

MR画像による生体内標識幹細胞の無侵襲 追跡技術と再生医療への応用

Non-invasive MRI tracking of labeled stem cells and
its application to regenerative medicine

犬伏俊郎 (Toshiro Inubushi)

滋賀医科大学・MR医学総合研究センター・教授



研究の概要

胚性幹 (ES) 細胞、ならびに、骨髄など成体から採取する幹細胞の分化・誘導技術の進展によって、再生医療への期待が高まっている。こうした新しい治療法を安全にかつ正確に遂行するには、治療の進行が的確に、かつ、連続的に確認でき、そして、治療の効果が正確に判定できる体内透視技術が必要となる。本研究では、臨床画像診断に用いられる MR 画像法を元に移植細胞を生体内で可視化する技術を開発した。

研究分野：総合領域

科研費の分科・細目：人間工学・医用生体工学・

キーワード：MRI、幹細胞、分子イメージング、ナノ粒子、蛍光、近赤外

1. 研究開始当初の背景

胚性幹 (ES) 細胞技術を駆使し、ES 細胞から種々の細胞に分化させて患者に投与する細胞治療法は、最も有望な再生医療治療と考えられている。この新しい治療法を安全にかつ正確に遂行するには、治療の進行が連続的に確認でき、治療の効果が正確に判定できる体内透視技術が必要となる。

2. 研究の目的

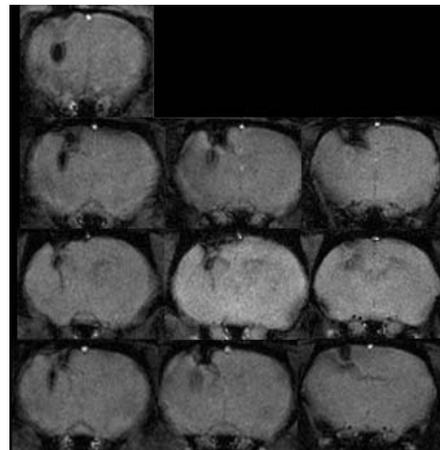
MR 画像法を用い移植細胞の位置情報を獲得し、そこから生体組織の生理・生化学的情報を多角的に抽出し、移植細胞の生死の判定や機能、ならびに、活性などを解析できる技術を開発する。これにより、現在では有効なイメージングの手法がない再生医療治療に新たなMR細胞追跡技法を導入し、その推進に寄与することを目指す。

3. 研究の方法

MRIの計測には動物実験用2テスラ、及び、7テスラ装置を使用した。実験対象動物のマウスからサルにいる多様な大きさの動物に適合するMR信号検出システムを構築し、細胞追跡に使用した。また、小動物から近赤外蛍光を検出するためにマクロイメージングシステムを導入した。MRI・蛍光法で細胞を検出するために、センダイウイルスの膜エンベロップを用いて標識剤を細胞内へ導入した。この両方で検出できる共通の標識剤はシリカ・ナノ粒子で作成した。この2つの画像法を融合するバイモーダル分子イメージング法を活用する。

4. 研究の主な成果

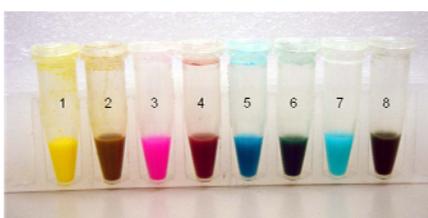
細胞のMRIによる可視化にはターゲットの細胞に磁気標識を導入しなければならない。そこで、標識剤にはMRI用造影剤である超常磁性酸化鉄 (SPIO) を採用し、センダイウイルスの膜エンベロップで目的とする細胞内に移送する手法を採用した。下図には、ラッ



ト脳の線条体にMR標識を施した神経幹細胞を移植し、MR画像法で長期間追跡した結果を示している。本図での最上段は移植直後の標識細胞が線条体に位置していることを示している。13日後(2段目)には移植部位からやや後方表層の皮質付近へ標識細胞が移動していることが認められた。これは細胞を移植した際の刺入創(外傷)に向かって神経幹細胞が遊走したことを示す。以後、20日(3段目)、55日(4段目)観察を続けると、コントラスト

