

「生命現象の解明と応用に資する新しい計測・分析基盤技術」

平成 18 年度採択研究代表者

樋口 秀男

(東北大学先進医工学研究機構 教授)

「*in vivo* ナノイメージング技術の開発と生体運動機構の解明」

## 1. 研究実施の概要

生命科学における最終ゴールの 1 つは、身体の仕組みを分子レベルで理解することである。本研究では、動物個体の機能を分子レベルで理解するために、マウス *in vivo* での生体運動に関連する分子の挙動をナノイメージングする装置を開発し、*in vivo* における生体運動の機構を解明する。本研究の鍵となる技術は、蛍光粒子の細胞内導入と様々な器官（骨格筋、心筋、平滑筋、がん腫瘍）のイメージングの可能性を、新しい装置を用いて検討を行った。特に、蛍光粒子として、最近開発された、蛍光性ナノ粒子（量子ドット）を積極的に利用し、この量子ドットの励起と発光波長に最適な光学顕微鏡の開発を進めた。また、それぞれの器官に対する抗体の検討を行い、何点かについてはすでに、結合能の測定を行った。

## 2. 研究実施内容

1. (樋口班) 癌腫瘍の細胞運動のナノメートル精度の分子挙動を解析するため、培養細胞の膜を蛍光性ナノ粒子（量子ドット）でラベルし、細胞運動のイメージングを行った。その結果、高位置精度(3nm)で運動時の膜の伸展を観察することに成功した。次に、腫瘍を埋めたヌードマウスを、独自開発の低振動性マウス観察用ステージに載せ、~10nm 精度でイメージングした。

2. (春日班) 生体内で骨格筋サテライトセルが幹細胞に融合する動きをナノレベルで観察することに最終的目標をおき、そのための基礎的研究を行った。従来から行ってきた F344 系ラットでの実験と同様に筋損傷-回復がマウスでも起こることを確認した。また、筋に定量的損傷を加える装置を試作し、さらに生体内で起こるサテライトセルの分裂・増殖・融合過程のモデルとして、発育筋より単離した筋細胞を培養し、サテライトセルの活性化増殖、分化、融合過程の継時変化を観察した。

3. (福田班) 心筋はインスリン反応性糖輸送担体 (glut-4) を多く発現している。Glut-4 を

認識する抗体と量子ドットの複合体を作製し、これをマウスの摘出心臓（被膜を一部剥離）に振りかけたところ、量子ドットの蛍光を観察することに成功した。量子ドットだけでは蛍光は観察されなかったことから、抗体-量子ドット複合体が心筋組織の *glut-4* と反応していると考えられた。今後、抗体-量子ドット複合体の心筋組織への導入法を開発し、*in vivo* 心筋ナノイメージングの基礎的条件を確立する。

4. (渡辺班) 平滑筋細胞におけるナノメートル精度の分子挙動を *in vivo* で解析するため、コンベンショナルな *in vivo* 平滑筋機能測定法を習得した。次にヌードマウスの子宮平滑筋細胞膜グルコース輸送体 (GLUT-4) を蛍光性ナノ粒子 (量子ドット) を用い *in vivo* でラベルし、イメージングを行った。その結果、独自開発の低振動性マウス観察用ステージに載せ、 $\sim 10\text{nm}$  精度でイメージングした。

5. (田口班) 「タイプ II」半導体ナノ粒子 は発光効率が向上し、安定性も高まるが、我々は、従来法とは異なり、安全・簡便な水溶液法を用い、ZnSe ナノ粒子を Cd と S で修飾し、高効率で青色発光を示すナノ粒子を作製することに成功した。また、発光ナノ粒子の水溶液中での安定化手法や顕微鏡下での検出手法についても検討を加えた。

### 3. 研究実施体制

#### (1) 「技術」グループ

① 研究分担グループ長：樋口 秀男 (東北大学先進医工学研究機構 教授)

② 研究項目

・*In vivo* ナノイメージング装置の開発と生体運動のイメージング技術開発

#### (2) 「骨格筋」グループ

① 研究分担グループ長：春日 規克 (愛知教育大学教育学部 教授)

② 研究項目

・骨格筋の機能と分子挙動解析

・骨格筋電子顕微鏡解析

・骨格筋蛍光抗体像の解析

#### (3) 「心筋」グループ

① 研究分担グループ長：福田 紀男 (東京慈恵会医科大学 助手)

② 研究項目

・*In vivo* 心筋ナノイメージング解析

(4)「平滑筋」グループ

①研究分担グループ長：渡辺 賢(東京医科大学医学科 講師)

②研究項目

- ・平滑筋 *in vivo* ナノイメージング
- ・分光計測

(5)「量子ドット」グループ

①研究分担グループ長：田口 隆久((独)産業技術総合研究所セルエンジニアリグ研究部門  
副部門長)

②研究項目

- ・多色量子ドット材料研究と計測解析技術研究
- ・細胞内導入技術研究
- ・量子ドット材料研究
- ・計測解析技術研究

#### 4. 研究成果の発表等

(1)論文発表(原著論文)

- Hiroshi Tada, Hideo Higuchi, Tomonobu M. Wanatabe, and Noriaki Ohuchi: In vivo Real-time Tracking of Single Quantum Dots Conjugated with Monoclonal Anti-HER2 Antibody in Tumors of Mice. *Cancer Res.* 2007 67: 1138-1144.