

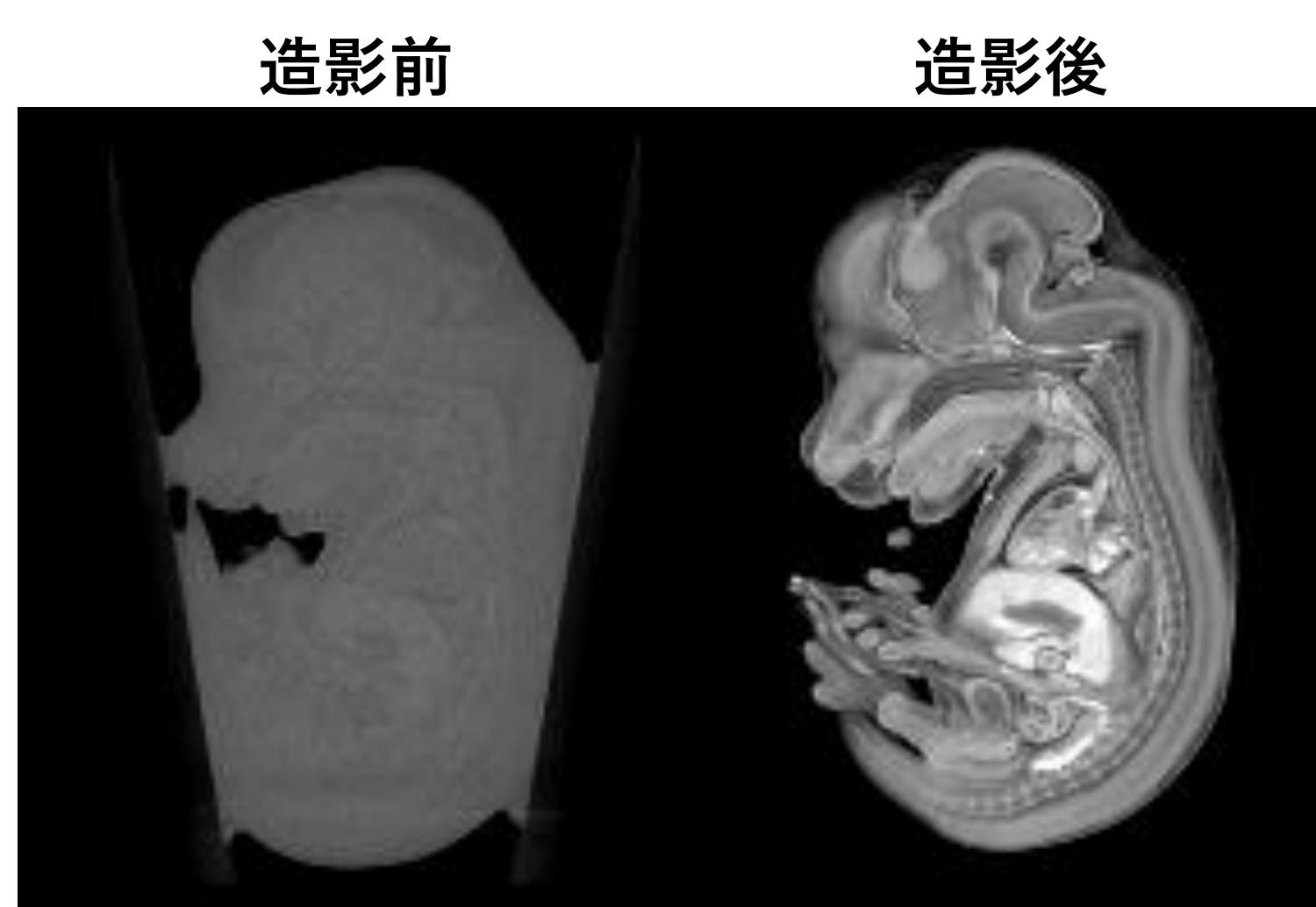
造影CTを用いた軟組織イメージング技術の開発

理研・バイオリソース研究センター (BRC) マウス表現型研究開発室

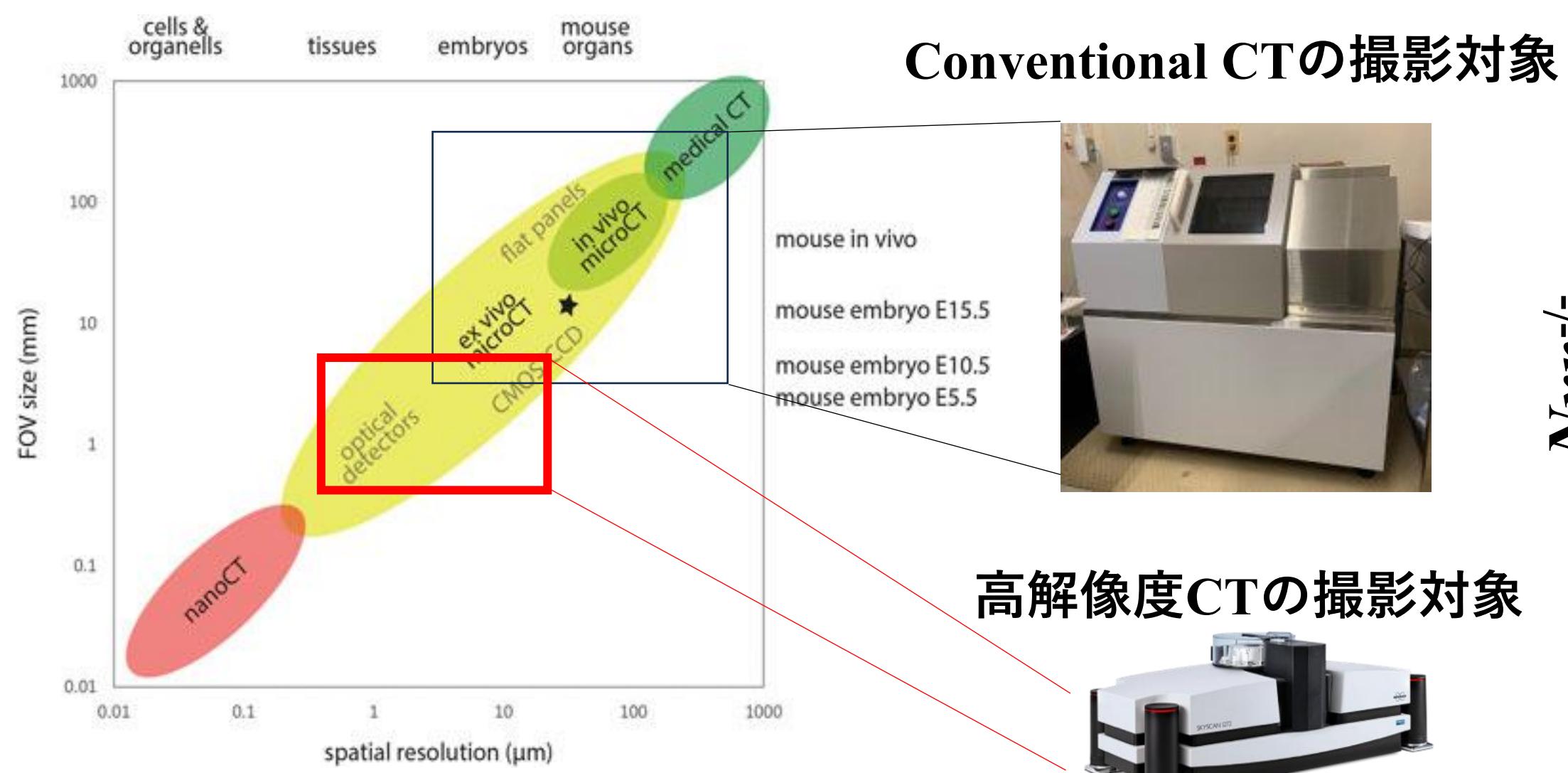
澁谷仁寿 田村 勝

Mail: hirotoshi.shibuya@riken.jp

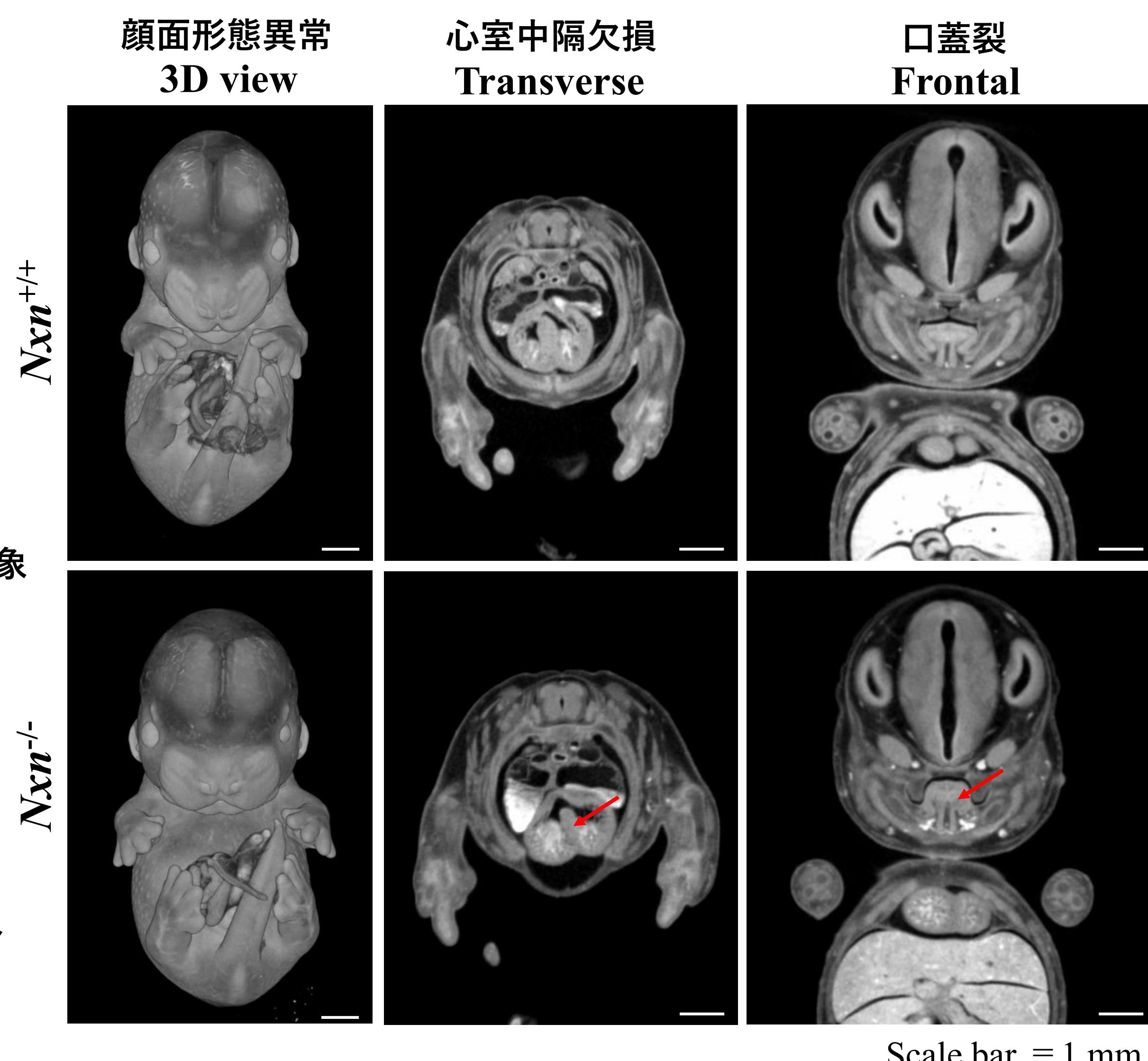
A マウス胚 (E14.5) の造影前後でのコントラスト



B 撮影対象のサイズと使用機器



C ロビノウ症候群 (OMIM ID: #618529) における致死表現型解析



D ゼブラフィッシュCTイメージング像



図1. X線CTを用いた軟組織イメージング

一般的に、工業用X線CTで軟組織の画像化は困難である。我々は造影剤を用いることで軟組織形態の可視化に成功した(A)。本手法はサンプルを非破壊で形態計測が可能である。理研BRCでは解析対象に合わせて2種類のCTを使い分け、適切なイメージング解析を提供している(B)。加えて、この方法はマウスゲノム上全タンパク質コード遺伝子の機能解明を目指すInternational Mouse Phenotyping Consortium: IMPC (国内では理研BRCが唯一参加)において、致死表現型解析手法の標準プロトコルに採用されている。IMPCで行った解析例を示す(C)。また、マウス以外のモデル動物のイメージングも可能である(D)。

