

PRESS RELEASE

令和7年8月26日

生きたマウス体内の細胞を高精細に可視化する 新規蛍光細胞膜プローブを開発

【ポイント】

- ・ 光を通しにくい骨髄や皮膚組織において、細胞の形や動きを生きたまま高精細に観察可能とする新規蛍光性細胞膜プローブ「dSQ12AQ」を開発。
- ・ 助溶媒不要で 10 mg/mL 以上の高濃度・安定水分散を実現し、安全な生体静脈投与と高感度観察を両立。
- ・ がん、炎症性疾患、発汗異常症などの診断・病態解明・創薬研究への応用が期待される。

【概要】

高知大学総合科学系複合領域科学部門の仁子陽輔准教授と大学院理工学専攻の上村拓巳さんらの研究グループは、愛媛大学大学院医学系研究科の川上良介准教授、今村健志教授との共同研究により、新しい蛍光性細胞膜プローブ「dSQ12AQ」を開発しました。このプローブと最先端の二光子励起蛍光顕微鏡を組み合わせることで、従来困難だった生きたマウスの骨髄や皮膚で、細胞の形（形態）や動き（動態）を詳細に観察することに成功しました。

本成果は、がんや炎症性疾患などの診断・病態解析、免疫細胞評価、創薬研究への応用が期待されます。

この研究成果は、英国王立化学会が刊行するフラッグシップジャーナル「Chemical Science」に2025年6月掲載されました。

【研究の背景】

近年、細胞の形態や動態の解析は、がんや炎症などの疾患の診断や病態解明、さらに多様な細胞機能の評価や理解において重要性を増しています。特に、がん転移や免疫応答、幹細胞分化といった現象は、細胞膜の構造やその動きと密接に関係しており、形態情報は機能状態の指標となり得ます。

このような細胞観察において、**蛍光イメージング**（注1）は最も有力な手法の一つです。本技術では、蛍光剤（蛍光プローブ）を用いて特定の分子や細胞構造を選択的に染色・可視

化することにより、非侵襲的に生体内現象を捉えることが可能です。ここで、細胞全体の輪郭を描き出し、形態や動態を高精度に解析するためには、細胞膜を選択的に染色する「細胞膜プローブ」が不可欠になります。

しかし、既存の細胞膜プローブの多くは培養細胞での利用を前提に設計されており、生体への投与には適しません。特に、水への分散安定性が低く、1 mg/mL 未満でも容易に沈殿してしまうため、マウスへの安全な静脈投与が困難でした。この性質は、生体内で十分なプローブ濃度を確保できないことを意味し、その結果、骨や角質を含むため光散乱が強い骨髄や皮膚といった組織での細胞の形態や動態の観察は大きく制約されていました。この技術的な課題は、生体内での細胞形態観察における重要なボトルネックとなっていました。

【研究の目的・内容・成果】

仁子准教授らの研究グループは、生体適用可能な細胞膜プローブを開発するため、既存のプローブ「dSQ12S」に着目しました（図 1a）。dSQ12S は、高い蛍光輝度を示すスクアライン発色団を骨格とし、培養細胞の膜を鮮明に可視化できる優れた特性を有しています。しかし、水中での分散性が著しく低く、血中でも容易に沈殿してしまうため、生体への投与には適用できませんでした。dSQ12S は2つの双性イオン型アンカー分子を有し、これによって細胞膜選択性を発揮しますが、この構造が水中分散性の低さの一因と考えられました。

そこで本研究グループは、双性イオン型アンカーをアニオン性アンカーに置換する新たな分子設計を行い、水中分散性の改善を図りました。その結果、得られた新規プローブ「dSQ12AQ」は、10 mg/mL を超える高濃度で安定して水中分散できることが確認されました（図 1b）。これは、従来の細胞膜プローブでは見られなかった特性であり、生体への安全な静脈投与に大きく寄与します。

