



## 平成 28 年度 TIA 連携プログラム探索推進事業「かけはし」 調査研究報告書(公開版)

【研究題目】脂肪を燃やす褐色脂肪細胞のラマン分光イメージング

【整理番号】

TK16-66

【代表機関】筑波大学

【調査研究代表者(氏名、連絡先 TEL & Mail)】

加納英明、029-853-5421、hkano@bk.tsukuba.ac.jp

【TIA 内連携機関：連携機関代表者】

筑波大学 医学医療系 福田綾

東京大学 大学院理学系研究科 島田林太郎

【TIA 外連携機関】

早稲田大学 ナノ・ライフ創新研究機構

【報告書作成者】 加納英明 【報告書作成年月日】2017 / 3 / 27

【連携推進(具体的な連携推進活動内容とその活動の効果等)】

本研究では、ラマン分光法を基盤とした非染色・非標識・非破壊・非侵襲 分子イメージング法を用いることで、褐色脂肪細胞の生きたまま、そのままの状態を3D可視化し、その特殊な脂質代謝過程の動態を明らかにすることを目標として、筑波大・数理、筑波大・医学、東大院・理の三者連携推進活動を行った。研究期間内に、筑波大・医&筑波大・数理の共同実験、東大の研究者の筑波大でのセミナー開催、筑波大&東大の共同実験を実施した。

褐色脂肪細胞の専門家である筑波大・医学医療系の福田は、褐色脂肪細胞及び白色脂肪細胞の培養・維持を行っている。分化誘導後、成熟したそれぞれの脂肪細胞を、筑波大・数理物質系の加納らが譲り受け、非線形ラマン分光イメージング装置により生きたままの細胞を非染色にてイメージングした。

東大院・理の島田を筑波大に招聘し、セミナーを開催した。東大のラマン分光イメージングシステムの基本原理のレクチャー及び筑波大・数理のシステムの実験装置見学により、実験環境についての相互の理解を深めることができた。さらに、細胞測定についての詳細な打ち合わせも行った。

筑波大・医学医療系の福田により培養された褐色脂肪細胞及び白色脂肪細胞を、東大院・理の島田のシステムで測定し、筑波大・数理物質にて得られた成果と比較・検討を行った。

【調査研究内容(実験等中心に背景・課題と実行された課題解決の内容と結果)】

筑波大・医&筑波大・数理の共同実験

チャンバースライドガラス上に培養した褐色脂肪細胞(HB2株)及び白色脂肪細胞(3T3L1株)をサンプルとして用いた。筑波大・数理の加納研が開発した非線形マルチモーダル顕微鏡を用いて各々の細胞を測定したところ、脂質など生体分子の細胞内局在を可視化することに成功した。次に、実験で得られた膨大な量のスペクトルデータを、多変量スペクトル分離法(Multivariate Curve Resolution; MCR)及び繰り返し交互最小自乗法(alternating least square; ALS)を組み合わせたMCR-ALS法を用いて解析した。この解析には、早稲田大学(ナノ・ライフ創新研究機構 安藤正浩博士)との共同研究により、非線形マルチモーダル顕微鏡用

に最適化したプログラムを用いた。MCR-ALSにより細胞内の脂肪滴を詳しく解析したところ、脂肪滴内にコンホメーションの異なる2種類の脂質が存在し、それらが特有の分布を示すことを示唆する結果が得られた。これに加え、白色脂肪細胞の測定の際にのみ、非線形マルチモーダル顕微鏡の第二高調波というチャンネルにて、脂肪滴とは異なる細胞内位置に信号を検出した。現在のところ、この信号の発生源は不明であるが、褐色脂肪細胞では見られなかったため、細胞内代謝過程の何らかの違いを検出している可能性がある。

#### 東大院・理の島田博士によるセミナー

2016年11月14日に、島田博士（東大院・理）を筑波大に招聘し、非線形フォトンクス・セミナーを開催した。島田博士からは、“高速励起波長変調によるラマン散乱と蛍光の分離の試みと生細胞への応用”という題目で講演頂いた。講演では、高速波長変調レーザーとガルバノミラーとを組み合わせた新規顕微ラマン分光顕微鏡や、高速顕微自発ラマン分光顕微鏡等が紹介された。セミナー後の実験室見学や打ち合わせで、脂肪細胞の測定について詳細を詰めることができた。

#### 東大院・理&筑波大・医&筑波大・数理の共同実験

チャンバースライドガラス上に培養した褐色脂肪細胞（HB2株）及び白色脂肪細胞（3T3L1株）をサンプルとして用い、東大のシステムで測定した。本システムの励起波長は532nmであるため、共鳴ラマン効果によって褐色脂肪細胞内のミトコンドリアがコントラスト良く可視化できることを確認した。さらにMCR-ALS法の適用により、褐色脂肪細胞及び白色脂肪細胞の両者から、4種（たんぱく質、脂肪、多糖類、シトクロム）の化学種を検出することができた。得られたスペクトルの詳細な解析から、白色脂肪細胞と褐色脂肪細胞の化学組成は(1)多糖類の含有量が褐色脂肪細胞の方が優位に多く、(2)脂肪滴内の脂肪酸不飽和度も褐色脂肪細胞の方が大きいことを示唆する明瞭な結果が得られた。一方、得られた脂肪滴内の脂肪成分の特有な分布を支持する結果は得られなかった。この両者の結果の違いについて、今後さらなる詳細な検討が必要である。

一連の研究成果を、大学院生が国際会議(Japan-Taiwan Medical Spectroscopy International Symposium)にて発表した(Yuki Shimodaira, Masahiro Ando, Hiro-o Hamaguchi, Aya Fukuda, Koji Hisatake, and Hideaki Kano, "CARS spectroscopic imaging and multivariate curve resolution analysis of brown adipocytes")ところ、優秀ポスター賞を受賞した(写真矢印)。

#### 【今後の予定】

本研究により、褐色脂肪細胞は多糖類や不飽和脂肪酸を多量に蓄積することがわかった。このことは、褐色脂肪細胞の特殊な脂質代謝と関係する可能性があるため、引き続きTIA連携プログラム調査研究課題申請、外部資金獲得及び連携推進を行う予定である。



写真：大学院生のポスター賞受賞

以上。