

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 特 許 公 報 (B2)

(11) 特許番号

特許第6964583号
(P6964583)

(45) 発行日 令和3年11月10日 (2021. 11. 10)

(24) 登録日 令和3年10月21日 (2021. 10. 21)

(51) Int. Cl.	F I
A 6 1 B 5/055 (2006. 01)	A 6 1 B 5/055 3 8 3
A 6 1 B 6/00 (2006. 01)	A 6 1 B 5/055 3 1 1
A 6 1 B 6/03 (2006. 01)	A 6 1 B 6/00 3 3 1 E
G O 1 N 24/00 (2006. 01)	A 6 1 B 6/03 3 7 5
	G O 1 N 24/00 5 3 O K
請求項の数 18 (全 33 頁) 最終頁に続く	

(21) 出願番号	特願2018-526053 (P2018-526053)	(73) 特許権者	504448162
(86) (22) 出願日	平成28年12月22日 (2016. 12. 22)		ブラッコ・イメージング・ソシエタ・ベル
(65) 公表番号	特表2019-505248 (P2019-505248A)		・アチオニ
(43) 公表日	平成31年2月28日 (2019. 2. 28)		BRACCO IMAGING S. P.
(86) 国際出願番号	PCT/EP2016/082446		A.
(87) 国際公開番号	W02017/109111		イタリア、イー20134ミラノ、ヴィア
(87) 国際公開日	平成29年6月29日 (2017. 6. 29)		・エジディオ・フォッリ50番
審査請求日	令和1年9月27日 (2019. 9. 27)	(74) 代理人	100113376
(31) 優先権主張番号	15202355. 2		弁理士 南条 雅裕
(32) 優先日	平成27年12月23日 (2015. 12. 23)	(74) 代理人	100179394
(33) 優先権主張国・地域又は機関	欧州特許庁 (EP)		弁理士 瀬田 あや子
前置審査		(74) 代理人	100185384
			弁理士 伊波 興一朗
		(74) 代理人	100137811
			弁理士 原 秀貢人
			最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 レシオメトリックパルスCESTイメージング

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

レシオメトリックに基づくCEST-MR手順であって：

a) CERTに基づく飽和移動効果 (ST効果) を誘導するために、異なるフリップ角および一定の B_1 平均パワーレベル ($B_{avg power}$) で、サンプル中の外因性のCEST剤の単一の可動プロトン周波数に、無線周波数 (RF) 照射パルスのトレイン飽和スキームを適用するステップ；

b) 前記サンプルから、CERTに基づくCESTシグナルを検出するステップ；

c) 異なるRF照射パルスのフリップ角で測定されたST効果値間の相対比率によって、前記ST効果のレシオメトリック値を計算するステップ；

d) 濃度非依存性CEST値を決定するステップ、を含む、

CEST-MR手順。

【請求項 2】

請求項1のレシオメトリックに基づくCEST-MR手順であって、前記ステップc) は、等式 (3)

【数 1】

$$RPA = \frac{[(M_0 - M_s) / M_s]_{RF_{A1}}}{[(M_0 - M_s) / M_s]_{RF_{A2}}} \quad (3).$$

の活用により、パルス RF フリップ角のレシオメトリックを計算するステップを含む、
CEST-MR 手順。

10

【請求項 3】

請求項 1 のレシオメトリックに基づく CEST-MR 手順であって、
前記の濃度非依存性 CEST 値を用いて濃度非依存性 CEST 画像が提供される、
CEST-MR 手順。

【請求項 4】

請求項 1 のレシオメトリックに基づく CEST-MR 手順であって、
前記の濃度非依存性 CEST 値を用いて濃度非依存性パラメトリック画像が提供される
、
CEST-MR 手順。

20

【請求項 5】

請求項 1 から 4 のいずれか一項のレシオメトリックに基づく CEST-MR 手順であっ
て、

前記の外因性の CEST 剤は、反磁性である、
CEST-MR 手順。

【請求項 6】

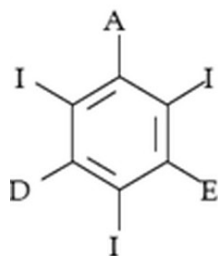
請求項 5 のレシオメトリックに基づく CEST-MR 手順であって、
前記の反磁性の薬剤は、少なくとも 1 つのアミドプロトン有する X 線検査造影剤であ
る、
CEST-MR 手順。

30

【請求項 7】

請求項 6 のレシオメトリックに基づく CEST-MR 手順であって、
前記 X 線検査造影剤は、式 (I)

【化 1】



(I)

40

(ここで：

A、D、および E は、同一または互いに異なり、式 $-\text{CON}(\text{R})\text{R}_1$ 、 $-\text{COOH}$ 、 $-\text{CONH}_2$ および $-(\text{CH}_2)_{0-1}\text{N}(\text{R})-\text{COR}_2$ の群から選択されて；ここで

R は、互いに独立に、H または R_1 であり；

R_1 は、 C_1-C_6 アルキルであり、任意選択で、1 つまたは複数のヒドロキシル、C

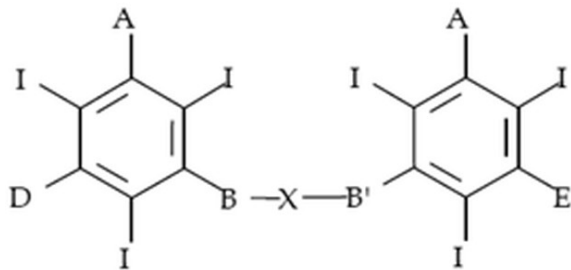
50

C_1-C_5 アルコキシ、 C_1-C_5 ヒドロキシアルコキシ、または、炭水化物残基によって置換されて；および

R_2 は、 C_1-C_6 アルキルであり、任意選択で、1つまたは複数のヒドロキシル、 C_1-C_5 アルコキシ、または、 C_1-C_5 ヒドロキシアルコキシ基によって中断される）；

または、式 (I I)

【化 2】



(II)

(ここで：

A、DおよびEは、上記に定義したとおりであり、

BおよびB'は、同一または互いに異なり、共有結合、または式 $-CON(R)-$ 、 $-N(R)CO-$ および $-N(COR_3)-$ の群から選択される基を表わし、ここで：

Rは、上記のとおりであり；

R_3 は、Hまたは C_1-C_3 アルキルであり、任意選択で、1つまたは複数のヒドロキシル基によって置換されて；および

Xは、 C_1-C_6 アルキレンであり、任意選択で、 $-O-$ 、 $-N-$ および $-S-$ から選択される基によって中断されて、任意選択で、1つまたは複数のヒドロキシル基によって置換される）

のヨウ素化造影剤であり、

上記の式 (I) および (I I) において、Rの少なくとも1つはHであるという条件で

C E S T-M R手順。

【請求項 8】

請求項 7 のレシオメトリックに基づく C E S T-M R 手順であって、

前記 X 線検査造影剤は、イオパミドール、イोजキサノール、イオヘキサノール、イオベルソール、イオメプロール、イオプロミド、ヨードミド、およびそれらの可能な組み合わせからなる群より選択される、

C E S T-M R 手順。

【請求項 9】

請求項 3 のレシオメトリックに基づく C E S T-M R 手順であって、

ヒトまたは動物の体の臓器、領域、流体または組織の、濃度非依存性 C E R T に基づく C E S T-M R I 画像を得るための C E S T-M R 手順であって：

a) 一定値の $B_{avg} power$ で、異なるフリップ角で、R F 照射パルスのトレインを用いて、X 線検査造影剤の単一交換プロトン周波数を照射するステップ；

b) Z-スペクトルを集めるステップ；

c) 異なる R F 照射パルスフリップ角で得られた S T 効果値を比較することにより、前記の R F 照射パルスフリップ角の関数として前記 S T 効果のレシオメトリック値を計算するステップ、および

d) 前記のヒトまたは動物の体の臓器、領域、流体または組織に対する、濃度非依存性画像を得るステップ、

を含む、
C E S T－M R手順。

【請求項 1 0】

請求項 9 のレシオメトリックに基づく C E S T－M R手順であって、
インビトロ（エキスピボ）で行われる、
C E S T－M R手順。

【請求項 1 1】

請求項 9 のレシオメトリックに基づく C E S T－M R手順であって、
インビボで、ヒトまたは動物の体の臓器、領域、流体または組織に対して行なわれて、
前記のヒトまたは動物は、前記 X 線検査造影剤が以前に投与されている、
C E S T－M R手順。

10

【請求項 1 2】

請求項 1 のレシオメトリックに基づく C E S T－M R手順であって、
前記の計算されたレシオメトリック S T 効果は、診断関心の物理的または化学的パラメーターに応答性である、
C E S T－M R手順。

【請求項 1 3】

前記の物理的または化学的パラメーターを決定するため、または、ヒトまたは動物の体の臓器、領域、流体または組織において診断関心の前記の物理的または化学的パラメーターの濃度非依存性マップを得るための、請求項 1 2 のレシオメトリックに基づく C E S T－M R手順であって：

20

A) 一定値の $B_{avg \ power}$ で、異なるフリップ角で、R F 照射パルスのトレインを用いて、X 線検査造影剤の単一交換プロトン周波数を照射するステップ；

B) Z－スペクトルを集めるステップ；

C) 同一の共鳴に対して作用する異なる R F 照射パルスフリップ角で得られた S T 効果の比較的な比率によって、前記の R F 照射パルスフリップ角の関数として前記 S T 効果のレシオメトリック値を計算するステップ；および

D) 前記の計算されたレシオメトリック S T 効果から、目的の前記の物理的または化学的パラメーターの濃度非依存性マップまたは測定を得るステップ、

を含む、

30

C E S T－M R手順。

【請求項 1 4】

請求項 1 3 のレシオメトリックに基づく C E S T－M R手順であって、
インビトロ（エキスピボ）で行われる、
C E S T－M R手順。

【請求項 1 5】

請求項 1 3 のレシオメトリックに基づく C E S T－M R手順であって、
前記の外因性の C E S T 剤が以前に投与されているヒトまたは動物の体の臓器、領域、流体または組織に対して、インビボで行なわれる、
C E S T－M R手順。

40

【請求項 1 6】

適切な量の X 線検査造影剤が以前に投与されている患者に対して行なわれる請求項 1 2 のレシオメトリックに基づく C E S T－M R手順であって：

i) 前記患者における体の目的の臓器、領域または組織の解剖学的 M R 画像を記録するステップ；

i i) 一定値の前記 B_1 平均パワーレベル ($B_{avg \ power}$) で、異なるフリップ角で、R F 照射パルスを用いて、パルストレイン飽和スキームによって、前記 X 線検査造影剤の単一交換プロトン周波数を照射するステップ；

i i i) Z－スペクトルを得るステップ、

i v) 前記 Z－スペクトルを内挿するステップ、および、前記の Z－スペクトルの曲線

50

の最小をゼロオフセット値に固定するためにそれぞれのイメージボクセルにおいて前記の内挿されたZースペクトルの曲線を変換するステップ、

v) 任意の所望の波長オフセットで、前記の患者の体の目的の臓器、領域または組織における前記ST効果を計算するステップ、

v i) 異なるRF照射パルスのフリップ角で測定されたST効果値間の相対比率によって、単一の共鳴に関する前記ST効果の前記レシオメトリック値を計算するステップ、

v i i) 以前に計算された較正曲線を用いることによって、目的の前記パラメーターのパラメトリックマップを得るステップ；および、

v i i i) 目的の前記パラメーターが生じる前記領域（単数または複数）を空間的にローカライズするために、前記の生じたパラメトリックマップを、前記の記録された解剖学的MR画像に重ねるステップ、

を含む、

C E S T-M R手順。

【請求項17】

請求項13から16のいずれか一項のレシオメトリックに基づくC E S T-M R手順であって、

診断関心の前記の物理的または化学的パラメーターは、温度、pH、酸素の分圧、二酸化炭素の分圧、イオンまたは代謝物濃度、および酵素活性からなる群より選択される、C E S T-M R手順。

【請求項18】

請求項6～11のいずれか一項のレシオメトリックに基づくC E S T-M R手順であって、

前記X線検査造影剤は、イオジキサノールまたはイオパミドールである、C E S T-M R手順。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、パルス化学交換依存性飽和移動（C E S T）に基づく磁気共鳴イメージング（M R I）の分野に関する。具体的には、それは、回転移動に基づくC E S Tコントラストを提供するためのパルスC E S T-M R Iでの使用のための外因性のC E S T剤、および、濃度非依存性C E S Tコントラストを得るためにパルストレイン飽和スキームを外因性のC E S T剤の単一プールに適用する、レシオメトリックに基づくC E S T-M R手順に関する。

【背景技術】

【0002】

化学交換飽和移動（C E S T）モダリティは、1つまたは複数の交換可能なプロトンプールを含む分子（本明細書において相互交換可能に用いられるC E S T剤またはC E S Tシステム）の使用に基づく、最近になって導入されたイメージング手順である。

