

機関番号：32667

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23592975

研究課題名(和文) ヒト舌表在性癌の切除断端における細胞異型・胞巣構造・浸潤様式の3次元病理診断

研究課題名(英文) Intraepithelial 3D-architectural analysis of human tongue premalignant-cancerous progression

研究代表者

柳下 寿郎 (YAGISHITA, HISAO)

日本歯科大学・生命歯学部・准教授

研究者番号：50256989

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円、(間接経費) 1,170,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、舌表在性癌における局所再発・リンパ節転移の予後判定と予防につながる臨床病理診断基準の策定を目指して、外科切除症例における異型上皮の表現型について免疫病理組織学的に検討した。舌上皮の悪性度評価として、CK13の発現変化とKi-67陽性増殖核の多層化を指標として上皮異型を4段階にスコアリングすることにより、切除範囲指標となるヨード染色での異型上皮不染性と上皮細胞表現型とを概ね照合できた。連続薄切標本の多重免疫標識に基づく3次元定量解析では、基底側から上皮層を直視することによって局所での増殖活性亢進・多層化の様子を捉えるとともに、増殖活性と上皮表現型との関連も確かめられた。

研究成果の概要(英文)：The present study aimed to develop a clinical-pathological interactive diagnosis system, where we intend to correlate macroscopic mucosal changes with intraepithelial phenotypic alterations. To this goal, the degree of intraepithelial malignancy is classified into 4 grades, depending on CK13 down-expression and Ki-67 localization. The immunohistology-based 3D reconstruction helped to elucidate intraepithelial alterations taking place with premalignant to malignant transition and to assess quantitatively the number and size of cell clusters possessing discrete differentiation/proliferation phenotypes. The 3D analyses also delineated architectural abnormalities associated with the dysplasia-invasion transition. The present immunophenotypic evaluation disclosed complicated distribution of epithelial phenotypes and the degree of proliferative capacity in oral epithelial lesions.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：歯学・形態系基礎歯科学

キーワード：歯学 病理学 舌癌 浸潤 組織立体構築 病理診断

1. 研究開始当初の背景

我が国においては、癌の早期発見・標準的な治療法の確立・予後管理体制の整備が進むなかで、多くの臓器癌で5年生存率の向上や年齢調整死亡率の低下が認められている。口腔癌では、早期発見できた場合には完治する可能性が高い一方で、癌細胞が粘膜下に広く浸潤し、頸部リンパ節転移をともなう進行癌の5年生存率は50%にとどまっていることから、口腔癌の早期発見を徹底することと、患者のQOLを高める上で病変切除範囲の診断基準と予後判定の精度を高めることが喫緊の課題であった。

口腔癌は、粘膜下への浸潤が軽微な場合(表在性癌)でも稀に頸部転移をともなうことが指摘されており、術後の再発も多い。辺縁切除断端での異型上皮の残存が局所再発の原因と考えられるが、切除端近傍に明らかな異型上皮の残存を認めなかった場合にも、切除端の近接領域に再発、あるいは切除部位とは距離を隔てた第二病変の発症をともなう場合も多いことが知られていた。このような口腔癌の予後不良例については「Field 発癌」の概念が提唱されており、広域の口腔粘膜上皮層で遺伝子変異が生じていることも明らかになっていた。

研究計画立案時の病理診断における状況として、口腔表在性癌の辺縁・深部方向への拡大範囲を定める上での臨床診断情報と病理組織情報との対応付け、また、「Field 発癌」による影響も含めた予後予測に役立つ診断指標、などは未検討課題として残されていた。舌癌の辺縁切除範囲の決定に際しては、視診・触診に加えてヨード生体染色が多施設で用いられており、いわゆるヨード不染域の外周縁に安全域を含む切除線が設定される。ただし、切除検体の病理診断では、染色像の光顕観察のみで異型上皮の範囲を捉えることは困難なうえ、異型上皮の判定基準は施設間や病理診断医の間でも異なる場合が多かった。

