

超极化¹²⁹Xe 磁共振波谱和成像及在生物医学中的应用^{*}孙献平 韩叶清 罗晴 周欣[†]

(中国科学院武汉物理与数学研究所 波谱与原子分子物理国家重点实验室 武汉磁共振中心 武汉 430071)

摘要 文章简要介绍了磁共振波谱和成像的基本原理和对限制其灵敏度的挑战,详细阐述了为增强磁共振信号而制备超极化¹²⁹Xe的物理机制,论述了¹²⁹Xe在生物组织中的溶解性以及化学位移的特异性,综述了当前超极化¹²⁹Xe在肺部、脑部成像领域的研究进展和在临床方面应用所取得的有代表性的研究成果,并讨论了基于超极化¹²⁹Xe分子生物探针的超灵敏磁共振技术的研究前景,最后对超极化¹²⁹Xe在生物医学领域的应用与发展作了展望。

关键词 超极化¹²⁹Xe, 磁共振波谱和成像, 灵敏度增强, 肺成像, 脑成像

Hyperpolarized ¹²⁹Xe magnetic resonance imaging
and its applications in biomedicineSUN Xian-Ping HAN Ye-Qing LUO Qing ZHOU Xin[†]

(Wuhan Center for Magnetic Resonance, State Key Laboratory of Magnetic Resonance and Atomic and Molecular Physics, Wuhan Institute of Physics and Mathematics, Chinese Academy of Sciences, Wuhan 430071, China)

Abstract This paper briefly introduces the basic principle of magnetic resonance (MR) and the challenges limiting its sensitivity. The physical mechanism behind the production of hyperpolarized ¹²⁹Xe to enhance the MR signal is explained. Due to its high lipid solubility in biological tissues and large chemical shift to neighbor environments, hyperpolarized ¹²⁹Xe has been employed in lung and brain MR imaging. The developments in these research fields are reviewed, and representative advances in clinical trials are described as well. Furthermore, the prospects of ultrasensitive MR with hyperpolarized ¹²⁹Xe molecular sensors are discussed, and future applications and directions of hyperpolarized ¹²⁹Xe MR in biomedicine are outlined.

Keywords hyperpolarized ¹²⁹Xe, magnetic resonance spectroscopy and imaging, sensitivity enhancement, lung imaging, brain imaging

1 引言

核磁共振(nuclear magnetic resonance, NMR)是一种有趣的物理现象:在静磁场中,核自旋不等于0的原子可以吸收特定频率电磁波的能量,并因此产生能级跃迁;也可以通过发射相应频率的电磁波将吸收的能量释放出来^[1,2]。通过检测被释放出的电磁波的频率、相位、强度等信息,研究者可以探测到化学物质的存在,并可以推算出其浓度和微观化学环境等诸多信息。应用这种物理原理, NMR技术正发展成为功能强大的检测与分析手段,检测对象

覆盖液体、固体、气体乃至生物活体等各个方面。核磁共振技术有两大分支: NMR和核磁共振成像(magnetic resonance imaging, MRI, 原简称为NMRI, 后为避免与核科学产生混淆, 而令患者产生不必要的疑虑, 所以改为MRI, “核磁共振”目前也多用“磁共振”来代替)。NMR已成为化学、生物、医

^{*} 中国科学院“百人计划”(批准号:[2010]88)、国家自然科学基金(批准号:11004228)、国家科学技术部创新方法(批准号:2010IM030600)、中国科学院知识创新工程重要方向(批准号:KJCX2-EW-N06)资助项目

2011-04-02 收到

[†] 通讯联系人, Email: xinzhou@wipm.ac.cn

学化验等专业的常用研究手段;MRI 则因成为较常见的医学成像手段而广为人知. 相对于其他的检测手段,NMR 技术有很多独特优势,如信息量丰富、检测手段灵活、功能强大;MRI 除了上述优势外,还具有无创伤、无放射地探测活体内部结构和功能的巨大优势.

1944 年,美籍奥地利科学家 Isidor Isaac Rabi 因应用共振方法测定了原子核的磁矩和光谱的超精细结构而获得了诺贝尔物理学奖. 1952 年,美籍科学家 E. M. Purcell 和 Felix Bloch,因首次观测到宏观物质 NMR 信号而共同获得了诺贝尔物理学奖. 1991 年,瑞士科学家 Richard R. Ernst 因发明了傅里叶变换 NMR 分光法和二维及多维的 NMR 技术而获得了诺贝尔化学奖. 2002 年,瑞士 NMR 波谱学家 Kurt Wüthrich 教授因发明了利用 NMR 技术测定溶液中生物大分子三维结构的方法而获得诺贝尔化学奖. 2003 年,诺贝尔生理学 and 医学奖授予美国科学家 Paul C. Lauterbur 和英国科学家 Sir Peter Mansfield,以表彰他们在磁共振成像技术领域的突破性成就. 50 多年来,磁共振领域的科学家共获得 5 次诺贝尔奖,其中 2 次在最近 10 年,这从一个侧面证明了其对科学和人类社会的重要意义.

NMR/MRI(或统称磁共振,MR)技术在拥有上述诸多优势的同时,也有一些不可忽视的缺点:第一是成本昂贵;第二是检测灵敏度较低. 前者的原因是,MR 系统往往需要巨大的超导磁体和复杂的电子系统,因而成本高昂. 随着磁场强度的增加,其价格从几十万到上千万美元不等. 而后者源于 MR 所基于的物理原理:MR 信号强度取决于外磁场中原子核产生的能级分裂后不同能级间布居数之差. 由于其分裂能级之间的能量差非常小,根据玻尔兹曼分布,在非低温的热平衡条件下,原子核的不同能级间的布居数之差非常小. 在二能级系统中,将二能级布居数之差除以布居数之和的值定义为极化度. 在室温、通常的商业 MR 仪器(场强 4.7—23.5T)和热平衡条件下,一般 MR 强核(MR 易观察核)的极化度只达到 10^{-5} — 10^{-6} 量级,弱核就更低了. 这意味着在 10^5 — 10^6 个同类原子中,只有一个对于获得的 MR 信号有直接贡献.

为了获得更好的 MR 检测灵敏度,研究人员发展了很多技术手段,他们大多沿袭两种思路:一种是提高在热平衡条件下的核自旋极化度,另一种是把核自旋极化度提高到超过热平衡条件下的水平. 第一种思路的主要手段是提高外磁场场强,高场谱仪

一直是 MR 发展的重要方向,目前场强最高可达到 23T(对应质子拉莫频率为 1000MHz),但是单纯依赖这种方法的效果将是有限的,不仅技术上越来越困难,效费比也会降低,而且由于质子频率已接近微波,热效应将越来越明显,所以理论上已经接近 MR 能够达到的上限. 目前研究人员在第二种思路上取得了非常大的进展,已有多种有效的方法可将极化度提高几个量级,如自旋交换光抽运 (spin-exchange optical pumping, SEOP)^[3,4]、动态核极化 (dynamic nuclear polarization, DNP)^[5,6] 以及仲氢诱导核极化 (para-hydrogen induced polarization, PHIP)^[7,8],它们被统称为“超极化 (hyperpolarization) 方法”,而极化度增强的核被称之为超极化核自旋.