【0003】

C E S Tイメージング技術は、高解像度NMRにおいて二重共鳴実験として知られている現象に依拠し、可動プロトンの化学シフトの中央または付近の第二の無線周波数（r f）領域の適用がそれらの共鳴を飽和するのを可能にして、したがって、化学交換によって「バルク」水に移動される飽和磁化を作り出し、したがって、バルク水シグナルの整った低減を決定して、それが登録されて画像を形成する。この効果は、飽和磁化移動、または飽和移動（S T）効果と呼ばれ、本明細書において相互交換可能に用いられる。生じるM R画像におけるコントラストは、それから、飽和磁化移動の程度によって決定される。従来のM R I剤とは異なり、記録されたイメージングにおけるコントラストは、「波長によってコードされる」。実際に、それらが促進する水シグナル強度の低減の程度（登録された画像におけるコントラストの強度を決定する）は、機器パラメーター（典型的に、適用される無線周波数領域）およびC E S T剤の物理化学的—化学的特性の間の相互作用に依

10

20

30

40

50

存する（例えば、Enzo Terreno, Daniela Delli Castelli and Silvio Aime, Encoding the frequency dependence in MRI contrast media: the emerging class of CEST agents. Contrast Media Mol. Imaging 2010, 5, 78–98を参照）。

【0004】

CEST剤に関する基本的な必要条件は、適切な交換率（ k_{ex} ）を有する可動プロトン（単数または複数）（または、本明細書において相互交換可能に用いられる、交換可能なプロトン）の存在、および、飽和の移動および部位活性化の交換の両方を可能にするバルク水プロトンを用いた適切な化学シフト分離である。概略的に、飽和の最適な移動は、 k_{ex} が Δv （ $k_{ex} \approx \Delta v$ ）に近づく場合であり、ここで、 Δv は、2つの交換プール間のHzにおける化学シフト分離である。

10

【0005】

CEST造影剤は、主に、反磁性および常磁性システムに分類される。低分子量反磁性CEST剤（DIACEST）の適切な例は、WO00/66180においてBalabanによって最初に提供された。常磁性CEST剤（PARACEST）は、4つの磁氣的同等物、または偽性同等物を提供する、DOTAの大環状テトラアミド誘導体を主に含み、N-H可動プロトンプールは、Sherryによって最初に報告された（例えば、J. Am. Chem. Soc 2001; 123: 1517–1518を参照）。磁化移動に基づくMRI技術における、アミド官能基（単数または複数）に属する可動プロトン（単数または複数）を有するヨウ素化X線検査造影剤の使用は、US 8, 211, 404において最初に開示された。

20

【0006】

反磁性および常磁性CEST剤の詳細および例は、例えば、Magnetic Resonance Imaging. Chem. Rev. 2010, 110, 2960–3018に開示される。

【0007】

CEST剤のうち、特定の関心のクラスは、「応答性」薬剤、すなわち、少なくとも1つの交換可能なプロトンが与えられた造影剤によって表されて、その飽和移動能は、薬剤が分配する微小環境の診断関心の物理化学的—化学的パラメーターに相当する。これらの薬剤は、典型的なCEST剤として作用してCESTコントラストを提供する他に、それらが分配する体の臓器または領域における前記パラメーター（典型的に、pH、温度、代謝または特定のイオン濃度、 O_2 または CO_2 分圧、タンパク質または酵素活性から選択される）の変更に関する報告をすることもできて、したがって、これらの変化と厳密に関連する特定の疾患の有用なバイオマーカーとして作用する。

30

【0008】

しかしながら、当技術分野でよく知られているように、CEST手順において測定される飽和移動STの量は、水およびCEST剤含有量に依存し、または、換言すれば、関心のある目的の臓器または組織におけるその局所的な絶対濃度に依存する。したがって、これらの応答性薬剤によって示される固有の応答性特性は、実際には、その実際の濃度が知られている場合にのみ正確に活用され得る。

40

【0009】

その代わりに、インビボでの決定において効果的に活用可能であるために、CEST応答性造影剤は、濃度非依存性のモードにおいてその応答性を示すべきである。

【0010】

このタスクは、現在のところ、少なくとも2セットの磁氣的に非同等のプロトンを含むCEST剤を用いることによって達成され、そのST効果は、目的の物理化学的—化学的パラメーターとは異なる依存性を示す。

【0011】

この場合は、実際に、標準的なレシオメトリック手法（RST）が、Balabanお

50

よびWardにより開発されて開示された以下の等式：

【0012】

【数1】

$$R_{ST} = \frac{[(M_0 - M_s) / M_s]_{site1}}{[(M_0 - M_s) / M_s]_{site2}} \quad (1)$$

10

【0013】

（上記等式の任意の詳細については、例えば、Magn. Reson. Med. 2000, 44:799-802を参照し、参照により本明細書中に援用される）に基づいて活用され得て、それぞれ上記等式においてsite 1およびsite 2として特定される2つの異なる共鳴（または可動プロトンプール）の選択的な照射によって誘導されるST効果の間の比較的な比率を活用して、それは、測定されたST量を作り、次々に、投与されたCESTプローブの絶対濃度に非依存性の診断パラメーターの評価値を作る。

【0014】

Balabanの手法の可能な活用は、しかしながら、バルク水への飽和の移動および部位活性化の交換の両方を可能にする生理学的温度およびpHでの適切な交換率（ k_{ex} ）および適切な化学シフト分離を有する、少なくとも2セットの磁氣的に非同等のプロトン（目的のパラメーターに対して異なる応答性を有する）を保有する、CESTシステムの開発に厳密に依存する。

20

【0015】

この点において、重要な役割は、2つの可動プロトン共鳴の化学シフト分離上の主な B_0 領域によって発揮されて；実際に、最強の B_0 領域は、より広いヘルツ分離をもたらし、一方で、現在のところ臨床適用が許されている0.5～3Tのような低い領域は、前記分離の利益を害する。

【0016】

結果として、現行の臨床使用での低い B_0 領域におけるBalabanの手法の実際の活用可能性は、特に、2つの利用可能な飽和可能な共鳴間に低減されたHz分離を典型的に有する公知技術の反磁性CEST剤では、まだなおチャレンジングである。

30

【0017】

単一セットの可動プロトンを保有するCEST剤からのRF照射パルスパワーの関数としてレシオメトリックST効果を得るステップを含む代替の手法は、J. Am. Chem. Soc. 2014, 136, 14333に開示される。

【0018】

この手法を用いることによって、pHの濃度非依存的な評価が、イオビトリドールをpH応答性CEST剤として用いることにより、インビトロおよびインビボの両方の条件で得られた。

40

【0019】

Balabanおよび上記の手法は両方とも、連続波（CW）飽和スキームの活用に依拠し、それらの特定の吸収率（SAR）の制限に起因して臨床スキャナーに対して制限されるが、適用性を有する典型的に単一の長いオフ共鳴RF照射を用いる。

【0020】

繰り返しの短いRFパルスの照射スキームを用いることによりSARおよびハードウェアの問題を対処するパルスCESTイメージングスキームは、Magn Reson Med 2008, 60, 834およびMagn Reson Med 2011, 65, 1620に開示される。

50

【0021】

パルスCESTスキームによって飽和された内因性システムの遅い交換プロトン（交換率 $<100\text{ Hz}$ ）に関するスピン磁化の回転効果によって支配される、振動するCESTコントラストのコンポーネントの存在は、例えばMagn Reson Med 2011, 66, 1100-1108に開示される、Gochbergおよび同僚によって観察された。

【0022】

パルスCEST実験での回転対飽和移動効果の分離は、化学交換回転移動（CERT）の倍であった。

【0023】

異なる照射フリップ角（flip angles）および交換可動プロトンプールの交換率 K_{sw} でのパルスCEST配列の使用により得られる回転CESTコントラストの間の依存性の存在は、それから、例えばReson Med 2012, 68:711-719において同じ著者によって実証されて、多数のフリップ角 θ 値でのCESTコントラストの比は、遅い交換の内因性アミドおよびアミンプロトンによって示される K_{sw} 値の量的評価における濃度用語を無くすために用いた。

【0024】

挙げられたアーティクルでは、これらの著者は、しかしながら、観察された回転効果は、認められるように 100 Hz 未満の交換率を有する「フォーカスされた内因性アミン交換」と比較してより早い交換条件下で除去されること、および、「CESTコントラストの振動するコンポーネントは、 500 および 1000 Hz のように高い交換率では不存在であることを述べる（Magn Reson Med 2011, 66, 1100、例えば、1107頁および図6を参照）。

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0025】

我々はここで、スピン磁化の回転効果によって支配されるCESTコントラストが、外因性のCEST剤の使用によって達成され得ることを見いだした。

【0026】

特に、我々は、外因性の薬剤の可動プロトンの化学シフトの中央（または付近）の波長を有するパルストレイン飽和スキームが適用されて、前記の単一のプロトン周波数に作用する場合に、水シグナル（または、回転移動に基づくCESTコントラスト、またはCERTコントラスト、本明細書において相互交換可能に用いられる）に影響を及ぼすスピン磁化の回転効果によって促進される振動するCESTコントラストを提供する外因性の薬剤を同定した。

【0027】

予期せずに、同定された外因性の薬剤は、上記の引用された従来技術で推奨されるものよりも有意に高い周囲の水プロトンとの交換率（ k_{ex} ）を有する可動プロトン（単数または複数）を含むにもかかわらず、効果的な回転移動に基づくCESTコントラストを提供することが可能である。

【0028】

さらに我々は、これらの外因性の薬剤が、可動プロトンの単一プールを含み得るにもかかわらず、それらは、レシオメトリックに基づくCEST-MRIをセットアップするため、例えば濃度非依存性CESTコントラストを提供するため、ならびに、CESTに基づく濃度非依存性の応答性をセットアップするために、有利に用いられ得ることを見いだした。

【0029】

実際に、本発明の代替のレシオメトリックに基づく手法によれば、可動プロトンの単一プールを有する外因性のCEST剤は、パルストレイン飽和スキームを用いることにより異なるRF照射パルスフリップ角で得られるCEST効果を比較することによってレシオ

10

20

30

40

50

メトリック C E S T コントラストを得るために活用され得る。

【0030】

特に我々は、パルス飽和スキーム内で一定の B_1 平均パワー（または $B_{avg\ power}$ 、パルストレイン期間全体にわたる平均平方照射領域の平方根として定義される）を維持することにより、異なる照射フリップ角（F A） θ で、R F パルスのトレインでの外因性の C E S T 剤の可動プロトン（単数または複数）の単一プールの照射によって、C E S T 剤の局所的な濃度とは独立にレシオメトリック C E S T コントラストを得ることを有利に可能にする従来のレシオメトリック手法の改善を同定した。

【0031】

この改善された手法によれば、S T 効果の新規のレシオメトリック値は、他には本明細書においてパルス R F フリップ角のレシオメトリック、または R P A と呼ばれ、（少なくとも 2 つの（a t l a s t t w o））異なる R F フリップ角での、ただ 1 つの共鳴（または可動プロトンプール）の選択的な照射によって誘導される S T 効果の間の比較的な比率によって、異なる R F 照射パルスフリップ角 θ の関数として得られる。

【0032】

興味深いことに、この新規のレシオメトリック手法の活用は、前記のように同一分子上の少なくとも 2 つの磁氣的に非同等の可動プロトンの存在を必要とする B a l a b a n の等式（1）を用いた従来活用されるレシオメトリック手法の前提条件を克服することを可能にして、それにより、レシオメトリック手法の一般的適用性の重大な改善を、実に単一セットの可動プロトンを有する全ての C E S T システムにもたらす。

【0033】

一方で、本発明の外因性の C E S T 剤のような外因性の分子の使用は、例えば薬剤の溢出について（したがって、局所的な血管新生の状態について）、または、例えば公知の内因性アミド／アミン基の使用によって得ることがほとんどできない p H および温度のような細胞外パラメーターの値について、診断上関連のある情報を得るために、本発明の方法を使用することを可能にさせる。

【課題を解決するための手段】

【0034】

本発明は、したがって、一般に、化学交換回転移動に基づく C E S T コントラストを生産するための、C E S T - M R イメージングにおける可動プロトン（単数または複数）のプール（または、本明細書において相互交換可能に用いられる外因性の C E S T 剤）を有する外因性の薬剤の使用に依拠する。さらにそれは、これらの外因性の薬剤を用いて C E R T に基づく濃度非依存性 C E S T M R イメージングをセットアップして、応答性薬剤として C E R T に基づく濃度非依存性の応答性をセットアップするステップを含む、レシオメトリックに基づく C E S T - M R 手順に関する。

【0035】

特に、一態様では、本発明は、C E R T に基づく C E S T - M R イメージング手順の設定における、可動プロトン（単数または複数）のプールを含む外因性の C E S T 剤の使用に関し、C E R T に基づく C E S T コントラストを生産するために、薬剤の単一のプロトン周波数に、パルストレイン飽和スキームを適用するステップを含む。

【0036】

別の態様では、本発明は、異なるフリップ角で、外因性の C E S T 剤の単一のプロトン周波数に、無線周波数（R F）照射パルスのトレイン飽和スキームを適用するステップ、および、C E R T に基づく C E S T コントラストを提供する C E R T に基づく C E S T シグナルを検出するステップを含む、C E R T に基づく C E S T - M R 手順に関する。