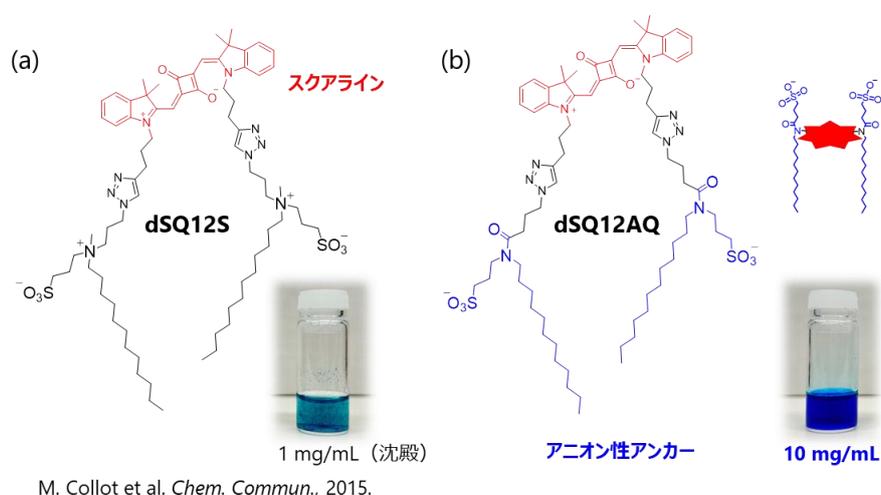


図 1. (a) 既存の細胞膜プローブ dSQ12S および (b) 本研究にて開発した dSQ12AQ の化学構造

さらに、dSQ12AQ は dSQ12S と同様に蛍光 OFF-ON 性を保持していることが確認されました (図 2a, b)。このプローブはアンカー分子の構造に由来する両親媒性 (注 2) により、水中では凝集体を形成し、蛍光が消失した「OFF 状態」 (注 3) となります。一方、脂質膜 (細胞膜など) の存在下では、凝集状態を解消し、脂質膜に挿入されることで蛍光性を回復する「ON 状態」となります。この性質により、洗浄操作を行わずに細胞膜を選択的かつ高感度に可視化できることが、培養細胞を用いた実験で確認されました (プローブ濃度: 10 nM、シグナルノイズ比: 142 ± 38 (mean \pm SD)、図 2c)。重要な点は、高い水中分散性と、この OFF-ON 機能を同時に実現したことです。この OFF-ON 機能は、細胞を洗浄できない生体イメージングにおいて特に有用です。

