

【目的】 病理組織診断は、腫瘍性疾患の悪性度・分化度・転移の程度や、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所見を組織形態学的に診断する医行為のことで、医療における最終診断と位置付けられている重要な診断技術である。病理組織診断は、固定後薄切した組織標本を HE 染色で染色し作製したスライドガラスを光学顕微鏡で観察することにより行われるが、その標本作製・染色方法の根幹については、19 世紀に HE 染色が開発されて以来大きな改変が加えられておらず、新たな技術の導入が望まれている。

一方で、近年、基礎生命科学分野において蛍光顕微鏡を利用した最先端イメージング技術が目覚ましい発展を遂げている。特に、生体組織を透明化し、三次元的に観察する技術について次々と新しい試薬、光学的機器が開発されてきており、その代表である独立行政法人理化学研究所を中心に開発された生体透明化試薬および三次元イメージング技術である CUBIC は、マウス成体の臓器を透明化し 1 細胞解像度で観察する画期的な新技術であり、世界的にも大きな注目を集めている (Susaki EA, Ueda HR, et al. Cell. 2014 Apr; Tainaka K, Ueda HR, et al. Cell. 2014 Nov)。本技術により、“マウスの臓器・全身丸ごと”を透明化することがはじめて可能となり、透明化した臓器や個体サンプルを共焦点蛍光顕微鏡やライトシート蛍光顕微鏡で観察することにより、体内の解剖学的構造や遺伝子発現などの様子を、1 細胞解像度の三次元イメージとして取得することが可能となっている。

我々の研究プロジェクトは、基礎生命科学分野における最先端三次元イメージング技術である CUBIC をヒト病理組織診断に応用せんとする試みで、最先端イメージング技術と古典的病理形態学の融合を目指すものである。本研究では、主に特発性心筋症由来の心筋生検検体、大脳発生の神経膠腫組織検体の三次元的イメージング手法の開発に焦点をあて、これらの手法の標準化、新たな三次元的診断基準の開発を目指した。

【方法】 心筋生検検体における心筋細胞の形態・走行、および大脳発生の神経膠腫組織検体における血管構造を三次元的にイメージングする手法について、CUBIC 試薬の種類や処理時間、蛍光プローブの種類や濃度といった様々な条件の検討、最適化を行った。

【結果】 透明化試薬や蛍光プローブの条件設定を行うことにより、心筋細胞の走行や形態、大脳組織およびその腫瘍組織内における血管の走行や形態について、明瞭にイメージングを行う手法の開発に成功した。

三次元的病理組織診断法の確立にむけた各段階

