

平成 30 年 6 月 8 日現在

機関番号：14301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K01283

研究課題名(和文) 分子イメージングにおけるMRIの高感度化を目指した要素技術の確立

研究課題名(英文) Establishing elemental technologies of high-sensitive MRI for molecular imaging

研究代表者

今井 宏彦 (IMAI, Hirohiko)

京都大学・情報学研究科・助教

研究者番号：40506466

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：分子イメージングにおけるMRIの高感度化を実現する構想のなかで、本研究は、MRIによる生体内分子の検出技術のひとつである化学交換飽和移動法(CEST)に注目し、CEST MRIに関連する要素技術の確立を目的とした。CEST MRIの適用範囲の拡大を目的に、新規計測対象物質としてドパミンを検討し、CEST MRIにより計測可能であることを実証した。また、CEST MRI撮像の高速化を目的に新しい撮像法を提案し、実験的にその有用性を示した。さらに、標的分子の高感度MRI計測法となり得るHyperCEST MRIの実現を目指し、その根幹をなす超偏極 ^{129}Xe ガスの生成に関する基礎検討を行った。

研究成果の概要(英文)：We studied on several techniques related to a CEST MRI in order to develop a high-sensitive MRI method for molecular imaging. We have demonstrated that a neurotransmitter dopamine becomes a novel target for CEST MRI. Furthermore, we proposed a novel methodology for accelerating CEST MRI and demonstrated its utility. Finally, we studied on the improvement of hyperpolarized ^{129}Xe gas production method for use in HyperCEST MRI.

研究分野：医用磁気共鳴

キーワード：磁気共鳴イメージング 核磁気共鳴 分子イメージング 化学交換飽和移動 超偏極

1. 研究開始当初の背景

近年、生体内で起こる様々な生物学的・分子生物学的なプロセスの時空間動態を可視化する分子イメージングが注目されている。特に、疾患の存在や進行度の指標となる生体内分子(バイオマーカー)のイメージングは、疾病の早期発見に直結するだけでなく、発症に起因する分子レベルの変化を捉え、病因の解明さらには創薬支援につながる可能性があるとして期待されている。分子レベルで生体内の情報をイメージングする方法として、PET、SPECT などの放射線を利用する核医学的手法、可視光・蛍光・近赤外光などを利用する光イメージングなどがあるが、それぞれ、放射性同位体の使用による被曝や低空間分解能、生体深部の計測の困難さ、などの制限がある。一方で、磁気共鳴イメージング(MRI)は、非侵襲的に生体深部の情報を高空間分解能に得ることができるという特徴を有するが、計測感度の低さが課題であり、MRIによる分子イメージングの発展に向けてその飛躍的な高感度化が望まれている。

2. 研究の目的

分子イメージングにおけるMRIの高感度化を実現する構想のなかで、本研究は、MRIによる生体内分子の検出技術のひとつである Chemical Exchange Saturation Transfer (CEST) 法に注目し、CEST MRI に付随する各要素技術の確立を目的とした。特に、(1) CEST MRI の新規計測対象物質の探索、(2) CEST MRI の高速化手法の開発、(3) HyperCEST MRI の実現を目指した検討、を中心に研究開発を行った。

3. 研究の方法

CEST MRI について

CEST MRI は、溶質化合物に含まれる水素原子とその周囲の水の水素原子との間で起こる化学交換現象を利用する画像化法である。CEST MRI では、化学交換可能な水素原子を含むアミノ基や水酸基を有する化合物が観測対象となる。この水素原子核(プロトン)の共鳴周波数は水プロトンの共鳴周波数と異なる(化学シフト)ため、溶質プロトンの化学シフトに一致する周波数の電磁波を照射することにより、溶質プロトンの磁化を選択的に飽和させることができる。この飽和した溶質プロトンは化学交換により周囲の水プロトンの一部と置換し、水の磁気共鳴信号強度が低下する。このような溶質プロトンの飽和と水プロトンへの移動を繰り返すことで、水プロトンに飽和プロトンが蓄積し、水の信号強度に大きな変化をもたらす。このように豊富に存在する水の信号強度変化を通じて目的の化合物の存在を検出するため、低濃度の化合物であっても高感度に画像化できる。