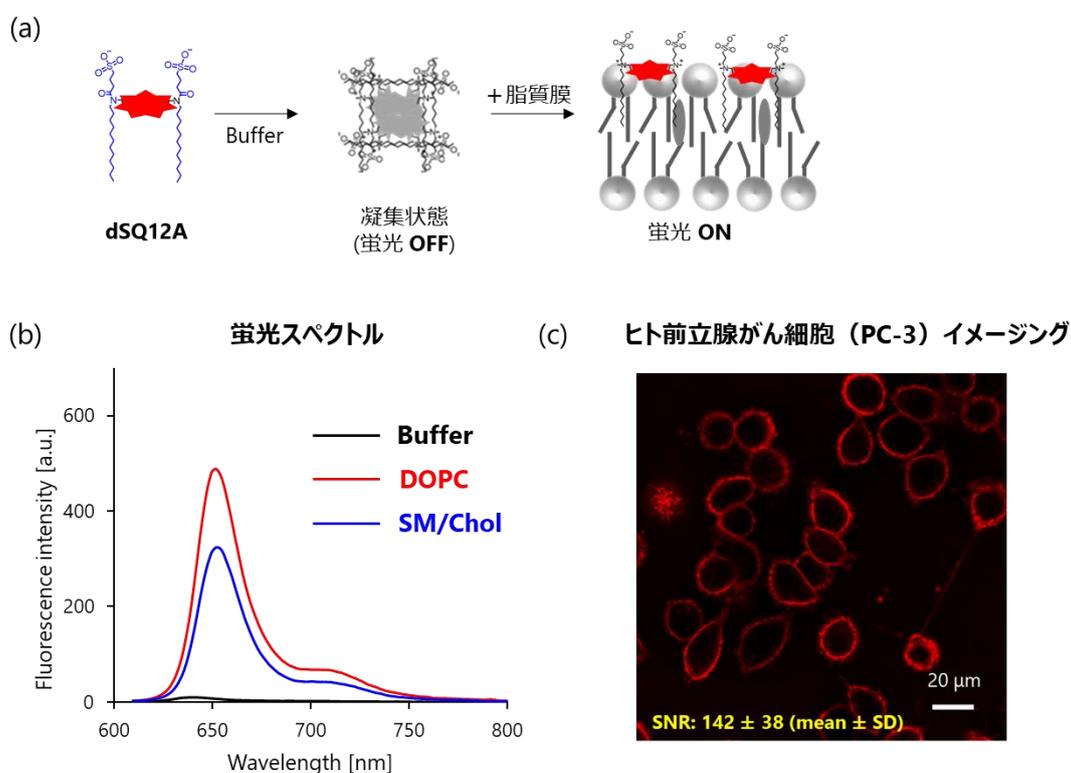


図 2. (a) dSQ12AQ の蛍光 OFF-ON 機構の模式図 (b) dSQ12AQ のリン酸緩衝溶液中およびモデル脂質膜存在下における蛍光スペクトル(c) dSQ12AQ で染色した PC-3 細胞の共焦点蛍光顕微鏡画像

本プローブ (dSQ12AQ) を用いて、最先端の二光子励起蛍光顕微鏡 (注 4) による観察を行ったところ、光散乱性が高く従来観察が困難であった骨髄組織において、細胞膜の輪郭や、骨髄内血管を流れる血球の形態・動態を明瞭に描出することに成功しました (図 3)。

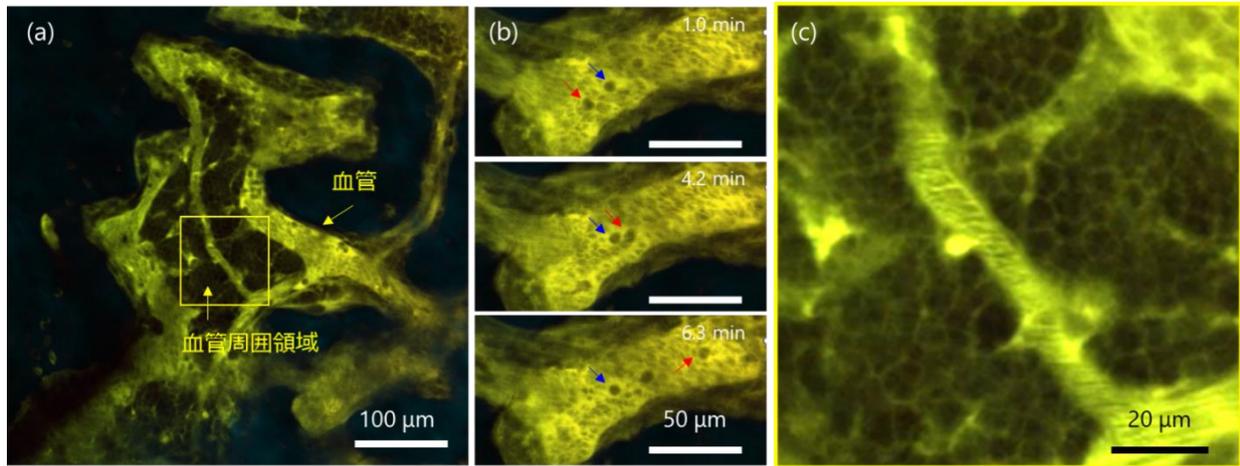


図 3. dSQ12AQ を用いた生体マウス骨髄の二光子励起蛍光顕微鏡像：(a) 頭蓋骨骨髄の全体像 (b) 血管内を流れる血球細胞のタイムラプス観察 (c) 血管周囲領域の拡大図 (Ex: 1100 nm, Em: 560–685 nm)

さらに、同様に光散乱が強い皮膚組織においても、表皮のケラチノサイト、真皮の線維芽細胞やエクリン汗腺細胞といった多様な細胞の構造を鮮明に可視化できることが示されました (図 4)。

