

令和 4 年 6 月 6 日現在

機関番号：14301

研究種目：基盤研究(B)（一般）

研究期間：2018～2021

課題番号：18H03515

研究課題名（和文）化学交換飽和移動法を利用したドパミンの磁気共鳴イメージングに関する研究

研究課題名（英文）Magnetic Resonance Imaging of Dopamine Using Chemical Exchange Saturation Transfer

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） 13,200,000円

研究成果の概要（和文）：本研究では、神経伝達物質のひとつであるドパミンを非侵襲的に観察するドパミンイメージングの実現を目指し、低濃度分子の磁気共鳴撮影(MRI)を可能とするCEST MRI技術の開発を行った。その成果として、CEST MRIにより水溶液中におけるドパミンの画像化が可能であることを示した。さらに、ドパミンのCEST MRIにおける種々の特性を明らかにするとともに、ドパミンの定量手法を開発した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

脳内のドパミン量とパーキンソン病や統合失調症との関連が知られているが、現在のところ脳内のドパミンを直接イメージングする技術は存在しない。本研究の成果であるドパミンイメージングの手法を進展させることにより、ドパミン神経系と生体機能との関連に関する詳細な理解や、ドパミン関連疾患の発症機序の解明や新規治療法の開発、あるいは早期診断や鑑別診断に資する技術としての利用が期待できる。

研究成果の概要（英文）：CEST MRI can sense the presence of low concentration of molecules with enhanced sensitivity and high spatial resolution. The aim of this study was to investigate the feasibility of using the CEST MRI to image dopamine, a neurotransmitter that plays an important role in the central nervous system. As a result, we have demonstrated that the dopamine is detectable and can be imaged by CEST MRI. We further investigated the various basic properties of CEST MRI of dopamine and developed a method for quantification of dopamine.

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 ドパミン

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

1. 研究開始当初の背景

神経伝達物質の一つであるドパミンは、多様な中枢神経機能に關与する重要な生体分子である。ドパミン神経系の機能不全は、様々な疾患を引き起こす。例えば、黒質-線条体系でドパミン神経細胞が変性・脱落しドパミン量が減少すると、パーキンソン病を (PD) を発症し様々な運動障害をきたす。PD はアルツハイマー病に次いで患者数が多い進行性の神経変性疾患であり、特に今後超高齢社会を迎える日本において患者数がさらに増加すると予想されている。しかし、PD をはじめドパミン神経系が關与するとされる疾患の多くは、その発症の原因が解明されておらず、根本的な治療法や早期診断の方法も確立されていない。現在のところ、脳内におけるドパミン量とその空間分布を非侵襲的に計測する技術は存在しないため、その開発は、この状況に対する解決策を提示できる可能性がある。医用イメージングの分野では、ドパミン神経系の評価に SPECT や PET などの核医学的検査が利用されるが、ドパミンを直接検出することはできない。また、放射性同位体の使用による被曝、空間分解能の低さ、定量が困難などの問題がある。

近年、特定の疾患やその進行度の指標となる生体内分子 (バイオマーカー) を可視化する分子イメージングの開発が進められ、疾患の早期発見や鑑別診断をはじめ、医薬品開発や治療効果の判定などへの利用が期待されている。この分野において、化学交換現象 (CEST) を利用する MRI 撮像法である CEST MRI が、新しい分子イメージング技術として注目されている。CEST MRI は、MRI に基づく撮像技術であるため侵襲性は無く、低濃度の分子であっても高感度かつ高空間分解能で画像化できることが特徴である。これまでに、CEST MRI の計測対象として種々の生体内分子が報告されるとともに、いくつかの疾患について CEST MRI の有用性が検証され、その適用範囲が拡大しつつある。

2. 研究の目的

CEST MRI は、生体内分子の多くに含まれるアミノ基や水酸基の水素原子 (プロトン) がその周囲の水プロトンと常に化学交換していることを利用し、豊富に存在する水の MRI 信号を介して目的の分子の存在を検出するため、低濃度の分子を高感度かつ高空間分解能で画像化できる。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ていることから、CEST MRI の対象分子となり得る。そこで本研究では、ドパミンをイメージングする新たな技術として、CEST MRI の利用を提案し、その実現可能性の検証を目的とした。

