

論文内容要旨

報告番号	甲 先 第	270	号	氏 名	長谷 栄治
学位論文題目	第2高調波発生光顕微鏡を用いた コラーゲン線維の <i>in situ</i> 可視化とバイオ応用				
<p>内容要旨</p> <p>SHG (SHG: second-harmonic-generation, 第2高調波発生) 顕微鏡では, 非中心対称構造物質と超短パルス光が有する高ピーク光電場の非線形相互作用により波長変換が起こり, 入射レーザー光の半波長となるSHG光が発生する. このSHG光を観測することにより, 非中心対称構造を有する生体構成物質 (コラーゲン, ミオシン, チューブリンなど) をコントラスト高く, 選択的に可視化できる. これまでのSHG顕微鏡のバイオ応用に関する先行研究では, 「コラーゲンの選択的可視化」能力を利用して, 顕微鏡下で組織観察する研究が主流であった. 一方, SHG顕微鏡が有する「コラーゲンの選択的可視化」と「<i>in situ</i>計測特性 (非破壊, 非染色, 低侵襲性)」の両特徴を活かしたバイオ応用に関する研究は, 国内外において散発的に報告されるのみである.</p> <p>そこで本研究では, 「コラーゲンの選択的可視化」と「<i>in situ</i>計測特性」という両特徴を活かしたバイオ応用という観点から, 組織工学と整形外科に関連した3つのトピックスに関する研究を行った.</p> <p>まず, 骨形成 (再生) 過程をコラーゲン動態の観点から明らかにするため, 培養骨芽細胞が産生したコラーゲン線維の動態を時系列でSHGイメージングし, 同一サンプルの培養過程におけるコラーゲン構造変化の可視化を行った. 本手法を用いることにより, 同一サンプルの組織化過程におけるコラーゲン構造変化の時系列ダイナミクスを追跡することが可能となった.</p> <p>次に, 兔腱修復モデルを用いて, 断裂腱における修復度合いの定量的評価を試みた. 従来の破壊的もしくは侵襲的修復評価手法の代わりに SHG 顕微鏡を用いると, 同一サンプルに対して, SHG 顕微鏡による組織学的修復と引張試験による力学的修復の両方を評価することが可能となり, 組織学的修復と力学的修復の関連性に関する知見を得ることが可能になる. そこで, 正常腱および修復腱における平均 SHG イメージ強度とヤング率の相関を評価した. コラーゲン濃度のみならず, コラーゲン高次構造的に強く依存するパラメータである平均 SHG イメージ強度が, 修復度合いの定量的評価ツールとして利用可能かどうかの検討を行った.</p> <p>上述の平均 SHG イメージ強度は, 断裂腱の修復度合いの定量評価において適度な有用性を示したものの, 実験条件等の影響を受け易い. そこで, 平均 SHG イメージ強度に代わる代替評価パラメータとして, SHG 画像解析の利用を検討した. 正常腱および修復腱におけるコラーゲン線維の特徴的構造を, 2次元フーリエ変換に基づいた SHG 画像解析から抽出し, サンプル間のコラーゲン構造分布の違いを定量的に評価した.</p> <p>上記3つの研究結果から, 本手法の持つ「コラーゲンの選択的可視化」と「<i>in situ</i>計測特性」という両特徴は, バイオ分野におけるコラーゲン動態を評価する手法として有用であることが示唆された.</p>					