本文将首先介绍通过自旋交换光抽运方法获得的超极化 ^{129}Xe 的物理原理,随后阐述 ^{129}Xe 在生物医学应用中的化学位移特性,然后从目前超极化 ^{129}Xe 在肺部、脑部以及分子生物探针中的应用开始,全面综述了目前世界上相关研究的进展和状况,最后对超极化 ^{129}Xe 在生物医学领域应用的未来发展作了展望.

2 超极化 ^{129}Xe 技术及装置

目前,超极化 ^{129}Xe 的获得主要是利用自旋交换光抽运 (SEOP) 技术来实现的^[9]. 例如,使用圆偏振激光照射位于磁场中包含碱金属原子与惰性气体 (^{129}Xe 或 ^3He) 的混合样品,使得碱金属原子自旋高度极化. 然后,极化的碱金属原子与非极化的 ^{129}Xe 或 ^3He 进行自旋交换碰撞,极化的碱金属原子将角动量传递给 ^{129}Xe 或 ^3He ,与在相同温度和磁场条件下由玻尔兹曼分布决定的热平衡极化度相比,惰性气体 ^{129}Xe 或 ^3He 原子核自旋极化度可增强 10^3 — 10^5 倍,通常被称为超极化 ^{129}Xe 或 ^3He .

关于自旋交换碰撞转移的物理机制, Bouchiat 等人的研究表明^[10],碱金属原子—惰性气体形成的范德瓦尔斯分子对碱金属原子的电子极化弛豫起着重要作用. 在低磁场(典型值约为 0.0005—0.002T)中,自旋交换过程主要发生在碱金属原子—惰性气体的范德瓦尔斯分子之间. 当使用特斯拉量级的强磁场时,就会破坏范德瓦尔斯分子的形成,碱金属原子与惰性气体分子之间的自旋交换物理机制主要由两体碰撞理论来解释. Grover 研究发现^[11],在低磁场中,碱金属原子与 Xe 原子之间的自旋交换具有非常高的效率. Volk 等人在实验上测得了碱金属原

子与 ^{129}Xe 核之间自旋交换截面依赖于缓冲气体压力的关系^[12],证明了碱金属原子— ^{129}Xe 原子的范德瓦尔斯分子对 ^{129}Xe 核弛豫的影响. Bhaskar 等人使用 NMR 方法测量了光抽运 ^{87}Rb 原子与 ^{129}Xe 核之间的自旋交换效率^[13]. Zeng 等人使用周期逆转核极化方向和圆二色性(circular dichroism, CD)光探测的方法研究了碱金属原子—惰性气体样品中 ^{129}Xe 核自旋极化弛豫与温度、磁场、缓冲气体的关系^[14],确定了范德瓦尔斯分子的自旋相关参数. Li 等人使用低磁场 SEOP+光探测方法的实验表明^[15],当 N_2 压力不变时, ^{129}Xe 核自旋极化弛豫率正比于碱金属原子数密度;在不改变温度的条件下, ^{129}Xe 核自旋极化弛豫率随 N_2 压力变化;壁弛豫率随 N_2 压力增加而减少. Zeng 等人研究了激光增强低压惰性气体 NMR 信号^[16],当不使用激光抽运时,一次采样不能观测到热平衡极化约 2000Pa ^{129}Xe 的 NMR 信号. 当对碱金属原子—惰性气体样品使用 SEOP 方法时,可以极大地提高 NMR 信号灵敏度,使用商用 NMR 谱仪能获得低压力气体 ^{129}Xe 的 NMR 信号,信噪比约为 100,超极化 ^{129}Xe 的 NMR 信号增强了约 10000 倍.

产生超极化 ^{129}Xe 以及相关物理化学参数的实验研究可以使用封闭样品管方式,即研究的样品(碱金属原子、惰性气体、缓冲气体等)一同被封装在样品管里. 在实验中,每支封闭样品管既用于 SEOP,也用于 MR,可分类为:低磁场 SEOP + NMR 测量^[17]和强磁场 SEOP+NMR/MRI 测量^[18,19]. 样品管方式对于不同惰性气体或者缓冲气体压力关系测量,需要多个封装样品管. 例如,低磁场 SEOP + NMR 方法用于超极化 ^{129}Xe 核自旋弛豫率的测量,使用了一组碱金属原子+ ^{129}Xe (1999.95Pa) + N_2 (0—11333.05Pa)样品管. 如果要再测量与 ^{129}Xe 气体的压力关系,则需要更多支样品管. 而且在实验中,需要多次换置样品管,同时也要将完成了 SEOP 过程的样品管从光抽运磁场里移动到 NMR/MRI 谱仪里进行参数测量. 在强磁场 SEOP+NMR 或 +MRI 的实验中,激光直接照射放置于 NMR/MRI 谱仪里的样品管,当完成了 SEOP 过程之后,就可直接进行 NMR/MRI 测量^[20].

另外一种方法是建立超极化 ^{129}Xe 的流动系统,光抽运泡用于生产超极化气体,样品管位于 NMR/MRI 谱仪里,两者通过真空管道进行连接,能更方便地进行 NMR/MRI 的研究和应用. 对于一个实用的超极化 ^{129}Xe 的流动系统,在光抽运泡里通常使用大

气压范围的混合气体,由碰撞限制的范德瓦尔斯分子的寿命非常短,自旋交换碰撞转移的物理机制能用两体碰撞理论来解释. SEOP 超极化 ^{129}Xe 装置可以在多种模式下工作,例如,间歇(batch-pumping)式、连续流动(continuous-flow)式和循环连续流动(circulating-flow)式. 直接输出的气体超极化 ^{129}Xe 结合 NMR/MRI 技术能够进行相关物理、化学参数的测量,为改进系统的性能提供实验依据;也能利用超极化 ^{129}Xe 对多孔物质(微孔沸石、中孔分子筛及纳米材料)及薄膜材料表面进行物化性质(吸附、聚散与扩散等)研究. 再加上魔角旋转技术,就能用于高分辨固体的 NMR 研究. 利用超极化 ^{129}Xe 的流动系统也可以制备、积累和储存固态超极化 ^{129}Xe ,能够用于生物医学 NMR/MRI 研究;或者加上呼吸系统,就能用于人肺和脑的 NMR/MRI 研究.

工作于间歇模式的超极化 ^{129}Xe 装置,主要包括光抽运泡、半导体激光器、圆偏振器、气流控制器、高压循环泵、脱氧管、样品泡和真空系统等. 光抽运泡位于提供低磁场(典型值为 0.005—0.02T)的亥姆霍兹线圈内或者谱仪超导磁体翼场约 0.02T 的磁场里,偏振的激光束传输方向与磁场的方向一致. 实验时,首先将系统管道抽至较高真空度(约高于 10^{-3}Pa),输入合适压力比的混合气体. 发射的激光通过圆偏振器后照射碱金属原子+ Xe + N_2 + He 混合样品,通常经过 20—30 分钟光抽运自旋交换,就能使 ^{129}Xe 达到高度核自旋极化平衡. 然后,开启光抽运泡的出口端阀门,超极化 ^{129}Xe 被输送至位于 NMR 谱仪探测线圈的样品管中. 接着,测量超极化 ^{129}Xe 的 NMR 信号. 使用 SEOP 方法,在 15 W 的半导体激光器条件下,与热平衡时的 ^{129}Xe 信号相比,超极化 ^{129}Xe 的流动系统获得的气态、液态和固态 ^{129}Xe 的 NMR 信号分别增强了 10000, 5000 和 6000 倍^[21,22].

