

医用質量分析 ガイドブック

日本医用マススペクトル学会推薦

和文著書 47

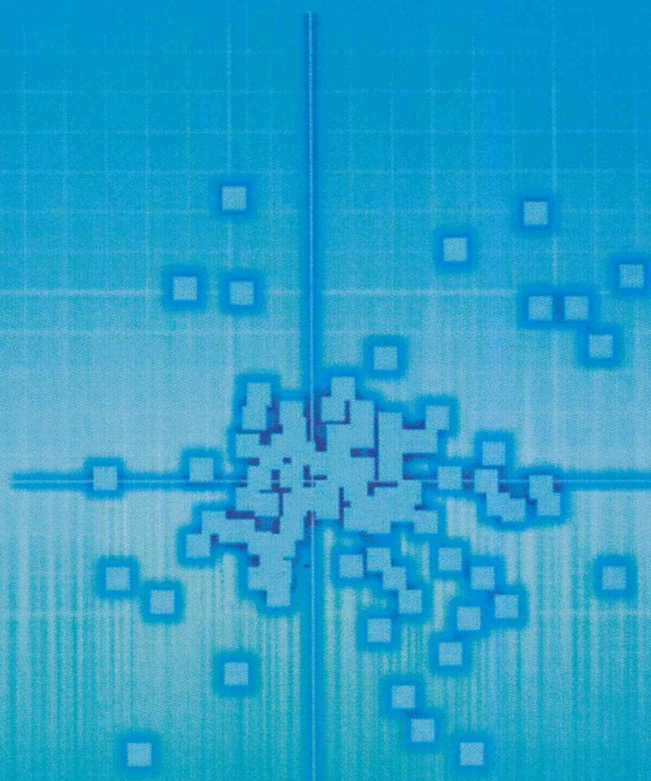
[編集]

丹羽利充

名古屋大学大学院 医学系研究科 尿毒症病態代謝学 教授

野村文夫

千葉大学大学院 医学研究院 分子病態解析学 教授



11 疾患のイメージング質量分析

近藤 豪, 瀬藤 光利

Summary

イメージング質量分析 (imaging mass spectrometry: IMS) は対象の形態学的情報と生化学的情報を同時に取得する解析技術であり、脂質や代謝産物など、既存の方法では可視化がむずかしい分子のイメージングが可能である。医療分野では特に、病理解析や薬物動態解析への応用が進められ、がんをはじめとしたさまざまな疾患において脂質分子などの劇的な変化が捉えられている。解析手法の改良や共同利用の推進を通して、医療分野において今後ますます活躍することが期待される。

われわれが疾患を認識し理解するには、まず生体の異常を正常と見分けられなければならない。今日、臨床の現場で用いられる診断技術も、極論をいえばすべて疾患を見る(診る)ことに基づいている。しかし、われわれは疾患で起きているミクロな変化を目で直接見ることができない。目の検出限界を超える小さな細胞や分子は顕微鏡などで拡大する必要がある。五感では直接知覚できない電磁波やイオンは、X線フィルムや質量分析器などで検出し、時に分離・整理して目に見える形にする必要がある。Malpighi や Hooke、Leeuwenhoek は顕微鏡で生命の詳細を観察し、また、Thomson や Aston、Dempster は質量分析器で正確な原子質量を検出することで、科学の発展に大きく貢献した。これらの技術は今日の医療においても欠くことのできないものになっている。

イメージング質量分析とは

IMS は二次元的に質量分析を行うことで、解析対象についての形態学的情報と生化学的情報を同時に取得する技術である。試料の各部位にイオン化レーザーを繰り返し照射することで、各点から生じる数百種類におよぶイオンを走査解析し、イメージ像として描写する。これにより通常の顕微鏡法では得られない分子組成情報と、通常の質量分析法では得られない組織学的情報とを関連付けて同時に取得することが可能になる。生体試料を顕微鏡解析する際に必要な抗体や蛍光タンパク質などによる標識が不要であるため、IMS はこれまで標識が困難であった代

謝物などの解析において特に威力を発揮する。

当研究室では島津製作所と協力して matrix-assisted laser desorption/ionization (MALDI) time-of-flight mass spectrometer (TOF-MS) (質量分析の原理については、第1章参照) をベースに IMS の開発に取り組んできた (図1, 2013年5月より iMScope として市販開始)。田中耕一らが考案した MALDI によるイオン化法は、比較的大きな分子種について分子構造を維持したままイオン化できるため、特に生体試料の解析に向いている。さらに iMScope では大気圧 MALDI チャンバーを採用することで、類似の分析装置ではむずかしい揮発性分子の解析を可能にしている。標識が要らないという IMS の利点は、解析対象の拡大と解析操作の簡便化を可能にするのみならず、あらかじめ解析対象分子を決めずに試料を俯瞰的網羅的に解析することも可能にし、試料間で異なる分子種を探索するといった研究戦略にも有効である。これらの利点から、ヒト疾患解析における IMS の応用に期待が高まるのは当然ともいえる。