CEST MRI で飽和に用いる電磁波を飽和パルスと呼ぶ。CEST MRI 計測では、異なる周波数の飽和パルスを与えて水の信号を収集し、各

周波数に対する水の信号強度変化を解析する。飽和パルスの周波数に対して信号強度をプロットしたものを z-スペクトルと呼ぶ。z-スペクトルは、溶質プロトンの共鳴周波数の部分では CEST 効果により信号強度が低下し、水プロトンの共鳴周波数の部分では水プロトンの直接の飽和により信号強度が低下するプロットとなる。z-スペクトルから水プロトンの直接の飽和の効果を排除し、CEST 効果による信号強度変化のみを取り出す処理を MTR asymmetry 解析と呼ぶ。

(1) CEST MRI の新規計測対象物質の探索

これまでに、CEST MRI の対象化合物として種々の内因性あるいは外因性の化合物が報告され、さらに種々の疾患について CEST MRI が適用され、その有用性が検証されるとともに多くの知見が蓄積されてきている。本研究では、CEST MRI の適用範囲の拡大を目的に、新規計測対象物質の探索を行うこととした。

神経伝達物質のひとつであるドパミンは、その化学構造に水酸基およびアミノ基を有し(図 1a)、それらに含まれるプロトンは水のプロトンと交換可能であることから、CEST MRI の対象分子となり得るが、ドパミンの CEST 効果に関する報告は無い。そこで本研究では、CEST MRI の新たな対象分子としてドパミンを候補とし、CEST MRI による検出の可能性に関する基礎検討を行った。

濃度 0-15mM のドパミン水溶液を対象として MRI 計測実験を行い、CEST 効果を詳細に調べた。MRI 計測実験には動物用 7T MRI 装置(Bruker BioSpin 社製)を使用した。飽和パルスは連続波(CW)とし、照射強度(B_1)を 1-12 μ T、照射時間(t_{sat})を 1-10s の範囲で変化させ、最適な照射条件を探索した。飽和パルスの周波数は、水の共鳴周波数を 0ppm として -16 ~ +16ppm まで 0.2ppm 刻みで計 161 通りとした。飽和パルス照射後、2D RARE 法を用いて画像化した(図 1b)。得られた画像から、z-spectrum および MTR asymmetry を求め、各条件下(濃度、飽和パルス強度および照射時間)での CEST 効果を検証した。

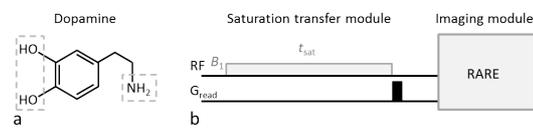


図 1. a: ドパミンの化学構造. b: 撮像パルス系列.

(2) CEST MRI の高速化手法の開発

上述のように、CEST MRI における z-スペクトルの取得には、異なる飽和周波数で収集した複数の画像が必要であるため、撮像に時間を要する。飽和パルスの照射時に傾斜磁場を印加することにより、2 スキャンで z-スペクトルを得る方法(ultrafast z-spectroscopy, UFZ)が報告されているが、対象が傾斜磁場に沿って空間的に均質であることや傾斜磁場方向に1つの z-スペクトルしか得られない、

といった制限がありその適用範囲は溶液試料に留まっている。本研究では、生体計測への利用を念頭に CEST MRI の新しい高速化手法を提案した。

従来の UFZ 法では飽和パルスとして連続波 (CW) を用いるが、本研究では CW に代えて DANTE パルスの導入を検討した。多数の電磁波パルスを繰り返し照射すると、先鋭化した帯域が周期的に繰り返される周波数特性となる。この一連のパルス列を DANTE パルスと呼ぶ。DANTE パルス照射時に傾斜磁場を印可すると、その周波数特性から磁化に対して空間的に繰り返す飽和パルスとなる。これにより、傾斜磁場方向に沿って連続的な z-スペクトルが得られ、複数の画像を収集することなく z-スペクトルの空間分布を得ることができる。この提案手法について、計算機シミュレーション及び水溶液ファントムを用いた計測実験を行った。MRI 計測実験には動物用 7T MRI 装置 (Bruker BioSpin 社製) を使用し、計測対象は、すでに CEST MRI が適用されているグルタミン酸とし (図 2a)、濃度は 50mM とした。飽和パルスとして DANTE パルスを 3-lobe sinc 関数で振幅変調し一定強度の傾斜磁場存在下で照射した。RF パルスの照射強度を調整しフリップ角が $\pi/2$ となるように設定した。当該パルス列を 1-600 回の範囲で繰り返し照射し、繰り返し回数 (N) に対する CEST 効果の影響を調べた。飽和に要する時間 (t_{sat}) は 19.3ms-11.6s である。飽和パルス照射後、2D RARE 法を用いて画像化した (図 2b)。

