

生体電子スピンの観測(1)

UTSUMI Hideo
内海 英雄

<静岡県立大学薬学部 422-8526 静岡市駿河区谷田 52-1

e-mail:utsumih@u-shizuoka.ac.jp>

1. プロローグ

連載にしては奇妙なタイトルだが、78 歳になって「生体電子スピンの観測」と思うようになった。切っ掛けは日本薬学会外郭団体の薬学奨励財団から執筆依頼があった特別寄稿「スピンのダンス」¹⁾(一部を下記)に遡る。

「電子スピンと核スピンのダンスは実に面白い。電子の質量は最も小さな水素核の 1/1840 しかないが、磁石の強さ(磁気モーメント、磁気回転比)は電子スピンの方が 660 倍も強い。外部磁場があると歳差運動し、ボルツマン分布に従い分極するが、電子スピンは波動の性質を持ち分子内に広がり非局在化する。

スピンドダンスの様は、大草原(磁界)で 30g のマウス(電子スピン)が 55 kg の人間(水素核)に対して 660 倍のエネルギーでブルブルと振動し共鳴する。その様は滑稽だが、奇妙で神秘的だ。

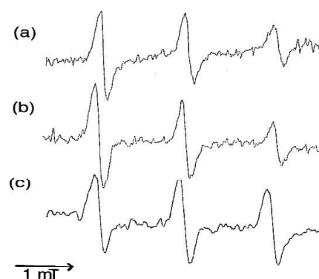
量子科学的に見ると、刺激(電磁波)を受けた雄マウスと若い女性が視線を送り合い(双極子相互作用)、時には触れ合う(フェルミ接触相互作用)ことで、安らぎ(安定状態)を得る。安らぎに入る速さ(遷移確率、緩和時間の逆数)はマウスと人間のエネルギーとブルブル振動の程度(スペクトル密度)で決まる。まるで恋愛小説のようだ。」

田舎育ちの私は高校 3 年生の夏休みに入ってから大学進学を考え「親切的な物理」(1959 年初版)を読み、物理に興味を持った。東大薬学部の卒業研究で「薬品製造工学」の名前に惹かれて入ると、日本電子製 ESR 装置 P-10 の前に連れていかれて、以来 55 年間、凝りもせず電子スピンを触り、生体電子スピンの観測が視たくなった。

なお、本連載がオープンアクセス記事となる可能性が高く図表の著作権に留意するよう指示があったので、図表はスライド原稿のみを用いた。

2. 生体電子スピン

生体計測 ESR では安定なニトロキシラジカルをスピンプローブとすることが多い。Hydroxy-TEMPO (a,b)をマウス尾静脈、ないし amino-TEMPO (c)溶液を大腿部に投与し頭部(a)、腹部(b)、大腿部(c)で ESR 測定すると、ニトロキシラジカル特有の 3 本線が観測される(図 1)²⁾。Hydroxy-TEMPO の信号は測定中に強度が徐々に低下した。しかし、この観測は生体由来の電子スピンではない。

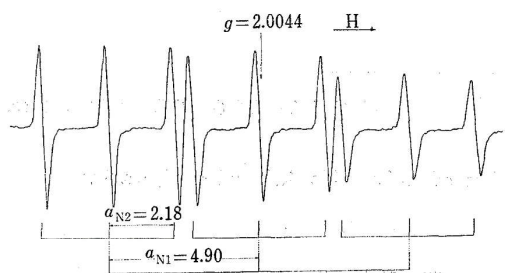


(図1) 生体計測 ESR でのスペクトル

1946 年に Zavoisky によって ESR が発見され、1953 年に ESR に関する成書が出版³⁾された。当時、生体内酸化還元反応で不対電子を有する物質が出来、その量が生命現象や生体状態に依存すると推論されていたが実証されていなかった。植物学者と物理学者の Commoner, Townsend, Pake⁴⁾は前年出版の成書³⁾を参考に ESR 装置を自作し植物の葉やウサギの臓器、カエルの未受精卵の凍結乾燥試料を ESR 測定し各試料中のラジカル量が $10^{-8} \sim 10^{-6}$ mol/g であると報告した。更に、ラジカル量が葉の生育状態で変わることや、酸化還元反応を行う臓器で不対電子が多いことも示した。また、アスコルビン酸ラジカルに関しても山崎ら⁵⁾は日本のハクレイカブのペルオキシダーゼと連続混合法で 2 本のピークからなる ESR スペクトルを観測した。この他にも多くの生体電子スピンの古い成書^{6,7)}に詳しく

