



特集

1

試料を観察しながら、その場所にある分子を明らかに

「質量顕微鏡」の先見力

顕微鏡で病理組織を観察しながら、その場所にある分子が何かを分析したい——。医学のニーズから生まれ、見た目の「観察」と、その分子構成を明らかにする「質量分析」を可能にする「質量顕微鏡」が、産学連携プロジェクトによって開発された。

Part.1

顕微鏡と質量分析装置のカップリングが実現、分子の地図が見えてきた

**病理学ではとらえられない
病気の原因を研究したい**

ヒトはどうして老いるのか。さまざまな病気のメカニズム解明から、その問いに応えたい……。

浜松医科大学医学部 瀬藤光利教授のライフワークである「老い」の研究の出発点は、医学部卒業後の臨床医としての経験にさかのぼる。臨床の現場では、患者から採取した血液や細胞標本を検査する、いわゆる病理学のルールにのっとって患者を診断する。ここでは顕微鏡を用いて患者の病理組織を観察し、病気の診断を行うことが大切だ。しかし実際の医療現場では、病理検査で形態の異常は観察できるものの、病気を引き起こす要因や治療法がわからない場合もある。こうした患者たちの姿を目の当たりにし、当時の瀬藤さんは病気の原因追求のための研究が必要だと痛感したという。

「その頃、生命現象を分子を使って説明する『分子生物学』の波が医学分野に押し寄せました。技術的な進歩により、遺伝子診断や分子診断といった手法が確立されていったのです。それまで病理学や形態学の手法で顕微鏡を見ながら病気の兆候をパターン認識していた医学の世界に、『ヒトの体は分子でできている』という世界観が合流したのです」

瀬藤さんは、これまでの顕微鏡を使って病変部の「形を見る」という考え方から、そこに映し出された組織が「一体どんな分子でできているか」を特定すべきだという発想に至った。しかし、その思いはまだ漠然としたものだったという。

その後瀬藤さんは、物体がどんな分子でできているのかを決める方法に質量分析、特にレーザーを使った質量分析法があることを知った。東京大学医科学研



共同開発した「質量顕微鏡」を設置した研究室で。写真左から、浜松医科大学医学部教授の瀬藤光利さん、同大学分子解剖学研究部門特任助教の早坂孝宏さん、株式会社島津製作所基盤技術研究所の小河潔さん。

究所で、「マトリックス支援レーザー脱離イオン化法（通称MALDI）」を利用した質量分析装置に出会ったのだ。これは後にノーベル化学賞を受賞する田中耕一氏（株式会社島津製作所）の技術を発展させたもので、試料にレーザーを照射してイオン化し、そのイオンをとらえて質量を検出するものだ。

当時、瀬藤さんは顕微鏡の中でも「レーザー顕微鏡」を使う研究に携わっていた。

「レーザー顕微鏡でミクロの世界を観察できます。一方でレーザーを使えばモノの質量が測定できるというのです。『レーザー』というキーワードでこの2つを組み合わせれば、モノを見て、それが何でできているか特定できるとひらめきました」

