

## Press Release

研究成果

2024年12月3日

分野: 生命科学・医学系

キーワード: 生体組織、イメージング、質量分析、脂質、イオン化法、精巣組織、SDGs

# 極微量の溶媒を用いる質量分析イメージングで 精子形成に重要な脂質を可視化することに成功

### 【研究成果のポイント】

- ◆ フェムトリットル(1 フェムトリットルは、1 リットルの 1000 兆分の 1)の極微量の溶媒を用いて、脂質の分布情報をマイクロメートルスケールで高感度に計測できる技術を開発した。
- ◆ マウスの精巣組織における、精子形成に重要な脂質の分布を可視化することに成功した。
- ◆ ドコサヘキサエン酸(DHA<sup>※1</sup>)を含む複数のリン脂質の分布が、精子形成の段階や疾患状態に依存して変化することを見いだした。
- ◆ 本技術を様々な生体組織に適用し、疾病を引き起こす多様な分子の分布を調べることで、新たな治療法や診断技術の創成に繋がる情報の獲得が期待される。

### ❖ 概要

大阪大学理学研究科物理学専攻の大塚洋一准教授と岡田茉樹さん(当時博士前期課程)、豊田岐聡教授、国立国際医療研究センター、実中研、株式会社島津製作所の研究グループは、極微量の溶媒を使って、生体組織の脂質を詳細に観察するための技術を開発しました。この技術は「質量分析イメージング<sup>※2</sup>」と呼ばれ、生体組織に含まれる成分の分布を可視化することができます。

今回、研究グループが開発した技術を用いて、マウスの精巣組織の分析を行った結果、精子が形作られる過程において特定の脂質が特徴的な分布を示し、精子形成の段階や疾患状態に依存して、それらの分布が変化することを見いだしました(図1)。精子形成の異常化など、疾患に關与する脂質の研究に、本技術は新たな知見を提供することが期待されます。

本研究成果は、科学誌「Analytical and Bioanalytical Chemistry」に、11月22日(金)に公開されました。

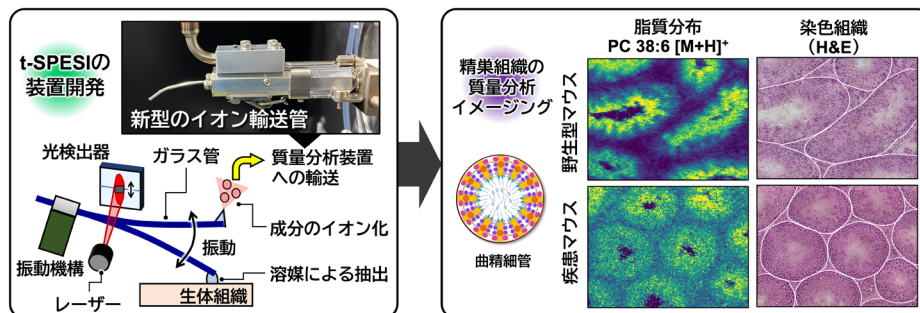


図1 t-SPESI の装置開発により、マウス精巣組織の脂質分布を5 $\mu$ m のピクセル間隔で可視化することが出来た。

## Press Release

### ❖ 研究の背景

我々の身体は、細胞が機能的・構造的に階層化された組織でできており、細胞内外の多彩な化学反応によって恒常性が維持されます。細胞膜を構成する脂質は、エネルギーの蓄積やタンパク質の働きの制御など、細胞内の代謝反応においても重要な役割を果たし、脂質代謝の異常は疾患と関連することが知られています。一方で、生体組織の脂質の分布と疾患の関係は未解明な点が多く残されています。疾患の機構解明や、治療および診断の高度化のためには、生体組織に内在する多様な分子を調べる分析技術の開発が必要とされています。

大塚洋一准教授はこれまでに、「タッピングモード走査型プローブエレクトロスプレーイオン化法(t-SPESI)」の研究開発を主導し、生体組織の脂質分布の可視化に取り組んできました。t-SPESI では、細いガラス管を高速に振動させながら高電圧を印加した溶媒を流すことで、ガラス管の先端で試料成分を局所的に抽出し、気体状態のイオンに変換することができます(図1左)。生成されたイオンは質量分析装置に導入され、分析されます。