実際にヒト疾患の IMS 解析の例を紹介する前に、IMS のアプリケーションとしての可能性を示す基礎医学研究の例をいくつかあげておきたい。脂質は生体を構成する最も重要な成分の一つであるにも関わらず、抗体や蛍光分子で分子構造による細かな違いを区別して標識することが極めて困難であり、これまで形態学的情報に基づいた研究が遅れていた。MALDI による IMS は、ホスファチジルコリン (phosphatidylcholine: PC) をはじめとするリン脂質の解析に非常に適しており、生体組織切片上の脂質構成を

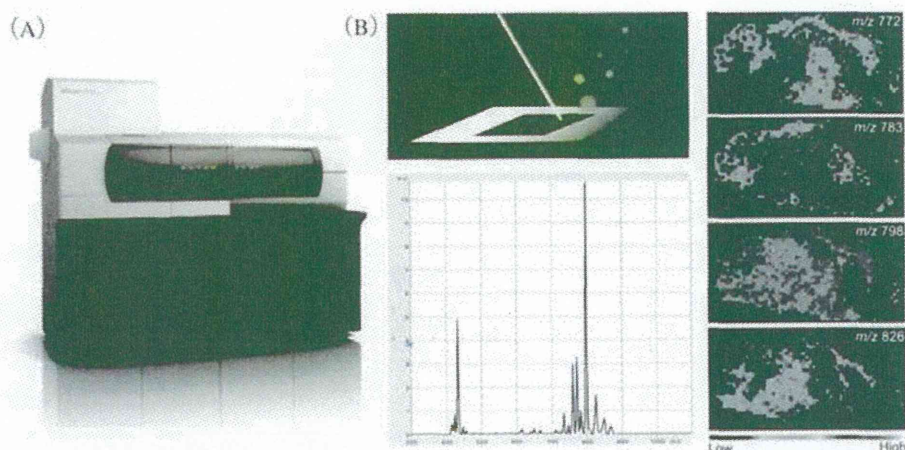


図1 イメージング質量分析の概要

A. 市販された iMScope の外観 (島津製作所提供)
 B. IMS の概略図、組織切片上での MALDI によるイオン化とマススペクトル、二次元像描写の例

炭素数や不飽和度情報まで含めた形で取得し、可視化することに成功している (図 2-A)¹⁾。後述するように、脂質情報の取得はヒト疾患の解析においても IMS の最も得意とするところである。

IMS の標識不要・多分子同時検出の利点を活かしてメタボローム解析も行われている。図 2-B はマウスのカイニン酸誘発性てんかんモデルにおいて、糖代謝経路に関わる分子を網羅的に解析した例である²⁾。一度に網羅的に情報を取得することで、てんかん発作時の海馬 CA3 領域における代謝産物の増減がまさに一目瞭然となっている。この例ではさらに capillary electrophoresis (CE) /MS による解析を組み合わせることで、定量性を高めたデータを得ることに成功している。

創薬領域において体内の薬物動態は重要な評価項目の一つである。しかし、これまでは薬物自体を放射性同位体標識する必要から、多大な時間や労力、費用を要し、被曝のリスクも存在した。IMS は生体に投与された薬物、さらには薬物の前駆体や代謝産物を標識なしに検出し、組織への分布情報を得ることを可能にしている³⁾。図 2-C は消化性潰瘍の治療で頻用される H2 ブロッカー、ファモチジンのマウス全身における分布を標識操作なしに可視化した例であり、一般的な放射性同位体標識に匹敵する解像度を実現している。

以上の研究成果は、疾患における病態の解析とその情報に基づく治療薬開発において、IMS が大きく

貢献できる可能性を強く示している。以下には実際にわれわれがこれまで行ったヒト疾患解析例を紹介したい。なお紙面の都合上詳細な実験手順までは記載できないため、実際の解析にあたってのプロトコルについては参考文献を参照されたい。

疾患における組織イメージング質量分析の例

(1) 乳がん

乳がんは女性の死因として現在世界で最も多いがんである。最近の研究において脂質代謝と乳がんの関係性が示唆されているが、乳がん組織における空間的な脂質構成については知られていない。そこで IMS によりヒト乳がん組織を解析したところ、組織中のがんに相当する部位では周囲の非がん組織に比べ、不飽和脂肪酸 (unsaturated fatty acid: UFA) が多く含まれていた⁴⁾。そこで複数の一価不飽和脂肪酸 (mono-unsaturated fatty acid: MUFA)-PC について解析したところ、非がん組織と比べてがん組織では PC (32:1)、PC (34:1)、PC (36:1) といった分子 (カッコ内の数字は PC に含まれる 2 つのアシル基の総炭素数および不飽和結合数を示している) が総じて高く認められた (図 3-A)。特に PC (36:1) については、対応する飽和脂肪酸 (saturated fatty acid: SFA) である PC (36:0) に比して顕著に多く検出された。SFA から UFA を合成する酵素であるステアロイル-CoA デサチユラーゼ-1 (SCD1) は、い