〔4. 研究の主な成果 (続き)〕
は漸減するものの、同じ部位で MR 標識が観察される。
このことから、本標識法は移植細胞の部位を見極めるのみならず、脳内での移動をも長期間にわたって経時的に追跡できるようになった。

次に、MR/蛍光バイモーダル分子イメージングプローブを合成した。MR 標識用超常磁性酸化鉄 (SPIO) のナノ粒子をシリカ層で被覆し、そこに蛍光を発する光学的な標識を包埋することで MR・光の両計測法で共有できるプローブを作成した。導入した有機系色素は多様な光学的特性を選択できるので、下に示したように可視から近赤外に蛍光を持つプローブが得られた。



このようなプローブの中で近赤外領域に蛍光を持つものは、生体内からも蛍光が観察できる。一例として、Cy5.5 (蛍光波長: 700nm) をドープしたシリカ・ナノ粒子で標識した腫瘍細胞をラット後肢の筋肉内に移植し、近赤外蛍光マクロイメージング法で長期間経時的に観察した結果を下に示している。



この図から、約 3 週間にわたって細胞標識の蛍光が観察されることが分かる。色素がシリカ層に包埋されているため、生体内で酸化や化学分解を受けにくく、繰り返して計測を行っても、蛍光漂白が起こりにくいことを示す。光計測ではおよそ 1-2cm の比較的表層からしか蛍光を検出できないが、この弱点をMRの解剖画像で補えば、蛍光色素で表示される、細胞の生体内における位置情報が、より精密に解析できるであろう。

MR 画像法と近赤外光計測を組み合わせれば、それぞれ互いの短所を補い合い、長所を生かすことができ、分子イメージングの有力な手法になることが期待される。

5. 得られた成果の世界・日本における位置づけとインパクト

今日、移植幹細胞を識別する手法として、蛍光タグを付与する遺伝子標識法や放射性同位元素を用いる核医学的手法が一般化している。これらには、遺伝子改変や放射線障害の問題があり、これらの点を一挙に解決するのがMR法であろう。MR法は、生体の深部組織でも高解像度の画像が得られる上に、何度でも繰り返し計測ができ、移植幹細胞を使う治療の期間中、継続して痛みを伴わず繰り返し検査できる利点を併せ持っている。

6. 主な発表論文

(研究代表者は太字、研究分担者は二重下線、連携研究者は一重下線)

1. Trifluoromethoxy-benzylated ligands improve amyloid detection in the brain using (19)F magnetic resonance imaging., Amatsubo T, Morikawa S, Inubushi T, Urushitani M, Taguchi H, Shirai N, Hirao K, Kato M, Morino K, Kimura H, Nakano I, Yoshida C, Okada T, Sano M, Tooyama I, Neurosci Res., 63:76-81, 2009.
2. Fluorine-19 fast recovery fast spin echo imaging for mapping 5-fluorouracil. Morikawa S, Inubushi T, Morita M, Murakami K, Masuda C, Maki J, Tooyama I. Magn Reson Med Sci. 6(4): 235-40, 2007.
3. Microglial transplantation increases amyloid-beta clearance in Alzheimer model rats. Takata K, Kitamura Y, Yanagisawa D, Morikawa S, Morita M, Inubushi T, Tsuchiya D, Chishiro S, Saeki M, Taniguchi T, Shimohama S, Tooyama I. FEBS Lett. 581(3):475-8, 2007.
4. Magnetic resonance imaging using hemagglutinating virus of Japan-envelope vector successfully detects localization of intra-cardially administered microglia in normal mouse brain. Song Y, Morikawa S, Morita M, Inubushi T, Takada T, Torii R, Tooyama I. Neurosci Lett. 395(1):42-5.
5. Comparison of MR images and histochemical localization of intra-arterially administered microglia surrounding beta-amyloid deposits in the rat brain., Song Y, Morikawa S, Inubushi T, Takada T, Torii R, Kitamura Y, Taniguchi T, Tooyama I, Histol Histopathol, 21:705-711, 2006

ホームページ等

<http://www.shiga-med.ac.jp/~hqbiph/bmsc/index.htm>