

学位論文審査結果の要旨

氏名	清松 悠
審査委員	主査 北澤 莊平 副査 阪中 雅広 副査 松井 誠司 副査 中城 公一 副査 菊池 恵一

論文名 変形性関節症モデルにおける診断的応用を目的とした第二次高調波発生 (SHG) イメージングによる軟骨変性過程の定量的評価

審査結果の要旨

変形性関節症 (OA: osteoarthritis)は、軟骨破壊や骨の異常増殖に特徴づけられる炎症性慢性疾患であり、その早期診断が実現すれば患者の QOL(quality of life)向上につながることを期待される。しかしながら、従来のレントゲンやCT スキャンによる画像診断法では、軟骨組織を直接造影することはできず、MRI においても軟骨の変性を高感度で検出することは困難である。近年、疾患モデル動物を用いた病態解明や診断・治療法開発のための研究ツールとして、光イメージング技術が注目されている。特に、先端的光学技術を駆使した多光子励起顕微鏡を用いた非線形光学光イメージングを用いることにより、生体組織を傷つけずに高い空間分解能で細胞・組織の形態変化や生体分子の動態をリアルタイムかつ、多次元的に捉えることが可能となってきた。

清松悠氏等は、先進的なイメージング技術として注目されている第二次高調波発生 (second harmonic generation: SHG) イメージングと画像解析法および統計解析法によって、軟骨組織の形態学的特徴や変性の程度を定量化し、診断的応用への展開を目指した多光子励起顕微鏡の基盤技術の確立を目的として以下のような検討を行った。

- ① マウス変形性関節症モデルを作成し、多光子励起顕微鏡による観察を病理組織学的な検討と対比させ、多光子励起顕微鏡の有用性について検討を行った。
- ② 同様に、自然発症の変形性関節症を模した老齢マウスにおいても軟骨変性の評価を行った。この際、全身の細胞核が蛍光で確認できる H2B-GFP マウスを用いて、軟骨基質の SHG イメー

ジと軟骨細胞における GFP の 2 光子励起蛍光イメージを取得して、コントロールマウスと対比させて軟骨変性の評価を行った。

その結果、定量的画像解析によって関節軟骨表面の不整像、軟骨基質の微細な構造破壊、シグナル強度分布の不均一化、軟骨細胞数の有意な減少を明らかにすることに成功した。さらに、画像視野中の SHG シグナルの分布を標準偏差 (standard deviation: SD) が高い値を示す群と低い値を示す群に分類することが出来、SD 低値群では、軟骨層の菲薄化、硝子軟骨の異所性増生が見られ、SD 高値群では繊維軟骨増生や軟骨下骨の露出が認められることを明らかにした。清松悠氏は、これらの発見により、軟骨基質中の II 型コラーゲンの分子構造や組成変化など、軟骨変性の過程を定量的に評価することによって、OA の新たな診断指標となり得ることを示した。

本論文の公開審査会は、平成 27 年 2 月 2 日に開催された。清松悠氏による研究内容の英語による発表の後、1) SHG イメージングの分解能、焦点深度、生物学的な意義、2) 人に対する応用と変形性関節症を早期発見にむけての実用性、3) 治療展開への展望、4) 病理形態的な特徴である fibrillation 所見がどのように観察されるか、5) 病理診断との併用の有用性などについて審査委員より質問があり、清松悠氏はそれに対して明快に応答した。英語による発表は、研究の背景から今後の展望まですべての研究内容が正確に英語で表現されており、スライドに用いられた図表も必要かつ十分なものが選別されていた。従って、審査委員会は全員一致して、本研究が学位に値すると判断した。