時間、48時間、その後さらに肝動脈結紮切離を加えた後15分、6時間、12時間に行った。

3) 薬物肝障害モデル群 (n = 5) は、石橋らの四塩化炭素急性肝不全モデル⁵⁾に従い、ジエチルエーテル吸入麻酔下にワイヤレスサーフェスコイルを装着後、四塩化炭素を腹腔内に1.5ml/kg投与し作成した。四塩化炭素投与後15分、3時間、6時間、12時間、18時間に³¹P-MRSを測定した。

4) 同所性肝移植モデルでは、ドナー、およびレシピエントともに300gの近交系雄性LEWラット(Rt1-l)を用いた。ジエチルエーテル吸入麻酔下に肝臓を摘出し、摘出肝を4℃のラクテートリンゲル液で1時間冷保存後、全肝を摘出したレシピエントに同所性肝移植を行った。移植モデルは鎌田ら⁶⁾の方法に従い肝上部下大静脈を7-0ポリプロピレン糸で連続縫合、ついで門脈および肝下部下大静脈をカフ法で、また胆管をダブルカフ法で吻合し作成した。移植後肝中間葉と左外側葉の間にワイヤレスサーフェスコイルを植え込み閉腹した。測定は移植後、6時間、1日、2日、4日、6日、8日に行った。

5. ³¹P-MRS の測定

1) 測定法

³¹P-MRS の測定には GE NMR INSTRUMENTS 社製の 2T CSI OMEGA を使用し、位置合わせと shimming を行った後、共鳴周波数 34.6346MHz、パルス幅 15 μ sec、繰り返し時間 228 msec、積算回数 1024 で行った。各実験において 4 回の測定を行い、その平均値を測定値とした。

2) 解析法

生体で測定したスペクトルは複数の信号が重なりあっているため、スペクトル解析は個々の信号に分割して定量化を行う必要がある。フィッティングは Simplex 法を用い、1 信号につき強度、線幅、化学シフトを変数とし、コンピュータを用い自動解析し

た。Phospho-monoester (PME), Inorganic phosphate (Pi), Phosphodiester (PDE), β -ATP の各成分の量は、標準物質の HMPT と base line を除いた全スペクトルの合計面積に対する面積比で表した。なお、今回の測定条件に対する各成分の saturation 補正值は、繰り返し時間 10 秒、積算回数 320 回で便宜的に求め、PME 1.039, Pi 1.485, PDE 1.254, β -ATP 0.696 であった。

結 果

1. ワイヤレスサーフェスコイルと有線サーフェスコイルによる測定の比較

有線サーフェスコイル、およびワイヤレスサーフェスコイルによる測定の比較では、図 6 に示すごとくほぼ同様の PME, Pi, PDE, α -ATP, β -ATP, γ -ATP のピークが得られた。しかし、ワイヤレスサーフェスコイルによる測定では、腹壁成分である Creatinephosphate がピーク 4 としてわずかに観察された。各成分の面積を解析した結果、ワイヤレスサーフェスコイルでは、PME 11.3 \pm 1.2%, Pi 4.9 \pm 0.9%, PDE 21.9 \pm 2.3%, β -ATP 15.7 \pm 1.5%, および β -ATP/Pi は 3.32 \pm 0.7 であった。一方、有線サーフェスコイルでは PME 10.1 \pm 1.4%, Pi 5.3 \pm 1.2%, PDE 25.9 \pm 1.6%, β -ATP 15.7 \pm 1.5%, および β -ATP/Pi は 3.2 \pm 1.0 であり、両測定法における各成分の測定値には有意差を認めなかった (図 7)。

2. 各実験群におけるスペクトルの経時的変化

1) 正常群におけるスペクトルの経時的変化

ワイヤレスサーフェスコイル装着を行った正常群のラットにおける ³¹P-MRS の 7 日間連日測定では、スペクトルの波形には殆ど変化がなく、また面積解析においても PME, Pi, PDE, β -ATP の各成分と β -ATP/Pi には経時的な変動がなく、腹腔内長期留置によるコイルのラット肝 ³¹P-MRS への影響は認められなかった (図 8, 図 9, 図 10)。

