

(様式11)

論文審査の要旨 (課程博士)

生物システム応用科学府長 殿

審査委員 主査 西舘 泉 (印)
副査 岩井 俊昭 (印)
副査 斎藤 隆文 (印)
副査 佐藤 俊一 (印)
副査 石田 寛 (印)

学位申請者	<u>生体機構情報システム学 専修 平成 26 年度入学 学籍番号 14701205</u> 氏名 AKTER SHARMIN
申請学位	博士 (工学)
論文題目	In vivo evaluation of hepatic hemodynamics and tissue morphology on the basis of diffuse reflectance spectroscopy (拡散反射分光法に基づく肝血行動態と組織形態のインビボ評価)

論文審査要旨 (2,000 字程度)

肝臓は、代謝、排出、解毒、体液の恒常性維持など、生体内において多種多様な役割を担っており、その機能は数百種類にもおよぶと言われている。また、肝臓は他の臓器と比較して再生能力の高い臓器であるが、障害が不可逆的で自己再生が不可能になった場合には肝移植が行われる。また、肝切除や肝移植では一時的な肝臓への血流遮断後に再灌流が行われるが、この肝臓の虚血-再灌流は手術後に様々な合併症を引き起こすことが知られている。従って肝切除や肝移植では、肝組織の所望の部位の生存能(バイアビリティ)を正確に把握することが必要とされる。近年、光学的手法を用いて生体組織における内因性光信号 (Intrinsic Optical Signals, IOSs) に基づき組織のバイアビリティを評価する試みがなされている。生体組織における主要な IOSs は、光散乱特性や吸収特性の変化であり、血行動態変化と細胞組織レベルでの代謝変化によるものが考えられる。前者は、血流量の増減による光吸収・散乱変化や血中ヘモグロビンの酸素化-脱酸素化による吸収変化であり、後者はエネルギー代謝に関わるチトクローム類の酸化-還元による吸収変化や細胞および細胞内小器官の形態変化に起因する光散乱変化であるとされている。生体で得られる IOSs はこれらの全てが反映されていると考えられている。IOSs を用いた生体機能計測の研究として、これまでに組織切片スライスを用いた生体外 (in vitro) 計測や露出組織に対して行う生体内 (in vivo) 計測が報告されている。組織切片スライスを用いた in vitro 計測では培養液等の灌流系を用いることで、血流、ヘモグロビンの酸素化-脱酸素化による強い光吸収の影響を受けずに、細胞の代謝・活性を保持した状態で、拡散反射率や透過率を計測することが可能であるが、散乱特性や吸光特性などの光学特性値を分離・定量化する方法が確立されておらず、このことが、IOSs の詳細な評価を困難にしている。一方で生体内 (in vivo) 肝組織を対象とした研究では、主にレーザードップラー法やレーザーSpeckle法を用いた肝血流の評価が行われている。また、拡散反射分光法を用いた肝組織の血行動態変化、チトクローム c オキシダーゼの酸化-還元反応の計測も行われている。拡散反射分光法は、簡易な光学システムにより対象の分光情報を取得することが可能であり、in vivo 肝組織の IOSs の時・空間的な変化を同時に評価できる可能性を有している。しかしながら、これまでに提案されている方法はヘモグロビンやチトクローム c オキシダーゼの吸光変化に着目したものがほとんどであり、in vivo 肝組織の吸光変化と光散乱変化を同時かつ定量的にイメージングする方法は報告されていない。

本論文は、これらの従来法が抱える問題点を克服する新たな計測法を開発することで、肝組織の IOSs のより詳細で正確な把握の実現を目指している。

本論文は6章で構成されている。以下に、各章の内容の概要を述べる。

第1章では、光を使った生体組織の光学特性値計測法及び本論文の各研究に関わる領域の背景を述べている。また、本研究を行うに至る動機と、各研究の趣旨についても述べている。

第2章では、生体組織及び光学における本論文に関わる基礎知識について述べている。特に生体組織内の光伝搬モデルについて詳しく述べている。

第3章では、*in vivo* 肝組織の吸収係数及び等価散乱係数の推定法について述べている。肝組織のバイアビリティを評価する上で、血流、ヘモグロビンの酸素化-脱酸素化による吸光変化に加え、組織そのものの光学特性変化を評価することが重要である。そこで、反射光計測用プローブで取得した分光拡散反射率から、光伝搬モンテカルロ法を利用して等価散乱係数と吸収係数を推定する新しい方法を開発し、ラット肝臓に対する実験により提案法の確認を行っている。ラット肝門の閉塞-解放による肝虚血-再灌流モデルにより *in vivo* で肝組織バイアビリティ低下を誘発し、等価散乱係数と吸収係数の推定を行った結果、細胞形態変化を示唆する光散乱変化、また、ヘモグロビン量の増減と酸素化状態の変化に伴う吸光変化を分離・計測できることを確認している。

第4章では、チトクローム *c* オキシダーゼの酸化-還元変化を定量的に評価する方法について述べている。第3章で提案した方法に基づき、推定した吸収係数スペクトルを目的変数とし、酸化型のチトクローム *c* オキシダーゼと還元型のチトクローム *c* オキシダーゼのモル吸光係数スペクトルを説明変数とした重回帰モデルを適用することで、ヘム *aa3* の酸化-還元状態の相対変化を定量的に評価する方法について新たに提案を行っている。第3章と同様に、ラット肝門の閉塞-解放による肝虚血-再灌流モデルにより *in vivo* で肝組織バイアビリティ低下を誘発し、ヘム *aa3* 酸化-還元変化の推定を行った結果、肝虚血時において、ヘム *aa3* の相対値が有意に低下することが示され、本方法により *in vivo* 肝組織への酸素供給状態だけでなく細胞内のミトコンドリアのエネルギーレベルも評価できる可能性が得られている。

第5章では、*in vivo* 肝組織の血行動態と組織形態変化由来の光散乱特性変化のイメージング法について述べている。第3章および第4章で扱った方式は非侵襲的であるが、ファイバースコープを組織表面に接触させる必要があり、広範囲な計測にはファイバースコープの走査が必要となる。臨床での使用を想定した場合、組織バイアビリティを非接触かつ画像として捉えることが有用である。そこで、カラーカメラで計測した RGB 画像から、拡散分光反射率に対する光伝搬モンテカルロ法と重回帰分析を利用して酸素化ヘモグロビン、脱酸素化ヘモグロビン、光散乱特性を推定する新しい方法を開発している。ラット肝門の閉塞-解放による肝虚血-再灌流モデルに対する実験から、反射型ファイバースコープで得られた結果と同様の変化が得られることを確認している。また、虚血後の肝組織では、組織酸素飽和度や光散乱特性の変化に空間的な違いを可視化することに成功している。これにより、肝組織のバイアビリティを非接触かつ選択的に把握できる可能性が得られている。

第6章では、以上に述べた研究についてまとめるとともに、今後の行うべき研究の展望について述べている。以上を要するに、本論文は生きた肝臓組織の生存能評価のための非侵襲計測法の発展に貢献する価値があり、博士（工学）の学位にふさわしいものと認められた。