

## 2015年度 個人特別研究費 研究成果報告書

所属・職・氏名：理工学部・教授・佐藤英俊

研究課題：

研究期間：2015年4月1日～2016年3月31日

### 研究成果概要（2,000字程度）

ラマン分光技術の医療応用には情報を医師が理解しやすい形で提供することが必要である。本研究ではラマンスペクトルというエネルギー強度の情報を、イメージという形態情報に変化させるために必要な、情報処理技術を開発することを目的としている。スペクトル情報から形態情報への変換には、スペクトルから波形パターンを定量的に抽出して数値情報に置き換える分析モデルが必要で、このモデルを作り上げる校正データセットをデータベース（DB）として収集する必要がある。分析モデルに未知データを入れることで、未知データに隠された情報を読み出すことができる。DBを校正するデータは何でも良いわけではなく、分析モデルの信頼性を上げ、かつ様々なノイズ要因を除去できるデータセットである必要がある。

本研究ではライトシートダイレクトラマンイメージング（LSDRI）技術の開発を進めながら、本年度新たに導入した従来のラマンイメージングシステムと、改良を重ねて安定化した倒立型ラマンシステム（現有）も利用した開発を実施した。研究に用いた試料は細胞、動物組織の他、口腔がん試料（インスブルグ大学 Huck 教授、化学科尾崎教授との共同研究）を入手することができた。これらのシステムと試料の利用は研究費申請時点では予測できなかったが、本研究を加速することに大いに役に立った。

信頼性の高いDBを構成するデータの形態を明らかにすることから研究を進めた。共同研究先の医師との議論の結果、医師に対して訴求力があり、かつ多量に準備が可能な分析試料として、ヒト試料のパラフィン包埋試料を最初のターゲットとすることにした。パラフィン包埋試料では、タンパク質が変性し脂質も抜け落ちてしまうが、病理検査で一般的に利用されている。病理検査では、パラフィン包埋試料を薄くスライスしてスライドグラスに接着し、染色した後に顕微鏡観察する。染色作業には数日かかるが、ラマンイメージング技術でこの過程をスキップすることを初めの目的とした。パラフィン包埋試料では、従来のキシレン浸漬によるパラフィン除去作業をした後でも、試料の隙間などにパラフィンが残ってしまう。従って、ラマンイメージングデータからパラフィンの痕跡を、多変量解析技術を用いてきれいに除去するソフトウェアの開発を行った。この開発により、パラフィンを物理的に除去する作業が必要なくなり、試料調整時間を大幅に削減することができた。非染色の癌組織試料のラマンイメージングデータを元に、疑似ヘマトキシリン-エオシン（HE）染色画像やがん細胞浸潤確率マップを再構成することに成功した。疑似HE染色画像は実際のHE染色画像と高い一致を見せた。口腔癌は悪性度が高く、がん細胞の浸潤範囲を的確に判断することが必要であるが、現実ほどまでがん細胞が浸潤しているか解らないため、癌組織から無条件に数センチメートルの範囲を除去する。舌、顎骨、顔面の組織を除去する場合があり、顔面再建手術が必要になることも多く、患者クオリティーオブライフ（QOL）は低い。がん細胞浸潤確率マップは医療への貢献が期待できる技術で

ある。

動物実験では、抗がん剤が癌組織に与える影響を分析することを目指して研究を進めている。AOM/DSS 大腸癌マウスモデルを用いた研究では、大腸癌組織と正常組織でコラーゲン濃度が異なることが明らかとなった。コラーゲン濃度は大腸癌組織の判別に利用できる可能性を示唆した。抗がん剤として、5-フルオロウラシル (5-FU)、シスプラチン、ドセタキシルを投与した場合、どの抗がん剤でもマウス体内のがん組織の分子組成に変化が出ることが明らかとなった。しかし、投与後2週間程度の実験ではコラーゲンの増加などの治療効果を確認することはできなかった。本研究に関しては多量のデータを獲得することができ、今後引き続き解析を進める必要がある。

LSDRI システムの開発は順調に進行し、3次元画像の測定などで、従来のデータを大きく改善することに成功した。レーザーの再調整と出力制御の最適化により、従来よりも出力を上げることができた。その結果、問題となっていた光の屈折による画像のぼけが小さくなり、プラスチックビーズ(直径約180  $\mu\text{m}$ )の3次元イメージがきれいな球形を示すように改善された。

本研究成果を元に、理化学研究所の光量子制御技術開発チーム、東京医科歯科大学と共同で、AMEDの研究予算獲得を目指して申請を行ったが、残念ながら不採択となった。しかし、引き続き採択を目指して予算申請を行う予定である。本研究の成果は3～4報の学術論文としてとりまとめる他、国際会議での報告に用いる予定である。