

研究報告書

平成 29 年度：B 課題

平成 31 年 4 月 18 日

公益財団法人 がん研究振興財団

理事長 堀田知光 殿

研究施設 岡山大学病院

住 所 岡山市北区鹿田町二丁目 5 番 1 号

研究者氏名 井上 博文



(研究課題)

Terahertz chemical microscope を用いた病理組織検体割面 imaging 化の基礎的研究
～遺伝子検査用検体の迅速採取に向けて～

平成 30 年 1 月 24 日付助成金交付のあった標記 B 課題について研究が終了致しました
のでご報告いたします。

研究助成金研究報告

平成 31 年 4 月 18 日現在

【研究者】：井上 博文

【研究課題】：一般課題 B

【研究機関】：平成 30 年 4 月 1 日から平成 31 年 3 月 31 日

【研究題目】：Terahertz chemical microscope を用いた病理組織検体剖面 imaging 化

の基礎的研究～遺伝子検査用検体の迅速採取に向けて～

【目的】

がんゲノム医療においてパネル検査で主に使用されるのは FFPE ブロックである。

我々は Terahertz chemical microscope (TCM) を用いた FFPE による検体の可視化について予備実験を行い被検体の Imaging 化に成果を得た(Figure 1)。しかし病変部の特定には幾つかの問題があり最適な条件設定には至っていない。本研究の主眼は TCM を用い FFPE での撮像条件の検討を行う事と抗原抗体反応を利用した TCM 法による特定蛋白検出について研究を進めることとした。誰もが安定した検体サンプリングを可能とし採取直後の検体から次世代シーケンサーを用いたがん遺伝子検査に適した病変部組織を適正に採取できるデバイス開発につなげる研究を目指した。

【方法】

1. FFPE ブロックによる組織別信号強度の相違比較試験

- 病変部別 TCM 信号強度比較試験

3 μm 厚に薄切した肺（正常、腺癌、扁平上皮癌）FFPE ブロック切片を Sensing Plate (SP) に貼り付け TCM 信号強度を測定する(Measurement interval: 29 μm)。HE 組織像と撮像信号の組織像の相関性を調査した。

2. 抗原抗体反応を用いた目的部位の imaging 化条件設定試験

- 肺腺癌 FFPE ブロックを用いる。SP に切片を貼り付け、クエン酸 Buffer にて賦活処理を行う。一次抗体 Cytokeratin AE1/AE3 を 4°C 下で over night 反応させた。二次抗体として銀標識抗マウス抗体を 4°C にて 1 時間反応させる。銀標識の増感処理を施行後、TCM にて測定した(Measurement interval: 29 μm)。

【結果】

1. 切片辺縁の形状は 10 μm 厚において比較的良好な TCM 撮像を得た(Figure.2)。検鏡レベルでの組織像に対する信号強度の相関性は認められなかった。

2. 実験で使用した SP、TCM データを添付する。賦活処理時に切片の剥離が発生した。剥離防止策として Lysin コーティング処理を施行し再検証を行う。銀標識の増感処理工程において剥離防止策の Lysin によって銀鏡反応が発生した(Figure 3)。計 3 回、切片の物理的吸着法や洗浄条件の変更等施行したが改善できなかった。

【考察】

FFPE ブロック切片を用いた TCM imaging 化は可能であるが再現性に乏しく臨床への応用には難しく汎用性が困難と考えられた。昨年度から本格的に始動したがんゲノム医療は FFPE ブロックから解析を主としている。今後、保険収載されることで生検材料からの依頼増加が見込まれる。さらに患者侵襲の低い方法での採取検体での検査技術が要求されることが予想される。今回、我々が使用した TCM は細胞 1 個から測定可能な感度を有している¹⁾。この特徴を利用し Liquid base 検体からの腫瘍細胞量の評価が可能と考えられた。本研究計画は平成 30 年度がん研究助成課題 B に採択され実施予定である。