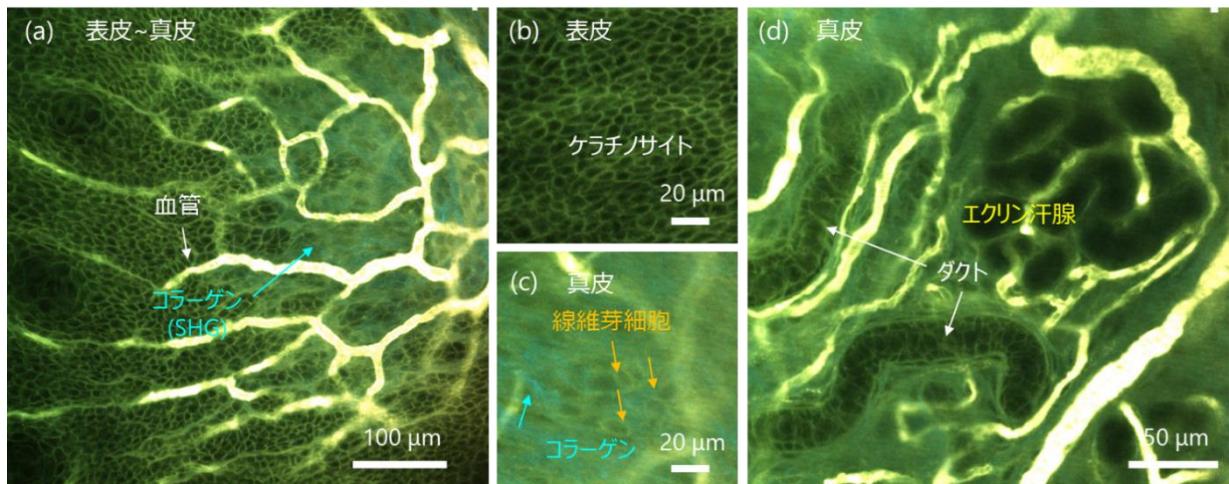


図 4. dSQ12AQ を用いた生体マウス皮膚の二光子励起蛍光顕微鏡像：(a) 表皮（一部真皮含む）の全体像 (b) 表皮角化細胞（ケラチノサイト）の蛍光像 (c) 真皮内の線維芽細胞の蛍光像 (d) 真皮内のエクリン汗腺周囲領域の蛍光像 (Ex: 1100 nm, Em: 500–550 nm (シアン、第二高調波発生), 560–685 nm (緑, 蛍光))

加えて、発色団をスクアラインからカルボシアニン (Cy5) に置き換えた場合でも同様の水分散性と生体適用性が維持されることが確認され、アンカー分子設計の汎用性が示唆されました。これにより、今後は多様な発色団を用いた生体イメージングプローブの開発へ応用可能であることが期待されます。

【成果の意義/今後の展望】

本研究により、光散乱性が高く従来は観察が困難であった骨髄や皮膚において、生きたままの細胞の形態・動態を高精度に可視化できる新たな手法が確立されました。これにより、光学的制約により解析が難しかった骨髄内の造血環境や、皮膚における多様な細胞挙動を、非侵襲的かつリアルタイムに追跡することが可能になります。さらに、本研究では未実施ですが、他の臓器・組織における細胞形態や動態観察にも適用できると期待されます。

この技術は、がんや炎症性疾患など、細胞形態の変化が顕著に現れる疾患の早期診断や病態解明に大きく貢献する可能性があります。また、がん細胞の転移能評価、幹細胞の分化過程、免疫細胞の動態解析、さらには薬剤の作用メカニズム評価など、創薬研究や再生医療における幅広い応用も見込まれます。

さらに、本研究で示されたアニオン性アンカーの導入による高水分散性の獲得という設計指針は、スクアライン発色団に限らず、他の近赤外蛍光発色団にも適用可能であることが示唆されました。この汎用性により、今後は発色団の種類や特性に応じたカスタマイズが進み、生体深部イメージングやマルチカラー観察など、より多様な生体計測技術の開発が期待されます。

