

医学に資する分子分光学



研究室紹介

南川 丈夫*

Molecular spectroscopy for medicine

Key Words : Molecular spectroscopy, Raman spectroscopy, Medical diagnosis

はじめに

近年の医学の進歩は目覚ましく、日本人の平均寿命は80歳を超え、かつて不治とされていた多くの疾患が、現在では治療可能な病として認識されるようになってきている。こうした医学の発展を支えてきた要素の一つが、「見える化(可視化)技術」である。病変部やその周囲組織を可視化することは、病気の理解を深めるための基礎医学的観点と、診断・治療につなげる臨床医学的観点の両面において、極めて重要な意義を持つ。

これまでに、X線CTやMRIといった非侵襲的な画像診断法、あるいは染色された組織切片を用いた病理組織診断法など、さまざまな見える化技術が確立されてきた。これらの手法は、非侵襲解剖学や、組織形態・生体機能に関する生理学および病理学の発展に大きく貢献し、現代医学の基盤を形成している。

しかしながら、病態の分子メカニズムがいまだ明らかでない疾患や、正確な診断が難しい病気も少なくない。したがって、従来の技術では得られなかった視点を提供できる新たな見える化手法の開拓は、病態の理解を深め、よりの確な診断・治療へとつなげるうえで不可欠である。

我々は、生体分子の情報を光学的に捉えることができる分子分光学に注目し、新たな見える化技術の創出を通じて、病理学に対する新たな視座の提供を

目指している¹⁻⁸⁾。なかでもラマン散乱分光法は、光の照射と散乱光の取得という簡便な操作のみで測定が可能であり、得られるスペクトル情報には細胞や組織を構成する分子に起因した生体機能が反映されることから、病変部やその周囲環境の状態を分子レベルで評価する手法として注目を集めている(図1)^{9,10)}。この手法は、分子情報に基づく非侵襲的な術中病理診断への応用や、従来では可視化が困難であった分子のイメージングによる新たな診断法の開発など、基礎から臨床に至るまで幅広い展開が期待されている。

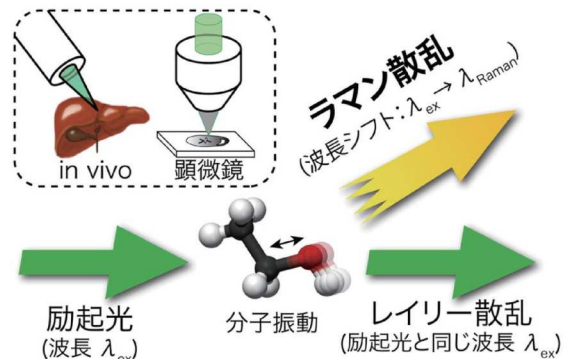
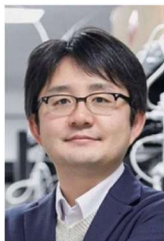


図1 ラマン散乱分光法

本稿では、ラマン散乱分光法の医学応用の取り組みの一例として、代謝機能障害に伴う脂肪性肝疾患(MASLD: Metabolic dysfunction-associated steatotic liver disease)の病理解明に向けた分子機能イメージングの試みを紹介する。さらに、ラマン散乱分光法が抱える課題の一つである微弱な信号強度に起因する感度の限界(長時間の測定や低い分子検出感度など)に対し、我々が近年開発したリモートプラズモンニック増強ラマン散乱(RPERS: Remote plasmonic-enhanced Raman scattering)分光法を紹介する。RPERS法は、高い分子感度を保ちながら生体適合性も両立可能な手法であり、ラマン散乱分



* Takeo MINAMIKAWA

1983年4月生まれ
大阪大学 大学院基礎工学研究科
機能創成専攻 生体工学領域
博士後期課程 (2010年)
現在、大阪大学 大学院基礎工学研究科
システム創成専攻 電子光科学領域
教授 博士(工学)、博士(医学)
TEL: 06-6850-6325
E-mail: minamikawa.takeo.es@osaka-u.ac.jp

光の基礎研究から臨床応用への展開を後押しする有力なアプローチとなる可能性を秘めている。

脂肪性肝疾患の分子機能診断⁴⁾

疾患の本質に迫るためには、セントラルドグマに基づく DNA, RNA, タンパク質といった主要分子の解析が基本となる。しかし、早期かつ的確な診断を実現するには、これらの分子にとどまらず、より広範な分子群を対象として最適なバイオマーカーを探索する視点が重要である。