3. 研究の方法

ドパミンの CEST MRI はこれまでに前例が無いため、その基礎的な特性の理解や生体内でのイメージングに向けて解決すべき課題を整理する必要があった。また、ドパミン量の低下あるいは増加が想定されるドパミン関連疾患への適用を念頭におく本研究では、単に対象分子の空間分布を示す定性的な画像の取得だけでは無く、その濃度や交換速度の評価が可能な定量画像の取得が必要であるため、その手法の開発にも取り組んだ。

本研究における MRI 計測実験では、前臨床用 7T MRI (Bruker BioSpin 社製 BioSpec 70/20 USR 型) を用いた。本研究の事前準備として、MRI 装置に基本となる CEST MRI の撮像パルス系列を実装した。また、撮影から得られる画像データを解析するためのプログラムを構築した。さらに、様々な条件下における CEST MRI 信号を計算機シミュレーションにより計算するために、MRI の信号源であるプロトンの巨視的磁化の振る舞いを記述する Bloch 方程式に CEST MRI に関わる化学交換の項を含めた Bloch-McConnell 方程式に基づく CEST MRI の数値シミュレーションプログラムを構築した。

本研究では下記の 3 つの研究項目に分けて研究を進めた。

(1) ドパミンの CEST MRI における基礎データの収集

ドパミンの CEST MRI における特性を知るため、試験管に封入したドパミン水溶液を対象にドパミンの NMR スペクトルを観測し、アミノ基および水酸基のプロトンについて、化学シフト、緩和時間、化学交換の有無などの基礎データを測定した。次に、ドパミン水溶液を対象に、CEST MRI 撮影を行った。これらの結果をもとに、ドパミンの CEST MRI に関するより詳細な知見を蓄積することとした。

CEST MRI で観測する信号 (CEST 信号) は、分子固有の特性 (化学交換速度、化学シフト、濃度など)、周囲の環境 (温度、pH など)、MRI 撮像パラメータ (飽和 RF パルスの強度、飽和 RF パルスの照射時間など) などが関連する複雑な相互作用の結果として現れる。また生体内の低濃度分子を検出するためには、その微小な信号を最大限の効率で捉えることが必須となる。MRI 撮影では、撮像パルス系列を工夫することで目的に応じた撮影データのより効果的な取得が可能になると期待できるため、そのためにも様々な CEST MRI 撮像条件と CEST 信号強度との関連性を把握する必要がある。これらを踏まえて本研究項目では、様々な条件下での計測を想定し、Bloch-McConnell 方程式を用いて CEST 信号の計算機シミュレーションを行っ

た。また、濃度、pH、温度を変化させた複数のドパミン水溶液を対象に、CEST MRI 計測を行い、シミュレーション結果と実測に基づくデータとを比較・評価した。

(2) ドパミンの定量化手法の開発

ドパミンは、その分子構造内に CEST MRI の対象となる交換性プロトンとしてヒドロキシ基プロトンとアミノ基プロトンの 2 種類を有するため、これらを個別に定量評価することが必要となる。そこで CEST MRI において複数種の交換性プロトンに由来する CEST 信号から各成分を分離して定量および画像化する手法を提案し、数値シミュレーションおよびドパミン水溶液を対象とした撮影実験を行い、提案手法を評価した。

(3) 短時間撮影データからの定量画像生成手法の開発

CEST MRI を用いて対象分子の濃度および化学交換速度などを推定する様々な手法が提案されているが、CEST MRI は一般的な MRI 撮影と比べて撮影に時間を要することから、定量画像を取得するにはさらに撮影時間が長期化する。このような実用に向けた課題を解決するため、短時間の計測から濃度および交換速度を同時にかつ高い精度で推定する手法の開発を目的に、定量的 MRI 法のひとつである MR Fingerprinting(MRF)の手法を CEST MRI に導入した CEST MRF の可能性を検討した。

