

学位論文審査の結果の要旨

Summary of Doctoral Dissertation Examination

氏名/Name	岩崎 啓太															
審査委員 Examining Committee	<table style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="text-align: center; border-bottom: 1px solid black;">Chief Examiner 主 査</td> <td style="text-align: center; border-bottom: 1px solid black;">山本 達之</td> <td style="text-align: right; border-bottom: 1px solid black;">(印)</td> </tr> <tr> <td style="text-align: center; border-bottom: 1px solid black;">Assistant Examiner 副 査</td> <td style="text-align: center; border-bottom: 1px solid black;">東 政明</td> <td style="text-align: right; border-bottom: 1px solid black;">(印)</td> </tr> <tr> <td style="text-align: center; border-bottom: 1px solid black;">Assistant Examiner 副 査</td> <td style="text-align: center; border-bottom: 1px solid black;">赤壁 善彦</td> <td style="text-align: right; border-bottom: 1px solid black;">(印)</td> </tr> <tr> <td style="text-align: center; border-bottom: 1px solid black;">Assistant Examiner 副 査</td> <td style="text-align: center; border-bottom: 1px solid black;">吉清 恵介</td> <td style="text-align: right; border-bottom: 1px solid black;">(印)</td> </tr> <tr> <td style="text-align: center; border-bottom: 1px solid black;">Assistant Examiner 副 査</td> <td style="text-align: center; border-bottom: 1px solid black;">石垣 美歌</td> <td style="text-align: right; border-bottom: 1px solid black;">(印)</td> </tr> </table>	Chief Examiner 主 査	山本 達之	(印)	Assistant Examiner 副 査	東 政明	(印)	Assistant Examiner 副 査	赤壁 善彦	(印)	Assistant Examiner 副 査	吉清 恵介	(印)	Assistant Examiner 副 査	石垣 美歌	(印)
Chief Examiner 主 査	山本 達之	(印)														
Assistant Examiner 副 査	東 政明	(印)														
Assistant Examiner 副 査	赤壁 善彦	(印)														
Assistant Examiner 副 査	吉清 恵介	(印)														
Assistant Examiner 副 査	石垣 美歌	(印)														
題目 Title	Raman spectroscopic studies coupled with MCR-ALS applied on some biomedical systems (MCR-ALS 法を組み合わせたラマン分光法による医・生物学的応用研究)															
<p>審査結果の要旨 (2,000字以内) / Summary of Doctoral Dissertation Examination (Within 1200 words)</p> <p>ラマン分光法は、ラベルフリー分子イメージングが可能なこと、および低侵襲性で非破壊な分子分析が可能であることを主な理由として、生物学的および医学的研究のツールとして注目を集めている。生物試料には多数の分子が混在的に存在するため、従来の単変量分析のみを用いたラマンスペクトルの解析では分子情報の全てを活かすことができない。そこで、交互最小二乗多変量曲線分解(MCR-ALS)を用いた解析手法が重要である。MCR-ALSは、ラマンスペクトルに含まれる分子の情報を純粋なラマンスペクトル成分に分解して、半定量的に評価できる多変量解析で、医・生物学分野における適用が期待されている。本研究では、医・生物学分野においてMCR-ALSを適用した2つの実践的な研究についてその研究成果を示すとともに、ラマン分光法とMCR-ALSを組み合わせた手法の有用性を示すことを目的とした。本論文は、次の2章から成る。</p> <p>1) 顕微ラマン分光法と多変量曲線分解を用いたユーグレナのワックスエステル発酵の可視化</p> <p>世界のエネルギー需要が増加する一方で、化石燃料の急速な枯渇が問題となっている。微細藻類バイオ燃料は、化石燃料の代替品として注目を集めている。そのうち <i>Euglena gracilis</i> は、ワックスエステルの一種、ミリスチン酸ミリスチル(C28)を多く蓄積する。これはジェット燃料に利用可能なドロップイン燃料の原料として期待されている。産業規模の生産を実現するには、高効率でワックスエステルを生産するような遺伝子組換え株をスクリーニングしたり、養条件を評価したりする手法が必要である。そこで、本研究では、顕微ラマン分光法を用いてワックスエステル発酵で産生される、生きた細胞内代謝物を視覚化する方法を示した。</p>																

ユーグレナは好気性条件でワックスエステル発酵の前駆物質パラミロンを蓄積し、嫌気性の条件でミリスチン酸ミリスチル(C28)を多く蓄積する。好気性条件下で培養したユーグレナを嫌气的条件に移して、パラミロンがミリスチン酸ミリスチルに代謝されていく過程の分子イメージングを行った。まず、パラミロン/ワックスエステルに対応するラマンマーカースペクトルを見出し、ラマンイメージングを得た。しかし、この方法（単変量解析）では、得られたイメージが異なる分子の寄与を同時に反映する可能性がある。そこで、多変量曲線分解(MCR-ALS)を用いたところ、ミリスチン酸ミリスチルの鎖長特異的なラマンスペクトル成分が得られ、正確な分子イメージングが得られた。また、ミリスチン酸ミリスチルの標準ラマンスペクトルが異なる2種類存在し、同一のラマンスペクトル成分がユーグレナでも得られることを明らかにした。単変量解析ではこの2種類のラマンスペクトルを反映したイメージングを得ることはできないため、MCR-ALS 解析を適用する重要性も同時に示すことができた。

2) 顕微ラマン分光法および多変量曲線分解による正常ヒト乳腺上皮細胞と乳癌細胞 (MCF-7) の客観的識別のための分子認識

非侵襲でラベルフリー分子認識可能なラマン分光法は、細胞学および組織病理学的診断の精度向上をもたらすことが期待されている。しかし、多くの研究報告では機械学習を適用することで高い診断精度を示す一方、細胞内の分子変化に関する具体的な理解を伴っていない傾向があり、ラマン分光法を用いた診断は、現在は臨床応用段階に達していない。これを、臨床応用するためには、分子情報に基づいた客観的な診断ができることを示す必要がある。そこで本章では、ヒト乳上皮細胞 (HMEpC) および乳がん細胞 (MCF-7) を細胞診モデルとして測定して、ラマンスペクトルマーカースペクトルの探索を行った。診断精度の算出のために、主成分分析 (PCA)、線形判別分析 (LDA)、およびサポートベクトルマシン (SVM) を含む様々な多変量解析を行った。教師あり学習である LDA と SVM によって、HMEpC と MCF-7 は正確に分類されたが、PCA では両者の識別を可能にする分子に基づいた情報は不明瞭なままであった。

そこで、がん細胞の分子変化を解明するために MCR-ALS を用いて、物理的に意味のあるラマンスペクトル成分の抽出を試みた。その結果、DNA、タンパク質、および3つの独立した不飽和脂質成分を含む5つの純粋な生体関連分子ラマンスペクトルが抽出された。これらの成分の半定量的な比較によって、3つの不飽和脂質のうちリノール酸に帰属された脂質の相対的量が、SVM や LDA が示した高い診断精度の分子学的基礎である可能性が示唆された。この研究によって、乳がん診断におけるラマンスペクトルマーカースペクトルの同定ができた。ラマン分光法が診断技術としてがん細胞と正常細胞を正確かつ客観的に区別できる優れた手法となる可能性を示した。(1984文字)