

イメージング質量分析（IMS）の技術紹介

株式会社 L S I M 安全科学研究所

熊本研究所 安全性研究部

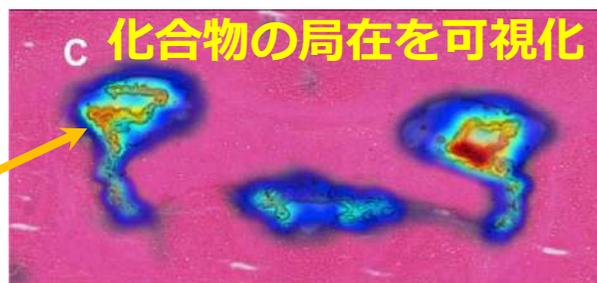
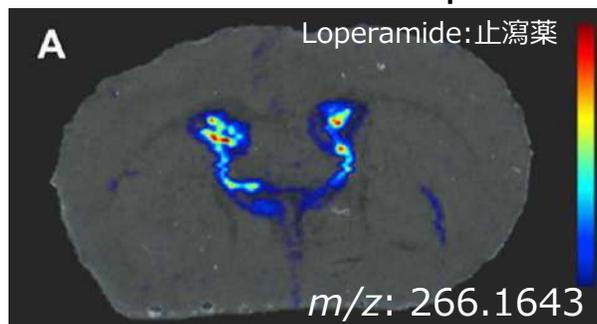
相川 博明

本日の内容

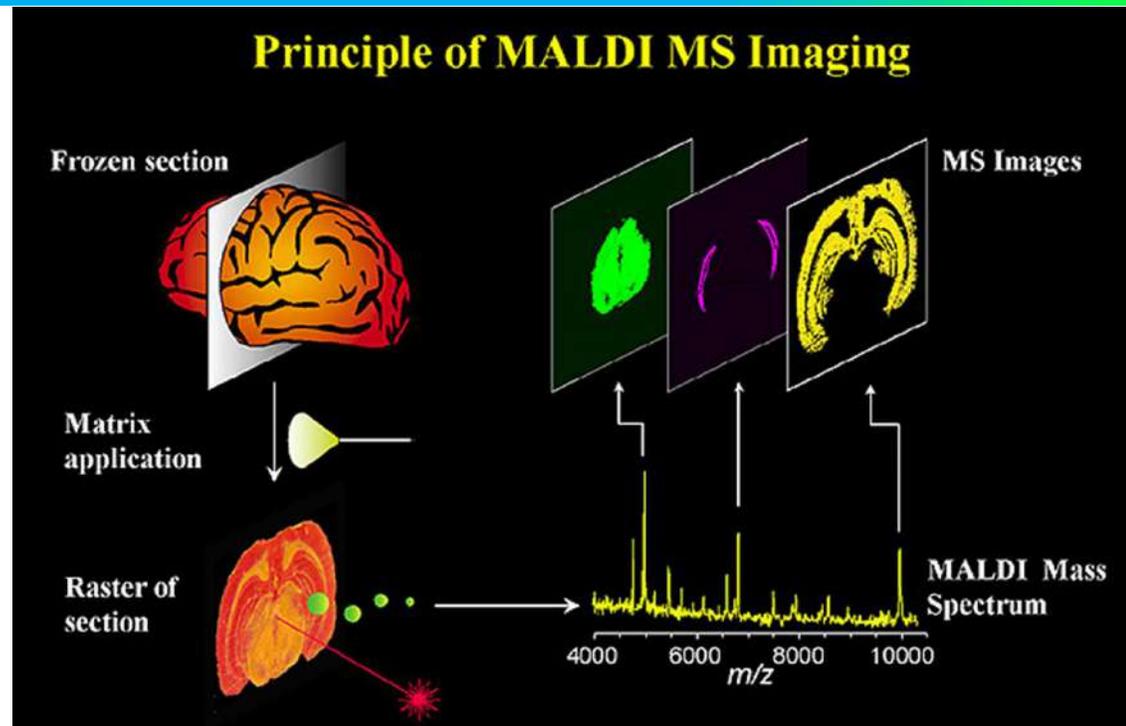
1. イメージング質量分析（IMS）とは
2. IMSによる有色ラット眼球内局在評価事例のご紹介
3. おわりに