【0037】

好ましくは、パルス（または C E R T に基づく）C E S T - M R 手順は、レシオメトリックに基づき、および、飽和移動効果のレシオメトリック値を異なる R F 照射パルスフリップ角の関数として計算するステップを含み、（前記照射パルスは）外因性の薬剤の単一のプロトン周波数に対して作用する。

【0038】

特に、さらなる態様では、本発明は、レシオメトリックに基づくC E S T-M Rイメージング、または、インビボまたはインビトロ（エクスビボ）の濃度非依存性の応答性をセットアップするために、飽和移動効果のレシオメトリック値を異なるR F照射パルスフリップ角の関数として計算するステップを含む、パルスC E S T-M R手順における外因性のC E S T剤の使用に関する。

【0039】

さらなる態様では、本発明は、同一のプロトン共鳴に対して作用するR F照射パルスの異なるフリップ角の関数として、外因性のC E S T剤の単一セットの可動プロトン（単数または複数）から、C E R Tに基づく飽和移動（S T）効果の新規のレシオメトリック値を計算するステップを含む、最適化されたC E S Tに基づくレシオメトリック手法に関する。

10

【0040】

別の態様では、本発明は、異なるフリップ角でのR Fパルスのトレインによって本発明の外因性のC E S T剤の単一セットの可動プロトン（単数または複数）を照射するステップ、および、濃度非依存性C E S Tコントラストをセットアップするために、および／または、ヒトまたは動物および好ましくは哺乳類の体の臓器、流体または組織における診断関心の生理学的パラメーターの濃度非依存性インビボまたはインビトロ（エクスビボ）マップを得るために、異なるR F照射パルスフリップ角の関数としてS T効果のレシオメトリック値を計算するステップを含む、多数の角度のレシオメトリックに基づくC E S T-M R手順に関する。

20

【0041】

より具体的には、さらなる態様では、本発明は：

R F照射パルスの飽和トレインを、異なるフリップ角で、外因性のC E S T剤の単一の可動プロトン周波数に適用するステップ、

異なるR F照射パルスフリップ角で計算されたS T効果を比較することにより、S T効果のレシオメトリック値を計算するステップ、

濃度非依存性C E S Tコントラストを記録するステップ、および任意選択で、

診断関心の物理的または化学的パラメーターの濃度非依存性マップを提供するステップ

30

、を含むレシオメトリックに基づくC E S T-M R手順に関する。

【0042】

本発明のこれらおよび他の目的、および利点は、ここで、実に図面および実施例を用いて、以下の説明において詳細に開示される。

【図面の簡単な説明】

【0043】

【図1】異なる化学シフトを有する2つの磁氣的に非同等のアミド共鳴（イオパミドール、4.2および5.5 ppm）、および、ただ1つのアミドプロトン共鳴（イोजキサノール、4.4 ppm）を保有する、代表的な非イオン性X線検査コントラスト媒体の化学構造を報告する。

40

【図2】パネルa）それぞれ4.2および5.5 ppmで2つの区別可能なアミドプロトン共鳴を示す、イオパミドールに関して7 T、37℃およびpH 6.6で30 mM溶液から得られたZースペクトル（1.5 μ T $\times$ 5 sのR F照射パルス）；パネルb）4.4 ppmで唯一のアミドプロトン共鳴を示す、イोजキサノールに関して7 T、37℃およびpH 6.6で30 mM溶液から得られたZースペクトル（3 μ T $\times$ 5 sのR F照射パルス）を報告する。

【図3】実施例1の試験に関し、600 MHz、T = 310 Kでの¹H-NMRスペクトルからのアミド吸光度の線幅から、pH 5.5～7.4の範囲内で決定されたイोजキサノールに関する化学交換率（ k_{ex} ）を示す。

【図4】5.5～7.9の範囲内のpH値を有する40 mMイोजキサノール溶液に関する

50

るフリップ角 (θ) の関数としての CEST コントラストのプロットを報告する: (A) $B_{avg} power 1 \mu T$ および $dc 50\%$; (B) $B_{avg} power 2 \mu T$ および $dc 50\%$ 、合計照射時間 $5 s$ ($B_0 = 7 T$; $T = 37^\circ C$)。

【図5】実施例2のインビトロ試験に関し、以下を示す: パネルa) 異なる pH 値 ($5.5 - 6.0 - 6.3 - 6.7 - 7.0 - 7.4 - 7.9$) で PBS 中のイオジキサノール $40 mM$ 溶液を有する7つの異なるバイアルを備えるファントムのインビトロ MR T_2 強調画像; パネルb) $1 \mu T$ の飽和 $B_{avg} power$ および 180° のフリップ角で RF トレインパルスにより照射した際に得られた対応する ST 画像; パネルc) 360° のフリップ角 (および、 $1 \mu T$ の同一の飽和 $B_{avg} power$) で RF トレインパルスにより照射した際に得られた対応する ST 画像; パネルd) 等式 (3) を用いることによってパネルb) およびc) の対応する ST 画像の比から得られたレシオメトリック RPA マップ; パネルe) T_2 強調画像の上に押し付けられた (overimposed) レシオメトリック RPA pH マップ (ここで、レシオメトリック RPA は、等式 (3) および図6bの較正曲線 ($B_0 = 7 T$ 、 $T = 310 K$) を用いることによって、 180° および 360° の2つの異なるフリップ角での対応する ST 画像の比から新規の提案されたレシオメトリック手法によって計算された)。

10

【図6】実施例2の試験に関し、以下を報告する: パネルa) それぞれ 180° および 360° の異なるフリップ角で、RF 照射パルスを用いて、 $4.4 ppm$ での唯一のアミドプロトンブールの照射の際の、イオジキサノール $40 mM$ 溶液に関する pH の関数としての ST 効果の変動のプロット ($1.0 \mu T$ の $B_{avg} power$ 、 $5 s$ の合計飽和時間、 $B_0 = 7 T$ および $T = 37^\circ C$ での、RF トレインパルス); パネルb) 新規の提案されたレシオメトリック手順をパネルa) の ST 曲線に適用することによって得られたレシオメトリック値 (RPA) の依存性を示すレシオメトリック較正曲線。

20

【図7】 $10 \sim 50 mM$ の範囲内の可変の濃度のイオジキサノール溶液からの、イオジキサノール濃度の関数としての RPA 値 (実施例2の試験による) のプロットを報告する ($1 \mu T$ の $B_{avg} power$ および pH 7.2 で配分 $180^\circ / 360^\circ$ θ 値による $dc 50\%$ ($B_0 = 7 T$; $T = 37^\circ C$; $5 s$ の合計照射時間)。

【図8】 $B_{avg} power = 1 \mu T$ 、 $dc 50\%$ 、および配分 $180^\circ / 360^\circ$ θ 値 ($R_2 = 0.998$ 、 $P < 0.001$) で RPA 手法を用いることによる、 $40 mM$ イオジキサノールファントムに関する計算された pH 対実験的 pH のプロットを報告する。

30

【図9】パネルa) $B_0 = 7 T$ ($37^\circ C$ 、 $3 \mu T \times 5 s$ の CW 照射 RF パルス) に関する、2つのアミドプロトンブール (それぞれ 4.2 および $5.5 ppm$) の照射の際の、イオパミドール ($30 mM$ 溶液) に関する pH の関数としての ST 効果の変動; パネルb) 標準的な (Balaban の) レシオメトリック手法をパネルa) の ST 曲線に適用することによって得られたレシオメトリック値の依存性を示すレシオメトリック較正曲線を報告する。図において、レシオメトリック値 (RST) は、 $4.2 ppm$ (site 1) および $5.5 ppm$ (site 2) でのそれぞれの可動プロトンブールの照射の際に、等式 (1) を用いることによって計算される。

【図10】 $B_{avg} power 1 \mu T$ および $dc 50\%$; 合計照射時間 $5 s$ ($B_0 = 7 T$; $T = 37^\circ C$) に関して、 $5.5 \sim 7.9$ の範囲の pH の $30 mM$ イオパミドール溶液に関するフリップ角 (θ) の関数として CEST コントラストのプロットを報告する。

40

【図11】パネルa) 180° および 360° の異なるフリップ角で、RF 照射パルスにより、 $4.2 ppm$ でアミドプロトンブールの照射の際の、イオパミドール $30 mM$ 溶液に関する pH 値の変動での ST 効果の変動 ($1.0 \mu T$ の $B_{avg} power$ 、合計飽和時間 $5 s$ 、 $B_0 = 7 T$ および $T = 37^\circ C$ での RF トレインパルス); パネルb) 新規の提案されたレシオメトリック手順をパネルa) の ST 曲線に適用することにより得られたレシオメトリック値 (RPA) の依存性を示すレシオメトリック較正曲線を報告する。図のレシオメトリック値 RPA は、 $4.2 ppm$ で可動プロトンブールの照射の際に、一定の $B_{avg} power$ を $1.0 \mu T$ に維持してフリップ角を 180° (RF_{F A 1}) および 360° (RF_{F A 2}) に変更することにより、RF 飽和パルスのトレインを用いて

50

、等式（３）を用いることによって計算した。

【発明を実施するための形態】

【００４４】

本発明に係るＣＥＳＴ造影剤は、可動プロトン（単数または複数）のプール、および、それ故に、可動プロトン（単数または複数）の実に単一プールを有する、外因性の薬剤を含む。

【００４５】

特に、本発明は、ＣＥＲＴに基づくＣＥＳＴ－ＭＲ手順の設定における可動プロトン（単数または複数）のプールを含む外因性の薬剤の使用に関し、ここで、パルストレイン飽和スキームは、ＣＥＲＴに基づくＣＥＳＴイメージングをセットアップするために薬剤の単一波長に適用される。

10

【００４６】

この点において、この説明では、別段の提供がない限り、表現「外因性の薬剤」または「外因性のＣＥＳＴ剤」は、その意味において、個々の生物において活性であるがその生物以外に由来する、すなわち、イメージングの前に生物に提供または投与される（または、生物サンプルと接触される）、任意のＣＥＳＴ造影剤または材料（少なくとも１つの適切な可動プロトンを有する）を含む。

【００４７】

他方で、表現「可動プロトン（単数または複数）のプール」は、その意味において、１つ（すなわち単一プロトン）または同一の化学シフトを有するより多くの可動プロトンからなるセットを含む。本発明に係る外因性の薬剤は、少なくとも１つの、可動プロトン（単数または複数）のプールを含み、および、それ故に、１つまたは複数の可動プロトンは、等しい（単一プール）または異なる（より多くのプール）化学シフトを有する。

20

【００４８】

適切な例は、可動プロトン（単数または複数）のプールを有する反磁性薬剤を含み、可動プロトン（単数または複数）の単一プールを有する反磁性薬剤を含む。

【００４９】

好ましくは、可動プロトン（単数または複数）は、例えばMagn Reson Med 2011, 65, 202に開示されるNMR技術の使用により、生理学的条件下で、すなわち、約7、例えば約6.5～約7.5の範囲のpHの水溶液中で測定して、例えば5000Hzよりも下、好ましくは3500よりも下、より好ましくは2000Hzよりも下、最も好ましくは、1500Hzよりも下の周囲の水プロトンとの交換率を有する。

30

【００５０】

好ましい反磁性薬剤は、周囲の水分子との中程度～速い交換率を有する可動プロトン（単数または複数）を含む。この点において、語句「中程度～速い交換率」は、その意味において、生理学的条件下で、100Hzよりも高い、好ましくは200Hzよりも高い、例えば、約200～約3500Hz、より好ましくは約200～約2000Hz、および、最も好ましくは、300～約1500Hzを含む、（周囲の水プロトン（単数または複数））と、本発明のＣＥＳＴ剤の可動プロトン（単数または複数）プールの）交換率（ k_{ex} ）を含む。好ましくは、これらの反磁性薬剤の可動プロトン（単数または複数）は、少なくとも1ppm、好ましくは2ppm、および最も好ましくは、 k_{ex} （ $\Delta v \geq k_{ex}$ ）よりも大きなバルク水プロトンとの化学シフト分離をさらに示し、ここで、 Δv は、2つの交換プール間のHzにおける化学シフト分離である。

40

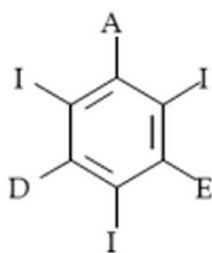
【００５１】

本発明の使用のための好ましい外因性の薬剤は、ヨウ素化造影剤、（または、本明細書において相互交換可能に用いられるX線検査造影剤）であり、それらの構造内に少なくとも１つのアミド可動プロトンを含む。

【００５２】

適切な例は、式（I）

【化 1】



(I)

(ここで：

A、D、およびEは、同一または互いに異なり、式 $-\text{CON}(\text{R})\text{R}_1$ 、 $-\text{COOH}$ 、 $-\text{CONH}_2$ および $-(\text{CH}_2)_{0-1}\text{N}(\text{R})-\text{COR}_2$ の群から選択されて；ここで：

