

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 4 月 19 日現在

機関番号：14401

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2012～2015

課題番号：24300163

研究課題名(和文) 超偏極希ガス磁気共鳴イメージング法による肺機能診断と前臨床評価系の構築

研究課題名(英文) Development of preclinical system based on pulmonary functional imaging by hyperpolarized Xe MRI

研究代表者

木村 敦臣 (Kimura, Atsuomi)

大阪大学・医学(系)研究科(研究院)・准教授

研究者番号：70303972

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 14,200,000円

研究成果の概要(和文)：MRIの感度を飛躍的に向上する超偏極キセノン(HP Xe)を用いて、従来では困難であったMRIによる非侵襲的な肺機能診断システムを開発し、これを用いて前臨床評価系を構築することに成功した。この前臨床評価系を利用して、難治性肺疾患である慢性閉塞性肺疾患(COPD)、および肺線維症、肺気腫に対する新薬を探索し、新たにエチルピルビン酸(EP)をシーズとして見出した。EPは、特に肺線維症による肺胞構造損傷を可逆的に抑制した。

研究成果の概要(英文)：A hyperpolarized Xe (HPXe) MRI system with extra-ordinary sensitivity was successfully developed by the use of original hyperpolarization techniques, enabling non-invasive pulmonary functional imaging unattainable by conventional methods and its application to preclinical evaluation. Treatment responses of a novel anti-inflammatory drug, ethyl pyruvate (EP), was confirmed exploring novel drugs for chronic obstructive pulmonary disease (COPD), fibrosis, and emphysema by the system. Especially, EP had reversely treated the alveolar tissue damages induced by fibrosis. To the best of the author's knowledge, this is a first report about preclinical evaluation strategy using HPXe MRI.

研究分野：バイオイメージング

キーワード：超偏極キセノン MRI 肺機能診断 前臨床評価 新薬探索

1. 研究開始当初の背景

最近の国民的健康への脅威の中で、慢性閉塞性肺疾患 (COPD) 等の呼吸器疾患が重大な関心を集めており、2020年には死亡原因の第3位を占めると予測されている(WHO報告)。しかし、その診断基準は、スパイロメーターによる測定値(1秒率)が70%以上に達しないもとで医学的に総合判断される(Gold guideline 2006)となっており、最新画像診断法の適用が未達成のままとなっている。

一方、MRI(Magnetic Resonance Imaging)は、安全に多くの情報を取得できる計測法として発展し続けている。最近では、高感度な検出を可能とする超偏極希ガスの開発および生体応用が進み、従来のプロトン測定するMRIにパラダイムシフトをもたらす可能性を秘めている。超偏極希ガスMRIは、呼吸により取り込まれた肺胞空洞内の希ガスを直接観察する検出法であり、肺機能情報を局所的に提供できる方法として、欧米を中心に臨床応用を目指した研究が行われた。しかし、国内での応用・展開研究は大きく立ち遅れているのが現状である。

このような状況に対して、申請者は超偏極希ガス生成技術の開発・改良に注力してきた。現在、超偏極 ^{129}Xe を連続フロー的に約2ℓ/時間の容量で生成できる装置開発を終えており、他に類を見ない製造技術を確立した。さらに、本装置を利用して「光ポンピング法にて偏極操作を行う際、低圧条件(0.15気圧)下で行う事により感度の基準である偏極率が40%程度(理論値は100%)、即ち感度にして約5万倍にも向上する」という、世界的に例を見ない興味深い知見を得た。この端緒的な発見は超偏極技術の新展開をもたらす、肺機能診断の発展につながるかと予想される。

一方、超偏極 ^{129}Xe が肺に取り込まれると特徴的な動態を示す事が明らかとされている。この動態を解析する事により、肺胞におけるガスの入れ替わりを表す「換気」、肺胞と組織との間のガス交換を表す「拡散」、肺血流を表す「灌流」など代表的な生理機能パラメータが得られるが、申請者は連続フロー型超偏極 ^{129}Xe 製造装置が定期的に被検体に超偏極希ガスを供給できるメリットを活かして、自発呼吸下でのマウスにおける超偏極 ^{129}Xe 動態を精密観測・解析する非侵襲計測に世界的に先駆けて成功しており、これを利用した新しい肺機能診断法の確立にも成功しつつある。

