

様式 10

論文審査の結果の要旨

報告番号	甲 先 第 270 号	氏 名	長 谷 栄 治
審査委員	主査 岩 田 哲 郎 副査 松 本 健 志 副査 安 井 武 史		

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 *in situ* 可視化とバイオ応用

審査結果の要旨

SHG (SHG: second-harmonic-generation、第 2 高調波発生光) 顕微鏡は、「コラーゲンの選択的可視化」と「*in situ* 計測特性（非破壊、非染色、低侵襲性）」の両特徴を有する光学顕微鏡である。しかし、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」能力のみを利用して、顕微鏡下で組織観察する研究が主流であった。本研究では、「コラーゲンの選択的可視化」と「*in situ* 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。

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、培養骨芽細胞が產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。

次に、兎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/侵襲的な染色法の代わりに SHG 顕微鏡を用いることにより、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った。また、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、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。

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、実験条件等の影響を受け易い。そこで、代替評価パラメーターとして、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。

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「*in situ* 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ため、本論文は博士（工学）の学位授与に値するものと判定する。

なお、本論文の審査には、佐藤克也講師、南川丈夫講師の協力を得た。