

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 5 日現在

機関番号：14301

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2012～2014

課題番号：24790691

研究課題名(和文) 組織イメージングを利用した新しい内視鏡観察システムの開発

研究課題名(英文) Development of new endoscopic system using the composition imaging

研究代表者

堀松 高博(Horimatsu, Takahiro)

京都大学・医学(系)研究科(研究院)・助教

研究者番号：40511829

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,900,000円

研究成果の概要(和文)：高感度近赤外光による組織イメージング顕微鏡を用いて、正常組織(非がん部)と異常組織(がん部)が識別可能かどうか検討を行った。当初10検体を用いて検討したところ異常組織(がん)を異常として認識する感度は60%、特異度は80%と良好であり、18例にまで症例を増やして検討を行った。しかしあらゆる感度・特異度の上昇は認められなかった。

大きな問題点としてがんは均一な細胞増殖形態を呈さないことも多く、形態(肉眼型)や組織異型度(細胞の分化度)による違いを解明する必要があると考え、追加で培養細胞による検討を行っている。

研究成果の概要(英文)：Using tissue imaging system with a near-infrared (NIR) spectrographic camera, normal tissue (non-cancerous part) and abnormal tissue (Cancer portion) was studied whether identifiable. Initially, we examined with 10 samples of early gastric cancer. The sensitivity and specificity were 60% and 80%, respectively. Then we examined with 18 samples to assume that is increased. However, future increase of sensitivity and specificity were not observed. As a major problem, the histopathology of cancer lesion often does not exhibit a uniform cell growth form. Macroscopic type and atypical degree of lesion would need to elucidate the differences. Then, we additionally examined by the cultured cells.

研究分野：消化器病学

キーワード：組成イメージング

1. 研究開始当初の背景

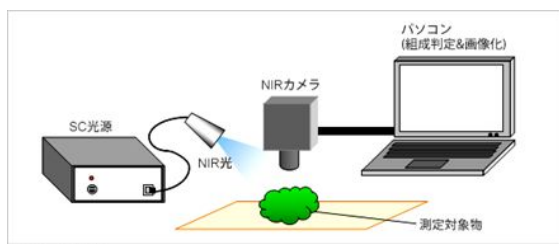
Image-enhanced endoscopy(IEE)技術と拡大内視鏡技術の進歩により、消化管粘膜の微細構造がより明瞭に観察できるようになった。なかでも、Narrow Band Imaging (NBI) は、IEE の象徴的技術であり、NBI 拡大観察により粘膜の微細構造ならびに微細血管構造の変化を明瞭に視認できることが明らかにされ、それらを基盤にした新しい内視鏡診断学が提唱されている。我々は前がん病変である大腸の腺腫性病変や咽頭部領域の上皮内がんなどの初期段階から血管新生が生じていることを画像的に明らかにしてきたが、血管新生に伴う分子変化など病変の生物学的特性を可視化するには至っていない。

近年、がん組織内で起きている分子生物学的変化を標的とした分子標的治療薬ががん治療の個別化を可能とし、治療成績を向上させている。そこで血管新生に伴う分子変化に加えて、発癌にかかわる蛋白質の異常を内視鏡的に高感度・高精度に可視化することが出来れば、がんの早期検出やがんの高危険群の効率的な拾い上げのみならず、より効果的な個別化治療に応用できる可能性があると期待できる。

そこで我々は非破壊・リアルタイムで生体内の詳細な組成分析を行うことが出来る近赤外光観察に注目し、病変の分子生物学的特性を明らかにすることで、診断・治療に結びつくかどうかを検討した。

2. 研究の目的

高感度近赤外光による組成分析法を用いてがん組織と周囲の正常組織における蛋白質またはその他の生体物質の微量な変化を可視化することにより、新しい消化管内視鏡イメージングシステムを開発すること