研究代表者らの病理診断施設では、スライドガラス全域の組織染色像を迅速に高精細デジタル記録できるバーチャルスライドシステム(浜松ホトニクス; NanoZoomer)(以降 VS 装置)を導入し、口腔癌の病態解析への応用を開始していた。同一の組織標本について免疫染色 VS デジタル記録を繰り返すことにより得た染色データセットに対して、規格化した画像演算アルゴリズムを用いて標識シグナルを抽出・積層表示することにより、複雑な免疫表現型も研究者の主観による誤差を最小限にとどめたうえで判定できるようになっていた。同時に、このプロトコルを連続組織切片に対する多重免疫標識試料に応用して立体構築する手法も確立し改良を重ねてきた。本計画立案当時では、舌癌症例の連続切片100枚に対する血管内皮(CD31)

リンパ管内皮(D2-40) 上皮細胞(サイトケラチン) 増殖活性(Ki-67) + 全細胞

核(ヘマトキシリン)の5重染色情報を統合して癌胞巢の連結性や血管・リンパ管走行の3次元観察・定量解析が可能となっていた。この3次元解析手法の実現は、本研究課題において「3次元形態計測に基づく癌病変の病理診断基準策定」を目標に掲げる端緒となった。

2. 研究の目的

本研究では、舌表在性癌を疑った手術切除検体(術前治療が施されていない一次症例)を対象として、臨床診断情報(肉眼所見・触診による病態記述、ヨード生体染色像)と病理組織所見に基づく健常粘膜・異型上皮・上皮内癌・(微小)浸潤癌に至る上皮構造・表現型の変化を対比することにより、外科切除範囲の設定基準となる異型上皮と癌の微小浸潤の鑑別基準を明確にすることを目的とした。特に新たな病理診断基準の策定も視野に入れて、3次元形態計測に基づく異型上皮表現型の判定法確立を目指した。

3. 研究の方法

解析対象とした舌癌手術検体は、日本歯科大学倫理委員会承認のもとで同大学附属病院において採取した。いずれの舌癌症例も術前に超音波検査およびヨード生体染色を施し、カルテ記録とともに臨床診断内容と画像情報を保管した。病変全域を系統的に病理組織診断することを目標として、摘出組織を3mm幅で割断し、全割断試料からパラフィン包埋連続薄切標本を作製、HE染色とともにCK13、CK17、Ki-67の抗体により免疫染色を施した。病理組織診断では、病変割断標本上で健常上皮、異型上皮、上皮内癌、(微小)浸潤癌を判定し、病変マップを作製した。癌細胞検出の目的では上皮マーカー(AE1+AE3/34 E12/MNF116抗体カクテルあるいはCK13、CK17特異抗体)と細胞増殖活性(Ki-67抗体)に対する免疫多重染色を実施した。抗体反応にはABC法を使用し、組織の全構成細胞を標識する目的でヘマトキシリン核質染色も実施した。多重染色では異なる発色剤(青色のVector SG、茶色のDAB、赤色のAEC)により識別し、VS装置で対物20倍の解像度を維持してTIFF形式で記録した。各染色原図は画像解析ソフトウェアImage J(NIH)と生物系画像解析用プラグインFijiを使用して色調要素を抽出、二値化処理を施して陽性シグナル情報を得た。3次元組織構築に向けては、薄切時に生じる歪みを回避するため組織アレイヤで標的部位(直径3mmの円筒状)を採取し、自動切片送り機能を有した回転式マイクロームを用いて連続薄切標本(4μm厚、約100枚)を作製した。薄切時には、リボン状に連なった切片をスライドガラス上に方位を揃えて配列(9連続切片×3列)した。連続切片の染色像もVS装置(対物20倍)でデジタル記録した。この画像解像度(10,000×10,000ピクセル)と空間解像度(0.46μm/

ピクセル)では組織内に浸潤・分散している癌細胞の核質・細胞質成分の分画・計測を細胞1個単位の精度で行うことができた。立体構築にはRATOC TRI-SRF2ソフトとVG Studio Maxを使用し、連続する画像間の位置合わせ、RGB色調による組織要素の分画、分画要素の3次元観察・解析をすべて規格化した演算アルゴリズムに基づいて遂行した。