ラマン散乱分光法は、分子振動に基づいて生体分子の直接的な情報を取得できる手法であり、あらゆる分子の測定が可能である。中でも、従来の計測手法では捉えにくい分子の一例として脂質が挙げられる。脂質は、脂質代謝や生体膜構造、さらにはメタボリックシンドロームに伴う皮下・腸間膜・内臓脂肪の蓄積など、多くの生理・病理学的過程に深く関与することが知られている。しかし、脂質の分布や形態は比較的容易に可視化できる一方で、その機能に直結する分子構造（例えば脂質分子種や不飽和度など）を評価することは困難であった。

ラマン散乱分光法を用いれば、分子振動スペクトルを通じて、脂質の機能を規定する構造情報を捉えることが可能である。図2に示すように、MASLDモデルマウスの肝組織において、脂質に由来するラマンバンド（例：1442 cm^{-1} , 2855 cm^{-1} ）を指標として脂質の蓄積を定量的に評価できる（図2a）。さらに、C=C結合に対応するバンド（1662 cm^{-1} ）からは脂質の不飽和度を、芳香環の振動（1677 cm^{-1} ）からはトリグリセリドやコレステロールといった分子種の情報を得ることができる。脂質の不飽和度や分子種は、その生理機能や反応性と密接に関連する重要な指標である。また、ラマン散乱分光法は高い空間分解能を有するため、肝細胞内における脂質の分布もサブ μm スケールで可視化できる（図2b）。

このように、ラマン散乱分光法は脂質分子の構造情報に着目した解析を分子レベル・組織レベルの双方で可能とし、従来のゲノム解析やプロテオーム解析では捉えきれなかった疾患の側面を明らかにする手段となる。今後、脂質を含む多様な分子を対象とした分子機能診断が展開されることで、病態の多角的な理解や、より早期の診断への応用が期待される。

高感度分子機能診断のためのリモートプラズモニックラマン散乱分光法¹¹⁾

ラマン散乱分光法における最大の課題は、信号光の強度が極めて低い点にある。そのため、1画像あたり10分以上を要する長時間の測定や、1 mMを超える低い分子検出感度といった制約が避けられなかった。この信号強度の問題に対しては、さまざまな増強手法が提案されてきたが、病理学的応用を視野に入れると、さらなる性能が求められる。具体的には、(1) 生体内に微量しか存在しない分子に対する高い検出感度 (<nM)、(2) 安定した診断に必要な高い定量性、(3) 同一検体を繰り返し観察できる長期的な計測安定性 (1か月~1年以上) などが挙げられるが、これらを同時に満たすことは困難であった。

そこで我々は、プラズモン共鳴を利用した増強ラマン散乱分光法 (SERS: Surface-enhanced Raman scattering)¹²⁾ に着目し、その定量性および安定性を飛躍的に向上させる新手法として、リモートプラズモニック増強ラマン散乱分光法 (RPERS: Remote plasmonic-enhanced Raman scattering) を開発した¹¹⁾。

RPERS 分光法では、スライドガラス上に形成さ

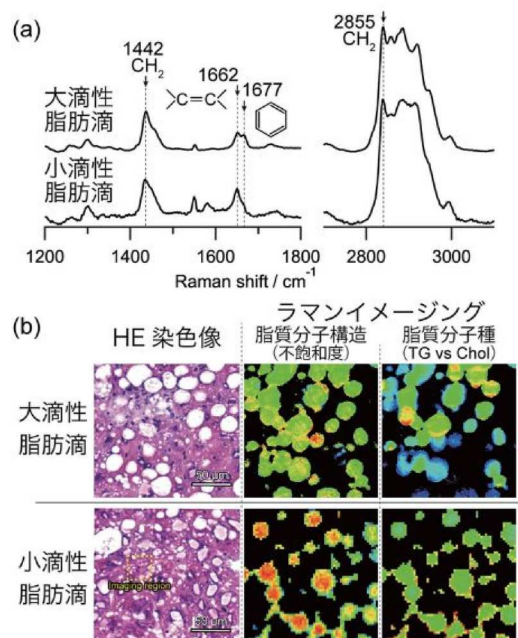


図2 ラマン散乱分光法の MASLD への応用⁴⁾。(a) 形態学的特徴を有する大滴性脂肪滴と小滴性脂肪滴のラマンスペクトル。(b) ラマンイメージング解析による脂質の分子構造 (脂質の不飽和度) と分子種 (トリグリセリド, コレステロール) の評価。TG, トリグリセリド; Chol, コレステロール。

れた直径数十 nm 程度の銀ナノアイランド構造の上に、シリカ製の柱状構造を積層した基板 (RPERS 基板) を用いる (図 3a)。このナノ構造により、金属と測定分子が直接接触しないにもかかわらず、 $10^2 \sim 10^7$ 倍という高いラマン信号の増強効果が得られることが明らかとなっている。