4. 研究成果

本研究の主な成果を研究項目ごとに記載する。

(1) ドパミンの CEST MRI における基礎データの収集

試験管に封入したドパミン水溶液を対象にドパミンの NMR スペクトルを観測し(図 1)、ドパミンのアミノ基および水酸基のプロトンについて、化学シフト($\delta\omega$)、緩和速度(R_1 , R_2)に関する基礎情報を得た(Table 1)。また、ドパミン水溶液を対象に CEST MRI によるドパミンの直接検出と画像化に成功した(図 2)。

Table 1. NMR properties of chemically exchangeable protons in dopamine^a

Functional group	$\delta\omega$ (ppm) ^b	R_1 (s ⁻¹)	R_2 (s ⁻¹)
Hydroxyl (C3-OH)	4.66	1.01	5.33
Hydroxyl (C4-OH)	4.62	1.00	5.83
Amine	3.73	4.43	29.00
Water ^c	0.00	0.27	0.38

^aData were obtained for 15 mM of dopamine hydrochloride dissolved in DMSO-d₆ at 37 °C at 7T.

^b $\delta\omega$ denotes a chemical shift offset from water and ppm listed is relative to the resonant frequency of water.

^cValues obtained from water in PBS.

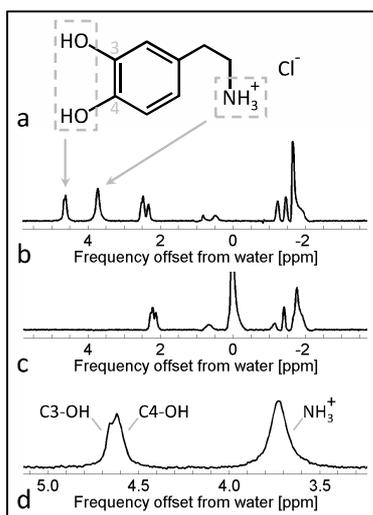


図 1. (a) ドパミンの分子構造。破線で示すヒドロキシ基およびアミノ基に CEST MRI の対象となる交換性プロトンを含む。(b, c) 7T, 37 °C におけるドパミンの NMR スペクトル。溶媒は DMSO-d₆ (b) および D₂O (c) である。(d) ヒドロキシ基 (4.6ppm 付近) およびアミノ基 (3.7ppm 付近) の拡大スペクトル。

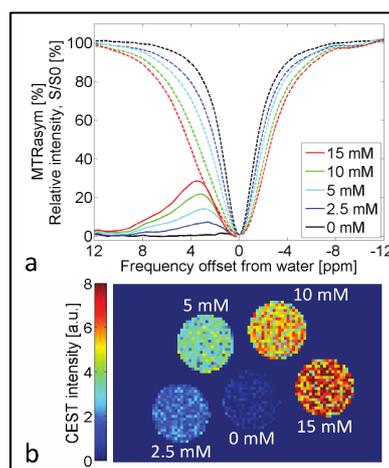


図 2. ドパミン水溶液の CEST MRI。(a) Z スペクトル (破線) および MTRAsym (実線)。(b) CEST コントラスト画像 (ピクセル毎に計算した MTRAsym の 0.2-10ppm の積分値をカラーマップ表示)

(2) ドパミンの定量化手法の開発

ドパミンのヒドロキシ基プロトンとアミノ基プロトンの 2 種類を分離して定量する手法を提案し、pH を変えることで交換速度を変化させた 8 種類のドパミン水溶液を対象に交換速度を定量評価した。提案手法により CEST スペクトルからヒドロキシ基プロトンとアミノ基プロトンを分離して解析することができ (図 3a) 各 pH における交換速度の推定が概ね可能であったが (図 3b,c) 交換速度によっては推定が困難という課題も浮上した。