一方、国立国際医療研究センターの進藤英雄博士らは、マウスの精巣組織に存在する、ドコサヘキサエン酸(DHA)を含む複数のリン脂質が、精子が形作られる過程において重要な役割を果たすことを明らかにしてきました。これらのリン脂質を体内で合成することができない疾患モデルマウスでは、精子頭部の形態が変化し、正常な受精が行うことが困難となります。しかしながら、精巣内におけるそれらの脂質の分布は十分に理解されておらず、精子の形成に影響を及ぼす脂質の分布を詳細に理解するための分析技術が求められていました。

本研究では、質量分析イメージングを高精細化するための t-SPESI の技術開発を行い、疾患モデルマウスの精巣組織に含まれる脂質分布を高精細に可視化することを目指しました。

### ❖ 研究の内容

t-SPESI ではガラス管の先端の大きさが、抽出を行う領域に依存します。抽出の領域を小さくすると、生成されるイオンの量も減少します。したがって、抽出領域の縮小とイオンの高感度検出を両立するための技術が重要となります。研究グループは、質量分析イメージングを高精細化するために、先端を先鋭化したガラス管を作製すると共に、生体組織から抽出・イオン化された成分を効率的に質量分析装置に輸送するための新たなイオン輸送管を開発しました。これらの技術開発により、約130フェムトリットル(1フェムトリットルは、1リットルの1000兆分の1)のわずかな体積の溶媒を用いて、脂質の分布情報をマイクロメートルスケールで高感度に計測できるようになりました。

マウスの精巣組織には、曲精細管と呼ばれる直径数百 $\mu\text{m}$ の管構造が存在します。曲精細管では、精子の元となる細胞が管の外側から中央方向に分化しながら移動することが知られています(図2)。本研究では、DHAを含むリン脂質を体内で正常に合成できる野生型マウスと、それらを合成できない疾患モデルマウスを用いて、精巣組織切片の質量分析イメージングをピクセル間距離5 $\mu\text{m}$ で行いました。その結果、異なる分子構造のリン脂質が、異なる分布を示すことが観察されました(図3)。特に、DHAを含有するリン脂質の一種であるPC<sup>※3</sup>38:6が、野生型マウスの曲精細管の中央近傍に局在することが明瞭に確認されました。一方、疾患モデルマウスでは、信号強度が大きく低下し、その局在性も減弱することが観察されました。

また、t-SPESIを用いる質量分析イメージングでは、生体組織内の細胞の配置や構造に大きな変化を生じないことも明らかになりました。質量分析イメージングを実施した生体組織を、染色・観察することで、精巣中の脂質の分布情報と細胞の形態情報を相互に比較した結果、野生型マウスのPC 38:6の信号強度が局在している領域が、セルトリ細胞に対応することが推定されました。セルトリ細胞は、精細胞を精子に分化するために必要な栄養供給などの役割を果たします。この細胞にPC 38:6が局在したことにより、

## Press Release

流動性の高い DHA を含有するリン脂質が、精子の頭部の形成過程で重要な役割を果たすことが示唆されました。さらに、PC 38:6 の信号強度が、精細胞の分化過程に応じて変化することも見いだされました (図4)。

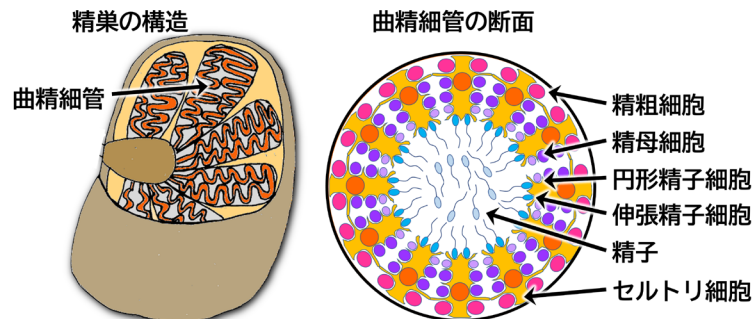


図2 マウスの精巣の構造を示す模式図。精巣(左)の中には曲精細管と呼ばれる直径数百マイクロメートルの微小な管構造が含まれます。曲精細管の内部(右)には、精子の元となる細胞が密に存在し、細胞の分化により精子が作られます。

