

審査の結果の要旨

氏名 水谷 浩哉

本研究は、消化管粘膜検体の 3 次元構造の網羅的解析における、組織透明化技術である LUCID とそれを応用した 3 次元イメージング手法の有用性とそれが組織に及ぼす影響について検証したものである。まずブタ消化管粘膜検体を用いた検討、次いでヒト消化管粘膜検体を用いた検討を行ない、下記の結果を得ている。

1. ブタ消化管粘膜検体を用いた検討では、LUCID (iLUminate Cleared organs to IDentify target molecules) による透明化処置により肉眼的な透光性の亢進が確認された。特にホルマリン固定後に一旦パラフィン包埋・脱パラフィンの工程を経た検体において高い透明性を示す傾向が確認され、ヒト消化管病理検体への適用性の高さを示した。光学顕微鏡による観察可能深度は食道・胃・大腸の全てにおいて透明化後に有意に延長が得られており、3 次元像では食道・胃・大腸において腺管・血管構造を高い分解能で再構築することに成功した。
2. 透明化処理後のブタ消化管粘膜検体に対する HE 染色・Ki67 免疫染色による病理学評価においては、いずれも組織の形態・染色性は保たれていることが確認された。本法がブタ消化管検体に対して最低限の組織障害をもって施行可能であることが示され、ヒト消化管組織への適用の妥当性を示すことが出来た。
3. 内視鏡治療 ESD によって切除されたヒト消化管粘膜検体について、LUCID による透明化、3 次元撮像を行い検証した。LUCID による透明化処理前後の共焦点顕微鏡での観察可能深度は、食道・胃・十二指腸・大腸のいずれの検体においても透明化後に有意な延長が確認できた。3 次元再構築像においては、血管構造や粘膜構造を 3 次元的に描出することに成功し、目的とする部分を抽出し解析することも容易であった。ヒト消化管粘膜検体においても LUCID の有効性が示された。
4. 透明化処理後のヒト消化管粘膜検体に対する HE 染色・Ki67 免疫染色・p53 免疫染色・E-cadherin 免疫染色による病理学評価においても、いずれも粘膜の微細構造・染色性が保たれていることが確認された。このようにヒト消化管粘膜においても、これまで困難であった消化管粘膜の 3 次元構造解析が簡便かつ最小限の組織障害性にて可能であることが確認された。これにより LUCID による形態解析と従来の病理学検査とを相補的に使用することが可能であることが示された。

以上、本論文は組織透明化技術である LUCID を用いた 3 次元イメージングの手法が、ヒト消化管粘膜検体においても有効に適用することが可能であり、また組織障害性についても最低限であることを明らかにした。従来の病理学検査と相補的に使用することが可能である点は今後の臨床応用を見据えるうえで重要な知見であると考えられる。また保管された過去の病理検体からの解析も可能であることから、過去の特定の疾患について遡及的に網羅的・系統的解析を行うことも可能であり、3 次元イメージングによる新たな知見の発見に寄与することが期待される。ヒト消化管粘膜に対する組織透明化技術の有効性やそれによって生じる従来の消化管病理学検査への影響について検討した報告はこれまで認められず、本研究はこの画期的な技術である組織透明化技術の臨床応用にあたり重要な貢献を成すと考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。