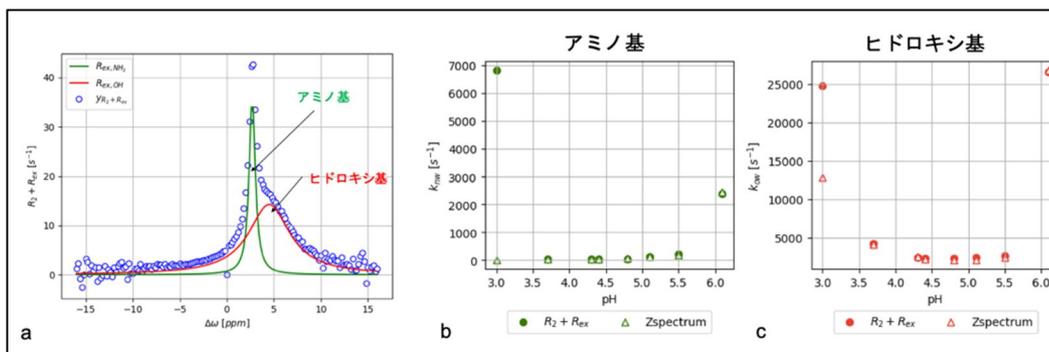


図 3. (a) ドパミン水溶液の CEST MRI 計測により得た CEST スペクトルからヒドロキシ基プロトンとアミノ基プロトンを分離解析した一例. (b,c) アミノ基プロトン (b) およびヒドロキシ基プロトン (c) の pH 毎の交換速度の推定値.

(3) 短時間撮影データからの定量画像生成手法の開発

CEST MRF により濃度および交換速度の定量画像を生成するための撮像パルス系列および定量値推定プログラムを設計・実装した。提案手法の特性を把握するため、撮像実験は CEST スペクトルのピークを 2 つ有するドパミンではなくピークを 1 つのみ有するより単純な L-Arginine 水溶液を用いて行った。撮像実験から、提案手法と従来手法とで得られる定量画像を比較し、同程度の推定結果であることが確認できた (図 4)。

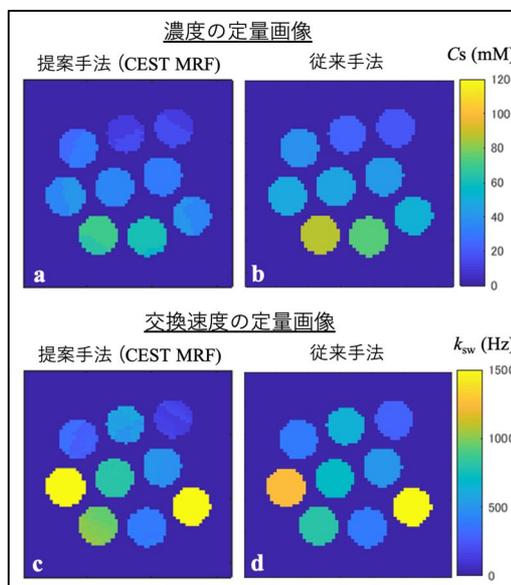


図 4. 濃度及び交換速度の異なる 9 種類の L-Arginine 水溶液ファントムにおける提案手法と従来手法による分子濃度 (a,b) 及び交換速度 (c,d) の定量画像生成結果.

本研究によって、CEST MRI を用いるこれまでに無い新しいアプローチでドパミンを直接イメージングできることを実証した。また、その定量評価が可能であることも示した。現状では、ドパミン水溶液を対象とした検討にとどまっているが、今後、本手法をさらに洗練したうえで、動物実験へと展開する必要がある。

これまでに、CEST MRI の対象物質・対象疾患の探索を中心に、前臨床および臨床試験を通して多くの知見が蓄積されつつある。例えば、癌細胞に含まれる高分子に由来する CEST 信号の変化から、臨床では特に癌の鑑別診断に有用であることが示され研究が進められている。また、グルコースの検出が可能であることが示され、FDG PET 検査に代わる、放射性同位元素を使わない癌の診断技術であると注目されている。神経伝達物質に関しては既にグルタミン酸の *in vivo* CEST MRI が報告されているが、ドパミンについては報告されておらず、本研究が初である。

