

## W3-5

## 光による細胞・組織の機能制御

高松 哲郎、田邊 卓爾

京都府立医科大学 大学院 医学研究科 細胞分子機能病理学

2 (多)光子顕微鏡は、共焦点顕微鏡、エバネッセント顕微鏡とともに、焦点面だけでなく光軸に沿った分解能を持つことから三次元顕微鏡と呼ばれ、その分解能の良さやコントラストの高さから、細胞や組織の三次元観察に応用可能である。さらに、2 (多)光子顕微鏡は細胞や組織による吸収が少ない近赤外光による励起を行うため組織や細胞に対する障害が少なく、より深い部分の励起を可能にするなど細胞の観察に優れた特長を有する。ここでは、2 (多)光子顕微鏡の特長を利用して細胞や組織の機能を観察するだけでなく、光を用いて機能を制御する試みについて報告する。我々は、マルチピンホールタイプの走査系を持つ2光子顕微鏡システムを作成した。この顕微鏡システムは正立型であり、水浸対物レンズを用いるため灌流している組織の観察に適している。1光子及び2光子 *in situ* リアルタイム顕微鏡を用いた“*in situ* imaging”について心筋細胞を例に論じる。また、焦点位置の領域だけを照射することが可能という2光子吸収の性質を利用すると、サブミクロンレベルで細胞の加工が可能になる。光源には近赤外超短パルスレーザー（モードロックタンサファイアレーザー、波長780nm、パルス幅80fs、繰り返し周波数82MHz）を用いるが、照射野は光軸に沿った分解能を持つので、周囲の細胞や細胞膜の障害を伴うことなく細胞内の一部を加工することができる。ここではコネキシン分子にレーザー光を吸収しやすい色素をタグとして付け、周囲の細胞内エレメントを傷害することなく細胞内の目的とする領域に存在するコネキシン分子だけを選択的に破壊する例を紹介する。

## ワークショップ4

## W4-1

## アポトーシス・シグナル伝達経路とその組織特異性

大槻 勝紀

大阪医科大学 医学部 解剖学第一講座

哺乳類の細胞に見られる主要なアポトーシス・シグナル伝達経路はDeath-receptor pathwayとMitochondrial pathwayに大別される。Death-receptor pathwayによりアポトーシスが誘導されると、caspase-8と-3が活性化され、Mitochondrial pathwayが働くときcaspase-9と-3の活性が認められる。すなわちcaspase familyの活性を同定することにより、逆にアポトーシスのシグナル・伝達経路およびアポトーシスにスイッチを入れた刺激を類推することができる。しかしながら生体の臓器・組織で見られるアポトーシスや発生で見られるプログラム細胞死についてはそのシグナル伝達経路の解明がほとんど進んでいない。本ワークショップで、幾つかの生体組織で見られるアポトーシスを例にあげ、そのシグナル伝達経路について報告する。1) ヒト羊膜細胞のアポトーシス：陣痛の有無と無関係に羊膜細胞がアポトーシスに陥り、羊膜腔に剥脱する。羊膜上皮細胞では全妊娠経過を通じてBcl-2の発現はないが、Fas/Fas ligandの発現が特に妊娠40週前後で高い。

またcaspase-8、-3の活性が妊娠40週に増加するため、Fas/Fas ligandを介したDeath-receptor pathwayが主である(Mol. Human Reprod., 7: 681-689, 2001)。2) ヒト子宮内膜腺細胞：月経発来と同調して子宮内膜腺細胞はアポトーシスに陥る。Bcl-2は増殖期に強く発現するが、分泌期ではほとんど発現しない。さらにFas/Fas ligandは全周期で発現が認められる。caspase familyではcaspase-8、-9および-3の活性が上がるため、Death-receptorおよびMitochondrial pathwayの両者が働いている(Lancet, 344: 28-29, 1994; Mol. Human Reprod., 5: 358-364, 1999)。このような両者の経路が働いているアポトーシスとしてGALTにおけるB細胞の選択(Men. Electron Microsc., in press)やアルコール連用により誘導された精子細胞のアポトーシス(Int. J. Andrology, 25: 159-167, 2002)があげられる。すなわち生体で見られるアポトーシスの多くはDeath-receptor pathway単独か両者の経路によりアポトーシスが引き起こされると考えられる。しかし抗癌剤や放射線治療で見られる腫瘍細胞のアポトーシスは、その治療効果がDNAの合成阻害によるため、p53やBaxを介したmitochondrial pathwayが主流であることが知られている。