2) 虚血肝障害モデルにおけるスペクトルの経時的変化

門脈一下大静脈短絡作成後の ³¹P-MRS の測定では、肝へ流入する門脈血が無く肝動脈のみの灌流であるにもかかわらず、6 時間後、1 日後、2 日後で

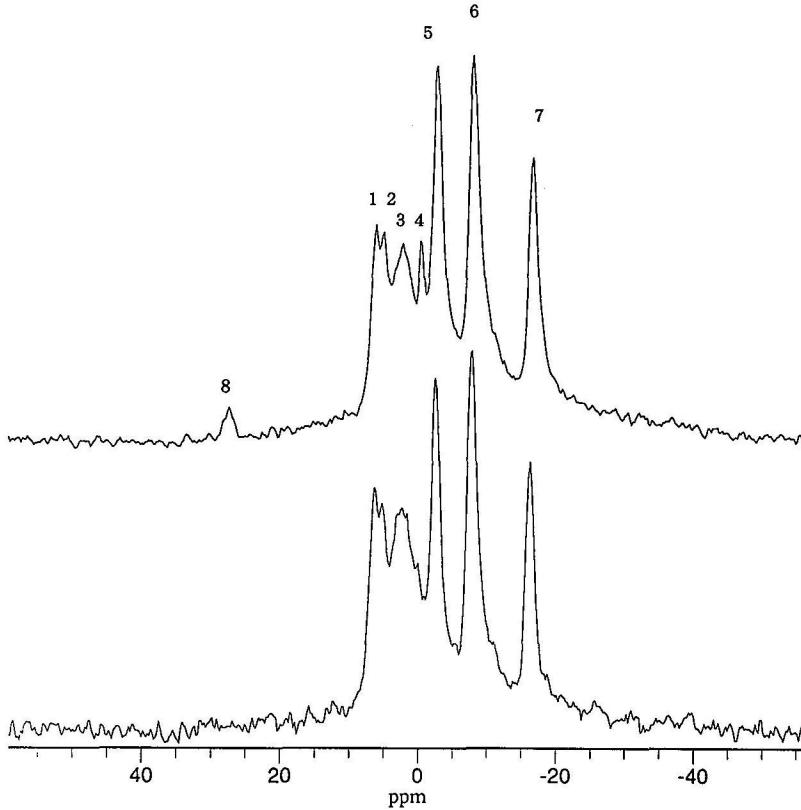


図6 ワイヤレスサーフェスコイルの検定(1)

上段 ワイヤレスサーフェスコイルを用いて得られたスペクトル

下段 有線サーフェスコイルを用いて得られたスペクトル

各ピークは

- | | |
|------------------------------|-------------------------------|
| 1 : Phosphomonoesters (PME) | 6 : α -ATP |
| 2 : inorganic phosphate (Pi) | 7 : β -ATP |
| 3 : Phosphodiester (PDE) | 8 : Hexamethylphosphoric Tri- |
| 4 : Creatinephosphate | amide (HMPT) 標準試薬 |
| 5 : γ -ATP | を表している。 |

β -ATP は各々 $12.9 \pm 0.6\%$, $12.9 \pm 1.4\%$, $13.2 \pm 1.0\%$ の値を示し、正常群の $12.8 \pm 0.8\%$ との差は認められなかった。門脈一下大静脈短絡を作成したラットにおいて短絡作成48時間後に肝動脈を結紮すると、14時間から24時間後にすべてのラットは死亡した。肝動脈結紮15分後には、 β -ATP は $3.8 \pm 1.3\%$ と著明な低下を示し、6時間後、12時間後には各成分の変動はみられず低値のままであった(図11, 図12)。また、 β -ATP/Pi は、肝動脈結紮15分後に 0.19 ± 0.05 と著明に低下し、以後有意な回復はみられなかった(図13)。しかし、剖検時の肝の組織学

的所見では、類洞の著明な拡大はあるものの、細胞障害は中心静脈周囲の細胞に核の消失がみられる軽度な変化であった(図14)。

3) 薬物性肝障害モデルにおけるスペクトルの経時的変化

四塩化炭素による薬剤性肝障害モデルでのスペクトルの変化を図15に示した。PME, Piは、経時的な変化はみられなかったが、PDE は3時間後には $25.0 \pm 1.4\%$ から $29.8 \pm 1.9\%$ へと有意に上昇し、それに引きつづき6時間後より β -ATP の低下が認められた(図16)。また、 β -ATP/Pi は全ての時間に

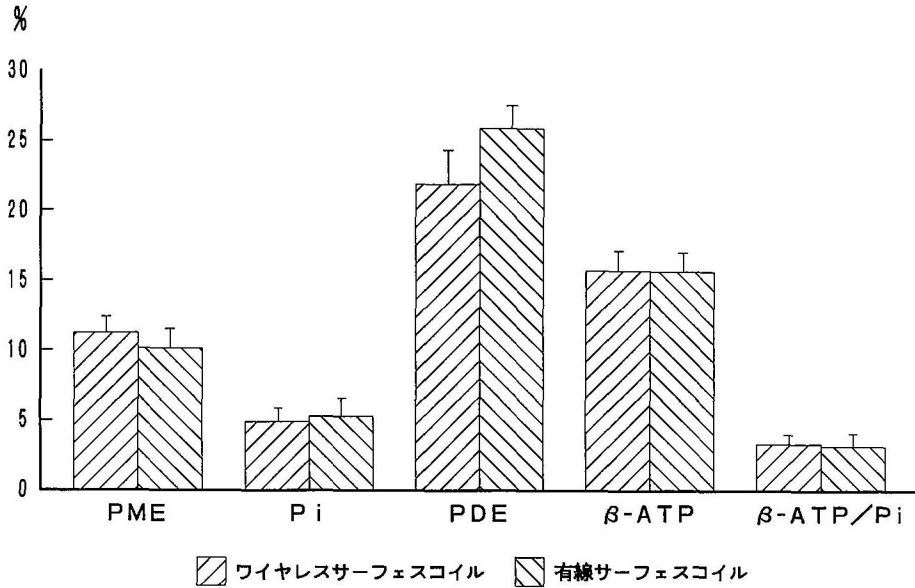


図7 ワイヤレスサーフェスコイルの検定(2)
各成分の面積比および β -ATP/Pi を表す。ワイヤレスサーフェスコイルと有線のサーフェスコイルにおける各成分の測定値に有意差は認められない。