イメージング質量分析 (Imaging Mass Spectrometry : IMS) とは

例：マウス脳切片におけるLoperamide局在



NeuroImage., 2018, 172, 808-816



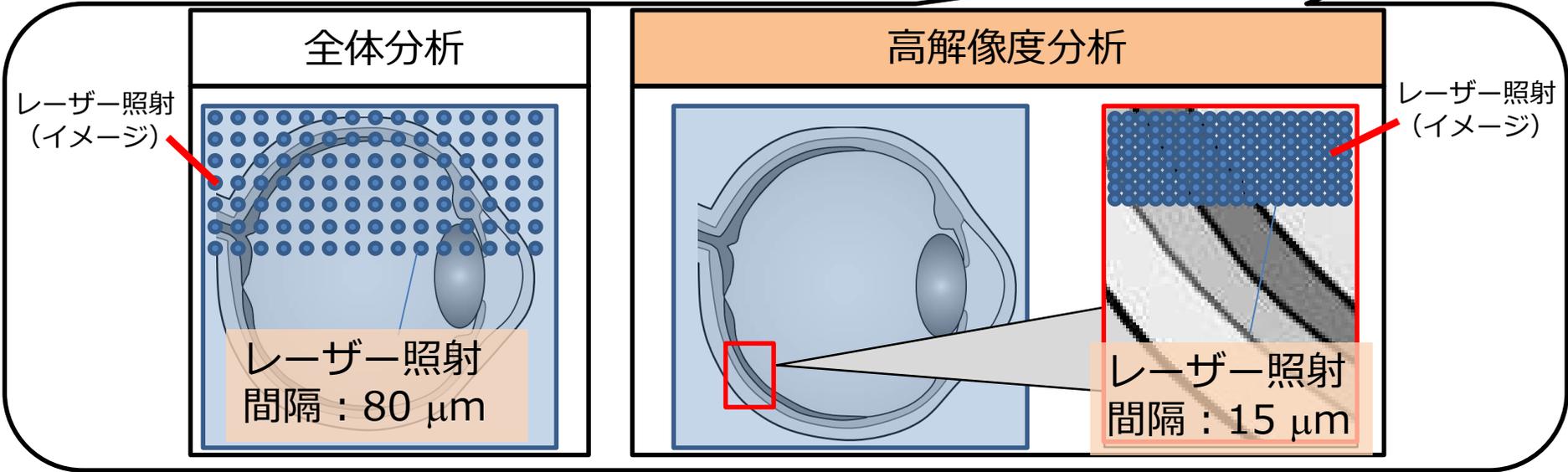
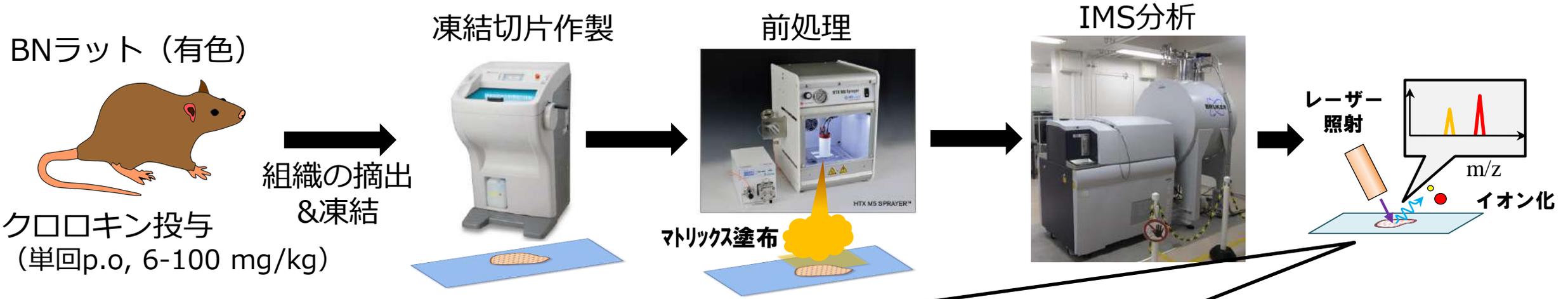
Nat. Med., 2001, 7(4), 493-496

【IMSの特徴】

- ・ 標識体を使用しない
 - ・ 1化合物だけでなく、代謝物やマーカ分子など複数化合物を同時に分析
 - ・ 特定イオンの信号強度とその位置情報から、2次元分布図を画像化
 - ・ 組織（凍結切片）中における微細な局在評価に有用な技術
- ⇒薬効確認（標的組織への到達）、POC確認、**毒性発現のメカニズム解明**の一助として活用が可能