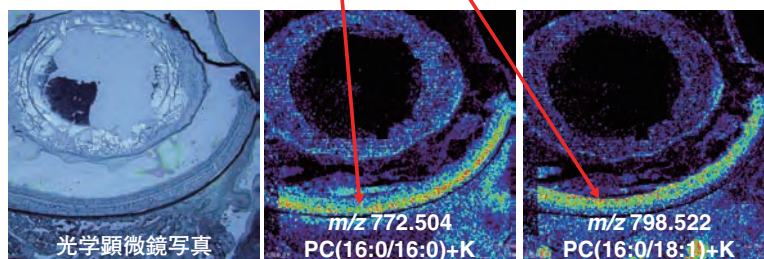
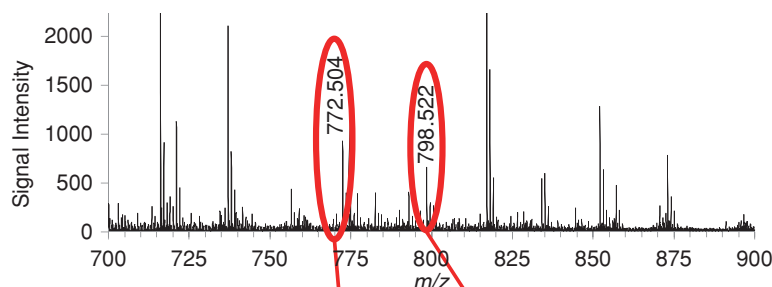
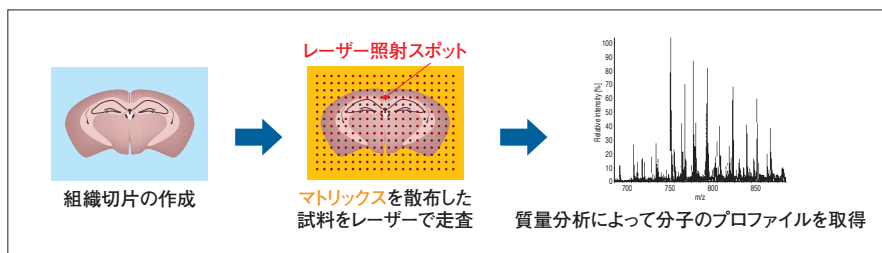
最適化を重ね 高感度検出を実現

従来の質量分析法では、分析に先立って試料をすりつぶし、それを成分ごとに分離するという、下準備が必要だった。試料はすりつぶしてしまうため、そのどこかに特定の物質が多く蓄積していたとしても、ほかの部位と混ざってしまい、「どこにあったか」という情報は、失われてしまう。もし顕微鏡で見ている場所を狙って質量分析をして、その場所に何があるかわかれば、病理観察と分子生物学的な病気へのアプローチが両立する。瀬藤さんは早速、さまざまなメーカーに声を掛けた。その中で、開発を積極的に引き受けてくれたのが、田中耕一氏を擁し、新しいチャレンジを応援する社風を持つ島津製作所だった。島津製作所には顕微鏡と質量分析装置の製作実績もあった。

2004年からはJST先端計測分析技術・機器開発事業において「質量顕微鏡」の開発が本格的に開始した。「顕微鏡」と「質量分析」を組み合わせた装置の開発で最も困難だった点は、「顕微鏡としての機能を保持し、なるべく小さな点ごとに質量分析ができるようにすることでした」と島津製作所基盤技術研究所の小河潔主幹研究員は語る。

「レーザーを使って質量分析をするには、試料にレーザー光を当て、そこに含まれる分子をイオン化させます。レーザー光の照射径を絞ると、細かい点ごとに質量分析ができます。しかし、絞りすぎると、レーザーに当たる分子の数が減ってしまうため、飛び出すイオンの量も減って検出が難しくなります。さじ加減をうまく取りながら、どうやって細いレーザーでイオン化した試料を高感度に検出するか、コンピュータのシミュレーションをもとに検討と最適化を重ねました。社内では質量顕微鏡のための開発チームを

■質量顕微鏡による分析の流れとデータの一例



質量顕微鏡では、観察したい組織切片の表面に分子のイオン化を助ける「マトリックス」を散布した試料を用い、観察したい部位にレーザーを細く絞って照射、質量分析によって分子のプロファイルを取得する（上図）。下は質量顕微鏡によるデータの一例。左下は光学顕微鏡写真で、その右二つは特定の質量を持つ分子の分布を示す画像データ。どの質量の分子がどの場所に分布しているのか、ひと目でわかる。

組んでいましたが、その枠を超えた人たちの協力もあって、初めて装置が完成しました」（小河さん）

こうして05年には、レーザー照射部を真空にして観察する質量顕微鏡の最初のプロトタイプができ、次いで06年には試料を生に近い状態に保つため大気圧下で観察する装置を開発した。08年には高解像度（分解

