

# 令和 6 年度 未来研究ラボシステム 研究成果報告書

研究種目：新領域開拓研究 研究期間：令和 6 年 10 月 ～ 令和 9 年 9 月（予定）

研究課題名：「脂肪滴の個性」から脂肪性肝疾患を捉える分子分光学の創成

ラボ長

所属：大学院基礎工学研究科 システム創成専攻 電子光科学領域

職位 教授 氏名：南川丈夫

研究成果：

(概要)

本研究は、脂肪滴の個性に基づいた「脂肪滴機能病理学」という新たな学際的学術領域の開拓を目指す。本年度は、「脂肪滴の個性」を可視化する分子分光学の開拓を行った。特に、ラマン分光法（脂肪滴を構成する脂質分子構造解析）、SHG 分光法（線維化解析）、蛍光分光法（タンパク質の分布解析）を同一組織・同一視野で観察可能なマルチモーダル顕微鏡を構築した。さらに、生体の機能を阻害せず、生体組織を構成する微量分子（分子濃度 pM～nM）の検出が可能な、生体に優しい高感度ラマン分光法の開発に成功した。

(本文)

【研究目的】

代謝性機能障害に伴う脂肪性肝疾患(MASLD)は、世界人口の約 40%が罹患し、その病因解明と治療法の開発は喫緊の課題である。MASLD の初期の組織学的特徴は脂肪蓄積であるが、その後に良性の単純性脂肪肝と、炎症を伴う悪性の脂肪肝炎(MASH)に疾患の進行が分かれる。これは、蓄積する脂肪の違いが関連していることが示唆されているが、蓄積脂肪の疾患に対する病理機序は未解明である。また、超早期の病態においては、肝炎や線維化等の予兆を判断できる組織学的特徴が現れにくく、肝炎発症前の状態での良性・悪性の予後診断は実現されていない。

そこで本研究では、蓄積した脂肪（脂肪滴）中の脂質分子種、分子構造、脂肪滴内結晶、硬さなどの「脂肪滴の個性」を捉える光計測法（分子分光学）を開拓し、脂肪滴の個性に基づいた「脂肪滴機能病理学」という新たな学際的学術領域の開拓を目指す。

【研究成果】

本年度は、「脂肪滴の個性」を可視化する分子分光学の開拓のために、主に（１）マルチモーダル顕微鏡の構築、（２）生体に優しい高感度ラマン分光法の開発について研究を行った。

（１）マルチモーダル顕微鏡の構築

本年度は、特にラマン分光法（脂肪滴を構成する脂質分子構造解析）、SHG 分光法（線維化解析）、蛍光分光法（細胞核やタンパク質の分布解析）に着目し、それぞれの分光法を同一組織・同一視野で観察可能なマルチモーダル顕微鏡を構築した。

図 1 に開発したマルチモーダル顕微鏡の外観を示す。本光学系は倒立顕微鏡をベースに構築し、同一組織・同一視野でラマン分光法、SHG 分光法、蛍光分光法による解析を実現できる。具体的には、ラマン分光法では、532 nm シングルモードレーザーを光源として採用し、励起光の偏光を

任意に調整した後、ガルバノミラーを介して試料に照射した。試料から発生したラマン散乱光は反射方向に配置した冷却 CCD を備えた分光器で検出した。SHG 分光法では、光源として 785 nm のフェムト秒ファイバーレーザーを採用し、励起光の偏光を任意に調整した後、ラマン分光法と同一のガルバノミラーを介して試料に照射した。試料から発生した SHG 光は透過方向に配置した光電子増倍管で検出した。蛍光分光法では、LED ランプ光源を採用し、CCD カメラで計測を行った。また、他にも明視野観察、偏光観察（クロスニコル配置）なども同時に計測できるシステムとした。

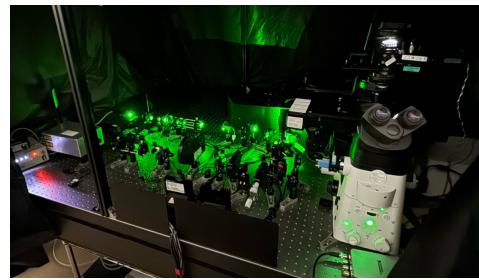


図 1 開発したマルチモーダル顕微鏡

図 2 に、MASLD モデルマウスの肝臓組織を開発したマルチモーダル顕微鏡で分析した結果を示す。明視野、偏光観察、蛍光分光、ラマン分光、SHG 分光を同一視野でイメージングできている事がわかる。また、ラマン分光解析においては、各ポイントのラマンスペクトル解析から、トリグリセリドやコレステロールの分子分布や、脂質不飽和度といった分子構造解析も可能とした。以上の成果により、MASLD 肝臓組織における脂肪滴の分子組成解析、およびその周囲の組織状態（炎症、線維化など）を同一組織で解析可能なシステムの構築に成功した。

