

上田 淳平<sup>1</sup>, 澤谷 令香<sup>2</sup>, 齋藤 茂芳<sup>1,3</sup>

1, 大阪大学医学部附属病院 医療技術部 放射線部門

2, 大阪大学大学院 医学系研究科 保健学専攻 生体理工学講座

3. 国立循環器病研究センター 先端医療技術開発部

### 1. Chemical exchange saturation transfer (CEST)

Chemical exchange saturation transfer (CEST) とは、それぞれ異なった共鳴周波数を持ち、化学交換をおこなっている 2 種類のプロトンプールにおいて、一方のプロトンプールに対し選択的に信号を飽和させたとき、化学交換を介して他方のプロトンプールにも信号の飽和が移動することを指す。この CEST を MRI 適応した報告が 2000 年に Ward らによってなされている<sup>1)</sup>。CEST MRI の原理について説明する (図 1)。

生体は大部分が水 (バルク水) で構成されており、このバルク水から MRI の信号は取得される。また生体のバルク水に、バルク水のプロトンと異なる共鳴周波数を持ち、かつバルク水のプロトンと化学交換を行っている微量の溶質があるとす。この微量の溶質のプロトンプールに対し、選択的に飽和パルスを加する。初めころは溶質のプロトンの信号が飽和するだけである。しかし化学交換により、飽和した溶質のプロトンと飽和していないバルク水のプロトンが入れ替わるため、しばらく時間がたつとバルク水の信号も低下する。このバルク水の信号を計測することで、間接的に微量の溶質について観測できるということになる。これが基本的な CEST MRI の考え方である。CEST MRI の信号値の大きさは、間接的にバルク水の信号の低下した量の大きさになるため、微量の溶質の濃度とプロトンの交換速度が信号値に影響を及ぼすこととなる。プロトンの交換速度は pH, 温度等に影響される。そのため微量の溶質の濃度だけでなく、CEST MRI では生体内の pH 等の環境の観察も行うことができると考えられている<sup>2,3)</sup>。

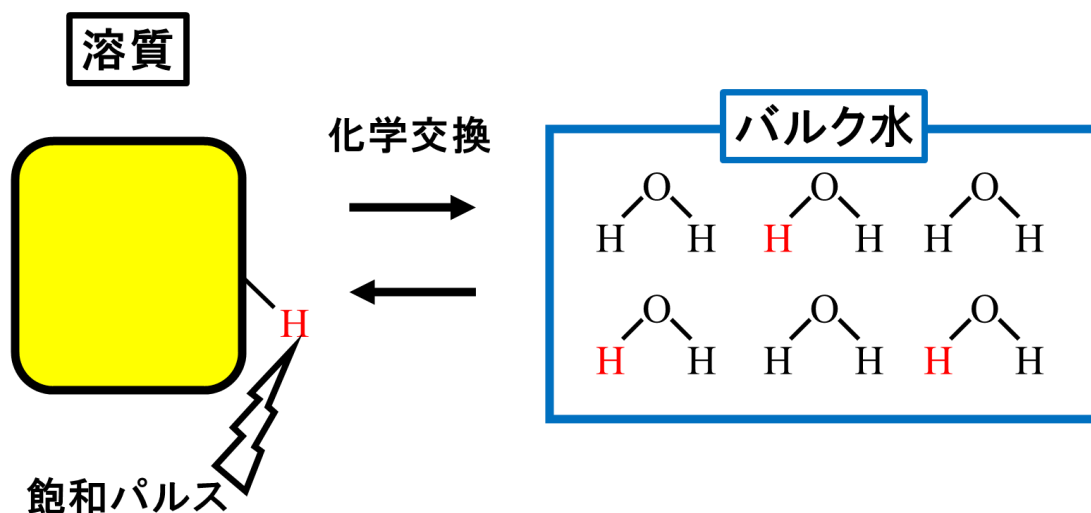


図 1. CEST の模式図

## 2. CEST の解析

CEST MRI は前述したようにバルク水の信号減少を観測する．このバルク水の間接的な信号低下を Z-Spectrum<sup>4)</sup>, Magnetization transfer ratio (MTR) asymmetry を用いて解析する．以下，解析方法について述べる．

