

研究課題別事後評価結果

1. 研究課題名： 非線形光学効果が照らす生体物質交換の仕組み

2. 個人研究者名

本蔵 直樹（浜松医科大学医学部医学科 准教授）

3. 事後評価結果

本研究では、生体物質交換として酸素供給機構理解のために、赤血球の酸素結合度を動物の微小循環において非線形光学効果を用いた計測を追求した。生体分子由来の高調波発生および量子技術を基盤とした波長変換を組み合わせ、高い時空間解像を伴った細胞閉鎖系・血管内に存在する単一赤血球の酸素放出の場および調節機構の解明から、生体物質交換機構の理解およびその定式化を目指した。

[どのような量子性をどのように扱ったのか]

- ・多光子励起および高調波発生を同時に扱える非線形光学顕微鏡を開発
- ・その光量子の性質を巧みに使い分けることで、生体内の微小生命環境変化と酸素供給を直接計測

[達成状況とインパクト]

本蔵研究者は、多光子励起および高調波発生を同時検出するための光学系を開発し、それを用いて生体多色イメージング技術を確認することに成功した。本蔵研究者は、3次高調波発生（THG）の強度が酸素結合型ヘモグロビン分子では強く、脱酸素化ヘモグロビン分子では劇的に弱くなることを見いだしており、これを用いて血管でTHG強度を計測することで、酸素放出の場と生体の局所環境との関連が計測できるアイデアを持っていた。そこで本研究では、生体イメージングで組織を非侵襲に可視化するために近赤外超短パルス光源を活用し、それを高調波発生の種光源とすることで、蛍光と高調波を高速蛍光寿命計測（TCSPC）で明確に切り分けることができる多チャンネルの非線形光学顕微鏡装置を完成させた。この装置を使って脳・皮下などさまざまな組織を観察した結果、そこで得られた第3次高調波発生画像は無染色の赤血球を可視化できることが確認できている。また、赤血球や生体から放出される自家蛍光と第3次高調波発生の波長域が被ってしまう懸念については、高調波の特性である入射光と放出光（フェムト秒）の時間特性を利用することで自家蛍光（ナノ秒）とを区別できる多チャンネル検出系を考案し、生体由来の自家蛍光を切り分けることに成功した。時間毎に変動する生体反応を計測するには、一定の厚みを伴った生体組織を高速計測する必要があるため、装置の観察平面を共振ガルバノメーターで操作するとともに、ピエゾ素子を用いて光軸方向へ高速振動させる工夫もこらしている。これらの検討の結果、赤血球内から放出されるTHG強度の変動を単一細胞以下の空間解像を維持しつつ、広範囲で生体微小環境変化を捉えるための計測系を確立するに至ったことは、当初の目的を高いレベルで達成できたと評価できる。一方で、THG発生の機序が赤血球内のヘモグロビンの集積あるいは超構造が酸素化の有無で屈折率の差を生む可能性が否めず、今後、THG強度と赤血球酸素飽和度との関連を示す直接的証拠が得られることに期待したい。

本技術がどのような生命活動・分子挙動への計測に応用できるかの方向性について、本蔵研究者は、生体血管内の赤血球から供給される酸素分子の放出場所の解明への適用を挙げている。特に毛細血管を挟んで細動脈と細静脈とでTHGシグナルに大きな差が観察されており、さらなる確認ができれば、生体の微小循環分野での基盤技術として大きく発展すると思われる。新たな酸素生命学、局所生体恒常性維持機構の解明といった生命の根源に迫る展開に期待したい。