2. 研究の目的

超偏極 ^{129}Xe MRI 肺機能診断法を包括的に洗練して COPD の超早期診断を可能とするとともに治療薬開発も視野に入れた前臨床評価へ導入する。この際、「換気」や「ガス交換」、「灌流」を評価するための最新手法を開発し、COPD 早期検出に有効な診断指標(バイオマーカー)を探索する。病態の経時変化や治療効果の観察を通じた前臨床評価にて本

手法の有効性を検証し、COPD 対策の新展開を計る。

3. 研究の方法

超偏極 ^{129}Xe MRI による肺機能診断: 偏極率向上を目指して、ガラスコイル凝縮器と163K まで冷却可能な冷凍機から構成される HPXe 濃縮分離装置を新たに開発し、連続フロー型超偏極 ^{129}Xe 製造装置に組み込んだ。この装置を用いて超偏極 ^{129}Xe (HPXe)を製造する際、イソブテンをクエンチングガスとして混合し、偏極操作を施した後、173K に冷却して HPXe を100%に濃縮して取り出した。得られた超偏極 ^{129}Xe の偏極率は、インピボにおいて約20%であった。この HPXe を定常的に MRI 装置内のマウスに供給し、自発呼吸により肺胞内に取り込まれた Xe に由来するガス相信号、および肺実質に移行した Xe に由来する溶解相信号を利用して肺の生理機能を表す「換気」および「拡散」を数値マップ的に示す肺機能 MRI 画像を取得した。「換気」については、呼吸回数に応じて変化する MRI 画像の信号強度を解析することで取得し、「拡散」については溶解相信号を飽和させた後、この飽和磁化がガス相へ移行することで生じる信号減衰(XTC: Xenon magnetization Transfer Contrast)を解析することで得た。この機能画像から、1回呼吸により肺胞ガスが入れ替わる割合を示す r_a 、および単位時間あたりに肺胞ガスが血液・組織へ移行する分画である「ガス交換率(f_D : fractional Diffusion)」をパラメータとして評価した。

COPD モデルマウスを用いた治療薬探索: 6週齢の健常雄性 ddY マウス($n=37$)に HPXe ガスを自発呼吸下で吸入させながら MRI 撮像を行った。そのうち32匹に週1日のリポ多糖(LPS)の気管内投与と、週5日のたばこ煙全身暴露を10週間施し、COPD モデルマウスを作成した。これらを病態群とし、5匹をコントロール群とした。モデルマウス作成の過程で暴露開始2、6、8、10週後に同様に MR 撮像を行い、肺機能の経時的変化を追った。また、32匹の COPD モデルマウスの内16匹に対して、CS 暴露開始6週後より週5日エチルピルビン酸(EP)を気管内投与し、EPの薬効を評価した。肺機能評価終了後、肺組織切片を作成し、平均肺胞径(MLI)を測定した。

4. 研究成果

HPXe を製造する際、偏極率向上のためにクエンチングガスを混合するが、これまで窒素ガスが汎用されていた。しかし、窒素ガスは偏極後の分離が困難なために、体積希積分の信号損失が生じる。一方、申請者は「Xe に有機ガスであるイソブテンを混合・加圧(2.5 気圧)して光ポンピング法にて偏極操作を施した後、HPXe を分離・精製することでインピボでの感度を約2倍に改善する、即ち2万倍の感度向上を達成できる」との独自の

知見を得た。これに続いて、イソブテン混合による感度向上は低圧(0.15 気圧)条件下でも達成できることを見出し、他に類を見ない HPXe 濃縮分離装置を開発することができた。本装置は、イソブテンを分離するためのガラスコイル凝縮器と 163K まで冷却可能な冷凍機から構成され、簡易な取扱いにて純 HPXe を供給する事が可能である。