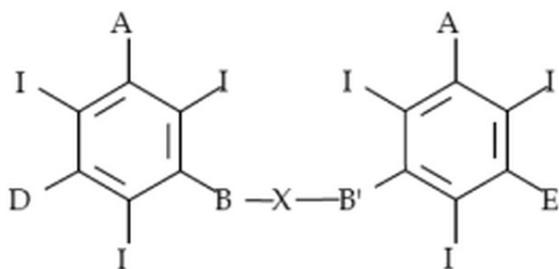
Rは、互いに独立に、Hまたは R_1 であり；

R_1 は、 C_1-C_6 アルキルであり、任意選択で、1つまたは複数のヒドロキシル($-\text{OH}$)、 C_1-C_5 アルコキシまたはヒドロキシアルコキシ基によって置換される；または炭水化物残基であり；および

R_2 は、 C_1-C_6 アルキルであり、任意選択で、1つまたは複数のヒドロキシル、 C_1-C_5 アルコキシ、または、ヒドロキシアルコキシ基によって中断される)；

または、式(I I)

【化 2】



(II)

(ここで：

A、DおよびEは、上記に定義したとおりであり、

BおよびB'は、同一または互いに異なり、共有結合、または、式 $-\text{CON}(\text{R})-$ 、 $-\text{N}(\text{R})\text{CO}-$ および $-\text{N}(\text{COR}_3)-$ の群から選択される基を表わし、ここで：

Rは、上記のとおりであり；

R_3 は、Hまたは C_1-C_3 アルキルであり、任意選択で、1つまたは複数のヒドロキシル基によって置換されて；および

Xは、 C_1-C_6 アルキレンであり、任意選択で、 $-\text{O}-$ 、 $-\text{N}-$ および $-\text{S}-$ から選択される基によって中断されて、任意選択で、1つまたは複数のヒドロキシル基によって置換される)、

のヨウ素化造影剤を含み、

上記の式(I)および(I I)において、Rの少なくとも1つはHであるという条件である。

【0053】

10

20

30

40

50

この点において、この説明では、別段の提供がされない限り、表現「 $C_1 - C_6$ アルキル」は、その意味において、1～6個の炭素原子を含む任意の直鎖または分岐鎖、例えば：メチル、エチル、プロピル、イソプロピル、ブチル、イソブチル、tert-ブチル、ペンチル、ヘキシルなどを含む。

【0054】

同様に、用語「 $C_1 - C_3$ アルキル」は、その意味において、1～3個の炭素原子を含む直鎖または分岐鎖、例えば、メチル、エチル、プロピルおよびイソプロピルを含む。

【0055】

類推によって、表現「 $C_1 - C_6$ アルキレン」は、その意味内に、 $C_1 - C_6$ アルキレン、例えば、メチレン、エチレン、プロピレン、イソプロピレンなどを含む、異なる炭素原子から2つの水素原子を除去することによる、任意の対応する $C_1 - C_6$ 炭化水素から得られる、二価、直鎖または分岐鎖を含む。

10

【0056】

同様に、用語「アルコキシ」は、その意味内に、任意の対応するアルキル-オキシ基、例えば、メトキシ、エトキシ、n-プロポキシ、イソプロポキシなどを含み；用語「ヒドロキシアルキル」は、その意味内に、任意の対応するアルキル鎖を含み、ここで、1つまたは複数の水素原子は、ヒドロキシル(OH)基、例えば、好ましくは、ヒドロキシメチル($-CH_2OH$)、ヒドロキシエチル($-CH_2CH_2OH$)、ヒドロキシプロピル($-CH_2CH_2CH_2OH$)、ジヒドロキシプロピル、($CH_2CH_2OHCH_2OH$)および $-CH(CH_2OH)_2$ などによって置換されて、用語「ヒドロキシアルコキシ」は、その意味内に、アルキル鎖内に1つまたは複数のヒドロキシル($-OH$)を含む任意の対応する $C_1 - C_5$ アルキル-オキシ基を含む。

20

【0057】

好ましいのは、式(I)のヨウ素化薬剤(ここで、A、DおよびEは、以下の表1に、意図される化合物の名称と一緒に報告される)：

【0058】

【表 1】

表 1

名称	A	D	E
メトリザミド	$\text{-CONHCH(CHO)(CHOH)}_3\text{CH}_2\text{OH}$	$\text{-NH}\cdot\text{Ac}$	-N(Me)Ac
イオパミドール	$\text{-CONHCH(CH}_2\text{OH)}_2$	-NHCOCH(OH)CH_3	$\text{-CONHCH(CH}_2\text{OH)}_2$
イオプロミド	$\text{-CON(Me)CH}_2\text{CH(OH)CH}_2\text{OH}$	$\text{-NHCOCH}_2\text{OMe}$	$\text{-CONHCH}_2\text{CH(OH)CH}_2\text{OH}$
ログラムド	$\text{-CONHCH}_2\text{CH(OH)CH}_2\text{OH}$	$\text{-NHCOCO(CHOH)}_3\text{CH}_2\text{OH}$	$\text{-CONHCH}_2\text{CH(OH)CH}_2\text{OH}$
ヨーダミド	-COOH	-NHCOCH_3	$\text{-CH}_2\text{NHCOCH}_3$
イオグルコール	-CONHMe	$\text{-NHCO(CHOH)}_4\text{CH}_2\text{OH}$	$\text{-N(Ac)CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$
イオグルコミド	-CONHMe	$\text{-NHCO(CHOH)}_4\text{CH}_2\text{OH}$	$\text{-NHCO(CHOH)}_4\text{CH}_2\text{OH}$
イオグルニド	$\text{-CONHCH}_2\text{CH}_2\text{OH}$	$\text{-NHCO(CHOH)}_4\text{CH}_2\text{OH}$	-N(Me)Ac
イオビトリドール	$\text{-CON(Me)CH}_2\text{CH(OH)CH}_2\text{OH}$	$\text{-NHCOCH(CH}_2\text{OH)}_2$	$\text{-CON(Me)CH}_2\text{CH(OH)CH}_2\text{OH}$
イオシビドール	$\text{-CON(Me)CH}_2\text{CH(OH)CH}_2\text{OH}$	$\text{-CONHCH}_2\text{CH(OH)CH}_2\text{OH}$	-CONH_2
イオベルソール	$\text{-CONHCH}_2\text{CH(OH)CH}_2\text{OH}$	$\text{-N(CH}_2\text{CH}_2\text{OH)COCH}_2\text{OH}$	$\text{-CONHCH}_2\text{CH(OH)CH}_2\text{OH}$

イオトリシド	$\text{-CON(Me)CH}_2\text{CH(OH)CH}_2\text{OH}$	-CONH_2	$\text{-CONHCH}_2\text{CH(OH)CH}_2\text{OH}$
イオメブロール	$\text{-CONHCH}_2\text{CH(OH)CH}_2\text{OH}$	$\text{-N(CH}_3\text{)COCH}_2\text{OH}$	$\text{-CONHCH}_2\text{CH(OH)CH}_2\text{OH}$
イオヘキソール	$\text{-CONHCH}_2\text{CH(OH)CH}_2\text{OH}$	$\text{-N(COCH}_3\text{)CH}_2\text{CH(OH)CH}_2\text{OH}$	$\text{-CONHCH}_2\text{CH(OH)CH}_2\text{OH}$

【 0 0 5 9 】

および、上記式 (I I) の二量体化合物であり、ここで、A、B-X-B'、DおよびEの意味は、以下の表 2 に報告される。

【 0 0 6 0 】

【表 2】

表 2

名称	A	D = E	B-X-B'
イオフラ トール	$\text{-CONHCH}(\text{CH}_2\text{OH})_2$	$\text{-NHCOCH}(\text{OH})\text{CH}_3$	$\text{-CONHCH}_2\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_2\text{NHCO-}$
イオタス ル	$\text{-CON(Me)CH}_2\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_2\text{OH}$	$\text{-CON(Me)CH}_2\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_2\text{OH}$	$\text{-NHCOCH}_2\text{CH}_2\text{-S-CH}_2\text{CH}_2\text{CONH-}$
イोजキ サノール	$\text{-CONHCH}_2\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_2\text{OH}$	$\text{-CONHCH}_2\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_2\text{OH}$	$\begin{array}{c} \text{C}(\text{O})\text{CH}_3 \qquad \qquad \text{C}(\text{O})\text{CH}_3 \\ \qquad \qquad \qquad \\ \text{-N-CH}_2\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_2\text{-N-} \end{array}$
イオフォ ルミノール	$\text{-CONHCH}_2\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_2\text{OH}$	$\text{-CONHCH}_2\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_2\text{OH}$	$\begin{array}{c} \text{C}(\text{O})\text{H} \qquad \qquad \text{C}(\text{O})\text{H} \\ \qquad \qquad \qquad \\ \text{-N-CH}_2\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_2\text{-N-} \end{array}$
イオトロ ラン	$\text{-CONHCH}(\text{CH}_2\text{OH})\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_2\text{OH}$	$\text{-CONHCH}(\text{CH}_2\text{OH})\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_2\text{OH}$	$\text{-N(CH}_3\text{)COCH}_2\text{CO(CH}_3\text{)N-}$

【0061】

より好ましいのは：イオパミドール、イोजキサノール、イオヘキサノール、イオベルソール、イオメプロール、イオプロミド、ヨードミド、およびそれらの可能な組み合わせからなる群より選択される、ヨウ素化造影剤である。

【0062】

我々はここで、興味深いことに、RF照射パルスのトレイン（交換アミドプロトンの化学シフトに調和された波長を用いる）が、これらのX線検査造影剤の対応するアミドプロトン（単数または複数）波長に適用される場合、アミドプロトン（単数または複数）が、関連のある従来技術において推奨される100Hzを十分に超える水プロトンとの交換率を有するにもかかわらず、それらは予期せずに、CERTに基づくCESTコントラストの有効性を促進することを見いだした。

【0063】

実際に、生理学的pH（pH約7.4）での約1000Hzの交換率は、実施例1において、本発明に係る代表的な外因性のCEST剤として考えられるイोजキサノール（Visipaque, GE Healthcare）に関して証明された。

【0064】

同程度の値が、例えば実験セクションの表3に行なわれた測定の実験条件を開示する書誌参照と一緒に提供される本発明に係る一部のさらなるX線検査造影剤に関しても、決定されている。

【0065】

約2560s⁻¹の平均化されたk_{ex}交換率の値は、Magn. Reson. Med. 2005; 53: 830-834において、イオパミドールアミド可動プロトン（7.05T、310K、およびpH7.4）に関して報告される。

【0066】

さらに我々は、興味深いことに、同一のB₁平均パワーレベル（B_{avg power}）がパルス飽和スキーム内で用いられる場合（または、換言すれば、異なるフリップ角でのパルストレイン飽和配列の適用の間、B₁平均パワーが一定に保たれる場合）、これらのX線検査造影剤によって促進されるCEST効果は、RF照射パルスのフリップ角で変化する診断関心の化学的・物理的パラメーターに対する依存性を示すことを確認した。

【0067】

特に、我々は、 $B_{avg\ power}$ が一定に保たれる場合、診断関心の化学的パラメーターに対する CEST 効果の依存性、およびしたがって、それに対するその応答性、および活用された RF 照射パルスフリップ角の間に、相関が実証され得ることを確認した。

【0068】

これらは、新規のレシオメトリック手法（他には多数一角度レシオメトリック手法と呼ばれる）を同定することを我々に駆り立てた（ここで、ST 効果の新規のレシオメトリック値は、（少なくとも2つの）異なる RF 照射パルスフリップ角で測定された ST 効果の比較によって得られる）。

【0069】

特に、我々は、従来のレシオメトリックに基づく手法の重大な改善は、異なるフリップ角での RF パルスのトレインによって、本発明に係る外因性の CEST 剤の単一セットの可動プロトン（単数または複数）を照射して、それから、同一のプロトン共鳴に関して異なる RF 照射パルスフリップ角で得られた ST 効果の比較を通して、異なる RF 照射パルスフリップ角の関数として ST 効果の新規のレシオメトリック値を計算することによって得られ得ることを見いだした。

【0070】

この改善された手法によれば、ST 効果の新規のレシオメトリック値（他には、パルス RF フリップ角、または RPA のレシオメトリックと呼ばれる）は、 $B_{avg\ power}$ を一定に保つことによって、（少なくとも2つの（at least two））異なる RF フリップ角で、ただ1つの共鳴（または可動プロトン（単数または複数）プール）の選択的な照射によって誘導される ST 効果の間の比較的な比率によって、異なる RF 照射パルスフリップ角（FA）の関数として得られる。

【0071】

代替の比較的な比率の活用に対する限定を含むことを望まずに、本発明の一実施態様では、新規のレシオメトリックのインデックス RPA は、以下の等式に従って2つの θ 値で促進される CEST コントラスト効果の比を測定することによって計算される：

【数2】

$$RPA = \frac{ST_{\theta 1}}{ST_{\theta 2}} \quad (2)$$

ここで、 $ST_{\theta 1, 2}$ は、 $B_{avg\ power}$ を一定に保つことにより、選択されたフリップ角 θ_1 および θ_2 で得られた ST を表わす。