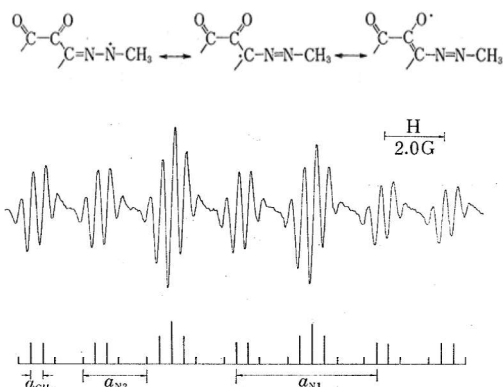
紹介されている。

さて、卒研での指導者は博士課程 2 年の大学院生だった。彼は Piette の論文を参考に酸化チタン(IV)と過酸化水素を用いてアスコルビン酸ラジカルを研究しており、アスコルビン酸をキーワードに愚生のテーマを探し、Burlamacchir らの論文⁸⁾を見つけた。彼らの方法に従いアスコルビン酸とヒドラジンのアルカリ性水溶液を十数時間放置すると 2 個の窒素核に由来する彼らと同じ ESR スペクトルが長時間にわたり観測された⁹⁾。



(図 2) アスコルビン酸ヒドラジン溶液のスペクトル

そこで、メチルヒドラジンや抗結核薬のイソニコチン酸ヒドラジド N#CC(=O)Nc1ccc(C(=O)O)cc1 を用いて同様に実験をしたところイソニコチン酸ヒドラジドからは図 2 と同じスペクトルが得られ、メチルヒドラジンやジメチルヒドラジンからは図 3 のように 9 本の信号が更に 1:3:3:1 の 4 本に分裂していたことから、メチル基の 1 個が残った次の構造を提案した。

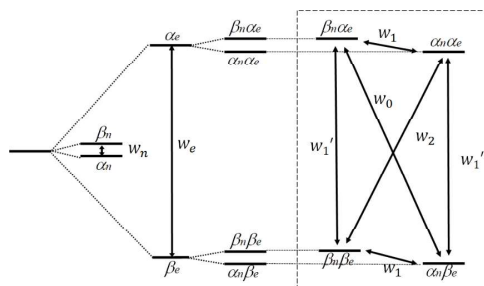


(図 3) メチルヒドラジンでの ESR スペクトル

3. ESR スペクトルはなぜ分裂？

図 1～3 で示した ESR スペクトルの分裂が観測されるのは分子内で電子スピンと核スピンの超微細結合 (hyperfine coupling) していることに由来する。Solomon は 1955 年に、この電子スピ

ンと核スピンの相互作用を図 4 に示す水素ラジカル (核・電子スピンが 1/2) 系で論じた¹⁰⁾。 w_n および w_e は、ゼーマン分裂での核スピン・電子スピンの遷移確率で、 w_0, w_1, w_1', w_2 は超微細結合している電子スピンと核スピンの遷移確率である。従って、核スピンの全遷移確率は $\rho = w_0 + 2w_1 + w_2$ 、核・電子スピン 2 個が同時に遷移する確率は $\sigma = w_2 - w_0$ となる。



(図 4) 電子・核スピンのゼーマン分裂と遷移

ここで、実験的に観測可能な量は、異なる Larmor 角周波数で識別可能な巨視的磁気モーメント $\langle I_z \rangle$ および $\langle S_z \rangle$ である。熱平衡状態での磁気モーメント I_0 および S_0 を考慮すると、超微細結合している核スピンと電子スピンの縦磁気モーメント $\langle I_z \rangle$ および $\langle S_z \rangle$ は、Solomon 式と呼ばれる連立微分方程式(1)、(2)で記述される。

$$d\langle I_z \rangle / dt = -(w_0 + 2w_1 + w_2)(\langle I_z \rangle - I_0) - (w_2 - w_0)(\langle S_z \rangle - S_0) \quad (1)$$

$$d\langle S_z \rangle / dt = -(w_0 + 2w_1' + w_2)(\langle S_z \rangle - S_0) - (w_2 - w_0)(\langle I_z \rangle - I_0) \quad (2)$$