4. 研究成果

(1) 免疫表現型に基づく異型上皮の判定

対象検体の上皮組織領域について、HE染色所見として組織形態学的に判別可能な異型変化を記録するとともに、Ki-67陽性増殖細胞核、上皮形質の指標としてサイトケラチンファミリーのCK13(健常粘膜マーカー)とCK17(異型上皮マーカー)に着目して免疫染色を実施した。Ki-67染色については、口腔癌取り扱い規約(日本口腔腫瘍学会編;2010)に準じて、粘膜上皮の傍基底層にKi-67陽性核が点在する所見を健常状態と捉え、基底層への陽性核分布移行・多層化の変化を異型上皮形質として判定した。Ki-67陽性核の増加は検体全域で広く認められる傾向にあった。CK13検出では、健常部における明瞭な陽性反応と異型上皮での陰性領域との識別は容易であった。一部の症例では、陽性領域と陰性領域が櫛状あるいはパッチ状に出現するパターンもみられた。一方、CK17は異型上皮と概ね一致して陽性反応がみられたが、CK13陽性領域でも部分的な弱陽性反応を示すなど、陽性陰性境界の判定は困難であった。これらの陽性シグナルを客観的に識別する目的で画像解析ソフトウェアImageJ/Fijiを用いた結果、CK13陽性シグナルは過不足なく抽出できたのに対し、CK17では強陽性シグナルに加えて、微弱な陽性シグナルが上皮層の広い範囲で検出されることも判明した。これらの形質変化が辺縁切除断端部を含めた検体組織全域において認められたことは、「Field発癌」を支持する所見として注目された。

(2) 検体全域における異型上皮マッピング

切除検体全域における上皮表現型の変化を包括的に捉えることを目的として、免疫表現型のマッピングを行った。異型上皮の判定に向けては、スクリーニングの結果、陽性領域の判定が容易であったCK13とKi-67の発現様式を組み合わせ、健常相当(白)CK13発現喪失(黄)Ki-67陽性所見の多層化(橙)CK13発現喪失・Ki-67陽性所見の多層化(赤)の4パターンに色分けをした(図1)。対象組織については、各割断試料の組織切片(HE、Ki-67、CK13)の上皮領域を0.5mm間隔のユニットに区分し、ユニット毎に白・黄・橙・赤の4段階の異型度判定結果をプロットした。これを1検体から得られた全ての割断試料で実施し、得られた結果を割断時のマクロ写真上にマップ表示することにより検体全域の上皮表現型を俯瞰できるようにした。ユニッ

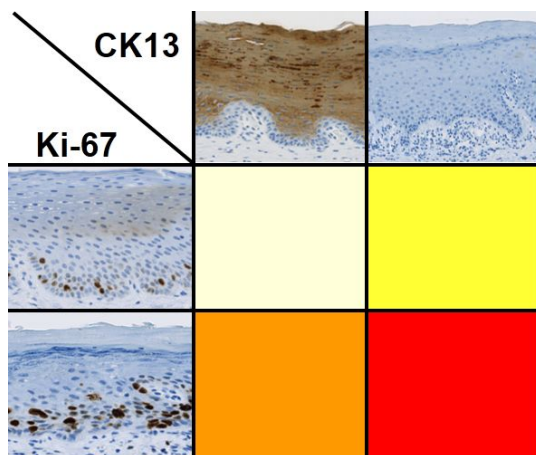


図1 上皮組織の免疫表現型として、Ki-67・CK13染色パターンを組み合わせた4型に色分けした。

ト内で異形成・癌と診断できるHE所見がある場合も記録した。

表現型マッピング結果の一例を図2に示す。HE染色像から形態的に癌と診断可能な領域はすべて赤と判定された。HE染色で組織形態変化をみない領域においては健常相当の白判定に加えて異型変化を示す黄・橙・赤判定が広範に分布していることが注目された。