【0072】

好ましい実施態様では、パルス RF フリップ角の新規のレシオメトリックの値は、以下の新たな等式（3）を用いて決定される。

【数3】

$$RPA = \frac{[(M_0 - M_s)/M_s]_{RF_{FA1}}}{[(M_0 - M_s)/M_s]_{RF_{FA2}}} \quad (3)$$

ここで、 M_s は、可動プロトン共鳴に対応する波長（ ν^n ）での照射の際の水シグナルの強度を指し、 M_0 は、波長 ν^f での照射の際に測定された水プロトンシグナル強度を指し、ここで、 $\nu^f = -\nu^n$ および $\nu^w = 0$ 、 RF_{FA1} は、RF フリップ角 A1 での水交換不可能なプロトン共鳴の選択的な照射によって誘導される ST 効果であり、および、 RF_{FA2} は、RF フリップ角 A2 での水交換不可能なプロトン共鳴の選択的な照射により誘導される ST 効果であり、RPA は、本発明の新規のレシオメトリック手法を用いて得られた ST 効果のレシオメトリック値である。

【0073】

上述の全てから、本発明の目的は、インビボまたはインビトロ（エキスビボ）でC E R Tに基づくC E S T-M R I イメージングをセットアップするために、可動プロトン（単数または複数）のプールを含む外因性のC E S T剤の単一のプロトン周波数に、パルストレイン飽和スキームを適用するステップを含む、C E S T-M R手順である。

【0074】

特に、一実施態様では、本発明は：

i) C E R Tに基づく飽和移動効果（S T効果）を誘導するために、異なるフリップ角で、サンプル内の外因性のC E S T剤の単一のプロトン周波数に、無線周波数（R F）照射パルスのトレイン飽和スキームを適用するステップ；および

i i) 前記サンプルから、C E R Tに基づくC E S Tシグナルを検出するステップ、を含む、C E S T-M R手順に関する。

【0075】

この点で、別段の提供がされない限り、本明細書において用いられる用語「サンプル」は、ヒトまたは動物の体の臓器、領域、流体または組織；または、適切な量の外因性のC E S T剤を以前に投与されているヒトまたは動物患者の体の臓器、領域、流体または組織由来の、インビトロまたはエキスビボの生物学的サンプルを指す。

【0076】

好ましい実施態様では、前記のパルス（またはC E R Tに基づく）C E S T-M R手順は、レシオメトリックに基づき、異なるR F照射パルスフリップ角の関数として、S T効果のレシオメトリック値を計算するステップを含む。

【0077】

特に、1つの好ましい実施態様では、本発明は、異なるフリップ角および一定値の $B_{avg\ power}$ で、外因性のC E S T剤の単一のプロトン周波数に、R F照射パルスのトレインを適用するステップ、および、レシオメトリックS T効果を、R F照射パルスフリップ角の関数として、すなわち、異なるR F照射フリップ角で測定されたS T効果間の比較的な比率によって、計算するステップを含む、レシオメトリックに基づくC E S T-M R手順に関する。

【0078】

より好ましい実施態様では、本発明は：

a) R F照射パルスの飽和トレインを、異なるフリップ角で、一定値の $B_{avg\ power}$ で、外因性のC E S T剤の単一の可動プロトン周波数に適用するステップ；

b) C E R Tに基づくC E S Tシグナルを検出するステップ；

c) 異なるR F照射パルスフリップ角で測定されたS T効果を比較することにより、S T効果のレシオメトリック値を計算するステップ；および

d) 濃度非依存性C E S T値を決定するステップ、を含む、C E S T-M R手順に関する。

【0079】

好ましい実施態様では、ステップc) は、等式（3）の活用によって、S T効果iのレシオメトリック値を計算するステップを含む。

【0080】

有利に、この新規のレシオメトリック手法の活用は、B a l a b a nの手法の前提条件、すなわち、同一分子上の2つの磁氣的に非同等の共鳴の必要な存在を克服するのを可能にして、それにより、全てのX線検査造影剤（より一般には、交換プロトン（単数または複数）の単一プールのみを有する外因性の薬剤）へのレシオメトリック手法の一般的適用性の重大な改善をもたらすが、レシオメトリック方法は、複数の交換可能なプロトンプールの存在下でも同様に適用され得る。

【0081】

さらに、（異なるフリップ角での）繰り返しの短いR Fパルスのトレインの活用に基づいて、本発明の手順は、長い期間求められてきたこと、および、一般に連続波（C W）飽

10

20

30

40

50

和スキームを用いることにより遭遇される特定のSARの欠点を克服することをさらに可能にして、したがって、現在使用されている臨床MRIスキャナーを、容易に変換可能 (translatable) である。

【0082】

この点で、本明細書において用いられる連続波スキームにより、我々は、スキームを指し、単一の長い (約数秒) オフ共鳴の長方形の高周波照射パルスがイメージング獲得に先行する。

【0083】

他方で、「繰り返しの短いRFパルス」により、我々は、読み出し獲得に先行する多数のオフ共鳴高周波照射パルス (約ミリ秒および異なる形状: 例えばガウス分布、長方形、sinc.) を用いたスキームを指す。

10

【0084】

一実施態様では、前記のレシオメトリックに基づくCEST MR手順は、CEST剤の局所濃度によって影響を受けないヒトまたは動物の体の臓器、領域、流体または組織のインビボまたはインビトロ (エクスピボ) 画像を提供するために活用される。

【0085】

さらにより好ましくは、本発明のレシオメトリックに基づくCEST MR手順は、外因性のCEST剤の局所濃度によって影響を受けないヒトまたは動物の体の臓器、流体または組織における診断関心の物理的または化学的パラメーターのインビトロ (エクスピボ) または、好ましくは、インビボ評価またはマップを提供するために活用される。

20

【0086】

一実施態様では、本発明のパルスCEST-MR手順での使用のための外因性のCEST剤は、反磁性CEST剤である。

【0087】

好ましい実施態様では、反磁性薬剤は、アミド可動プロトン (単数または複数) の少なくとも1つのプール、例えば、好ましくは、生理学的条件で200~3500Hzの周囲の水分子と交換率 k_x を有する、可動プロトン (単数または複数) の実に単一プールを含む、X線検査造影剤である。

【0088】

本発明の一実施態様では、本発明に係る好ましい外因性のCEST剤として作用するX線検査造影剤は、可動プロトンの単一プールのみ含む。

30

【0089】

より好ましくは、X線検査造影剤は、イोजキサノール、イオパミドール、イオプロミド、イオヘキソール、イオベルソール、およびイオメプロールからなる群において選択されて、および、最も好ましくは、イオパミドールまたはイोजキサノールである。

【0090】

したがって、好ましい実施態様では、本発明は、異なるフリップ角で、RF照射パルスのトレインを用いて、X線検査造影剤の単一のアミドプロトン周波数を飽和させるステップ、および、濃度非依存性インビボまたはインビトロ (エクスピボ) CEST-MRIイメージングを提供するためにRF照射パルスフリップ角の関数としてレシオメトリックSEST効果を計算するステップを含む、レシオメトリックに基づくCEST-MRI手順に関する。

40

【0091】

あるいは、前記レシオメトリックに基づくCEST MR手順は、X線検査造影剤の局所濃度によって影響を受けないヒトまたは動物の体の臓器、流体または組織における診断関心の物理的または化学的パラメーターのインビボまたはインビトロ (エクスピボ) の決定のために用いられる。

【0092】

本発明に係る診断関心の物理的または化学的パラメーターは、例えば、温度、pH、酸素の分圧 (pO_2) または二酸化炭素 (pCO_2)、特定のイオンまたは代謝物濃度、ま

50

たは特定の酵素活性を含み、ここで、温度およびpHが好ましく、pHが特に好ましい。

【0093】

特に、好ましい一実施態様では、本発明は、ヒトまたは動物の体の臓器、領域、流体または組織の濃度非依存性画像を得るためのレシオメトリックに基づくCEST-MR手順に関し：

a) 一定値の $B_{avg\ power}$ で、異なるフリップ角で、RF照射パルスのトレインを用いて、X線検査造影剤の単一交換プロトン周波数を照射するステップ；

b) Zースペクトルを集めるステップ；

c) 好ましくは等式3を用いることにより、例えば同一の共鳴に対して作用する異なるRF照射パルスフリップ角で得られたST効果の比較的な比率によって、RF照射パルスフリップ角の関数としてST効果のレシオメトリック値を計算するステップ、および

d) 前記ヒトまたは動物の体の臓器、領域、流体または組織の濃度非依存性画像を得るステップ、

を含み、

前記の決定は、ヒトまたは動物の体の臓器、領域、流体または組織の濃度非依存性インビボ画像を得るために、インビトロ（エキスビボ）で、例えば、本発明に係る有効量の造影剤が以前に加えられたヒトまたは動物の体の臓器、領域、流体または組織のインビトロまたはエキスビボのサンプルに対して、または、好ましくは、インビボで、行なわれる。

【0094】

別の好ましい実施態様では、本発明は、物理的または化学的パラメーターを決定するため、または、ヒトまたは動物の体の臓器、領域、流体または組織における診断関心の物理的または化学的パラメーターの濃度非依存性マップを得るための、本発明に係るレシオメトリックに基づくCEST-MR手順に関し：

A) 一定値の $B_{avg\ power}$ で、異なるフリップ角で、RF照射パルスのトレインを用いて、X線検査造影剤の単一交換プロトン周波数を照射するステップ、；

B) Zースペクトルを集めるステップ；

C) 好ましくは等式3を用いることによって（例えば、同一の共鳴に対して作用する異なるRF照射パルスフリップ角で得られたST効果の比較的な比率によって）、RF照射パルスフリップ角の関数としてST効果のレシオメトリック値を計算するステップ；および

D) 計算されたレシオメトリックST効果から、目的のパラメーターの物理的（またはレシオメトリック値）の濃度非依存性マップの測定を得るステップ、

を含み、

前記決定またはマップは、インビトロ（エキスビボ）で、例えば、本発明に係る有効量の造影剤が以前に加えられたヒトまたは動物の体の臓器、領域、流体または組織のインビトロまたはエキスビボのサンプルに対して、または、好ましくは、インビボで、ヒトまたは動物の体の臓器、領域、流体または組織において、得られる。

【0095】

好ましくは、上記手順のステップD)は、関心のあるヒトまたは動物の体の臓器、領域、流体または組織の以前に記録された形態学的画像に、手順のステップC)から得られたレシオメトリック値の集められたマップを重ねるステップをさらに含む。

【0096】

この点で、技術のある熟練者は、可動プロトン周波数を照射するステップ、Zースペクトルを集めるステップ、レシオメトリックST効果を計算するステップ、および、以前に行なわれた校正曲線を用いることにより体の臓器または領域における所望の物理的または化学的パラメーターの推定またはマップを得るステップを含む、上記手順の主なイメージングステップは、適切に設定された時点で、現行の診断実務において用いられる手順に従って、および、関連のある分野における当業者が利用できるデータ処理手順を用いることによって、例えば現行で使用されているまたは引用された関連のある文献で提供される臨床プロトコルから、MRIスキャナーによって自動的に行なわれることを理解している。

【0097】

したがって、好ましい実施態様では、本発明のC E S T-M R I方法は、以前に投与されている、すなわち、本発明に係る適切な量のX線検査造影剤を含む医薬品が適切に事前投与されている、ヒトまたは動物の体に対して行なわれる。

【0098】

言い換えると、好ましい実施態様によれば、本発明は、以前に投与されている、すなわち、本発明に係る適切な量のX線検査造影剤複合体化合物を含む医薬品が事前投与されているヒトまたは動物の体に対して行なわれる、ヒトまたは動物の体の臓器、領域、流体または組織のインビボのイメージングのための、または、ヒトまたは動物の体の臓器、領域、流体または組織における診断関心の物理的または化学的パラメーターのインビボ評価またはマッピングのための、本発明に係るC E S T-M R I方法に関する。

10

【0099】

本明細書において用いられる「適切な量」によって、我々は、その意図される診断目的（単数または複数）を満たすため：すなわち、例えば、濃度非依存性コントラスト画像を獲得するために十分な、任意の量の本発明の造影剤、またはその医薬組成物を指し、または、C E S Tに基づくM R Iイメージング技術の使用によって、関心のあるヒトまたは動物の体の臓器、領域、流体または組織における目的のパラメーターの濃度非依存性マップを提供する。

【0100】

代替の実施態様では、本発明は、レシオメトリックに基づくC E S T-M R手順を受けている患者に、本発明に係る適切な量のX線検査造影剤を含む医薬組成物を投与するステップを含む、本発明に係るC E S T-M R手順に関する。

20

【0101】

別段の指示がされない限り、本明細書において用いられる「個々の患者」または「患者」によって、我々は、生きているヒトまたは動物患者、および、好ましくは、M R診断評価を受けているヒトを指す。

【0102】

本発明の方法では、飽和移動ステップは、当技術分野で知られている配列に従って、例えば、異なる形状（長方形、ガウス分布、 sinc ）での繰り返しの短いR Fパルスを用いて、「グラジエントまたはフィールドエコー」および「スピンエコーおよび高速スピンエコー」または「エコープラナーイメージング」を含む、異なる読み出しスキームとの任意選択の組み合わせで、行なわれ得る。