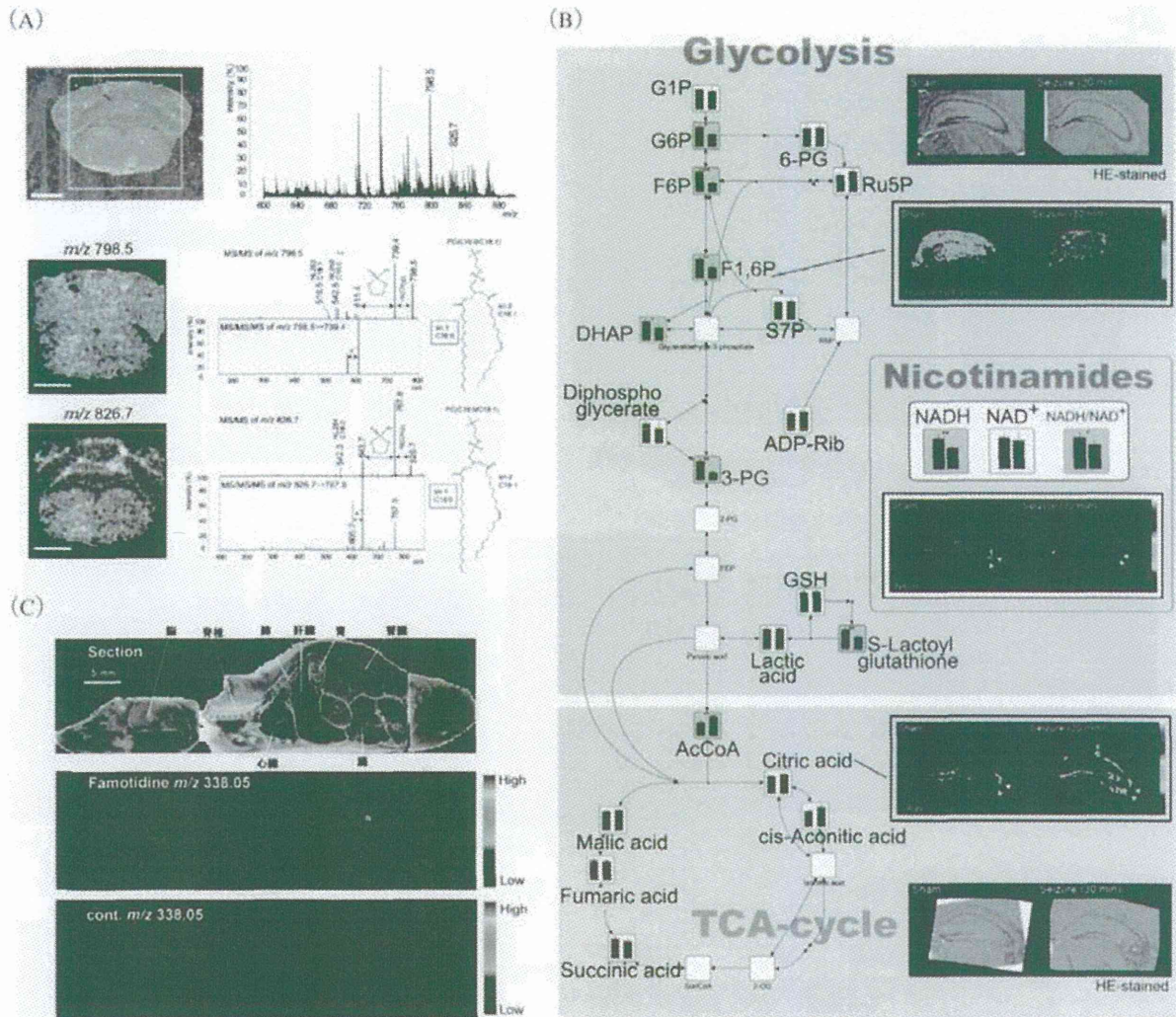


図2 イメージング質量分析による可視化分子種の例

- A. マウス脳切片における脂質の可視化 (Shimma S, et al.: Mass imaging and identification of biomolecules with MALDI-QIT-TOF-based system. Anal Chem 80 : 878-85, 2008 より引用)
- B. マウス脳切片における解糖系〜クエン酸回路の代謝物の可視化 (Sugiura Y, et al.: Visualization of Spatiotemporal Energy Dynamics of Hippocampal Neurons by Mass Spectrometry during a Kainate-induced Seizure. PLoS ONE 6 : e17952, 2011 より引用)
- C. ファモチジンのマウス全身における組織分布の可視化 (齋藤祐介, ほか: 高解像度質量顕微鏡を用いた薬物動態の解析, J Mass Spectrom Soc Jpn 59 : 79-84, 2011 より引用)