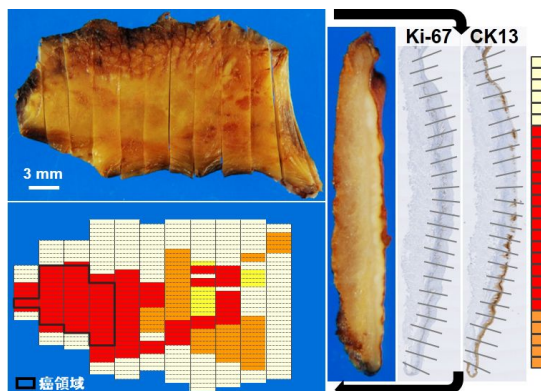


図2 舌表在性癌のマッピング例。各割断標本の上皮領域について0.5mm間隔で色判定し、切除検体写真と対応させた。

以降、病理診断の確定した手術検体として、口腔上皮性異形成(OED)2例、上皮内癌(OIN)4例、および表在性癌(early SCC)4例の解析結果を示す。early SCCの2症例では、図2同様に、高い増殖活性を反映する赤・橙判定が主体となっていた。

全症例解析後の色判定出現割合を診断名毎にみても、early SCC(全884ユニット)では、赤:36.5%、橙:22.3%、黄:2.3%、白:38.9%であった。OIN(全760ユニット)では、赤:32.2%、橙:17.8%、黄:3.3%、白:46.7%となり、early SCCと似た判定パターンを示したが、増殖活性の亢進を示す赤・橙の出現がわずかに低くなっていた。一方、OED(全318ユニット)では赤:14.5%、橙:4.1%、黄:4.4%、白:77%で、OINおよびearly SCCと大きく異なり領域の多くは白判定であった。以上の結果から、Ki-67とCK13表現型の組合せ

は切除検体における異型上皮の判定に有用と考えられた。

(3) 上皮表現型とヨード不染域との対応

各症例の表現型マッピング結果と切除検体のヨード染色性とを照合すると、10症例のうち7症例はヨード不染域と異型変化(赤・橙・黄判定)を示す領域がほぼ対応しており、ヨード生体染色の有効性を支持する結果となった。ヨード染色性と異型判定に部分的な不一致がみられたものは、early SCC 2例におけるヨード濃染域での赤・橙判定、およびOED 1例における明らかなヨード不染域での白判定であった。全症例での検証には至らなかったが、CK17陽性との重複や、白判定領域での局所的な p53 陽性群の存在を確かめており、ヨード染色性に繋がる潜在的な形質変化が示唆された。

(4) 上皮層における異型変化の進展

色判定の分布をみると、赤と橙判定が概ね一塊となって存在する場合とパッチ状に小集団をなしている場合に分けられたが、黄領域は比較的小さくとどまっていた(単一切片の上皮層で同一判定が連続した部位の最長幅は、赤:15mm、橙:10.5mm、黄:3.5mm)。この理由として、CK13発現喪失細胞では速やかに増殖活性が亢進(赤)される(黄の表現型が維持される時間は短い)、増殖活性を高めた細胞集団がCK13発現喪失に至る変化(橙・赤)が主経路であり、CK13発現単独での変化(黄)は起こりにくい可能性が考えられた。OINの1症例では橙判定が主体となっており、増殖活性の変化がCK13発現変化に先行していることの傍証と考えられた。CK13発現に関しては、CK13陽性領域が櫛状あるいはパッチ状に検出される部位もみられ、CK13発現が局所の上皮細胞集団において発現・停止を繰り返す可能性も残されている。

また、上皮悪性化の進展に関して、最悪性領域(赤)を核として周辺に橙(黄)・白と変化していく病変とともに、複数の分離した悪性化中心(白・黄領域に囲まれた小さな赤・橙領域の出現)を認める病変も存在した。これらの所見から、異型変化が単中心性および多中心性に出現していることが示唆された。さらに、同一切片内での色判定境界(全症例で計190か所)の組合せ別出現率を算出すると、赤⇄白41.6%、赤⇄橙25.3%、橙⇄白21.6%、黄⇄白10.0%、赤⇄黄5.8%、橙⇄黄1.1%であった。赤⇄白の境界では多くの場合に組織学的にも異型上皮と健常上皮との境界が見分けられる状態(いわゆるフロント形成)と関連しており、こうした異型変化が高い頻度で検出できることは表現型マッピングの重要な利点と考えられた。