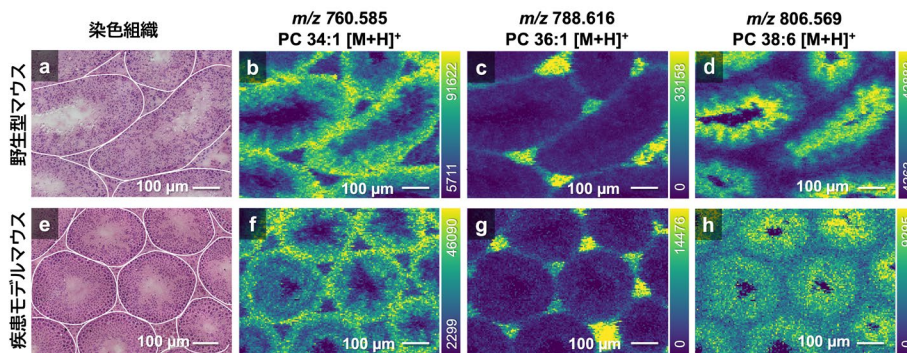


図3 光学顕微鏡で取得した染色後の精巣組織のイメージと、質量分析イメージングにより取得された代表的な脂質の分布イメージの比較。白線は曲精細管の外周部を示すための補助線。分子構造が異なるリン脂質3種類が、組織内において異なる分布を示すことが明瞭に観察されました。

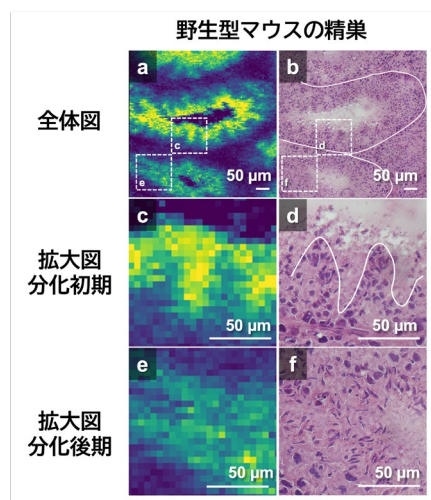


図4 野生型マウスの DHA 含有リン脂質の分布の比較。脂質の信号強度が大きい曲精細管では精細胞の分化が初期であり、分化が進むと共に信号強度が減少することが示唆されました。



## Press Release

### ❖ 本研究成果が社会に与える影響(本研究成果の意義)

本研究により、精子形成における脂質の役割を細胞レベルで理解するための基盤技術が実現しました。質量分析イメージングは、様々な生体組織にも適用できることから、疾患組織における脂質分布の変化を観察するための強力な分析技術の一つとなります。生体組織の細胞の不均一化など、疾病を引き起こす多様な分子の分布を調べることで、新たな治療法や診断技術の創成に繋がる情報の獲得が期待されます。

### ❖ 特記事項

本研究成果は、2024年11月22日(金)に科学誌「Analytical and Bioanalytical Chemistry」(オンライン)に掲載されました。

タイトル: “Improved ion detection sensitivity in mass spectrometry imaging using tapping-mode scanning probe electrospray ionization to visualize localized lipids in mouse testes”

著者名: Yoichi Otsuka, Maki Okada, Tomomi Hashidate-Yoshida, Katsuyuki Nagata, Makoto Yamada, Motohito Goto, Mengze Sun, Hideo Shindou, Michisato Toyoda

DOI: <https://doi.org/10.1007/s00216-024-05641-x>

なお、本研究は、AMED「官民による若手研究者発掘支援事業「医療機器開発に向けた生体組織内多次元化学分布情報計測の要素技術開発」、AMED 橋渡し研究プログラム「多次元局在化学情報に基づくヒト疾病状態の可視化技術」、JSTさきがけ「細胞の動的高次構造体」(JPMJPR20E4)、AMED 肝炎等克服実用化研究事業、国際医療研究開発費(22T001)、国立高度専門医療センター医療研究連携推進本部(JH)、JSPS 科研費基盤研究 B、内藤記念科学振興財団、豊田理研スカラー、旭硝子財団の支援を受けて行われました。