くつかのがん種の増殖に関与することが報告されている。そこで SCD1 の発現を免疫染色により調べたところ、確かに UFA を多く含む部位において SCD1 の高発現が認められ、このことから不飽和脂肪酸比率の上昇は SCD1 の活性増強を反映していることが示唆された。一方、乳がんのサブセット分類に用いられる指標マーカーと MUFA/SFA 比の相関を調べたところ、エストロゲン受容体陽性群において一部の不飽和脂肪酸の高値が認められた。他のマーカー陽性群との比較から、既存の定義により分類されるサブセットのなかに、MUFA/SFA 比の高低によりさらに分類可能な症例群の存在が示唆された。以上の

結果から、MUFA/SFA 比の測定が乳がんの層別化の新たな指標となり、不飽和脂肪酸高値症例に対する新しい治療戦略として、脂質代謝経路が有望なターゲットとなる可能性が示された。

(2) 肝細胞がん

肝細胞がん (hepatocellular carcinoma : HCC) は死因につながるがんとして世界で4番目に多く、ウイルス肝炎やアルコール性肝炎、非アルコール性脂肪肝がリスク要因として知られている。ウイルス感染による肝障害の減少と近年のメタボリックシンドロームへの関心の高まりから、非アルコール性脂肪肝と肝細胞がんとの関係が注目されており、実際に