(5) 病変-隣接部上皮境界の3次元観察

マッピング解析では検体全域での異型上皮の広がりを把握できた。次に、上皮層にお

ける異型細胞集団の空間局在に着目して、表在性癌病変と隣接する異型変化の少ない上皮層との境界領域を対象として組織立体構築を行った。この解析では、水平方向(上皮層内でのCK13・CK17の発現転換など)と深部方向(Ki-67増殖活性の多層化、上皮・上皮下結合組織の接合面形状など)における特徴に注目した。サイトケラチン抗体カクテル陽性の上皮層全体について、CK13・CK17の発現パターンに基づき分画すると、CK13単陽性、CK17単陽性、CK13/CK17二重陽性、CK13/CK17二重陰性の4区画に分けられた。立体観察と定量解析の結果では、病変部と病変に隣接する上皮層(以降、隣接部)とではCK発現パターンに明確な違いが認められた。隣接部ではCK13/CK17二重陰性細胞が基底層に相当する領域に規則的に配列しており(隣接部上皮体積中36%)、その上層はCK13単陽性細胞群(62%)で占められていた。一方、病変部では、上皮層全体の肥厚とともに、CK13/CK17二重陰性細胞領域も局所的に上層方向へ進展していた(病変部上皮体積中33%)。病変部の大部分ではCK13単陽性細胞群(3%)に置き換わりCK17単陽性細胞群(61%)で占められていたことが特徴となっていた。CK13/CK17二重陽性細胞の存在はわずか(3%)であるが、上皮上層に限局して認められた。立体観察の利点を活かし、上皮下結合組織を透過して基底面を下部から直接観察すると、隣接部ではCK13/CK17二重陰性細胞が基底面を構成していることと対照的に、病変部基底面ではCK17単陽性細胞が露出していることが判明した。この基底面における異型変化は、上皮階層性の崩壊を示すとともに、表在性癌の浸潤形質を反映していると考えられた。

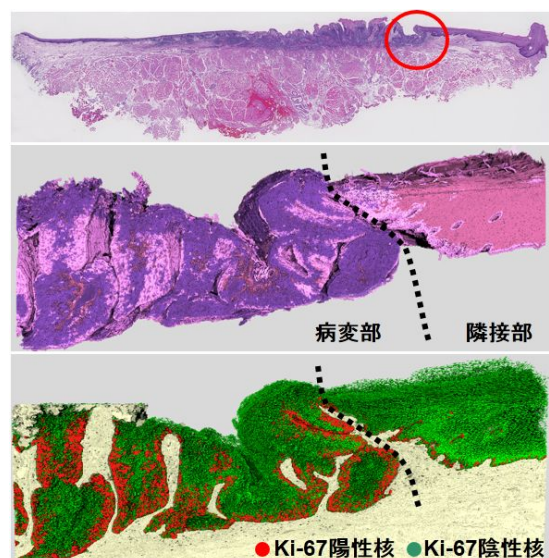


図3 舌表在性癌の3次元解析。CK染色性に基づき、CK13⁺(濃桃)、CK17⁺(紫)、CK13/CK17^{+/+}(茶)、CK13/CK17^{-/-}(淡桃)に分画した。病変部と隣接部上皮での表現型変化とともにKi-67陽性増殖細胞の多層化が顕著となっている。

