



報道各位

2016年9月15日
国立国際医療研究センター
大阪大学
理化学研究所

○ 米国科学誌『The FASEB Journal』掲載

走査型蛍光 X 線顕微鏡を用いた細胞内脂質イメージング

—脂肪酸の細胞内局在を可視化し、脂質代謝変動を明らかに—

研究成果のポイント

- ・ 脂肪酸^{※1} (小分子)に、一元素ラベルおよび蛍光 X 線^{※2} 顕微鏡を用いることで、世界で初の細胞内脂質の高分解イメージングに成功した。
- ・ 細胞内脂質をオルガネラ^{※3} レベルの分解能で観察することが可能。
- ・ 本法により、多様な生命現象や疾患に関わる研究が展開する可能性が期待される。

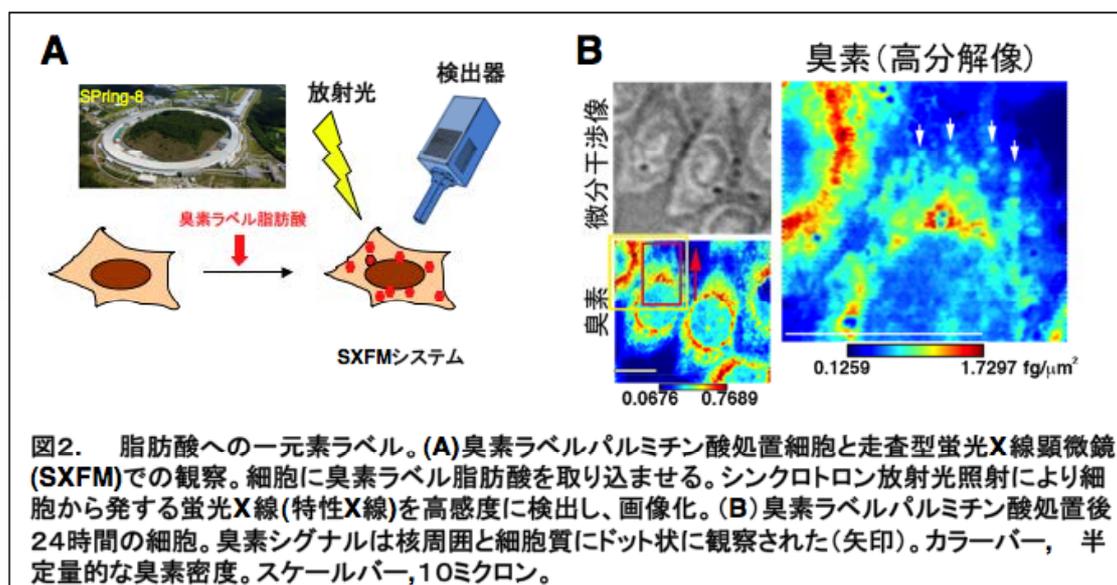
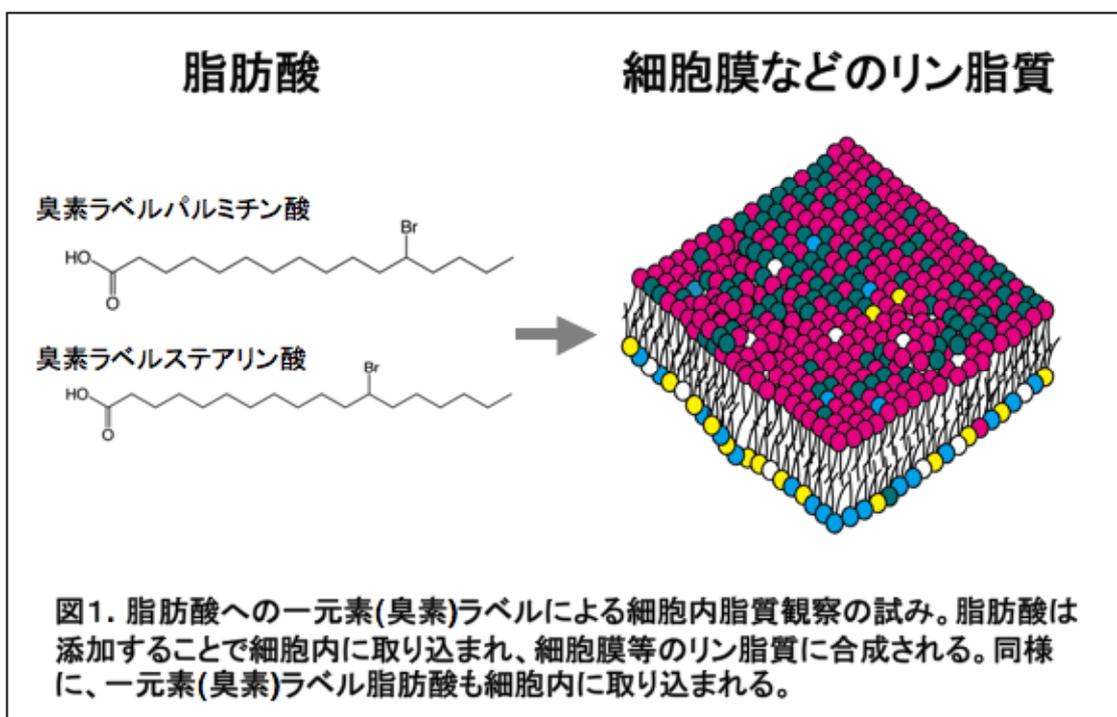
(要旨)

