

二光子励起顕微鏡を用いた *in vivo* 酸素イメージング研究

Intravital oxygen imaging utilizing a two-photon excitation microscope

同志社大学 生命医科学部 西川恵三

生体組織内で細胞を取り巻く様々な環境因子は、特定の形質を細胞に誘導し、細胞がそれぞれの持ち場で独自の機能を発揮する上で重要な働きをする。なかでも、酸素は、ほぼすべての細胞にとって必要不可欠な分子であり、次に述べる種々の細胞内機序を通じて細胞の運命や機能の制御にかかわる。例えば、ミトコンドリアの呼吸鎖においては、酸素は最終的な電子受容体として作用し、エネルギー(ATP)産生にかかわる。また、酸素は、活性酸素種(H₂O₂)へ変換されることで、細胞内の情報伝達を担うセカンドメッセンジャーとしても作用する。近年では、酸素供給の増減によって酸化還元酵素や水酸化酵素による酵素反応が影響を受ける知見が続々と見いだされており、酸素が低酸素誘導因子 HIF α の発現・活性の調節に関与したり、ヒストン脱メチル化酵素や DNA 脱メチル化酵素の活性調節を介して遺伝子の発現制御にかかわることも知られている。これまで、酸素が果たす役割は、*in vitro* の実験系(様々な酸素濃度条件で培養した細胞を解析するなど)や *in vivo* 解析(低酸素関連遺伝子を欠損した動物を解析するなど)を駆使することで精力的に明らかにされており、一見、かなりのことが理解できているような錯覚に陥る。しかしながら、このような従来研究は、「酸素濃度が極端に高いあるいは低い」、「遺伝子が大過剰あるいは欠損」といった特殊な実験条件下で行われているために、酸素の働きが「質」の観点で明らかにされているだけで、「量」の知見はほとんど理解されていない現状にある。即ち、『生体内で酸素濃度がどの程度維持され、それがどのくらい変動することで細胞応答に変化を生じるのか』等の定量的知見からの酸素の役割は不明である。実際、生体内で細胞を取り巻く酸素環境が、どのように時事刻々と変化し、いかなる生体応答を誘導するかは、単に細胞生物学などの基礎研究だけでなく、がんや虚血性疾患などの低酸素状態が関係する様々な病気の基礎病態を理解するためにも重要な知見であると言える。本発表では、生きた動物個体の組織内の酸素や細胞内の代謝状態を観察する二光子励起顕微鏡法を開発することで、骨髄内で種々の細胞が晒されている酸素濃度を定量的に明らかにした研究成果を踏まえて、酸素環境に対する細胞内の代謝応答の *in vivo* の実態について議論したい。

【参考文献】

- Narazaki A, Shimizu R, Yoshihara T, Kikuta J, Sakaguchi R, Tobita S, Mori M, Ishii M and Nishikawa K, Determination of the physiological range of oxygen tension in bone marrow monocytes using two-photon phosphorescence lifetime imaging microscopy, *Scientific Reports* 12, 3497, 2022.
- Nishikawa K, Seno S, Yoshihara T, Narazaki A, Kikuta J, Sakaguchi R, Suzuki N, Takeda N, Semba H, Yamamoto M, Okuzaki D, Motooka D, Kobayashi Y, Koseki H, Matsuda H, Yamamoto M, Tobita S, Mori M and Ishii M, Osteoclasts adapt to physioxia perturbation through DNA demethylation, *EMBO Reports* 6, e53035, 2021