(6) 上皮層空間における増殖中心の変化

増殖活性の変化を捉える目的で、上皮層内の総細胞数(ヘマトキシリン陽性核)に占めるKi-67陽性核数(増殖指数と呼ぶ)を計測した。その結果、隣接部での増殖指数が4.7%であるのに対して、病変部では16.7%に高まっていた。次に、病変部における増殖活性の多層化の検証に向けて、基底膜を基準平面として5 μ m幅までに位置する核と、6~20 μ m幅までに位置する核をそれぞれ基底層、傍基底層に帰属する細胞群と仮定し、さらに上層に位置する細胞群も含めた3層に区分したうえで増殖指数を算出・比較した。隣接部における各上皮層の増殖指数では、傍基底層を1とした場合、基底層で0.27、上層では0.29と低値を示しており、増殖の中心が傍基底層にあることが言えた。一方、病変部では、傍基底層の増殖指数を1とすると、基底層で0.42、上層で0.76へと高まっており、増殖所見が基底層および上皮上層で亢進している(多層化している)ことが実証できた。同様に、上皮内癌症例の隣接病変境界部における増殖指数をみても、傍基底層値との比較において、基底層で0.33-0.61、上層で0.13-0.41となり、病変部における増殖活性の多層化を示す所見を得ることができた。尚、本解析での上皮層区分を用いて健常舌上皮や反応性病変(エプーリス)の被覆上皮を解析した結果では、いずれもKi-67陽性核の80%以上が傍基底層画分に帰属することも確かめられた。

病変部における増殖活性亢進については、さらにCK発現パターンとの関連も検証した。CK表現型に基づいて分画された組織要素ごとに増殖指数を算出すると、隣接部ではCK13/CK17二重陰性(5.3%)とCK13単陽性(3.1%)の細胞群が増殖の中心となっていた。病変部においてもCK13/CK17二重陰性群が上皮増殖の中心を担っているが、その増殖指数は27.1%と高まっていた。病変部の大部分を占めるCK17単陽性群の増殖指数が14.1%に達していることも病変部の増殖様式を特徴付ける所見として注目された。

(7) 病理診断への応用に向けて

研究期間においては、染色結果をマップ化するまでのプロセスを系統立て、作業時間を短縮することができた。現時点では、検体サイズの違いを考慮しても、1例の解析(VS記録組織所見観察・色判定・情報統合・カラーマップ化)に要する時間は概ね半日程度となっている。同様に、画像解析システム・プロトコルも更新を続け、連続薄切標本の作製から立体画像表示に至る組織立体構築に要するプロセスの単純化と作業時間の短縮も達成できた。例えば、舌表在性癌1症例から健常粘膜上皮-異型上皮、上皮内癌・微小浸潤癌、浸潤癌の深達部の3箇所からそれぞれ100枚の連続薄切標本を作製し、サイトケラチン/Ki-67の二重標識を施して組織立体構築を

完了するまでに約1週間となっている。

まとめ

本研究の成果として、CK13・Ki-67発現を指標とした異型上皮の判定は、ヨード染色性に基づく上皮病変領域と概ね対応していることを示した。病変全域の上皮層表現型を俯瞰することにより、異型細胞集団が上皮層内の複数個所で多発している状況も把握することができた。これらの観察所見からは、クローン増殖によるパッチ形成や、それらの増殖・癒合による側方拡大(Field形成)が示唆された。このパッチからFieldへの進展過程やフロント形成においては健常細胞と異型細胞あるいは異型細胞間での「細胞競合」が働いていると想定される。今回確立した病変上皮全域における異型度の評価法および3次元形態解析法によって、上皮組織内での異型細胞集団の出現部位や空間的広がり(構成細胞数)および細胞間の相互作用関係が評価できることを実証できた。これらの解析法にかかる時間・労力についても実働可能な範囲に整備できており、今後の展望として臨床・病理診断基準の精度をさらに高めるために適用例を増加していくことを計画している。

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5件)

Kudo T, Shimazu Y, Yagishita H, Izumo T, Soeno Y, Sato K, Taya Y, and Aoba T: Three-Dimensional Reconstruction of Oral Tongue Squamous Cell Carcinoma at Invasion Front. *Int. J. Dent.*, 2013, vol. 2013: ArticleID482765, doi:10.1155/2013/482765

荘司洋文, 柳下寿郎: 歯科界の潮流 口腔がんの現在 口腔白板症を中心にした口腔がん早期病変の診断と治療, *歯学* 101: 23-30, 2013.

八木原一博, 出雲俊之, 石井純一, 桂野美貴, 宮嶋大輔, 柳下寿郎, 岡部貞夫: 舌扁平上皮癌周囲に異型上皮を認めた症例の検討. *日本口腔腫瘍学会誌* 25(2): 21-31, 2013.