能10μm以下）、細胞レベルで生体試料の分子分布を可視化できる高空間分解能プロトタイプ機を発表した。

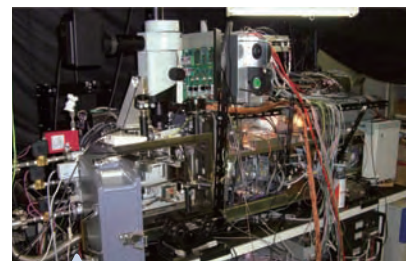
病気の解明・診断や 植物分野の研究にも

病理組織の観察と原因物質の分析のため

人はどうして老いるのか……。
質量顕微鏡を使って
「部分」から「全体」に迫ります。

瀬藤 光利 せとう・みつとし
浜松医科大学医学部 教授

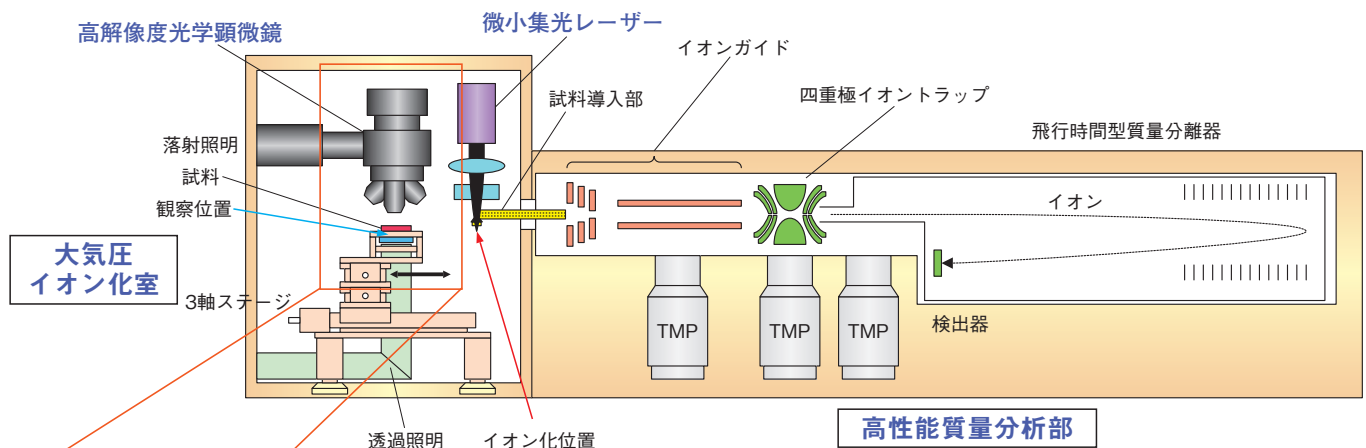
1994年、東京大学医学部医学科卒業。同大学大学院医学系研究科助手、自然科学研究機構生理学研究所准教授などを経て2008年から現職。04年から08年、JST研究成果展開事業 先端計測分析技術・機器開発プログラム 機器開発タイプチームリーダー。



質量顕微鏡の原型ともいえるプロトタイプ機の外観。開発は「真空型」でのスタートだったが、この段階（2005-07年）では大気圧中で試料を分析できるタイプへと進化、光学顕微鏡や質量イメージング画像の解像度も飛躍的に向上した。



■質量顕微鏡の仕組み



上は質量顕微鏡の仕組みを表したもの。まず試料（病理組織切片など）を高解像度光学顕微鏡で観察し、測定したい部位にレーザーを照射すると、そこに含まれる分子がイオン化する。これらのイオンを質量分析することで、測定点に含まれる分子の質量情報が取得できる。分子イオンのシグナル強度と位置情報を同時に計測することで、分子の分布とそれぞれの相対的な存在量を左ページのデータのように画像化できる。