30

【0103】

好ましい実施態様では、本発明の方法は、投与されたC E S T剤、または薬剤混合物、および水共鳴の可動プロトン（単数または複数）の共鳴オフセット（単数または複数）を含む様々な波長オフセット（単数または複数）をカバーする、Zースペクトルを集めるステップを含む。Zースペクトルは、好ましくは、高速スピンエコー中心コードに基づく配列スキームを用いて集められて、および、特にインビボ条件で働く場合に見られるアーチファクトを最小限化するために、 B_0 不均質性の時間厳守基準（ punctual basis ）（すなわちボクセルバイボクセル）での補正およびノイズデータの除去を通して最適化される（Magn Reson Med 2013, 70, 859）。

40

【0104】

得られたS T効果の最適化は、好ましくは時間厳守基準で、例えば、ボクセルバイボクセルの基準で、飽和移動効果を（R F照射パルスのそれぞれの異なるフリップ角に関して）計算することによって、すなわちそれぞれの波長オフセットの全ての実験ポイントにおいて、例えば平滑化スプラインによるZスペクトルの非対称の内挿を通して操作されて、および、ノイズまたは散らばりデータを区別（およびそれ故に除去）して、結果として、提案される方法の精度および感度の増大を提供するために、例えばDevelopment and validation of a smoothing-spline-based correction method for improving

50

the analysis of CEST-MR images, CONTRAST MEDIA & MOLECULAR IMAGING Volume: 3, Issue: 4, Pages: 136-149, 2008; Methods for an improved detection of the MRI-CEST effect, CONTRAST MEDIA & MOLECULAR IMAGING; Volume: 4; Issue: 5; Pages: 237-247; 2009に開示されるように曲線の最小をゼロオフセット値に固定するためにそれぞれの画素において内挿された曲線を変換する。

【0105】

適切な後処理モダリティは、本発明の好ましい方法と組み合わせて活用されることもできて、（例えば、Contrast Media Mol Imaging. 2009, 4, 237-47に提供される）、提案されたレシオメトリック方法によって与えられる感度を増大するのにさらに貢献する。

【0106】

特に好ましい実施態様では、本発明は、ヒトまたは動物の体の臓器、領域、流体または組織における診断関心の物理的または化学的パラメーターの濃度非依存性インビボマップを提供するためのCEST-MRI方法に関し：

i) 適切な量のX線検査造影剤を、患者へ注入するステップ、および任意選択で、体の目的の臓器、領域または組織の解剖学的MR画像を記録するステップ；

ii) 一定値の $B_{avg} power$ で、異なるフリップ角で、RF照射パルスを用いて、パルストレイン飽和スキームによって、X線検査造影剤の単一交換プロトン周波数を照射するステップ；

iii) 例えば、投与された造影剤の可動プロトンの共鳴オフセットを含む様々な波長オフセットをカバーする、Zースペクトルを得るステップ、

iv) 例えばボクセルバイーボクセル基準で水シグナルの波長オフセットを決定することによって、時間厳守基準でZースペクトルを内挿するステップ、および、曲線の最小をゼロオフセット値に固定するためにそれぞれのイメージボクセルにおいて内挿された曲線を変換するステップ；

v) 好ましくは、整数に基づく、組み合わされた、高められた、および相補のモダリティから選択される、後処理モダリティを用いることによって、任意の所望の波長オフセットで患者の体の目的の臓器、領域または組織におけるST効果を計算するステップ；

vi) 異なるRFフリップ角でのST効果の比較によって、単一の共鳴に関するST効果のレシオメトリック値を計算するステップ；

vii) 以前に計算された較正曲線を用いることによって、目的のパラメーターのマップを得るステップ、および、任意選択で

viii) 目的のパラメーターが生じる領域（単数または複数）を空間的にローカライズするために、生じたSTパラメトリックマップを、記録された解剖学的MR画像に重ねるステップ、

を含む。

【0107】

最も好ましくは、本発明の上記のCEST-MRI方法において、X線検査造影剤は、イオジキサノールである。

【0108】

特に、別の好ましい態様では、本発明は、濃度非依存性の応答性をセットアップするための、特に、ヒトまたは動物の体の臓器、領域、流体または組織におけるpHのインビボマップを得るための、pH応答性薬剤としてのイオジキサノールの使用に関する。

【0109】

前述の全てから、特に好ましい態様において、本発明は、等式(3)用に基づくST効果のレシオメトリック値の決定を通して（though）診断関心の生理的パラメーターの濃度非依存性評価を提供するための、応答性薬剤として可動プロトン（単数または複数

10

20

30

40

50

）の実に単一プールを有するX線検査造影剤を用いたレシオメトリックに基づくC E S T-M R I方法に関することに起因する（s t e m）。

【0110】

しかしながら、当業者には、本発明の範囲内に、好ましくは、水プロトンと中程度～高い交換レジームである、本発明に係る任意の外因性のC E S T剤（すなわち、少なくとも可動プロトン（単数または複数）のプールを有する）の使用を含む、レシオメトリックに基づくC E S T M R手順が包含されることが明らかであるはずである。

【0111】

本発明の方法では、本発明に係るC E S T剤として作用するX線検査造影剤は、適切な医薬品の形態で投与または事前投与される。

10

【0112】

この点で、前記の投与または事前投与は、例えば、管内注入によって（例えば、静脈内、動脈内、心室内注入など）、または髄腔内、腹腔内、リンパ内（i n t r a l y m p h a t i c l y）、腔内（i n t r a c a v i t a l l y）、経口、または経腸的に生じ得る。

【0113】

本発明に係る外因性のC E S T剤の注入可能な医薬製剤は、好ましくは、少なくとも1つのアミドプロトンプールを有する式（I）および（I I）に係るX線検査造影剤を含み、典型的に、活性成分、すなわち造影剤複合体、またはその薬学的に許容できる塩、および、薬理学的観点から適切な純度の水中の薬学的に許容できる賦形剤を、溶解させることによって調製される。生じる製剤は、適切に滅菌されて、そして、それ自体として用いられ得て、または、あるいは、使用前に凍結乾燥または再構築され得る。

20

【0114】

これらの製剤は、診断の要求に応じて可変の濃度で、例えば、より少ない量の造影剤を含む溶液を用いることもできるが、100～450mg I / mLの範囲で、投与され得る。

【0115】

一般に投与されるC A投与量は、100から、より典型的には150mlのC A製剤、最大の臨床的に許容される1.5g I / kgの患者BWの投与量までである。

【0116】

30

特に好ましい実施態様では、本発明は、適切な賦形剤および／または希釈剤と一緒にイオジキサノール、イオパミドールから選択される少なくとも1つのX線検査造影剤を含む、ヒトまたは動物の体の目的の臓器、領域、流体または組織におけるpHのインビボマップを得るためのレシオメトリックに基づくC E S T手順に関する。

【0117】

上記等式（3）の活用に基づき提供される新規のレシオメトリック手法の性能を試験して、実験セクションで詳細に報告されるインビトロM R I試験を用いて、等式（1）を用いた古典的な標準のレシオメトリックモダリティと比較した。

【0118】

これらの試験では、イオパミドールおよびイオジキサノールを、非限定的な、代表的な、本発明に係る外因性のC E S T造影剤の例として用いた。

40

【0119】

イオジキサノールは、従来のC Tイメージングにおいて用いられる良く知られた造影剤であり、V i s i p a q u e（G E H e a l t h c a r e）として長い期間売られている。この造影剤は、単一のプロトンアミド共鳴を保有し（すなわち、N M Rスペクトル内に同一の共鳴を有する4アミドプロトン）を有する。図1の円）、ただ1つの領域の飽和移動を有するイオジキサノールZースペクトルによって示されるように、4.4ppmの特定の化学シフトでC E S Tコントラストを生じることができる（図2b）。したがって、少なくとも2つの磁氣的に非同等の可動プロトンの活用に基づく、B a l a b a nのレシオメトリック手法は、この化合物に適用することができない。

50

【0120】

pH範囲5-5-7.7におけるイोजキサノールアミドプロトンの交換率を、実施例1の試験によって最初に評価した。図3にグラフで示される得られた結果は、生理学的条件では、 k_{ex} の測定された値が、200Hzを十分に超えて、7.4の生理学的pHでは1000Hzよりもさらにいっそう高い交換率の値に到達することを確認する。

【0121】

pHに対してこの化合物によって示される応答性は、それから、実験セクションの実施例2および3で詳細に報告されるインビトロMRI実験を用いて確証された。

【0122】

試験は、5.5および7.9からの範囲の異なるpH値で、イोजキサノール溶液（PBS中に40mM溶液）を含む7つの異なるバイアルを備えるファントムを用いることによって行なわれた。CEST実験は、1μTの一定の飽和 $B_{avg power}$ およびそれぞれ180°および360°の異なるフリップ角（ θ ）でのRFトレインパルスの使用によって行なった。

10

【0123】

図5、パネルb）およびc）に示される得られたST値は、 $B_{layer average power}$ レベルが実験において一定に保たれる場合、pHに対する飽和移動の依存性は、イोजキサノールの固有のアミドプロトンプールに適用されるRF照射パルスのフリップ角（ θ ）によって変化することを確認する。

20

【0124】

レシオメトリックRPAマップは、したがって、図のパネルd）に示されるパネルb）およびc）のST画像から、等式（3）を用いることによって得られて、図のパネルe）に提供されるpHの濃度非依存性評価の取得をもたらした。ここで、得られたpHマップは、 T_2 -強調画像の上に押し付けられる（overimposed）。

【0125】

興味深いことに、本発明のレシオメトリック方法によるイोजキサノールの使用は、6-7.9の生理学的範囲内のpHの濃度非依存性測定の決定を良好な精度で可能にして、図8に示されるように、pHメーター（ピアソン $r=0.993$ 、 $P<0.0001$ ）によって測定される対応するpH値と高く相関していることが証明された。

【0126】

さらに、提案されたレシオメトリック方法は、図7にグラフで示される、実施例2の試験の結果によって確認されるように、濃度からロバストな非依存性を示すことが証明された。

30

【0127】

それから、新規のレシオメトリック手法によって提供される性能およびpHに対するその感度を、現在用いられている標準的なレシオメトリックモダリティを用いることによって得られた対応する結果と比較することによって試験した。

【0128】

具体的には、異なるフリップ角でのRF照射パルスのトレインおよび等式（3）を活用する本発明のレシオメトリック手法、および、連続波（CW）照射スキームを活用する標準的な手法およびBallabanの等式（1）に基づくレシオメトリック手法を用いることによって測定されるpHに対する応答性の間の比較を行なった。

40

【0129】

実験セクションの実施例4および5に詳細に説明される比較試験を、可動プロトンの2つのプール（それぞれ4.2および5.5ppm（図1および図2））を含む本発明に係るCEST剤としてイオパミドールを用いることによって行ない、従来のBallabanの手法の実施を可能にした。

【0130】

標準的なレシオメトリック手法に従って等式（1）の使用により得られたpHの関数としてのレシオメトリックST効果およびST値を、図9にグラフで提供する。

50

【0131】

本発明の手順に従った、異なる照射フリップ角（180および360°）で、4.2 ppmでのアミドプロトンプール（ $B_{avg\ power} = 1\ \mu T \times 5\ s$ 、 $T = 310\ K$ ）に関するパルス照射スキームの適用によって得られたpHの関数としての対応するST効果およびレシオメトリックST曲線を、図11に提供する。

【0132】

興味深いことに、得られた結果（図9bおよび11b）は、完全に同程度であり、および、本発明の方法によって得られたpH応答性が、標準的なレシオメトリック手法によって得られたpH応答性と一貫し、同程度であることを確認するのを可能にする。

【0133】

診断関心の特定のパラメーターに関する報告に対する（例えば生理学的pH）、本発明のレシオメトリック方法によって与えられる感度は、それから、試験された値の範囲の内側で測定された、（目的のパラメーター、例えば生理学的pHの）より低いおよびより高いレシオメトリック値の間の違い（またはデルタ）として評価された。

【0134】

予期せずに、1.4ユニットのデルタでのpH感度が、本発明のレシオメトリック手法の使用によって得られて、7Tで標準的なレシオメトリック手法によって得られた対応する値（感度＝1.4ユニット）と完全に同程度であった（図9bおよび11b）。

【0135】

この結果は、特に良好である上に、特に、提案された手順が、SAR効果を避けて患者にとってより不快でない短いパルス配列の活用に基づくが、コントラストについては可能な（enabled）感度の低減を一般にもたらすという事実を踏まえると、予期されない結果である。

【実施例】

【0136】

[実験パート]

[略称]

以下の一般的な略称は、明細書および以下の実験セクションの全体を通じて用いられて；いくつかの他のものは、慣習的に用いられるのでこれによって報告されない。

MRI＝磁気共鳴イメージング

CEST＝化学交換飽和移動

CERT＝化学交換回転移動

DIACEST：反磁性CEST剤

PARACEST＝常磁性CEST剤

MT＝磁化移動

ST＝飽和移動

RF＝無線周波数

CW＝連続波飽和スキーム

FA＝フリップ角

dc＝デューティサイクル、またはRFパルス持続時間

B0＝主磁場

B1＝RF飽和パワー

$B_{avg\ power}$ ＝パルスCESTと同一の平均パワーによる連続波照射の場強度である（Magn. Reson Med 2012, 68:711-719による）