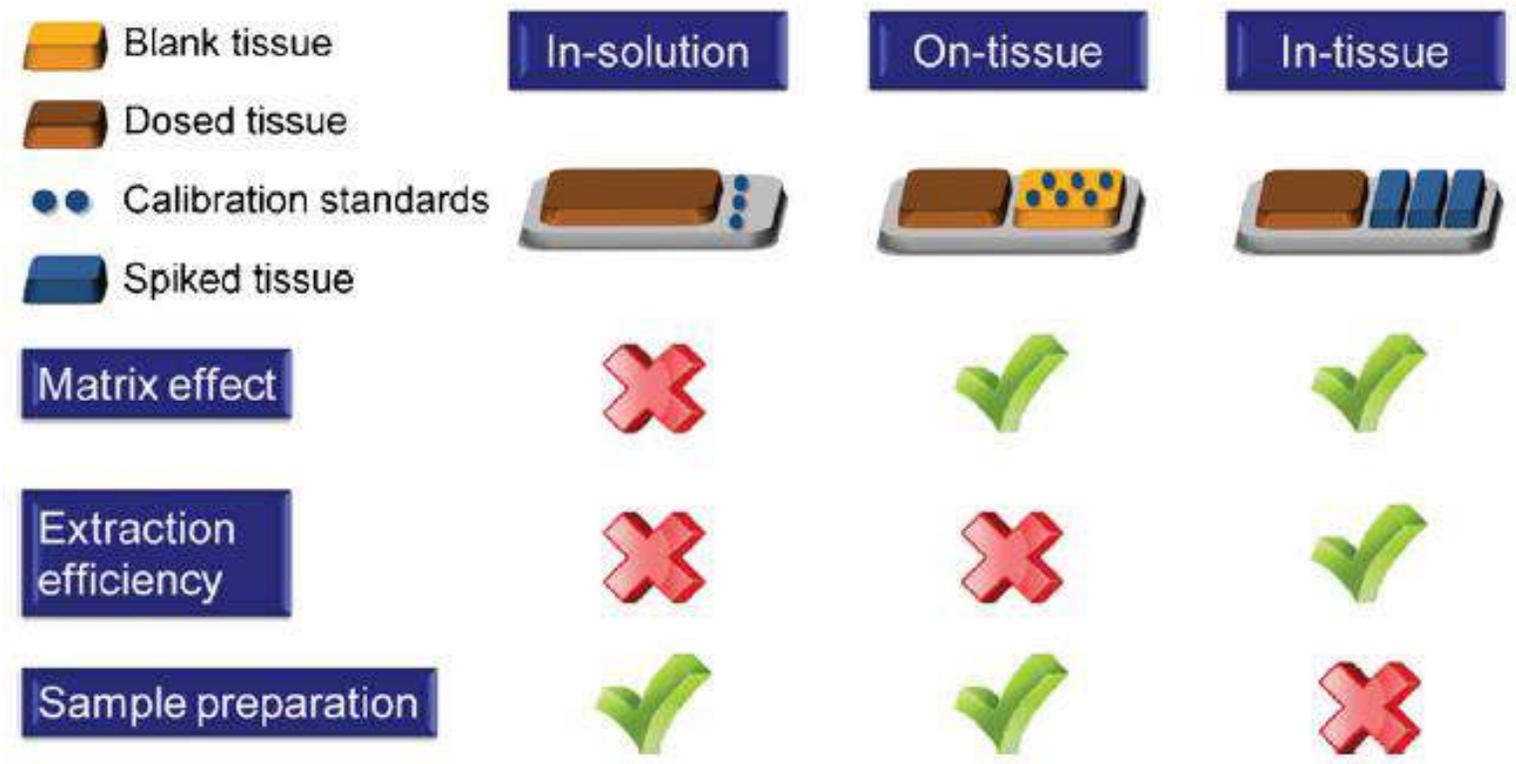
IMSを用いた有色ラット眼球内局在 評価の事例についてご紹介

実験方法



眼球組織を全体分析 & 高解像度分析にて評価

定量的IMS分析

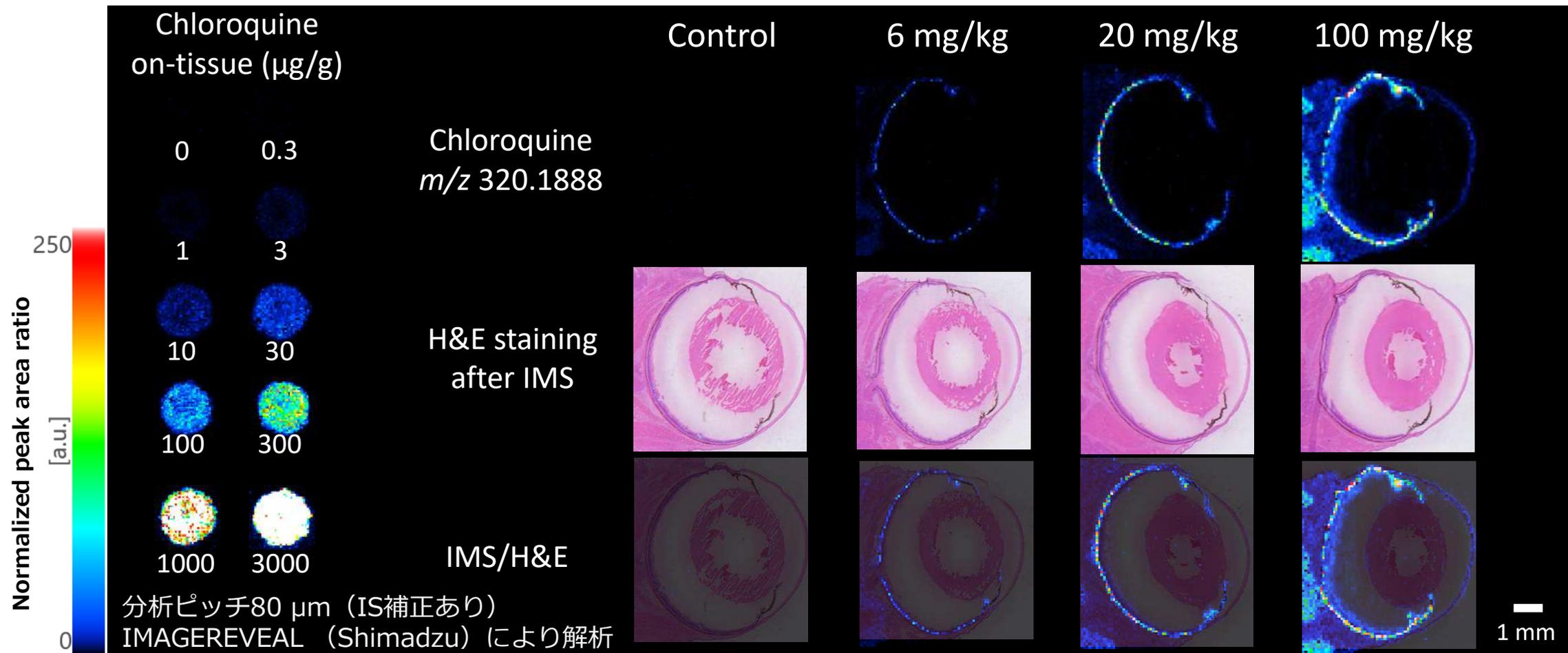


Anal. Bioanal. Chem. (2015) 407: 2177–2187

- 定量精度が高いのはin-tissue法
- サンプル調製の簡便さからon-tissue法が採択されている傾向

眼球組織上のクロロキン分布 (全体分析・定性評価)