に瀬藤さんは当初、分子の数と種類が多い、タンパク質を標的に分析をしようと考えた。ところが実際に分析を始めると、今までは可視化できなかったコレステロールなどの脂質がよく検出できることがわかった。これにより、これまでは血管の形状を顕微鏡で観察して「コレステロールだろう」と判断していたものが、顕微質量分析を行うことで「血管のこの部分を分析すると、コレステロールが多く検出される」と、画像を見ながら的確に判断できるようになった。更には、脂質などが見えることで、がんなどの病気の組織に特有の代謝物の蓄積を明らかにできる。これを利用すれば病気のメカニズムの解明や治療法の確立につながる新しい発見がなされるだろう。

質量顕微鏡を用いて得られた瀬藤さんらの最新の研究結果では、腹部の大動脈が腫れてもろくなる疾患「腹部大動脈瘤」の病変部位で血管壁内部の血液量が少なくなっ

ていることを発見した。腹部大動脈瘤は破裂すると8割以上が死に至り、突然死の原因の一つとなっている。しかし、直接的な原因はわかっておらず、有効な内科的な予防法や治療法は確立されていない。今回質量顕微鏡を使って初めてわかった病態変化は、腹部大動脈瘤の形成メカニズム解明の糸口になると期待されている。瀬藤さんらの研究成果を受けて浜松医科大学では、新たな治療法の開発に向けた臨床研究を進め始めている。

また創業の分野でも、質量顕微鏡の活用が期待されている。例えば、体内に取り込んだ薬や、その代謝物の分布を知ることができる。投与した薬が、標的とする患部までたどり着いたのか、薬によって細胞の代謝にどのような変化が引き起こされるのか、薬自体の効き目と輸送の両面から検証可能となるのだ。

更に医療以外の分野からも注目は大きい。

油や糖などを生成する植物では、質量顕微鏡を使えば油や糖が植物体内のどこに多く蓄積されているかを検出できる。これまでに瀬藤さんらの研究室では質量顕微鏡を使って、米の中に存在する性質の異なる脂質の分布を明らかにした。これにより、植物の品種改良時にも有効な評価が可能になる。

「老いの解明」への有効な道具になる

「古くはケプラー、コペルニクスが惑星の動きを観察、計算し、天体運行の現象が明らかにされ、それをもとにニュートンが天体の運動方程式を打ち立てました。医学は今ようやく、彼らが手にした天体望遠鏡と同様に質量顕微鏡を手に入れ、「分子の観察」ができるようになったのです」と瀬藤さんは話す。生体内でどんな分子が増減しているのか、その現象を観察できる道具を得たい、それらが一体どんなルールの下に動いているのかを明らかにすることが課題となる。このルールを明らかにしていくことこそ、病気のメカニズムを明らかにし、治療法を見つけるヒントになるものだ。そしてそれにより、老いの解明にも迫ることができるかもしれない。

「老いのメカニズムの研究は、医学・生物学を究める者にとって大きな難しいテーマです。生きた人間が老いてゆく過程という長い時間の観察が必要なので、実験自体が成り立ちにくいのです。この点は遠くの星を観察する天体観測とも似ています。私はライフワークとして老化の謎に迫り、生命の法則、ルールを探りたいと思っています」と、瀬藤さんは熱く語る。

老化に伴って肌のつやが失われシワが増える。代謝機能が低下し、さまざまな老廃物が体内のあちこちに蓄積したり、必要な物質がなくなったりする。老化研究の難しさは、このような多くの現象が至る所に現れること

瀬藤さんの要望に高い技術力で応えた株式会社島津製作所基盤技術研究所先進技術開発室長、電子・イオンユニット長の小河潔さん。JST研究成果展開事業 先端計測分析技術・機器開発プログラム プロトタイプ実証・実用化タイプ「顕微質量分析装置の実用化開発」（2009年～11年）ではチームリーダーとして開発の陣頭指揮を執った。



にもあるだろう。これらの現象は単独で起こるだけではない。隣の細胞、組織、器官に相互に作用している。そして全身の状態も個別の細胞や代謝に影響を及ぼしている。

老化現象の解明のためには、大量の情報を得て解析しなければならない。顕微質量分析により、たくさんの分子の情報を一度に得られるようになった。この装置の活用により、医学・生物学の大きなテーマである老化のメカニズムを解き明かす糸口をつかむことができるだろう。