【論文情報】

掲載雑誌：Chemical Science

URL：<https://pubs.rsc.org/en/content/articlehtml/2025/sc/d5sc03047a>

論文名：Bright and Water-Dispersible Membrane Probes Enable Visualization of Cellular Morphologies and Dynamics in Light-Scattering Tissues of Living Mice

DOI：<https://doi.org/10.1039/D5SC03047A>

著者：Takumi Uemura¹, Ryosuke Kawakami², Hitomi Seki¹, Satoshi Yoshida³, Masamoto Murakami^{4,5}, Takeshi Imamura², Hadano Shingo¹, Shigeru Watanabe¹, and Yosuke Niko^{1,6}

(1 高知大学教育研究部総合科学系複合領域科学部門, 2 愛媛大学大学院医学系研究科分子病態医学講座, 3 愛媛大学大学院医学系研究科皮膚科学講座, 4 宮崎大学医学部解剖学講座組織細胞化学分野, 5 名古屋市立大学大学院医学研究科加齢・環境皮膚科, 6 高知大学医学部光線医療センター)

【用語解説】

注 1) 蛍光イメージング

蛍光イメージングとは、「蛍光」という光で組織・細胞などを可視化する技術です。蛍光とは、安定な状態（基底状態）にある分子が光を吸収して高エネルギー状態（電子励起状態）になり、その後、基底状態に戻る際に放出される光です。通常、吸収する光と放

出される蛍光では波長が異なります。この性質を利用し、組織や細胞に蛍光物質（蛍光プローブ）を結合または取り込ませることで、生体内の構造や動きを顕微鏡で観察できます。

注2) 両親媒性

両親媒性とは、水になじむ性質（親水性）と油になじむ性質（疎水性）の両方を併せ持つ性質のことです。この性質を持つ分子は、水溶液中では自己集合しやすく、同時に脂質膜（細胞膜）に挿入することもできます。洗剤や細胞膜プローブなどに利用される重要な特性です。

注3) 蛍光 OFF 状態

蛍光 OFF 状態とは、蛍光分子が光をほとんど発しない状態のことです。一般的に、蛍光分子は水中で凝集すると、エネルギーが非放射的に失われ、蛍光が消失します（※逆に、凝集することで蛍光性が強化される分子も一部存在します）。一方、分子が脂質膜などの適切な環境に移動すると、凝集が解消され、蛍光が回復する「ON 状態」に切り替わります。この「OFF-ON」切り替えは、環境応答性を示す重要な機能です。

注4) 二光子励起蛍光顕微鏡

一般的に、蛍光分子は1つの光子を吸収して電子励起状態に達します（一光子吸収、一光子励起）。二光子励起蛍光顕微鏡とは、蛍光分子に近赤外線の光を2つ同時に吸収させて蛍光を発生させる特殊な顕微鏡です。この手法では、一光子励起に比べて長波長の光を用いるため、組織による光の散乱や吸収が少なく、生体の深部まで観察できます。これにより、生きた動物の体内にある細胞や構造を、非侵襲的に高精度で観察することが可能になります。

【研究助成】

本研究は、国立研究開発法人 科学技術振興機構 ACT-X（課題番号 JPMJAX211D）、科研費基盤 B（課題番号 23H01936、22K06960、21H03056）、中谷財団、武田科学振興財団、内藤記念科学振興財団、上原記念生命科学財団、高松宮妃癌研究基金、および先端バイオイメージング支援プラットフォーム（ABiS, 科研費課題番号 16H06280）などの支援を受けました。

【問い合わせ先】

<研究に関すること>

高知大学教育研究部総合科学系複合領域科学部門 准教授

仁子 陽輔

TEL : 088-844-8962

E-mail : y.niko@kochi-u.ac.jp

<報道関係>

高知大学広報・校友課広報係

TEL : 088-844-8643 FAX : 088-844-8033

E-mail : kh13@kochi-u.ac.jp

愛媛大学医学部総務課総務・広報チーム

TEL : 089-960-5943 FAX : 089-960-5131

E-mail : mesyomu@stu.ehime-u.ac.jp