アドメライン

今月から「薬物動態」誌に学術情報関連のトピックスを欄けることに致しました。その趣旨は最新の学術情報を広く会員の皆様に伝えることにより、本誌を一層皆様のお役に立つようにし、ひいては本誌をより魅力あるものにしたいということでもあります。

執筆者には大学をはじめとする公的機関および企業の第一線の研究者をお願いしております。この欄にアドメラインという名を付けました。どうか毎号アドメラインをご期待下さい。またこの欄に対するご意見ご要望をお待ちします。

日本薬物動態学会
「薬物動態」編集委員長
栗津 荘司

共焦点レーザー走査顕微鏡のマイクロオートラジオグラフィへの応用

河 野 喜 郎
YOSHIRO KOHNO

今日、共焦点レーザー走査顕微鏡 (Confocal Laser Scanning Microscope; CLSM) は、蛍光プローブを使ってさまざまな生体分子の細胞内局在と細胞機能を解析する細胞生物学に必須の手段となりつつある。一方、蛍光のかわりに、試料から反射してくるレーザー光と同じ波長の光を用いて像を構築したものは反射像と呼ばれ、組織中に金属コロイドなど光を反射する物質がある場合、強力な入射レーザー光を利用して反射像も共焦点像として観察できる。近年、この特性を免疫金染色法¹⁾や *in situ* hybridization²⁾へ応用した例が報告されているが、新しい試みとして、Watanabe ら³⁾はマイクロオートラジオグラフィ (マイクロ ARG) へ応用し、従来法に比べ多くの優れた利点を見い出した。

マイクロ ARG は臓器摘出法では測定不可能な標的部位での薬物の微細分布、局在を光学顕微鏡レベルで可視化することから、これにより薬効、毒性の裏付けや作用機序に関わる情報を得ることができる有用な研究手段である。しかし多くの可溶性薬物の場合、5~10 μm 程度の厚い凍結切片を用いざるを得ないことから、不溶性 (組織結合性) 薬物において可能な 1 μm 程度の樹脂切片と薄い乳剤を用いた高解像マイクロ ARG に比べると種々の問題点がある。たとえば、現像銀粒子と組織との距離がさまざまなため対応がつけにくい、グレインカウントなどの定量的処理が難しい、乳剤層が厚くなるほど解像度

が落ちる、などである。このような問題点は CLSM を用いることにより解決できる。

まず組織切片の観察は、CLSM が単一の短波長光を光源としているためコントラストの良い透過像 (微分干渉像) が得られる。標識薬物の分布を示す現像銀粒子を含む乳剤層については、焦点深度方向の各断面を走査 (optical sectioning) した反射像 (光学断層像) をコンピュータに記憶させれば、あとでこれらを重ね合わせた像を容易に取り出せる。したがって微分干渉像と optical sectioning の合成像をさらに重ね合わせると、乳剤中に分散したすべての銀粒子を組織切片上に表すことができる。これにより組織と銀粒子の対応が容易につき、かつ定量的処理も確実になった。反面、分解能は低下するが、この場合、組織切片に近接した optical sectioning 像だけを組織の微分干渉像と重ね合わせることで高解像マイクロ ARG を得ることができる。また、微分干渉像は無染色で観察可能なことから、前染色標本で起こる化学カブリおよび後染色時に起こる銀粒子の脱落や乳剤層による染色性低下などの問題も回避できる。

従来法によるマイクロ ARG と CLSM による三次元的形態観察との組み合わせがユニークな手法とされる昨今において⁴⁾、両者を融合させた上記の応用例は画期的である。これにより、通常の標本であっても容易に高解像でかつ説得力のある薬物微細分布の情報を得ることができるという点で、今後注目すべき手段と考えられる。

文 献

- 1) Liu X, *et al.*: Ultrastructural localization of retinal guanylate cyclase in human and monkey retinas. *Exp. Eye Res.*, **59**: 761-768 (1994).
- 2) Paddock, S., *et al.*: Improved detection of *in situ* hybridization by laser scanning confocal microscopy. *BioTechniques*, **11**: 486-493 (1991).
- 3) Watanabe, M., *et al.*: Use of confocal laser scanning microscopy in radioautographic study. *Cell. mol. Biol.*, **41**: 131-136 (1995).
- 4) Wong, M., *et al.*: Zone-specific cell biosynthetic activity in mature bovine articular cartilage: A new method using confocal microscopic stereology and quantitative autoradiography. *J. Orthopaed. Res.*, **14**: 424-432 (1996).

(大正製薬(株)開発研究所主任研究員)