

論 文 内 容 要 旨

題目 Quantification of collagen fiber properties in alcoholic liver fibrosis using polarization-resolved second harmonic generation microscopy

(偏光分解顕微鏡を用いたアルコール性肝線維症の線維化の量的・質的評価系の開発)

著者 Saya Matsuzaki, Eiji Hase, Hiroki Takanari, Yuri Hayashi, Yusaku Hayashi, Haruto Oshikata, Takeo Minamikawa, Satoko Kimura, Mayuko Ichimura - Shimizu, Takeshi Yasui, Masafumi Harada & Koichi Tsuneyama

2023年12月13日発行 Scientific Reports

第13巻第1号に発表済 doi: 10.1038/s41598-023-48887-8.

内容要旨

組織が損傷を受けるとその部位はコラーゲン線維等に置き換えられる。肝臓の線維化は、アルコール、ウイルス肝炎、自己免疫性肝炎に加え、先進国においては脂肪肝から起きることが問題視されている。肝癌の発生や肝不全の予後が肝線維症のステージや蓄積されたコラーゲンの量と相関することから、肝線維症に関する研究が行われてきたが、線維化の量以外に性状などのリスクは検討されていない。例えば、肝線維症は主に従来の染色または第二高調波発生 (SHG) 顕微鏡法によって評価されるが、これらの顕微鏡では線維化領域のコラーゲン含有量しか得られない。近年、SHG 顕微鏡に偏光解析を導入した偏光分解 SHG (PR-SHG) 顕微鏡により、組織のコラーゲン配向を数値的に評価することが可能になっている。PR-SHG 観察では、非固定・非染色、かつ *in vivo* でコラーゲン特異的な観察が可能であり、目視で判断できない特徴や変化を捉えることが期待できる。そこで申請者らは、PR-SHG 顕微鏡を使用して、ヒトの肝臓組織を用いコラーゲン線維の配向と結晶化の量的および質的な数量的評価を確立し、肝線維化について検討した。

新犬山分類における肝線維化のステージが F0~F4 の剖検症例合計 24 例から得られた肝臓サンプル (F0 群 (n=5)、F1 群 (n=5)、F2 群 (n=5)、F3 群 (n=5)、F4 群 (n=4)) を SHG 顕微鏡で評価し、照射レーザーの偏光方位角を 0° から 165° ま

様式(8)

で 15° 刻みで変化させ 12 枚の連続 PR-SHG 画像を取得した。これらの画像から、同時生起行列値を用いた SHG 強度解析法であるグレーレベル同時生起行列 (GLCM: gray level co-occurrence matrix) を用いて、コラーゲンの線維配向角 (ϕ) とコラーゲン線維の結晶化度を表す角度 (ρ) を算出した。

結果は以下の通りである。

1) イメージング解析による SHG 陽性領域の割合は F0 群から F4 群にかけて上昇する傾向があり、F4 群が他の群よりも有意に高かった。また SHG 輝度についても類似の傾向があり、F4 群が F2 群、F3 群よりも有意に高かった。これらの結果はシリウスレッド染色領域の割合の群間の相違と一致しており、さらに、SHG 陽性領域の割合とシリウスレッド染色の割合との間には強い正の相関が見られた。

2) ϕ 値は各群間に有意差が見られなかった。一方、 ρ 平均値の分布については、四分位範囲が F0 群から F3 群にかけて増大し、F4 群の四分位範囲は他の群よりも小さく、データの分布が F4 群で縮小する傾向が見られた。また ρ 平均値は F4 群が他の群よりも有意に高かった。 ρ 値の空間分散についても、四分位範囲が F0 群から F3 群にかけて増大し、F4 群では他の群よりも小さい傾向が見られた。また ρ 値の空間分散は F4 群が F3 群よりも有意に小さかった。 ρ 平均値と ρ 値の空間分散の散布図で、F0 群と F4 群の分布が異なっていた。

以上の様に、SHG 顕微鏡法は肝線維症を正確に検出でき従来のシリウスレッド染色法による肝線維症のステージ分類と高い相関があること、PR-SHG 顕微鏡法でヒト肝臓のコラーゲン線維配向 (ϕ と ρ) を評価できることを初めて示し、併せて ϕ は肝線維症のステージと相関せず、 ρ は相関することを明らかにした。

このことから、ヒト肝線維症の病態や病期の違いにより異なる特性を示すコラーゲン線維の性状を量と質の面から PR-SHG 顕微鏡法で数値的に評価し、従来の指標と組み合わせることで、より治療に適した詳細な肝線維症のステージ分類が確立できることや、繊維化の機序が解明されることにより、新規の治療法開発につながる可能性がある。