本手法は、広く普及している通常の MRI 装置で実行可能であることと、特別な化合物を合成する必要が無くその投与を含む生体へのリスクが無いこと、臨床応用への展開が容易であると考えられる。そのため、本研究で開発した技術を進展させることで、ドパミン関連疾患をより深く理解するための研究や創薬研究へ資するツールとして、あるいは、早期発見や鑑別診断のための技術へと発展することが期待できる。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計30件（うち査読付論文 30件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Someya Yuko, Ima Mami, Imai Hirohiko, Yoshizawa Akihiko, Kataoka Masako, Isoda Hiroyoshi, Le Bihan Denis, Nakamoto Yuji	4. 巻 12
2. 論文標題 Investigation of breast cancer microstructure and microvasculature from time-dependent DWI and CEST in correlation with histological biomarkers	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 6523
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-022-10081-7	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計69件（うち招待講演 0件／うち国際学会 13件）

1. 発表者名 Kazuho Kamba, Hirohiko Imai, Tetsuya Matsuda
2. 発表標題 Design for the image acquisition sequence of CEST MR fingerprinting by the cost-based algorithm
3. 学会等名 41th Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Kazuho Kamba, Hirohiko Imai, Tetsuya Matsuda
2. 発表標題 Design for the saturation RF pulse patterns in CEST MR fingerprinting by cost-based algorithm
3. 学会等名 第47回日本磁気共鳴医学会大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Kazuho Kamba, Hirohiko Imai, Megumi Nakao, Tetsuya Matsuda
2. 発表標題 A proposal of the image acquisition sequence of MR fingerprinting for CEST MRI
3. 学会等名 40th Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Kazuho Kamba, Hirohiko Imai, Megumi Nakao, Tetsuya Matsuda
2. 発表標題 Design for the saturation RF pulse patterns in MR fingerprinting for CEST MRI
3. 学会等名 第46回日本磁気共鳴医学会大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Yuko Someya, Mami Imai, Hirohiko Imai, Akihiko Yoshizawa, Yuji Nakamoto, Masako Kataoka, Hiroyoshi Isoda, Kaori Togashi
2. 発表標題 Investigation of breast cancer microstructure and microvasculature from time-dependent DWI and CEST in correlation with histology
3. 学会等名 ISMRM & SMRT Virtual Conference & Exhibition (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 村上知広、山田久嗣、今井宏彦、青山安宏、木村祐、近藤輝幸
2. 発表標題 新規ホスホリルセリンポリマーの合成と機能評価
3. 学会等名 日本化学会第 99 回春季年会 (2019)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Yuko Someya, Mami Imai, Hirohiko Imai, Akihiko Yoshizawa, Hiroyoshi Isoda, Kaori Togashi
2. 発表標題 In vivo measurement of APT and ADC in human breast cancer xenografts: correlation with quantitative histopathology using machine learning
3. 学会等名 第 47 回日本磁気共鳴医学会大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 村上知広、山田久嗣、今井宏彦、青山安宏、木村祐、近藤輝幸
2. 発表標題 新規ホスホリルセリンポリマーブローブの合成と化学交換飽和移動 (CEST)-MRI による機能評価
3. 学会等名 第 9 回 CSJ 化学フェスタ 2019
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 村上知広、山田久嗣、今井宏彦、青山安宏、木村祐、近藤輝幸
2. 発表標題 化学交換飽和移動(CEST)-MRI ブローブとしての新規ホスホリルセリンポリマーの合成と機能評価
3. 学会等名 第58回NMR討論会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Yuko Someya, Mami Iima, Hirohiko Imai, Akihiko Yoshizawa, Yuji Nakamoto, Masako Kataoka, Hiroyoshi Isoda
2. 発表標題 非造影拡散 MRI と CEST を用いた乳癌微細構造の定量化
3. 学会等名 The 79th Annual Meeting of the Japan Radiological Society
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 村上知広、山田久嗣、今井宏彦、青山安宏、木村祐、近藤輝幸
2. 発表標題 化学交換飽和移動(CEST)MRI に有効な新規ホスホリルセリンポリマーブローブ
3. 学会等名 日本化学会第 101 回春季年会 (2021)
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------