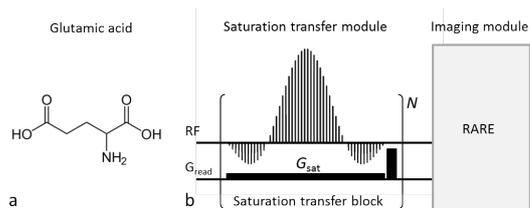


図 2.a: グルタミン酸の化学構造. b: 提案した撮像パルス系列.

(3) HyperCEST MRI の実現を目指した検討
磁気共鳴法の飛躍的な高感度化の方法として、核スピン偏極の非平衡状態を利用した超偏極法がある。これは、信号源である核スピンの偏極状態を操作し、信号強度を 1 万-10 万倍に増強させる方法である。磁気共鳴計測が可能な核種である ^3He や ^{129}Xe などの希ガスは、スピン交換光ポンピング (SEOP) 法により超偏極状態を生成することができ、希薄な気体でありながら高感度に MR 計測できる特徴がある。近年、超偏極 ^{129}Xe と CEST を併用した HyperCEST と呼ばれる手法が出現し、分子イメージング分野への応用が試みられている。HyperCEST は、特定分子をターゲットにできる機能を保持させた化合物と、超偏極 ^{129}Xe との相互作用を利用する Xe パイオセンサーを用いて標的分子を MR 計測するイ

メージング法である。しかしながら現段階では、試験管内溶液中における細胞や細菌などでの基礎検討に留まっている。本研究では、生体における HyperCEST MRI の実現を目指し、まずはその根幹となる超偏極 ^{129}Xe ガスの生成に関して、高い偏極率 (検出感度を反映する指標) の ^{129}Xe を高効率に生成する手法について検討した。

4. 研究成果

(1) CEST MRI の新規計測対象物質の探索
様々な濃度のドパミン水溶液を対象とし、CEST MRI 計測により z-スペクトルを取得した (図 3a)。MTR asymmetry 解析により CEST 効果を評価したところ、ドパミン濃度に比例した CEST 効果が観測され (図 3b)、そのイメージングも可能であった (図 3c)。また、飽和パルスの実験的最適化から、10 μT の強度で 8s の照射が適切であることを確認した (図 3d, e)。

パーキンソン病は、脳内のドパミンの不足により様々な運動障害をきたすが、非侵襲に生体内のドパミンを可視化する技術は無い。MRI によるドパミンの直接検出が実現すれば、パーキンソン病の診断や治療効果判定の新たな手法となり得る。本研究はドパミンが CEST MRI により計測可能であることを実証し、その基礎データを取得した (今井宏彦 他, 第 43 回日本磁気共鳴医学会大会, 2015)。今後は in vivo での計測に向けた取り組みを行う予定である。

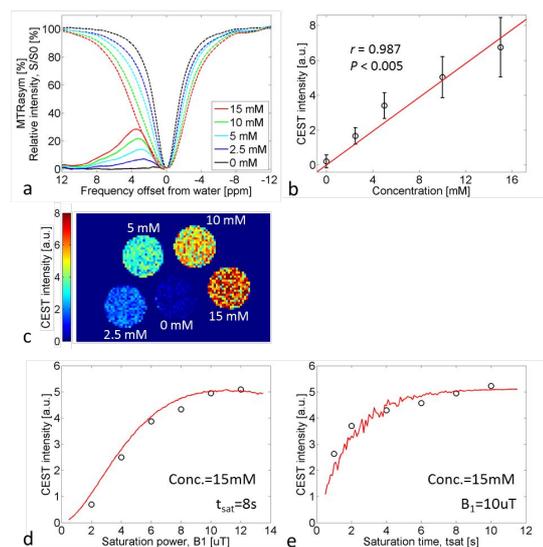


図 3. ドパミン水溶液の CEST MRI. a: z-スペクトルと MTRasym のドパミン濃度依存性. b: CEST 信号強度の濃度依存性. c: CEST MRI 画像. d, e: CEST 信号強度の B_1 依存性(d)および t_{sat} 依存性(e).

