

2022年 2月 25日

豊橋技術科学大学長 殿

応用化学・生命工学専攻

学位審査委員会

委員長 齊戸美弘



## 論文審査及び最終試験の結果報告

このことについて、博士学位論文審査を実施し、下記の結果を得ましたので報告いたします。

学位申請者	Thomas Tiong Kwong Soon		学籍番号	第 143440 号	
申請学位	博士 (工学)	専攻名	大学院工学研究科博士後期課程 応用化学・生命工学 専攻		
博士学位 論文名	A study on assessing systemic inflammation due to malignant cells and pesticide exposure (悪性細胞と農薬曝露による全身性炎症の評価に関する研究)				
論文審査の 期間	2021年 7月 15日 ~		2022年 2月 22日		
公開審査会 の日	2022年 2月 17日		最終試験の 実施日	2022年 2月 17日	
論文審査の 結果*	合格		最終試験の 結果*	合格	
審査委員会 (学位規程第6条)					
学位申請者にかかる博士学位論文について、論文審査、公開審査会及び最終試験を行い、別紙論文内容の要旨及び審査結果の要旨のとおり確認したので、学位審査委員会に報告します。					
委員長	浴 俊彦				
委員	高島和則			吉田祥子	
			印		印
			印		印

※論文審査の結果及び最終試験の結果は「合格」又は「不合格」の評語で記入すること。

## 論文内容の要旨

炎症を引き起こした細胞や組織の状態を検知し、また個体の炎症をできるだけ非侵襲的に測定する技術の開発は、ヒトの健康を維持するための重要な技術になることが期待される。本研究では、悪性細胞、および全身性の炎症を非侵襲的に観察する技術の構築を目指した。

本学位論文は7章から構成され、第1章ではなぜ炎症に取り組んだか、研究の背景と意義を述べている。第2章では、音響インピーダンス顕微鏡を用いた細胞観察の原理と実験系の確立、そして実際の細胞観察結果について述べている。がん細胞の観察結果より、音響インピーダンス顕微鏡が、線維化したタンパク質の画像化に優れていることを明らかにした。さらに、がん化に伴って核、および核周辺のオルガネラが変化することに着目し、細胞周期の進行により変化する染色体形成および分配の過程を音響インピーダンス顕微鏡によって可視化することに成功した。第3章では、個体の炎症の例として、胎生期の農薬グリホサート曝露動物に注目した意義を述べるとともに、非侵襲的にグリホサートの影響を解析するために腸内細菌叢とその周辺物質の解析を行っている。グリホサートを投与された母体の腸内細菌叢は一過的な変動後に回復するのに対して、胎生期曝露された出生仔では、酪酸産生菌が減少する炎症性の腸内細菌叢に変化することを見いだした。第4章では、発達期の炎症の結果が神経細胞に及ぼす影響を、組織を直接採取して免疫組織化学的染色で解析した結果をまとめている。第5章では、組織を採取してPCRを用い、直接炎症性サイトカインを測定することで、音響インピーダンス顕微鏡による非侵襲的な解析を補完する結果を得ている。第6章では、これら炎症を引き起こした動物の行動に現れた変化について述べている。最後に、第7章で、炎症と細胞、および個体に現れる変化について総括している。

## 審査結果の要旨

細胞および組織の炎症は、軽微な状況から徐々に進行し、大きくまた慢性的な病変に至る。がんや内臓疾患はその代表的なものであり、近年は神経障害や認知症が長期炎症の結果であると主張する「神経炎症仮説」が提起され、支持を集めている。しかし、神経組織は侵襲的な検査に馴染まず、また長期にわたる慢性炎症をできるだけ軽微な段階で検知するには、細胞レベルから個体レベルにわたる非侵襲的な技術の開発が不可欠である。本研究では、新しい観察技術である音響インピーダンス顕微鏡を用いた細胞レベルでの観察技術の構築に取り組み、悪性細胞の特徴の抽出に成功し、音響インピーダンス測定が細胞観察技術として優れていることを明らかにした。細胞を観察する上で、光学顕微鏡の高い空間分解能は大きなアドバンテージであるが、分裂能のある細胞や神経細胞に対する光照射の影響は無視できない場合がある。本研究において、比較的新しい技術である音響インピーダンス顕微鏡により、細胞内のオルガネラや細胞骨格の状態を非侵襲的に観察できることを明らかにしたことは意義深い。今後はこの技術を発展させ、垂直方向の細胞内観察を可能とすることで、炎症状態の細胞や悪性細胞の識別に有用な技術になると期待される。

さらに個体レベルでの炎症解析のために、次世代シーケンサーを用いたメタゲノム解析により、腸内細菌叢の解析とデータ分析に取り組むとともに、物質的な背景の探査、神経組織や行動への影響に至るまで網羅的に取り組んだ。その結果、胎生期にグリホサート曝露された出生仔では、酪酸産生菌が減少する炎症性の腸内細菌叢に変化すること、炎症に起因すると考えられる小脳の神経細胞の異常や行動の変化が生じることを明らかにした。発達神経毒性に由来する個体の慢性炎症の研究は世界的に緒についたばかりの分野である。Stress in Pregnancy (SIP) という概念が提唱され、妊娠期の化学物質曝露、ストレス、栄養状態などが、遺伝的脆弱性を惹起し、エピジェネティックな変化を誘発すると考えられている。本研究は、SIPと関連する動物モデルを用いて、個体の慢性炎症の測定手段として腸内細菌叢の解析を提案し、そこで見出した変化をサイトカイン、神経細胞の異常、行動の変化と複合的に関連付けて解析することに成功している。本研究で用いたグリホサートは世界で一番使用され、遺伝子組換え作物の構成技術になっている除草剤であることから、その毒性の有無を明らかにすることは、環境衛生分野だけでなく、経済的・社会的な波及効果も大きい。個体への農薬の影響を総合的に解析す

ることで、本研究が、他の物質の発達神経毒性を判断するための指標を提供している点は特に高く評価できる。

以上により、本論文は博士（工学）の学位論文に相当すると判定した。

(各要旨は1ページ以上可)