において変動はみられなかった(図17)。剖検時の組織学的所見では、中心静脈を中心に多くの肝細胞に核の消失等の変性壊死が認められ、またほとんどの細胞に脂肪変性を認めた(図18)。

4) 同所性肝移植モデルにおけるスペクトルの経時的変化

ラット同所性肝移植モデルでは、主要組織適合抗原が一致しており、移植肝は永久生着する⁷⁾とされている。肝移植モデルでのスペクトルの変化を図19に示した。移植後6時間では β -ATP は6.9%、 β -ATP/Pi は0.48と低値を示していたが、移植後24時間にはそれぞれ12.7%、1.2と回復し、2日目以降には各成分に大きな変化はなく、移植肝の機能の良好なことが示された(図20, 図21)。組織学的所見では、細胞浸潤はなく大きな変化を認めなかったが、肝細胞の膨化と微小膿瘍が認められた(図22)。

考 察

従来、肝内におけるエネルギー代謝の中心的役割を果たす高エネルギーリン化合物は絶対量が少なく、しかも短時間で代謝する物質であるため、凍結した

肝組織より測定する方法が用いられてきた。この方法は、組織を急速に凍結する必要があり、臨床的に行うには種々の問題点があった。近年、MRS が生体代謝の研究に有用で、しかも臨床においても³¹P-MRS による高エネルギーリン化合物の検出が可能なが報告されてきた^{8,9,10)}。

今回、われわれは、ワイヤレスサーフェスコイルを作成し、*in vivo* で経時的に測定することを試みた。従来の有線サーフェスコイルによる方法では、測定のために開腹手術を必要とするが、ワイヤレスサーフェスコイルによる方法では、非侵襲的に *in vivo* でのリン化合物が直接測定出来る利点を有している。

有線サーフェスコイルを用いて³¹P-MRS を測定した同一ラットに対して、著者らが作成したワイヤレスサーフェスコイルを装着し³¹P-MRS の測定を行ない比較検討した。両方法により、PME, PDE, Pi, β -ATP のいずれの成分においてもほぼ同様のピークが検出され有意差なく測定可能であり、従来の有線コイルではなしえなかった無麻酔状態の繰り返し測定が可能となった。

次に、各種の肝障害モデルを作成して検討した。門脈一下大静脈短絡を作成した肝では PME, PDE,

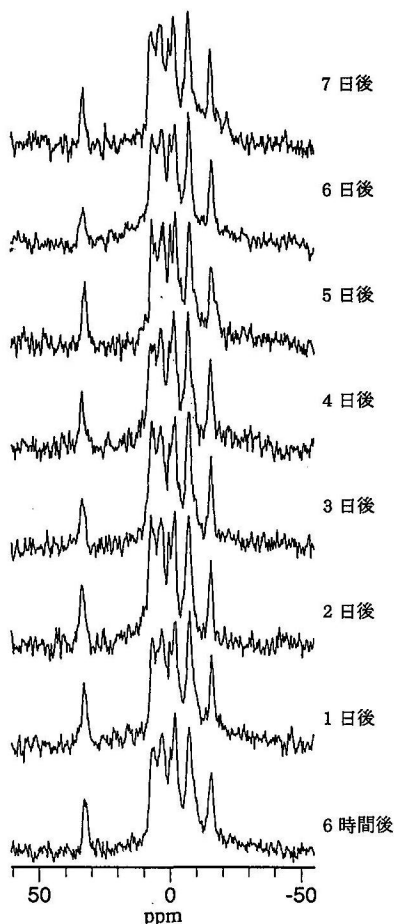


図8 スペクトルの経時的変化の例 (正常群)
日数が経過してもスペクトルに変化は少なく
ほぼ同様の波形を示している。

Pi, β -ATP の各成分への影響は軽度であった。門脈一下大静脈短絡では、肝への流入血は肝動脈のみとなるが、 β -ATP が減少するほどの肝虚血には至っていないことを示している。しかし、肝動脈結紮の追加により各成分に大きな変動、特に β -ATP の低下および Pi の上昇がみられた。 β -ATP は諸家の報告のごとく^{11,12)}、15分までは低下し、以後一定となった。 β -ATP は特に肝の灌流状態との関係が報告されており^{13,14)}、一定量の血流以下になると直ちに β -ATP が低下すると考えられた。一方、門脈一下静脈短絡を行ったラットに肝動脈結紮を行うと PME の上昇がみられた。PME の成分について、Cohen ら¹⁵⁾はラット灌流肝を用いることにより sugar phosphate, AMP, phosphocholine (PC), 3-P-glycerate から構成されていると報告しており、また生化学的な面からは肝の虚血時には嫌気性解糖が亢進することが知られているため、肝動脈結紮後の PME 上昇は虚血によって亢進した嫌気性解糖による sugarphosphates と考えられる。また、伴ら¹⁶⁾の報告による虚血ウサギ肝の検討においても、PEM は肝虚血後直ちに上昇し血流再開とともに虚血前値に復している。

