

腫瘍新生血管のマイクロ CT による観察 Microtomography of angiogenesis in tumor

高木 紀香、中村 一英、堀 晃

Yoshiko Takagi, Kazuhide Nakamura, Akira Hori

武田薬品工業株式会社 創薬第二研究所

Pharmacology Research Laboratories II at Takeda Pharmaceutical Company Limited.

アブストラクト

ヒト由来の癌細胞を右脇腹皮下に移植したヌードマウスに制癌剤を3日間投与し、エーテル麻酔下で、バリウム造影剤を心臓からの灌流によって腫瘍内血管に導入した。摘出した腫瘍のホルマリン固定標本のX線CT像を多方向から撮影し、これらの投影像から三次元CT像を再構成した。その結果、今回実施した条件下では造影剤の腫瘍内血管への導入効率が悪く、目的とする鮮明な腫瘍内血管像は得られなかった。今後、癌細胞の移植部位や造影剤の導入方法について更に検討を重ねていく。

Abstract

Athymic nude mice were implanted subcutaneously with human cancer cells in the right flank and treated with anticancer agent for 3 days. Then, the mice were deeply anesthetized and allowed perfusion of barium contrast medium from the left ventricle to the right atrium. The formalin fixed tumor vasculature was visualized with micro-CT. 2D images were recorded for different angular positions of the whole tumor, and the 3D image was obtained by tomographic reconstruction. Under this experimental condition, injection efficiency of contrast medium was low. So the features of small tumor blood vessels were not demonstrated. Thereafter, we are giving further consideration to transplantation site of human cancer cells and injection method of contrast medium.

背景及び研究目的：

悪性腫瘍が成長するときには、周囲に高密度で不規則な形態の新生血管が形成される。これらの新生血管は腫瘍の増殖に必要な栄養を供給するために不可欠であるため、最近の制癌剤にはこの血管新生を抑制して作用するものが多い。これらの制癌剤の血管新生抑制効果は明らかであるが、新生血管の三次元的な構築に及ぼす影響に関しては、その形態が複雑なために知見は少ない。本研究はいくつかの主要な制癌剤の血管新生抑制効果を高分解能三次元X線CTによって明らかにすることで、制癌剤の作用機序に関する知見を得ることを目的とする。

実験方法：

ヌードマウスの右脇腹皮下にヒト由来の癌細胞（肺癌細胞株および大腸癌細胞株）を移植し、腫瘍体積が 150mm^3 程度になるまで約2週間かけて増殖させた。腫瘍形成後に制癌剤を3日間経口投与し、最終投与約8時間後にエーテル麻酔下で、左心室からバリウム造影剤（カイゲン、バリトプ 120、硫酸バリウム 120w/v % を一晩攪拌して脱気した後に PBS で4倍希釈したもの）を灌流させ、腫瘍内血管に導入した。摘出した腫瘍塊は中性ホルマリン溶液中で固定した後にアガロースゲル中に包埋して測定サンプルとした。CT撮影には BL20B2 ビームラインの1ピクセル6マイクロ

ンの X 線検出器を用いた。180 度の角度範囲について 0.1 度刻みで 1800 方向から、1800 枚の投影像を得た。

結果及び今後の課題：

得られた投影像をもとに、ワークステーションで画像再構成を行った結果を Fig.1 に示す。今回実施した条件下では造影剤の導入効率が悪く、腫瘍組織表面の血管の走行は観察できたものの、腫瘍内部の微細な血管構造までを鮮明に確認することはできなかった。今後、癌細胞の移植部位や、造影剤の種類、導入方法について更に検討を重ねていく予定である。

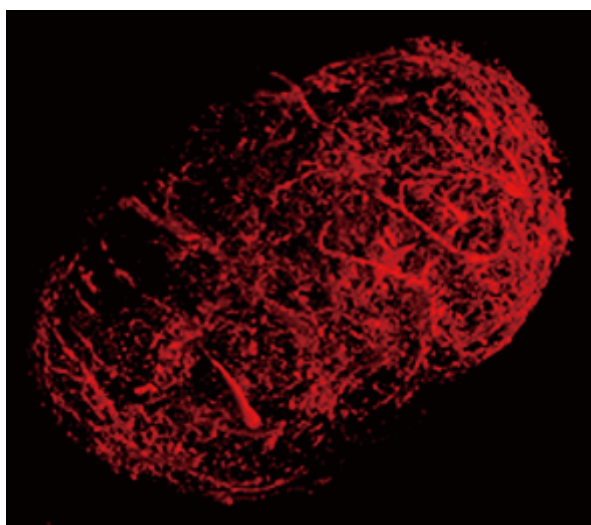


Fig.1. Three-dimensional images of tumor vasculature visualized by micro-CT.