

**科学研究費助成事業 研究成果報告書**

平成 29 年 6 月 10 日現在

機関番号：10101  
研究種目：挑戦的萌芽研究  
研究期間：2015～2016  
課題番号：15K15207  
研究課題名(和文) 画像と病理情報の融合によるMRI-based PathoViewの構築

研究課題名(英文) MRI-based PathoView

研究代表者  
西原 広史(NISHIHARA, HIROSHI)  
北海道大学・医学研究科・特任教授

研究者番号：50322805  
交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,800,000円

研究成果の概要(和文)：本研究の目的は、マウス肝臓の全埋病理切片を用いて、空間分解能が0.05mmの高磁場MRIと病理像を統合し、Google Mapにおけるストリートビューのほうなマルチスケールの病理画像システムを構築することである。

H27-28年度にかけて、マウス肝臓の全埋連続切片1000枚を作製し、組織膨張の関係などから、作成切片の間引きの設定など、細かな条件検討を実施した研究条件の最適化を行った。現在、こうした条件に基づいた連続切片のHE染色を終了し、血管像との位置合わせを行ったうえで、バーチャルスライドデータとしての取り込みを完了した。今後は、画像統合、3D化、数理プログラム開発に挑戦する予定である。

研究成果の概要(英文)：Our purpose of this project is to establish the PathoView; a multiscale imaging system in which we can view the histological whole section and MRI images.

During two year, we set the conditon for tissue section based on the tissue dilatation. We have finished making the sequential tissue section up to 1000 and uploading to dizitalized image by vertual slide system. In future, we would like to try to marge MRI image and tissue image using the mathematical methods.

研究分野：実験病理

キーワード：病理 MRI 統合画像 診断システム

1. 研究開始当初の背景

「人に優しい医療」を実現するためには、高解像度の画像診断など低侵襲の検査による高精度の診断が必要である。MRI、CT、エコーなどの診断機器は、いずれも高解像度化が進み、現在臨床に応用可能な MRI は 7 テスラの超高磁場機器が登場し、その空間分解能は臨床用 0.2mm (200 ミクロン)、**前臨床用で 0.05mm (50 ミクロン) とほぼ顕微鏡に近いレベルに到達している。**一方、癌や肝硬変など組織・細胞レベルの器質的変化を伴う疾患では、人体からの観血的な組織採取による「病理診断」は依然として必要不可欠のプロセスである。研究代表者の西原は、平成 21 年より低侵襲・非侵襲医療機器 (ナノテクノロジー) 研究事業 (代表; 片岡一則; 東京大学) の分担研究者として、年間 1 万件以上の病理診断を担当する診断病理医の立場からナノ医療の開発に関与し、個々の細胞や遺伝子レベルではなく、血管や間質などの組織構築から患者の予後や適切な治療法の推定が可能であることを報告してきた (Adv Drug Deliv Rev. 2014 Jul 30;74:19-27. IF=12.7) (ACS Nano. 2013 Oct 22;7(10):8583-92. IF=12.0)。これらを背景に、高解像度 MRI の画像情報と、セミマイクロレベルの病理切片画像を統合し、MRI 画像の血管構築パターンから推定される病理像を表示させるシステムが構築可能ではないかと考え、高磁場 MRI 研究を専門とする連携研究者の青木と議論した結果、その実現性を確信し、本研究計画を考案するに至った。

2. 研究の目的

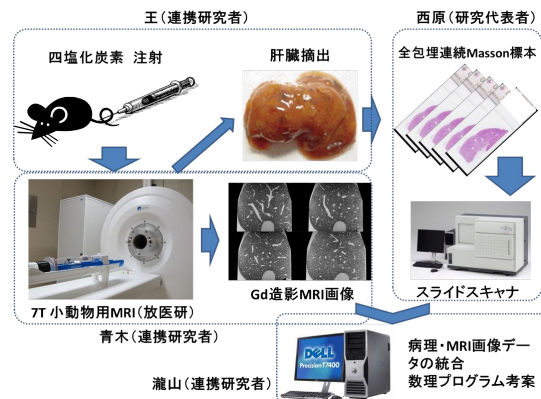
本研究では、マウス肝臓の全包埋病理切片を用いて、空間分解能が 0.05mm の高磁場 MRI 画像と病理像を統合し、「**Google マップ™ におけるストリートビュー**」のような**マルチスケール病理画像システムを構築**する。さらに MRI で得られる門脈域・小葉構築の情報から、推測病理画像を表示させる数理プログラム開発を行う。もし本研究が成功・発展すれば、MRI 画像上をクリックするだけで、病巣の推測病理組織を表示することが出来る、未来の診断装置の開発につながるものと期待される。