PDE については、Cohen は glycerol-3-phosphorylcholine (GPC), glycerol-3-phosphorylethanolamine (GPE), phosphoenolpyruvate (PEP) で構成されていると報告している¹⁵⁾。このうち PEP は、虚血時には低下するとされており¹⁷⁾、また GPC, GPE は膜の分解により産生されるといわれている¹⁸⁾。著者らの検討では、組織学的所見で核の消失および細胞膜の崩壊などは軽度であるにもかかわらず

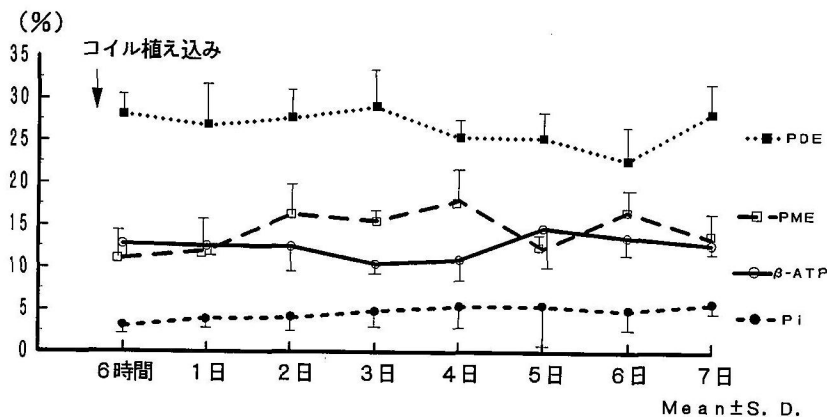


図9 各成分の経時的変化 (正常群)

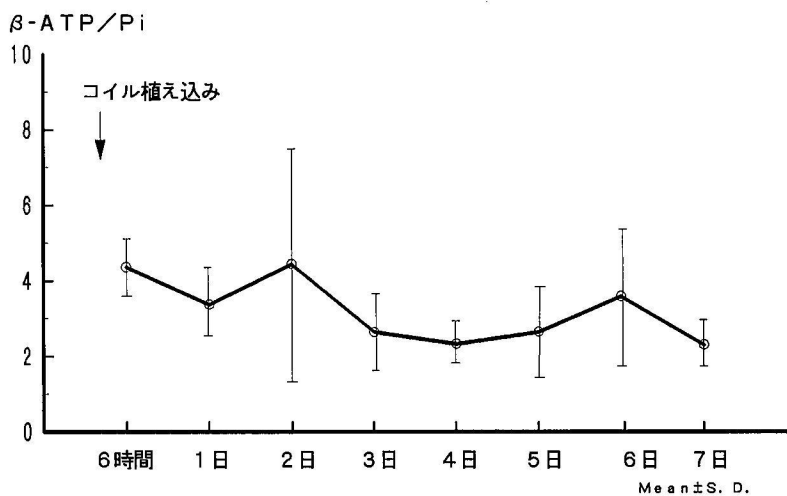


図10 β -ATP/Pi の経時的変化 (正常群)

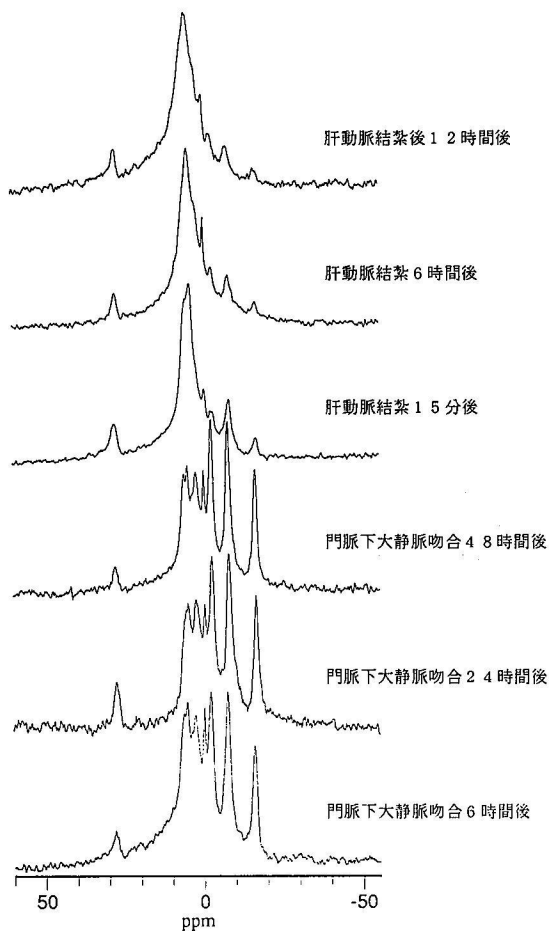


図11 スペクトルの経時的変化の例 (虚血肝障害モデル群)

