



すずき まどか
鈴木 団
科学技術振興機構 さきがけ専任研究者
早稲田大学 理工学術院 招聘研究員

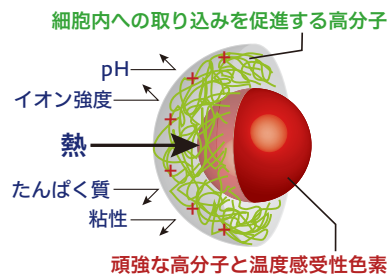
博士(理学)。2004年 早稲田大学大学院理工学研究科博士後期課程を満期退学。同理工学部助手、早稲田バイオサイエンスシンガポール研究所、早稲田大学総合研究機構 主任研究員(研究院准教授)を経て、17年より現職。

細胞内の温度変化からミクロの熱収支の謎に迫る

細胞内のエネルギーの流れをテーマに研究を進めている科学技術振興機構の鈴木団さきがけ研究者(早稲田大学理工学術院招聘研究員)は、細胞内部の微小領域の温度を測るナノ温度計の開発で実績を重ねている。これまで細胞内の温度は均一で周囲と同じという前提で研究されてきたが、刺激のある場合には周囲より温度が高い細胞小器官があることが示唆されている。生体の熱収支や熱による細胞の機能の制御などに働く新たな仕組みが見いだされる可能性がある。また、抗肥満薬やがんの温熱療法の開発などへの応用も期待できるという。

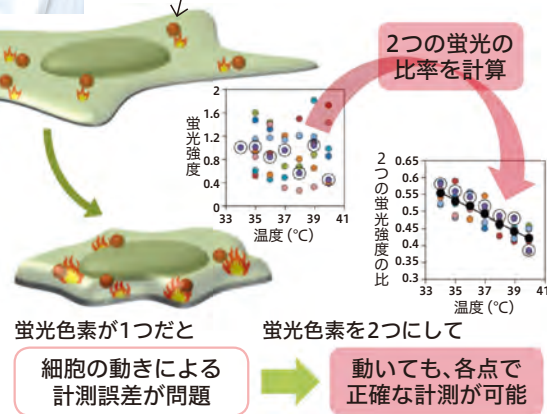
細胞内で温度を測るさまざまなナノ温度計

核、ミトコンドリアなどのさまざまな細胞小器官はそれぞれ異なる役割を担い、器官ごとに異なる化学反応が起きている。しかし、古典的な熱力学に基づいた検討や、細胞の局所温度を測る技術がなかったこともあり、個々の細胞や細胞内の温度は均一で実験温度と同じという前提の下で研究が進められてきた。状況が変わったのは2000年頃である。各国で微小領域の温度を測る技術(ナノ温度計)が盛んに開発され、異なる原理による計測にもかかわらず、細胞小器官や、時には細胞ごとに温度が異なることを示す実験結果が発表されるようになったのだ。ナノ温度計の多くは、温度変化に伴って明るさや色などが変化する物質を細胞の中や周囲に置き、光学顕微鏡越しに撮影して、温度変化との関係を示すデータと照らし合わせることで



▲ 図1 ナノ粒子型温度計
直径は約100ナノメートルで、外側は正(+)の電荷を帯びている。

50メートルブール(細胞)に対して、ソフトボール(ナノ温度計)ほどの大きさ



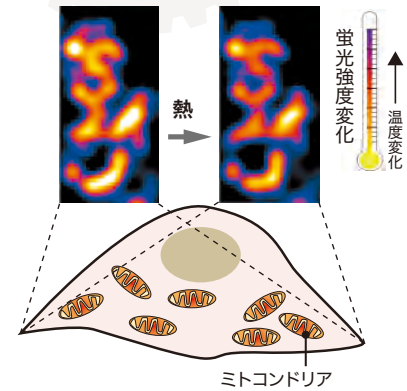
▲ 図2 細胞内のレシオ型ナノ温度計のイメージ
温度に反応して蛍光強度が変化する蛍光色素と変化しにくい蛍光色素の2種類の蛍光色素を使って、細胞が動いても正確に温度が測れるようにした。2つの蛍光色素が発する明るさの比は温度と比例している。

て温度を推定する。ナノ温度計の材料には、低分子の蛍光色素、蛍光たんぱく質、ナノダイヤモンド、金の微粒子、量子ドットなど多様な種類がある。細胞より小さい熱電対型温度計(一般の電子体温計と同じ仕組み)の開発や、赤外線カメラの分解能を細胞1個のレベルにまで上げようとする研究もある。

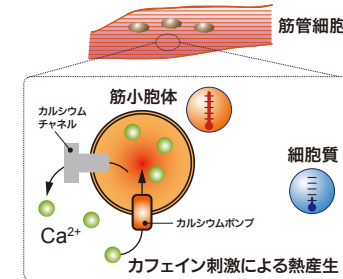
「ナノ温度計には、温度以外の環境変化による影響を受けないこと(特異性)、狙った場所を計測できること(指向性)、高感度の3要素が重要ですが、3要素をすべて満たすものはまだありません」と鈴木さんは語る。

細胞生物学的手法と組み合わせやすい蛍光顕微鏡を利用

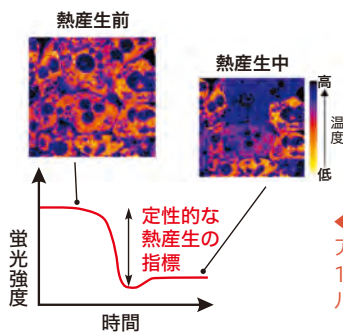
生物物理学を専門とし、生物の仕組みと熱の関心に強い関心を持つ鈴木さんも、大学院生だった2004年頃からさまざまな方法で生体内の微小領域の温度計測や、熱による細胞機能や形態制御に取り組んできた。材料は低分子化合物の蛍光色素を中心に、目的に応じて使い分けている。蛍光顕微鏡を利用するナノ温度計は空間分解能が比較的高い。細胞生物学の実験手法とも組み合わせやすいため、温度変化の原因となった反応