バルク水と化学交換を行う微量な溶質についてプロトンのスペクトルを取得すると，それぞれの共鳴周波数帯にピークをもつ (図 2 (a))．この飽和パルスが印加されていない時のバルク水の信号値を  $S_0$  とする．次に飽和パルスを印加すると，飽和移動によってバルク水の信号が低下する (図 2 (b))．この際のバルク水の信号値を  $S_{\text{sat}}$  とする．バルク水の共鳴周波数を基準 (0 ppm) とし， $S_0$  と  $S_{\text{sat}}$  の比を各周波数でプロットしたものが Z-Spectrum となる (図 3 (a))．バルク水と溶質の共鳴周波数の差が  $\alpha$  であれば， $\alpha$  ppm の位置にピークが生じる．しかしこのピークには従来の Magnetization Transfer (MT) 効果や，0 ppm 付近でのバルク水を直接の飽和が影響を及ぼす可能性がある．そのために考えられた方法が MTR asymmetry となる (図 3 (b))． $\Delta\omega$  ppm に対して選択的に飽和パルスを印加した際のバルク水の信号値を  $S_{\Delta\omega}$  とすると，MTR asymmetry は以下のように表される．

$$\text{MTR asymmetry} = \frac{S_{(-\Delta\omega)} - S_{\Delta\omega}}{S_0}$$

上記の式のようにバルク水の共鳴周波数を中心として，正負対称に Z-Spectrum の差を算出することで，MT 効果やバルク水への直接的な飽和パルスの影響を減少させて表現できる．CEST の信号値は対象となる溶質の共鳴周波数での MTR asymmetry の値のことを指す．またこの際基準となるバルク水の共鳴周波数にズレが生じると，MTR asymmetry が正しく解析できなくなってしまうため，これを補正する方法として WASSR 法が報告されている<sup>5)</sup>．