門脈一下大静脈短絡後も良好な β -ATP レベルが保たれている。しかし肝動脈結紮後は直ちに低下した。

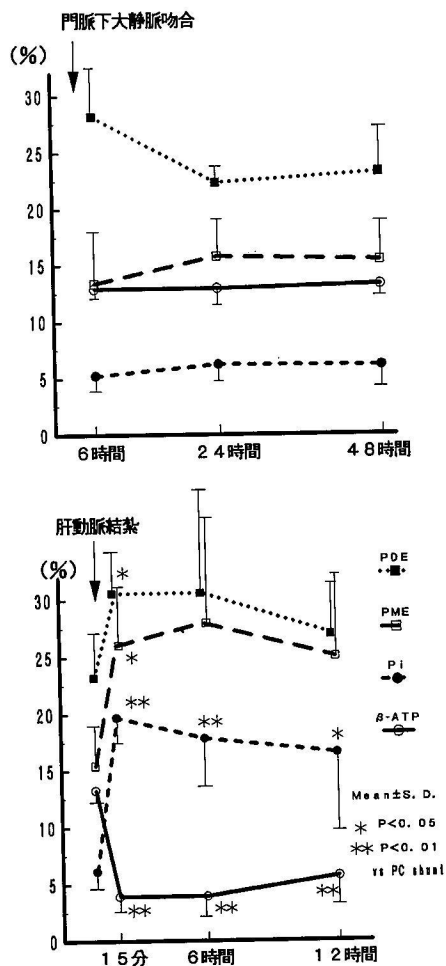


図12 各成分の経時的変化 (虚血肝障害モデル群)
上図は門脈一下大静脈吻合後6時間から48時間の変化。

下図は再開腹し、肝動脈結紮後の変化を表す。

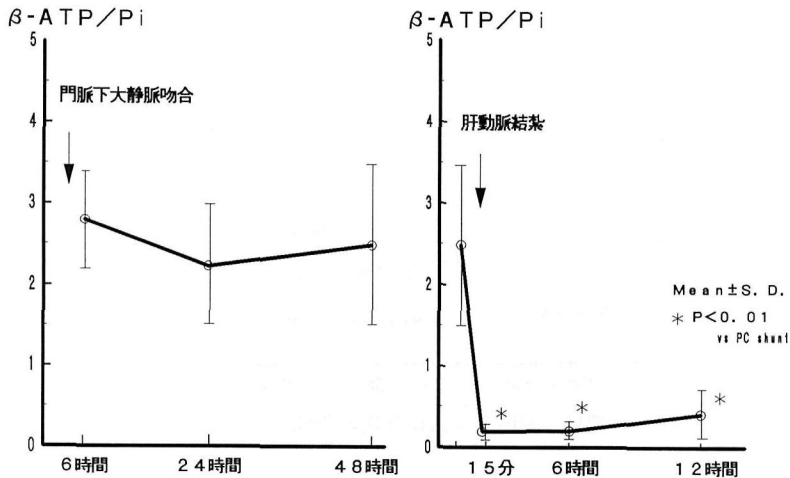


図13 β -ATP/Pi の経時的変化 (虚血肝障害モデル群)

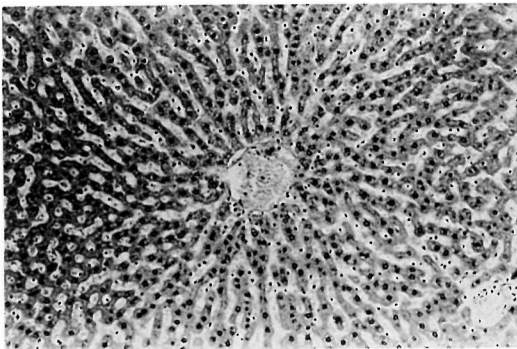


図14 虚血肝障害モデル群の組織像
類洞の著明な拡大はあるものの細胞障害は軽度であった。

ず、PDE が上昇していることは、小胞体、ミトコンドリアなど細胞内の膜成分の分解のために GPC、GPE が上昇したものと考えられた。

次いで、薬剤性肝障害モデルの検討では、四塩化炭素投与直後は、正常群とほぼ同様のスペクトルが観察された。PDE は、投与後3時間において有意に上昇し、それに引き続き β -ATP の低下がみられ、24時間以内にすべてのラットは死亡した。四塩化炭素による肝障害の機序としてフリーラジカルを介した過酸化脂質の増加することが証明されており¹⁹⁾、電子顕微鏡による観察では、小胞体腔の拡大、小胞化がおり、次いでミトコンドリアの膨化、さらには脂肪沈着が起こるとされている²⁰⁾。著者らの検討

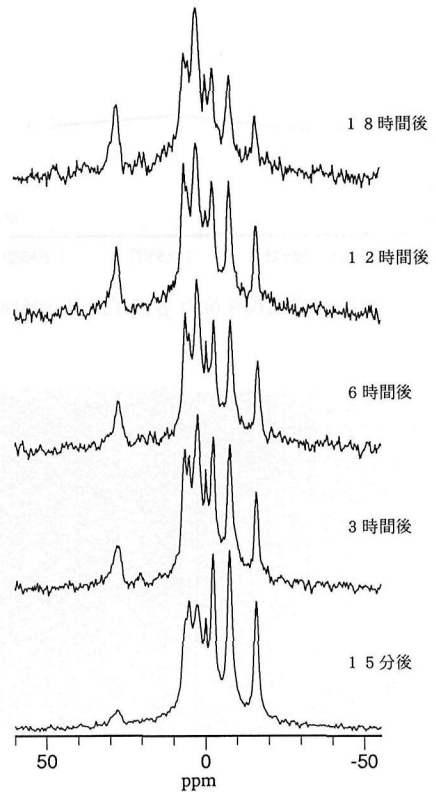


図15 スペクトルの経時的変化の例 (薬剤性肝障害モデル群)