(2) 高速化手法の開発

グルタミン酸水溶液を対象に、従来の UFZ 法および提案手法による MRI 計測実験を行った。従来の UFZ 法では 1 回のスキャンで得られる z-スペクトルは 1 つであるのに対し (図 4a, b)、提案手法では傾斜磁場印加方向に沿って周

期的に複数の z-スペクトルを観測できた(図 4c,d)。この結果はシミュレーション実験での結果とよく一致するものであった。また、飽和パルスの照射回数を増加させるとともに MTR asymmetry 解析から評価した CEST 効果は上昇し、N=300 ($t_{\text{sat}}=6\text{s}$)程度でプラトーに達した(図 4e,f)。

通常 MRI 撮像と比べて撮像に時間を要する CEST MRI において、画像取得に必要なデータ収集を高効率に行う手法の開発は、生体計測を対象とする分子イメージングにおいて必須である。本研究により CEST MRI の高速化を可能とする撮像パルス系列の基本形を確立できた (Imai H, et al, International Society for Magnetic Resonance in Medicine 25th Annual Meeting, 2017. 今井宏彦 他, 第 45 回日本磁気共鳴医学会大会, 2017)。今後は、空間分解能を向上させるための取り組みを行う予定である。

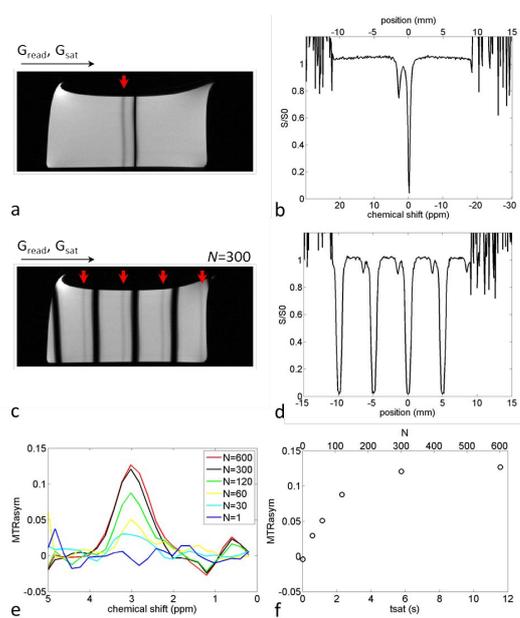


図 4. a,b:従来の UFZ 法による MRI 画像(a)および z-スペクトル. c,d:提案手法による MRI 画像(c)および z-スペクトル(d). e,f:MTRAsym(e)および CEST 効果(f)の DANTE パルス照射回数依存性.

(3) HyperCEST MRI の実現に向けた検討
通常、超偏極 ^{129}Xe ガスの生成には Xe を希釈した混合ガスを用いる。研究代表者はすでに超偏極 ^{129}Xe 生成の際に濃縮過程を導入する方法を考案し、これにより高偏極率かつ高濃度の超偏極 ^{129}Xe ガスを連続的に生成可能であることを実験的に確認していた。これにより信号強度は従来の 2-3 倍まで増強可能であったが、本研究では偏極と濃縮の条件を詳細に検討することで 4 倍程度の増大まで可能とした(図 5a,b)。しかし、理想的な条件下では濃縮の効果により 30 倍程度にまで増強可能であるとの予想に対して、実験値は極めて低い増大率であった(図 5c)。そこで、その要因を検証するため、SEOP 法の原理と超偏極 ^{129}Xe ガスの濃縮過程を中心に理論的に検討

した。その結果として、濃縮による Xe ガスの流量低下が ^{129}Xe 偏極率の低下を引き起こし、増大率を低下させることを明らかとし、この課題を解決し理想条件下での増大率へ近づけるための方針を明確にした (Imai H, et al, Scientific Reports, 7, 7352, 2017)。

HyperCEST MRI は、試験管レベルでは標的分子を pM オーダーで検出可能であることが報告されており、これは従来の MRI における検出感度を大幅に凌駕するものである。本手法を試験管レベルから生体計測へステップアップできれば、MRI による分子イメージングの飛躍的な展開が期待できる。本研究は、この技術における検出感度の根幹となる超偏極 ^{129}Xe 自身の高感度化に関するものであり、今後は上述の課題の解決に向けた取り組みを行う予定である。