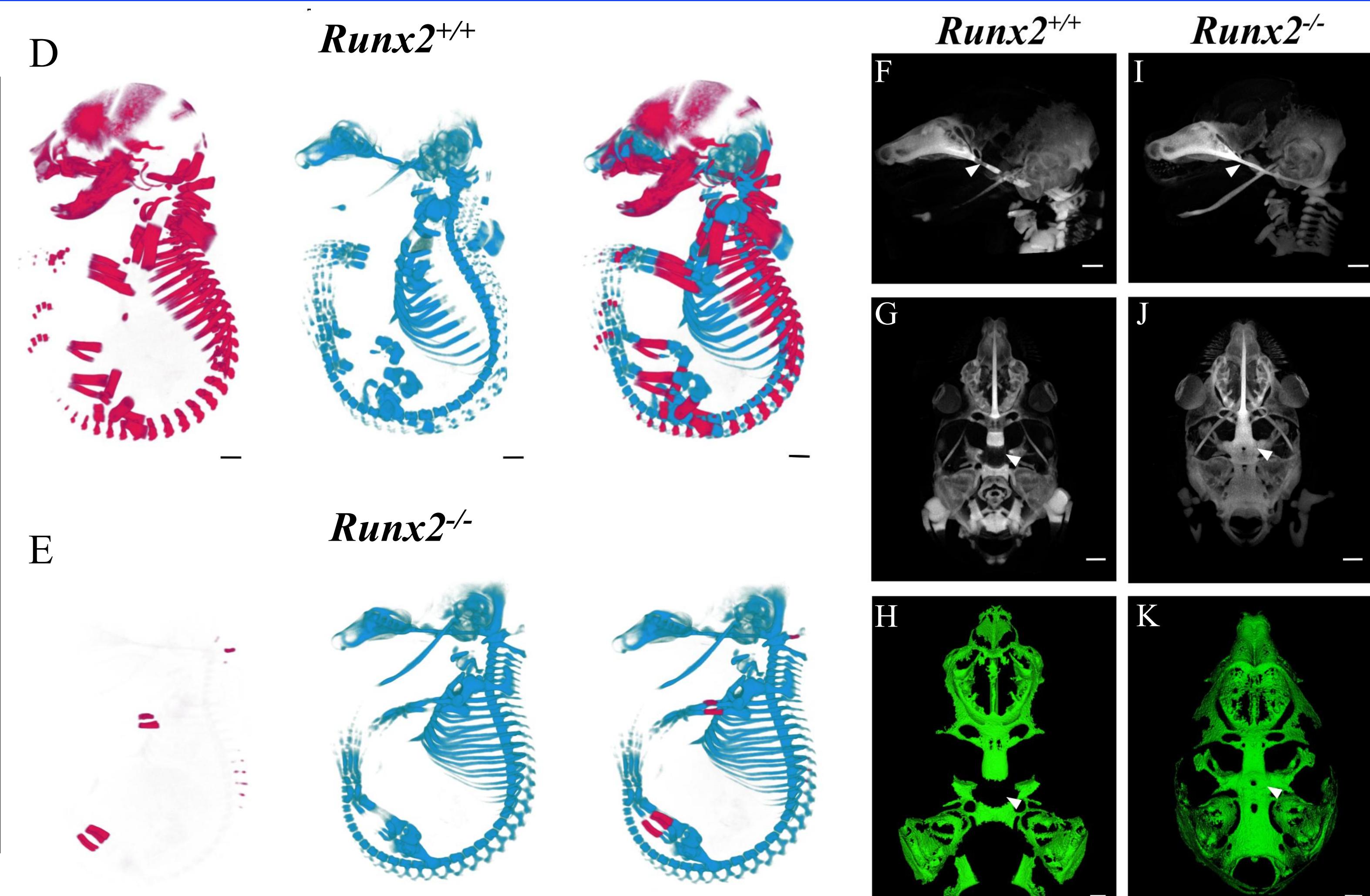
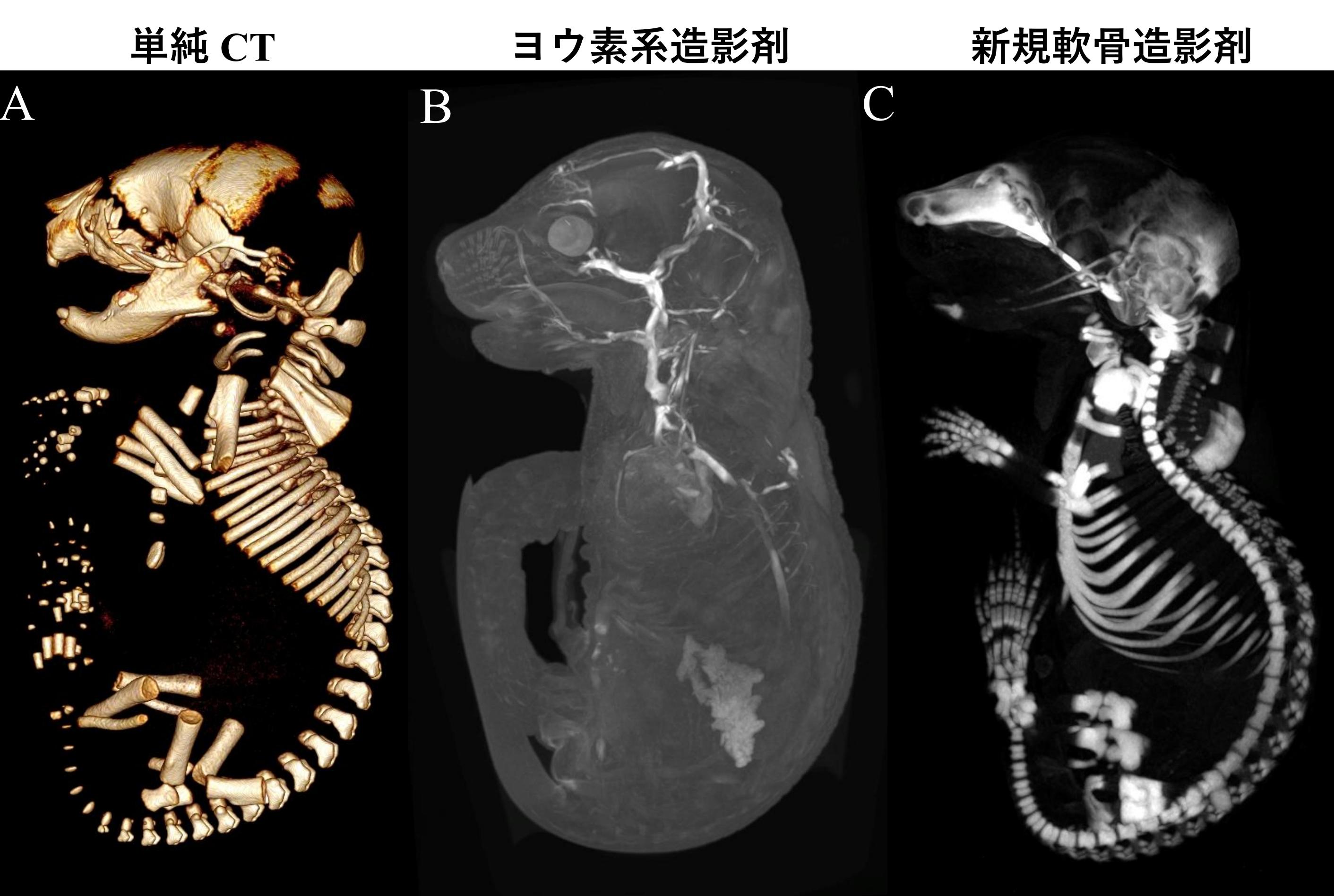