工作在连续流动方式的超极化 ^{129}Xe 装置,由于 Xe 是在流动中获得极化碱金属原子的角动量,所以要求采用快速的光抽运技术. 因此,必须使用大功率激光器,并且提高光抽运泡中碱金属原子的密度,即提高光抽运泡温度. 对于分子筛材料的研究,超极化 ^{129}Xe 的流动系统中使用一台 30W 的半导体激光器和工作在 150°C 的光抽运泡就能够满足研究的需求^[23]. 将光抽运泡放置于 NMR 谱仪超导磁体的 0.02T 翼磁场里,体积为 30cm^3 ,充有 1g Rb, 1% 的 Xe 和 1% 的 N_2 ,由于大功率激光器具有约 2.5nm 的宽带输出,因而 Rb 原子吸收线需要压力展宽,以

与其吻合,并使用高纯 He 气将光抽运泡的总压力增至约 5atm. 经过一束功率为 30W、波长为 794.7nm 的圆偏振激光照射,大约有 1/3 的光子能够被 Rb 原子吸收. 高度电子自旋极化的 Rb 原子与 Xe 原子自旋交换碰撞,使得 ^{129}Xe 核自旋达到高度非平衡极化. 通过一个针阀控制流动率在 50—150sccm (standard cubic centimeter per minute, 标准毫升/分钟, 标准状态为: 0°C , 1 个大气压), 连续输送超极化 ^{129}Xe 到位于 NMR 谱仪里的样品管中. 然后对 ^{129}Xe 进行固态回收, 其他气体流入大气中. NMR 测量得到最大气态超极化 ^{129}Xe 的极化度约为 10.5%, 激光增强倍数约 4 个数量级.

当超极化 ^{129}Xe 装置工作在循环连续流动模式时,只需要在连续流动方式超极化 ^{129}Xe 装置的光抽运泡之前的真空管道里,增加一个高压循环泵,就能使工作气体在一个封闭系统中循环流动,与连续流动方式系统相同,可以源源不断地产生超极化 ^{129}Xe 气体提供给样品管. 其优点是可以重复使用 Xe 气体,特别对于使用同位素 ^{129}Xe 气体是有意义的.

用于生物医学中的超极化 ^{129}Xe 生产装置,通常是由连续流动方式+固态储存器组成. 对于超极化 ^{129}Xe 的 NMR/MRI 在生物医学中的应用,例如人肺或者脑的 NMR 和 MRI 研究,必须获得更大容量、更高极化度的超极化 ^{129}Xe 气体,这在技术上是一个挑战. 下面简要地描述几个相关的关键技术:

(1) 激光器技术的发展

早期的 SEOP 实验测量与物理特性的研究,通常使用无极放电碱金属原子光谱灯等作为光源,其特点是发射光的线宽和波长都能够很好地与光抽运碱金属原子谱线吻合;即使光抽运泡位于强磁场内,样品碱金属原子的谱线发生频移,光谱灯也能够通过外加磁场调谐到原子吸收波长. 但是,光谱灯的发射光功率非常低. 随着低功率窄线宽半导体激光器的使用,能够更方便地在较低压力惰性气体中产生超极化样品. 但是,对于大容量、高极化度的超极化样品,要求使用更大功率的激光器. 因此,大功率二极管阵列的激光器成为光抽运的重要光源. 典型的激光器为 Coherent 公司的 FAP-System(30W)或者 DUO FAP-System(60W)光纤耦合半导体激光器系统,激光线宽(FWHM)约为 2.5nm. Anthony 等人使用装配有 210W 激光器的超极化 ^{129}Xe 装置,在 Xe 气流动率为 2.45sccm 时,获得了 67% 的 ^{129}Xe 核自旋极化度,表明生产 1 L · atm/h (即每小时产生 1 个大气压下的 1 升气体)具有 12% 极化度的超

极化 ^{129}Xe 是可能的^[24]. 使用内布拉格光栅(internal bragg grating)技术,可以进一步改善大功率二极管阵列激光器的性能,激光线宽(FWHM)可小于 0.75nm,这能够极大地提高光抽运的效率,对于发展超极化 ^{129}Xe 技术至关重要.

(2) 碱金属原子吸收谱线的压力增宽技术

由于碱金属原子的超精细结构吸收谱线远窄于光抽运使用的大功率二极管阵列激光器线宽,因此,可以使用缓冲气体压力增宽原子吸收谱线,从而与激光的线宽吻合. 例如,对于光抽运碱金属原子的情况,通常是使用 He 气或 N_2 气作为缓冲气体, Xe 气与缓冲气体之和的总压力通常为几个大气压. 最大的碱金属原子超精细分裂为几个 GHz,使用了压力增宽技术之后,碱金属原子的吸收线宽典型值为 30GHz 或者更宽,能够更多地吸收大功率二极管阵列激光器的激光光子,提高了光抽运的效率.

(3) 淬灭气体 N_2

在使用 SEOP 方法生产超极化 ^{129}Xe 的过程中,选择合适类型以及合适压力的淬灭气体是很重要的. 在光抽运期间,通常缓冲气体 N_2 气用于淬灭碱金属原子荧光,消除辐射自陷效应,以提高光抽运效率;在低磁场、低压工作气体条件的自旋交换过程中, N_2 气作为第三体参与碰撞形成碱金属原子— ^{129}Xe 原子的范德瓦尔斯分子;当 N_2 气体压力逐渐增大到一定程度时,形成范德瓦尔斯分子的数目增多,使得极化的碱金属原子角动量能够有效地转移到 ^{129}Xe 核. N_2 气也作为缓冲气体,用于减少激光极化 ^{129}Xe 核的壁弛豫率.

(4) 光抽运泡壁涂层

超极化 ^{129}Xe 的核自旋弛豫率是碱金属原子诱导弛豫率与光抽运泡的壁弛豫率之和. 光抽运泡的壁涂层会明显地减少原子与壁的碰撞,从而达到增加超极化 ^{129}Xe 的核自旋弛豫时间的目的. 通常使用的内壁涂层材料包括石蜡、特氟龙、有机硅等. Zeng 等人研究了光抽运泡的壁弛豫时间^[25,26],未涂层的光抽运泡弛豫时间最短约几十秒,而涂了有机硅的光抽运泡的最长壁弛豫时间约 30 分钟,两者之间有着明显的差异. 可见,合适材料的壁涂层对于增加超极化 ^{129}Xe 的核自旋弛豫时间效果非常显著.

(5) 超极化 ^{129}Xe 的固态储存

由于连续流动工作方式的极化装置在通常情况下还不能够直接产生和输出人体肺部和脑部 NMR/MRI 所要求的大容量、高极化度的气态超极化 ^{129}Xe ,需要使用一个附加的超极化 ^{129}Xe 固态储存

器. 先由 ^{129}Xe 极化装置生产超极化 ^{129}Xe 气体, 然后流入固态储存器里, 因降温形成超极化 ^{129}Xe 固体而被保存. 连续工作一段时间后, 能够储存足够容量的固态超极化 ^{129}Xe , 使用时, 用升温的方法将其复原回气态超极化 ^{129}Xe , 然后就可以输送到用于研究的生物体中. 超极化 ^{129}Xe 固态储存器由磁场、杜瓦瓶和储存玻璃管组成; 通常, 由两块平板磁铁或者两组环状磁铁产生磁场^[27]. Gatzke 等人在固态 Xe 的温度和约 0.1 T 磁场条件下, 加上选择合适的缓冲气体, 测量得到超极化 ^{129}Xe 的弛豫时间长达几百小时, 更高的磁场会使得弛豫时间增加^[28]. 这表明, 气态超极化 ^{129}Xe 能够固态积累与储存, 生产获得多于 100 g 的固态超极化 ^{129}Xe 是可能的.