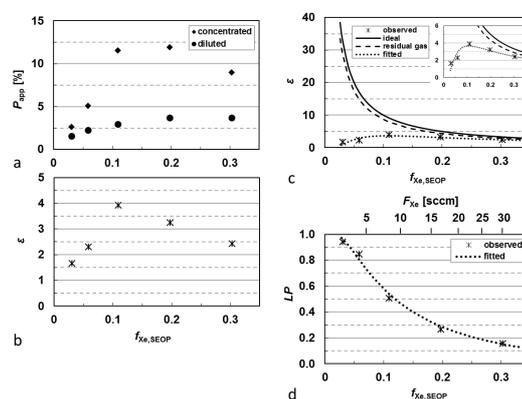


図 5: a:混合ガス中の Xe の割合に対する ^{129}Xe MR 信号強度の濃縮の有無での比較. b:濃縮による信号強度増大率. c:増大率の実測値と理想条件下での増大率の比較. d:濃縮に起因する偏極率ロスファクター.

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 4 件)

Shota Hodono, (5 名省略), Hirohiko Imai (7 番目), (2 名省略), Ethyl pyruvate improve pulmonary function in mice with bleomycin-induced lung injury as monitored by hyperpolarized ^{129}Xe MRI, Magnetic Resonance in Medical Sciences, 査読有, 印刷中

DOI:10.2463/mrms.mp.2017-0163

Hirohiko Imai, et al(3 名省略), Continuous flow production of concentrated hyperpolarized xenon gas from a dilute xenon gas mixture by buffer gas condensation, Scientific Reports, 査読有, Vol.7, 2017, 7352

DOI:10.1038/s41598-017-07695-7

Atsuomi Kimura, (5 名省略), Hirohiko Imai (7 番目), (1 名省略), Treatment response of ethyl pyruvate in a mouse model of chronic obstructive pulmonary disease studied by hyperpolarized ^{129}Xe MRI,

Magnetic Resonance in Medicine, 査読有,
Vol.78, 2017, 721-729
DOI:10.1002/mrm.26458

Shota Hodono, Hirohiko Imai, et al(6
名省略), Hyperpolarized ^{129}Xe MRI using
isobutene as a new quenching gas, NMR in
Biomedicine, 査読有, Vol.29, 2016,
1414-1419
DOI:10.1002/nbm.3585

〔学会発表〕(計13件)

今井 宏彦 他(2名省略)、Gradient
encoded CEST MRI における複数の Z-スペク
トルの同時計測、第 45 回日本磁気共鳴医学
会大会、2017 年 [学術奨励賞受賞]

Hirohiko Imai, et al(2名省略),
Simultaneous acquisition of multiple
Z-spectra using sinc-modulated RF pulse
trains in gradient encoded CEST MRI,
International Society for Magnetic
Resonance in Medicine 25th Annual Meeting,
2017

今井 宏彦、CEST/MT の基礎、第 43 回日本
磁気共鳴医学会大会、2015 年

今井 宏彦 他(2名省略)、CEST MRI によ
るドパミン検出に関する基礎的検討、第 43
回日本磁気共鳴医学会大会、2015 年

他、9 件

〔図書〕(計2件)

Francis T Hane, Hirohiko Imai, et al(5
名省略), Elsevier, “Brain imaging using
hyperpolarized xenon MRI” in
Hyperpolarized and Inert Gas MRI. From
Technology to Application in Research and
Medicine, 2016, 332(251-262)

Hirohiko Imai, et al(2名省略),
Elsevier, “Development and application
of mouse imaging using hyperpolarized
xenon” in Hyperpolarized and Inert Gas
MRI. From Technology to Application in
Research and Medicine, 2016, 332(115-129)

〔産業財産権〕

出願状況 (計 1 件)

名称：超偏極希ガス生成供給装置
発明者：藤原英明、木村敦臣、今井宏彦
権利者：同上
種類：特許
番号：特願 2017-233022
出願年月日：2017 年 12 月 5 日
国内外の別：国内

6. 研究組織

(1) 研究代表者

今井 宏彦 (IMAI, Hirohiko)
京都大学・大学院情報学研究科・助教
研究者番号：40506466