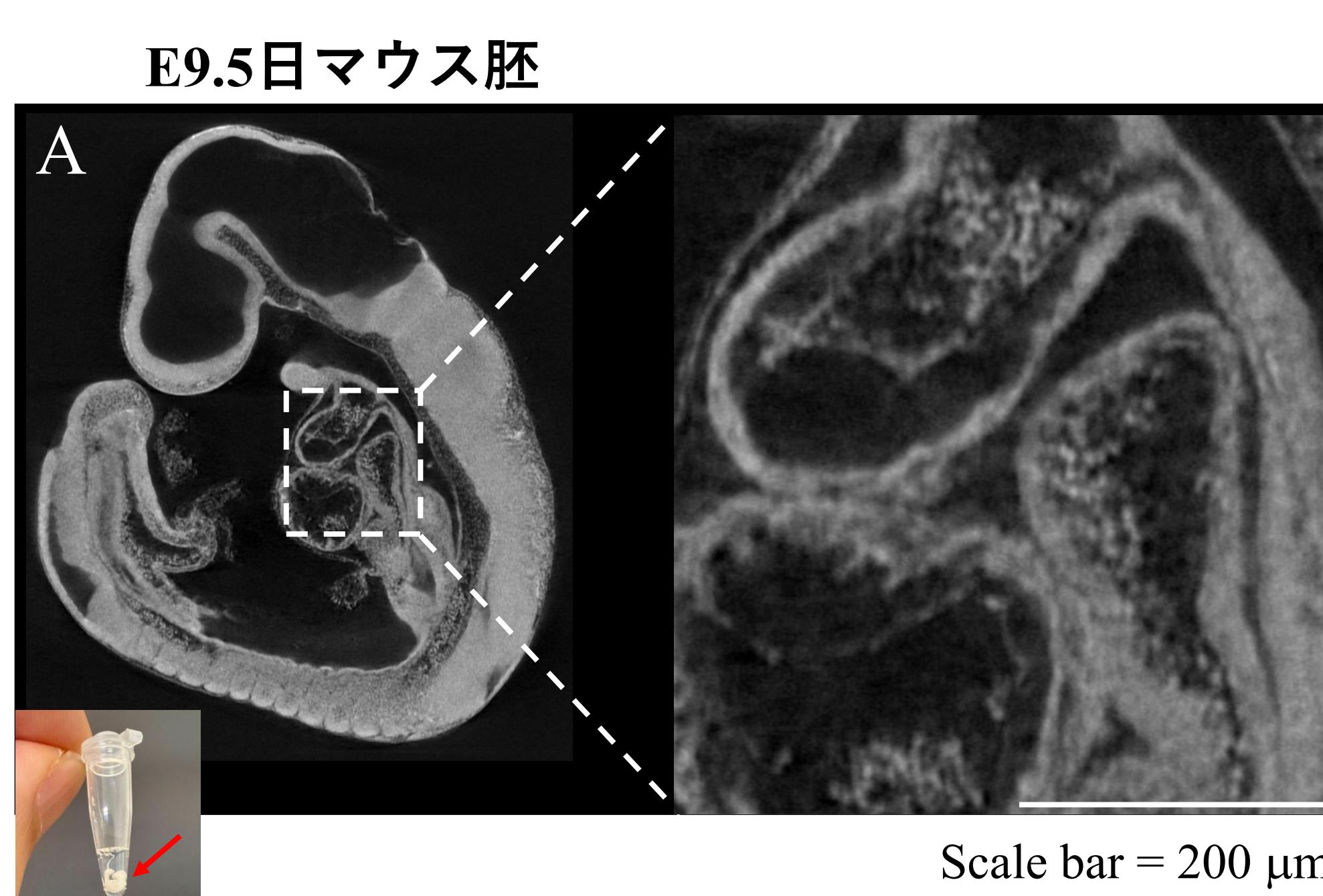


