

X線位相差CTによる水晶体タンパク濃度可視化：糖尿病性白内障モデルマウスにおける変化とNa-Ca交換体強発現による白内障防止効果の検討

Visualization of lens protein concentration gradient by phase-contrast X-ray CT: Investigation of possible preventive effect of strong expression of Na-Ca exchanger in diabetic cataract mouse.

毛利 聡^a、星野真人^b、上杉 健太郎^b、八木 直人^b
 Satoshi Mohri^a, Masato Hoshino^b, Kenatro Uesugi^b, Naoto Yagi^b

^a 岡山大学大学院医歯薬学総合研究科、^b (財) 高輝度光科学研究センター/SPring-8

^a Okayama University Graduate School of Medicine, Dentistry and Pharmaceutical Sciences,

^b Japan Synchrotron Radiation Research Institute/SPring-8

生体軟部組織は軽元素からなり X線吸収の差が小さいため吸収 X線 CT では臓器・組織の内部情報を得ることが出来ない。一方 SPring-8 での位相差 X線 CT では、1%の密度差を 10 μ m の空間分解能で可視化できるため、軟部組織内の性質を評価出来る可能性がある。我々はこれまでに水晶体内部のタンパク濃度勾配評価に応用すべく撮影条件の検討を進めてきた。水晶体は外周に細胞を新たに付け加える形で成長し、高濃度にクリスタリンを含む袋となる。本申請では白内障を始め眼科領域疾患の病態解明を目指し水晶体内のタンパク濃度勾配を組織レベルで評価する方法を確立した。

Information of soft tissues consisting of light elements cannot be obtained by absorption-contrast X-ray computed tomography (CT) due to their small difference of X-ray absorption. On the other hand, phase-contrast X-ray CT at SPring-8 enables to visualize 1% density difference at 10 μ m resolution. We have previously carried out into the visualization of protein concentration of rodent lens to reveal the pathophysiology of ophthalmic disorder. In present study, we showed that phase-contrast X-ray CT could visualize spacial distribution of lens protein and also evaluate the time course of increases of lens protein during rat development.

背景と研究目的：

水晶体の生理機能は眼内に入射する光を網膜に結像することであり、高濃度のタンパク（クリスタリン）により透明且つ高屈折率なレンズの役割を果たしている。水晶体はその発達において、前面に並ぶ水晶体上皮細胞が赤道面で延長し、クリスタリンを産生する水晶体繊維細胞として外側に新しく細胞を付け加える形で成長していく。この外側から幼弱な細胞が加わる成長形態により中心部ほどクリスタリン濃度が高くなり、「球面収差」と呼

ばれる内外の層での入射角の違いによる焦点面の「ずれ」を補正する役割を果たしている。加齢による変化（老眼）や白内障、緑内障といった疾患においてこの水晶体内タンパク勾配がどのように変化しているかを検討した研究は無い。その原因は水晶体丸ごとで位置情報も含めて定量する方法が無かったためである。本申請で我々は、水晶体の新たな病態生理解明を目指して生体軟部組織の 1%の密度差を 10 μ m の空間分解能で可視化できる X線位相差 CT により水晶体を破壊せずに内部

の密度差を可視化する方法の開発を目指す。

実験：

BL20B2 の実験ハッチに, Bonse-Hart 型干渉計を用いた位相差 CT 装置を組み立てた。X線エネルギーは 25 keV とした。X線検出器は, BM2 ($f = 50 \text{ mm}$, 視野 12 mm) と C4880-41S ($f=105\text{mm}$) の組み合わせを用い, CCD カメラと組み合わせた際のピクセル分解能は 6 ミクロン程度となる。検体はラット・マウス (タンパク濃度の異なる成長期: 生後 1-8 週齢) の摘出眼球を用いた。キャリブレーションとして生理食塩水 (0.9%, 比重: 1.0072)、純水、アルブミン溶液 (1 g/10mL および 1.5 g/10mL の二種類) を用いた。解析においてはクリスタリンを $\text{C}_{94}\text{H}_{139}\text{N}_{24}\text{O}_{31}\text{S}$ として計算し、屈折率差の実験値と理論計算値を比較して密度を推定した。