質量顕微鏡の世界スタンダードへ

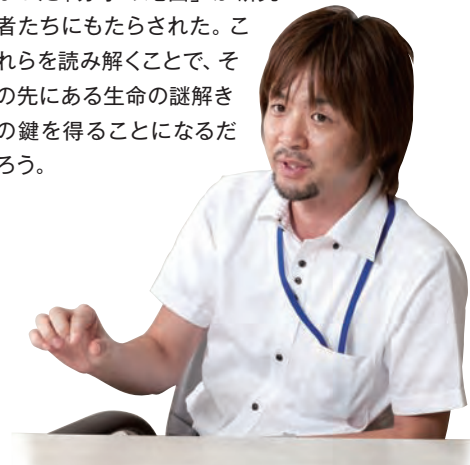
質量顕微鏡は国内はもちろん、海外の研究者の関心も高い。瀬藤さんの研究室にも実際に装置を試したいという問い合わせが数多く寄せられている。

次のフェーズとして必要なのは、質量顕微鏡が世の中に広く普及し、多くの研究者が使って改良点を指摘したり、新しいデータを出したりすることだ。浜松医科大学に設置されている質量顕微鏡は、2011年からJST先端計測分析技術・機器開発プログラム開発成果の活用・普及促進の一環として、研究機関や大学等での利用が始まっている。

このプログラムのチームリーダーを務める、浜松医科大学特任教授の早坂孝宏さんは、「データが得られたら、その意味を解析し、データベース化していくことが、この装

置の利用機会を広げていくことになります。そのためにも、今後は、人材の育成、教育の充実が不可欠となるでしょう」と、この装置の広がりを目指す。

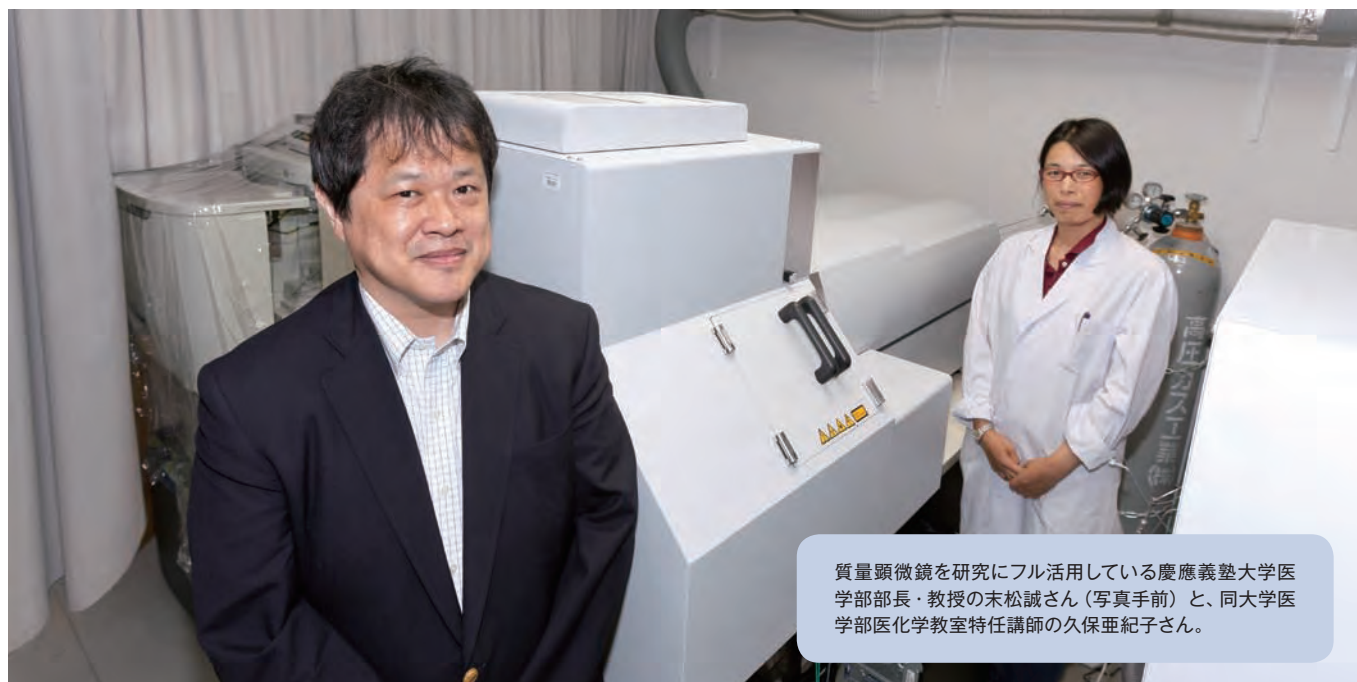
質量顕微鏡によってこれまで手に入らなかった「分子の地図」が研究者たちにもたらされた。これらを読み解くことで、その先にある生命の謎解きの鍵を得ることになるだろう。