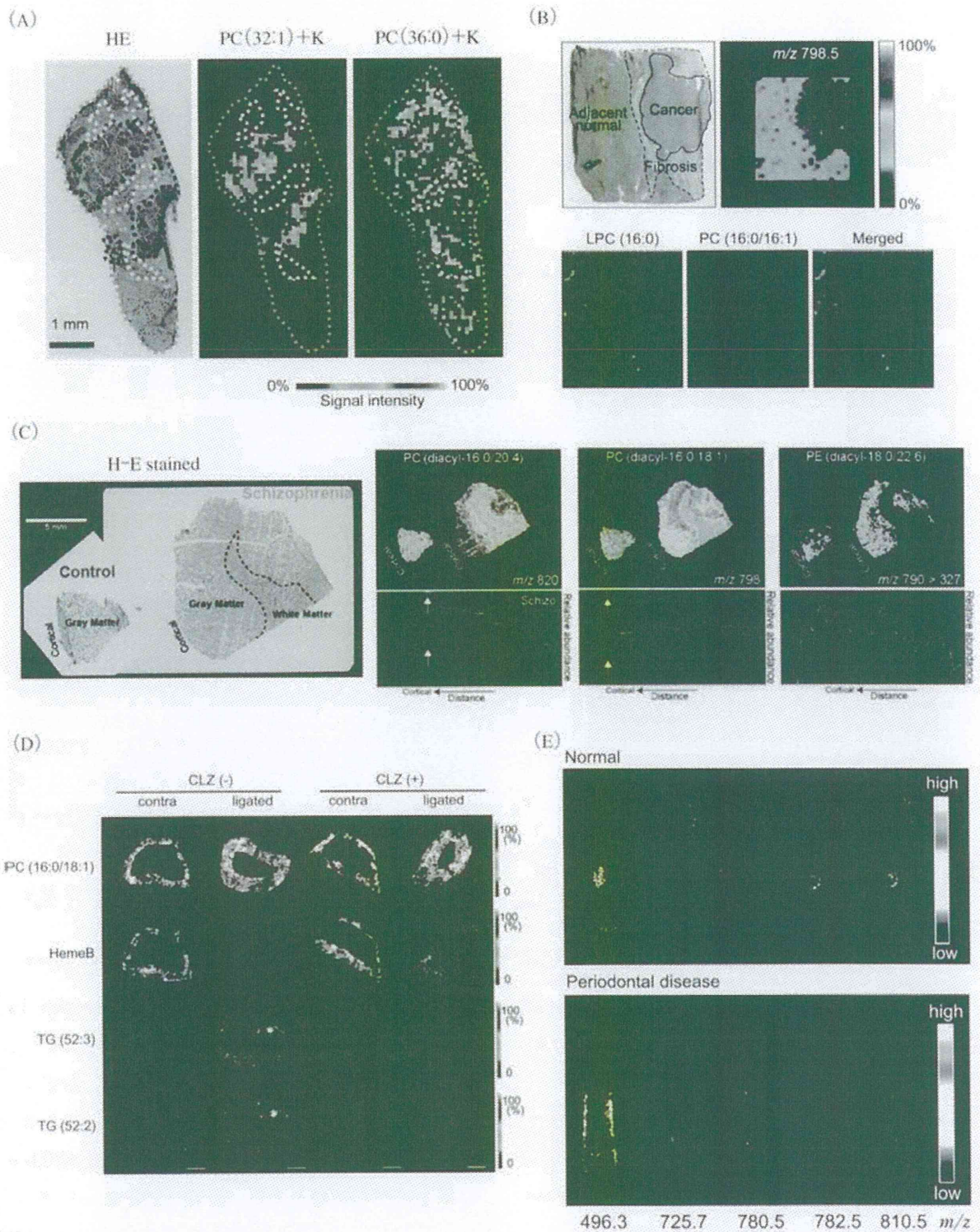


図3 疾患のイメージング質量分析の例

- A. 乳がんにおける UFA-および SFA-PC の可視化 (Ide Y, et al.: Human Breast Cancer Tissues Contain Abundant Phosphatidylcholine (36:1) with High Stearoyl-CoA Desaturase-1 Expression, PLoS ONE 8 : e61204, 2013, より引用)
- B. 肝細胞がんにおける PC の可視化 (Morita Y, et al.: Lysophosphatidylcholine acyltransferase 1 altered phospholipid composition and regulated hepatoma progression. J Hepatol 59 : 292-299, 2013 より引用)
- C. 統合失調症患者死後脳における PC の可視化 (Matsumoto J, et al.: Abnormal phospholipids distribution in the prefrontal cortex from a patient with schizophrenia revealed by matrix-assisted laser desorption/ionization imaging mass spectrometry. Anal Bioanal Chem 400 : 1933-1943, 2011 より引用)
- D. 頸動脈結紮による TG およびヘムの変化と CLZ 投与の影響 (Tanaka H, et al.: Cilostazol inhibits accumulation of triglycerides in a rat model of carotid artery ligation. J Vasc Surg 58 : 1366-1374, 2013 より引用)
- E. 歯周病の歯における代謝物の可視化 (Hirano H, et al.: Matrix-assisted laser desorption/ionization imaging mass spectrometry revealed traces of dental problem associated with dental structure. Anal Bioanal Chem 2013 Jun 2 [Epub ahead of print] より引用)

HCCにおける脂質合成の異常が報告されている。そこでHCCにおける脂質の変化をIMSにより詳細に解析したところ、周辺正常組織と比較してHCCにおいてPC (16:0/16:1)が非常に豊富に存在していた(図3-B)⁵⁾。この脂質変化の原因を探るため、アシル CoA の脂肪酸をリゾリン脂質 (lyso-PC, LPC) に結合させることでPCの産生に寄与するLPCアシルトランスフェラーゼ (LPCAT) ファミリーの発現量を調べたところ、LPCAT1の発現が高いHCC症例が多く認められた。そこで肝細胞がん培養細胞HuH7およびHepG2においてRNA干渉によりLPCAT1の発現を抑えたところ、PC群の組成比率が変化しPC (16:0/16:1)の低下が認められた。さらにLPCAT1の発現を抑制した場合には細胞増殖の低下に加え、細胞の遊走および浸潤も低下していた。一方、これらの細胞株にLPCAT1を過剰発現させたところ、逆に増殖・浸潤の増加が認められた。これらの結果は、LPCAT1がHCCの悪性度を左右する重要な因子であることを示唆し、LPCAT1がHCC治療戦略の新たな標的になると期待される。

(3) 統合失調症

統合失調症は古くから知られる代表的な精神疾患である。近年では脂質、特に不飽和脂肪酸の関与が注目されているが、ヒト疾患サンプルの解析は困難であることからほとんど進んでいない。そこで福島県立医科大学ブレインバンクに保管されている統合失調症患者死後脳脂質組成を、IMSにより部位別に詳細に解析した⁶⁾。脳切片についてイメージング解析を行う前に、健常者死後脳サンプルから抽出した脂質成分をliquid chromatograph (LC)/electrospray ionization (ESI)-MS/MSでニュートラルロスキャン解析し、PC、スフィンゴミエリン、ホスファチジルエタノールアミンそれぞれに特徴的な分子骨格に分類して測定することで、得られる m/z シグナルピークがどの脂質分子に帰属されるかを検討した。その後、それぞれのピークに着目して健常者および患者由来脳組織切片のイメージング解析を行ったところ、疾患脳においてPC (16:0/20:4)の増加やPC (16:0/18:1)の減少をはじめ、さまざまな脂質分子について含有量の顕著な違いが認められた(図3-C)。これらのイメージ像が示すように、サン

