

2P091

1064 nm 励起近赤外ラマン分光法による生きたラットの脳組織測定

(東大院理・防衛医大医用工学講座¹・防衛医大防衛医学研究センター²)

○関栄根・川内聡子¹・佐藤俊一²・石原美弥¹・菊地眞¹・濱口宏夫

【序】脳組織バイアビリティーの光学的診断法の開発を目的とした研究では、光吸収および光散乱など光学信号の内因性強度変化を用い、細胞の生理学的・生化学的・形態学的情報が得られた。

[1] 光吸収信号は、血流および血液酸素化度、また組織の酸素およびエネルギー代謝に密接な関係があり、一方光散乱信号は、細胞および小器官の形態変化に敏感である。このような内因性強度変化は関与物質の構造変化に伴う現象であり、化学構造に関する豊富な情報が直接得られる分光学的手法を適用することにより、分子レベルの構造変化に対して更なる解析が行なえると期待できる。しかし、人間を含む動物の脳組織は、8割近い水と約8%の蛋白質と5～15%の脂質で構成されている。我々は、蛍光による妨害が受けにくく水分の影響も少ない1064 nm 励起近赤外ラマン分光法(図1)を開発した。[2] この分光手法を用い、これまでヒトの肺組織を始め皮膚、肝臓など様々な組織を対象とした実験を行ってきた。[3] 本研究では、ラットの脳組織に対するラマン測定を試みた。頭蓋骨に窓を作成し、露出された脳組織から良好なラマンスペクトルが測定された。また、脱血や低酸素モデル実験を行ない、生と死の間で起こる脳組織の化学構造変化を追跡した。脳組織に対する化学物質の構成比や構造変化が *in vivo* で調べられることは、脳疾患に対する医療診断へも繋がると期待できる。

【実験と結果】麻酔下にラットの頭部を固定し、頭蓋骨に直径5 mmの窓を作成し、露出された脳組織に対してラマン測定を行った。(図2) 測定中には脳組織表面の乾燥を防ぐため、生理食塩水を流し続けた。ラマンファイバープローブから出射した1064nm レーザー光は、大きな血管や脳表に付着した血液を避けて脳組織部位へ照射された。ラマンスペクトルはレーザーパワー45mW、露光時間10分で測定された。

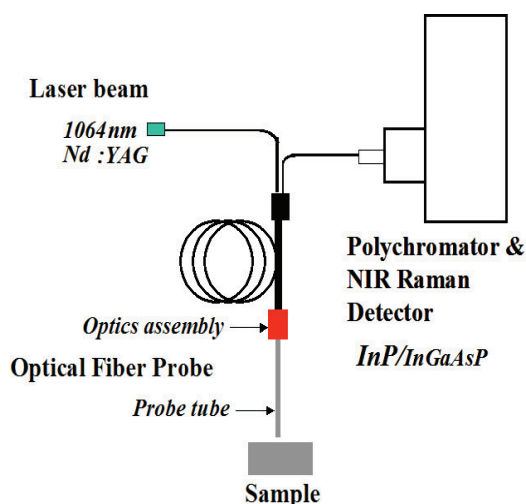


図1. 1064 nm 励起近赤外ラマン分光装置の模式図



図2. ラット脳のラマン測定様子

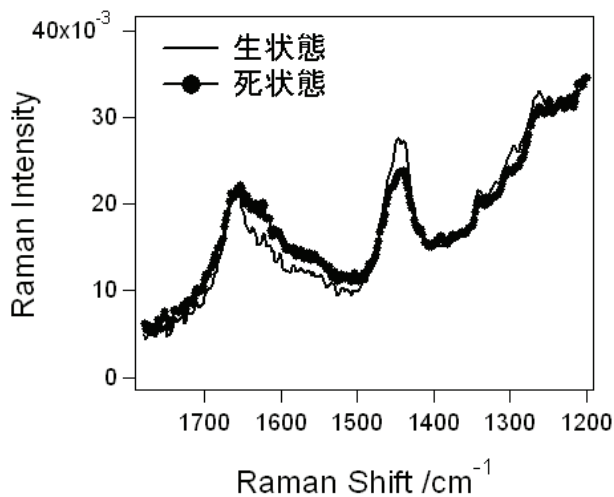


図3. 窒素ガスによる低酸素モデル実験データ
(5回測定データの平均スペクトル)

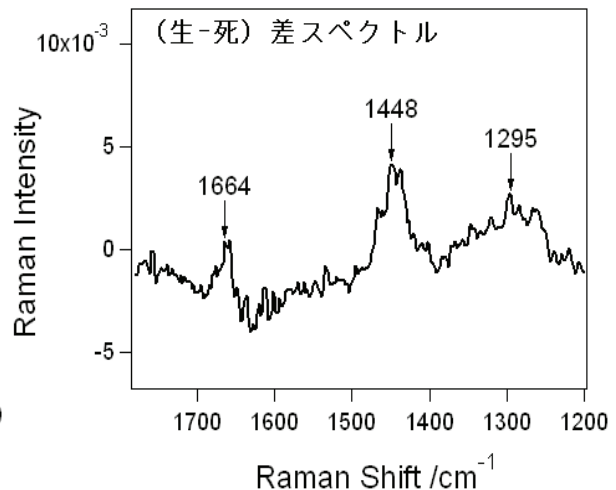


図4. 差スペクトル (生状態－死状態)

生死間の脳組織変化を一貫して追跡するため、窒素ガス吸入による低酸素モデル実験を行った。窒素ガス吸入前および吸入後それぞれのラマンスペクトルを5回以上測定した。図3に各々の平均スペクトルを示した。脳組織の死状態のラマンスペクトルは、1650–1500 cm^{-1} 領域で強度が増加し、1448 cm^{-1} のバンドは強度が減少した。図4に示した生と死の差スペクトルから、1664、1448、1295 cm^{-1} のバンドが確認できた。同様の結果が、6例中4例のラットから得られた。特に、1448 cm^{-1} のC-H変角振動によるバンドは強度が強くて再現性よく検出された。しかし、2例のラットからは顕著な差は見られなかった。以上の結果から、ラットが生きた状態から死に至る過程で起こる脳組織の構造変化がラマンスペクトルにより検出しうること、またその変化には脂質成分が大きく関与している可能性が強く示唆された。

【今後の展望】脳組織では筋肉や肺など他の組織に比べて脂質の量が高い。また、脂質の濃度は表層の灰白質で5%、内部の白質では15%程度である。ラットの場合、灰白質層の厚みは約2mm以下である。さらに、脳の病変部では、脂質量が減るとも言われている。脳組織に対する脂質の評価は大変重要な意味を持つ。1064 nm 励起近赤外ラマン分光法は深さ方向に対する選択的測定が可能であり、今後非侵襲的な脂質分布測定が実現できると期待される。

- [1] S. Kawauchi, S. Sato, H. Ooigawa, H. Nawashiro, M. Ishihara, and M. Kikuchi, *Appl. Opt.* (2008) Vol. 47, No. 22, p4164–4176.
- [2] 関栄根、伊藤利昭、濱口宏夫、講座：近赤外分光法 V. 近赤外ラマン励起分光、分光研究、第53巻 第5号 (2004) p318–331.
- [3] Y-K. Min, S. Naito, H. Yamazaki, E. Kohda, and H. Hamaguchi, Raman Applications in Cancer Studies. In: Raman Spectroscopy for Soft Matter Applications, edited by Maher S. Amer, Wiley (2009)