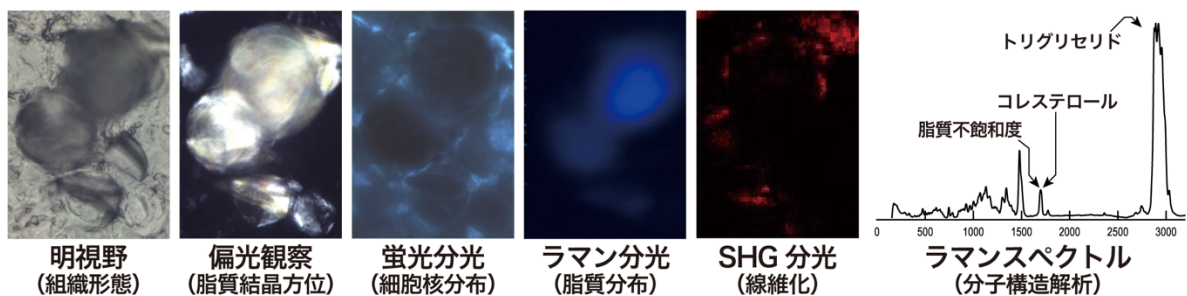


図 2 開発したマルチモーダル顕微鏡による、MASLD モデルマウスの肝臓組織の分子分光解析

## （２）生体に優しい高感度ラマン分光法の開発

次に、生体を構成する微量分子検出（分子濃度 pM～nM）が可能な、生体に優しい高感度ラマン分光法の開発も行った。具体的には、スライドガラスを基板とし、銀ナノ構造（直径 20 nm 程度）、その上部に SiO<sub>2</sub> ナノピラー構造（高さ 100 nm 程度）をスパッタリング法で構築した光増強基板を開発した（図 3）。通常、生体試料が金属構造と接触すると意図しない反応（生体分子の変性、生体機能変性、ナノ構造の崩壊など）が起こる。しかし本システムでは、力学的・化学的に安定な SiO<sub>2</sub> ナノピラー構造が試料と接触するため、上記問題を解決できる。

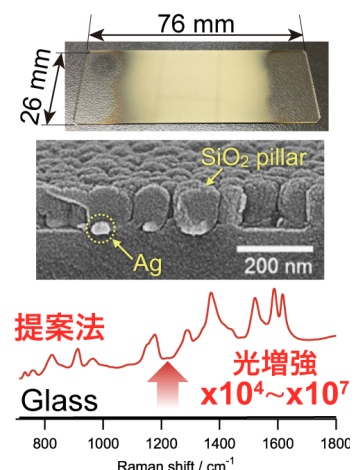


図 3 光増強基板による高感度ラマン分光法

開発した光増強基板を図 3 に示す。本基板を用いることで、ラマン散乱光強度を最大 10<sup>7</sup> 程度（ローダミン 6G 分子）増強できることを明らかにした。分子検出感度は 1 pM であった。以上の成果により、MASLD 肝臓組織を構成する微量分子の計測可能性も示すことができた。今後は、開発したマルチモーダル顕微鏡と組み合わせることによって、脂肪滴の個性とその周囲の微量分子との相関解析等へつなげる。

研究経費（R6 年度）の内訳：

| 備品費       | 消耗品費      | 旅費        | 謝金  | その他       | 合計        |
|-----------|-----------|-----------|-----|-----------|-----------|
| 157,080 円 | 434,090 円 | 163,340 円 | 0 円 | 145,490 円 | 900,000 円 |

共同研究者等：

(1)共同研究者（氏名・所属）

加藤遼 大阪大学 大学院基礎工学研究科 システム創成専攻 電子光科学領域  
 長谷栄治 徳島大学 ポスト LED フォトニクス研究所  
 清水真祐子 徳島大学 大学院医歯薬学研究部 疾患病理学分野  
 常山幸一 徳島大学 大学院医歯薬学研究部 疾患病理学分野

