SHIMADZU
Excellence in Science

Application News

No. B61

イメージング質量顕微鏡

iMScope *TRIO* を用いた毒性評価の検討 -ラット肺におけるアミオダロンの局在解析-

創薬研究において、候補化合物の体内動態解析は、薬効薬理メカニズムの解明のみならず、毒性評価の観点からも重要な情報をもたらします。一般的には、オートラジオグラフィ（Autoradiography: ARG）や蛍光色素を利用した方法が利用されていますが、ARG では費用が高額になることや、蛍光剤をラベル化剤として利用することによる薬物動態への影響が危惧されていました。そこで近年、ノンラベルで候補化合物の局在情報を検出できる手法として、MS イメージングの分析技術が注目されています。本手法は、ラベルフリーで各種物質の局在解析が行えることに加え、薬物の未変化体と代謝物の解析を同一切片から同時に解析できることから、創薬研究におけるブレークスルーをもたらすことが期待されています。

ここでは、ラットにアミオダロン（図 1）を投与し、肺組織に認められた病理所見とアミオダロンの局在を比較するため、イメージング質量顕微鏡 iMScope *TRIO*（図 2）を用いた MS イメージング分析の活用例をご紹介します。

R. Yamaguchi, T.Yamamoto

■ ラット肺におけるアミオダロンの局在解析

この実験では、抗不整脈薬のひとつであるアミオダロンを投与したラットの肺組織を測定しました。アミオダロンは多量に摂取するとリン脂質症を発症し、細胞の泡沫マクロファージ浸潤などの所見が認められます。しかし病変部位にアミオダロンが蓄積しているかどうかの情報はこれまでにないため、本実験では病理所見とアミオダロンの関係を MS イメージングの手法を用いて確認しました。アミオダロン標準品を用いた予備検討試験にて、マトリックスの選定や測定モードについて最適化し、本実験に適用しました。サンプル作成から組織切片の MS イメージング分析までの一連の実験条件を、表 1 に示します。

イメージング質量顕微鏡 iMScope *TRIO* を用いて、空間分解能 5 μm の高解像度イメージングを行って得られた組織切片上のマススペクトルと標準品のマススペクトルを比較すると、共通して *m/z* 646.0 のシグナルが検出されました（図 3）。この *m/z* 646.0 のマスイメージを描いたところ、細胞の泡沫マクロファージ浸潤が認められる部位でアミオダロンが集積していることが確認できました（図 4）。

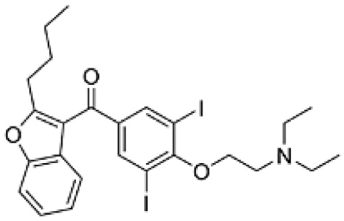


図 1　アミオダロンの構造式

図 2　iMScope *TRIO*

表 1　実験条件

サンプル作成	
動物種	: ラット
投与薬剤	: アミオダロン塩酸塩
投与方法	: 3 日反復経口投与
投与量	: 1000 mg/kg
臓器	: 肺組織
切片	: 新鮮凍結切片
切片厚	: 10 μm
マトリックス塗布	
マトリックス	: CHCA
マトリックス塗布方法	: iMLayer による蒸着
マトリックス塗布膜厚	: 0.7 μm
測定条件	
分析装置	: iMScope *TRIO*
測定モード	: positive mode
測定分子量範囲	: *m/z* 500-700
レーザ照射径	: 5 μm
測定ピッチ	: 5 μm

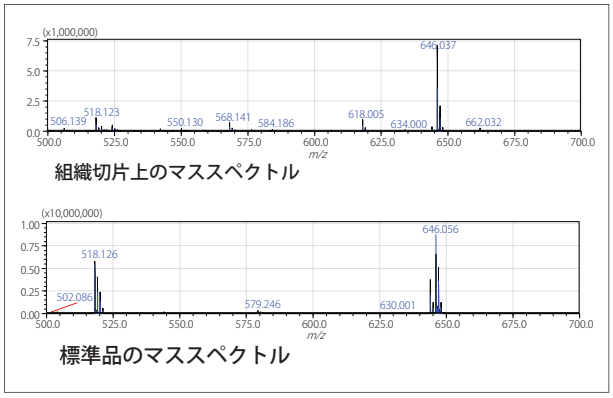
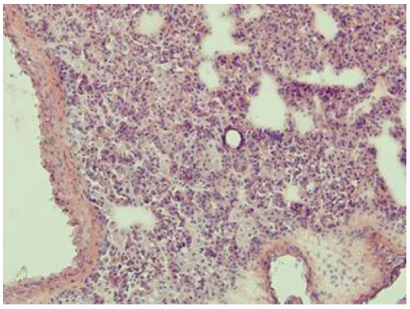
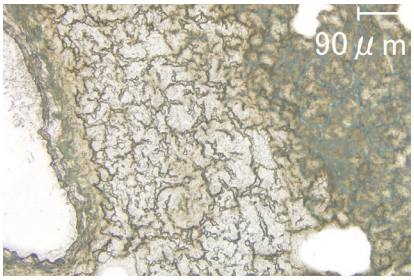


