

種々の3Dイメージングモダリティを用いたゼノグラフトサンプルにおけるマクロファージの追跡

Hemi Dimant¹, Patrick McConville¹, Kelly Orcutt¹, Robert Holt¹, Keith Mikule², Keith Wilcoxon², Deanne Lister³, Eric T. Aherns³

¹Invicro, A Konica Minolta Company, Boston, MA ²Tesaro, Waltham, MA ³University of California San Diego, San Diego, CA

要約

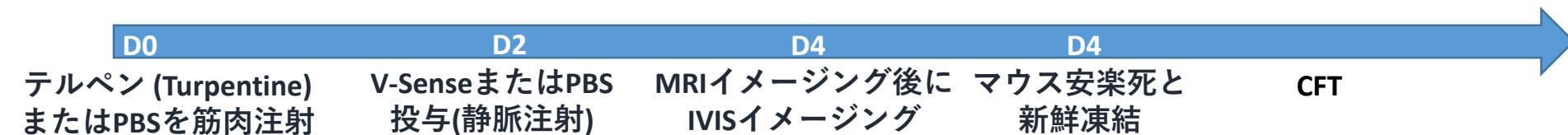
抗腫瘍活性を用いた治療のために特異的な骨髄由来のミエロイド細胞の腫瘍細胞への集積を促進させることは、免疫療法の一般的なアプローチである。一方で、分化した骨髄細胞による腫瘍形成促進効果及び抗腫瘍効果は複雑で、腫瘍細胞へのマクロファージの動員や腫瘍形成促進型のマクロファージから抗腫瘍型への形質転換など、新規治療法のアプローチが注目されています。

マクロファージを生物学的に解明しコントロールする本研究の試みは治療法の開発や治験において重要です。例えばin vivo分子イメージングや腫瘍における組織学的なマクロファージの可視化等の実験モデルは、一般的なイメージングのアプローチ方法として利用されています。そのイメージングに用いられるモダリティは、マクロファージの分布や、組織内での局在や動態をそれぞれ異なる方法でキャラクター化することが可能です。MRIや蛍光分子によるin vivoイメージングでは、経時的な考察に強く、組織内でのターゲット分子の分布情報を得ることができますが、感度や解像度に限界があります。蛍光顕微鏡や組織学的検査では、腫瘍関連マクロファージ(TAM)の局在や細胞の形態を非常に高い感度と解像度で観察することが可能ですが、時間分解能がなく、対象組織の一部の情報しか得ることができません。今回の試験で使用した冷凍蛍光トモグラフィー(Cryofluorescence tomography: CFT)は魅力的な新しいモダリティであり、放射線を用いたin vivoイメージングに比べ、高感度・高解像度で動物や組織全体の3Dイメージを取得することが可能です。

