

齋藤 茂芳

大阪大学医学系研究科 保健学専攻 生体物理工学講座 先端画像技術学研究室
国立循環器病研究センター 先端医療技術開発部 病態診断技術開発室

1. はじめに

高磁場および永久磁石装置などの前臨床用・小動物用 MRI 装置は、臨床とは異なる複数のメーカー (Bruker^[1], Agilent^[2], MR Solutions^[3]など) から提供されている。現在国内の施設に設置されている前臨床用・小動物用高磁場 MRI 装置と永久磁石動物用 MRI 装置を合わせると 100 台を超え、静磁場強度は低磁場の 1.0T, 1.5T, 4.7T, 7T, 9.4T, 国内最高磁場である 11.7T の装置が導入されている。著者の所属する大阪大学には縦型と横型の 11.7T-MRI がそれぞれ各 1 台, 9.4T-MRI が 1 台, 7T-MRI が 1 台, 1.5T の永久磁石装置は 3 台設置されており、その数は国内の大学の中では群を抜いている。また、近畿圏内に目を向けると、京都大学, 国立循環器病研究センター, 滋賀医科大学, 明治国際医療大学, 京都府立医科大学などの複数の施設が前臨床用・小動物用 MRI 装置を設置しており、全国的に近畿圏は前臨床の MRI 研究や実験を行う環境に恵まれている。

永久磁石の装置は撮影できるシーケンスに限りがあるが、超電導装置では撮影可能なシーケンスも一般的な Spin echo, Gradient echo, Fast spin echo, Echo planar imaging が利用できる。これらのシーケンスを利用した Diffusion tensor imaging (DTI), MR Spectroscopy (MRS), MR angiography (MRA), さらに Arterial spin labeling (ASL), Susceptibility weighted imaging (SWI), Chemical exchange saturation transfer imaging (CEST), Q-space imaging (QSI), T_1 ・ T_2 ・ $T_{1\rho}$ -mapping などの緩和時間測定が利用でき、臨床に導入されている撮影法のほとんどに対応が可能である。さらに、毎年定期的なソフトウェアのアップデートもあり、利用できるシーケンスは年々増えている。臨床と遜色はなく、一部の撮影法は臨床装置よりも変更可能なパラメータもその範囲も多く、呼吸同期・心電図同期、さらに上位機種であればフェーズドアレイコイルへの対応も可能である。また ^{31}P や ^{13}C などのコイルもオプションとして対応しているため、多核の MRS も実施可能である。

撮影対象としては齧歯類から小型霊長類などの頭部^[4], 心臓^[5], 肝臓^[6], 全身, さらに組織サンプルや生体サンプルも $50\mu\text{m}$ 以下の高分解能で撮影ができ、緩和時間測定も臨床の装置に比べ簡便であるため造影剤の開発などへも利用が可能である^[7]。マウスやラットなどのげっ歯類の撮影では麻酔下での撮影が必要となるため、この点が臨床の撮影と大きく異なっている。マーモセットの脳機能測定などで覚醒下での撮影を行うこともあるが^[8], コイルの形状を変えたり、撮影体位が難しく、対象動物に対する MRI の騒音トレーニングなどが必要であり、技術的にかなり難しいとされている。

前臨床用・小動物用 MRI 撮影で最も重要なことは対象の動物の動きをどれだけコントロールできるかである。臨床の MRI 撮影と同様に撮影中の被写体の動きを可能な限り軽減し、動きがある臓器であればそのタイミングや動きを正確にモニタリングし、それを撮影に同期させたり再構成時に利用することが求められる。本総説では、マウス・ラットの MRI 撮影に用いられる麻酔薬の概要と MRI 撮影時の生体

モニタリングについて解説を行う。

2. 前臨床用の麻酔と麻酔器について

実験動物の麻酔は種々の目的で実施され、その多くは苦痛軽減を目的としたものである。とくに動物愛護法では動物実験を「できるだけ苦痛の少ない方法によってしなければならない」と規定している。

ジエチルエーテルの麻酔作用は1818年に電磁気分野のマイケル・ファラデーが発見し、歴史的にみて麻酔学上重要な薬剤とされており、多くの吸入麻酔薬の作用機序は本剤を中心に研究されてきた。ジエチルエーテルは引火性・爆発性という欠点があり、ハロセン、セボフルレン、イソフルレンなどの安全でより薬理作用が強い吸入麻酔薬が開発され、現在ではジエチルエーテルはほとんど使用されていない⁹⁾。吸入麻酔薬に挙げた薬剤は薬理作用が十分研究されているため、動物実験においても麻酔として医薬品以外を用いることは倫理的に許されていない。このような理由から、ジエチルエーテルを使用した論文は掲載が見送られることもあり、実験に利用する麻酔の選択は科学的にも大きな意味を持っている。

