

審査の結果の要旨

氏名 長島 優

本研究は、非染色下で分子特異性のある生体画像を得る技術として有望視されている CARS(coherent anti-Stokes Raman scattering)顕微分光法を、医学・生物学研究に活用するための方法論の提案を行うことを試みたものであり、下記の結果を得ている。

1. 複数の物質が混在する生体組織中の環境において、CARS スペクトルを用いて分子の存在判定を行うためには、「①非共鳴バックグラウンドの回避」、「②低波数領域での測定」、「③multiplex な信号取得」、「④物質に比例する測定信号」の4つの必須条件を満たした測定を行う必要があると考えた。これらの条件を満たす実験系として、本研究では「位相コントラスト増強によるシングルビーム CARS 顕微分光法」を開発し、光学系を実装した。
2. 本測定法が生体組織の観測において有利な上記の4条件を備えている理由は、光源パルスの位相変調に同期した共鳴 CARS 信号の電場変化を、相対的に強度の大きな非共鳴 CARS 信号を参照信号としてヘテロダイン検出するという測定原理に密接に関連している。測定原理について数値シミュレーションを交えた考察を行い、上記4条件が達成される様子を理論的に考察し、確認した。
3. 上記の測定系を用いて、CARS スペクトルが既に知られているハロゲン化有機物の測定を行い、本研究で開発した方法論が上記の4条件を備えていることを実際に確認した。
4. 本測定系を用いて生体組織中の分子の存在判定を行い、生物学的研究に供するためのアプリケーション戦略として、「(i). 分子特異的 signature の発見」、「(ii). 系の事前情報が無い状況での Blind Source Separation」の二つの方法論を提案した。また、下記に示すようにそれぞれの戦略が実際に work することを実証した。
5. 第一の戦略「(i). 分子特異的 signature の発見」の例として、生理活性を示す低分子であるハロゲン化吸入麻酔薬(sevoflurane と isoflurane)をとりあげ、その低波数領域の CARS スペクトルを測定、初めて報告した。これらの分子は分子量が小さく、従来蛍光標識が困難であった。観測できた低波数領域の振動モードには、生体組織では比較のまれなハロゲン原子が複数関わっており、高い分子特異性を持つ標識として機能することが期待された。さらに sevoflurane のスペクトル波形の特徴が、イカ巨大軸索の軸索質という生体試料中で

も、sevoflurane の存在を示す分子内因性標識として機能することを実証した。

6. 第二の戦略「(ii). 複数の分子種が混合している状況での **Blind Source Separation**」の例として、2 種類あるいは 3 種類の物質の混合溶液の複数の測定スペクトルから、独立成分分析による **Blind Source Separation** を用いて、事前の情報無しに混合物質数・混合比率・各物質のスペクトルの 3 者の情報が推定できることを示した。

以上、本論文は **CARS** 顕微分光法を用いて生体組織中の分子の存在判定を行うための方法論を提案し、それを実現する測定系の開発を行った。また提案した方法論が実際に有効であることを実証する実験を行った。**CARS** 顕微分光法は、非染色下で分子特異性のある生体画像を得る技術として有望視されているが、現実的に医学・生物学的研究で活用されるには至っていなかった。本研究は、今後 **CARS** 顕微分光法を医学・生物学的研究に本格活用していく上で重要な **milestone** となる提案であり、学位の授与に値するものと考えられる。