(2)研究協力者（氏名・所属・学年（学生の場合））

河嶋祥吾 大阪大学 大学院基礎工学研究科 システム創成専攻 電子光科学領域, M1  
 居村拓弥 大阪大学 大学院基礎工学研究科 システム創成専攻 電子光科学領域, M1  
 田口翔汰 大阪大学 大学院基礎工学研究科 システム創成専攻 電子光科学領域, M1  
 Yanying Zhu 大阪大学 基礎工学部 電子物理科学科 エレクトロニクスコース, 研究生  
 鈴木聖矢 大阪大学 基礎工学部 電子物理科学科 エレクトロニクスコース, B4  
 黒沼慎太郎 大阪大学 基礎工学部 電子物理科学科 エレクトロニクスコース, B4  
 大谷尚聡 大阪大学 基礎工学部 電子物理科学科 エレクトロニクスコース, B4  
 大野流晟 大阪大学 基礎工学部 電子物理科学科 エレクトロニクスコース, B4  
 高階剛 徳島大学 大学院創成科学研究科 理工学専攻 機械科学コース, M2  
 山本青空 徳島大学 大学院創成科学研究科 理工学専攻 機械科学コース, M2  
 大久保直哉 徳島大学 大学院創成科学研究科 理工学専攻 機械科学コース, M2  
 宮本翔太 徳島大学 大学院創成科学研究科 理工学専攻 機械科学コース, M2  
 塩田晃大 徳島大学 大学院創成科学研究科 理工学専攻 機械科学コース, M2  
 天野泰志 徳島大学 大学院創成科学研究科 理工学専攻 機械科学コース, M1  
 金澤正希 徳島大学 大学院創成科学研究科 理工学専攻 機械科学コース, M1  
 西萌花 徳島大学 理工学部 理工学科 医光/医工融合プログラム, B2  
 三浦歩桜 徳島大学 理工学部 理工学科 医光/医工融合プログラム, B2

発表論文等（令和 7 年 3 月 31 日現在）：

〔雑誌論文〕

1. **\*E. Hase**, N. Okubo, Y. Ogura, **T. Minamikawa**, and T. Yasui, "Multimodal second-harmonic-generation, two-photon excitation fluorescence, and Brillouin microscopy for visualising dermal mechanical properties in ex vivo human skin", *Experimental Dermatology*, 34 (3), e70081 (2025).
2. **\*T. Minamikawa**, R. Sakaguchi, Y. Harada, H. Tanioka, S. Inoue, H. Hase, Y. Mori, T. Takamatsu, Y. Yamasaki, Y. Morimoto, M. Kawasaki, and M. Kawasaki, "Long-range enhancement for fluorescence

and Raman spectroscopy using Ag nanoislands protected with column-structured silica overlayer", *Light: Science & Applications*, 13 (1), 299 (2024).

〔著書〕 該当なし

〔学会発表〕

1. 南川丈夫, 田口翔汰, 居村拓弥, 加藤遼, 川崎昌博, 川崎三津夫, "リモートプラズモニックラマン分光法におけるプラズモン-分子遠隔共鳴カップリングの実験的検証", 第 72 回応用物理学会春季学術講演会, 千葉, 3 月 14-17 日 (2025).
2. 西萌花, 高階剛, 長谷栄治, 南川丈夫, "脂肪酸/コレステロール混合培地環境下における HepG2 細胞に蓄積した脂肪滴のラマン分光解析", 次世代光フォーラム 2025 in 徳島, 徳島, 2 月 1 日 (2025).
3. 三浦歩桜, 金澤正希, 長谷栄治, 清水真祐子, 常山幸一, 南川丈夫, "代謝機能障害に伴う脂肪性肝疾患モデルマウス肝組織のマルチモーダル分光イメージング解析", 次世代光フォーラム 2025 in 徳島, 徳島, 2 月 1 日 (2025).
4. N. Okubo, E. Hase, Y. Ogura, Y. Tokizane, T. Minamikawa, and Takeshi Yasui, "Development of multimodal SHG, TPEF, and Brillouin scattering microscopy for analyzing skin micromechanics," in BiOS2025, Photonics West 2025, San Francisco, California, USA, January 26 (2025).
5. 居村拓弥, 田口翔汰, 加藤遼, 川崎昌博, 川崎三津夫, 南川丈夫, "リモートプラズモニック増強ラマン分光法における Ag/SiO<sub>2</sub> 構造に依存したラマン増強特性", レーザー学会学術講演会第 45 回年次大会, 広島, 1 月 21-23 日 (2025).
6. 長谷栄治, 大久保直哉, 小倉有紀, 時実悠, 南川丈夫, 安井武史, "マルチモーダル光学顕微鏡を用いた真皮の力学特性解析", レーザ顕微鏡研究会第 49 回講演会・シンポジウム, 大阪, 12 月 10-11 日, (2024).
7. 居村拓弥, 田口翔汰, 加藤遼, 川崎昌博, 川崎三津夫, 南川丈夫, "銀/シリカ構造に依存したリモートプラズモニック増強分光特性", レーザ顕微鏡研究会第 49 回講演会・シンポジウム, 大阪, 12 月 10-11 日, (2024).
8. 天野泰志, 田口翔汰, 居村拓弥, 安井武史, 川崎昌博, 川崎三津夫, 松本健志, 南川丈夫, "培養液環境における分子検出のための RPERS 分光法の安定性評価", レーザ顕微鏡研究会第 49 回講演会・シンポジウム, 大阪, 12 月 10-11 日, (2024).
9. 山本青空, 米倉大介, 安井武史, 川崎昌博, 川崎三津夫, 南川丈夫, "リモートプラズモニック増強ラマン分光法に用いる基板構造の機械的堅牢性評価", レーザ顕微鏡研究会第 49 回講演会・シンポジウム, 大阪, 12 月 10-11 日, (2024).
10. 金澤正希, 長谷栄治, 清水真祐子, 常山幸一, 安井武史, 佐藤克也, 南川丈夫, "代謝機能障害関連脂肪性肝疾患 (MASLD) 診断に向けたラマン・蛍光・SHG の同時イメージング", レーザ顕微鏡研究会第 49 回講演会・シンポジウム, 大阪, 12 月 10-11 日, (2024).
11. 高階剛, 西萌花, 佐藤克也, 安井武史, 南川丈夫, "脂肪酸含有培地で培養された肝細胞における脂肪滴のラマン解析", レーザ顕微鏡研究会第 49 回講演会・シンポジウム, 大阪, 12 月 10-