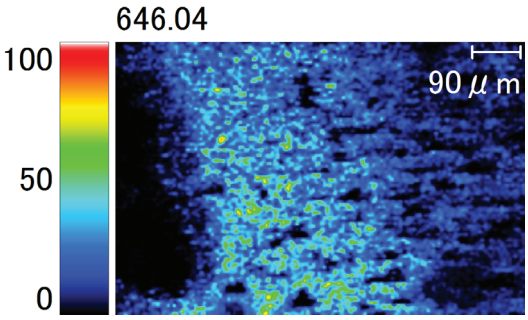
図 3　組織切片上および標準品のマススペクトル



アミオダロン投与肺切片（HE 染色）



アミオダロン投与肺切片
（MS イメージング分析用未染色）



MS イメージ（アミオダロン未変体）

図 4　連続切片の HE 染色像と分析に供した光学像と MS イメージ

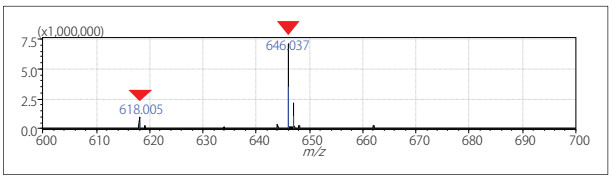


図 5　組織切片上のマススペクトル（*m/z* 600-700 拡大）

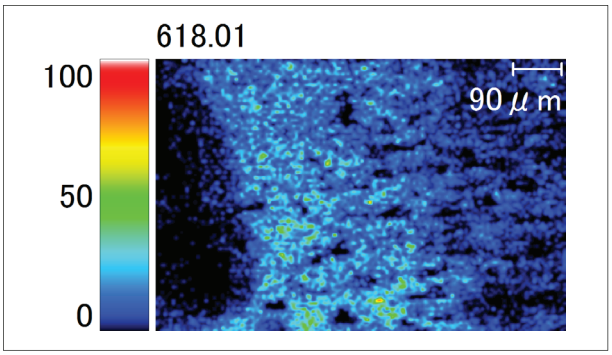


図 6　MS イメージ（代謝体の分子量に相当）

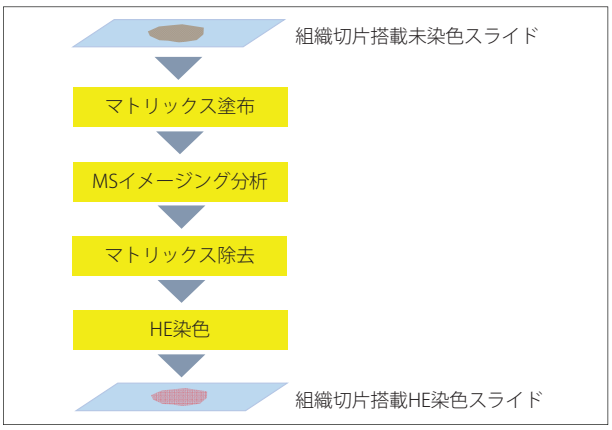


図 7　MS イメージング分析後の HE 染色のワークフロー

■アミオダロン代謝物の局在解析へ

ラットの場合、投与したアミオダロンは、体内で *N*-脱エチル化の代謝を受けるとの報告があります。本実験では MS スキャン分析を実施しましたが、アミオダロンの未変化体の脱エチルに相当する 28 Da 小さい *m/z* 618.0 にも強いピークが観測されています（図 5）。この *m/z* 618.0 の MS イメージを描いたところ、図 6 のように、アミオダロンの局在と同じような画像が得られました。このことからも *m/z*618.0 の MS イメージはアミオダロンの *N*-脱エチル化体の MS イメージである可能性が高いと考えられます。

■MS イメージと HE 染色像の完全一致の可能性

HE 染色した切片での MS イメージング分析はできないため、本実験では HE 染色した切片と連続する切片を未染色の状態で MS イメージング分析を実施しています。しかしながら、連続切片であっても組織形態が似ているものの完全一致しておらず、特徴的ランドマークを頼りに位置合わせを行う必要があります。現在は、この問題を解決するため、図 7 の流れのように、MS イメージング分析した切片から、マトリックスを有機溶媒で除去し、その後 HE 染色を行うことで、同一切片による HE 染色像と MS イメージの位置情報の完全一致が検討されています。

謝辞

本アプリケーションニュースに関するデータ取得および原稿作成において、多大なるご協力をいただきました、田辺三菱製薬株式会社 薬物動態研究所の鍛冶秀文様、ならびに橋本博幸様に、心よりお礼申し上げます。

株式会社 島津製作所　分析計測事業部
グローバルアプリケーション開発センター

初版発行：2017 年 4 月

島津コールセンター　0120-131691
(075) 813-1691

※本資料は発行時の情報に基づいて作成されており、予告なく改訂することがあります。
改訂版は下記の会員制 Web Solutions Navigator で閲覧できます。
https://solutions.shimadzu.co.jp/solnavi/solnavi.htm

会員制情報サービス「Shim-Solutions Club」にご登録ください。
https://solutions.shimadzu.co.jp/
会員制 Web の閲覧だけでなく、いろいろな情報サービスが受けられます。