図2. 新規造影剤によるマウス胚軟骨イメージング

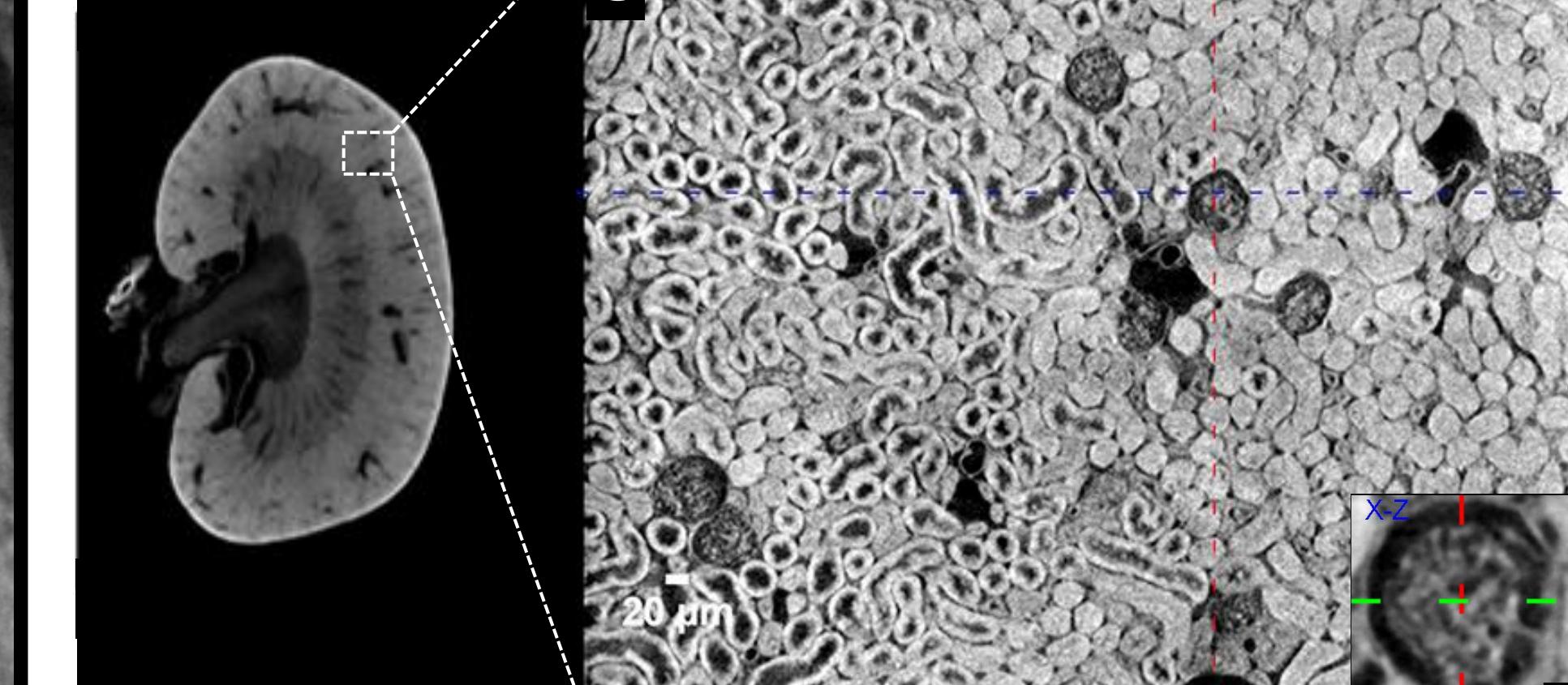
単純X線CTは、硬骨形態の可視化はできるが軟骨の画像化はできない (A)。ヨウ素系などの既存の造影剤を使用しても結果は同様である (B)。我々が開発した新規造影剤は軟骨特異的なイメージングに成功した (C)。Runx2 KOのマウス (E18.5日胚) を用いて骨格の画像化を行った (D,E)。同一個体の硬骨 (赤色)、および軟骨 (青色) の画像を取得することで、画像解析により硬骨と軟骨を同時に可視化でき、骨格全体が観察可能になる。Runx2 KOマウスは全身の硬骨形成不全を示す (E)。野生型およびRunx2 KOマウスの頭部軟骨イメージング像を示す (WT: E-G, KO: H-J)。Runx2 KOのマウスは頭蓋底の骨化が抑制されている (K矢頭)。我々が開発した手法は、複雑な頭蓋骨形態もCT値の閾値で軟骨のみを容易にセグメンテーション可能である。 Scale bar = 1 mm.