投与6時間後より PDE の増加が観察され、引き続き β -ATP が低下している。またサーフェスコイル内の標準物質 (HMPT) が次第に上昇してきており相対的な肝のスペクトルの減少が考えられる。

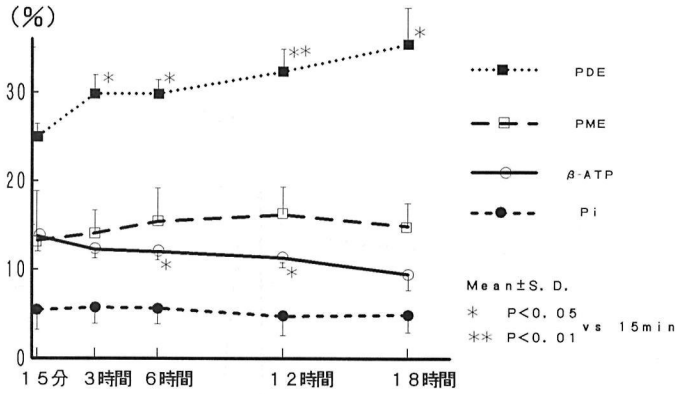


図16 四塩化炭素投与後の各成分の経時的変化

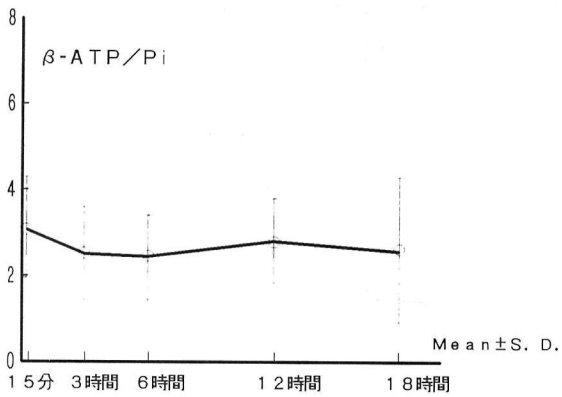


図17 四塩化炭素投与後の β -ATP/Pi の経時的変化

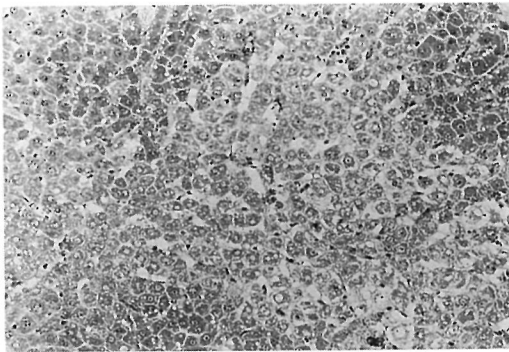


図18 四塩化炭素投与後の組織像
大部分の肝細胞に脂肪変性が見られ、中心静脈周囲の肝細胞に変性壊死が認められた。

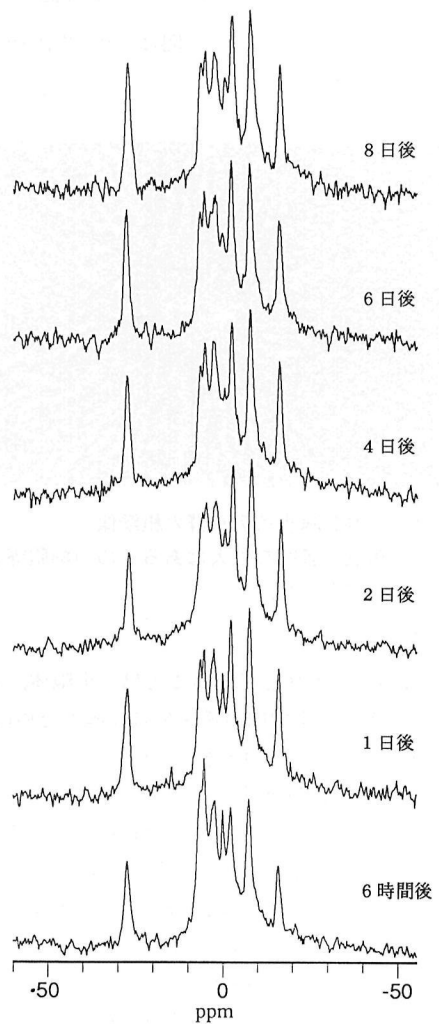


図19 肝移植後におけるスペクトルの経時的変化
同所性肝移植後6時間ではPiは高く β -ATPは低値であるが、術後24時間後にはほぼ正常波形となった。

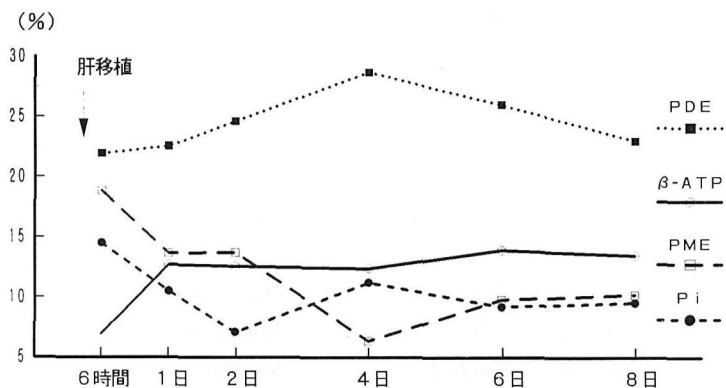


図20 肝移植後の各成分の経時的変化

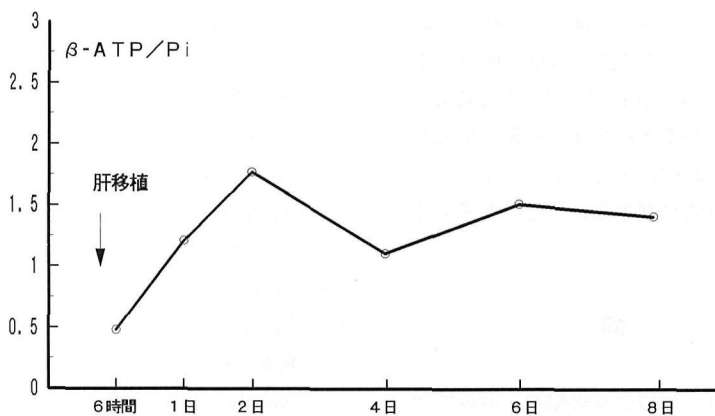


図21 肝移植後の β -ATP/Pi の経時的変化

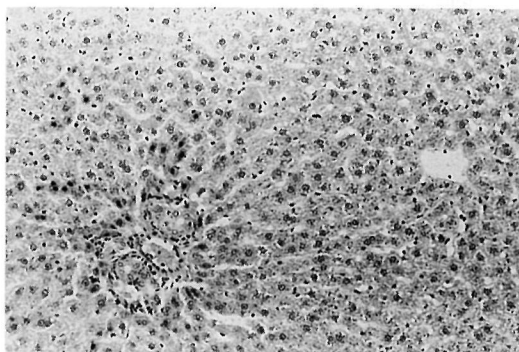


図22 肝移植ラットの組織像
細胞浸潤は認められず障害は軽度であるが、肝細胞の軽度の膨化と微小膿瘍が認められた。

