

マルチプレックス CARS 顕微鏡を用いた
ランゲルハンス細胞の分子分光イメージング

(筑波大・数理¹, 資生堂グローバルイノベーションセンター²)

○木村将大¹, 米山弘亮¹, 江川麻里子², 岩永慎也², 細井純一², 加納英明¹

Molecular spectroscopic imaging of a Langerhans cell
using multiplex CARS microspectroscopy

(¹Graduate School of Pure and Applied Sciences, University of Tsukuba,
²Shiseido Global Innovation Center)

○Masahiro Kimura¹, Hiroaki Yoneyama¹, Mariko Egawa², Shinya Iwanaga²,
Junichi Hosoi², and Hideaki Kano¹

【序】 近年、ランゲルハンス細胞(Langerhans Cell ; LC)が注目を集めている。LC は皮膚の有棘層近くに存在する表皮細胞の一つであり、病原性細菌や有害物質に対して防御態勢を整える指令を出す指令機能や、乾燥・紫外線などの慢性的な刺激に対して炎症が起こらないよう鎮静化する自己防衛機能を果たすことが知られている。このように皮膚の免疫機能において重要な役割を果たす LC は、蛍光標識などで細胞の局在を知る方法が知られているが、非標識にて識別する方法は確立していない。そこで本研究では、非染色・非標識で分子情報を取得できる coherent anti-Stokes Raman scattering(CARS) 分光顕微鏡を用いて、分子の指紋に基づく LC 同定を試みた。

【実験方法】 実験装置は当研究室で開発したマルチモード多光子顕微鏡を用いた。光源には、繰り返し周波数 33kHz のレーザー(パルス幅 800ps)を用いた。基本波(1064nm)と、広帯域の波長成分を持つスーパーコンティニューム光を使用し、この二つの光軸を合わせて試料に照射した。試料にて発生した複数の非線形光学過程を分光測定した。試料にはヒト臍帯血由来の培養 LC を用い、培養に用いたスライドチャンバーをカバーガラスでシーリングし測定を行った。

【結果・考察】 LC の各点において CARS スペクトルを取得した。得られたスペクトルを最大エントロピー法により $\text{Im}[\chi^{(3)}]$ スペクトルに変換し(図 1)、バンド解析を行った。図 2 に様々な振動バンドにおける CARS イメージングの結果を示す。CH 伸縮領域は 4 つのガウス関数(ピーク波数 2965, 2931, 2864, 2850 cm^{-1})でフィッティングすることで、それぞれのラマンバンドに基づいたイメージを再構成した。また、指紋領域においては 1665, 1447, 1003, 961 cm^{-1} のバンドを用いてイメージングを行った。この中で 1665, 1447, 1003 cm^{-1} のバンドは、生細胞において一般的に観測されるバンドで、それぞれアミド I (及び *cis* C=C str.)、CH 変角、タンパク質アミノ酸残基の一つであるフェニルアラニン(Phe)残基に帰属できる。これに対して、961 cm^{-1} のバンドは今回 LC においてのみ特徴的に顕れるバンドである可能性がある。指紋領域の他のバンド (1665, 1447, 1003 cm^{-1}) の強度と比べて 8 倍程度大きいため、近赤外レーザーによる共鳴効果を受けた分子を検出した可能性がある。