浜松医科大学分子解剖学研究部門特任助教の早坂孝宏さん。瀬藤さんの研究を受け継ぎ、2011年からJST研究成果展開事業 先端計測分析技術・機器開発プログラム 開発成果の活用・普及促進のチームリーダーを務める。

Part.2

質量顕微鏡を代謝物研究の最前線に生かす



質量顕微鏡を研究にフル活用している慶應義塾大学医学部部長・教授の末松誠さん（写真手前）と、同大学医学部医化学教室特任講師の久保亜紀子さん。

質量顕微鏡のデータは宝の山になる

質量顕微鏡は、研究の現場で既に活用され、「生命の法則」の一端に迫る成果も生まれている。

2009年からスタートしたJST戦略的創造研究推進事業ERATO「末松ガスバイオロジープロジェクト」では、体の中に存在す

る酸素や一酸化窒素などのガス分子がどのような生体制御機能を持つかを調べ、医療への応用を図ろうとしている。このプロジェクトの研究総括で慶應義塾大学医学部教授の末松誠さんはプロジェクトの発足当初、代謝物の分析にメタボローム解析という方法を活用していた。この方法は試料をすりつぶして代謝物を抽出、質量分析によりどんな代謝物が含まれていたかを同定するも

のだ。この方法には、位置情報が壊れてしまうという弱点があった。

ちょうどその頃、末松さんは島津製作所から見てほしい装置があると、研究所に招かれた。初めて目にしたその装置は、位置情報を保持したまま質量分析ができる、これまでにない性能を備えていた。末松さんは、「分析結果を目にしたとき、物質の種類を決める同定作業や定量の苦勞さといわ



なければ、データは宝の山になると直感しました」と振り返る。

その後、代謝物の解析のため、瀬藤さんの協力を得て、自らの研究室に質量顕微鏡（β機）を導入した。早速観察したのは、脳こうそくを起こしたマウスの脳や、がん組織だ。脳こうそくでは血管がつまり、脳内で酸素の供給が絶たれる部分が生じる。また、がんの組織では細胞増殖が活発で、中心の部分は低酸素状態になる。このような部分で何が起きているのか、メタボローム解析では見ることができない観察が、質量顕微鏡を使えば可能になる。

高分解能の質量分析が治療の常識を変える

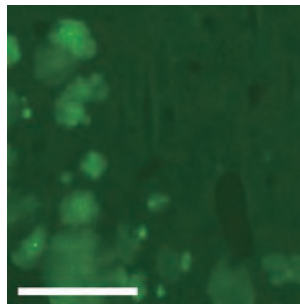
この質量顕微鏡では、瀬藤さんの狙い通り、どんな分子が体内のどこにあるのかが、一目瞭然だ。これまでの質量分析装置とは比較にならない解像度の高さを誇る。末松さんらが脳こうそくを起こしたマウスの脳を観察すると、その周辺部位で、特徴的に代謝が活発化していることが、明らかになったのだ。この発見をもとに、脳こうそく周辺部位に効果的に働きかけることができれば、脳細胞の壊死を最小限に食い止められるようになるかもしれない。

