

## 28 自己蛍光から得られる組織老化情報 (糖とコラーゲンの反応による蛍光)

○荒木 勉 (阪大・基礎工)、松本 林 (徳島大・歯)、北村清一郎 (徳島大・歯)

## Information of tissue aging from auto-fluorescence of collagen with sugar

Tutomu ARAKI (Graduate School of Engineering Science, Osaka Univ.),

Hayashi MATSUMOTO and Seiichiro KITAMURA (Univ. of Tokushima, Sch. of Dentistry)

**はじめに:** 加齢によって組織が硬化する原因の一つに、コラーゲン線維が糖と反応して形成される分子間クロスリンクがある。これは AGE (Advanced Glycation Endproduct) と呼ばれ、紫外線照射によって青白い自己蛍光を発する (励起ピーク波長 370nm, 蛍光ピーク波長 440nm)。我々のこれまでの観察によれば、象牙質の自己蛍光強度は加齢とともに増大し、また蛍光減衰時間が減少する。AGE が自己蛍光の主体とすれば、生体のあらゆるところで産生されるため、歯だけでなく軟組織の蛍光特性も老化指標となる。また、AGE はコラーゲンと還元糖との非酵素的反応物であるため、試験管内でも容易に生成できる。

そこで、今回はコラーゲンプレート、腱、象牙質に対して、還元糖 (リボース) を作用させた場合の自己蛍光特性の変化を調査した。

**装置:** ナノ秒時間分解顕微鏡蛍光分光光度計を使用した。励起光源の主発光線スペクトルは組織蛍光の励起波長に一致している。光源の発光時間幅 1.0ns、発光繰り返し周波数は 10KHz となった。蛍光顕微鏡光学系は Nikon 落射蛍光顕微鏡 (XF-EF) である。通常の静的落射蛍光測定に加えて、随時、時間分解測光に切り替える。時間分解測定は時間相関単一光子計数法を採用した。分解時間は 20ps である。

**試料:** コラーゲン試料として (1) コラーゲンプレート、(2) ラット尾腱、(2) ヒト象牙質切片を用意した。それぞれを 0.1M リボース溶液に浸し、37°C で恒温震盪した。震盪時間は (1) が 7 日、(2) が 21 日、(3) が 90 日である。対照試料はリボースを含まないバッファ液に同時間震盪したものをを用いた。

**結果:** リボースを加えた試料すべてで蛍光強度の増大が見られた (Table 1)。また、励起ピーク波長と蛍光ピーク波長は、それぞれの試料について同じであり (励起 380、蛍光 440nm)、この値は前述の AGE 文献値とほぼ合致している。

次に時間分解蛍光測定を行った。リボース反応試料ではナノ秒の蛍光減衰時間が短くなった。Fig. 1 にはコラーゲンプレートの波形を示す。この波形は寿命 (時定数) 2.8ns と 9.0ns の 2 成分の指数関数から成り立っている。リボースと反応することで 2.8ns 成分が

Table 1: Increase of fluorescence intensity by the reaction with ribose

Sample	Incubation (days)	Fluoresc. Intensity (with ribose/Control)
Collagen Plate	7	1.5
Rat Tail Tendon	21	2.3
Human Dentin	90	1.8

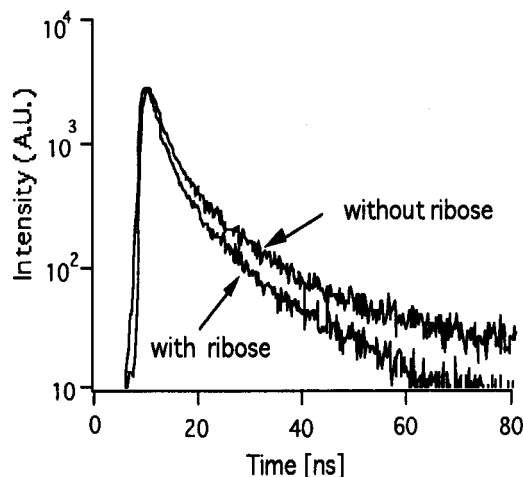


Fig. 1: Change of fluorescence decay curves of the collagen plate by the reaction with ribose

増大した結果、見かけの蛍光減衰時間が短縮したといえる。ラット腱では、(a)ほど顕著ではないが、リボースの作用で減衰時間が短縮し、象牙質も同様に蛍光減衰時間が短縮した。

**まとめ:** コラーゲンとリボースによって AGE が生成したと考えられる。AGE は寿命 2.8ns の成分に相当し、蛍光強度が増大すると同時に観測された蛍光減衰時間が短縮する。このような変化は、これまで我々が観測した加齢による蛍光変化と一致する。したがって、自己蛍光から組織の老化情報が得られることになる。

**謝辞:** 本研究に対し、文部省科研費・基盤(B)(2) 11480257および同12558108の補助を受けた。ラット腱試料は阪大基礎工学研究科の林研究室より提供を受けた。記して謝意を表します。