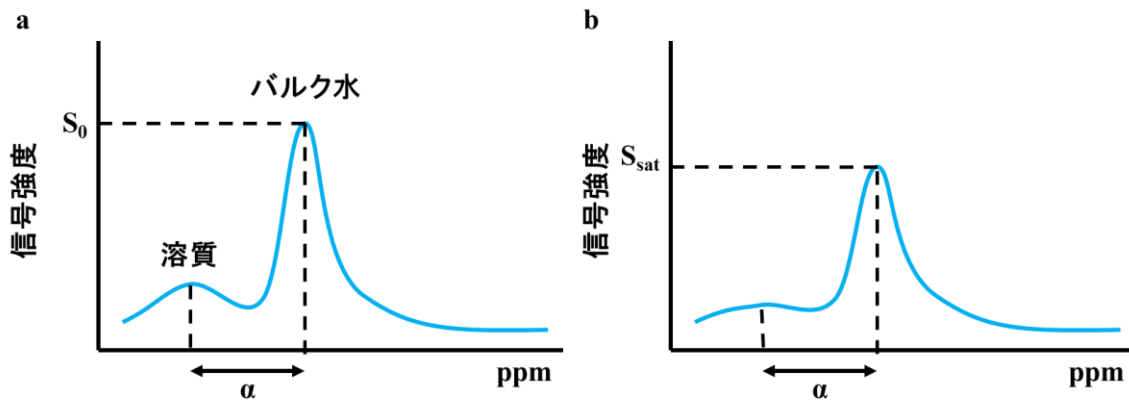


図 2. a : 飽和パルス印加前の H の信号強度 b : 飽和パルス印加後の H の信号強度

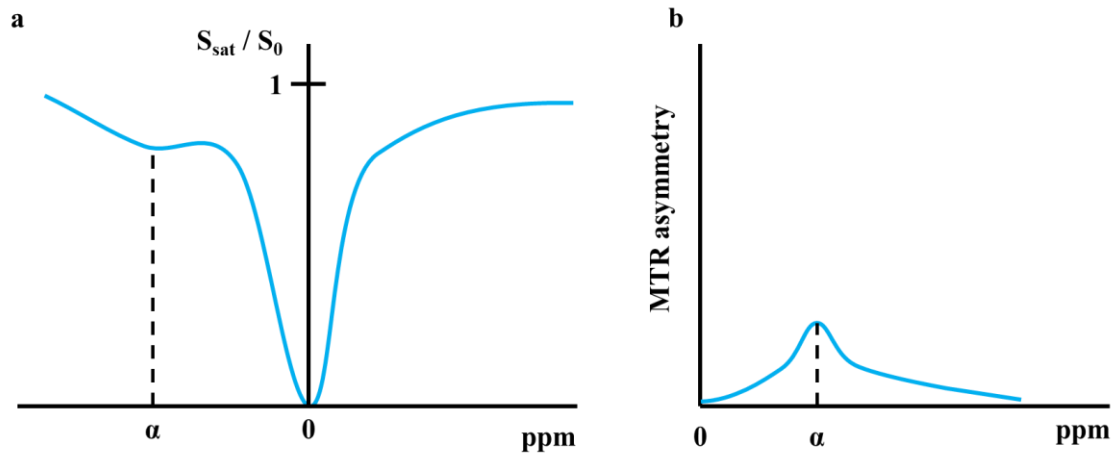


図 3. a : Z-spectrum b : MTR asymmetry の模式図

### 3. CEST の種類

CEST MRI には内因性と外因性の方法がある。外因性の CEST MRI は作成した試薬を体内に注入し、計測を行う。常磁性 (paramagnetic) の物質にキレート剤を合成した試薬を用いる PARACEST<sup>®</sup> や、常磁性体で作成した試薬を、リン脂質二重膜構造を持つ liposome に封入したトレーサーを用いる LIPOCEST<sup>™</sup> 等が挙げられる。これらの CEST MRI では pH 等の観測に応用されている報告がみられる (8-11)。

内因性の CEST MRI は体内にある物質を対象とし、計測を行う。代表的なものとしては体内の可動性タンパクのペプチドを対象とした Amide Proton Transfer (APT) イメージングが挙げられる。可動性タンパクのアミド基 (-NH) のプロトンとバルク水の化学交換を利用する。APT イメージングはすでに臨床での適用も行われ、腫瘍<sup>12,13)</sup> や脳虚血<sup>14,15)</sup> に対しての応用がなされている。

その他には Creatine を対象とした Creatine CEST MRI も挙げられる。Creatine は筋等の組織の代謝で重要な役割を果たす。リン酸化された Creatine は筋等でのエネルギー貯蔵物質として働く。急激な運動等でエネルギーが必要になった際に、リン酸化された Creatine が脱リン酸化されるときに ATP を産出する。実際に Creatine CEST を筋組織評価に適用した報告が複数されている (16-18)。

### 4. CEST MRI 画像, 解析結果

我々が撮影した APT イメージングと Creatine CEST MRI の 2 つの画像について以下に示す。APT イメージングについては卵を、Creatine CEST MRI は濃度を変化させた Creatine 溶液を封入した円柱のファントムを撮影した (図 4)。MRI 装置は前臨床用 7 T の PharmaScan 70/16 US (Bruker Biospin) を使用した。撮影した条件は以下の表に示す (表 1)。バルク水の共鳴周波数を基準に APT イメージングは 1500 Hz - -1500 Hz (5 - -5 ppm) を 150 Hz (1.5 ppm) 間隔, Creatine CEST MRI は 1440 Hz - -1440 Hz (4.8 - -4.8 ppm) を 90 Hz (0.3 ppm) 間隔で飽和パルス印加した。また WASSR 法を用いて B<sub>0</sub> 補正を行った。

実際に撮影し、解析した結果を以下に示す (図 5-8)。Creatine の共鳴周波数はバルク水からおよそ 1.8 ppm, Amide proton はバルク水からおよそ 3.5 ppm であるとされている。実際に撮影した Creatine