- 11 日, (2024).
12. 大久保直哉, 長谷栄治, 時実悠, 南川丈夫, 安井武史, "ブリルアンーラマン顕微鏡を用いた脂肪滴の力学特性可視化のための基礎検討", レーザ顕微鏡研究会第 49 回講演会・シンポジウム, 大阪, 12 月 10-11 日, (2024).
  13. 田口翔汰, 居村拓弥, 天野泰志, 加藤遼, 川崎昌博, 川崎三津夫, 南川丈夫, "RPERS 基板の化学的安定性のシリカ柱状構造依存性", Optics and Photonics Japan 2023, 東京, 11 月 29 日-12 月 1 日 (2024).
  14. 高階剛, 西萌花, 佐藤克也, 安井武史, 南川丈夫, "ラマン分光法による肝細胞への脂肪酸の取り込みと代謝の評価", Optics and Photonics Japan 2023, 東京, 11 月 29 日-12 月 1 日 (2024).
  15. S. Taguchi, T. Imura, R. Kato, M. Kawasaki, M. Kawasaki, and T. Minamikawa, "Highly sensitive biosensing by Raman spectroscopy with plasmon-molecule remote coupling in distance over 100 nm", The 22nd Annual Meeting of The Japan Association of Medical Spectroscopy & Biomedical Raman Imaging Workshop 2024, Osaka, Japan, November 25-27 (2024).
  16. 南川丈夫, "医学の新たな地平を拓く分子フォトンクス", 大阪大学基礎工学研究科産学交流会, 大阪, 11 月 21 日 (2024).
  17. 金澤正希, 長谷栄治, 清水真祐子, 常山幸一, 安井武史, 佐藤克也, 南川丈夫, "ラマン・蛍光・偏光・SHG の同時イメージングによる代謝機能障害関連脂肪性肝疾患 (MASLD) の分子解析", 第 11 回日本光学会関西支部講演会, 兵庫, 11 月 5 日 (2024).
  18. 天野泰志, 安井武史, 川崎昌博, 川崎三津夫, 松本健志, 南川丈夫, "化学的安定性を有するプラズモニクナノ構造を用いたリモートプラズモニク増強ラマン分光法の開発", 第 11 回日本光学会関西支部講演会, 兵庫, 11 月 5 日 (2024).

〔その他〕該当なし

#### 外部資金獲得状況・申請状況：

- (採択) JST 共創の場形成支援プログラム フォトニクス生命工学研究シーズ支援研究費  
南川丈夫 (代表), 常山幸一, “簡便に線維化を可視化する第二次高調波発生顕微鏡の開発”
- (採択) 科研費 基盤研究 (B)  
長谷栄治 (代表), 南川丈夫, 時実悠, “光学的手法による生体力学特性の 3 次元的可視化”
- (申請中) JST 創発的研究支援事業  
南川丈夫 (代表), “リモートプラズモニク分子分光学の創成”
- (申請中) 科研費 挑戦的研究 (開拓)  
南川丈夫 (代表), 常山幸一, 清水真祐子, 長谷栄治, 加藤遼, “代謝性機能障害に伴う脂肪性肝疾患の超早期病理診断法の開拓”

#### 参考となる HP 等：

<https://www.molecular-photonics.com/>