

**X線位相差CTによる糖尿病性白内障モデルマウスのイオン
トランスポーター異常と水晶体内タンパク濃度勾配変化の評価
Evaluation of the changing protein concentration gradient and ion
transporter abnormality in diabetic cataract model mice lens by
phase-contrast X-ray CT**

毛利 聡^a、上杉 健太郎^b、八木 直人^b
Satoshi Mohri^a, 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

^aOkayama University Graduate School of Medicine, Dentistry and Pharmaceutical Sciences,

^bJapan Synchrotron Radiation Research Institute/SPring-8

水晶体は内部の高濃度タンパクにより高屈折率な性質を実現し、更に球面収差を補正するために中心ほど高いタンパク濃度勾配を有している。このタンパク濃度勾配の異常は様々な眼疾患において有用であると考えられるが、現在のところ水晶体タンパク濃度勾配を可視化し定量する方法は無い。今回我々は白内障モデル動物での検討を目標に位相差CTを用いて水晶体タンパク濃度勾配の評価を試みた結果、解決すべき点を残すものの始めて可視化に成功した。

The lens consists of high concentration of proteins to reflect light and the concentration gradient of lens protein enables to correct for spherical aberration. Disorder of physiological lens protein distribution can cause several ophthalmologic diseases, and therefore the development of the methods that can visualize and quantify whole lens protein concentration gradient may contribute to reveal pathophysiologic abnormalities. Here we tried to apply phase-contrast X-ray computed tomography (CT) to evaluate spatial distribution of protein in rodent lens and firstly succeeded in observation of protein concentration gradient in whole lens. This method may potentially be useful to understand pathophysiology of ophthalmologic diseases.

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、Fig.1に示すように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(Fig.1右図中の矢印)。また、細胞内小器官である核やゴルジ体も順次消失して最終的には高濃度クリスタリンを含む袋となり、新たなタンパクの合成・吸収も行われなくなる。

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、これはFig.2に示すように「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。このような生理的役割を果たしている水晶体の機能維持には、Caホメオスターシスが深く関わっていることを示す知見が蓄積されてきている。本研究提案では、申請者のグループが保有するイオントランスポーター(Na⁺-Ca²⁺交換体トランスジェニックマウス)などを用いて糖尿病を引き起こす処置に対する影響などを検討することを最終目標に、高空間分解

度の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に取り組んだ。

実験：

BL20B2にて、Bonse-Hart型干渉計を用いた位相差CT装置を組み立てた。X線エネルギーは試料の大きさに合わせて17.7keVとした。X線検出器は、BM2 (f=50mm, 視野 12mm) とC4880-41S (f=105mm) の組み合わせを用いた。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が、干渉計内部のX線のにじみにより、実質の空間分解能はそれよりも悪くなるため、この場合は、測定時間を考慮し、CCDカメラを4x4 binning modeに変更して測定した。今回はパラホルムアルデヒドにて固定したラット及びマウスの摘出眼球、摘出水晶体(生後5-26週齢)を用いて撮影し、撮影条件の検討も行った。

結果および考察：

全ての摘出水晶体、摘出眼球において、水晶体内のタンパク濃度勾配を可視化することができた。更に、摘出眼球においては角膜前面の上皮層が角膜内部のコラーゲン層よりも高い密度であることが観察された。(Fig. 3)

今後の課題：

成体のラット・マウスでは水晶体タンパク濃度が~500mg/mlと高く、比重も水晶体全体で1.15程度であった。水晶体中心部では比重が1.2程度はあると考えられ、撮影時に検体を浸す溶媒を密度の高いものに変更して検討する必要があると考えた。

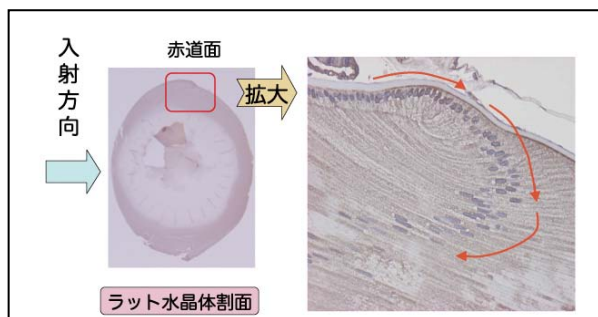


Fig. 1: Cellular structure of the lens. Epidermal cells migrate and start elongation at equatorial line of the lens (red arrows)

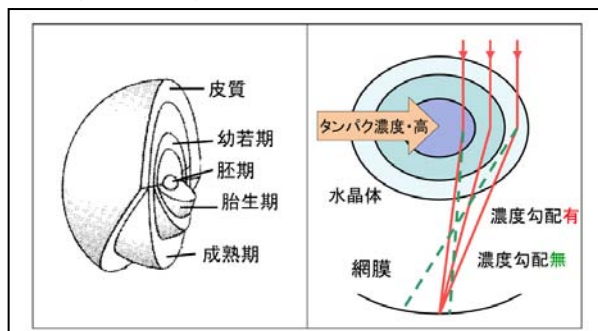


Fig. 2: Developmentally defined regions in adult lens (left). Protein concentration gradient of lens protein enables to correct for spherical aberration (right).

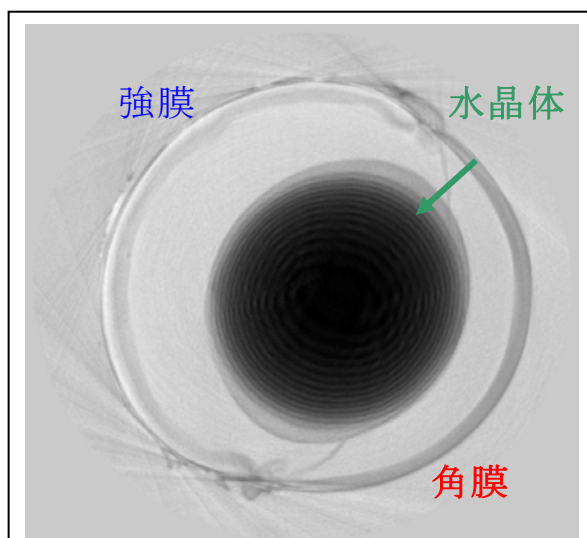


Fig. 3: Representative image of whole eye excised from rat obtained by phase-contrast CT. Protein concentration gradient in lens was clearly observed. Tissues such as retina, sclera, and cornea were also observed.

キーワード：

・クリスタリン：水晶体を構成するタンパクで、哺乳類では α 、 β 、 γ の三種類があり、 α Bクリスタリンはシャペロン活性を持ち、タンパク変性を防いで水晶体の透明性を長期間にわたって保つ働きがある