另外, 进一步优化光抽运泡的结构与激光器光束的几何形状, 可以解决大功率激光器的使用和提高碱金属原子数密度带来的问题, 对于获得更大容量、更高极化度的超极化 ^{129}Xe 气体也具有重要意义.

3 ^{129}Xe 的溶解性和化学位移

在自然界中, Xe 一共有 9 种稳定的和超过 35 种不稳定的同位素. 其中不稳定同位素 ^{133}Xe 因具有放射性而常被用于核医学上; 在稳定的同位素中, ^{129}Xe 天然丰度为 26.44%, 核自旋为 1/2, 因此特别适宜进行 MR 研究. 因为 Xe 是重原子, 核外的电子数目多, 核外的球形电子云大而且容易极化变形, 所以外界的各种相互作用会对它产生很大的影响. Xe 对邻近外界环境表现非常敏感, ^{129}Xe 的化学位移范围超过 7500 ppm (part per million, 即百万分之一); 而通常 MR 所用的 ^1H 和 ^{13}C 核的化学位移范围只有 20 ppm 和 300 ppm.

Xe 核外高度极化的大电子云, 使得 Xe 具有强的亲脂性(如表 1 所示)^[29-31], 并且在与溶液中其他分子相互作用时, 无化学和结构上的损伤, 因此, Xe 的应用具有重要意义. 表 1 给出了气态 Xe 在各种化合物中的 Ostwald 溶解度. Ostwald 溶解度的定义为被吸收气体的体积与吸收液体的体积比, 所有的测量均在相同的温度和一个大气压下进行. 数据来源于参考文献^[29], 其中全氟化合物(PFOB)和 Intralipid 数据来自参考文献^[30, 31].

Xe 在常温常压下是一种惰性气体, 因此能够被人自由地呼入肺部. 由于具有强亲脂性, Xe 能溶于血液, 并通过血液循环至全身(包括脑部). 如图 1 所

示, 从右至左, 0 ppm 对应 Xe 在气态条件下的化学位移; 大约 70 ppm 处对应于 Xe 在分子探针“笼子”Cryptophane-A 中的化学位移; 197 ppm 附近的 4 个峰来源于 Xe 在脑部的信号, 包括 Xe 溶于脑部组织、非脑部组织和目前尚未确定归属的另外 2 个峰; 在 220 ppm 左右的化学位移则由 Xe 溶于血液中所产生. 由此可见, Xe 在生物体中宽广的化学位移范围, 使得超极化 ^{129}Xe 在生物医学 MRI 超灵敏探测中具有天然的优势.

表 1 气态 Xe 在各种化合物中的 Ostwald 溶解度(注: w/w 为质量比, w/v 为质量体积比)

Ostwald 溶解度	化合物
$T=25^\circ\text{C}$	
水	0.11
正己烷	4.8
苯	3.1
氟苯	3.3
二硫化碳	4.2
$T=37^\circ\text{C}$	
水	0.08
盐水	0.09
血浆	0.10
红血球(98% w/w)	0.20
人体白蛋白(100% w/w)	0.15
血液	0.14
油	1.9
脂肪组织	1.3
DMSO(二甲亚砜)	0.66
Intralipid(脂肪乳剂, 20% w/w)	0.4
PFOB(全氟化合物)	1.2
PFOB(约 90% w/v)	0.62

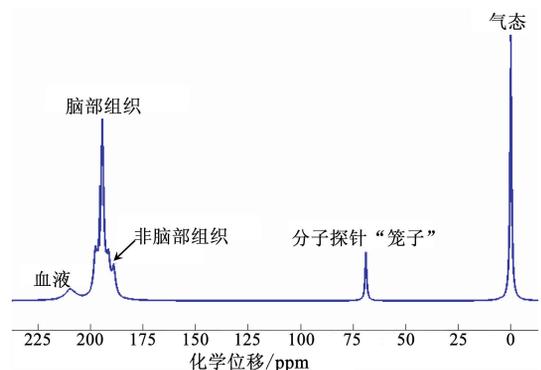


图 1 Xe 在生物体和分子探针“笼子”中的化学位移(Xe 在分子探针笼子 Cryptophane-A 中的化学位移来源于参考文献^[32], 其他数据来源于参考文献^[33])

4 超极化 ^{129}Xe 的肺部成像

肺癌已成为导致人类癌症死亡的头号杀手, 在我国平均 4 个死于癌症的患者中, 就有一个是肺癌

病人. 虽然目前计算机电子断层扫描 (computed tomography, CT) 和 X 射线都能够用来对肺部进行成像, 但是, 以上两种技术都具有放射性, 会杀死人体的白细胞, 这也是病人为什么不能在短期内做很多次 CT 和 X 射线成像的原因; 另外一方面, 因为 CT 和 X 射线都属于投影成像技术, 所以只能提供肺部的结构信息, 而不能提供肺部功能信息, 例如肺组织气体交换功能.

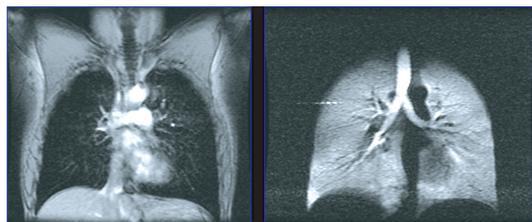


图2 肺部 MRI 图. 传统 ^1H 的肺部 MRI 影像(左), 超极化 ^3He 的肺部 MRI 影像(右). 引自参考文献[34]

图2(左)清楚地表明, 使用医院里传统的质子(^1H)MRI 成像手段, 基本不能获得肺部的影像(黑色区域), 因为肺部大部分是空腔组织, 其质子的核自旋浓度要比肌肉和脑部组织约小 1000 倍. 但是, 通过 SEOP 技术所产生的超极化惰性气体(^3He 和 ^{129}Xe), 其极化度比热极化高 3 到 5 个量级, 从而解决了自旋浓度低的问题, 因此使得气体 MRI 或更低浓度 NMR 成为可能. 1994 年, Albert 等首次在切除下来离体的老鼠肺部实现了超极化 ^{129}Xe 的肺部 MRI [35]. 随后的超极化气体肺部 MRI 大部分是用 ^3He 实现的, 因为 ^3He 不仅更容易被极化, 而且产生的信噪比也更高[36]. 但是 ^3He 基本上不溶于组织, 只能停留在肺部的肺泡中; 而 ^{129}Xe 能溶于血液和组织, 所以 ^{129}Xe 不仅能对肺部换气 (ventilation) 和对肺部表观扩散系数 (apparent diffusion coefficient, ADC) 进行成像, 而且还能评价肺部的气体交换功能.

