

WS1-01

蛍光寿命を用いた組織細胞化学

山岡 禎久, 原田 義規, 高松 哲郎

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

よく知られていることだが、細胞や組織内の物質の分布や機能を定性的、定量的に分析するため用いられる蛍光強度やスペクトルを指標とした方法には、蛍光物質の濃度や退色、励起光、蛍光の波長・強度や試料による散乱など様々な要因が影響を及ぼし正確な測定ができなくなるという問題点がある。この問題点を克服する手段が、蛍光寿命顕微鏡法 (Fluorescence lifetime imaging microscopy: FLIM) である。物質に非常にパルス幅の狭い光を照射すると、光吸収によって蛍光を発生し、その蛍光強度は指数関数的に減少する。この減衰定数を蛍光寿命という。蛍光寿命は物質によって固有であり、かつ、光強度に影響されないという特長から、蛍光寿命によるマッピングを行うと物質分布の正確なイメージングが可能となる。これまで、蛍光寿命イメージングは感度が低い、観測に長時間を要する等の理由で生物・医学応用があまり行われてこなかったが、近年の短パルス光源の発展、検出器の高感度化により、生きた細胞や組織の蛍光寿命イメージングが可能となった。

ここでは自家蛍光寿命を用いた大腸癌や心筋梗塞の組織イメージングを紹介する。蛍光寿命イメージングの結果と組織切片の病理診断との比較から、大腸の腫瘍部と正常部、心臓の梗塞部と正常部との分離が、染色することなく自家蛍光寿命の情報のみで可能であることを示している。

本研究は独立行政法人新エネルギー・産業技術総合開発機構「ナノ医療デバイス開発プロジェクト」による成果である。

WS1-02

ラマン顕微鏡を用いた無染色による細胞内分子イメージング

原田 義規, 高松 哲郎

京都府立医科大学大学院医学研究科細胞分子機能病理

ポストゲノム時代の現在、生体機能を解明する上で、組織・細胞内機能分子を生きたまま可視化する分子イメージング技術は必要不可欠である。しかし、多くの分子イメージング技術はプローブを用いなければならず、目的分子の代謝にプローブ自体が影響する可能性がある。

一方、生体のもつタンパク質の構造や機能を質量分析装置等により網羅的に解析するプロテオーム研究も現在進みつつある。しかし、これらは試験管内における解析技術であり、組織・細胞の構築と機能分子の関係を *in situ* 解析することはできない。

ラマン散乱は、単色光が分子に入射する際、入射光と異なる波長の散乱光が観察される現象である。この散乱スペクトルのシフト量は分子特異的なため、分析化学等の分野では物質の同定に用いられている。もしこの方法を生細胞や生組織に応用できれば、無染色で網羅的・経時的に細胞・組織内分子を解析可能となる。しかし、ラマン散乱光は生体の計測・解析にはほとんど用いられてこなかった。これは、ラマン散乱光は非常に微弱でイメージングを行うには莫大な時間がかかるためである。

今回我々は高速共焦点レーザー走査が可能なラマン顕微鏡を開発し、ラマン散乱光による細胞内抗癌剤動態イメージングを行ったので報告する。ラマン顕微鏡にて、種々のヒト癌細胞株における抗癌剤の細胞内分布を計測後、主成分分析によりラマン分光画像を作成した結果、抗癌剤の細胞内分布を、無染色かつ細胞が生きたまま可視化することが可能であった。また、抗癌剤の細胞内代謝についても解析可能であった。

ラマン散乱スペクトルの持つ分子情報をもとにイメージングを行えばプローブを用いなくとも細胞内薬物分布を知ることができ、無染色・非破壊・多次元な細胞分子イメージングが可能である。