一方、装置開発と並行して、COPD モデルマウスを作成する手技を確立した。マウスのような齧歯類の場合、内因性の抗酸化ビタミン等が原因で慢性の肺疾患モデル作成は困難であるため、たばこ煙 (CS : Cigarette Smoke) 暴露とりポ多糖の気管内投与を組み合わせる事で解決を図った。その結果、MLI による病理評価にて、CS 群において肺気腫が誘発されている事を確認し、CS 曝露による COPD モデルマウス作成プロトコルの有効性を確認するとともに、治療法探索のための有効なモデルである事を確認した。

この COPD モデルマウスに対して HPXe MRI 肺機能診断を行ったところ、CS 曝露開始 6 週時の測定で r_a および f_b ともに有意な低下を観測し、本研究課題にて開発した前臨床評価系の有用性を実証した。本系を COPD の新薬探索に応用する事を目的として、炎症による組織・細胞傷害の治療効果を持つ事が報告されている EP の薬効評価を行った。その結果、CS 曝露 6 週時で低下したガス交換能及び換気能が、EP 投与開始 2 週間には両パラメータ値ともにコントロール群と同程度まで回復した。また、MLI においても CS 群と比較して EP 群で有意な回復がみられ、EP の肺胞組織の炎症性傷害に対する治療効果を確認した。

上述の成果は、計画を上回る進捗であったため、加えて、EP の抗炎症作用機序に基づく広範な治療効果を期待して COPD と同じく難治性肺疾患である肺線維症に対する前臨床評価を遂行した。その結果、プレオマイシンが誘発する肺線維化を EP が可逆的に抑制することを見出した。肺線維症は、線維化に伴う換気障害により HPXe MRI 画像の不鮮明化が懸念されたが、本研究成果により高精細な肺機能診断を行う事が可能であり、EP の肺線維症に対する治療効果を見出すことができた。

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)

Iguchi S, Imai H, Hori Y, Nakajima J, Kimura A, Fujiwara H. Direct Imaging of Alveolar Gas Uptake with Hyperpolarized ^{129}Xe Ultrashort Echo-Time MRI and Its Application to Physiological Assessment of Emphysema in Mouse Lung. Magn Reson Med 2013;70:207-215.

Tetsumoto S, Takeda Y, Imai H, Kimura A, Jin Y, Nakanishi K, Maeda Y, Kuhara H, Tsujino K, Iwasaki T, Shigeta H, Kondo Y, Ito M, Minami T, Hirata H, Takahashi R, Kohmo S, Nagatomo I, Inoue K, Kida H, Kijima T, Tachibana I, Maeda N, Funahashi T, Shimomura I, Fujiwara H, Kumanogoh A. Validation of Noninvasive Morphological and Diffusion Imaging in Mouse Emphysema by Micro-Computed Tomography and Hyperpolarized ^{129}Xe Magnetic Resonance Imaging. Am J Resp Cell Mol 2013;49:592-600.

Imai H, Kimura A, Fujiwara H. Small animal imaging with hyperpolarized ^{129}Xe magnetic resonance. Anal Sci 2014;30:157-166.

Imai H, Matsumoto H, Miyakoshi E, Okumura S, Fujiwara H, Kimura A. Regional fractional ventilation mapping in spontaneously breathing mice using hyperpolarized ^{129}Xe MRI. NMR Biomed 2015; 28: 24-29.

[学会発表](計13件)

木村敦臣 超偏極希ガスの MRI/MRS による肺機能診断法の開発 第 40 回日本磁気共鳴医学会大会 京都 2012 年 9 月 7 日(招待講演)

松本浩伸、宮越友梨佳、奥村慎太郎、今井宏彦、藤原英明、木村敦臣 超偏極 ^{129}Xe MRI/MRS を用いた肺・脳機能同時測定 第 40 回日本磁気共鳴医学会大会 京都 2012 年 9 月 7 日

奥村慎太郎、松本浩伸、宮越友梨佳、今井宏彦、藤原英明、木村敦臣 超偏極 ^{129}Xe MRI による肺換気及び拡散の同時評価 第 40 回日本磁気共鳴医学会大会 京都 2012 年 9 月 7 日