3. 研究の方法

**高解像度 MRI と病理画像の融合システム【MRI-based PathoView】システムの構築**

BALB-C マウス 5 匹と、四塩化炭素 (0.5 mL/kg) を週 2 回、4 週間 (計 8 回) 腹腔内投与し、肝硬変となったマウス 5 匹、合計 10 匹の Gd 造影 MRI 撮影を行い、肝臓の動脈相、門脈相、静脈相のデータを取得する (放医研; 青木が担当する)。

マウスは北海道大学から輸送する。撮影終了後、速やかに安楽死させたマウスから肝臓を摘出。トリミング後にホルマリン固定を行い、検体を北海道大学に輸送する (王が北海道大学から放医研に出張し、担当する)。摘出肝の全包埋連続切片 (Masson 染色) を作製する (西原が担当。標本作製の一部はモルフォテクノロジー社に外注)。1 枚 5□m 切片として、1 ブロック約 500-600 枚の標本枚数の計算。



標本をすべてバーチャルスライドにてデジタルデータ化する。標本と MRI の画像データ統合は、数個の主要な肝動脈、門脈を MRI と標本上でそれぞれ同定し、その位置情報を FIX することで画像の紐付を行う。この作業は浜松フォトニクスへ外注し、得られたデータベースをワークステーションに移す (西原担当)。下に完成イメージ図を示す。

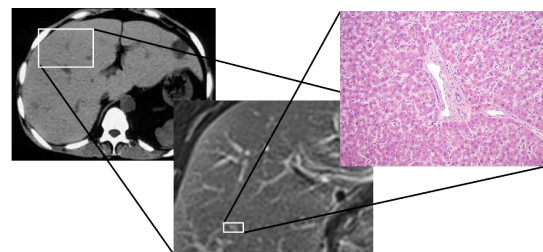


図3 MRI-based PathoView の完成イメージ図

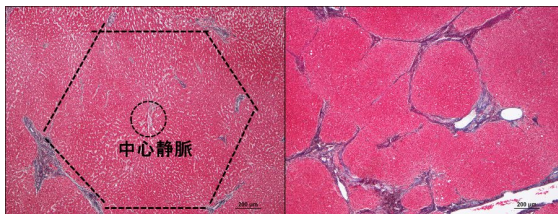
MRI 画像をスクロールして拡大していくと、あるレベルのところ、その部位に相当する病理画像が表示される。この段階ではあくまで実際の病理画像が表示されるので、推測病理画像の表示はできない。

**MRI 画像の門脈域・小葉構築の情報から病理画像を推測するプログラム開発**

正常な肝小葉は門脈域で囲まれた六角形の幾何学模様を呈しており、その中心に中心静脈が見られるため、門脈相の血管走行と静脈相の血管走行の画像処理をすることで、肝小葉の形態を描出できる可能性が考えられる。それに対し、肝硬変となった肝臓では大小の再生結節が形成されることでその小葉構築が乱れるため (図 4)、高解像度 MRI による血管パターンも乱れることが予想される。

連携研究者の瀧山は、Computational Homology Project 等により開発されたホモ

ロジック群の高速計算が可能なソフトウェアを利用し、より本質的な位相不変量を用いた病変の評価を研究している。本研究では、階層別ホモロジー群の概念を新規に導入し、病理形態学への応用の可能性を探求する。具体的には線維成分を含む門脈域（下図の緑）と肝細胞で構成される小葉（下図の赤）の二領域をそれぞれ二値化し、そのホモロジーを計算機で計算させることにより画像認識に応用させる。MRI 画像においても門脈域の血管と小葉領域の陰影を二値化し、その磁気共鳴画像の階層別ホモロジー群を計算し比較する。その結果、どのような血管走行ホモロジー値の場合に、どのような門脈走行・小葉構築が推測できるか、というプログラム開発を行う。