ジエチルエーテルの利用が減る中で、ペントバルビタールナトリウムが麻酔薬、催眠薬として使用されてきた。1980年代までの麻酔学、獣医麻酔学の教科書には本剤による全身麻酔についての記載があり、実験動物学の教科書にも多く記載されているが、本剤には鎮痛作用はほとんどなく、近年出版された実験動物麻酔学の教科書¹⁰⁾では本剤の単独投与による全身麻酔は不適切であるとされている。現在は3種混合の注入麻酔薬や前述の吸入麻酔薬の利用が推奨されている。注射麻酔として塩酸メドミジン+ミダゾラム+酒石酸ブトर्फアノール混合麻酔が利用されている¹⁰⁾。ただし、ミダゾラムは向精神薬であるので厳重な管理が必要となる。吸入麻酔としてイソフルラン、セボフルラン等が利用されている¹¹⁾。吸入麻酔は注射麻酔法に比べ短時間、長時間にかかわらず麻酔深度についての調節が容易で、短時間で覚醒する安全な全身麻酔である。近年は複数のメーカーから小動物専用の吸入麻酔器が販売されており、比較的簡便に使用できる。キャリアガスに空気を使い、気化器により適正な濃度の吸入麻酔薬を供給することができ、動物の麻酔には4~5%の濃度で導入し、実験中は約1~2%で麻酔を維持する。直接吸入させるためには、吸入麻酔器に連結したノーズコーン等を用いることで、脳の固定なども合わせて可能である。MRI撮影においても、イソフルラン、セボフルラン等が最も頻繁に利用されており、我々の研究室においても、イソフルラン吸入麻酔器をコンソール横から操作可能な撮影時用(図1A)と撮影前の導入用(図1B)の2種類を利用している。また、麻酔使用時の注意点として、動物の系統差、雌雄差がある薬剤もあり、その点に注意しながら使用することも必要である。麻酔時の動物の体温管理も必須となり、マウスはラットより低体温になる傾向があり、体温は保温の有無や室温等に影響を受けるため、年齢、併用薬物、体の状態、操作された遺伝子等により、同じ投与量でも麻酔深度が変わることがあることも配慮が必要となる。我々の研究室では撮影時に55℃の温水をチューブ内に循環させ、腹部付近に設置することで体