プル間で含有量に差が見られる分子種は、組織全体ではなく限られた部分において明確に違いを生じていた。このことは組織部位を含めた形で情報が取得可能になることで、採取部位の違いに由来する測定値のバラツキの軽減や、広範囲の測定では見逃してしまう局所変化の検出につながり、IMSが疾患組織の微小変化解析に有効であることを示している。

(4) 血管障害モデル

高脂血症は心血管疾患の代表的なリスクファクターとして知られている。近年の研究からトリグリセリド (TG) が疾患心血管において蓄積し、コレステロール (CHO) などの他の脂質とは独立したリスクファクターであることが示唆されている。しかし、その分子メカニズムはほとんどわかっていない。一方、シロスタゾール (CLZ) はホスホジエステラーゼ3の選択的阻害薬であり、血小板凝集の抑制や末梢血管を拡張するため、動脈梗塞に伴う間欠性跛行の虚血障害や脳梗塞の再発防止に用いられる。最近の統計解析においてCLZがアテローム性動脈硬化症の予防と血清脂質の改善を促すことが示唆されているため、CLZのTG集積抑制効果を組織レベルで解析した⁷⁾。ラットの頸動脈を片側性に結紮し、4週後に脂質量を解析したところ、血中のTG、CHO、PCについてはCLZの投与による有意な変化は認められなかった。一方、結紮動脈組織中においては、結紮によるTGの増加がCLZ投与により有意に抑制された(図3-D)。さらに詳しく検証するため、動脈組織中におけるTGの分布をIMSにより解析したところ、コントロールにおいては m/z 879、881のシグナルでそれぞれ示されるTG (52:3)、TG (52:2)が結紮により著明に増加していたが、CLZの投与群ではこれらのTG分子の増加が抑えられていた。興味深いことに、CLZは結紮によるヘムBの低下も抑制しており、組織学的解析において内皮・中皮の新生も抑えられていた。この結果はCLZの血管拡張作用が結紮により起こる低酸素状態を緩和することで、病状の悪化を抑えている可能性を示唆している。脂質に限らずヘムのような低分子を同一サンプル中において同時検出可能であるIMSの利点が活かされた例である。

(5) 歯周病

歯周病は自然回復することがなく歯の喪失につながる場合もあるため、歯科領域における最も深刻な問題の一つである。歯周病における歯肉などの周辺組織の炎症については調べられているが、歯そのものに対する炎症の影響についてはよくわかっていない。そこで歯周病における歯と炎症の関係についてIMSを用いて解析を行った⁹⁾。まず健常者の歯をIMS解析すると、エナメル質、象牙質、歯髄についてそれぞれ特徴的なシグナルピークが観察された。次に歯槽骨の骨吸収や歯石の蓄積が認められる歯周病患者の歯（中切歯、側切歯、小臼歯）について解析したところ、全体としては健常者の歯と同様のシグナルが観察されたが、歯根膜の顕著な減少が認められた。さらに m/z 496.3 のピークを示す分子が歯根表面に集積していた（図 3-E）。これまでの研究においてわれわれは、炎症部位の LPC が m/z 496.3 を示すことを見出しており、今回検出したシグナルピークも歯周病菌による炎症で蓄積した LPC であると予想している。得られたイメージングデータは、歯周病において周辺組織のみならず歯根部でも炎症が起こっており、病態に影響していることを示唆している。本研究ではこれ以外にも現時点でデータベースに登録されていない代謝物ピークを複数検出しており、今後これらの分子が同定されることで、口腔領域に特徴的な生理現象や関連疾患の分子情報が明らかになるだろう。

展望

以上のように当研究室ではこれまでIMSの開発からスタートし、生体試料の解析方法の確立、ヒト疾患解析への応用を進めてきた。IMSが可能にした解析技術は、近年の代謝に注目した医学生物学研究や医療応用を強く意識した基礎開発研究において大

きな注目を集め、実際のIMS使用例も爆発的に増加している。現在われわれはIMSをさらに有効に利用できるようにするため、解析技術の向上をはかるだけでなく解析装置の共通利用システムの構築も進めている。IMSを用いた本方法論が、疾患のイメージングをはじめさまざまな分野において広く応用されることで、医療の発展につながることを強く願っている。