謝辞

本研究を遂行するにあたり、ご支援賜りました公益財団法人 がん研究助成振興財団各位の皆様に深く感謝申し上げます。引き続きよろしくお願ひ申し上げます。

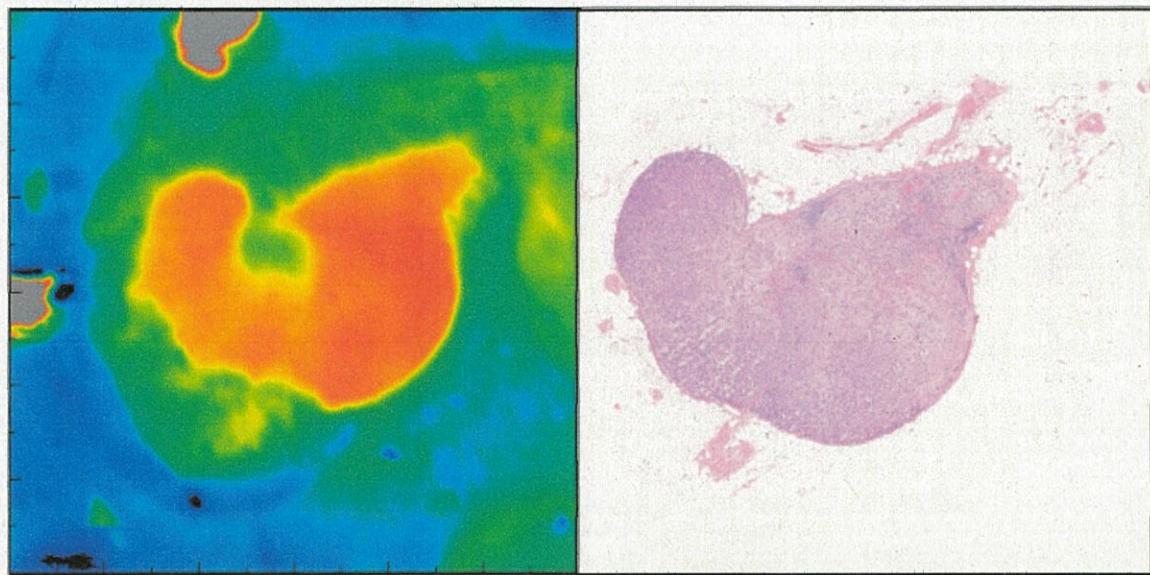


Figure 1 TCMによる乳癌転移リンパ節 左：TCM像 右：HE像
切片辺縁を追うことが可能なTCM像を得る。

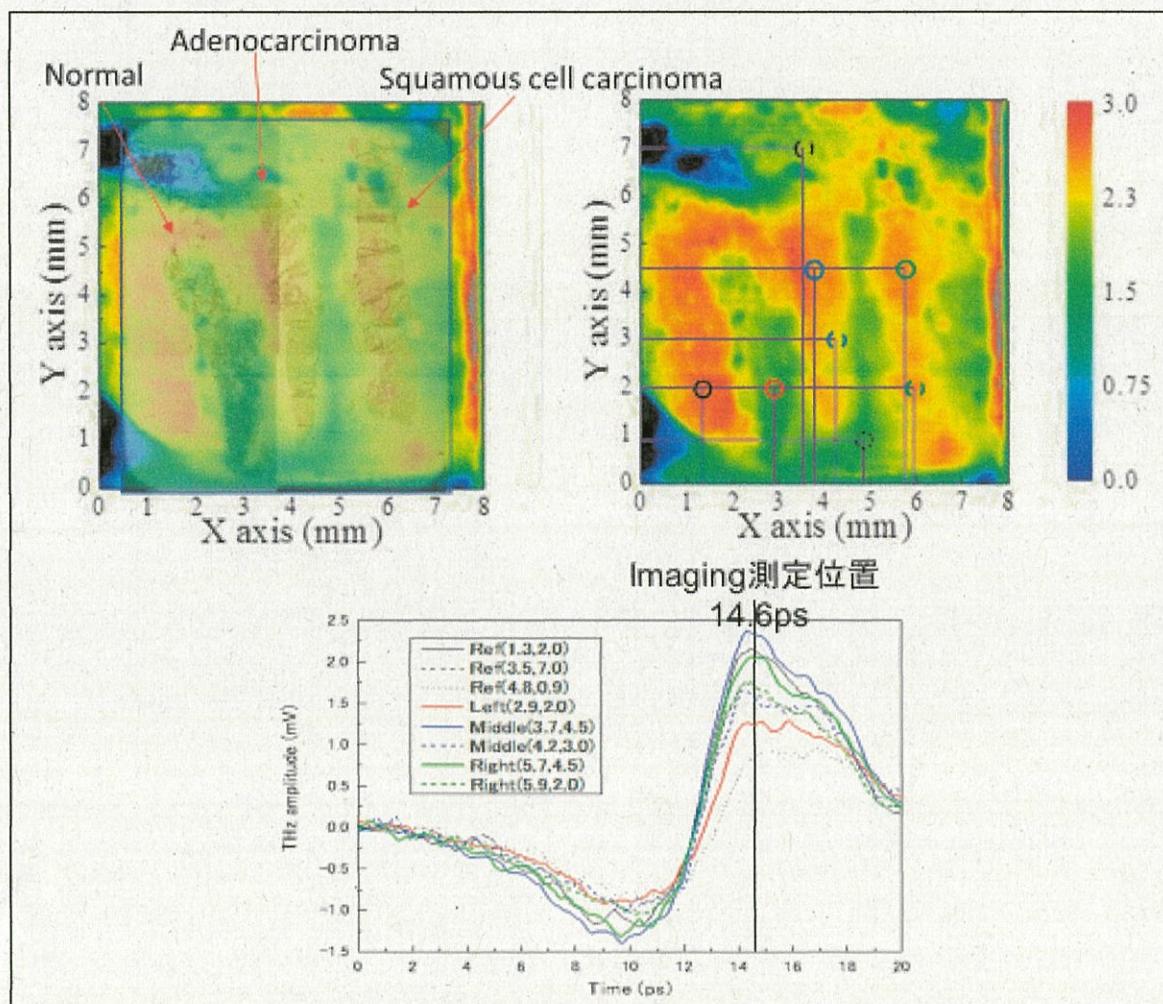


Figure 2 肺病変におけるTCM信号強度相関性比較試験
左上：SP顕微鏡像とTCMの合成像 右上：TCM像 下：ポイント別信号強度

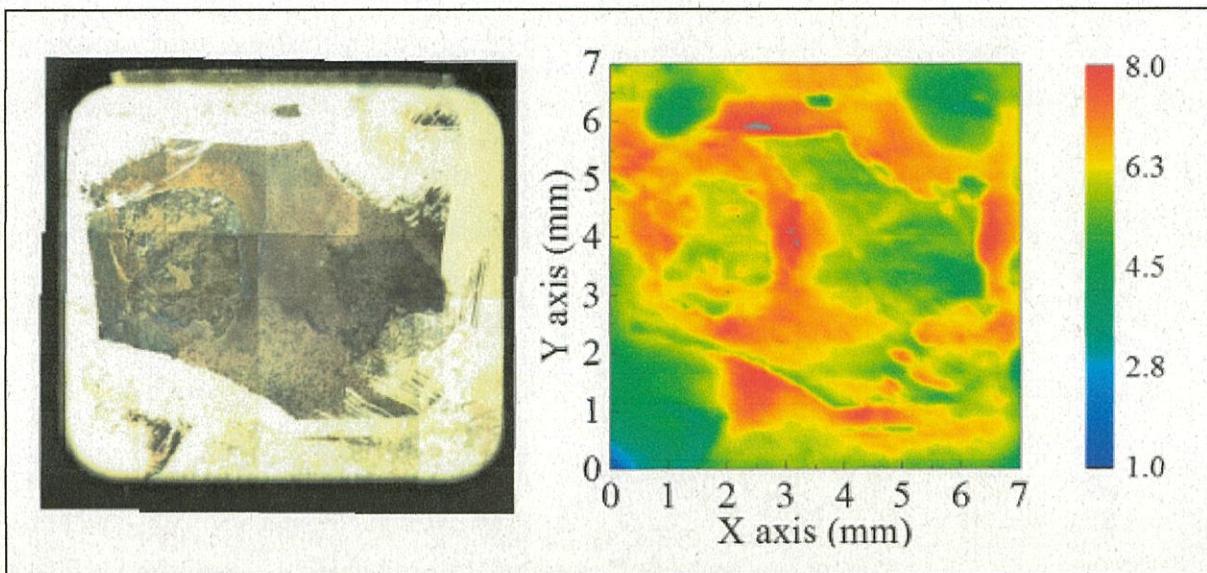


Figure 3 抗原抗体反応を用いた目的部位の imaging 化条件設定試験

左 : SP 頸微鏡像 右 : TCM

1) E. M.Hassan, A. Mohamed, M. C.DeRos, W. G.Willmore, Y, Hanaoka, T. Kiwa, T. Ozaki High-sensitivity detection of metastatic breast cancer cells via Terahertz chemical microscopy using aptamers; Sensors & Actuators: B. Chemical Volume 287, Pages 595-601, 2019