実際に、ラット食道周囲組織に対して RPERS 分光測定を行ったところ、金属構造と測定分子との間に 100 nm 以上の距離があっても、通常のガラス基板と比較して 10^4 倍以上のラマン信号の増強が得られた (図 3b)。さらに、RPERS イメージングを適用することで、神経・筋組織・脂肪組織など食道周囲の各組織に対し、それぞれ特徴的なラマンスペクトル画像を取得することにも成功した (図 3c)。

本研究で開発した RPERS 分光法は、シリカ保護膜による銀ナノ構造の腐食抑制効果を有し、非侵襲性と高感度性を兼ね備えた新たなラマン散乱分光手法である。この技術は、ラマン散乱分光法の長年の課題であった感度と安定性の両立を達成するものであり、病理学の基礎研究から臨床診断への幅広い応用が期待される。

おわりに

本稿では、ラマン散乱分光法を中心とした医学応用に関する我々の取り組みを紹介した。特に、多様な分子を標的とした機能診断や、従来のラマン散乱分光法における課題であった定量性および計測安定性を飛躍的に向上させる増強手法に着目し、従来は

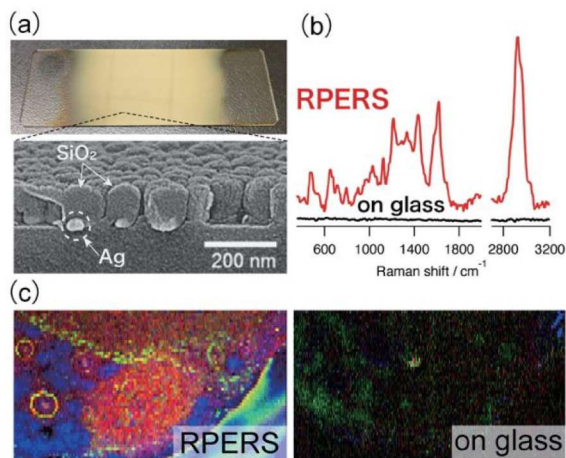


図 3 リモートプラズモニックラマン散乱 (RPERS) 分光法¹³⁾。(a) RPERS 基板の外観図と電子顕微鏡像。(b) マウス神経組織の RPERS スペクトル。(c) マウス食道外縁組織の RPERS イメージングと、通常のガラス上でのラマンイメージング。

困難であった見える化技術を実現する可能性について述べた。

ラマン散乱分光法は、近年医学でも注目が集まりつつあり、より実用性を高める検討^{11,13,14)}も行われているものの、未だに発展途上であることは否めない。そのため、医学関係者が臨床現場で使用できるレベルには至っていない。このような状況下では、医学者と工学者が互いの背景や状況を十分理解し、医学と工学の両面で科学・技術を醸成していく医工連携・融合の環境が重要なポイントとなる。しかし、現状の医工連携・融合研究の多くは、既存の医学ニーズを既存の工学シーズで解決しようとするのみで、シーズがニーズにマッチしなければ頓挫する事が多い。本質的な異分野融合を構築するには、医学に工学者が入りニーズやシーズを発掘する、あるいは工学に医学者が入り新しいニーズやシーズを創発することも重要である。ラマン散乱分光法などの分子分子光学は、特定の疾患の診断ツールを提供するという直接的な医療への貢献のみならず、今回紹介した事例などのように医学に新しい視点を提供し、医学・医療を深化させていくポテンシャルも有している。今後のさらなる展開によって、ラマン散乱分光法が医学・医療へ様々な形で貢献することが期待される。

参考文献

- 1) T. Minamikawa, et al., *Sci. Rep.*, 5, 17165 (2015)
- 2) T. Minamikawa, et al., *Sci. Rep.*, 6, 25530 (2016)
- 3) T. Yamamoto, et al., *Sci. Rep.*, 8, 14671 (2018)
- 4) T. Minamikawa, et al., *Sci. Rep.*, 10, 18548 (2020)
- 5) T. Minamikawa, et al., *Int. J. Mol. Sci.*, 23, 3357 (2022)
- 6) R. Kato, et al., *Anal. Sci.*, 38, 1497 (2022)
- 7) S. Kajiwara, et al., *Jpn. J. Appl. Phys.*, 63, 122001 (2024)
- 8) E. Hase, et al., *Exp. Dermatol.*, 12, 34 (2025)
- 9) Y. Hattori, et al., *Appl. Spectrosc.*, 61, 579 (2007)
- 10) I. P. Santos, et al., *Analyst*, 142, 3025 (2017)
- 11) T. Minamikawa, et al., *Light Sci. Appl.*, 13, 299 (2024)
- 12) K. Kneipp, et al., *J. Phys.: Condens. Matter*, 14, R597 (2002)
- 13) Y. Ozeki, et al., *Nat. Photonics*, 6, 844 (2012)
- 14) M. Shiota, et al., *Nat. Commun.*, 9, 1561 (2018)