正常肝臓：小葉の六角形が保たれる 肝硬変：小葉の形態、血管走行が不規則

#### 図4 正常と肝硬変の肝臓の組織像の違い

ヒト肝臓の Masson-Trichrome 染色像 (x40)。左の正常肝は門脈域の血管走行が規則的に配置され、六角形を呈するが、右の肝硬変の組織では小葉構築・門脈の血管走行が不規則となり、小葉構築の乱れを認める。

連携研究者の青木が放医研で使用している 7T 高解像度 MRI による画像は、ex vivo モデルでは空間分解能が 50um に達しているため、図5に示すように門脈域の血管構築が描出可能なレベルに達している。さらに、造影剤の描出タイミングを調整して撮像することで、造影早期の動脈相、門脈相、さらに造影剤の Retention を反映する静脈相の情報を処理し、コントラストを最適化することで、門脈域の血管走行パターンをより鮮明に描出することにチャレンジし、肝硬変モデルマウスの肝臓では、その血管走行の不規則性が認められることを確認する。

#### ホモロジー適応の際に想定される問題点

- ・コイル感度の不均一による「グラデーション」の発生；階層別ホモロジーでは回避可能
- ・位相的ノイズの発生；NMR が持つスピンの位相情報を利用して対処が可能

**プログラムが完成した場合：**新たに四塩化炭素にて肝硬変を誘導したマウスを作製し、放医研にて造影 MRI 撮影を施行する。MRI 画像から推測した病理像を表示させ、実際に作成した病理切片の組織像との対比を行うて、プログラムの実用性を検証する。

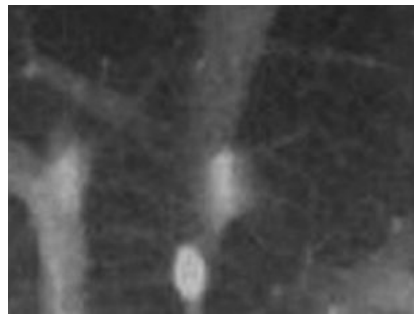


図5 7T MRI によるマウス肝臓の造影写真（青木撮影）

網目状の血管網が観察できる。門脈域の血管構築から、小葉構築の類推が可能と考えられる。

#### 4. 研究成果

H27-28 年度にかけて、連携研究者の青木が造影したマウス肝臓の全包埋連続切片の作成を行ったが、組織膨張の関係などから、切片作成の間引き条件設定など、細かな条件検討に時間を要した。その結果、5 um 連続切片においては、3 枚中 2 枚を間引くことにより、切片上の組織像の連続性が得られることが解り、H28 年度においては、青木が撮影終了したマウス肝臓の周囲のトリミングを行った後で、連続切片を作成した（全厚 5mm を、5um 厚の連続切片で、1000 枚作製し、うち、約 330 枚を選択。これらの HE 標本を作製して、バーチャルスライドスキャナにて全切片のデジタル化を行った。

研究期間内に画像統合、3D 化、さらに数値プログラム解析には至らなかったが、チームとしては得られたデータを利用しながら継続して研究を展開する予定であり、未来の診断装置開発につなげたいと考えている。

#### 5. 主な発表論文等

（研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線）

〔雑誌論文〕(計 0 件)

〔学会発表〕(計 0 件)

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

名称：  
 発明者：  
 権利者：  
 種類：  
 番号：  
 出願年月日：

国内外の別：

取得状況（計 0 件）

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
取得年月日：  
国内外の別：

〔その他〕  
ホームページ等  
特になし

#### 6．研究組織

##### (1)研究代表者

西原 広史 (Nishihara, Hiroshi)  
北海道大学・大学院医学研究科・特任教授  
研究者番号：50322805

##### (3)連携研究者

青木伊知男 (Aoki, Ichio)  
独立行政法人 放射線医学総合研究所・チ  
ームリーダー  
研究者番号：10319519

王 磊 (Wang, Lei)  
北海道大学・大学院医学研究科・特任助教  
研究者番号：70637975

瀧山 晃弘 (Takiyama, Akihiro)  
北海道大学・大学院医学研究科・特任助教  
研究者番号：00374520