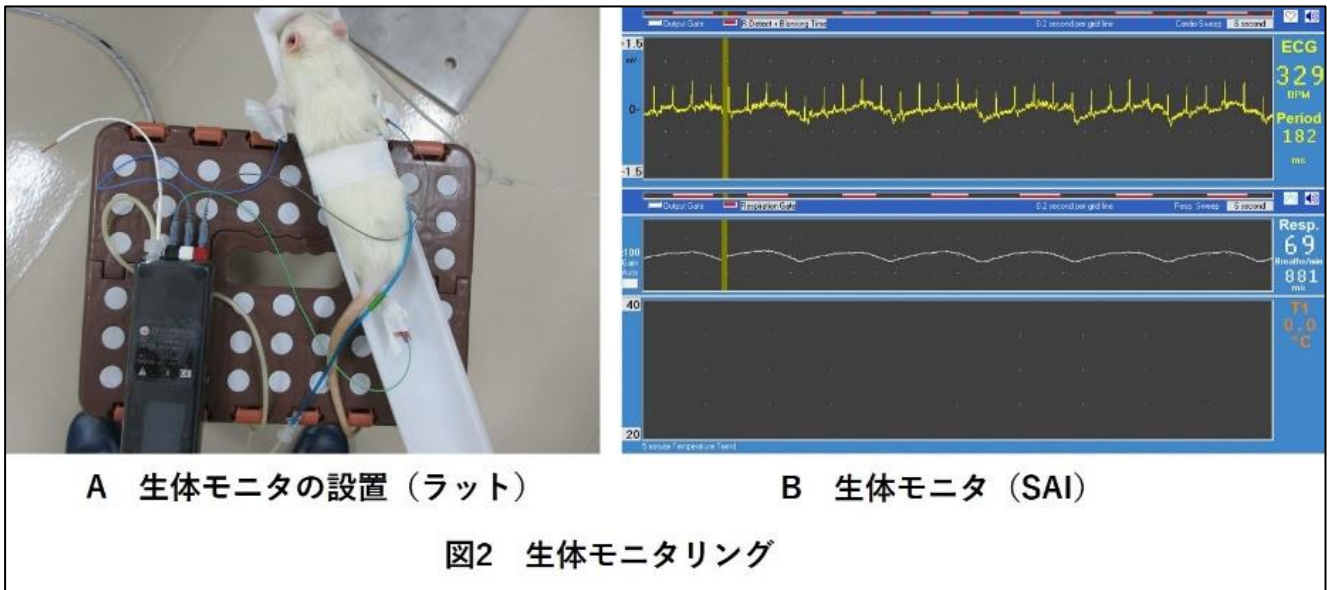


温を 37°C に維持している。

3. 小動物の生体モニタリング

齧歯類やマーモセットの MRI 撮影中の生体モニタリングは基本的に非観血的手法により行う。モニタリングに使用する装置や器具は、画像ノイズやアーチファクトが発生することや安全性の観点からも MRI に対応したものが望ましい。マウスやラットなどの撮影において、呼吸、体温の測定を基本として、心電図なども利用する (図 2A)。マーモセットの撮影においてはさらに脈拍数や血中酸素飽和度 (SpO₂) も同時に計測している。主に SAI 社^[12]が提供する MRI 対応動物用生体モニタリング装置を使用して実施しており (図 2B)、血中酸素飽和度測定 (SpO₂) はパルスオキシメトリ^[13]を用いて実施している。

SAI 社が提供する MRI 対応動物用生体モニタリングでは、体温は直腸温度から測定が可能であり、MRI 撮影中の体温は一部の撮影法により上昇する可能性もあるため、MRI 撮影中の動物の体温を精度よく測定することは撮影法の選択の上からも有用である。また呼吸信号は腹部に設置した圧パッドの動きからモニタリングし (図 2A 青いケーブル)、心電図信号は動物の左右の前脚および胸部付近に針を刺すことでモニタリングしている (図 2B)。この信号は、呼吸同期撮影、心電図同期撮影に利用でき、腹部 MRI 撮影や心臓撮影に応用している。撮影中の体温、呼吸、心電図のそれぞれのモニタリングを正確に精度よく行えることは、実験中の動物の死亡リスクも軽減できる。



4. まとめ

本総説では、マウス・ラットの MRI 撮影に用いられる麻酔薬と MRI 撮影時の生体モニタリングについて解説を行った。我々の研究室では、麻酔や麻酔器、温水装置、生体モニタリング装置などは複数設置しており、一部の装置に故障が生じた場合でもバックアップができる体制を整えている。MRI のデータの安定性や信頼性を担保するためには、対象動物が変わっても可能な範囲で同じ条件・同じ環境での撮影が実施できることが最も重要と考えている。安定した実験データが取得できることで、結果的に使用する動物数の削減に繋がる。このことは動物愛護の観点からも重要なことであり、その点からも前臨床 MRI 研究や生体イメージング研究には多くの可能性があると考えている。

参考文献

1. Bruker Home Page : <https://www.bruker.com/jp/products/mr/preclinical-mri.html>
2. Agilent Home Page : <https://www.agilent.com/en/promotions/spinsights>
3. MRSolutions Home Page : <https://www.mrsolutions.com/>
4. M. Tanoue et al., Amide proton transfer imaging of glioblastoma, neuroblastoma, and breast cancer cells on a 11.7T magnetic resonance imaging system. *Magn Reson Imaging* 62, 181-190 (2019).
5. S. Saito et al., Longitudinal observations of progressive cardiac dysfunction in a cardiomyopathic animal model by self-gated cine imaging based on 11.7-T magnetic resonance imaging. *Sci Rep* 7, 9106 (2017).
6. S. Saito, A. Obata, Y. Kashiwagi, K. Abe, K. Murase, Dynamic contrast-enhanced MRI of the liver in Mrp2-deficient rats using the hepatobiliary contrast agent Gd-EOB-DTPA. *Invest Radiol* 48, 548-553 (2013).
7. A. Mahara, S. Saito, T. Yamaoka, Visualising brain capillaries in magnetic resonance images via supramolecular self-assembly. *Chem Commun (Camb)* 56, 11807-11810 (2020).
8. J. C. Clery et al., Whole brain mapping of somatosensory responses in awake marmosets investigated with ultra-high-field fMRI. *J Neurophysiol* 124, 1900-1913 (2020).
9. R. E. Fish, M. J. Brown, P. J. Danneman, A. Z. Karas, ANESTHESIA AND ANALGESIA IN LABORATORY ANIMALS 2ND EDITION Preface. *Am Coll Lab*, Xiii-Xiv (2008).
10. Y. Miwa, K. Tsubota, T. Kurihara, Effect of midazolam, medetomidine, and butorphanol tartrate combination anesthetic on electroretinograms of mice. *Mol Vis* 25, 645-653 (2019).
11. L. P. Kane, S. K. Chinnadurai, K. Vivirito, D. Strahl-Heldreth, M. C. Allender, Comparison of isoflurane, sevoflurane, and desflurane as inhalant anesthetics in prairie rattlesnakes (*Crotalus viridis*). *J Am Vet Med Assoc* 257, 945-949 (2020).
12. SAI Home Page : <http://www.i4sa.com/>
13. Medtronic Home Page : <https://www.medtronic.com/covidien/ja-jp>