RARE＝Rapid Acquisition with Relaxation Enhancement

RPA＝等式（3）に従って測定されたパルスフリップ角のレシオメトリック

RST＝等式（1）に従って測定されたレシオメトリック飽和移動

RF_{FA} ＝特定のフリップ角での高周波照射

ROI＝関心領域

PBS = リン酸緩衝液

SAR = 特定の吸収率

【0137】

[MRI 実験]

MRI 獲得

インビトロおよびインビボの実験にそれぞれ用いられるトランスミッター／レシーバー共鳴器（直径30mm）を用いて、7Tで運転してマイクロイメージングプローブを具備するBruker Avance 300分光計で、MR画像を獲得した。Zースペクトルは、 $-10 \sim +10$ ppmの波長オフセット範囲内で、0.1 ppmのステップサイズで、CW飽和スキーム（単一のブロックパルス、持続時間5s）によって先行されるSpin Echo RARE配列（典型的な設定 TR/TE/NEX/RAREファクター = $8000\text{ms}/8\text{ms}/3/64$ ）を用いて、または、本発明の新規の手順に従って、一定の平均 B_1 パワー（0.5～3.0 μT ）を維持して、ガウス分布照射パルスのフリップ角を変更することにより（範囲45～900°）、ガウス分布パルスのトレインを用いることによって、獲得された。それぞれの照射パルスは、持続時間 τ_P 、フリップ角 θ 、パルス間遅延 τ_D を有した。パルストレイン反復（PTR）は、 $\tau_P + \tau_D$ によって与えられる。

10

【0138】

例えば、1 μT の $B_{avg\ power}$ 、180°の照射FA、および、50%のdcでのパルスCEST配列は、5sの合計照射時間のあいだ、10.8msの τ_P 、10.8msの τ_D 、21.6msのパルストレイン反復、および、232パルスを有する。 $B_{avg\ power}$ レベルは、0.5、1および2 μT となるように、50%および30%の異なる値のデューティサイクル（dc）で設定した。予期される角依存性を試験するために、45～900°の間の15個の値を、それぞれの $B_{avg\ power}$ レベルおよびdc条件について得た。

20

【0139】

パルスCESTイメージングに関して、 $B_{avg\ power}$ は、以下の等式（4）を用いることによって計算され得る。

【数4】

$$B_{avg\ power} = \sqrt{\frac{1}{PTR} \int_0^{PTR} B_1^2 dt} = \sqrt{\frac{p_2}{dc}} \cdot \frac{\pi\theta}{180 \cdot \gamma \cdot p_1 \cdot PTR} \quad (4)$$

30

ここで、 $B_{avg\ power}$ は、パルスCESTと同一の平均パワーによる連続波照射の場強度である。 p_1 は、照射パルスの最大振幅に対する平均振幅の比であり、 p_2 は、照射パルスの最大振幅の平方に対する振幅の平方の平均の分配であり、 γ は、プロトンの磁気回転比である（単位rad（s⁻¹T⁻¹））。我々の実験で用いられるガウス分布パルスについては、それぞれ、 $p_1 = 0.418$ であり、 $p_2 = 0.299$ である。

【0140】

画像は、2mmのスライス厚および30×30mmの視野（FOV）を有する64×64獲得マトリックスを用いて得られた。実験は、37℃で行なった。

40

【0141】

画像およびデータ分析

Zースペクトル生データは、MRIワークステーションからエクスポートされて、MATLAB（The Mathworks, Inc., Natick, MA, USA）で実行するhome-writtenソフトウェアを用いて自動的に生産された。分析は、画像分割、全体的なROI分析、局所的なボクセルバイーボクセル分析を含む、いくつかのステップからなる。具体的には、形態学的画像の自動的な画像分割の後に、それぞれの形態学的画像において、一般に腫瘍領域、血管または浮腫領域を含む、バルク水共鳴波長

50

およびST応答などのROI特性が研究される関心領域(ROI)を、手作業で選択した。0.1 ppmサンプリングステップによりシグナルをサンプリングすることによって、Zースペクトルを作り上げて、より典型的には、バルク水共鳴に近い照射波長の値に用いた。集められたZースペクトルを、平滑化スプラインを用いることによって連続的に解析して、例えば、CONTRAST MEDIA & MOLECULAR IMAGING Volume: 3, Issue: 4, Pages: 136-149, 2008、および、CONTRAST MEDIA & MOLECULAR IMAGING; Volume: 4; Issue: 5; Pages: 237-247; 2009に開示されるように、MATLABプラットフォーム内にコンパイルされたソフトウェアを用いることによって、同定されたROIにおいて、ST効果のレシオメトリック値を得た。

10

【0142】

特に、選択されたROIの全体的な分析に基づき、分割された画像は、任意の所望の波長オフセットでSTを計算することによって局所的に研究された。局所分析は、それぞれの単一ボクセルにおいて異なる物理化学的・化学的特性を説明する(accounting for)、ボクセルバイボクセル基準で、局所的なZースペクトルを得るために分割画像のそれぞれのボクセルから来るサンプルを内挿することによって行われた。内挿は、0.9の平滑化因子を用いることによって、平滑化スプラインに基づいて行ない、低いシグナル対ノイズ比を有するボクセルを特定して差し引くことを可能にした。

【0143】

バルク水シグナルの右の位置を、ボクセル基準で評価して、分割画面においてバルク水共鳴のボクセルバイボクセル分配の「ゼロオフセット」マップを得た。バルク水共鳴をゼロオフセットに固定するために、局所的な補正されたST分析を、それから、それぞれのボクセルにおいて内挿されたZースペクトルをシフトさせることによって行なった。それから、正確なボクセル内STを、シフトされた内挿された曲線に基づいて計算した。

20

【0144】

活用されたレシオメトリック手法に応じて(および従って、対応する用いられた等式(1)および(3)に対して)、異なる共鳴または異なるRF照射フリップ角での単一のボクセルST効果を比較して(ratioed)、生じるレシオメトリック値を得た。インビトロ実験において以前に行なわれた較正曲線を用いることによって、対応するpHマップを計算して、対応する解剖学的画像の上に押し付けた(overimposed)。

30

【0145】

[実施例1]

インビトロ試験

pH範囲5.5~7.9における、イオジキサノールの化学交換率の評価。

高解像度1H-NMRスペクトルを、14Tで運転して(600.13MHzのプロトンラーモア波長に対応する)、Z-グラジエント5mm逆プローブを具備する、Bruker Avance 600分光計(Bruker BioSpin Rheinstetten, Germany)に記録した。BTO2000可変の温度ユニットを用いて、サンプル温度制御を+/-0.1K内でモニターした。交換可能なプロトンの線幅を測定するための1H-NMRスペクトルは、グラジエントを有する励起彫刻(excitation sculpting)による水抑制を用いたパルス配列を用いて得られた(T. L. Hwang, A. J. Shaka Water Suppression That Works. Excitation Sculpting Using Arbitrary Wave-Forms and Pulsed-Field Gradients, J. Magn. Reson. Ser. A, 1995, 112(3), 275-279)。担体波長を、注意深く、水シグナルに対する共鳴に設定した。単一の「励起-検出」獲得(典型的なパラメーター:16ppmスペクトルウインドウ、32k複合データポイント、3s緩和遅延、および64平均化FID)を行なって、310Kでの交換可能なアミドプロトンの線幅を測定した。インビトロ試験を、水性リン酸緩衝液(10mM)中にイオジキサノールの30mM溶液を調製することによって実施して、HCl/NaOHの

40

50

アリコートの添加によって5.5～7.4の範囲内にpHを調節した。溶液を含むキャピラリーを、フィールド周波数ロックのためにD₂Oで満たされた5mmNMRチューブ内に移動させた。pHの関数としての交換率を図3に示す。

【0146】

本発明に係る一部のX線検査造影剤に関して5.4～7.9のpH範囲で類似的に評価された交換率の値を、以下の表3に提供する。

【0147】

交換アミドプロトンの波長および実験条件に関する詳細は、引用された参考文献に提供される。

【0148】

【表3】

表3

K _{ex} (s ⁻¹), 310 K				
pH	イオメプロール*	イオヘキソール*	イオベルソール*	イोजキサノール*
5.5	30	22	22	32
6.0	88	69	66	51
6.3	164	139	118	80
6.7	430	372	292	179
7.0	794	923	913	476
7.4	1831	1609	1628	1213
7.9	4389	4056	3660	1332

*Investigative Radiology, Vol. 00:00-00, Published Ahead-of-Print 12 Oct. 2015-DOI:10.1097/RLI.0000000000000217

【0149】

[実施例2]

インビトロ試験

新規の提案されたレシオメトリック手法を用いた、7TでのpHに対するイोजキサノールの応答性。

【0150】

pHに対するイोजキサノールの応答性特性を、40mMおよび5.5～7.9の範囲の異なるpHでのイोजキサノールの溶液で満たされた7つのキャピラリーを備えるファントムを用いることにより、インビトロで研究した。CEST MRI実験を、37℃およびB₀=7Tで行なった。異なるpH値でのファントム自体のMR画像を図5aに示し、一方で、180°および360°の2つの異なるフリップ角で、ガウス分布トレイン飽和スキーム(B₁平均パワーを1μTで一定に保つ)を用いて、4.4ppmでのアミド共鳴の照明の際に得られた対応するSTマップを、それぞれ図5bおよび図5cに示す。それぞれのキャピラリーに関し、平均ST値をST画像から計算して、図6aに示されるように、pH値の関数としてプロットした。特に、図4aは、異なるフリップ角に関して得られた異なるSTプロファイルを示し、単一のアミドプロトンプールによって示される飽和移動のpHからの依存性を確認して、したがって、提案されたレシオメトリックRFフリップ角が不整合の手法の使用を可能する。それから、等式(3)を活用するpHの変動とST効果の変動を比較することによって、校正曲線が行なわれて、180°/360°のRF照射パルス間の、図6bのレシオメトリック曲線の取得に応じた。それから、等式(3)のレシオメトリック方法を図5c～dのST画像に適用することによってpHマップを計算した。より具体的には、画素ごとに、180°および360°でそれぞれ測

10

20

30

40

50

定されたST効果の比を、図6bの較正曲線を用いることによって、対応するpH値に変換する。その結果、pHマップが得られて、図5eに示される以前に得られた解剖学的画像上に重ねられる。

【0151】

レシオメトリック手法のpH感度を、生理学的pH範囲を包含する範囲である6.0および7.4の2つのpH値の間のレシオメトリック値における違いとして計算した。提案されたフリップ角に基づくパルスレシオメトリック手法に関しては、 $1\mu\text{T}$ の B_1 平均パワーを用いた場合、pH感度は、図6bから計算されるように1.4と等しい。

【0152】

[実施例3]

インビトロ試験

提案されたレシオメトリック手法を用いて得られたpH値の、精度および濃度非依存性の評価。

【0153】

7TでのイオジキサノールのpH応答性特性を、pH7.2および10~50mMの範囲の濃度でイオジキサノール溶液を含む5つのキャピラリーを備えるファントムを用いることによってインビトロで研究した。CESTMRI実験を、5sの合計飽和時間のあいだ、 180° および 360° の2つの照射フリップ角で、トレインパルス飽和スキーム($1\mu\text{T}$ の B_1 平均パワー)を用いて 37°C および $B_0=7\text{T}$ で行なった。ファントムの照射の際に、それぞれのフリップ角、および、イオジキサノール濃度の関数として等式(3)を用いて得られた対応するレシオメトリックRPA値について、ST効果を測定した。図7に図式化される得られた結果は、本発明によってセットアップされた新規のレシオメトリック手法に従って異なるフリップ角で測定されたSTコントラストを比較することによって得られたST効果のロバストな濃度非依存性を確認する。

【0154】

6~7.9の生理学的pH範囲内で本発明のレシオメトリック手法の使用によって得られたpH値の精度を、それから、pHメーターによって測定された対応するpH値と測定されたレシオメトリックpH値の比較によって試験した。

【0155】

それから、レシオメトリックおよび対応するpHメーター値の間の高い相関($r=0.993$ 、 $P<0.0001$)が確認されて図8に提供されて、試験されたpH範囲において提供されたレシオメトリック手法により確実にされる良好なpH精度を確認した。

【0156】

[実施例4]

インビトロ試験

標準的なレシオメトリック手法を用いた、pHに対するイオパミドールの応答性の評価($B_0=7\text{T}$)。

pHに対するイオパミドールの応答性特性を、30mMおよび5.5~7.4の範囲の異なるpHでイオパミドールの溶液で満たされた7つのキャピラリーを備えるファントムを用いることによって、インビトロで研究した。1H-NMRスペクトルが得られた。

