

九州シンクロトロン光研究センター 県有ビームライン利用報告書

課題番号：110-2412103I

B L 番号：BL07

(様式第 5 号)

血管病変を含むヒト疾患モデルマウス組織の マイクロ CT イメージング

Micro-CT imaging of tissues in mouse model
of human disease including vascular lesion
110-2412103I

権田幸祐^{1,2}、白石有佳¹、及川智也¹、米山明男³

Kohsuke Gonda, Yuka Shiraishi, Tomoya Oikawa, Akio Yoneyama

¹ 東北大学大学院医学系研究科医用物理学分野

Department of Medical Physics, Graduate School of Medicine, Tohoku University

² 東北大学 国際放射光イノベーション・スマート研究センター

International Center for Synchrotron Radiation Innovation Smart (SRIS), Tohoku
University

³ 九州シンクロトロン光研究センター・ビームライングループ
Beamline Group, SAGA Light Source

- ※ 1 利用情報の公開が必要な課題は、本利用報告書とは別に利用年度終了後 2 年以内に研究成果公開 {論文 (査読付) の発表又は研究センターの研究成果公報で公表} が必要です (トライアル利用を除く)。
- ※ 2 実験に参加された機関を全てご記載ください。
- ※ 3 共著者には実験参加者をご記載ください (各実験参加機関より 1 人以上)。

1. 概要 (注：結論を含めて下さい)

癌、糖尿病、血栓症、筋萎縮、認知症など、国民の健康に大きな影響を及ぼす疾病は、血管の構造や機能の変化をとともなう血管病変を発症していることが多い。我々は高感度血管造影剤として、金ナノ粒子を合成し、これを各種のヒト疾患モデルマウスに静脈注入することで、実験室の X 線 CT において各疾病組織の血管病変のイメージングを行ってきた。

本利用では、より微細なレベルでの血管病変の観察を目的として、上記病変の中でも筋萎縮や認知症に着目し、12keV の放射光吸収コントラスト CT イメージングを行った。その結果、両疾患のモデルマウスにおいて、対照群となる健常なマウスと比較した際、疾病に関連した血管の微細構造の可視化に成功した。本研究成果を応用し、放射光でさらに各組織の複雑な病態の詳細を明らかにすることができれば、疾患の新診断技術開発や創薬への展開が期待される。

(English)

Diseases that have a significant impact on the health of the public, such as cancer, diabetes, thrombosis, muscle atrophy, and dementia, often develop vascular lesions accompanied by changes in the structure and function of blood vessels. We have synthesized gold nanoparticles as a highly sensitive vascular contrast agent and intravenously injected them into various human disease model mice to image vascular lesions in each diseased tissue using laboratory X-ray CT.

In this application, to observe vascular lesions at a finer level, we focused on muscle atrophy and dementia among the above-mentioned lesions and performed 12keV synchrotron radiation absorption contrast CT imaging. As a result, we succeeded in visualizing the fine structure of blood vessels related to the disease in model mice of both diseases compared to healthy mice used as controls. If the results of this research can be applied to clarify the details of the complex pathology of each tissue using synchrotron radiation, it is expected that this will lead to the development of new diagnostic techniques for diseases and drug discovery.

2. 背景と目的

本研究は、金ナノ粒子を X 線造影剤に用い、筋萎縮や認知症のモデルマウスに対し、疾患組織の血管構造に注目して SAGA-LS の放射光吸収コントラスト CT (放射光吸収 CT) イメージングを行う。本研究の「放射光吸収 CT で計測した一部の組織部位データ」に、「実験室の X 線 CT で計測した腫瘍組織全体のデータ」や「可視域の蛍光免疫染色で評価した腫瘍組織切片のデータ」らを融合し、各疾患の進行や抑制の機序解明を行う。得られた疾病情報は、診断技術開発や創薬の薬効評価に応用し、筋萎縮や認知症のみならず癌、糖尿病、血栓症などに対し、放射光を活用した医学研究の新領域開拓を目指す。

筋萎縮や認知症では、疾患の進行に関連した血管の構造や機能変化を正しく理解することが重要となる。実験室の X 線 CT の分解能は $9\mu\text{m}$ 程度であり、微小領域 (数 $\sim 10\mu\text{m}$) の観察には十分でなかった。よって分解能が数ミクロンの SAGA-LS の放射光吸収 CT で金ナノ粒子の詳細な局在解析ができれば、筋萎縮や認知症の理解が進み、血管の構造や機能を活用した診断や創薬が利用可能となる。

3. 実験内容 (試料、実験方法、解析方法の説明)