ここに、ゼーマン分裂での核スピンおよび電子スピンの遷移確率 w_n, w_e が付加され

$$d\langle I_z \rangle / dt = -(\rho + w_n)(\langle I_z \rangle - I_0) - \sigma(\langle S_z \rangle - S_0) \quad (3)$$

$$d\langle S_z \rangle / dt = -(\rho' + w_e)(\langle S_z \rangle - S_0) - \sigma(\langle I_z \rangle - I_0) \quad (4)$$

となり、夫々の遷移確率 w_i はスペクトル密度関数を用い以下のように表される。

$$w_0 = (1/10)k\tau_c / [1 + (\omega_I - \omega_S)^2 \tau_c^2] \quad (5)$$

$$w_1 = (3/20)k\tau_c / [1 + \omega_I^2 \tau_c^2] \quad (6)$$

$$w_1' = (3/20)k\tau_c / [1 + \omega_S^2 \tau_c^2] \quad (7)$$

$$w_2 = (3/5)k\tau_c / [1 + (\omega_I + \omega_S)^2 \tau_c^2] \quad (8)$$

$$k = \hbar^2 \gamma_I^2 \gamma_S^2 / r_{IS}^6 \quad (9)$$

τ_c は回転相関時間、 ω_I と ω_S は核スピンと電子スピンの共鳴角周波数、 r_{IS} は電子スピンと核スピン間の距離である。ここで、電子スピンの共鳴角周波数は核スピンより 660 倍高いことから、 $(\omega_I - \omega_S)^2 = (\omega_I + \omega_S)^2 = \omega_S^2$ と見做すことができ、

$$\sigma = (1/2)(\hbar^2 \gamma_I^2 \gamma_S^2 / r_{IS}^6) \tau_c / (1 + \omega_S^2 \tau_c^2) \quad (10)$$

$$\rho = (1/10)(\hbar^2 \gamma_I^2 \gamma_S^2 / r_{IS}^6)(7 \tau_c / (1 + \omega_S^2 \tau_c^2) + 3 \tau_c / (1 + \omega_I^2 \tau_c^2)) \quad (11)$$

となる。これらが電子スピンと核スピンの超微細相互作用の双極子相互作用である。

翌 1956 年に Solomon と Blombergen¹¹⁾は、電子スピンと核スピンの超微細結合に等方性のスカラー項(SC)を加え、 $w_i = (w_i)_{DD} + (w_i)_{SC}$, $i = 0 \sim 2$ とし、以下の式(12)~(13)で示した。

$$(w_0)_{SC} = (1/2)(A/\hbar)^2 (\tau_c / (1 + (\omega_I - \omega_S)^2 \tau_c^2)) \quad (12)$$

$$(w_1)_{SC} = (w_1')_{SC} = (w_2)_{SC} = 0 \quad (13)$$

A はスカラー項の値、 τ_c は電子スピンと核スピンの交換相関時間である。従って、全体の遷移確率として次式(14)、(15)が得られる。

$$\sigma = (1/2)(\hbar^2 \gamma_I^2 \gamma_S^2 / r_{IS}^6) \tau_c / (1 + \omega_S^2 \tau_c^2) - (1/2)(A/\hbar)^2 (\tau_c / (1 + \omega_S^2 \tau_c^2)) \quad (14)$$

$$\rho = (1/10)(\hbar^2 \gamma_I^2 \gamma_S^2 / r_{IS}^6)(7 \tau_c / (1 + \omega_S^2 \tau_c^2) + 3 \tau_c / (1 + \omega_I^2 \tau_c^2)) + (1/2)(A/\hbar)^2 (\tau_c / (1 + \omega_S^2 \tau_c^2)) \quad (15)$$