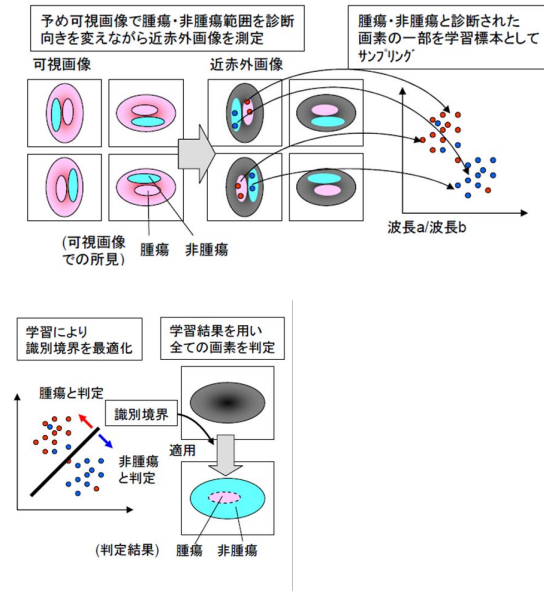


3. 研究の方法

内視鏡的に切除された早期がん標本を用いて、高感度近赤外光による組織イメージング顕微鏡観察をがん部と非がん部に対して行い、その領域を識別できるアルゴリズム作成条件を検討する。

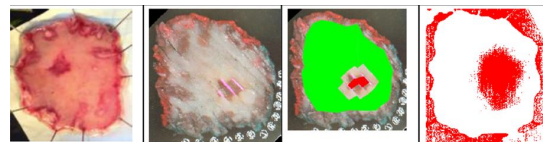
次にその組織の、識別される原因となっている蛋白質の解析を行う。その際に、p53 などの免疫染色も同時に行い、高感度近赤外光観

察でのがん部と非がん部との関連を検討し、免疫染色を用いなくても、p53 などの異常蛋白質の発現が判断可能かどうかを検討し、新たなイメージング技術を開発する。



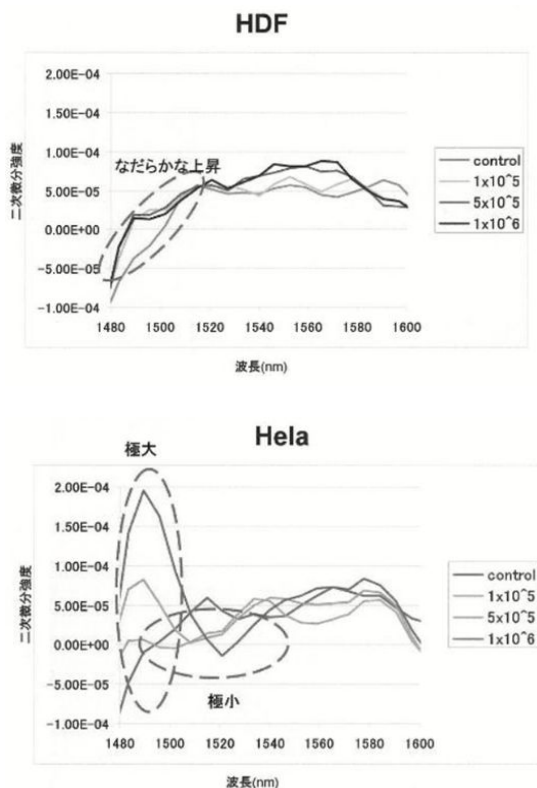
4. 研究成果

近赤外光による組織イメージング顕微鏡を用いて、正常組織(非がん部)と異常組織(がん部)を識別するアルゴリズムを作成するために、まず内視鏡的に切除された早期胃がん標本 10 例に対して組織イメージング顕微鏡観察を行った。10 例から得られたスペクトラム情報を、散乱及び他の望ましくない影響を削減するために、基準標準変量(SNV)スケールリングを、吸収ピークが僅かな波長差で重なり合っている場合でも吸収帯の確認が可能となる 2 次微分を、また主成分分析(Principal Component Analysis)を行うとすべてにおいて異常組織(がん部)を異常と認識する感度・特異度はそれぞれ 60%, 80%と比較的良好であり、またスペクトラム情報を前処理しないものと比べて上昇していた。以上よりアルゴリズムを作成するためにはさらなる症例数の追加が必要と考え、18 例での解析を行ったが、さらなる感度・特異度の上昇は見られなかった。