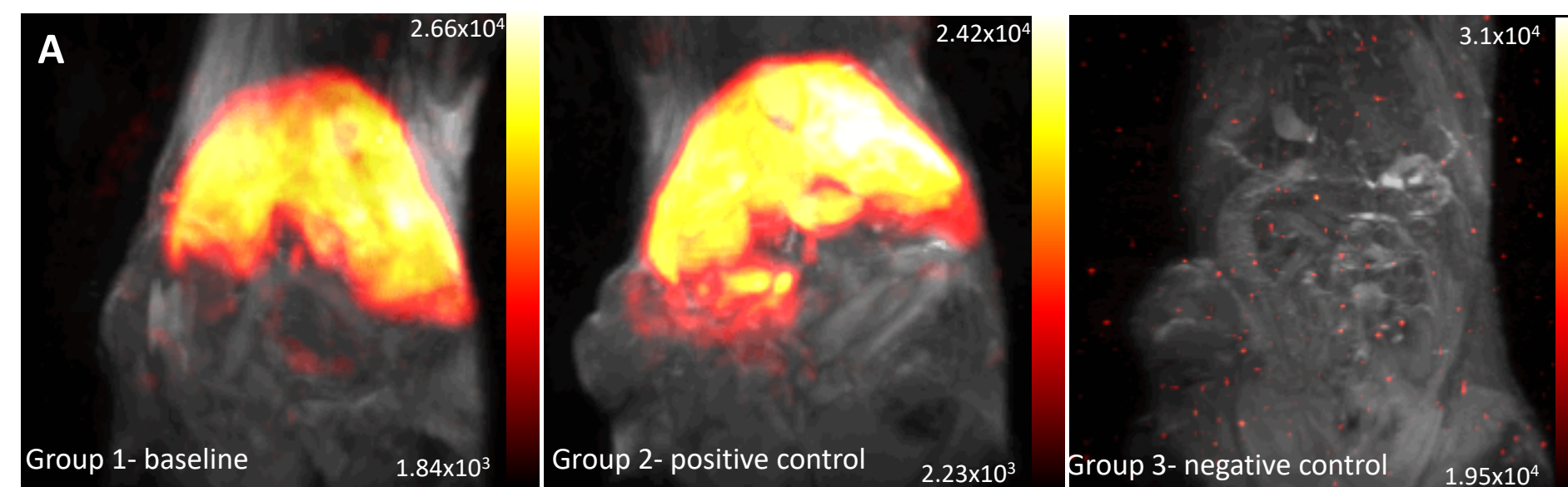
方法

MRI、FLI、CFTを用いた複数のモダリティによる担がん動物中のマクロファージを可視化するイメージング試験を実施しました。この試験では、患者腫瘍移植マウスモデルにV-Sense (VS-100H NIR, Celsense, Inc., Pittsburg, PA)、パーフルオロカーボンエマルジョンを含んだfluorine-19 (¹⁹F)、近赤外発光蛍光分子を投与しました。静脈投与した際、特に炎症組織 (例: 腫瘍) 中にあるクッパー細胞やマクロファージなどの細網内皮系の細胞によってV-Senseが選択的に取り込まれることで、MRIと蛍光イメージングを共に行うことが可能となりました。MRI測定後、直ちにFLIを行い、凍結処理を行った後CFTを実施しました。