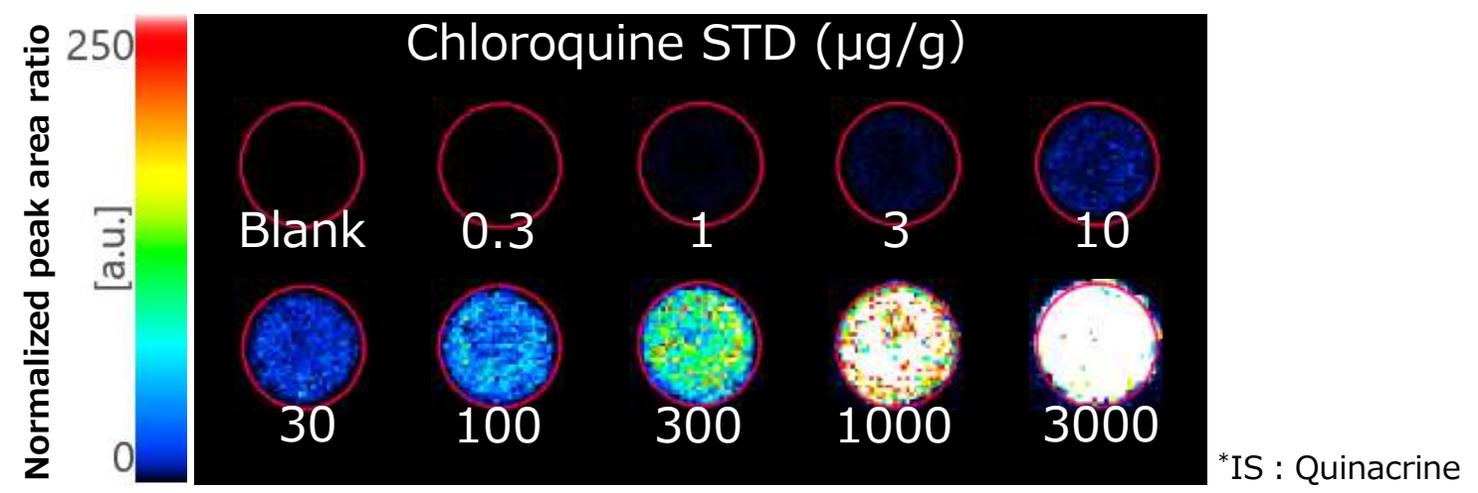
- 測定サンプル：単回投与群 (6, 20, 100 mg/kg: n=1) の眼球をIMS測定



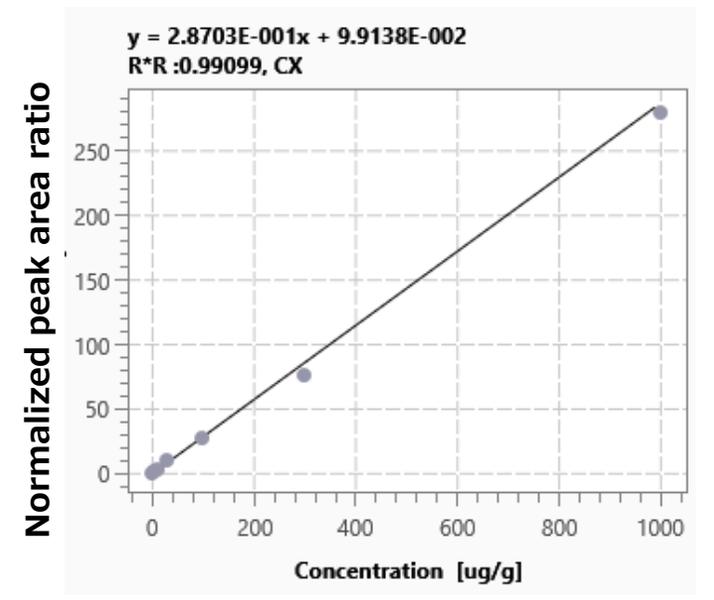
- すべての投与群においてクロロキンシグナルが網膜付近で確認

定量解析：クロロキン標準溶液を用いた検量線

- 検量線：on-tissue法



STD (µg/g)	Peak area		Normalized peak area ratio	Sample Type	Accuracy (%)	Concentration (µg/g)
	Chloroquine	IS*				
0	113	404752	0.0171	Unknown	-	< 1.00
0.3	1086	441473	0.0959	Unknown	-	< 1.00
1	3606	412657	0.375	Standard	95.9	0.959
3	11198	441670	1.04	Standard	109.3	3.28
10	34139	450506	3.23	Standard	109.2	10.9
30	88156	409555	9.15	Standard	105.1	31.5
100	264293	437923	26.5	Standard	91.9	91.9
300	694952	400451	75.1	Standard	87.1	261
1000	2636364	428666	278	Standard	97.0	970
3000	8770635	413038	1070	Unknown	-	3710