山内紬起子、松本浩伸、奥村慎太郎、今井宏彦、藤原英明、木村敦臣 超偏極 ^{129}Xe MRI/MRS を用いた慢性閉塞性肺疾患に対する前臨床評価系の構築と応用 第 41 回日本磁気共鳴医学会大会 徳島 2013 年 9 月 21 日

松本浩伸、宮越友梨佳、奥村慎太郎、今井宏彦、藤原英明、木村敦臣 超偏極 ^{129}Xe MRI/MRS を用いた肺・脳機能同時測定 第 41 回日本磁気共鳴医学会大会 徳島 2013 年 9 月 21 日

高沸点ガスのクエンチング効果による超偏極 ^{129}Xe MRI の高感度化と応用 木村敦臣、木村敦臣、河村綾乃、内山知香、奥村慎太郎、松本浩伸、山内紬起子、藤原英明 第 52 回 NMR 討論会 2013 年 11 月 14 日

奥村慎太郎、山内紬起子、松本浩伸、今井宏彦、藤原英明、木村敦臣 慢性閉塞性肺疾患マウスを用いた超偏極 ^{129}Xe MRI 前臨床評価への応用 第 6 回呼吸機能イメージング研究会学術集会 札幌 2014 年 1 月 24 日

山内 紬起子、松本 浩伸、程野 祥太、萩原 祐、細川 尚武、藤原 英明、木村 敦臣 .

超偏極 ^{129}Xe MRI/MRS による脳・肺機能連関に関する研究 第 42 回日本磁気共鳴医学会大会 京都、2014 年 9 月 20 日。

程野 祥太、山内 紬起子、萩原 祐、細川 尚武、藤原 英明、木村 敦臣、高沸点ガスのクエンチ効果を用いた超偏極 ^{129}Xe MRI の高感度化と応用 第 42 回日本磁気共鳴医学会大会 京都、2014 年 9 月 20 日。

程野祥太、今井宏彦、山内紬起子、下川晃弘、野田雄哉、上田ひかり、藤原英明、木村敦臣、高沸点ガスをクエンチングガスとする超偏極 ^{129}Xe MRI の感度増強と肺線維症診断への応用、第 43 回日本磁気共鳴医学会大会 東京、2015 年 9 月 10 日。

下川晃弘、今井宏彦、山内紬起子、程野祥太、上田ひかり、野田雄哉、藤原英明、木村敦臣、超偏極 ^{129}Xe MRI 肺機能診断法によるピルビン酸エチルの薬効評価、第 43 回日本磁気共鳴医学会大会 東京、2015 年 9 月 10 日。

Hodono S, Shimkawa A, Fujiwara H, Imai H, Kimura A. Evaluation of Drug Efficacy of Ethyl Pyruvate on the Pulmonary fibrosis in mice with Hyperpolarized ^{129}Xe MRI Pulmonary Functional Diagnosis. 1st AOWPFI & 8th JSPFI. Hyogo. 2016 年 1 月 31 日

Shimkawa A, Matsumoto H, Yamauchi Y, Hodono S, Okumura S, Neil J Stewart, Imai H, Fujiwara H, Kimura A. Relationship between Brain and Pulmonary Function Studied by Hyperpolarized ^{129}Xe MRI/MRS. 1st AOWPFI & 8th JSPFI. Hyogo. 2016 年 1 月 30 日

〔図書〕(計 1 件)

Kimura A, Imai H, Fujiwara H. Continuous flow and dissolved phase ^{129}Xe NMR/MRI for quantification in preclinical study as well as materials science. In: Meersmann T, Brunner E, editors. Hyperpolarized Xenon-129 Magnetic Resonance. Cambridge: Royal Society of Chemistry; 2015.

〔産業財産権〕

出願状況 (計 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況 (計 件)

名称：
発明者：
権利者：

種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

木村敦臣 (KIMURA Atsuomi)
大阪大学大学院医学系研究科・准教授
研究者番号：70303972

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

武田吉人 (TAKEDA Yoshito)
大阪大学大学院医学系研究科・助教
研究者番号：40452388

藤原英明 (FUJIWARA Hideaki)
大阪大学・名誉教授
研究者番号：90107102

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