In situ 近赤外分光法による椎間板のプロテオグリカンとコラーゲンの定量分析

Quantitative analysis of proteoglycan and collagen in intervertebral disc using in situ near-infrared spectroscopy

千歳科技大理工 [1]，理研 [2]，○(DC)中村 郁哉 [1]，池水 友紀 [1]，弘中 翔大 [1]，
河本 千宙 [1]，中居 豪佑 [1]，礒島 隆史 [2]，木村-須田 廣美 [1]
Chitose Inst. of Sci. Tech.[1], RIKEN[2], °(DC)Fumiya Nakamura[1], Tomoki Ikemizu[1], Shota Hironaka[1], Chihiro Kawamoto[1], Gosuke Nakai[1], Takashi Isoshima[2], Hiromi Kimura-Suda[1]
E-mail: d2210030@photon.chitose.ac.jp

【背景と目的】椎間板や膝関節に代表される軟骨組織は，おもにコラーゲン，プロテオグリカン，水分から構成され，潤滑作用や衝撃吸収作用を担っている．一方，加齢や肥満，過剰な力学的負荷等が原因で発症する関節疾患では，軟骨組織のプロテオグリカンの変性や分解によるプロテオグリカン/コラーゲン比の低下に伴い，含有水を減少させることが報告されている．我々は関節の老化を評価するために in situ で非侵襲的評価が可能な近赤外分光法(NIR)に着目した．そこで本研究では，in situ NIR による軟骨組織中のプロテオグリカンとコラーゲンの定量分析法を確立するために，コンドロイチン硫酸とコラーゲンの NIR スペクトルに特徴的なバンドの 2 次微分強度による定量分析法を検討し，シロザケ椎間板のプロテオグリカン/コラーゲン比を求めた．【方法】$CaCO_3$ にコラーゲン(COL)又はコンドロイチン硫酸(CS)を混ぜ，それぞれ濃度が異なるタブレットを作製して NIR 測定を行ない，バンドの 2 次微分強度から検量線を作成した．次に，シロザケの椎間板から髄核と線維輪を取り出し，それぞれ NIR スペクトルを得た．【結果】COL ならび CS の濃度と 5800 cm^{-1} に観察される C-H 伸縮振動由来のバンドの 2 次微分強度は強い正の相関を示した(Fig. 1)．また，COL のみで確認された 4260 cm^{-1} のバンドの 2 次微分強度も強い正の相関を示した．これらの結果を踏まえて，それぞれの 2 次微分強度比から，COL ならびに CS の 5800 cm^{-1} の 2 次微分強度への寄与の違いを検討し，シロザケの髄核と線維輪におけるプロテオグリカン/コラーゲン比を求めた．【結論】In situ NIR で得られた 4260 cm^{-1} と 5800 cm^{-1} のバンドの 2 次微分強度比を用いたプロテオグリカンとコラーゲンの定量的な評価法の有用性が示された．(本研究の一部は JSPS 科研費 JP19K09633 の助成を受けたものです．)

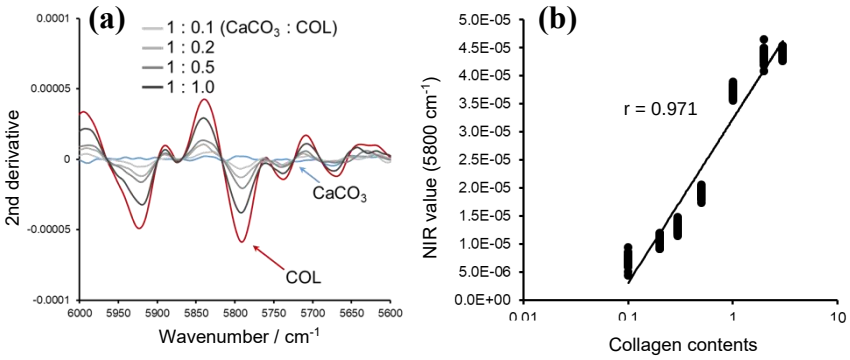

Fig.1 Second-derivative NIR spectra of COL+$CaCO_3$ tablets (a) and calibration curve for COL(b).