文献

- 1) Shimma S, et al.: Mass imaging and identification of biomolecules with MALDI-QIT-TOF-based system. *Anal Chem* 80: 878-85, 2008
- 2) Sugiura Y, et al.: Visualization of Spatiotemporal Energy Dynamics of Hippocampal Neurons by Mass Spectrometry during a Kainate-induced Seizure. *PLoS ONE* 6: e17952, 2011
- 3) 齋藤祐介, ほか: 高解像度質量顕微鏡を用いた薬物動態の解析. *J Mass Spectrom Soc Jpn* 59: 79-84, 2011
- 4) Ide Y, et al.: Human Breast Cancer Tissues Contain Abundant Phosphatidylcholine (36:1) with High Stearoyl-CoA Desaturase-1 Expression. *PLoS ONE* 8: e61204, 2013
- 5) Morita Y, et al.: Lysophosphatidylcholine acyltransferase 1 altered phospholipid composition and regulated hepatoma progression. *J Hepatol* 59: 292-299, 2013
- 6) Matsumoto J, et al.: Abnormal phospholipids distribution in the prefrontal cortex from a patient with schizophrenia revealed by matrix-assisted laser desorption/ionization imaging mass spectrometry. *Anal Bioanal Chem* 400: 1933-1943, 2011
- 7) Tanaka H, et al.: Cilostazol inhibits accumulation of triglycerides in a rat model of carotid artery ligation. *J Vasc Surg* 58: 1366-1374, 2013
- 8) Hirano H, et al.: Matrix-assisted laser desorption/ionization imaging mass spectrometry revealed traces of dental problem associated with dental structure. *Anal Bioanal Chem* 2013 Jun 2 [Epub ahead of print]

参考文献

- ・ 瀬藤光利 (編): 質量顕微鏡法 イメージングマスマスペクトロメトリ-実験プロトコール. シュプリンガー・ジャパン, 2008
- ・ Setou M. (Ed): *Imaging Mass Spectrometry: Protocols for Mass Microscopy*. Springer, 2010

・本書の複製権・翻訳権・上映権・譲渡権・公衆送信権（送信可能化権を含む）は株式会社診断と治療社が保有します。

・JCOPY（（株）出版者著作権管理機構 委託出版物）

本書の無断複写は著作権法上での例外を除き禁じられています。複写される場合は、そのつど事前に、（株）出版者著作権管理機構（電話 03-3513-6969、FAX03-3513-6979、e-mail: info@jcopy.or.jp）の許諾を得てください。

いようしつりょうぶんせき
医用質量分析ガイドブック

ISBN978-4-7878-2073-0

2013年12月25日 初版第1刷発行

編 集 に おとしまつ のむらみお 丹羽利充、野村文夫

発 行 者 藤実彰一

発 行 所 株式会社 診断と治療社

〒100-0014 東京都千代田区永田町 2-14-2 山王グランドビル 4 階

TEL : 03-3580-2750(編集) 03-3580-2770(営業)

FAX : 03-3580-2776

E-mail : hen@shindan.co.jp(編集)

cigyobu@shindan.co.jp(営業)

URL : <http://www.shindan.co.jp/>

印刷・製本 三報社印刷株式会社

©Toshimitsu NIWA, Fumio NOMURA, 2013. Printed in Japan.

[検印省略]

乱丁・落丁の場合はお取り替えいたします。

医学・薬学分野における 質量顕微鏡法の利用



門脇 慎*¹⁾・稲見 勝朗*²⁾・脇 紀彦*³⁾
高橋 司*⁴⁾・後藤 健介*⁵⁾・瀬藤 光利*⁶⁾

質量顕微鏡法は、位置情報を保ちつつ試料切片中の構成分子をイオン化し、イオンの質量電荷比の違いによって分離・検出し、任意の分子の分布を画像化する手法である。この方法は、標識を行うことなく、網羅的に生体分子の分布を可視化できる点で革新的である。現在、医学・薬学分野における利用が進められている。我々は、質量顕微鏡法を用いてアテローム性動脈硬化組織の脂質解析を行い、脂質分子の分子種を同定した。また、マウス全身切片を用いてファモチジンの薬物動態の解析を行い、質量顕微鏡法が有用な解析ツールとなり得ることを実証した。

1. はじめに

医学や薬学の分野で行われる研究では、薬物の動態や、病理組織特異的な代謝産物の分布を調べることがある。これらに共通しているのは、生体組織において、注目する分子の存在を調べることである。そのために従来は、放射性同位体により標識された薬物や、対象分子に特異的に結合する抗体によって分子の存在を可視化する方法が用いられてきた。

前者の手法では、観察の対象にできるのは既に特定されている分子のみであり、その上、実験者に健康リスクが生じる。また、後者の手法では、一度に多数の分子について解析を行うことができない。質量顕微鏡法は、これらの問題を解決した手法である。

本稿では質量顕微鏡法の原理と、医学・薬学分野における応用例を紹介する。

2. 原理

質量顕微鏡法は、質量分析法から得られる情報をひとつ上の次元に高めたものである。質量分析法とは、試料分子をイオン化し、イオンの質量電荷比 (m/z) によって分離し、分子量を測定する手法である。この質量分析の対象を2次元に拡大した、質量顕微鏡法の原理について述べていく。