「以前使っていた装置とは、比較にならないくらい位置情報が明瞭で、これはすごい技術だと思いました」（末松さん）

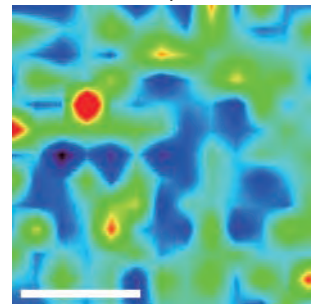
また、がんの代謝物研究でも質量顕微鏡は活用され、最近でも大きな成果が上がっている。末松さんは同じ慶應義塾大学医学部の佐谷秀行教授らとの共同研究で、がん組織の観察を行った。その結果、がん幹細胞が持つタンパク質の一つであるCD44vが多く蓄積している場所に抗酸化物質のグルタチオンが多く検出されるこ

■従来の質量分析装置と質量顕微鏡との比較

従来の装置



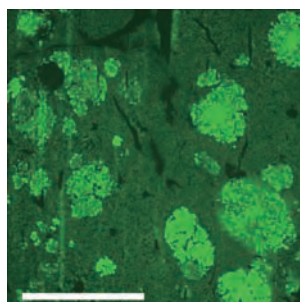
レーザー径 200μm



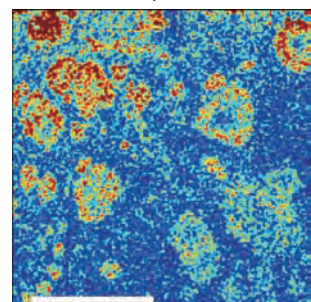
シグナル強度
強

弱

質量顕微鏡



レーザー径 10μm



シグナル強度
強

弱

マウスを使ったがん細胞の蛍光顕微鏡像（左）とがん細胞が抗がん剤耐性になる原因と考えられる抗酸化物質グルタチオンの質量イメージを画像化したもの。上段は従来の質量分析装置で得られる画像で、下段は質量顕微鏡による画像。今回開発された質量顕微鏡は極めて鮮明で解像度の高い画像データを得ることができる。

（図：Analytical and Bioanalytical Chemistry 400:1895-1904, 2011より一部引用）

とが質量顕微鏡によって確認できたのだ。グルタチオンは抗酸化物質として有名な化合物だ。グルタチオンの抗酸化力によって、細胞は抗がん剤に対する抵抗性を獲得していると考えられる。そのため、グルタチオンががん細胞内に蓄積されなくなれば、がん細胞を死滅させることもできるかもしれない。質量顕微鏡という新たな道具を駆使した解析が、さまざまな疾患の新

たな治療法開発への道を開くことになるだろう。

未知の代謝物の研究にも応用が可能に

「質量分析で分子量が明らかになっても、分子の名が特定できるわけではありません。そこをきちんと一個一個調べていくと、興味深い未知の代謝物があることに気づきます。現に考えもしなかった微量で重要な代謝物が、がんの中に含まれているというデータが出始めているところです。しかも、位置情報があるのでなぜこの物質がここに存在するのか、その意味付けができるわけです。まだ絶対量の定量には不十分な点もありますが、装置を使う私たちがデータの取り方を工夫すれば明らかにできることもあります。代謝物の定量情報が空間的につかめることで、研究者のイマジネーションは何倍にも膨れ上がります。そんなところが、この装置の非常に魅力的なところではないかと思います」と末松さん。

高空間分解能の質量顕微鏡の活用によって、これまで見ることでできなかった世界が広がっていく。

質量顕微鏡は
今や私たちに欠かせない
道具となっています。

末松 誠 すえまつ まこと
慶應義塾大学医学部部長 教授

1988年、慶應義塾大学大学院医学研究科所定単位取得退学。同大学医学部内科学教室助手、カリフォルニア大学サンディエゴ校応生体工学部への留学などを経て2001年から慶應義塾大学医学部医化学教室教授。07年から同大学医学部長。09年からERATO研究総括。