

## I. 免疫細胞と骨代謝

3. 免疫細胞による骨代謝制御：  
生体イメージング

Intravital imaging of the immune system and bone metabolism

菊田 順一・石井 優

Junichi Kikuta(助教), Masaru Isbii(教授) / 大阪大学大学院医学系研究科/生命機能研究科免疫細胞生物学

## key words

生体イメージング  
二光子励起顕微鏡  
破骨細胞  
Th17細胞

我々は、二光子励起顕微鏡を駆使して、個体を“生きたまま”で観察することにより、生体骨・関節組織内における“生きた”細胞動態を経時的に観察するライブイメージング系を確立した。本技術を用いて、骨表面上での“生きた”破骨細胞による骨破壊過程をリアルタイムで観察することに成功し、関節リウマチの病因にかかわるTh17細胞が破骨細胞の骨吸収を制御し得ることを明らかにした。

## はじめに

骨代謝は主に破骨細胞や骨芽細胞、骨細胞によって担われているが、その制御に免疫系が深く関与することが知られるようになり、骨免疫学という新たな領域が注目されている。これまでに、骨免疫学にかかわる分子が数多く同定され、それらの機能が解明されつつあるが、その研究のほとんどは、固定した骨・関節組織を切り出して顕微鏡で観察していた。この方法でも、組織内に存在する細胞の種類や局在を解析することはできたが、個々の細胞の動きや機能、細胞同士の相互作用を捉えることはできなかった。細胞の挙動をみるためには、“生きた”組織の中で“生きた”細胞を観察する必要がある。

近年、低侵襲で深部組織の観察に適した二光子励起顕微鏡の登場により、個体を“生きたまま”で観察することで、*in vivo*での免疫細胞の動態をリアルタイムで解析することが可能となってきた。我々は特に、生体イメージング系を独自に改良することで、生きた状態のマウスの骨の表面部分を詳細に可視化する系を開発した。その結果、骨表面上での“生きた”破骨細胞による骨破壊過程をリアルタイムで観察することに成功し、破骨細胞が骨吸収期と休止期を繰り返すこと、関節リウマチの病因にかかわるTh17細胞が破骨細胞の骨吸収を制御し得ること、さらには分子標的治療薬が炎症によって誘導された破骨細胞の骨吸収を抑制し得ることを明らかにした。さらに最近、関

節組織の*in vivo*イメージング系を確立し、関節炎における破骨細胞の動態解析にも取り組んでいる。

本稿では、これらの研究成果について、実際の画像を紹介しながら概説する。

## 骨の生体二光子励起イメージング

二光子励起顕微鏡観察では、通常の蛍光顕微鏡で用いる励起光の半分のエネルギー(2倍の波長)の近赤外光(波長が780~1,000nm)を励起光として用いるため、組織の深部まで励起光を到達させることができる。また、二光子励起はレンズで集約された光子が集まる1点の焦点面にしか起こらないため、非常にクリアな画像が得られ、観察対象