図1に質量顕微鏡法の一連の流れを示す。生体試料を薄い切片とし、その上をレーザーで2次元走査することにより構成分子のイオン化を行い、照射点ごとに生じたイオンを質量分析部で分離し、検出する。2次元平面上の各測定点について、検出したイオンの m/z を横軸に、イオンの相対検出量を縦軸にとったグラフが描ける。(これをマススペクトルという)。得られたマススペクトル群から注目するイオンのピークを抽出し、測定点ごとにそのイオンの検出強度を色調の情報に置き換

*浜松医科大学解剖学講座細胞生物学分野

¹⁾(かどわき・まこと) ²⁾(いなみ・かつあき) ³⁾(わき・みちひこ)

⁴⁾(たかはし・つかさ) ⁵⁾(ことう・けんすけ) ⁶⁾教授(せとう・みつとし)

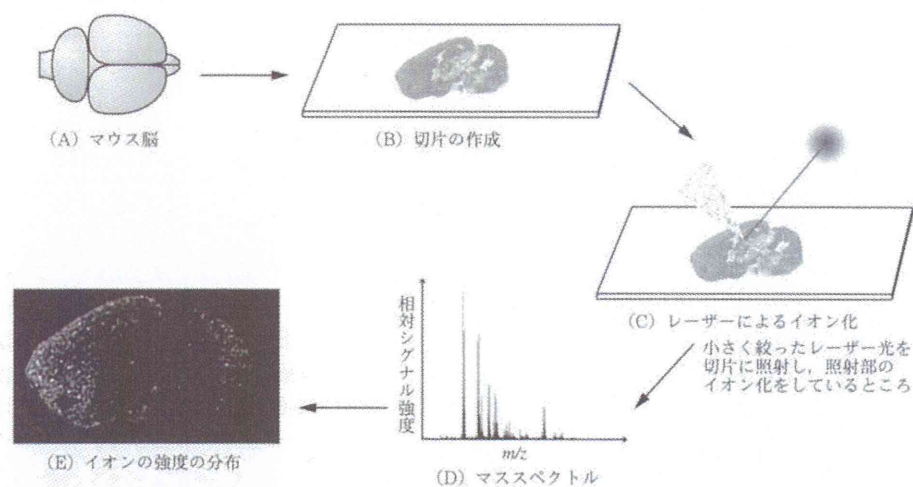


図1 質量顕微鏡法の流れ

マウス脳の解析を例として示した。作成した切片に小さく絞ったレーザー光を照射し、照射点のマススペクトルを得る。全照射点の情報を処理することにより、任意の m/z を持つイオンの検出強度の分布が画像化できる。

(文献1より)

えて示す。これにより、イオンの強度を分布図として画像化することにより、着目する分子の試料切片上の分布が可視化される¹⁾。

3. 医学・薬学分野における応用例

1) 医学分野における応用例

～病理組織の解析～

医学分野での応用の例として、アテローム性動脈硬化組織の脂質解析について述べる。脂質の解析を行う場合、一般的には組織化学染色が用いられる。しかしこの方法では、脂質分子の分子種を識別して可視化することはできない。これに対し、質量顕微鏡法では以下のような解析が可能である。

我々は、末梢性閉塞性疾患患者の大腿動脈から得たアテローム性動脈硬化組織について質量顕微鏡解析を行い、得られた分子の局在情報を、組織学的染色による細胞の位置情報と比較した²⁾。その結果、Lipid rich region や血管平滑筋細胞にいくつかの脂質分子が局在していることが明らかとなり、分子種の局在に基づき動脈硬化組織をいくつかの領域に分類できるようになった。

それらの分子について分子種を同定したとこ

ろ、Lipid rich region にはコレステロールエステル (18:1) や (18:2) が、血管平滑筋細胞にはホスファチジルコリン (ジアシル型 16:0/20:4) や (ジアシル型 18:0/20:4) が分布していた。(図2)。また、トリグリセリド (18:0/18:1/18:2) は Lipid rich region の細胞内の油滴と共局在しており、病変の形成に関係していると推測された。

2) 薬学分野における応用例

～生体内薬物動態の解析～

医薬品開発における前臨床試験で生体内の薬物を解析する際には、一般的に放射性化合物による標識と全身オートラジオグラフィーによる評価が行われる。この方法には、標識のための時間的・人的コストや、放射性化合物を扱うリスクが伴う。しかし、質量顕微鏡法を用いると、これらの問題は生じない。

我々は質量顕微鏡法により、ファモチジンを投与したマウスの全身組織切片を解析した³⁾。ファモチジンは腎臓に最も多く分布しており、ほかにも肝臓・心臓・肺・消化管に分布していることが観察された。(図3)。

この結果は、過去に報告されたオートラジオグ