

X線マイクロ位相CTによるアルツハイマー病モデル動物脳観察の試み
Basic observation of animal model of Alzheimer disease by phase-contrast x-ray micro-CT

*武田 徹^a, 吳 勁^a, Thet-Thet-Lwin^a, 百生 敦^b
 Tohoru Takeda^a, Jin Wu^a, Thet-Thet-Lwin^a, Atsushi Momose^b

^a筑波大学 大学院人間総合科学研究科, ^b東京大学 大学院新領域創成科学研究科

アブストラクト

アルツハイマー病の最も早期の神経病理学的変化である β -アミロイドの脳内蓄積に関する基礎的な検討が世界中で活発的に行われている。本研究では、SPring-8に設置してある0.01mm以下の高空間分解能を有するX線位相CTを用い、アルツハイマー病モデルマウス脳のアミロイド斑の画像化を目的とした。APP swe マウス脳のX線位相CT画像で、造影物質を使わずに、最短径約0.012mmのアミロイド斑を含め、様々な大きさの斑点状のアミロイド蓄積が灰白質と海馬領域に描出された。また、得られたデータを3次的に再構成し、脳室、海馬、基底核等の組織構造と、アミロイド斑の分布状態を立体的に観察することができた。一方、コントロールマウスでは、アミロイド斑の沈着がほとんど認められなかった。本技術は、アルツハイマー病の発症や重症度との関連性についての検討、治療薬の効果判定に利用できる強力な手法になると考えられた。

Abstract

Alzheimer's disease is an important problem in elder persons to cause the impairment of cognition. Amyloid- β peptide is thought to play a critical role in the pathology of Alzheimer's disease. Now, the imaging technique of amyloid plaque is developed. In this experiment, the imaging feasibility of small amyloid plaque was examined by using the phase-contrast X-ray micro-CT (micro-PCCT) without contrast agent. Object was mice of Alzheimer's disease model (APP swe mouse). At 12.4keV X-ray energy, amyloid plaques were clearly revealed in gray matter and hippocampus of Alzheimer's disease model mouse, whereas the amyloid plaque was not shown in normal mouse brain. Minimal size of amyloid plaque was about 0.012mm. Thus, micro-PCCT might be applied to image small size of amyloid plaque and provide to support the pursuit of further studies for diagnosis and treatment of Alzheimer's disease.

背景と研究目的：

現在老年性認知症の大きな原因としてアルツハイマー病が注目を浴び、その診断・治療に関わる研究が世界中で活発に行われている。特に、 β -アミロイドの脳内蓄積はアルツハイマー病の最も早期の神経病理学的変化である。従来、それらの同定は免疫組織学的な検査に依存していた。しかし、生きた生体を含め、このアミロイド斑を描出するため、放射線物質や Gd 等のラベル物質を用いた PET や MRI による画像化技術が現在試みられている。しかし、高空間分解能な MRI でも、最小径約 0.1mm 程度のアミロイド斑しか検出できない。一方、高エネルギー加速器研究機構 (KEK) での X 線位相 CT 実験では約 0.04mm の β アミロイド斑が無造影で描出されたが、実際のアミロイド斑の径は 0.025mm 台のものが多く空間分解能として不十分である。本研究では、SPring-8 に設置してある 0.01mm 以下の高い空間分解能を有する X 線位相

CT[1]を用い、アルツハイマー病モデルマウス脳のアミロイド斑の画像化に関する基礎的な検討を目的とした。

方法：
実験動物

アルツハイマー病モデル APP swe マウス (Jackson Lab. USA) 5匹 (内訳：9月齢1匹、15月齢2匹、18月齢2匹) コントロールマウス1匹 (18月齢) を用いた。撮影試料数は、10個である。すべての動物は、麻酔下で脳の摘出を行い、ホルマリンにて固定した後、X線マイクロ位相CT撮影のために直径3mmの円柱状の試料を作成した。