### ❖ 用語説明

#### ※1 DHA

ドコサヘキサエン酸の略称。人の体内で合成できない必須脂肪酸の一種であることから、食事から摂取する必要があります。特に青魚に多く含まれ、細胞膜の柔軟性を高める役割を果たします。

#### ※2 質量分析イメージング

質量分析は、物質を構成する分子やイオンの質量を測定する技術です。試料に含まれる分子をガス状態のイオンに変換(イオン化)し、そのイオンを質量分析装置で高感度に検出することにより、試料に含まれる分子の種類や量を特定できます。質量分析は、分子構造の解析や物質の品質管理など、幅広い分野で活用されています。大阪大学理学研究科物理学専攻は質量分析技術の研究開発において長い歴史を持ち、質量分析の発展に貢献してきました。

質量分析イメージングは、質量分析の技術を応用して、試料内の分子の分布を画像として可視化する技術です。試料を局所的に気体状態のイオンに変換し、質量分析装置で分析する技術が必要で、様々な方法が開発されています。生体組織内の分子分布を詳細に調べることで、脂質やタンパク質などが組織中でどのように分布しているかを視覚化することができます。

## Press Release

### ※3 PC

ホスファチジルコリン(phosphatidylcholine)の略称で、細胞膜の主要な成分であるリン脂質の一種です。多種多様な分子構造が存在し、PC 38:6 のように表します。数字は、PC に含まれる2つの脂肪酸の炭素数と二重結合数のそれぞれの合計値として表記されます。

#### 【大塚准教授のコメント】

我々が研究開発を進めている質量分析イメージングの技術は、生体組織の脂質分布を詳細に可視化する方法です。今回の研究成果は、産学連携を通じて装置の開発を進めると共に、ライフサイエンスの研究者との共同研究に取り組むことで得られました。新しい分析技術は新しい知見を与えてくれることを実証できて嬉しく思います。今後も異分野融合型の研究活動を推進したいと考えています。

### ❖ SDGs目標



### ❖ 参考 URL

大塚 洋一 准教授 研究者総覧 <https://rd.iai.osaka-u.ac.jp/ja/7c11b03c4673bb9e.html>

島津製作所 関連ページ「組織の MS イメージング」

<https://www.an.shimadzu.co.jp/industries/life-science/invitro/01002010/index.html>

### ❖ 本件に関する問い合わせ先

<研究に関するお問い合わせ>

大阪大学 大学院理学研究科 准教授 大塚 洋一(おおつか よういち)

TEL:06-6850-8240

E-mail: [otsuka@phys.sci.osaka-u.ac.jp](mailto:otsuka@phys.sci.osaka-u.ac.jp)

<LPLAT3 (Agpat3)欠損マウスに関するお問い合わせ>

国立国際医療研究センター 脂質生命科学研究部 進藤 英雄(しんどう ひでお)

TEL:03-3202-7181

E-mail: [hshindou@ri.ncgm.go.jp](mailto:hshindou@ri.ncgm.go.jp)

<広報に関するお問い合わせ>

大阪大学 理学研究科 庶務係

TEL:06-6850-5280 FAX:06-6850-5288

E-mail: [ri-syomu@office.osaka-u.ac.jp](mailto:ri-syomu@office.osaka-u.ac.jp)

国立国際医療研究センター(NCGM) 企画戦略局 広報企画室 広報係

TEL:03-3202-7181

E-mail: [press@hosp.ncgm.go.jp](mailto:press@hosp.ncgm.go.jp)

## Press Release

公益財団法人 実中研 広報室

TEL:044-201-8516

E-mail: [pr-office@ciea.or.jp](mailto:pr-office@ciea.or.jp)

島津製作所 コーポレート・コミュニケーション部

E-mail: [pr@group.shimadzu.co.jp](mailto:pr@group.shimadzu.co.jp)