においても膜の分解産物である GPC, GPE の上昇による PDE の増加に引き続きエネルギーの低下が起これと考えられた。このことは Sandhu らの報告²¹⁾による細胞壊死や脂肪変性など組織学的な障害スコアの上昇と β -ATP レベルの低下がみられるという結果と一致している。さらに、中島ら²²⁾は β -ATP の低下の一因として肝細胞壊死や脂肪蓄積にともなう肝腫大によるスペクトルの低下を挙げている。著者らは各成分の量の解析を、測定されたスペクトル全体の総面積に対する比で行っているが、コイル内に設置した HMPT が相対的に上昇しており、さらに、SN 比も低下していることから、肝臓より得られた総スペクトル量の低下が考えられた。コイル内の標準物質との比較を行っている報告²³⁾もあり、スペクトルの数量化の方法については今後の検討が必要であろう。

肝移植モデルでは、移植後6時間には低値であった β -ATPが、24時間では正常レベルに回復し、以後変動はみられなかった。肝移植の成否は肝の保存状態が重要な因子の一つであり、塚本ら²⁵⁾は *in vitro* で灌流肝を用いた保存肝評価を β -ATPで行っており、移植臓器のグラフト評価への応用も可能と考えられる。

今回われわれが作成したワイヤレスサーフェスコイルを用い、独自の固定法を行うことにより、生理的条件下で繰り返し測定が可能となった。肝疾患モデルに於いて、灌流障害あるいは肝細胞障害などその障害の種類により、 β -ATPの低下、PDE、PMEの上昇などの異なった変化がみられており、³¹P-MRSは質的診断において適した評価法であることが判明した。今後、³¹P-MRSは肝移植後の血流障害、primary non-functionあるいは拒絶反応等の早期診断に有用な指標となりうる可能性があり、臨床応用に向けて実験的検討を行う上でワイヤレスサーフェスコイルはさらに利用されるものとする。