撮影した試料の画像再構成が成功している事が確認された後に、病理学的な組織標本の作製と β アミロイド免疫染色を含む観察を現在進めている。

尚、実験は、筑波大学倫理委員会の承諾を得て行っている。

X線マイクロ位相CTイメージング

撮影装置は、SPring-8のBL20XUに設置してあるX線マイクロ位相CTシステムである。撮影エネルギーを12.4keVに設定し、撮影時のCCDのピクセルサイズは0.00434mmである。視野は5mm×5mmであった。データ収集は、450プロジェクション/180度で、露光時間は5秒であった。1試料の総撮影時間は約4時間を要した。

結果および考察：

X線マイクロ位相CTにより、アルツハイマー病モデルマウス脳のアミロイド斑と形態学的構造を、造影物質を用いずに高分解能かつ高感度に捉えることに成功した。最小径のアミロイド斑は、約0.012mmで、以前PFの研究で報告された約0.04mm[2]よりはるかに小さい病変が検出された。

アルツハイマー病は、認知症の最大の原因として認識されている。近年、アルツハイマー病モデル動物が作製され、本疾患発症の最初の引き金として重要な β アミロイドに関する基礎的な検討がなされている。最初に β 42アミロイドが沈着し、それを核として β 40アミロイドが凝集しアミロイド斑が成長していくことが明らかになっている。従来の評価法としては、免疫組織診断に依存している。その理由は、多くの β アミロイド斑が脳内に点在する0.03-0.02mm以下の非常に小さい蛋白質の凝集体で、これを検出し詳細な解析を行うには、高い空間分解能と特異的な物質による弁別が要求されるからである。

位相X線画像技術は、従来吸収X線を用いた撮影技術より千倍以上高い感度で生体組織の画像収集ができ、無造影で生体内部を高分解能かつ高コントラストな画像として描出できる。我々は、SPring-8で腎臓の高空間分解能なX線位相CT画像を収集し、腎臓内の糸球体や血管、尿管構造の画像化に成功した[1,3]。特に老齢ラットでは、障害された糸球体に関連する尿管内に密度の高い蛋白円柱が無造影で描出され、これがアルツハイマー病で脳内アミロイド斑が描出できるのではないかという研究開始のきっかけとなった。PFで行ったX線位相CTでは約0.04mmの β アミロイド斑が無造影で描出されているが、空間分解能として必ずしも十分でない。

本研究では、疾患動物モデルで、アルツハイマー病の病因と考えられる非常に小さなア

ミロイド斑の蓄積状態を高精細に描出できる事が確認された。最小径0.012mmのアミロイド斑を描出されることは、より早期のアルツハイマー病の病態観察ができる事を意味しており、アルツハイマー病の病理学的変化を経時的に観察できることを意味する。X線位相CT画像が得られたばかりなので、病理標本の細かい解析を行っていないが、現在、描出された蛋白質が β 40、 β 42アミロイド蛋白質いずれであるか同定を進めている。さらに、3D撮影が行われているため、定量解析法を加え、この β アミロイド斑の形状と密度に関する詳細な分析が可能となる。今後、発症や重症度との関連性についての検討、治療薬の効果判定等に大きな役割を果たすと考えられる。

今後の課題：

モデル動物のアミロイド沈着状態を病理学的所見と比較検討を行い、新しい薬剤等による治療効果判定の可能性についての検討を計画している。加えて、実際の人病理標本でのアミロイド沈着の画像化研究も計画している。

本研究の一部は、文部科学省科学研究費補助金（萌芽研究17659362、基盤研究C17591244）の補助により得られた。本研究に協力していただいたSPring-8の鈴木芳生氏、竹内晃久氏、大東琢治氏に感謝いたします。

参考文献

- [1] Momose A, et al. Phase-contrast microtomography using an x-ray interferometer having a 40- μ m analyzer. J. Phys. 2003; 104: 599-602
- [2] K. Noda-Saita, et al, Quantitative analysis of amyloid plaques in a mouse model of alzheimer's disease by phase-contrast X-ray computed tomography, Neuroscience 138 (2006) 1205-1213.
- [3] Wu J, et al: Micro-phase-contrast X-ray computed tomography for basic biomedical study in SPring-8. Proc. SPIE 5535: 740-747, 2004

キーワード

X線干渉計、X線マイクロ位相CT、イメージング、脳、アルツハイマー病、アミロイド斑、実験動物モデル