(1) 肺部换气成像

美国普林斯顿大学和维吉尼亚大学合作, 在场强为 1.5T 的医用人体成像仪上, 通过让平均年龄为 25 岁的健康人(两男一女)分别吸入 300—500ml 同位素丰度为 71% 的超极化 ^{129}Xe (极化度约 2%) 气体, 获得了首幅人体肺部空腔的截面 MRI [37], 其超极化 ^{129}Xe 在肺部有信号的区域, 和传统 ^1H 肺部无信号的区域互补, 相互吻合得非常好. 随后诸多超极化 ^{129}Xe 在动物上的换气成像和超极化 ^3He 获得的影像类似, 不仅能够获得呼吸静态条件下整个肺叶的影像, 也能获得在动态呼吸条件下气管及其分

支的影像.

对于超极化气体的肺部成像, 因为超极化的磁化矢量不能通过热极化的方法恢复, 所以通常需要在其极化度衰减之前完成 MRI 的采样. 为了解决这个问题, 美国杜克大学的研究小组实现了实时产生超极化 ^{129}Xe 并用于动物肺部成像 [38]. 该技术能实时并快速地产生低浓度 (1%) 超极化 ^{129}Xe 的混合气体, 并且已被证明能够用于活体 MRI 的频率设置、接收机增益调节、脉冲序列测试等. 与用纯的 (100%) 超极化 ^{129}Xe 做肺部成像实验相比较, 这种实时成像方法的信号要低 26 倍, 但是仍然能描绘出肺部换气的异常. 目前科学家正在研究一种新技术, 在保证高极化度的条件下, 如果用于实时成像的是纯的超极化 ^{129}Xe , 则能使 MR 信噪比增强 100 倍, 这必将推进更多医学新应用的发展.

(2) 肺部 ADC 成像和氧气含量成像

通常的质子(液体或组织)MRI 与超极化气体 MRI 相比, 一个本质差异是扩散程度的不同. 水质子的自扩散系数在 $2 \times 10^{-5} \text{ cm}^2/\text{s}$ 量级, 所以理论上可以达到约 $10 \mu\text{m}$ 的空间分辨率极限, 而气体的自扩散系数要比水质子大 3 到 5 个量级. 初看起来, 气体快速的扩散对成像分辨率会有很大的负面影响; 幸运的是, 肺部特有的两种情况大大减小了扩散的影响: 一是肺部氮气和氧气与超极化气体的相互作用, 二是由于肺部小的长度尺度而导致的受限扩散 [39].

Mata 等人首次用超极化 ^{129}Xe 的 ADC 成像对肺病(兔子的肺气肿)进行了研究, 在弥散敏感因子 b 值取 0 和 $10 \text{ s}/\text{cm}^2$ 一对值的情况下, 在发病前, ^{129}Xe 的 ADC 基准值为 $0.025\text{—}0.027 \text{ cm}^2/\text{s}$, 8 周后, 肺气肿导致兔子肺部 ^{129}Xe 的 ADC 最大增强了 8%, 这些结果也与使用 ^3He 的 ADC 成像结果一致 [40]. 并且, ADC 的值和解剖的髓长相关性非常好, 这些结果说明了超极化 ADC 成像能够用于检测区域或局部的肺部结构改变. ^{129}Xe 具有比 ^3He 低 30 倍的自扩散系数, 所以通过 ^{129}Xe 的扩散能够探测的长度尺度明显比 ^3He 探测的小, 因此低扩散系数的 ^{129}Xe 更适合用于测量肺泡和小气管的尺寸.

因为超极化 ^{129}Xe 气体的弛豫时间对氧气 (O_2) 非常敏感, 所以能够通过 ^{129}Xe 在肺部的弛豫时间来反映肺部氧气的含量 (P_{O_2}). 由于 ^{129}Xe 在肺泡空间和肺隔膜之间的气体交换会导致信号丢失, 从而使得用 ^{129}Xe 来测量 P_{O_2} 比用 ^3He 更复杂. 因为 P_{O_2} 的贡献来源于两方面: 一方面是通常由于氧气导致的纵

向弛豫的衰减,另一方面是 Xe 在不同相之间的扩散^[41]. Patz 等人利用超极化¹²⁹Xe 气体获得了人体肺部的 P_{O_2} 图像,并且利用 Xe 的独特特性,无侵入地测量了肺泡的表面积^[42].

(3) 肺部气体交换功能成像

肺部的气体交换功能是评价肺部机能的一个重要方面.有效的肺部气体交换依赖于气体自由地从肺泡中扩散,并通过薄的组织屏障进入毛细血管的红细胞中.肺部的一些疾病,例如肺炎、肺纤维化和水肿,会引起肺部血气屏障厚度增加,从而导致肺部气体交换功能的损害.但是,准确地评价肺部气体交换功能的异常是非常困难的,因为目前还没有一种直接的方法来对整个气体交换过程进行成像^[43].如前所述,超极化¹²⁹Xe 在气体、组织和血液中的不同化学位移和增强的 MR 灵敏度,使得超极化¹²⁹Xe 的 MRI 能对肺部功能进行评价.

因为 Xe 溶解在组织和血液中的浓度比气态 Xe 小一个量级,并且溶解态的 Xe 也比气态 Xe 具有更短的弛豫时间,从而给溶解态 Xe 的直接成像带来了困难. Ruppert 最早利用 Xe 极化转移对比(xenon polarization transfer contrast, XTC)方法实现了对溶解态 Xe 的间接成像^[44],其基本原理是:通过脉冲饱和掉 Xe 在溶解态(如 Xe 在肺组织中的化学位移为 197ppm,在肺部血液的化学位移为 212ppm)中的磁化矢量,由于肺泡中气体 Xe 和溶解态 Xe 之间的交换,从而引起肺部超极化¹²⁹Xe 气体信号的衰减,通过这种信号的去极化(depolarization),能够间接推算出肺部的气体交换功能.最近, Zhou 证明了 Hyper-SAGE 方法增强溶解态 Xe 信号的原理^[45],其基本原理是:把溶解态的 Xe 萃取到气态,通过远程探测的方法检测,并利用进一步压缩的方法,理论上可以使信号增强 5 个量级,目前正对肺部 MRI 的应用开展研究.

Duke 研究小组最近通过提高超极化¹²⁹Xe 的极化度,优化 MRI 脉冲序列的射频翻转角度,减小恢复时间至毫秒量级,利用富集样品的¹²⁹Xe(体积百分含量为 83%)等方法,在 1.5T 人体成像仪上直接采样,获得了超极化¹²⁹Xe 溶解在肺部组织和血液中的磁共振图像,如图 3(a)所示,并且获得了更高信噪比的气态超极化¹²⁹Xe 肺部的磁共振图像,如图 3(b)所示.二者的图像重叠,可以清楚显示人体肺部气体交换发生的主要区域(彩色部分,见《物理》网刊彩图,下同),其中红色部分代表气体交换强的区域,如图 3(c)所示^[46].