謝 辞

稿を終えるにあたり、懇切なる御指導、御校閲を戴いた滋賀医科大学外科学第一講座、小玉正智教授に深謝致します。

文 献

1. P. Koretsky, S. Wang, J. Murphy-Boesch, M.P. Klein, T.L. James, M.W. Weiner (1983) ³¹P NMR spectroscopy of rat organs, in situ, using chronically implanted radiofrequency coils. *Biochemistry Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 80, 7491-7495.
2. M.D. Schnall, C. Barlow, V. Hariharan Subramanian, J.S. Leigh, JR. (1986) Wireless implanted magnetic resonance probes for *in vivo* NMR. *J. Magn. Reson.* 68, 161-167.
3. 中村俊之, 武藤泰敏 (1986) 肝不全ラット, *JJPEN 輸液栄養ジャーナル* 7, 693-696.
4. J.M. Funovics, M.G. Cummings, L. Shuman, J.H. James, J.E. Fischer, (1975) An improved nonsuture method for portacaval anastomosis in the rat. *Surgery* 77, 661-664.
5. 石橋治昭 (1983) 単離肝細胞脾内移植における肝補助機能の実験的研究, *京府医大誌* 92, 903-908.
6. Naoshi Kamada, Roy Calne (1979) Orthotopic liver transplantation in the rat. *Transplantation* 28, 47-50.
7. Naoshi Kamada (1988) *Experimental liver transplantation* 55-66. CRC Pres, Florida.
8. Peter F. Daly, Jack S. Cohen (1989) Magnetic resonance spectroscopy of tumors and potential *in vivo* clinical applications: A review. *Cancer Res.* 49, 770-779.
9. R. Oberhaensli, B. Rajagopalan, G.J. Galloway, D.J. Taylor, G.K. Radda (1990) Study of human liver disease with P-31 magnetic resonance spectroscopy. *Gut* 31, 463-467.
10. Rolf D. Oberhaensli, Graham J. Galloway, Doris J. Taylor, Peter J. Bore, George K. Radda, (1986) Assessment of human liver metabolism by phosphorus-31 magnetic resonance spectroscopy. *Br. J. Radiol.* 59, 695-699.
11. Helmut C. Schmidt, Charles A. Gooding, Thomas L. James (1986) *In vivo* ³¹P-MR spectroscopy of the liver in the infant rabbit to study the effect of hypoxia on the phosphorus metabolites and intracellular pH. *Invest. Radiol.* 21, 156-161.
12. Robert G.L. Lee, Amos Lanir, Melvin E. Clouse, (1987) Liver adenine nucleotide metabolism during ischemia and reperfusion of mice livers studied by phosphorous 31 nuclear magnetic resonance. *Invest. Radiol.* 22, 479-483.
13. 大草昭彦, 吉岡寛康, 小野幸彦, 岡藤竜正, 川上 朗, 石田 修, 鈴木庸之, 高橋昌哉, Bernhard Fritz-Zieroth (1991) ラット肝のリピオドール肝動注後の³¹P-MRSならびに組織学的変化, *肝臓* 32, 852-856.

14. 棟方 隆, 田中邦雄, 水戸廸郎 (1990) ³¹P 核磁気共鳴法による急性肝障害における肝内エネルギー代謝動態の解析, 日外会誌91, 77-85.
15. Sheila M. Cohen (1983) Simultaneous ¹³C and ³¹P NMR studies of perfused rat liver. J. Biol. Chem. 258, 14294-14308.
16. 判 信之, 森安史典, 玉田 尚, 川崎俊彦, 宋泰成, 中村武史, 西田 修, 内野治人 (1988) 虚血ウサギ肝の P-31MR スペクトロスコピーによる研究, 日消誌85, 35-41.
17. D.A. Hems, J.T. Brosnan (1970) Effects of ischaemia on control of metabolites in rat liver and kidney *in vivo*. Biochem. J. 120, 105-111.
18. 石本 真, 水上茂樹, 水島昭二, 大島泰郎, 和田 博, 編 (1971) “メタボリックマップ” 蛋白質, 核酸, 酵素別冊, 共立出版.
19. 橋本修治, 坪内博仁, 上別府篤行, 藤崎邦夫 (1989) 四塩化炭素肝障害, 肝胆臓19, 251-257.
20. 長瀬すみ, 田中寿子 (1976) 実験動物の臨床生化学データ-病理組織像との関連-220-235. ソフトサイエンス社.
21. G.S. Sandhu, N.C. Gonnella, J.C. Kapeghian, A.F. Plocinski, J. Plutchok, M.J. Schlosser (1991) Evaluation of ³¹P NMR spectroscopy as an indicator of chemically induced hepatic toxicity in the rat: Comparison with serum enzyme levels and pathology. NMR in Biomedicine 4, 12-15.
22. 中島年和, 中嶋俊彰, 瀬戸良文, 島 俊英, 坂本善邦, 奥野忠雄, 瀧野辰郎, 吉崎和男, 西川弘恭, 成瀬昭二, 平川公義 (1988) ¹H および ³¹P-NMR 法を用いた四塩化炭素投与ラット *in vivo* 肝における脂肪蓄積とエネルギー代謝の検討, 肝臓29, 121-122.
23. L. Rosssaro, V. Mazzaferro, C.L. Scotti-Fogleini, D.S. Williams, E. Simplaceanu, V. Simplaceanu, A. Francavilla, T.E. Starzl, C. Ho, D.H. Van Thiel (1991) Effect of cyclosporine on hepatic energy status and on fructose metabolism after portacaval shunt in dog as monitored by phosphorus-31 nuclear magnetic resonance spectroscopy *in vivo*. Hepatology 13, 780-785.
24. 塚本賢治, 村上政隆, 瀬尾芳輝, 亘 弘, 鴻巣寛, 弘中 武, 岡 隆宏 (1981) ラット低温保存肝の生理機能, 移植22, 194-199.