脂肪酸代謝異常は多くの疾病と関連が深く、多くの生化学的研究報告が行われています。一方、脂肪酸という小分子の標識は難しく、非標識では細胞レベルの観察は困難という理由から、細胞内脂質イメージングは実現できていませんでした。国立国際医療研究センターの志村、進藤らのグループは、脂肪酸に一元素 (物質の最小単位、臭素原子) ラベルを行い、これを取り込ませた細胞を走査型蛍光 X 線顕微鏡^{※4} システム (SXFM、大型放射光施設 SPring-8^{※5} の X 線を使用) によって可視化する方法を開発しました。これは、細胞内脂質の高分解イメージングを実現する初の方法です。本研究で用いたマウス由来 CHO-K1 細胞^{※6} では、ラベル元素シグナルは細胞核周囲に認められ、小胞体やゴルジ体と類似した分布を示しました。生化学的な検討から、細胞内に取り込まれた元素ラベル脂肪酸は概ね細胞内でリン脂質^{※7} に代謝されていることが明らかになりました。これらから、得られた元素分布像は、細胞内ラベルリン脂質を主に観察していると考えられます。SXFM は直径 1 ミクロン以下の細胞内ラベル脂質構造体 (ミトコンドリアなどと同程度の大きさ) を可視化しており、オルガネラレベルの分解能を提供しています。今後、様々な脂肪酸に一元素ラベルを行い、細胞内局在を可視化することで、オルガネラレベルでの脂質代謝による変動が明らかになります。また、本システムより、多様な生命現象や、炎症、血管障害、神経疾患を始めとする多くの疾患に関わる研究が展開することを期待しています。

国立研究開発法人 **国立国際医療研究センター**

〒162-8655 東京都新宿区戸山 1-21-1

TEL 03-3202-7181 FAX 03-3207-1038



研究の詳細

<背景>

脂肪酸代謝異常は多くの疾病と関連が深く、多くの生化学的研究報告が行われています。一方、細胞内脂質イメージングについては、脂肪酸という小分子に標識する難しさ(例えば、大きな蛍光発光分子をラベルすると脂肪酸代謝が著しく阻害される)のため、その実現は困難とされていました。また、非標識による質量分析顕微鏡やラマン顕微鏡

国立研究開発法人 **国立国際医療研究センター**

〒162-8655 東京都新宿区戸山 1-21-1

TEL 03-3202-7181 FAX 03-3207-1038

での細胞観察は有用ですが、一細胞やオルガネラレベルでの観察は困難でした。

<結果>

国立国際医療研究センターの志村、進藤らのグループは、脂肪酸に一元素（物質の最小単位、臭素原子）ラベルを行い、これを取り込ませた細胞を走査型蛍光 X 線顕微鏡システム（SXFM、大型放射光施設 SPring-8 の X 線を使用）によって可視化する方法を開発しました（図 1, 2A）。本研究で用いたマウス由来 CHO-K1 細胞では、ラベル元素シグナルは細胞核周囲に認められ、小胞体やゴルジ体と類似した分布を示しています（図 2B）。これは、細胞内脂質を合成する酵素が多い箇所でもあり、この箇所に脂質が多く見られることは推測していた結果でもあります。実験経過においては、主な細胞毒性は認められず、また、生化学的な検討から、細胞内に取り込まれた元素ラベル脂肪酸は概ねリン脂質に代謝されていることが明らかになりました。これらから、得られた元素分布像は、細胞内ラベルリン脂質を主に観察していると考えています。一方、250 ナノメートル程度の分解能で、細胞質に存在する直径約 1 ミクロンのドット状臭素局在を、世界で初めて可視化することにも成功しました（図 2B, 矢印）。SXFM は直径 1 ミクロン以下のドット状のラベル脂質構造体を可視化しています。ミトコンドリアの大きさはおよそ 0.5-2 ミクロンであるので、SXFM はオルガネラレベルの分解能を提供しています。この構造体の解明は、今後の研究課題となります。

<今後の期待>

本研究で開発した世界初の細胞脂質高分解イメージングの技術を用いることで、今後、様々な脂肪酸に一元素ラベルを行い、細胞内局在を可視化することで、オルガネラレベルでの脂質分布や変動を明らかにできます。また、本システムより、多様な生命現象や、炎症、血管障害、神経疾患を始めとする多くの疾患に関わる研究が展開することを期待しています。

