

# 三次元イメージング技術を用いた新規病理診断法の開発

大阪大学 大学院医学系研究科 病態病理学

野島 聡

## 1. はじめに

病理組織診断は、腫瘍性疾患の悪性度・分化度・転移の有無や、炎症性疾患・自己免疫性疾患の炎症・線維化の程度といった病的所見を組織形態学的に診断する医療行為のことで、患者への治療方針決定の根幹に関わる重要な診断技術である。病理組織診断は、薄切した病変組織をヘマトキシリン・エオシン染色（HE染色）で染色し作製したスライドガラスを、訓練を積んだ病理診断医が顕微鏡で観察することによって行われるが、その標本作製の基本的な手法には、19世紀にHE染色が開発されて以来、大きな変化は加えられていなかった。また、この古典的な方法には、肉眼で見て最も疑わしかった部位を通る断面だけを薄切し観察すること、平面上の二次元的な組織しか評価できないこと、といった技術的な限界があり、病変組織を3次元のかつ包括的に評価できる、新たな病理組織診断手法が求められていた。

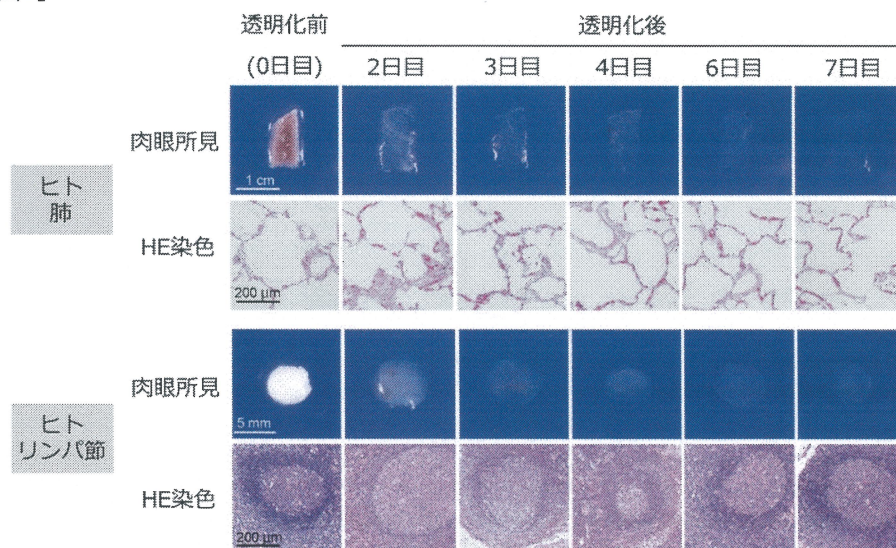
## 2. 方法

申請者らは、主に基礎生物学領域における全脳・全臓器イメージングに用いられていた組織透明化/3次元イメージング技術「CUBIC」について、ヒト組織標本にこれを応用し、病理組織診断学における実用性を、詳細に検討した。