CEST MRI, 卵の APT イメージングとともにその周波数付近にピークを持つ結果となった (図 5, 7). また Creatine CEST MRI の結果では Creatine 溶液の濃度が大きくなると, 信号値が上昇することが確認できた. それぞれの共鳴周波数における実際の MTR asymmetry 画像においても CEST の信号が確認できた. APT イメージングに比べ, Creatine CEST MRI の MTR asymmetry において, 0 ppm 近くにピークのようなものがあった. これは Creatine がよりバルク水の共鳴周波数の近くに共鳴周波数をもつため, バルク水への直接の飽和の影響がより大きく及ぼされたのではないかと考えられる. また卵の MTR asymmetry 画像において, 理想的には卵白の CEST の信号値が均一になるはずではあるが, 実際には信号値にムラができる結果となった. これは CEST MRI が非常に磁場の不均一性に弱いという特徴によるものであると考えられる. この卵の撮影は空気中での卵を撮影したという点や, また卵の形状による影響が磁場の不均一性によりつながってしまったのではないかと考える.

## 5. 今後の展望

CEST MRI は磁場の不均一性の問題や, また静磁場強度, 撮影時間の観点からまだまだ臨床への応用は進んでいないのが現状である. しかし, 前臨床研究では, 様々な内因性 CEST MRI の応用や, 外因性 CEST MRI 用プローブの開発等が行われており, CEST MRI は従来の MRI とは異なった画像コントラストを与える可能性を持つ. MRI というモダリティの発展において大きな貢献ができる分野であり, 今後研究, 開発が進み, 臨床においても様々な応用がなされ, 実臨床における画像診断の発展の一因となることを期待したい.

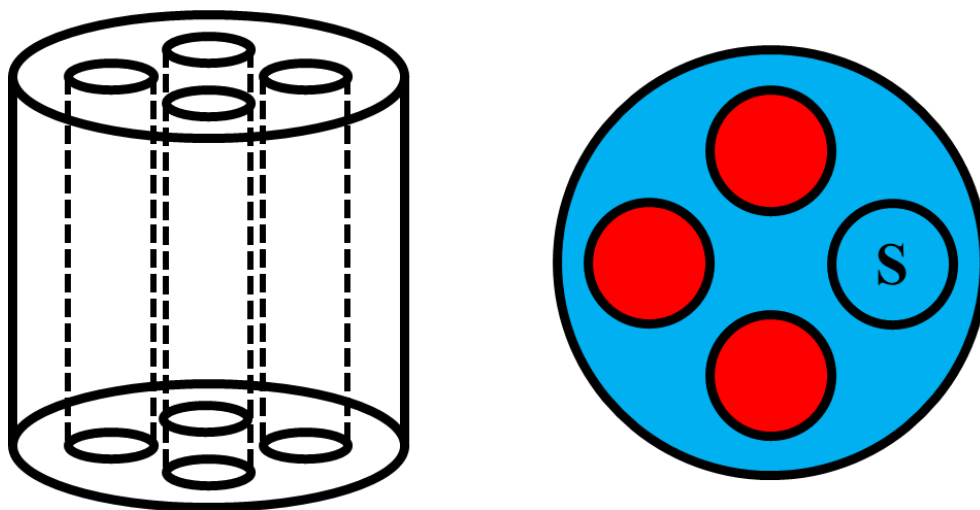


図 4. 円柱ファントムの模式図 右図は円柱ファントムを上部からみた図  
円柱内に 4 つの円柱があり, それぞれに 50 mM, 25 mM, 10 mM, 生理食塩水を封入  
4 つの円柱の周囲は生理食塩水で満たされている

表 1. APT イメージング, Creatine CEST MRI の撮影条件

	APT imaging	Creatine CEST
TR (ms)	5200	2500
TE (ms)	33	33
NEX	1	8
Rare factor	8	1
Slice thickness (mm)	1	1
FOV	64 × 64	51. 2 × 51. 2
Image size	128 × 128	128 × 128
<b>Saturation pulse</b>		
Length (ms)	100	100
Band width (Hz)	12. 8	12. 8
Flip angle	4600	4600
Number of pulse	20	20
Duration (ms)	2000	2000
strength (μT)	2	2