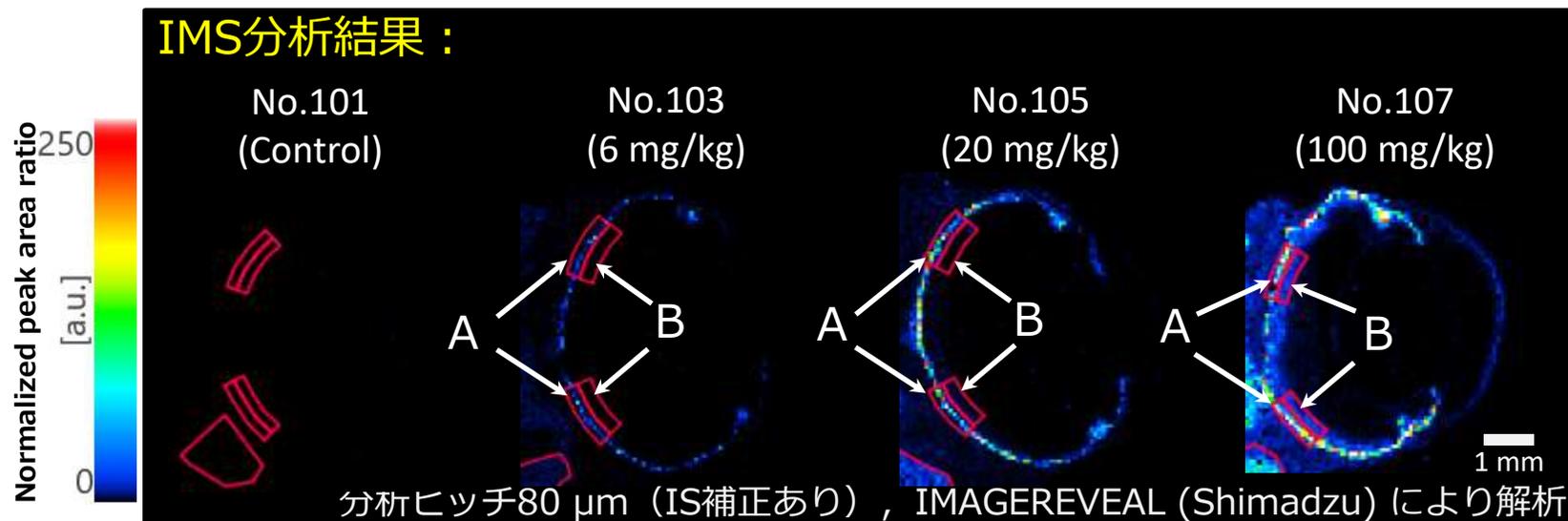
重み付け： $1/x^2$
 検出下限：0.3 µg/g
 定量範囲：1-1000 µg/g

IMAGEREVEAL (Shimadzu) により解析

眼球局所における定量解析

各個体の網膜付近2部位 (A:網膜外層とB:内層) を定量解析

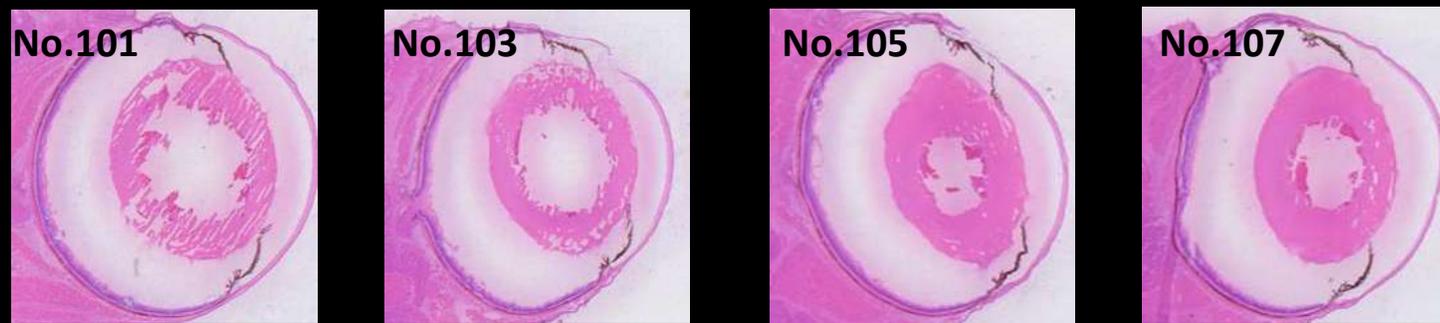
各部位のIMS定量値 (μg/g、平均値)



解析領域	A : 網膜外層側	B : 網膜内層側
101	<LLOQ	<LLOQ
103	12.6	<LLOQ
105	79.8	4.02
107	271	43.9

