

氏名(本籍) 千 葉 民 彦

学位の種類 医 学 博 士

学位記番号 医 博 第 1042 号

学位授与年月日 平 成 2 年 3 月 28 日

学位授与の要件 学位規則第5条第1項該当

研究科専攻 東北大学大学院医学研究科
(博士課程) 病理学系専攻

学位論文題目 組織構造の三次元数量化のための計算機幾何学的
方法論の開発と応用に関する研究

(主 査)
論文審査委員 教授 高 橋 徹 教授 京 極 方 久
教授 名 倉 宏

論文内容要旨

通常、病理学的観察に用いられる組織切片は極めて薄いために、本質的には二次元的な断面像と言って差し支えない。これから、対象組織の三次元における数量的な情報（体積・径など）を得るために、従来は幾何確率論を基礎にしたステレオロジーの手法が用いられてきた。しかしそのためには、対象組織の形や分布に関して何らかの仮定が必要であり、このため推定値には無視できない誤差がつきものであった。また最近ではステレオロジーでは原理的に解決不可能な問題が存在することも示唆されている。

一方、病理形態学の分野では以前から連続切片からの組織の三次元再構成が行われており、最近では連続二次元像を計算機に入力して、ディスプレイ上に三次元像を描かせることが簡単にできるようになってきている。このとき用いるデータは、対象とする構造の連続切片上の輪郭、すなわち表面を多数の三次元座標点に置き換えたものである。そこで、三次元構造の画像化のみならず、従来は解決不可能とされるような問題も、このデータから直接数値計算を行うことにより解決可能と考えられる。そこで計算機幾何学を病理形態学に応用する新しい試みとして次の二つの問題を選んで解法を確立した。

計算機は約2MBのRAMを内蔵する16bitのHP-9000 (model 310, Hewlett-Packard社)を用い、大量のデータを扱うために720KBのフロッピー・ディスクを二基と40MBのハード・ディスクを併用した。データはディジタイザから入力し、再構成像を含め、結果を高解像度カラー・ディスプレイに出力した。なお、ソフトウェアはHP-BASICと同コンパイラを使用して著者自身が開発した。

課題1：空間における距離分布

組織の末梢血管構築には、動・静脈間の短絡のために血流調節機構が必要な「密接型」と、そうでない「等間隔型」の2型の存在が予想される。組織中に格子状に数百個の観測点を設定し、動脈から各点を経て静脈に至る最短距離(L)を、動静脈を数万個の三次元座標点に置き換えた上で数値計算する。Lの相対的なバラツキが大きいほど密接型、小さいほど等間隔型に近いと言える。

肝臓は相対的なLのバラツキが最も小さく、等間隔型の構造を持つ臓器であることが分かっているが、慢性活動性肝炎から肝硬変へと進行するに伴い、これがどの様に変化するかを各1例の剖検材料を用いて調べた。その結果、病変の進行に従い、次第に密接型構築に近づくことが分かった。慢性肝疾患で門脈が血流調節能を獲得することも考え難く、このことは硬変化にともない肝

組織への血流分布が不平等なものになることを推定させた。

課題 2 : 粒体の計算機幾何学的モルフォメトリー

細胞核や腎臓の糸球体のような一個一個は独立した構造体を「粒体 (particle)」と総称するが、このような粒体の単位体積当たりの数やサイズの分布を正確に推定することは従来のステレオロジーではほとんど絶望視されている。そこで、不偏的三次元プローブ (sampling brick) と連続切片を組み合わせ、電算化することにより、粒体の単位体積当たりの個数と体積分布の定量法を確立した。

この方法を細胞核と膵ラ氏島の個数および体積分布の推定に応用した。まず、剖検材料から正常肝と肝細胞癌の核について計測したところ、単位体積中の個数はそれぞれ $2.6 \times 10^5 / \text{mm}^3$, $2.35 \times 10^5 / \text{mm}^3$, また平均体積は $212 \mu \text{m}^3$, $404 \mu \text{m}^3$ と計算された。また、その体積分布は正常例では ploidy 類似の多峰性の分布となり、肝癌例ではこの ploidy 類似のパターンは失われており、核の体積と DNA 量が相関することを示唆する結果を得た、次に、抗インスリン抗体で膵臓の連続切片からランゲルハンス島を染めだし、正常例と糖尿病例で比較してみた。その結果、ラ氏島は正常、糖尿病例ともに数の上では大部分は小型のものが占めていること、また、 1mm^3 あたりの個数ではそれぞれ、764個、1188個となり、却って糖尿病例の方がラ氏島の数が多という結果を得た。この差はもっぱら小さな島の増加によるものであり、従って、島障害に対する再生の意味を持つ現象と考えられた。

ま と め

生体構造の「形」を数量的に解析するのに従来のステレオロジーが有効に使えない場合があり、これを計算機幾何学 (Computational geometry) 的手法で解決するための方法論を2つの問題について示した。今回の研究で扱ったのは、比較的簡単な問題ではあるが、病理学の領域でこのような方法を取り入れた世界最初の試みと考えられる。今後、様々の方向に展開可能な方法論である。

審査結果の要旨

通常の病理切片は極めて薄いために本質的には二次元像といって差し支えない。このような切片から実際の組織における三次元的な数量情報（体積、径など）を得るために、従来は幾何確率論を基礎にしたステレオロジーの手法が主に用いられてきた。しかし、これでは解決不可能な、あるいは誤差が大きすぎるなど実施上の問題が多数あることが最近指摘されるに至っている。

本研究では、組織の構造を連続切片から多数の三次元座標点に置き換えて計算機に入力し、数値的に処理することにより、従来のステレオロジーでは解決不可能な課題にアプローチすることを目的とした。具体的には次の二つの問題を対象として方法論を確立した。

課題1：空間における距離分布

組織の末梢の血管構築型には、動・静脈間の短絡のために血流調節機構が必要な「密接型」と、そうでない「等間隔型」の2型の存在が予測される。そこで空間に格子状に設定した多数の観測点を経て動脈から静脈に至る最短循環距離 L の相対的なバラツキを数量化した血管構築型のパラメータとする。この問題は動・静脈を多数の三次元座標点に置き換え、数百個の観測点について計算機処理を行なうことにより解決した。この方法を用いて正常肝と慢性活動性肝炎および肝硬変を解析したところ、病期の進行に従い肝臓の血管構築型は「等間隔型」から「密接型」に次第に移行することが判明した。

課題2：粒体の計算機幾何学的モルフォメトリー

不偏的三次元プローブ（sampling brick）と連続切片を組み合わせ、電算化することにより、粒体の単位体積あたりの個数と体積分布の定量法を確立した。まず、人の正常肝細胞と肝癌細胞の核に応用したところ、正常例ではploidy類似のパターンが得られたが、肝細胞癌ではこのパターンは失われていた。これは核の体積とDNA量が密接に関係することを示唆する。次に脾臓のランゲルハンス島に応用したところ、正常に比べ、糖尿病例では島の数が却って増加しており、この現象は小型の島の増加に負っていることが分かった。これは島障害に対する再生の意味を持つ現象と考えられる。

本研究で開発された方法論は、従来のステレオロジーでは解決不可能な問題、すなわち生体構造の数量化における困難を取り除き、形態学に新しい可能性をもたらすものである。計算機幾何学的に生体構造を扱う試みとしては、誇張なしに世界最初のものであり、応用の可能性がきわめて高い方法論を確立している。以上によって本論文は医学博士の学位授与に十分に値すると判断された。