

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24 年 6 月 1 日現在

機関番号：12601

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2009 ～ 2011

課題番号：21591547

研究課題名（和文） マウス躯幹部覚醒イメージング技術の開発と肝薬物動態研究への応用

研究課題名（英文） The development of conscious mice imaging technique and evaluation of hepatic kinetics of drugs.

研究代表者

桐生 茂（KIRYU SHIGERU）

東京大学・医科学研究所・准教授

研究者番号：20313124

研究成果の概要（和文）：本研究の目的は覚醒下のマウス躯幹部 MRI 撮影のための覚醒下固定法の開発、および麻酔による薬物肝動態における影響の検討である。覚醒下マウスの固定法は検討の結果、ポリメチルメタクリレート製のホルダーとスコッチテープで行われた。2 名の実験者により 3 分以内に覚醒したマウスの固定が行えた。マウスの体温はホルダーの周囲に設置したチューブに恒温槽を用いて水を循環することにより制御した。マウスに Gd-EOB-DTPA を静注し、肝臓における薬物動態を連続的に観察した。RF コイル内においてマウスの体温は麻酔下で低下し、覚醒下では一定に保たれた。Gd-EOB-DTPA の肝臓からの排泄は覚醒下・平熱のマウスよりも麻酔下・低体温のマウスにおいて遅延がみられた。麻酔下マウスを加温することにより肝臓からの排泄は促進され、覚醒下マウスを低体温にすることにより肝臓からの排泄は遅延した。麻酔下において低体温の程度が強くなると Gd-EOB-DTPA の肝臓からの排泄はより遅延した。麻酔の有無および低体温の有無をそれぞれコントロールすることにより、Gd-EOB-DTPA の肝臓からの排泄が、麻酔の有無にかかわらず、低体温により惹起されることを示した。Gd-EOB-DTPA の代謝に影響を与える薬物についても検討を行った。

研究成果の概要（英文）：The aims of this research were to develop a method for body magnetic resonance imaging (MRI) of conscious mice and to investigate the effect of anesthesia on the hepatic kinetics of drugs. We developed a method for acquiring body MR images in conscious mice by using the plate holder made of polymethylmethacrylate and scotch tape. A conscious mouse was restrained by two operators and the restraint was completed within 3 minutes. The mouse temperature was controlled by circulating water. Serial MRI of the liver was performed after intravenous injection of Gd-EOB-DTPA with or without temperature control. The temperature decreased less in anesthetized mice and remained constant in conscious mice in the radiofrequency coil. The washout of Gd-EOB-DTPA was slower in anesthetized hypothermic mice than in conscious normothermic mice. Warmed anesthetized mice showed faster washout, and cooled conscious mice showed delayed washout. Severer hypothermia in anesthetized mice resulted in weaker initial enhancement and slower washout. By separately manipulating the presence or absence of anesthesia and hypothermia, we demonstrated that washout of

Gd-EOB-DTPA was delayed under hypothermia, regardless of anesthesia. We also investigated the effect of drug on Gd-EOB-DTPA kinetics.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	500,000	150,000	650,000
2010年度	500,000	150,000	650,000
2011年度	600,000	180,000	780,000
年度			
年度			
総計	1600,000	480,000	2080,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・放射線科学

キーワード：マウス、肝特異性造影剤、覚醒、体温

### 1. 研究開始当初の背景

肝臓における種々の薬物動態は小動物を用いて研究され、臨床に応用されている。特にMRIによる齧歯類を用いた検討は一般的であるが、ほとんどは麻酔下において行われている。しかし、ヒトでは麻酔は行われず、ヒトの臨床とは異なる条件下で小動物を用いた検討が行われている。サルを用いたPETによる脳機能イメージングにおいては麻酔の影響を排除するために覚醒下での検討が行われており、ラットにおいても覚醒下でのMRIによる脳イメージングの検討が行われている。肝MRIにおける麻酔の影響について検討については、肝特異性造影剤であるgadobenate dimeglumine (Gd-BOPTA)の検討において覚醒下よりもイソフルラン麻酔下でGd-BOPTAの肝臓からの洗い出しが遅延することを示した[Inoue Y et al. NMR Biomed 2007;20:726-32]。同じく肝特異性造影剤であるgadoxetate disodium (Gd-EOB-DTPA)の検討においても同様にイソフルラン麻酔下におけるGd-EOB-DTPAの肝からの洗い出し遅延がみられ、ペントバルビタール麻酔下ではやや軽度ではあるがGd-EOB-DTPAの肝からの洗い出しにやはり遅延があることを示した[Kiryu S et al. Magn Reson Imaging. 2009;27:101-7]。このように麻酔が影響を与えることが示され、小動物MRIを用いた肝薬物動態の実験結果をヒトの臨床に生かすためには覚醒下での検討が必要であると考えられた。

### 2. 研究の目的

小動物躯幹部MRIは麻酔下で行われ、肝薬物動態の研究にも用いられる。しかし、麻酔が薬物動態などに影響し、覚醒下で行われる臨床MRIの結果と乖離する可能性がある。本研究の目的はマウス躯幹部覚醒イメージング技術を開発することである。さらに、この方法により肝薬物動態評価の妥当性を検証する。躯幹部覚醒イメージング技術を確認する上で、小動物実験が臨床状況をよく反映するものになることが期待され、MRIを用いた基礎的検討がより臨床に貢献できるものにすると考えられる。