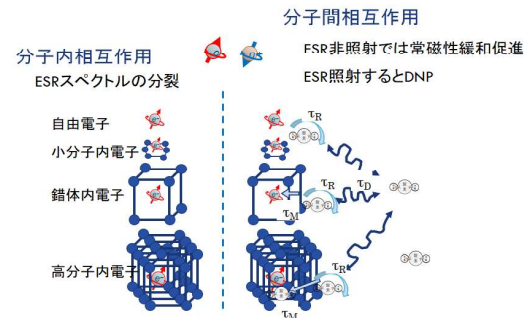
ここでは水素ラジカル ($I=1/2$, $S=1/2$) を扱ったが、核スピンが $1/2$ 以外でも Solomon 式は適用できる。電子スピンが非局在化している現象も Solomon・Blombergen¹¹⁾で説明できる。また、溶液の粘性でスペクトルが変わる現象は回転相関時間 τ_c の項が効くためである。

4. 分子間スピンのダンス; Solomon 式が説くもの

分子間のスピンドダンス(分子間超微細結合)も Solomon 式で記述できる。

式(5)~(15)で示した回転相関時間に相当するところに、図 5 に示す電子・核スピン交換時間 τ_e 、分子交換時間 τ_h 、回転相関時間 τ_r 、

並進相関時間 τ_t などが加わる。



(図 5) 分子内及び分子間のスピンのダンス

最近注目されている超偏極 MRI や MRI 造影剤は電子スピンと他分子の核スピンとの超微細結合に由来し、Solomon 式そのものである。

更に、物性物理学で最近話題になっている現象に「スピン流」¹²⁾がある。愚生は ERATO 評価会で「齊藤スピン量子整流プロジェクト」の最終報告に同席する機会があり、スライドに式(1)と(2)の Solomon 式があったことに驚き思わず質問した。「スピン流」に関しては、先の Commoner さんも電子伝達系分子内で電子スピンの磁化が移動するスピン流の可能性に触れている。

Hausser と Stehlik¹³⁾は電子スピン縦緩和への電子・核スピン交換時間の寄与分 β を考慮し、電子・核スピン交換時間 τ_e 、分子交換時間 τ_h 、回転相関時間 τ_r 、並進相関時間 τ_t を導入し、以下の式を導いた。

$$\rho_s = (A^2/2) J_{S2}(\omega_I - \omega_S) + \beta J_{S1}(\omega_I) \quad (16)$$

$$\sigma_s = -(A^2/2) J_{S2}(\omega_I - \omega_S) \quad (17)$$

$$\sigma_d = ((1/10)(\hbar^2 \gamma_I^2 \gamma_S^2 / r_{IS}^6) \times (6 J_d(\omega_I + \omega_S) - J_d(\omega_I - \omega_S))) \quad (18)$$

$$\rho_d = (1/10)(\hbar^2 \gamma_I^2 \gamma_S^2 / r_{IS}^6) \times (6 J_d(\omega_I + \omega_S) + J_d(\omega_I - \omega_S) + 3 J_d(\omega_I)) \quad (19)$$

但し、 $J_s(\omega) = \tau_s / (1 + \omega^2 \tau_s^2)$ 、 $J_d(\omega) = \tau_d / (1 + \omega^2 \tau_d^2)$ 、 $\tau_{s1} = (1/\tau_1 + 1/\tau_e)^{-1}$ 、 $\tau_{s2} = (1/\tau_2 + 1/\tau_e)^{-1}$ 、 $\tau_d = (1/\tau_e + 1/\tau_r)^{-1}$

Solomon 式から派生した式(16)~(19)は MRI の常磁性緩和促進増感剤の評価に有効で、MRI の造影剤の設計に貢献している。

5. DNP-MRI とスピンのダンス

更に、Hausser と Stehlik は、式(1)で定常状

態 ($d\langle I_z \rangle / dt = 0$) を仮定して、動的核偏極 DNP による増強因数 E を $E = \langle I_z \rangle / I_0$ と定義し、以下の式(20)を導いた。

$$E = \langle I_z \rangle / I_0 = 1 + \xi \cdot f \cdot s \cdot \gamma_s / \gamma_I \quad (20)$$

但し、 $\xi = \text{coupling factor} = \sigma / \rho$ 、 $f = \text{leakage factor} = (w_0 + 2w_1 + w_2) / (w_0 + 2w_1 + w_2 + w_n)$ 、 $s = \text{saturation factor} = (S_0 - \langle S_z \rangle) / S_0$