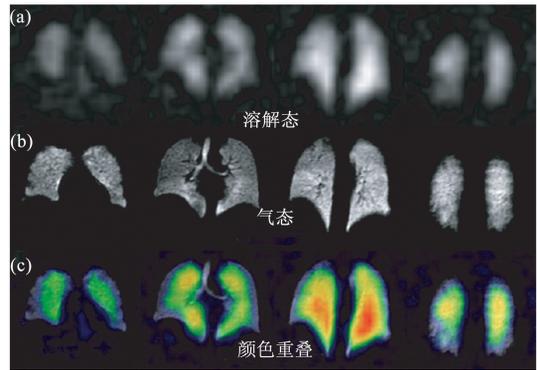


图 3 (a)溶解态超极化¹²⁹Xe 在肺部组织和血液中的 MRI 图像;(b)气态超极化¹²⁹Xe 的肺部 MRI 图像;(c)溶解态与气态超极化¹²⁹Xe MRI 图像的重叠.引自参考文献^[46]

5 超极化¹²⁹Xe 的脑部成像

超极化¹²⁹Xe MRI 肺部实验成功之后,利用惰性气体进行的气体空间成像技术有了快速的发展.超极化¹²⁹Xe 气体被吸入之后,能通过肺部气体交换和血液循环至脑部,并且由于超极化¹²⁹Xe MRI 具有高度脂溶性、无背景信号、非侵入性、非放射性等特点,能够作为一种良好的成像方法应用于脑研究,特别是脑血流量(cerebral blood flow, CBF)研究领域.

(1) 脑部纵向弛豫时间(T_1)

在传统的 MRI 中,纵向弛豫时间(T_1)是指热极化产生的磁场矢量恢复至平衡态的时间.由于超极化与平衡极化毫不相关,通过 SEOP 作用后,信号加强的超极化气体磁场矢量不能恢复,纵向弛豫时间就是 MR 信号衰减的时间.超极化¹²⁹Xe 在脑部的纵向弛豫时间(T_1)是发展超极化¹²⁹Xe 脑部 MRI 和 NMR 的一个关键参数.关于大鼠大脑的 T_1 值在国际上一直存在较大的争议, Zhou 等人通过发展新的 wash-out(涤荡)多脉冲技术重新测定脑部 T_1 值,并和以往的双脉冲方法比较,发现大鼠脑部的 T_1 值在 15.3—16.3s 范围内^[33],并且研究发现,¹²⁹Xe 在脑组织中的溶解度低,造成脑部 MR 信号的信噪比也相对较低,在低信噪比条件下,信号中的噪音使测得的 T_1 有较大的误差.虽然不同的物理和生理因素会对 T_1 的测量产生影响,但是低溶解度引起的低信噪比是引起测量误差的主要原因.

(2) 脑中风(stroke)的研究

中风是发达国家的第三大致死疾病,也是导致永久残疾的最常见原因之一.急性缺血性中风核心区域的脑细胞迅速死亡,并在几小时内迅速向周围

组织扩散. 脑缺血几分钟内会引起缺血性神经受损及脑灌注不足, 传统的 MRI, 例如灌注加权成像(perfusion weighted imaging, PWI) 和扩散加权成像(diffusion weighted imaging, DWI) 在急性缺血性中风的诊断方面有很好的应用. 由于 ^{129}Xe 信号与脑血流量成正比, 作为脑血流量的灌注示踪剂, 超极化 ^{129}Xe MRI 也可以应用于缺血半暗区的研究.

在临床中, 缺血半暗区的组织通过抢救是可恢复的, 而不像缺血的核心区的组织不能恢复. 一般来说, MR 的 PWI 和 DWI 图像的错配区经验性地被认为是缺血半暗区. 传统的 DWI 和 PWI 质子 MR 图像有很大的背景信号, 常用的对比注射是一种侵入性方法, 但是, 许多有肾损伤的患者不能使用造影剂, 并且有结果显示, 钆造影剂会引起肾因性全身纤维硬化症. 相比之下, 超极化 ^{129}Xe 的高脂溶性、无生物组织背景信号以及高灵敏度使得, 即使在低浓度条件下, 也可以探测到超极化 ^{129}Xe 信号, 这在灌注不足的脑组织识别上具有优势. Zhou 等人利用超极化 ^{129}Xe MRI, 通过对大鼠右脑进行永久性大脑中动脉阻断(middle cerebral artery occlusion, MACO), 成功地探测到局部脑血流量的减少, 并开展了中风核心区域的脑缺血病灶的研究^[47], 如图 4 所示. 这证明超极化 ^{129}Xe MRI 作为传统 MRI 的互补工具, 可以用来进行脑灌注不足的病理生理学研究.

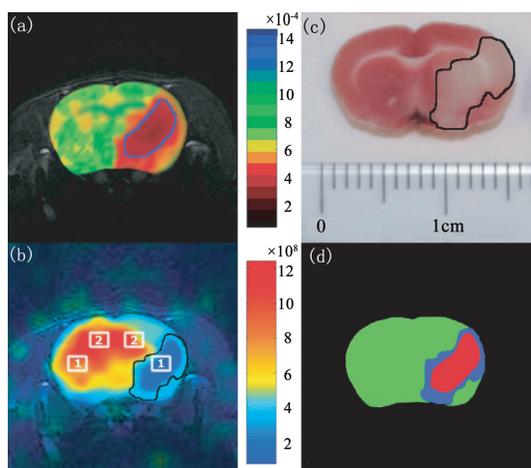


图 4 大鼠中风脑部(右脑)成像和病理切片 (a) 质子扩散成像; (b) 超极化 ^{129}Xe MRI; (c) 中风老鼠的 TTC 染色切片; (d) 大鼠脑部的正常区(绿)、中风核心区(红)、半暗区(蓝). 引自参考文献^[47]

(3) 脑功能成像(functional MRI, fMRI)

在超极化 ^{129}Xe MRI 中, 吸入的自旋为 $1/2$ 的 Xe 气同位素产生 MR 信号, 超极化 ^{129}Xe 的 MR 信号源特性与水质子存在很大差别, 利用普通质子 MR 方法不能获得结构和功能信息. ^{129}Xe 作为灌注

示踪剂, 对氧气的化学位移也很敏感. 这些优越性使 ^{129}Xe 可以应用于功能成像.

目前超极化 ^{129}Xe MRI 和 NMR 已经分别在动物和人体上得到了证明. Mazzanti 等人通过对大鼠前爪实施疼痛刺激, 探测脑皮层中 ^{129}Xe 信号分布, 在实验上获得的 ^{129}Xe 信号增强的区域与前爪疼痛刺激的常规的质子 fMRI 结果一致^[48]. 超极化 ^{129}Xe fMRI 仅通过对刺激前、后数据的分析, 能够获得超极化 ^{129}Xe 信号在基准信号上的提升(13—28%), 这比常规 fMRI, 例如血氧水平依赖(blood oxygen level dependent, BOLD)(2—4%), 更加灵敏. 随着高极化 ^{129}Xe 气体的技术不断改进, 在脑功能和疾病研究方面, 与常规的 MRI 相比, 作为辅助方法的超极化 ^{129}Xe fMRI 是切实可行的.

6 超极化 ^{129}Xe 的分子生物探针

基于 Xe 的生物探针是超极化 ^{129}Xe 的又一个非常有前景的发展领域. 生物探针是细胞或蛋白的指示器, 通过对连接到特定对象上的生物探针的探测, 研究人员可以探测到目标生物大分子的有无、数量、种类、位置等重要信息.