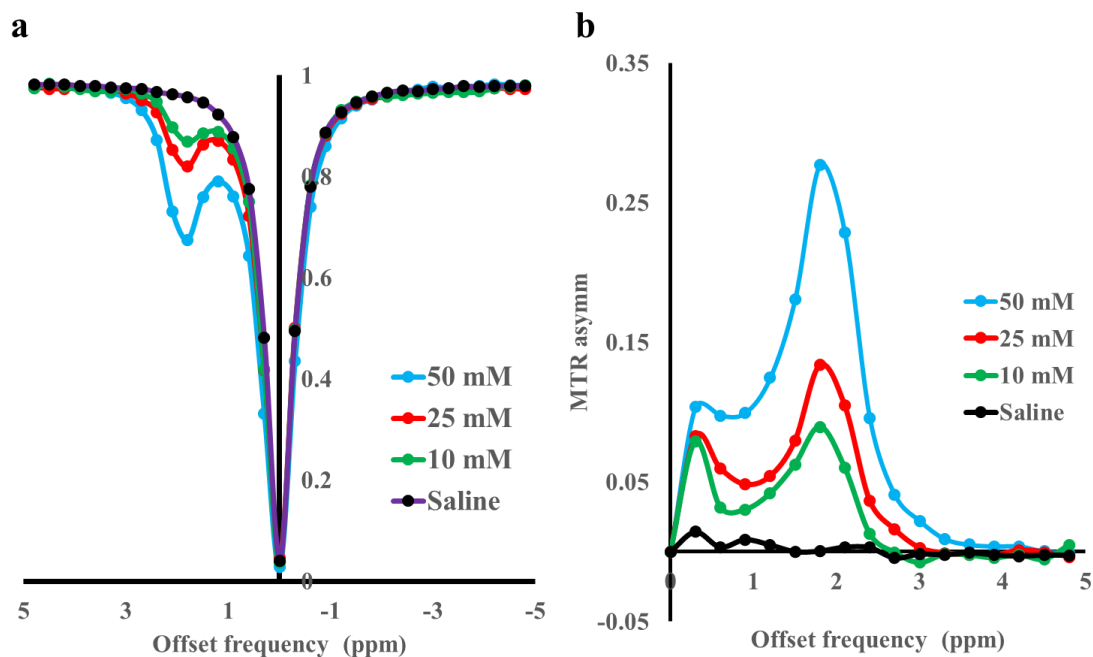


図 5. a : Creatine CEST MRI の各濃度での Z-Spectrum  
 b : Creatine CEST MRI の各濃度での MTR asymmetry