【0157】

CESTMRI実験を、CW飽和パルス($B_{avg\ power} 3\mu\text{T}$ 、照射時間5s)を用いて、4.2ppmおよび5.5ppmでのアミド共鳴の照射の際に、 37°C および $B_0=7\text{T}$ で行なった。それぞれのキャピラリーに関して、平均ST値をST画像から計算して、pH値の関数としてプロットして、図9aに示した。特に、図9aは、2つの異なるアミド共鳴に関して得られたSTプロファイルを示し、2つのアミドプロトンプールによって示される飽和移動のpHからの依存性を確認し、したがって、標準的なレシオメトリック手法の使用を可能にする。それから、等式(1)を活用するpHの変動とST効果の変動を比較することによって較正曲線が行なわれて、図9bのレシオメトリック

10

20

30

40

50

曲線の取得に応じた。

【0158】

標準的なレシオメトリック手法については、イオパミドールに関する pH 感度は、図 9 b から計算されるように、1.4 と等しい。

【0159】

[実施例 5]

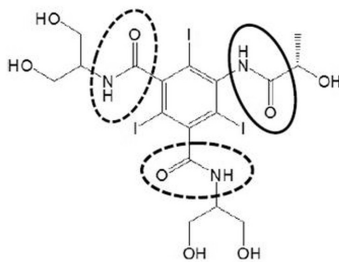
インビトロ試験

新規の提案されたレシオメトリック手法を用いた、pH に対するイオパミドールの応答性の評価 ($B_0 = 7\text{ T}$)。

pH に対するイオパミドールの応答性特性を、30 mM および 5.5 ~ 7.9 の範囲の異なる pH でイオパミドールの溶液で満たされた 7 つのキャピラリーを備えるファントムを用いることによって、インビトロで研究した。CEST MRI 実験を、37 °C および $\text{at } B_0 = 7\text{ T}$ で行なった。それぞれのキャピラリーについて、平均 ST 値を ST 画像から計算して、pH 値の関数としてプロットして、図 10 に示した。特に、図 10 は、異なるフリップ角に関して得られた異なる ST プロファイルを示し、4.2 ppm でアミドプロトンプールによって示される飽和移動の pH からの依存性を確認し、したがって、提案されたレシオメトリック RF フリップ角が不整合の手法の使用を可能にする。180 ° および 360 ° の 2 つのフリップ角でのトレインパルス照射の際に獲得される pH 値の関数としての ST 曲線を図 11 a に示す。それから、等式 (3) を活用する pH の変動と ST 効果の変動を比較することによって較正曲線が行なわれて、180 ° / 360 ° の RF 照射パルス間の、図 11 b のレシオメトリック曲線を得ることを可能にした。

【図 1】

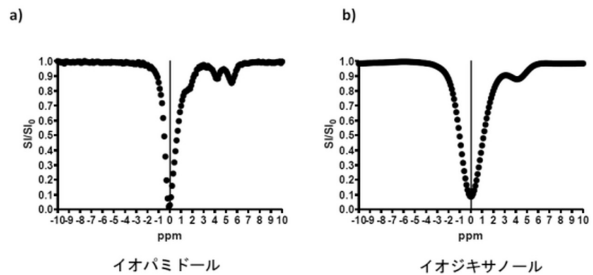
Figure 1



イオパミドール

【図 2】

Figure 2

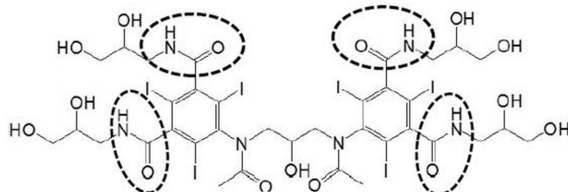


イオパミドール

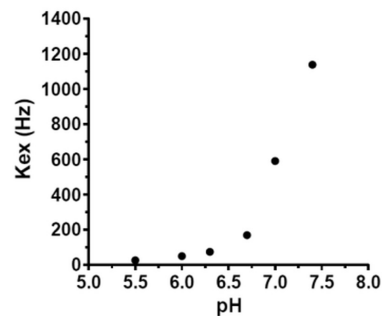
イオジキサノール

【図 3】

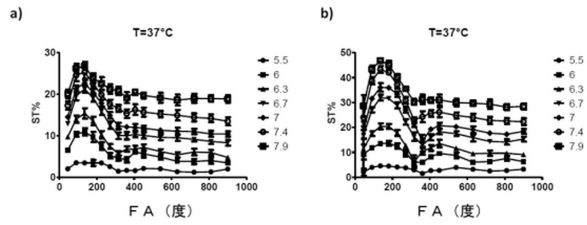
Figure 3



イオジキサノール

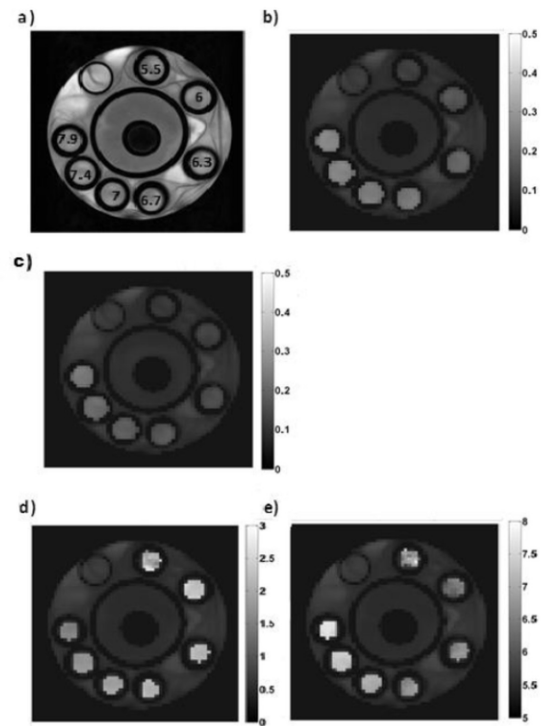


【図 4】



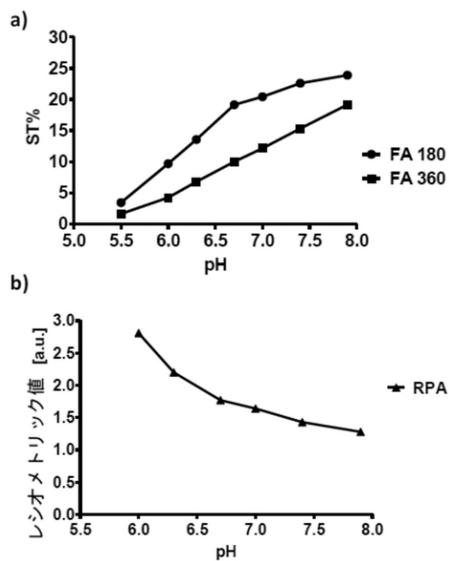
【図 5】

Figure 5



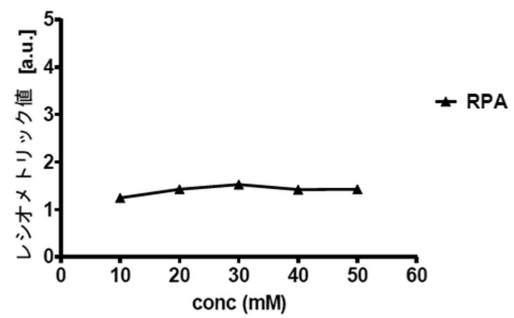
【図 6】

Figure 6



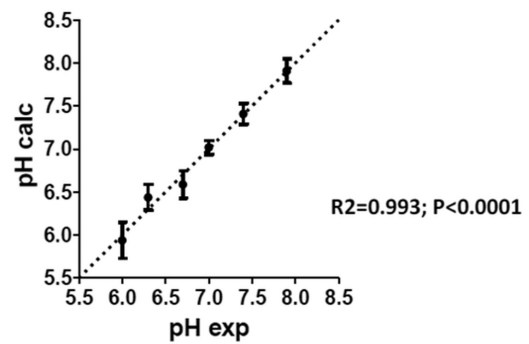
【図 7】

Figure 7



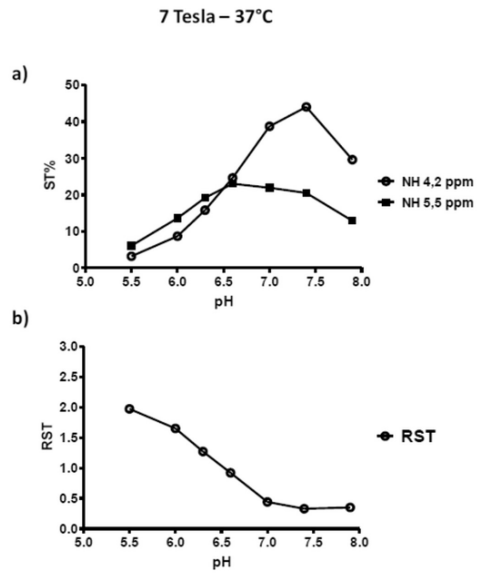
【図 8】

Figure 8



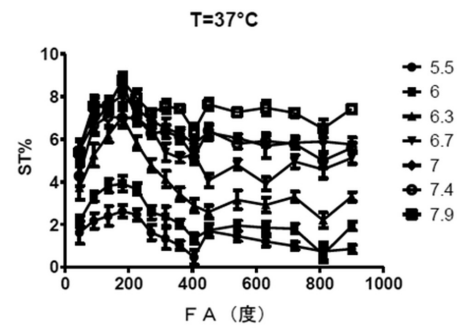
【図 9】

Figure 9



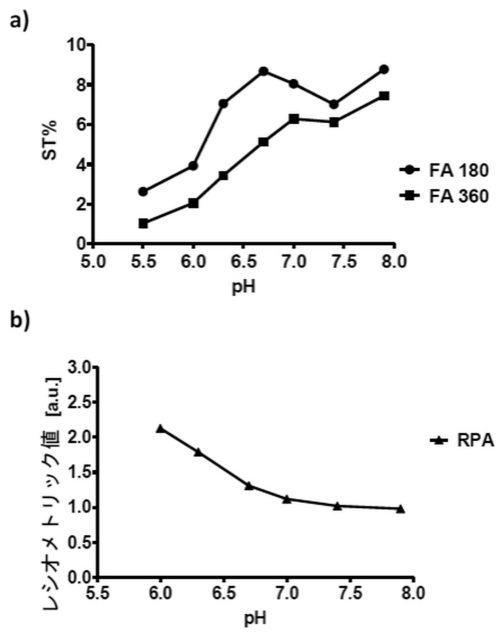
【図 10】

Figure 10



【図 11】

Figure 11



フロントページの続き

(51)Int.Cl. F I
G 0 1 N 24/00 5 3 0 Y

- (72)発明者 エイメ シルヴィオ
イタリア国 1 0 1 2 6 トリノ ヴィア ニッツァ 5 2 ユニバーシティ オブ トリノ - デ
パートメント オブ モレキュラー バイオテクノロジーズ アンド ヘルス サイエンス ア
ンド モレキュラー イメージング センター
- (72)発明者 ロンゴ ダリオ リヴィオ
イタリア国 1 0 1 2 6 トリノ ヴィア ニッツァ 5 2 - シーエヌアール
- (72)発明者 コロンボ セッラ ソニア
イタリア国 1 0 0 1 0 コッレレット ジャコーザ ヴィア リーブス ナンバー 5 - シーア
ルビー - ブラッコ イメージング ソシエタ ペル アチオニ
- (72)発明者 コンソリーノ ロレーナ
イタリア国 1 0 1 2 6 トリノ ヴィア ニッツァ 5 2 ユニバーシティ オブ トリノ - デ
パートメント オブ モレキュラー バイオテクノロジーズ アンド ヘルス サイエンス ア
ンド モレキュラー イメージング センター
- (72)発明者 アリーナ フランチェスカ
イタリア国 1 0 1 2 6 トリノ ヴィア ニッツァ 5 2 ユニバーシティ オブ トリノ - デ
パートメント オブ モレキュラー バイオテクノロジーズ アンド ヘルス サイエンス ア
ンド モレキュラー イメージング センター

審査官 亀澤 智博

- (56)参考文献 米国特許出願公開第 2 0 1 0 / 0 1 3 5 9 1 3 (US, A 1)
米国特許出願公開第 2 0 1 5 / 0 3 3 8 4 8 3 (US, A 1)
国際公開第 2 0 1 5 / 0 3 6 8 8 8 (WO, A 1)
特開 2 0 1 5 - 1 4 4 8 2 5 (JP, A)
特表 2 0 1 2 - 5 0 0 6 9 2 (JP, A)
米国特許出願公開第 2 0 1 1 / 0 2 2 1 4 4 0 (US, A 1)
米国特許出願公開第 2 0 1 0 / 0 1 4 2 7 8 4 (US, A 1)
ZU, Zhongliang et al., A New Method for Detecting Exchanging Amide Protons Using Chemi
cal Exchange Rotation Transfer, Magnetic Resonance in Medicine, ISMRM, 2012年04月13日
, 69, 637-647, (2013)

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

A 6 1 B 5 / 0 5 5
G 0 1 N 2 4 / 0 0 - 2 4 / 1 4
G 0 1 R 3 3 / 2 0 - 3 3 / 6 4
A 6 1 B 6 / 0 0 - 6 / 1 4