この原因として、異常組織(がん部)は均一な細胞増殖形態を呈する訳ではなく、実際にはさまざまな形態(隆起や陥凹などの肉眼型)や組織型(細胞の分化度)により、大きくことなる可能性があげられることから、最も頻度が高い表面陥凹型の高分化腺癌 12 例に限つ

て解析を行ったところ、形態や組織型を限定した方が感度・特異度の上昇傾向を認めた。そこでより形態や組織型をより統一するために、培養がん細胞(Hela細胞)と培養正常細胞(ヒト皮膚線維芽細胞)と用いた検討を行い、1480-1520nm 付近でのスペクトラム違いを認め、これがグアニジン構造の吸収ピークと波長領域が一致するため、がんと非がんにおける DNA 等の差異を反映している可能性が考えられた。



しかし本検討は培養細胞が1層での条件下で行った検討であり、実際の組織では何層にも重なったがん細胞もしくは非がん細胞のスペクトラムを計測していく必要があると考え、異なる培養条件での1480-1520nm 付近でのスペクトラムの違いについて検討したが差に乏しかった。他の波長において差を認めるかどうかも検討を行ったが、培養細胞の厚みに依存してスペクトルの変化を認めるため、培養細胞である一定の条件下ではがんと非がんのスペクトラムの差を認識することが可能であるが、細胞密度が異なる in vitro においては現状の評価方法では画一化したアルゴリズム作成は困難である可能性があげられ、今後の検討課題である。

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 1件)

1 Horimatsu T, Sano Y, Tanaka S, Kawamura

T, Saito S, Iwatate M, Oka S, Uno K, Yoshimura K, Ishikawa H, Muto M, Tajiri H. Next-generation narrow band imaging system for colonic polyp detection: a prospective multicenter randomized trial. Int J Colorectal Dis 2015.

DOI:10.1007/s00384-015-2230-x.(査読あり)

{学会発表}(計 3件)

1 Sano Y, Horimatsu T, Tanaka S, Kawamura T, Saito S, Iwatate M, Oka S, Uno K, Yoshimura K, Ishikawa H.

Next-generation narrow band imaging system (ELITE) for colon polyp detection: a prospective, multicenter randomized trial. UEGW Berlin 2013.10.14 P0668 A242.(査読あり)

2 鴨田賢次郎、田中信治、林奈那、岡志郎、齋藤彰一、河村卓二、吉村健一、堀松高博、石川秀樹、佐野寧

EVIS LUCERA ELITE を用いた NBI 観察は大腸病変拾い上げ診断能を向上させるか?

第10回日本消化管学会総会、福島 コラッセ福島 2014.2.14 (査読あり)

3 Ezo Y, Muto M, Horimatsu T, et al. High-sensitive wide-range near-infrared (NIR) imaging to assess the biochemical information of the gastrointestinal tract: A preliminary ex vivo study. AGA Chicago 2011.5.11 Gastroenterology 140, Issue 5, Supplement 1, Page S-760, 2011 査読あり

{図書}(計 0件)

{産業財産権}

出願状況(計 0件)

取得状況(計 1件)

名称: 生体検査装置および生体検査方法

発明者:

武藤 学、江副康正、堀松高博(京都大学)

奥野拓也、田中正人、菅沼 寛(住友電気工業)

権利者: 同上

種類: 特許

番号: 特願2011-040279

出願年月日: 2011年2月25日

取得年月日: 拒絶確定

国内外の別: 国内

{その他}

ホームページ等

なし

6 . 研究組織

(1)研究代表者

堀松 高博 (HORIMATSU Takahiro)

京都大学大学院医学研究科

腫瘍薬物治療学講座・助教

研究者番号：40511829