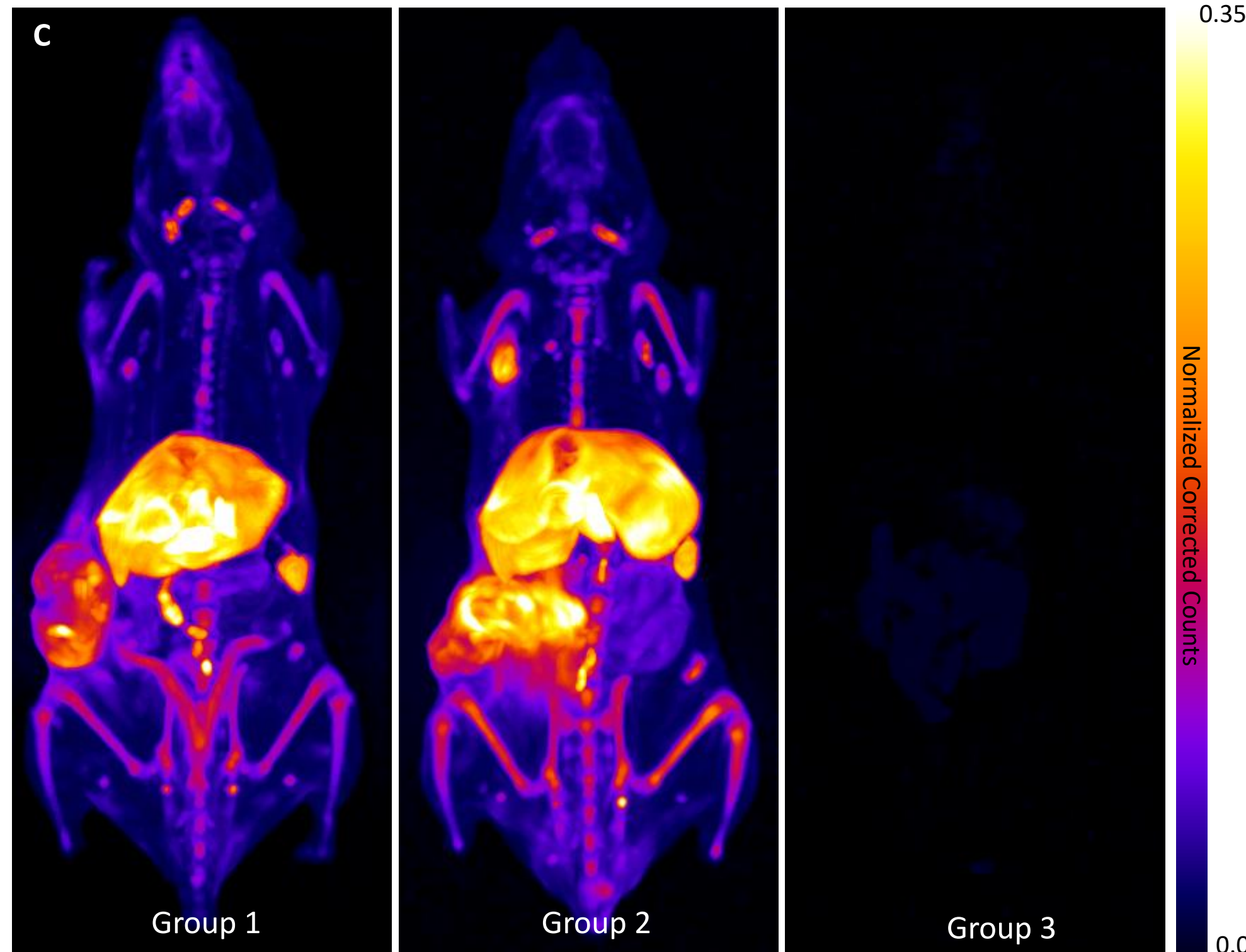
試験タイムライン