E9.5日マウス胚

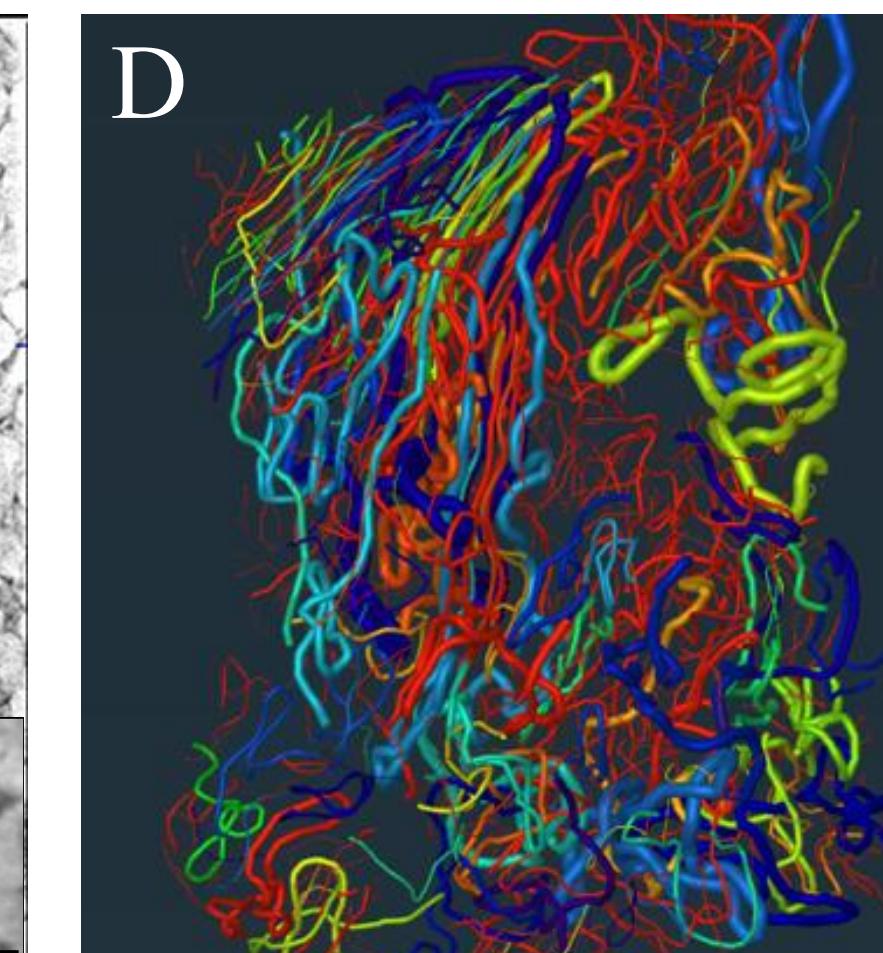
マウス生体腎臓

Conventional CT像



高解像度CT像

ネフロン自動抽出



単一ネフロンイメージ

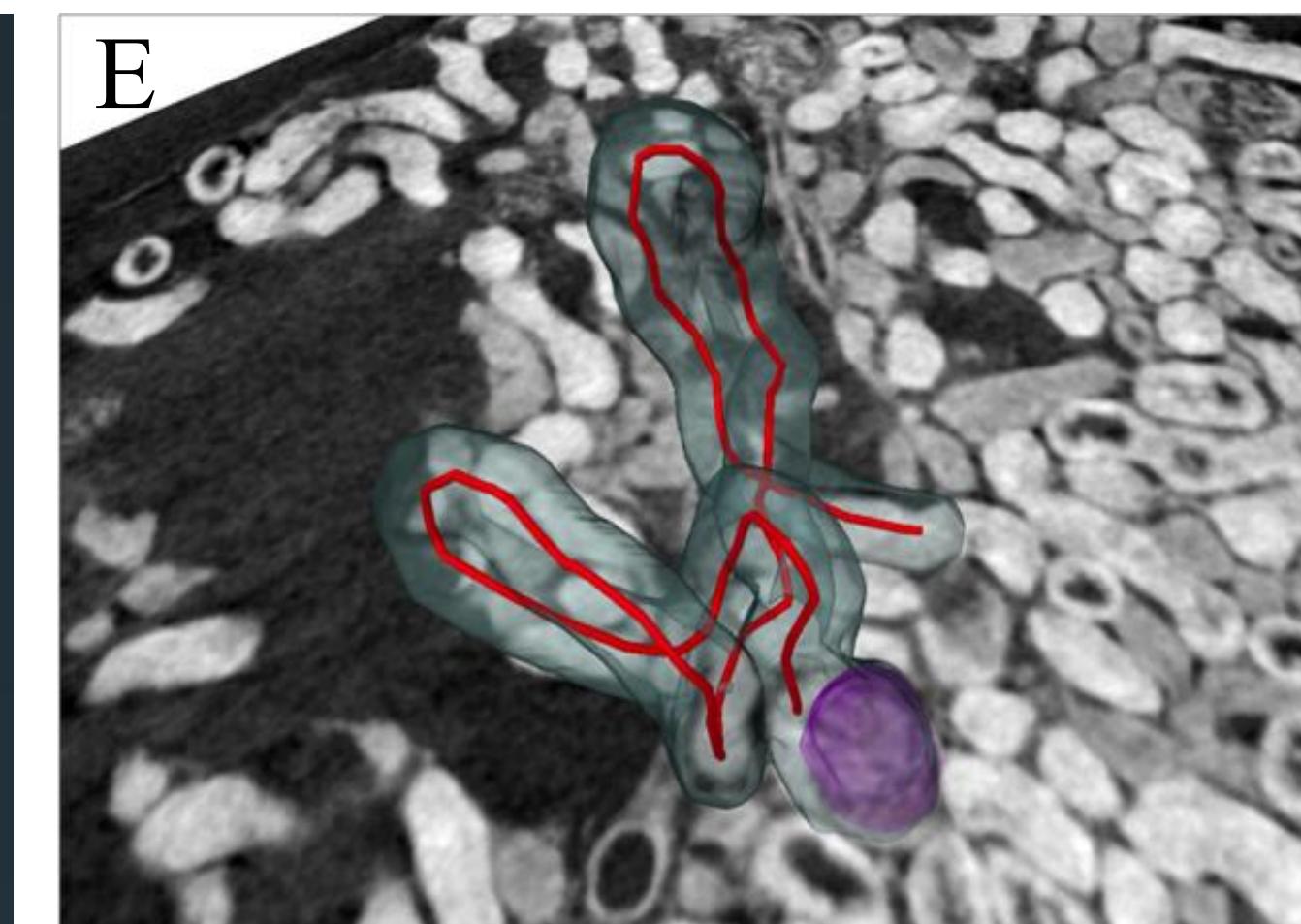


図3. 高解像度CTイメージング

高解像度CTを用いることでE9.5マウス胚(赤矢印)のような小さいサンプルでも1細胞レベルで可視化することができる (A)。通常のCTイメージングでは尿細管の構造が観察できない (B)。現在、我々は、高解像度CTイメージングと画像解析により、腎臓の単一ネフロンを自動抽出できる手法を開発した(C)。異なる色は独立したネフロンを示している (D)。糸球体(紫の球体)とその糸球体につながる尿細管をCT画像上に統合した (E)。

まとめ

造影CTイメージング解析法は、マウス胚胎致死などの表現型解析において強力な解析法である。また、開発した新しい造影CT用軟骨造影剤は、軟骨の構造・形態解析に有用である。さらに、高解像度CTは、マウス組織のナノスケールでの解析を可能とし、詳細、かつ迅速な形態観察ができる。これらの手法は、国内外研究者への解析技術提供を行っている（日本マウスクリニック：https://ja.brc.riken.jp/lab/jmc/mouse_clinic/business/index.html）。今後は、これらの技術をさらに発展させ、新たな表現型解析PLとして整備し、国内研究者の解析支援を提供予定である。

動物実験

本発表で記載する全ての内容は、理化学研究所・つくば地区動物実験倫理委員会による審査・承認を受け、動物実験実施規定に基づいて実施した。

謝辞

本研究に使用した遺伝子変異マウスは、理研・BRC・実験動物開発室の綾部信哉博士、および吉木淳博士から提供を受けた。新規軟骨剤の開発に関する研究は、科研費18K19276、21K12529、25H01357の支援を受けて行った。