### 3. 研究の方法

MRI撮影ではマウスの固定が必要であり、覚醒下においてマウスを安全かつ確実に固定できる固定法を検討した。

撮影時にマウス体温が低下すると観測されたデータが通常の覚醒時とは異なるものになる可能性がある。MRI撮像時に使用可能で簡便なマウスの体温維持装置を検討した。

開発された覚醒イメージング法を用いた連続固定撮影により肝薬物動態を適切に評価することができるか、MRIにて検討を行った。Gd-EOB-DTPAの肝動態において覚醒、麻酔および低体温の有無の影響について検討した。Gd-EOB-DTPAの肝動態において肝細胞

への取込みを阻害する薬物について検討した。

MRI は 1.0-T 永久磁石型 MR 装置を用い、撮影は T1 強調 3D FLASH を用いて行った。麻酔はイソフルランを用いた。実験は施設の倫理委員会より承認された。

#### 4. 研究成果

覚醒下マウスを安全かつ確実に固定する固定法は検討の結果、ポリメチルメタクリレート製のホルダーとスコッチテープによる方法が適切であった。2名の実験者により固定は行われ、1名の実験者が手動的にマウスを固定している間に、もう1名の実験者が短時間にテープを用いてマウスの固定を行った。この固定によりマウスの体動を抑制することができ、MRI 撮影において腹部臓器の動きによる影響の少ない画像の撮像が可能であった。この手法を用いることにより、約1時間の固定が行え、固定解除後もマウスの健康阻害は観察されなかった。

MRI 撮像時において使用可能なマウス体温維持装置を開発した。ホルダーにチューブを設置して、チューブに恒温槽で加温した温水を循環させた。このシステムによりホルダーを一定の温度に維持することができ、固定下マウスの直腸温を平熱に維持することが可能であった。覚醒固定下および麻酔固定下のそれぞれにおいてマウスの直腸温が平熱に保つための設定温度を決定した。このシステムを用い、マウスを加温した状態で MRI 撮影が行えること、および加温システムが画像に影響を与えないことを確認した。

開発した覚醒下撮影法を用いて薬物の肝動態を検討した。マウス尾静脈に Gd-EOB-DTPA を静注し、静注後 60 分まで肝臓における薬物動態を観察した。覚醒下マウスにおいては静注後に速やかな肝実質の濃染がみられ、引き続き薬物の肝臓からの排泄が観察された。観察終了後のマウス直腸温は平熱であった。麻酔下マウスにおいては静注後に肝臓において速やかな造影効果がみられたが、薬物の肝臓からの排泄は遅延していた。観察終了後のマウス直腸温に低下していた。覚醒下マウスおよび麻酔下マウスにおける薬物動態のちがいの原因を明らかにす

るために、覚醒下低体温マウスおよび麻酔下平温マウスにおいて薬物動態の検討を行った。低体温は恒温槽を用いたシステムにて冷水を循環させて実現した。覚醒下低体温マウスにおいては薬物の排泄遅延がみられ、麻酔下平温マウスでは覚醒下マウスと同様に速やかな薬物排泄が観察された。さらに麻酔下マウスの直腸温を平温から低体温まで4段階に設定を行い、薬物動態を検討した。薬物の肝臓からの排泄は直腸温が低くなるにしたがいより遅延した。以上より、薬物の肝動態は麻酔の有無ではなく低体温の有無により影響を受けると考えられた。薬物による Gd-EOB-DTPA の動態への影響の検討を行い、リファンピシンにより麻酔下、覚醒下において取り込みが低下することが示された。

#### 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1件)

Effect of isoflurane anesthesia and hypothermia on the hepatic kinetics of Gd-EOB-DTPA: evaluation using MRI of conscious mice.

Shigeru Kiryu, Yusuke Inoue, Makoto Watanabe, Kuni Ohtomo.

査読あり

J Magn Reson Imaging. 2011 Aug;34(2):354-60.

DOI: 10.1002/jmri.22650.

[学会発表] (計2件)

① Shigeru Kiryu, Yusuke Inoue, Makoto Watanabe, Kuni Ohtomo

Effect of Anesthesia and Hypothermia on the Hepatic Kinetics of Gd-EOB-DTPA: Evaluation using MR Imaging of Conscious Mice

World Molecular Imaging Congress, Kyoto, Japan, 2010.9.8-11

② 桐生茂、井上優介、渡辺慎、大友邦

Gd-EOB-DTPA の肝動態における麻酔および低体温の影響：覚醒下マウス MRI を用いた検討

日本分子イメージング学会第5回総会・学術集会、滋賀、2010.5.22-23

6. 研究組織

(1) 研究代表者

桐生 茂 (KIRYU SHIGERU)  
東京大学・医科学研究所・准教授  
研究者番号：20313124

(2) 研究分担者

井上優介 (YUSUKE INOUE)  
北里大学・医学部・教授  
研究者番号：40232566

(3) 連携研究者

吉川宏起 (KOHKI YOSHIKAWA)  
駒澤大学・保健学科・教授  
研究者番号：10272494