## 3. 結果

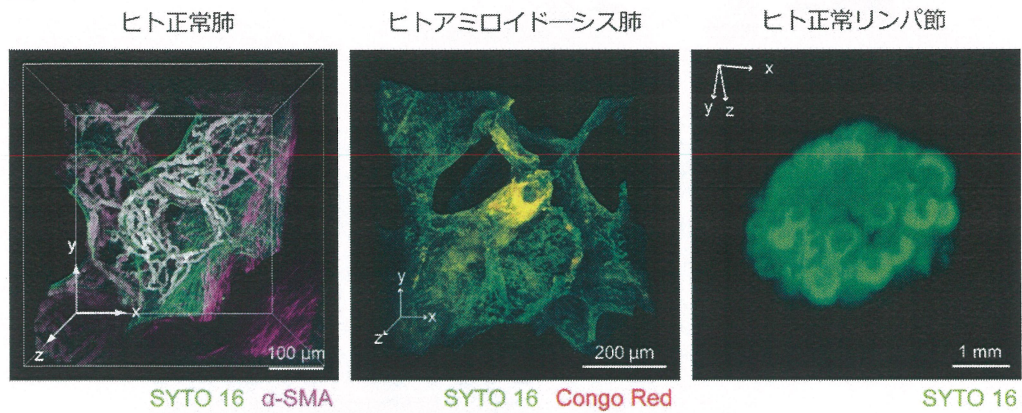
CUBIC試薬を用いてほぼ全てのヒト臓器の透明化を試みたところ、肺とリンパ組織が特に良好に透明化できることが分かった。また、一度透明化した臓器片でも、その後に透明化試薬をよく洗浄することで、従来のHE染色のスライドガラスを問題なく作製することができた。さらに、これらを観察した結果、透明化処理による組織の変性はごくわずかであり、透明化した組織に対して従来の病理組織学的評価が十分可能なことが分かった（図1）。これは、CUBICを標準的な病理組織診断法へ拡張的に組み合わせることができることを示す。

[図1]



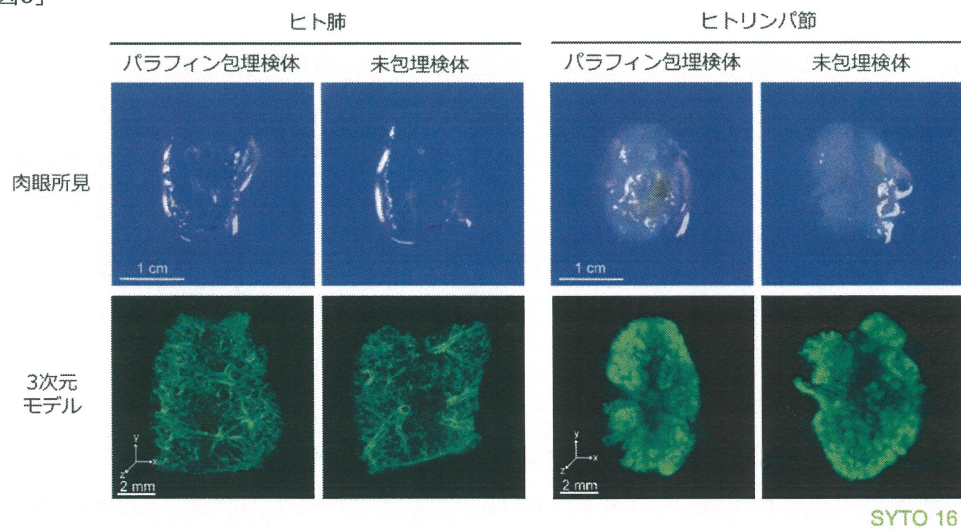
また、ヒト病理組織検体にCUBICを応用し、3次元観察が可能な蛍光顕微鏡（共焦点顕微鏡やシート照明顕微鏡）で撮像することにより、肺泡間質を網目状に走行する血管やリンパ濾胞といった正常組織構築、血管壁におけるアミロイドの沈着といった病的所見が、3次元のかつ明瞭に描出できることを示した（図2）。

[図2]