LLOQ : 1 μg/g

分析後H&E染色 (同一切片) :

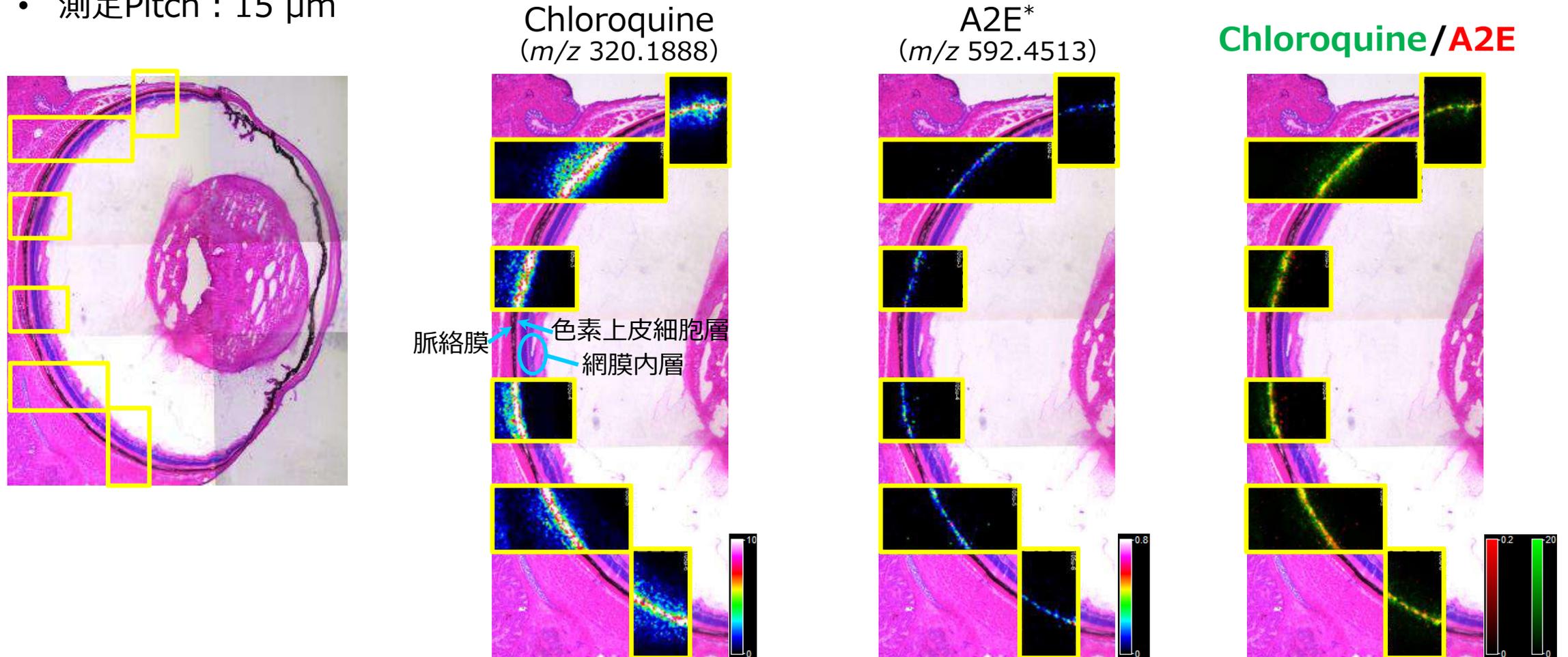


各部位における
クロロキン濃度を定量

高解像度分析 (20 mg/kg)

- 測定サンプル：単回投与群 (6, 20, 100 mg/kg) の眼球網膜部分
- 測定Pitch：15 μm

*A2E：色素上皮マーカー（内因性）



クロロキンシグナルは色素上皮および脈絡膜に主として局在（同様の傾向）

今回の実験まとめ

- IMS分析法（on tissue法）を用いて、クロロキンの眼球内局在評価および局所濃度を定量
- 高解像度IMS分析法を用いて評価した結果、クロロキンは色素上皮および脈絡膜に主として局在することが判明
- 本法は組織切片中の測定対象化合物および関連分子の局在を、標識せずに評価しうる技術であることから、創薬におけるコンセプト確認や毒性メカニズム解明のための有力なツールとして創薬研究への貢献が期待される。