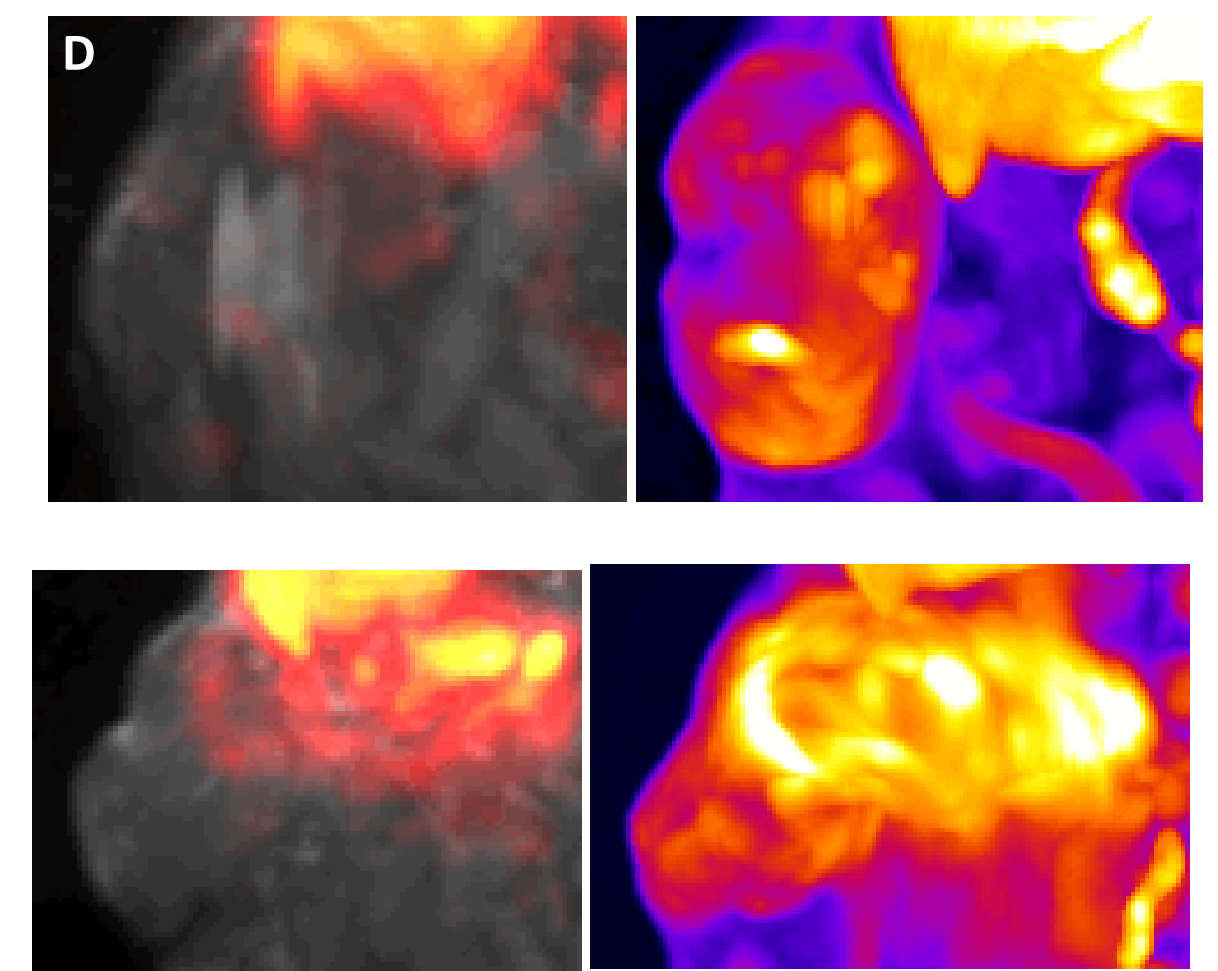
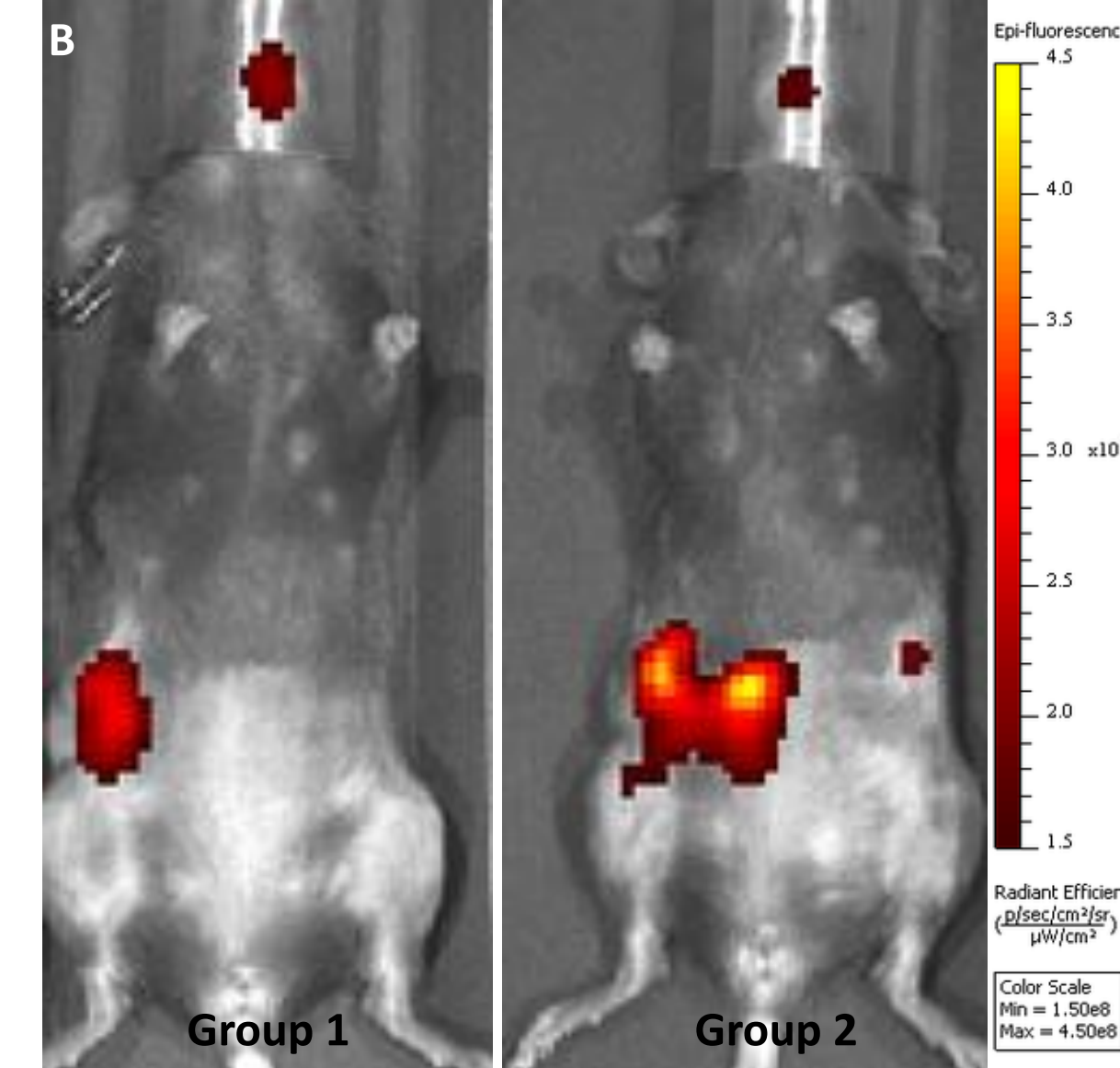
MRI:



CFT:



IVIS:



結果

¹⁹Fシグナルは非炎症腫瘍では検出されず、急性炎症が生じた際に現れることから、マクロファージの動員を示唆しています。FLIとCFTを用いてイメージングを行った際に、Group 1とGroup 2の両方の腫瘍からV-Senseシグナルが検出されました。CFTでは腫瘍及び肝臓内のV-Senseシグナルだけでなく、他の様々な臓器、例えばリンパ節骨髄など、MRIやFLIでは検出できなかったシグナルを検出できたことから、非常に高い感度の検出方法であることが示されました。このプローブの生体内分布は、これまでに行ったex vivo組織試験の結果とも一致しています(Ahrens, et al. 2011)。コントロール群(Group 3)からは¹⁹Fシグナルは検出されませんでした。

考察

V-Sense、¹⁹FとCy7が標識されたパーフルオロカーボン化合物を用いた複数のモダリティによるイメージング試験を実施することで、生体内のマクロファージにより選択的に取り込まれることが示されました (Khurana et al. 2018)。この試験の結果は、V-Senseを用いた複数のモダリティによるイメージングアプローチを行う際の有効性を示しています。つまり、低解像度のin vivoイメージングと、CFTによる高解像度の3Dイメージングがお互いを補完し、同一対象物における免疫学的な情報を、解像度の異なるマルチレイヤー画像を用いて示すことが可能となります。ここでは、V-Sense、¹⁹F、Cy7標識化合物を用いた概念実証試験を実施しました。MRI及びIVISを用いて時空間的情報を取得し、その解像度の低さを補完するために高感度なCFTによる解析を行いました。

参考文献

Ahrens et al. *BioTechniques*. 2011 April, 50:229-234
Khurana et al. *Magn Reson Med*. 2018 April, 79(4):1972-1980

Figure legend: 静脈注射によりV-Senseを投与された担がんマウス。投与後、腫瘍中のベースラインシグナルを評価するためにMRIを用いてイメージングを行い、急性炎症腫瘍との比較を行いました(腫瘍内テルペン投与マウスを陽性対照とした)(A)。両V-Sense投与マウスで肝臓への取り込みが確認されたが、ベースライン (Group 1)の腫瘍では取り込みが確認されず、また陽性対照マウス (Group 2)では少量の取り込みが確認されました (A)。MRI測定後、IVISを用いて腫瘍の取り込みを評価しました(B)。Cy7シグナルがベースライン (Group 1)の腫瘍と陽性対照マウス (Group 2)の両方から検出され、急性炎症腫瘍中ではより強いシグナルが可視化されました(B)。IVIS測定後、安楽死・凍結しCFTイメージングを実施しました(C)。再構成された3D画像を用いることで、両肝臓、両腫瘍中でV-Senseの強くはっきりとしたシグナルがIVIS、MRIと同様に確認されました。しかし骨髄とリンパ節でもシグナルが検出されました(C)。MRIと比較すると、CFTはベースラインのV-Senseシグナル検出においてより高感度であり、より高い解像度を有しています(D)。