生物探针在医学上则成为一种重要的诊断手段. 由于超极化 ^{129}Xe 在灵敏度上的巨大优势, 基于 ^{129}Xe 生物探针的超极化 ^{129}Xe MRI 和分子影像学(见图 5), 已经成为发展未来早期诊断手段的重要方向之一.

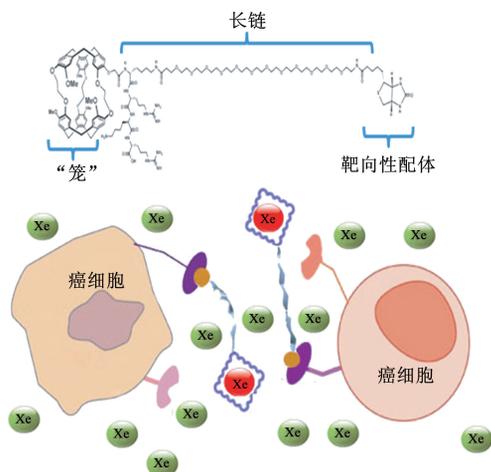


图 5 ^{129}Xe 分子生物探针的结构示意图(上); 利用超极化 ^{129}Xe 探测超低浓度癌症或肿瘤细胞分子的基本原理示意图(下)

^{129}Xe 生物探针的发展目前大约有两种思路. 早期的一种思路是将 ^{129}Xe 直接作为探针分子和生物大分子发生相互作用, 通过 ^{129}Xe 化学位移的变化直

接探测生物大分子的存在. 作为一种惰性元素, Xe 不能和生物分子通过化学反应产生化学键, 但由于具有较大的原子半径, Xe 具有较强的极性, 这使得 Xe 可以和生物大分子表面的疏水空穴或其附近的基团通过范德瓦尔斯力结合在一起. ^{129}Xe 的化学位移对于微观化学环境非常敏感, 1982 年研究人员开展了 Xe 和座头鲸血红蛋白和肌红蛋白的相互作用的研究, 并证实了 ^{129}Xe 的这种特性^[49]. 这种高敏感性被成功地应用于对蛋白质结晶的结构表征, 由于 ^{129}Xe 和蛋白之间的相互作用很弱, 对于蛋白质的结构影响微小, 所以得到的结构信息可以看作是来自原始结构^[49,50]. 目前, 将 ^{129}Xe 直接作为生物探针并应用于生物体研究的报道很少, 这可能是由于以下几个原因: 第一, Xe 缺乏对蛋白质的特异性, 即 Xe 可以和很多种蛋白相结合; 第二, 由于 Xe 与蛋白的相互作用很弱, 溶液内自由的 Xe 会和与蛋白相结合的 Xe 发生快速化学交换, 因此我们不能直接得到与蛋白相结合的 ^{129}Xe 的化学位移; 第三, Xe 对于化学环境过于敏感, 温度等其他因素也会对其化学位移造成影响^[51]. 基于这三个原因, 在复杂化学环境中, 几乎无法对 ^{129}Xe NMR 信号给出可靠的分析.

为了解决上述困难, 美国加州大学伯克利分校的 Pines 研究组在 2001 年提出了一种新的思路来发展基于 ^{129}Xe 的生物探针^[32]. 我们把这种思路称为“两级”分子探针, 即首先把一种高靶向性的分子探针放入生物体内, 让它们连接到特定蛋白上, 然后让 Xe 作为二级分子探针进入到生物体内, 让它寻找一级分子探针, 研究者通过 NMR 谱仪直接观测 Xe 和一级分子探针的相互作用. 一级分子探针由三部分组成: 一部分是可以包裹 Xe 的超分子“笼”, 一部分是具有靶向性的肽链残基, 还有一部分是一段把二者连接在一起的分子残链. 以穴蕃-A 为超分子“笼”时, “笼”内 Xe 和自由 Xe 的化学位移差别可以大于它们之间的化学交换速率. 这种探针分子将靶向性、特异性以及超极化 ^{129}Xe 的高灵敏度成功结合到一起, 极大地扩展了 ^{129}Xe 在生物探针领域的应用空间.

Pines 小组在提出这种新概念的分子探针的基础上, 利用其“笼”内外 Xe 化学交换的本质, 借鉴常规 MRI 中的化学交换饱和转移 (chemical exchange saturation transfer, CEST) 方法, 提出了超极化化学交换饱和转移 (hyper-CEST) 方法^[52]. CEST 通过间接观测的方法, 相对于直接测量, 把灵敏度提高了

几个量级. Hyper-CEST 把超极化 ^{129}Xe 以及 CEST 的双重灵敏度优势结合起来, 把传统 MRI 的特征物质最低可探测浓度从毫摩尔量级提高到微摩尔量级, 在重大疾病的早期探测领域展现了巨大潜力^[52,53].

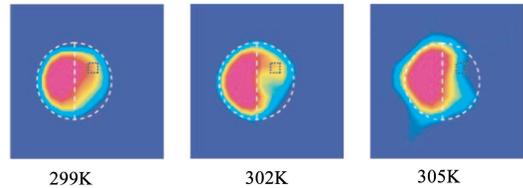


图 6 利用 ^{129}Xe 的化学交换速率对温度非常敏感这一特性, 用 MRI 技术获得的温度成像. 引自参考文献^[54]

除了以生物大分子作为探测对象以外, 超极化 ^{129}Xe MRI 还拓展出更多的用途. 温度是生理活动的重要参数, “笼”内外的 Xe 的化学交换速率对于温度非常敏感, 利用这种敏感性可以得到温度的空间分布成像 (见图 6). 根据已发表的研究结果, 利用 ^{129}Xe 生物探针对温度成像的温度分辨率已达到了 0.6°C , 如果应用于人体监测, 足以完成对人体内微小生理变化的检测^[54,55].

7 展望

尽管超极化 ^3He MRI 相对于超极化 ^{129}Xe 表现出了更高的灵敏度和空间分辨率, 但是由于 ^3He 的稀缺性, 目前来看, 不大可能成为未来医疗实践的选择. ^{129}Xe 除了拥有较好的经济性, 也具有较好的水溶性, 因此除了得到气态成像之外, 还可以在溶解状态下应用到人体组织成像, 如脑部血流示踪、肺部血流示踪. 从 MRI 技术的成熟程度看, 超极化 ^{129}Xe MRI 距离医学实际应用已经没有不可克服的技术障碍. 美国食品药品监督管理局 (FDA) 批准了 ^{129}Xe MRI 的临床研究, 哈佛大学医学院以及杜克大学医学院等研究单位已经开展了相关的人体实验, 初步证明了该方法的有效性、优越性和安全性.

中国科学院武汉物理与数学研究所同时具备 NMR/MRI 和激光抽运超极化技术, 因此在该领域有很好的研究基础, 在国家科技立项支持下, 我们目前正在开展超灵敏肺部 MRI 和分子影像的研究工作, 将从发展激光抽运技术和相关 NMR/MRI 技术的角度出发, 推动我国在该领域的进展, 同时, 我们也在积极寻求与医学研究单位合作的机会, 从医学应用的角度深入开展研究, 以期把该技术早日投入使用, 造福于公共医疗.