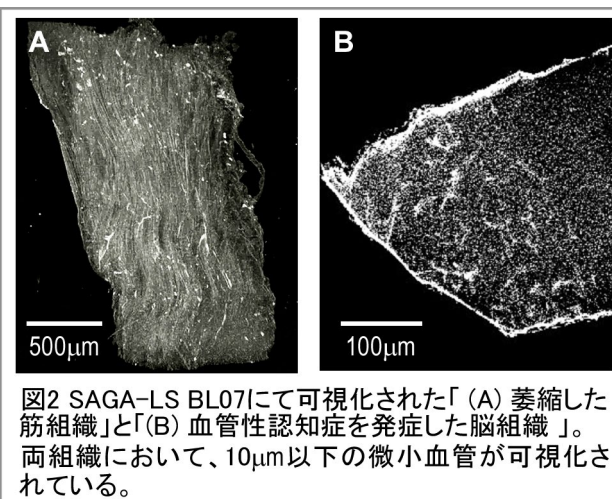
野生型マウスの坐骨神経を除去することで筋萎縮を、そして総頸動脈を狭窄することにより血管性認知症を患ったマウスをそれぞれ調製した。その後、これらのマウスに対して、尾静脈から金ナノ粒子血管造影剤を注入する。各疾患マウスの血管構造を実験室の X 線 CT で撮影した。血管を含む各疾患組織は、CT 撮影後摘出し、ホルマリン固定を行った。固定後の疾患組織に対し、実験室 X 線 CT 画像の解析結果から決定した要観察領域の組織を切り出した後、内径 2mm のチューブ内に挿入する。チューブ内に格納した血管を含む各疾患組織を SAGA-LS 施設に持ち込み後、BL07 光学ハッチに備わっている放射光用のマイクロ CT 装置でイメージングを実施し、詳細な解析を行う。放射光による CT 撮影後の組織は、蛍光免疫染色による病理組織解析を行うために東北大学に持ち帰り継続して評価を行う (図1)。



4. 実験結果と考察

各疾患マウスの血管は、以前に SAGA-LS で腫瘍血管を測定した結果を踏まえ、金原子の L 吸収端である 12keV を利用したイメージングを行なった。その結果、図 2 にあるように、実験室の X 線 CT では可視化が困難な「筋萎縮時の $10\mu\text{m}$ 以下の血管構造 (図 2A)」や「血管性認知症を発症した脳組織の $10\mu\text{m}$ 以下の血管構造 (図 2B)」を可視化することに成功した。これらの高分解能観察の結果は、各疾患において新たな診断技術や創薬支援技術として応用されることが期待された。

本イメージングで明らかになった技術を利用し、放射光でさらに多くの血管病変の詳細を明らかにすることで、各疾病の医学的理解が進み、新たな医療技術への展開が期待される。



5. 今後の課題

今後はこの可視化技術を応用し、観察サンプル数を増やし、創薬に応用可能な技術へ向上させること、さらには放射光 CT で計測した情報と病理解析のデータを融合することが期待される。

6. 参考文献

1. Yoneyama A., et al., Advanced X-ray imaging at beamline 07 of the SAGA Light Source. *Journal of Synchrotron Radiation* 28: 1966-1977 (2021).

7. 論文発表・特許（注：本課題に関連するこれまでの代表的な成果）

(*)は Corresponding Author を示す。

1. Kanabuchi S, Kitamura K, Takano-Kasuya M, Inose T, Nishidate C, Yamanashi M, Kudo M, Ito T, Ito N, Okamoto H, Taniyama Y, Kobayashi Y, Kamei T, **Gonda K***. X-ray irradiation negatively affects immune responses in the lymphatic network. *Microvascular Research* 148: 104511 (2023).
2. Une N, Takano-Kasuya M, Kitamura N, Ohta M, Inose T, Kato C, Nishimura R, Tada H, Miyagi S, Ishida T, Unno M, Kamei T, **Gonda K***. The anti-angiogenic agent lenvatinib induces tumor vessel normalization and enhances radiosensitivity in hepatocellular tumors *Medical Oncology* 38: 60 (2021).
3. Inose T, Kitamura N, Takano-Kasuya M, Tokunaga M, Une N, Kato C, Tayama M, Kobayashi Y, Yamauchi N, Nagao D, Aimiya T, Furusawa N, Nakano Y, Kobayashi Y, **Gonda K***. Development of X-ray contrast agents using single nanometer-sized gold nanoparticles and lactoferrin complex and their application in vascular imaging. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 203: 111732 (2021).
4. Nakagawa T, **Gonda K***, Kamei T, Cong L, Hamada Y, Kitamura N, Tada H, Ishida T, Aimiya T, Furusawa N, Nakano Y, Ohuchi N. X-ray computed tomography imaging of a tumor with high sensitivity using gold nanoparticles conjugated to a cancer-specific antibody via polyethylene glycol chains on their surface. *Science and Technology of Advanced Materials*.17: 387-397 (2016).

8. キーワード（注：試料及び実験方法を特定する用語を2～3）

血栓、糖尿病、金ナノ粒子

9. 研究成果公開について（注：※2に記載した研究成果の公開について①と②のうち該当しない方を消してください。また、論文（査読付）発表と研究センターへの報告、または研究成果公報への原稿提出時期を記入してください。提出期限は利用年度終了後2年以内です。例えば2018年度実施課題であれば、2020年度末（2021年3月31日）となります。）

長期タイプ課題は、ご利用の最終期の利用報告書にご記入ください。

① 論文（査読付）発表の報告

（報告時期：2027年 3月）