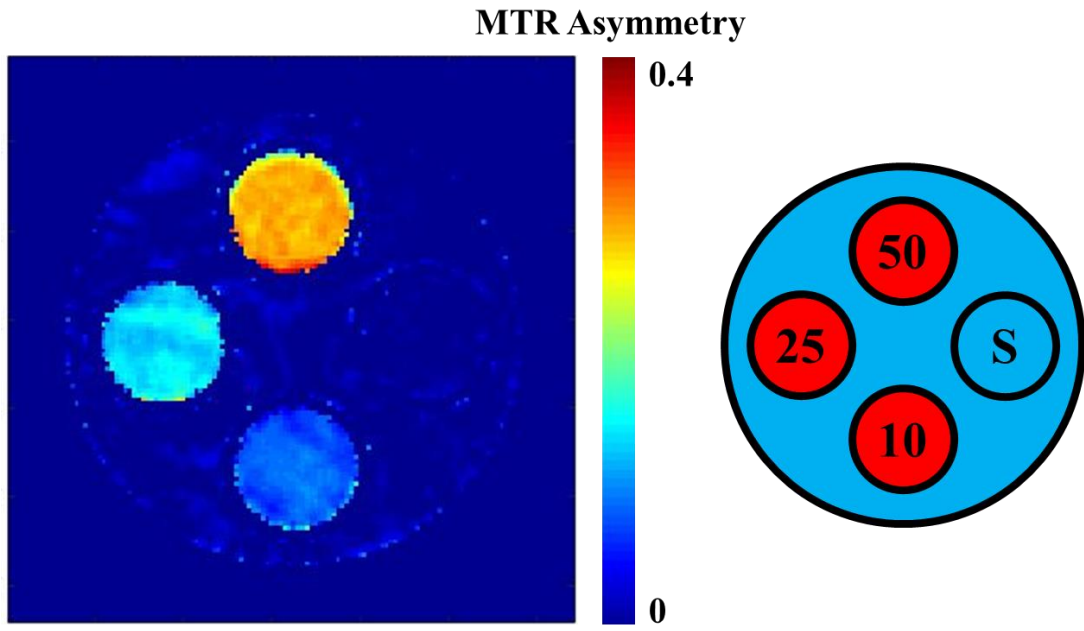


図 6. 1.8 ppm での Creatine CEST MRI の MTR asymmetry 画像  
 右図は円柱ファントムの模式図 数字は Creatine 濃度 (単位は mM)  
 S は生理食塩水を指す

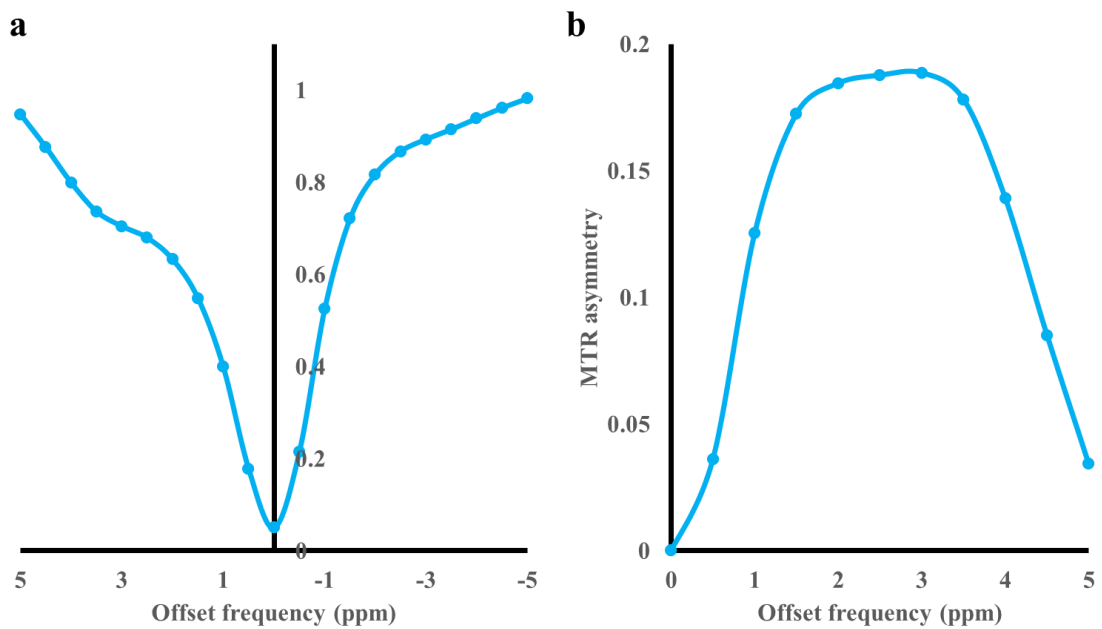


図 7. a : 卵の APT イメージングの各濃度での Z-Spectrum  
 b : 卵の APT イメージングの各濃度での MTR asymmetry

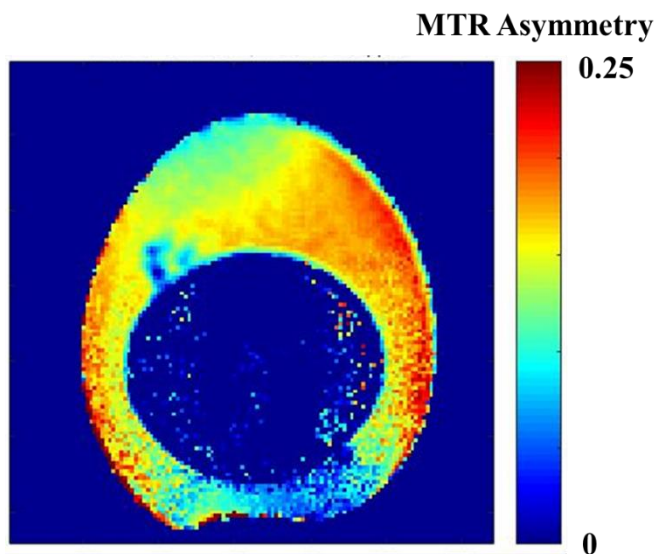


図 8. 3.5 ppm での卵の APT イメージングの MTR asymmetry 画像

(参考文献)