▲ 図3 HeLa細胞(人のがん細胞の一種)のミトコンドリア温度測定*
(シンガポール国立大学との共同研究)



▲ 図4 筋管細胞の筋小胞体の温度計測*
(シンガポール国立大学、シンガポールA*STARとの共同研究)



◀ 図5 褐色脂肪細胞の温度測定*
アドレナリン作動薬刺激によって、褐色脂肪細胞の小胞体の温度が上昇した。1つ1つの細胞で反応のタイミングが異なることが見て取れる。(シンガポール国立大学、ハーバード大学との共同研究)

を推定しやすいのも大きな利点である。

しかし、温度変化によく応答する蛍光色素は、カルシウムイオンの濃度変化や水素イオン濃度(pH)の変化にも応答することが多い。こうした温度変化以外の影響を受けないよう、初めは低分子の蛍光色素を直径数マイクロメートルの細いガラス管に詰めた。ガラスは化学変化を遮る上に熱伝導性が高いからだ。これを細胞の周りに押しつけることで、細胞の温度変化と細胞内のカルシウムイオン濃度変化との相関を調べることができた。

しかし、ガラス管では細胞の外側からしか温度を測れない。そこで鈴木さんらは、ガラスの代わりに、熱を遮らず、蛍光色素との相性もよいプラスチックでナノサイズの粒子を作り、その中に蛍光色素を詰めた(図1)。この温度計の表面は正(プラス)の電荷を帯びており、細胞膜に付着し、細胞が外部の物質を取り込む作用によって細胞内に取り込まれる。その後、細胞内の物質輸送や貯蔵といった役割を持つ小胞に入り、モーターたんぱく質に運ばれる。このナノ粒子の動きを追うことで、モーターたんぱく質の活性と細胞内の温度上昇との相関関係が定量的に計測できた。

2014年にはこれを改良し、温度に応答する色素と応答しない色素を組み合わせた「レシオ(比率)型ナノ温度計」を発表している(図2)。

細胞に振りかけるだけの低分子蛍光温度計

ナノ粒子に封入するのではなく、低分子の蛍光色素をそのまま細胞内に取り込ませて温度を測る手法でも研究を進めている。特定の細胞小器官に輸送されるように目印を付けておけば、細胞に振りかけるだけで狙った小器官を特異的に、ほぼ均一に染めることができる。かかる時間はわずか数分間だ。GFP(緑色蛍光たんぱく質)などのたんぱく性の蛍光色素と異なり、あらかじめ遺伝子に組み込み細胞に発現させる必要もない。鈴木さんらは、ミトコンドリア特異的に、あるいは小胞体特異的に集積して、温度変化を蛍光の強さや寿命の変化として捉えられる低分子色素を開発した(図3～5)。筋管細胞(C2C12細胞)では、カフェインによる刺激によって筋小胞体では一過的に約1.6度の温度

上昇に相当する蛍光寿命の変化が見られたが、細胞質ではほとんど変化しなかった(図4)。また、アドレナリン受容体を刺激された褐色脂肪細胞が熱を放出する瞬間を1細胞レベルの解像度で動画として記録することに成功した(図5)。

これらの手法は、褐色脂肪細胞を活性化し、より多くのエネルギーを消費するような化合物を探索して肥満の解消につながる薬剤を開発したり、人工的な熱源のそばにある細胞内で熱が伝わる様子を調べ(図3)、がんの温熱治療の効果を細かく解析したりすることなどに役立つと考えている。

ナノ温度計で生物学の教科書が変わる?

微小領域の温度計測は発展途上の分野である。そもそも温度という概念自体が、かつては蒸気機関を対象としていたようなマクロな統計値である。また、細胞の中で小器官ごとに温度の変化が1度以上異なることがあるというデータに対して、そこまで大きな変化が起きることはありえないと反論している研究者もいて、大きな議論になっている。1度の違いでも化学反応の平衡や、DNAやたんぱく質の構造は大きな影響を受ける。ナノ温度計の技術が確立し、細胞内や細胞小器官の温度、細胞内の温度分布が詳しくわかってくれば、生物学の教科書が書き換わるのではないかと考えている。

「生物は現在考えられているよりも熱効率が良い可能性もあるかと思うのです。細胞内で放出された熱エネルギーは、温度勾配に従う単純な拡散で細胞外に排出されるだけなのではないでしょうか。同じ細胞内で熱源のすぐ隣にある別の反応や、あるいは隣の細胞で再利用され、例えば筋肉の収縮運動やモーターたんぱく質の動き、カルシウムイオン濃度変化といった機能を補助することに使われ、最後に残った熱が体温維持に使われるといったことが、もしかするとあるかもしれません」と鈴木さん。

生体制御に利用される信号としては、ホルモンや細胞内情報伝達物質などの化学的信号がよく知られている。鈴木さんは実は熱も制御信号の1つではないかという大胆な仮説を抱いている。「その仮説を証明し、生物学の新たな扉を開く開拓者の1人になれたらうれしいですね」と夢を語った。

※ 図3は Chem Commun 2015, 51: 8044-8047から、図4はChem Commun 2016, 52: 4458-4461から、図5は Sci Rep 2017, 7: 1383 から、それぞれ一部改変して転載。