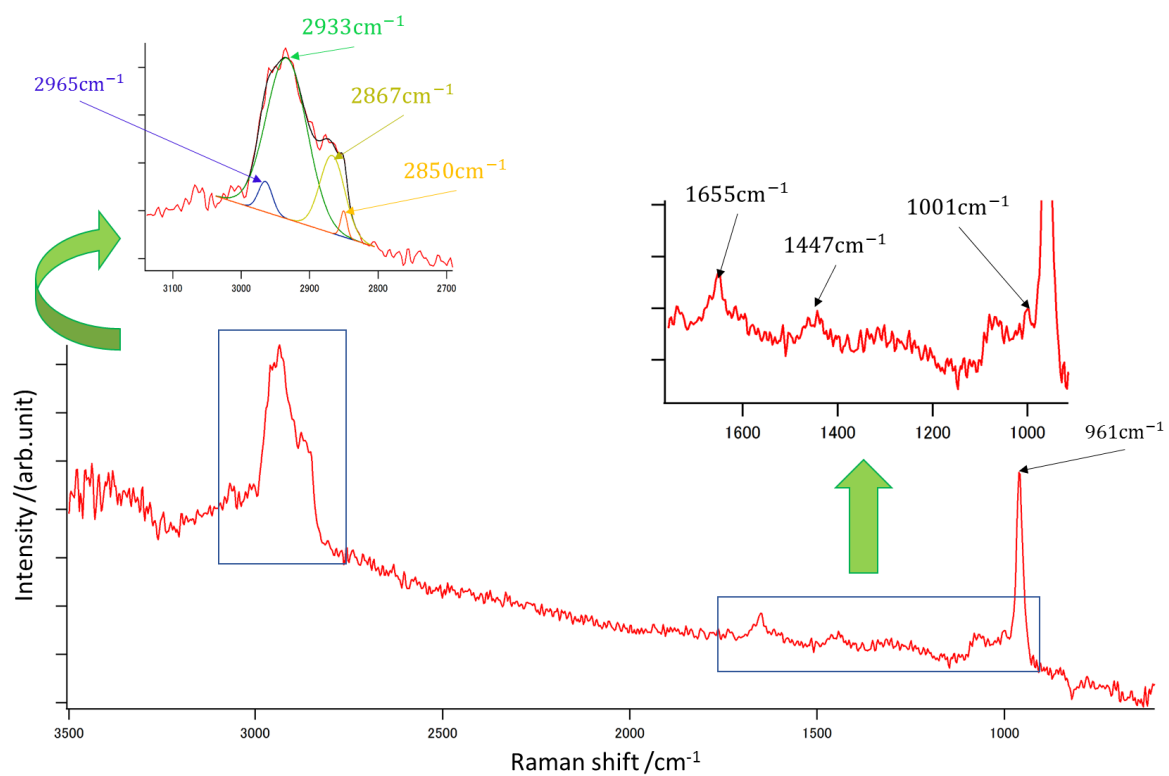
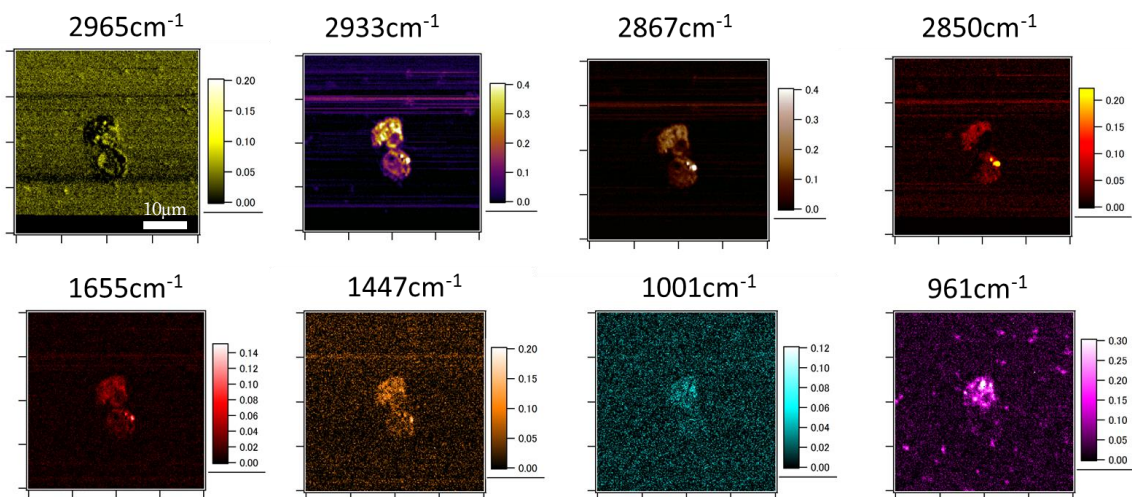


図1：細胞内における $\text{Im}[\chi^{(3)}]$ 平均スペクトル



培養 LC の再構成イメージ