

B-3

実験腫瘍薄切切片のフーリエ変換型赤外線分光(FT-IR)顕微鏡による蛋白質二次構造変化部位のバイオイメージング

三好 憲雄¹, 赤尾 賢一², 小川 透³,
 山田 哲史³, 佐藤 充彦⁴, 前川 秀信³,
 今村 好章¹, 加藤 久隆¹, 佐野 和生³,
 馬場 久敏⁴, 福田 優¹

福井医大・医・第一病理¹
 日本分光(株)・開発部²
 福井医大・医・歯科口腔外科³
 福井医大・医・整形外科⁴

実験移植癌組織内には中心壊死部が存在していることが多い。今回、不可視の赤外線顕微鏡を使用して、癌組織内壊死部に含まれるコレステロール成分の生化学的分析と蛋白質の二次構造変化を周囲のバイアブルな腫瘍部と比較検討した。対象は実験移植扁平上皮癌組織であり、凍結薄切切片を BaF2 板上に載せて風乾後、FT-IR 顕微鏡 (IRT-30/410M 型、日本分光) で計測した。計測条件は、分解能: 8 cm⁻¹、積算回数: 20 回、アパチャサイズ: 50×50 μm²、透過モードとした。マッピング測定は自動 XY ステージを用いて、21×21=441 ポイントの計測を行った。その結果、壊死部にはコレステロール由来 CH2 の C-H 伸縮振動に帰属される 2926 cm⁻¹ のピーク強度が大であることから、コレステロールの沈着がバイアブルな腫瘍部に比して多いことが判明した。また、蛋白質由来のアミド I (1600–1700 cm⁻¹) のカーブフィッティングによる蛋白質二次構造の解析を試みた結果、壊死部はバイアブルな腫瘍部に比して、β-シート構造成分が増大していることが分かった。以上の結果から、壊死部の細胞膜損傷による膜脂質由来のコレステロール沈着と脂質自動酸化により、壊死部蛋白質の構造変性 (β-シート構造成分の増大) を惹起したものと考えられた。

B-4

ラット骨髄細胞の元素マッピング

高屋 憲一, 岡部 素典, 吉田 淑子

富山医薬大・医・解剖学 2

骨髄細胞の元素組成を新鮮凍結乾燥超薄切片を用いてイオン顕微鏡 (IM) と電子分光結像法 (ESI) によりイメージングで表示し元素の分布を調べた。材料と方法: 成体の正常ラットと 0.1% 炭酸リチウムを自由に飲ませ 1 週間と 3 ヶ月後麻酔して大腿骨骨髄を摘出し液体窒素で冷却した液化プロパンに浸漬して凍結した。凍結超ミクロトーム (Reichert FCR) により 60 nm 切片を作製し、グリッド上のコロジオン膜とシリコンウェーハ (7 mm×7 mm×0.2 mm) 上に張り付け、高真空中で凍結乾燥した。クリオオスタット切片は Carnoy-Lebrun 液固定 (30 s) と Giemsa 原液染色 (30 s) 後光顕で細胞像を観察した。超薄切片は透過電子顕微鏡で細胞を観察した。同じ切片を ESI (LEO912AB) で、また同じ切片とシリコンウェーハ上の切片を IM (IMS-6f) で観察した。所見: リンパ球、形質細胞、巨核球、赤血球系、好中球系と好酸球系細胞と肥満細胞が観察された。IM にて Fe を均質に持つ赤血球系細胞、Ca を均質に持つ大型細胞、高濃度 Mg 顆粒を持つ細胞、さらに Al, K, Ca, Fe, Cu, Zn を含む顆粒を持つ細胞が見られた。C は切片に均質に見られたが K, Na, Mg, Na は細胞によりまた細胞の部位により特異な分布を示した。Li は細胞内に均質に見られた。ESI では Ca はほとんどの細胞で核に見られないが、いくつかの細胞でまれに観察された。肥満細胞顆粒に Cu が検出されたが Ca は顆粒間に見られた。結論: 電解質と金属元素が細胞によりまた細胞内で特異な分布を示した。細胞の種類と機能を調べる。