超极化 ^{129}Xe MRI 生物探针的技术发展水平,目前还处于以离体实验为主的初级阶段,主要以简单的模型为实验对象来摸索和验证新的方法。由于该项研究的技术性门槛较高,开展的时间也比较短,目前国际上只有少数几个领先的研究小组进入该领域,研究者的学科背景也主要是物理、化学及实验检测技术等。随着此项技术的逐步成熟,我们相信会有更多的生物学、医学研究小组加入到该领域,推动其在生物、医学研究领域的应用与发展。

参考文献

- [1] Bloch F, Hansen W W, Packard M. *Phys. Rev.*, 1946, 9: 127
- [2] Purcell E M, Torrey H C, Pound R V. *Phys. Rev.*, 1946, 69: 37
- [3] Navon G, Song Y Q, R6om T *et al.* *Science*, 1996, 271: 1848
- [4] Zeng X, Wu Z, Call T *et al.* *Phys. Rev. A*, 1985, 31: 260
- [5] Song C, Hu K, Joo C *et al.* *J. Am. Chem. Soc.* 2006, 128: 11385
- [6] Ardenkjær-Larsen J, Fridlund B, Gram A *et al.* *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2003, 100: 10158
- [7] Bowers C R, Weitekamp D P. *Phys. Rev. Lett.*, 1986, 57: 2645
- [8] Golman K, Axelsson O, Jóhannesson H *et al.* *Magn. Reson. Med.*, 2001, 46: 1
- [9] Walker T G, Happer W. *Rev. Modern Phys.*, 1997, 69 (2): 629
- [10] Bouchiat C C, Bouchiat M A, Porrier L C. *Phys. Rev.*, 1969, 181: 144
- [11] Grover B C. *Phys. Rev. Lett.*, 1978, 40: 391
- [12] Volk C H, Kwon T M, Mark J G. *Phys. Rev. A*, 1980, 21: 1549
- [13] Bhaskar N B, Happer W, Mcclelland T. *Phys. Rev. Lett.*, 1982, 49: 25
- [14] Zeng X Z, Wu T, Call E *et al.* *Phys. Rev. Lett.*, 1985, 31(1): 260
- [15] Li S, Sun X, Tang T *et al.* *Chinese Phys. Lett.*, 1987, 4: 162
- [16] Zeng X, Wu C, Li S *et al.* *Journal of Atomic and molecular Physics*, 1990, 7(4): 1636
- [17] 王春华, 孙献平. *波谱学杂志*, 2000, 17(3): 192 [Wang C H, Sun X P. *Chinese Journal of Magnetic resonance*, 2000, 17(3): 192]
- [18] Sun X, Hu H, Zeng X. *Appl. Magn. Reson.*, 1999, 16: 363
- [19] Sun X, Hu H, Zeng X *et al.* *Chinese Phys. Lett.*, 1999, 16(6): 408
- [20] Sun X, Wang S, Zeng X. *Chinese J. Laser.*, 2001, B10(1): 47
- [21] Zhou X, Sun X, Luo J *et al.* *Chinese Phys. Lett.*, 2004, 21(8): 1501; 孙献平, 罗军, 曾锡之. 中国发明专利号: ZL011 06694. 6, 授权公告日: 2004. 02. 06
- [22] 周欣, 罗军, 孙献平等. *物理学报*, 2002, 51(10): 2221 [Zhou X, Luo J, Sun X P *et al.* *Acta Physica sinica*, 2002, 51(10): 2221]
- [23] Huang S J, Huang C H, Chen W H *et al.* *J. Phys. Chem. B*, 2005, 109(2): 681
- [24] Zook A L, Adhyaru B B, Bowers C R. *J. Magn. Reson.*, 2002, 159: 175
- [25] Zeng X, Miron E, van Wijngaarden W A *et al.* *Phys. Lett. A*, 1983, 96: 191
- [26] Ramsey N, Miron E, Zeng X. *Chem. Phys. Lett.*, 1983, 102: 304
- [27] 孙献平, 周欣, 罗军等. 中国发明专利号: ZL03125419. 5, 授权公告日: 2006. 01. 02
- [28] Gatzke M, Cates G D, Driehuys B *et al.* *Phys. Rev. Lett.*, 1993, 70: 690
- [29] Clever H L. *Solubility Data Series*. Oxford: Pergamon Press, 1979
- [30] Wolber J, Rowland I J, Leach M O *et al.* *Magn. Reson. Med.*, 1999, 41: 1058
- [31] Bifone A, Song Y Q, Sydoux R *et al.* *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1996, 93: 12932
- [32] Spence M M, Rubin S M, Dimitrov I E *et al.* *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2001, 98: 10654
- [33] Zhou X, Mazzanti M, Chen J *et al.* *NMR Biomed.* 2008, 21: 217
- [34] Zhou X, Mazzanti M, Tzeng Y S *et al.* *Hyperpolarized Gas MRI of the Lung and Brain: Imaging Function and Disease in vivo*. NASA Human Research Program Investigators' Workshop. 2007
- [35] Albert M S, Cates G D, Driehuys B *et al.* *Nature*, 1994, 370: 199
- [36] 孙献平, 曾锡之. *物理*, 1999, 28: 352 [Sun X P, Zeng X Z. *Wuli (Physics)*, 1999, 28: 352]
- [37] Mugler J P III, Driehuys B, Brookeman J R *et al.* *Magn. Reson. Med.*, 1997, 37: 809
- [38] Driehuys B, Pollaro J, Cofer G P. *Magn. Reson. Med.*, 2008, 60: 14
- [39] Möller H E, Chen X J, Saam B *et al.* *Magn. Reson. Med.*, 2002, 47: 1029
- [40] Mata J F, Altes T A, Cai J *et al.* *J. Appl. Physiol.*, 2007, 102: 1273
- [41] Matsuoka S, Patz S, Albert M S *et al.* *J. Thorac. Imaging*, 2009, 24: 181
- [42] Patz S, Hersman F W, Muradian I *et al.* *Eur. J. Radiol.*, 2007, 64: 341
- [43] Driehuys B, Cofer G P, Pollaro J *et al.* *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2006, 103: 18278
- [44] Ruppert K, Brookeman J R, Hagspiel K D *et al.* *Magn. Reson. Med.*, 2000, 44: 349
- [45] Zhou X, Graziani D, Pines A. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2009, 106: 16903
- [46] Cleveland Z I, Cofer G P, Metz G *et al.* *PLoS ONE*, 2010, 5: e12192
- [47] Zhou X, Sun Y, Mazzanti M *et al.* *NMR Biomed.*, 2011, 24: 170
- [48] Mazzanti M, Walvick R P, Zhou X *et al.* *PLoS ONE*, 2011 (in press)
- [49] Tilton R F, Kuntz I D. *Biochemistry*, 1982, 21: 6850
- [50] Prange T, Schiltz M, Pernot L *et al.* *Proteins*, 1998, 30: 61
- [51] Bowers C R, Storhaug V, Webster C E *et al.* *J. Am. Chem. Soc.*, 1999, 121: 9370
- [52] Schröder L, Lowery T J, Hilty C *et al.* *Science*, 2006, 314: 446
- [53] Berthault P, Bogaert B A, Desvaux H *et al.* *J. Am. Chem. Soc.*, 2008, 130: 16456
- [54] Schröder L, Chavez L, Meldrum T *et al.* *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2008, 47: 4316
- [55] Schröder L, Meldrum T, Smith M *et al.* *Phys. Rev. Lett.*, 2008, 100: 257603