なお、 $s = \gamma_s^2 H_2^2 \tau_1 \tau_2 / (1 + \tau_2^2 (\omega_I - \omega_s)^2 + \gamma_s^2 H_2^2 \tau_1 \tau_2)$ であり、 τ_1 と τ_2 は電子スピンの縦・横緩和時間、 H_2^2 は ESR 照射パワーである。

低磁場 (0.1 T 以下) では双極子-双極子相互作用は 0.5 に、スカラー相互作用は -1 に近いが、外部磁場が大きくなると coupling factor は徐々に小さくなり、1 T 以上では 0.1 以下となる。従って、DNP を有効に活用するには 0.1 T 以下の低磁場が望ましく、 ρ と ξ はラーモア周波数 (ω_I , ω_s) に依存することから式(14)~(20)を用いて DNP-MRI の最適条件を探ることも可能となる。

6. 謝辞

1970 年に ESR に触れて以来、東京大学、帝京大学、ケルン大学、昭和大学、九州大学、静岡県立大学で 55 年もの間、電子スピンを研究テーマにできたことを幸せに思い、関係各位に深く感謝したい。静岡県立大学では研究室に籠って理論研究したことで電子スピンへの理解が深まり、今回の連載に繋がった。不思議な巡り会わせだ。

7. 本篇のまとめ

本篇は連載「生体スピンが視たい」の最初である。愚生は ESR を用いてフリーラジカルを見つける「生体スピンを視たい」研究をしてきた。2016 年に静岡県立大学に移り、多くの古典論文を何度も読み返し成書を読み比べると、プロローグに触れたように夢の中でスピンのダンスをしていた。本連載が終わるまでには「生体スピンを視たい」、それも「画像で視たい」と願っている。

参考文献

- 1) 内海英雄, 葉奨ニュース, 2022, www.yakusho.org/yakushonews/41d931db9f81a679ba02ccddea4ef9634a5c5fa.pdf
- 2) Utsumi H., Takeshita K., Miura Y., Masuda S., Hamada A., *In vivo* EPR measurement of radical reaction in whole mice -Influence of inspired oxygen and ischemia-reperfusion injury on nitroxide reduction-, *Free Rad. Res. Comms.* **19** (1993) 219-225.
- 3) Gordy W., Smith W.V., Trambarulo R.F., *Microwave Spectroscopy*, Wiley, New York, 1953.
- 4) Commoner B., Townsend J., Pake G., Free radical in Biological Materials, *Nature* **174** (1954) 689-691.
- 5) Yamazaki I., Mason H., Piette L., *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1** (1959) 336.
- 6) Blois M. Jr., Eds, *Free radicals in Biological Systems*, Academic, New York, 1961.
- 7) Swartz H.M., Bolton J.R., Borg D.C., *Biological Application of Electron Spin Resonance*, John Wiley & Sons, Inc. 1972.
- 8) Burlamacchi L., Sarti-Fantoni P., Tiezzi E., *Tetrahedron Letters*, (1969) 5005.
- 9) Utsumi H., Kirino Y., Kwan T., *Chem. Pharm. Bull.* **22** (1974) 1417-1419; idem, *ibid.*, **23** (1975) 1516-1519; idem, *ibid.*, **23** (1975) 1632-1634.
- 10) Solomon I., Relaxation Processes in a System of Two Spins. *Phys. Rev.* **99** (1955) 559-565.
- 11) Solomon I., Bloembergen N., Nuclear Magnetic Interaction in the HF Molecule, *J. Chem. Phys.*, **25** (1956) 261-266.
- 12) Hirobe D., Sato M., Kawamata T., Shiomi Y., Uchida K.-I., Iguchi R., Koike Y., Maekawa S., Saitoh E., One-dimensional spinon spin currents, *Nature Physics*, **13** (2017) 30-34; 齊藤英治、スピン流は科学を書き換える、集英社 2024.
- 13) Hausser K.H., Stehlik D., Dynamic Nuclear Polarization in liquids, *Adv. Magn. Reson.* **3** (1968) 79-135.