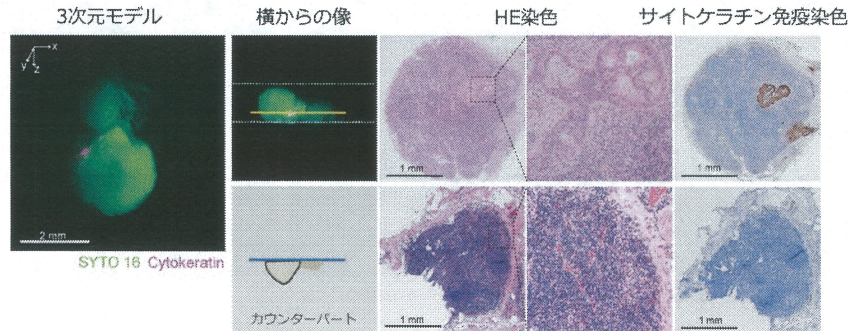
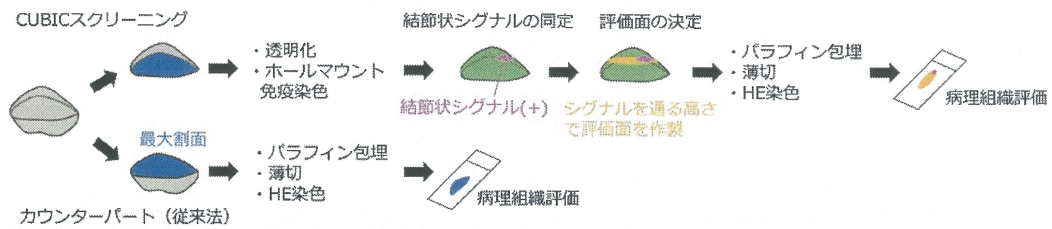
実際の臨床病理診断においては、薄切後の残った病変部組織はパラフィンブロックに包埋された状態で保存されている。よって、パラフィンブロックに包埋された病理組織検体についても、CUBICを適応できるかを評価した。その結果、適切な脱パラフィン操作（加熱および有機溶媒処理）を行うことで、CUBICによる透明化/3次元イメーシングが可能であることが分かった（図3）。パラフィンブロック由来の組織を3次元的にイメーシングできるということは、全国の病院病理部に保管されている、稀少疾患由来のものを含めたほぼ全ての病理組織検体について、集学的かつ包括的な3次元評価が可能であることを意味する。

[図3]



更に、実際の臨床病理検査における有用性を検討するために、CUBICを用いた3次元イメーシングによる評価系を、大腸直腸がんのリンパ節転移を同定するスクリーニング系に応用した。通常的手法では、所属リンパ節へのがん転移巣が肉眼で明らかにならない場合、最大断面で評価面を作製し、この断面の薄切切片をスライドガラスにして顕微鏡で評価する。しかしこの方法では、肉眼では同定できない微小がん転移巣を完全に捉えることができないという問題点があった。そこで、CUBICによる3次元イメーシングを用いて、このような微小がん転移巣がリンパ節内にあるかどうかを評価した。疑わしい結節状シグナルが見られた場合には、この面を通る断面で薄切切片を作製し評価するという2段階検査を行った（図4）。その結果、従来法とCUBICを用いたスクリーニングを併用することで、新たに微小がん転移巣が同定され陽性と診断できた症例が見出せた。最終的に、本研究での検査成績では、検査感度を約85%から100%まで向上させることができた（図4・下表）。

[図4]



		CUBIC スクリーニングを併用	
		陽性 (n = 27)	陰性 (n = 47)
従来法	陽性 (n = 23)	23	0
	陰性 (n = 51)	4	47

#### 4. 考察

本研究は、これまで実験動物を用いた基礎生物学分野で主に使用されてきたCUBICを、本格的にヒト病理組織診断に応用することに成功したという意味で、臨床応用学的に大きな意義のある成果と考えられる。また、透明化することでの試料へのダメージはほとんどなく、現在標準的な病理組織診断法へ拡張的に組み合わせることができることも大きな利点である。今後、透明化試薬やプロトコール、顕微鏡機器の性能の改良に伴い3次元イメージング技術が標準化されることで、本研究を基盤とした評価法が病理診断の新たなスタンダードになることが期待できる。

#### 5. 発表論文

**CUBIC pathology: three-dimensional imaging for pathological diagnosis.**

Nojima S, Susaki EA, Yoshida K, Takemoto H, Tsujimura N, Iijima S, Takachi K, Nakahara Y, Tahara S, Ohshima K, Kurashige M, Hori Y, Wada N, Ikeda JI, Kumanogoh A, Morii E, Ueda HR., *Scientific Reports*, 7(1): 9269., Aug 2017.