用語解説

- (1)脂肪酸：炭化水素。代表的には炭素数 16～22 程度の脂肪酸が生体膜リン脂質に結合している。パルミチン酸は炭素数 16、ステアリン酸は 18 で、共に二重結合を持たない。リン脂質など生体膜の構成分子。
- (2)蛍光 X 線：元素に X 線や荷電粒子が衝突すると、内殻の電子が外殻にはじき出されます。この空席を埋めるために、別の外殻の電子が落ちてきますが、この時に余剰エネルギーを X 線（蛍光 X 線、特性 X 線）として放出します。この X 線の波長は元素固有であるため、物質の同定に利用することができます。
- (3)オルガネラ：細胞内で一定の機能を果たす構造体。ミトコンドリア、小胞体、ゴルジ体など。
- (4)走査型蛍光 X 線顕微鏡：細く集光した X 線を試料に照射し、試料を走査しながら蛍光 X 線を検出・可視化することができる顕微鏡装置。高分解能かつ高感度に試料内

国立研究開発法人 **国立国際医療研究センター**

〒162-8655 東京都新宿区戸山 1-21-1

TEL 03-3202-7181 FAX 03-3207-1038

の元素分布を可視化することができます。

- (5) SPring-8：兵庫県の播磨科学公園都市にある世界最高強度の放射光を生み出す理化学研究所の施設。SPring-8 の名前は Super Photon ring - 8 GeV に由来する。詳細は www.spring8.or.jp/ja/
- (6) CHO-K1 細胞：マウス由来の培養細胞株
- (7) リン脂質：生体膜の主成分の一つ。グリセロール骨格に2種の脂肪酸と極性基を持つ。生体内に1000分子種程存在する。

研究体制と支援

本研究は、東京大学大学院医学研究科リピドミクス社会連携講座 清水孝雄特任教授、徳岡涼美特任助教、ライフサイエンス支援室 北芳博准教授、浜野文三江助教、フランス国立科学研究所(CNRS)の Lukasz Szyrwiel 助教、Ryzard Lobinsky 教授のグループ、大阪大学大学院工学研究科 松山智至助教、山内和人教授のグループ、理化学研究所放射光科学総合研究センター香村芳樹放射光イメージング利用システム開発ユニットリーダー、早稲田大学応用化学科 岡本真由美講師、清水功教授のグループとの共同研究です。本研究を行うにあたって、科学技術振興機構(JST) 戦略的創造研究推進事業(CREST) [先端光源を駆使した光科学・光技術の融合展開] (研究代表：大阪大学大学院工学研究科 山内和人教授)、マリーキュリー財団(PIEF-GA-20120329969) (研究代表:Lukasz Szyrwiel 助教)、文部科学省科学研究費基盤研究S (研究代表：清水孝雄理事)、基盤研究C (研究代表:進藤英雄副プロジェクト長)、AMED-CREST (研究分担:進藤英雄副プロジェクト長)、国立国際医療研究センター脂質シグナリングプロジェクトは小野薬品工業、および東京大学大学院医学研究科リピドミクス社会連携講座は島津製作所の支援を受けました。

【発表雑誌】

雑誌名：The FASEB Journal (英文雑誌名)

論文名：Imaging of intercellular fatty acids by scanning X-ray fluorescence microscopy

【参照 URL】

The FASEB Journal (英文雑誌名) ホームページ (<http://www.fasebj.org>)

《本件に関するお問合せ先》

国立国際医療研究センター研究所 脂質シグナリングプロジェクト

責任著者役職名 副プロジェクト長 進藤 英雄 (しんどう ひでお)

電話：03-5273-5351 (内線 2810) FAX：03-3202-7364

E-mail: hshindou@ri.ncgm.go.jp

〒162-8655 東京都新宿区戸山 1-21-1

国立研究開発法人 **国立国際医療研究センター**

〒162-8655 東京都新宿区戸山 1-21-1

TEL 03-3202-7181 FAX 03-3207-1038

国立国際医療研究センター研究所 難治性疾患研究部 難治性疾患研究室
責任著者役職名 室長 志村 まり (しむら まり)

電話 : 03-3202-7181 (内線 2887) FAX : 03-3202-7364

E-mail: mshimura@ri.ncgm.go.jp

〒162-8655 東京都新宿区戸山 1-21-1

大阪大学 大学院工学研究科 精密科学・応用物理学専攻

助教 松山 智至 (まつやま さとし)

電話(FAX) : 06-6879-7286 (内線 7286)

E-mail: matsuyama@prec.eng.osaka-u.ac.jp

〒565-0871 大阪府吹田市山田丘 2-1

《取材に関するお問合せ先》

国立国際医療研究センター 企画戦略局 広報企画室 広報係長

担当 : 三山 剛史

電話 : 03-3202-7181 (内線 2028) <9:00~17:00>

E-mail: tmiyama@hosp.ncgm.go.jp

国立研究開発法人 **国立国際医療研究センター**

〒162-8655 東京都新宿区戸山 1-21-1

TEL 03-3202-7181 FAX 03-3207-1038