- 1) Ward, K.M., A.H. Aletras, and R.S. Balaban, A new class of contrast agents for MRI based on proton chemical exchange dependent saturation transfer (CEST). *J Magn Reson*, 2000. 143(1):p. 79-87.
- 2) Pavuluri, K. and M.T. McMahon, pH Imaging Using Chemical Exchange Saturation Transfer (CEST) MRI. *Israel Journal of Chemistry*, 2017. 57(9):p.862-879.
- 3) Ward KM, Balaban RS. Determination of pH using water protons and chemical exchange dependent saturation transfer (CEST)*Magn Reson Med* 2000;44:799–802.
- 4) Robert G. Bryant The dynamics of water-protein interactions *Annu Rev Biophys Biomol Struct* 1996;25:29-53.
- 5) Kim, M., et al., Water saturation shift referencing (WASSR) for chemical exchange saturation transfer (CEST) experiments. *Magn Reson Med*, 2009. 61(6):p.1441-50.
- 6) Zhang S, Merritt M, Woessner DE, Lenkinski RE, Sherry AD. PARACEST Agents Modulating MRI Contrast via Water Proton Exchange *Acc Chem Res* 2003;36:783–790.
- 7) Aime, S., D. Delli Castelli, and E. Terreno, Highly sensitive MRI chemical exchange saturation transfer agents using liposomes. *Angew Chem Int Ed Engl*, 2005. 44(34):p.5513-5.
- 8) Bond, C.J., et al., Isomeric Co(ii) paraCEST agents as pH responsive MRI probes. *Dalton Trans*, 2020. 49(2):p.279-284.
- 9) Daryaei, I., K.M. Jones, and M.D. Pagel, Detection of DT-diaphorase Enzyme with a ParaCEST MRI Contrast Agent. *Chemistry*, 2017. 23(27):p.6514-6517.
- 10) Opina, A.C., et al., TmDOTA-tetraglycinate encapsulated liposomes as pH-sensitive LipoCEST agents. *PLoS One*, 2011. 6(11):p.e27370.
- 11) Ratnakar, S.J., et al., A Frequency-Selective pH-Responsive paraCEST Agent. *Angew Chem Int*

Ed Engl, 2020. 59(48): p.21671-21676.

- 12) Choi, Y.S., et al., Amide proton transfer imaging to discriminate between low- and high-grade gliomas: added value to apparent diffusion coefficient and relative cerebral blood volume. *Eur Radiol*, 2017. 27(8):p.3181-3189.
- 13) Nishie, A., et al., Amide proton transfer imaging can predict tumor grade in rectal cancer. *Magn Reson Imaging*, 2018. 51:p.96-103.
- 14) Msayib, Y., et al., Quantitative CEST imaging of amide proton transfer in acute ischaemic stroke. *Neuroimage Clin*, 2019. 23:p.101833.
- 15) Sun, P.Z., E. Wang, and J.S. Cheung, Imaging acute ischemic tissue acidosis with pH-sensitive endogenous amide proton transfer (APT) MRI--correction of tissue relaxation and concomitant RF irradiation effects toward mapping quantitative cerebral tissue pH. *Neuroimage*, 2012. 60(1):p.1-6.
- 16) Takahashi, Y., et al., Mouse skeletal muscle creatine chemical exchange saturation transfer (CrCEST) imaging at 11.7T MRI. *J Magn Reson Imaging*, 2020. 51(2):p.563-570.
- 17) Rerich, E., et al., Relaxation-compensated CEST-MRI at 7 T for mapping of creatine content and pH--preliminary application in human muscle tissue in vivo. *NMR Biomed*, 2015. 28(11):p. 1402-12.
- 18) Chen, Y.W., et al., pH Mapping of Skeletal Muscle by Chemical Exchange Saturation Transfer (CEST) Imaging. *Cells*, 2020. 9(12).