結果および考察：

生後週齢と水晶体タンパク濃度の実際の解析 (Figure 1) と生後週齢による水晶体内最大及び平均タンパク濃度変化 (Figure 2) を示す。水晶体内では中心の核部においてタンパク濃度が高く、周辺部に行くに従って濃度が低くなっていることが観察できた。また、経時変化に関しては、発達に伴って生殖週齢 (8 週齢) まで水晶体内タンパク濃度が上昇していることを観察できた。これまでの研究で、齧歯類の水晶体を用いたタンパク濃度勾配の可視化法を確立することが出来た。その正当性を確認するために水晶体タンパク濃度の異なる生後週齢の動物を用いて発達に伴う濃度上昇を初めて定量することが出来た。

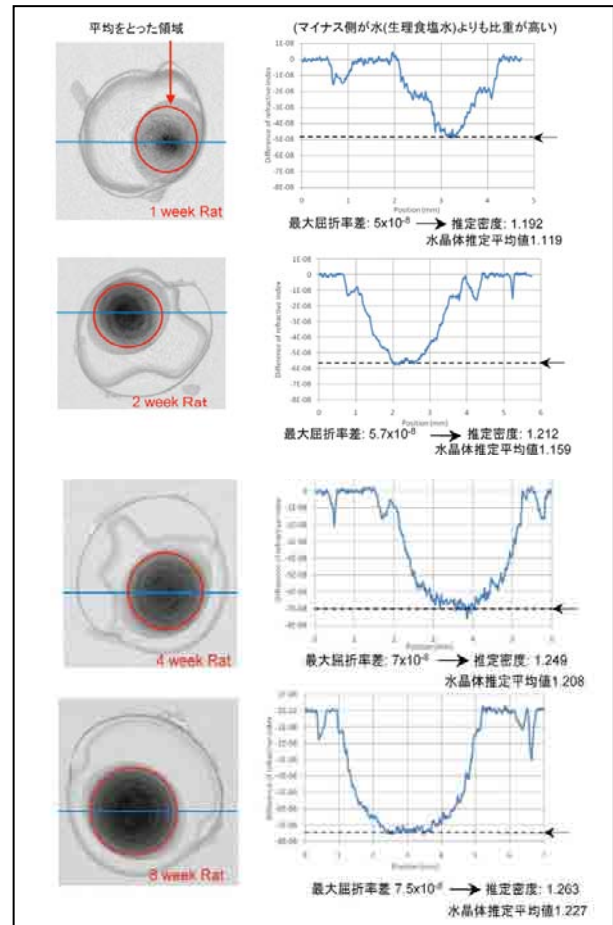


Figure 1: Analysis of lens protein concentration gradient

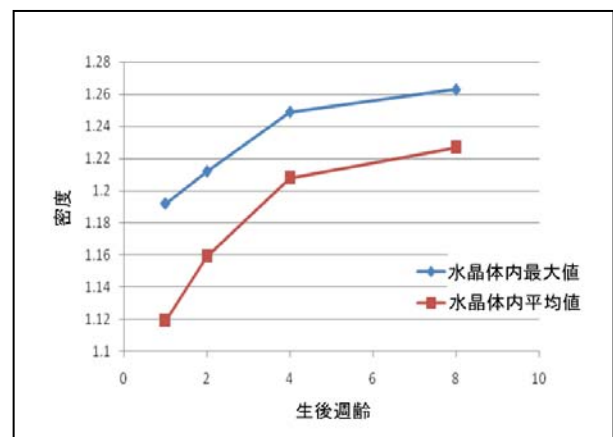


Figure 2: Post natal weeks and lens density

今後の課題：

正常ラット・マウスを用いて水晶体内タンパク濃度勾配の可視化法を確立し、発達中のタンパク濃度を定量出来た。今後はこの手法を基に病態モデル評価へと進むことが出来る。