

光の窓から見た細胞の活動

浜松医科大学 光量子医学研究センター 寺川 進

光学顕微鏡は300年以上も前に作られたが、全く廃れることなく現在も発展し続けている希有な道具である。様々な光を用い様々なやり方で細胞を観察できるようにしてくれるが、発明以来変わらない拡大の原理に加えて、最近では、電子化によって光だけでは難しいことを成し遂げている。光には様々な性質があり、その作用においても種々の側面がある。波長、強度、位相などの基本性質に加えて、偏光、蛍光、燐光、エバネッセント光、散乱光、化学発光など多様な物理量に基づく測定が可能である。生体は細胞のレベルでは透明であるが、組織になると散乱が強くなり、個体になると散乱と吸収のためほぼ不透明となる。これらの条件の組み合わせで、多様な光の応用が可能となるが、実際にどのような量を観察測定できるのかは、個々の例に即して考えなければならない。

微分干渉法は、偏光を用いて、対象内を通過する光の位相遅れを局所的に測定し、明暗のコントラストに変換する手法である。ほぼ透明な細胞でも、その内部の微細な構造がもっとも高い分解能で観察できる。透明体を通過する光はエネルギーが保存されており、生体に害の無いまま、生体の内部構造を位相の変化として捉えられる。細胞の生理活性がよく保たれた状態での高分解能観察が可能であり、多種類の細胞の異なる活動が長時間に亘って観察できる。ビデオカメラや画像処理装置と組み合わせると、分子レベルの検出能も高まる。体内組織の高分解能観察や、数日に亘る培養細胞の連続観察にも応用できる。我々は、この手法で、多数の細胞の開口放出反応を捉えた。また、食作用、呑み込み作用も捉えた。神経細胞死や光治療におけるガン細胞死の過程もよく観察できた。

共焦点法は、小さなピンホール窓に光を通して対象を照明し、その窓から対象を観察するものである。細胞などを光学的に切断したような断層像が得られるのが特徴である。断層像は、対象内の厚みが $1\mu\text{m}$ くらいの領域の光信号からなる。この方法では、**X-Y-Z** の3方向について分解能が向上する。細胞の内部と表面とがよく区別がつくので、特定分子の細胞内の分布を確定するのによい手段となる。我々は、ヒスタミン受容体の発現と取り込みの動態を共焦点法で観察するのに成功した。

エバネッセント光照明法は、ガラスと水の界面に生ずる極めて薄い層状の光を対象の照明に用いるものである。エバネッセント光は、開口数が極めて高い対物レンズの辺縁部のみにある全反射の窓を通してレーザー光を後方から入射させると、容易に作ることができる。厚みが **50nm** 程度の光の層で細胞の表面のみを照明し、細胞膜タンパクの動態を調べるのに向いている。この手法によって、私の夢が実現することになった。イオンチャネルの活動、開口放出、呑み込み作用などがよく観察できた。

我々は、以上の顕微鏡法の拡張変法として、デジタルマイクロミラーによる共焦点法、ファイバー式鏡焦点顕微鏡法、スリット光走査顕微鏡法など、新しい手法の開発も行っている。観察できる対象を増やし、これまでの方法の弱点を解消し、生体のダイナミクスを理解するための新しい窓を広げようとしている。