出雲俊之, 柳下寿郎, 八木原一博: 臨床型分類としてのYK分類(口腔癌の浸潤: マクロ・ミクロ・モレキュラー). *日本口腔腫瘍学会誌* 24(3): 64-76, 2012.

Izumo T, Kirita T, Arijii E, Ozeki S, Okada N, Okabe S, Okazaki Y, Omura K, Kusama M, Sato T, Shinohara M, Shimozato K, Shintani S, Tanaka Y, Nakayama E, Hayashi T, Miyazaki A, Yagishita H, Yamane M; Working Group 1 on the 'Guidelines for Clinical and Pathological Studies

of Oral Cancer', Scientific Committee, Japan Society for Oral Tumors: General rules for clinical and pathological studies on oral cancer: a synopsis. Jpn J Clin Oncol 42: 1099-1109, 2012.

〔学会発表〕(計8件)

岡村尚, 荘司洋文, 北詰絵里, 関根大介, 柳下寿郎, 岡部貞夫: 舌における「口腔表在癌」の術前 US 画像の検討, 第32回日本口腔腫瘍学会総会・学術大会 プログラム・抄録集: 176(10-B10), 2014.

八木原一博, 出雲俊之, 石井純一, 柳下寿郎, 岡部貞夫: 舌扁平上皮癌の周囲粘膜に関する研究 - 異型上皮を認めない症例について -, 第32回日本口腔腫瘍学会総会・学術大会 プログラム・抄録集: 263(1P-1-7), 2014.

辺見卓男, 柳下寿郎, 荘司洋文, 岡部貞夫, 青葉孝昭: 舌異型上皮の悪性度診断: 舌粘膜のヨード染色性と上皮細胞の免疫表現型の照合システム, 第32回日本口腔腫瘍学会総会・学術大会 プログラム・抄録集: 206(No.10-D15), 2014.

Henmi T, Shimazu Y, Soeno Y, Yagishita H, Okabe S, Taya Y, Sato K, and Aoba T: Intraepithelial 3D-architectural analysis of tongue premalignant-cancerous progression. 43rd Annual Meeting & Exhibition of the American Association for Dental Research, 85(No.749), 2014.

柳下寿郎, 岡部貞夫: 口腔表在癌の定義と病態, ワークショップ「外科病理シリーズ『口腔表在癌の診断と治療』」, 札幌市, 2014年1月23日. 第32回日本口腔腫瘍学会総会・学術大会 プログラム・抄録集, 133(WS3-2).

岡村尚, 荘司洋文, 北詰絵里, 関根大介, 柳下寿郎, 岡部貞夫: 白板症における口腔粘膜異型上皮の臨床病理学的検討 白板症のOIN/CISとOEDについて, 第37回日本頭頸部癌学会学術大会, 頭頸部癌 39(2): 202, 2013.

中右かよ, 島津徳人, 白子要一, 田谷雄二, 佐藤かおり, 藤田和也, 添野雄一, 柳下寿郎, 青葉孝昭: 病理検体の自動連続薄切標本を用いた3次元形態観察, 日本病理学会誌, 101(1): 316(P1-AM-131), 2012.

島津徳人, 工藤朝雄, 辺見卓男, 田谷雄二, 佐藤かおり, 藤田和也, 添野雄一, 柳下寿郎, 青葉孝昭: 癌微小環境の広域・高分解能の3D観察と組織立体構築プロトコール, 日本病理学会会誌, 100(1): 462(P3-J10-6), 2011.

〔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
<http://www.ndu.ac.jp/~pathhome/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

柳下 寿郎 (YAGISHITA HISAO)
日本歯科大学・生命歯学部・准教授
研究者番号: 50256989

(2) 研究分担者

岡部 貞夫 (OKABE SADAŌ)
日本歯科大学・生命歯学部・客員教授
研究者番号: 70573731

島津 徳人 (SHIMAZU YOSHIHITO)
日本歯科大学・生命歯学部・講師
研究者番号: 10297947

青葉 孝昭 (AOBA TAKAAKI)
日本歯科大学・生命歯学部・教授
研究者番号: 30028807

(3) 連携研究者

()

研究者番号: