

学内グラント 報告書

平成24年度 学内グラント終了時報告書

連続切片を用いた立体モデルの作製技術とそのデータベース化

研究代表者 猪股 玲子 (医学部 基礎医学部門 解剖学)

研究分担者 駒崎 伸二*, 高野 和敬*

緒言

生命科学の教育や研究において、人体、胚、器官、組織、細胞、分子などの構造を立体的に示してわかりやすく説明する技術が以前から求められてきた。最近になり、コンピューターの性能の向上や立体構築用のソフトの開発により、人体から分子に至るまで、正確な立体モデルを容易に作製することが可能になった。しかしながら、現状では、それらの技術を用いた教材の作成や、研究における利用は遅れている。その原因の1つが、それらの技術を個人レベルで扱うには、経済的な面と技術的な面に障害があるからである。たとえば、どんなに便利な技術であっても、それらが教育や研究に広く用いられるようにならなければ、その価値は低いと言わざるを得ない。そこで、本研究では、経済的な面と技術的な面の障害を取り除いて、誰もが容易に胚、器官、組織などの3Dモデルを作製できる方法を開発し、解剖学をはじめとした医学教育の教材作成や研究などに利用できるようにすることを目的とした。

材料と方法

ここでは、胚、器官、組織などの立体モデルを作製するために医用のボリュームレンダリングソフトを利用した。医用のボリュームレンダリングソフトはMRIやX線CTの連続画像から人体の構造を立体構築するために用いられているソフトである。つまり、MRIやX線CTの連続画像をプレパラートの連続写真に置き換えて、胚、器官、組織などの立体構造を作製する方法を試みた。その際に用いたソフトは全てフリーで公開されているものを用いた。たとえば、画像処理ソフトのImageJ¹⁾、ボリュームレンダリングソフトのOsirix²⁾ (Mac用)や、MRicroGL³⁾ (Windows用)などである。今回の作業に用いたのはImageJ、

*医学部 基礎医学部門 解剖学

ボリュームレンダリングソフトのRealia (サイバネット社のフリー版、現在は未公開)とOsirix (32ビット版はフリーで64ビット版は一定額の寄付が必要)である。

標本はエポン包埋したものを0.3~1 μmの厚さで連続切片にし、トルイジンブルーで染色した後、1200万画素の一眼レフデジタルカメラで撮影した。顕微鏡撮影された連続切片の写真は、ImageJを用いて正確に整列させた後、ボリュームレンダリングソフトに取り込んで立体モデルを作製した。

結果

我々の方法で作製した胚や組織の立体モデルは、走査型電子顕微鏡による観察像に匹敵するほどの高精細な像であった(図1, 2)。たとえば、ミクロン単位の構造である細胞の突起まで詳細に観察することが可能であった。作製された立体モデルの解像度は、用いた切片の厚さと、撮影された写真の解像度に依存する。そこで、我々は光学顕微鏡で観察可能な0.3 μmの厚さのエポン切片を作製し、対物100倍の油浸レンズ(UPlanSApo, Olympus)で撮影した腎臓の糸球体の3Dモデルを作製した。その結果、毛細血管にまわりついた足細胞の終足(直径が約0.2 μmの細胞突起)まで確認することができた(ここでは写真は示されていない)。つまり、光学顕微鏡の物理的な分解能の限界までの立体モデルの作製が可能であることがわかった。

さらに、今回の方法で作製された立体モデルで特筆すべき点は、今までの光顕や走査型電子顕微鏡などでは不可能なさまざまな観察方法や標本の操作が可能になったことである。たとえば、任意の断面の構造の観察(図3)や、コンピューター上で微小解剖し、邪魔な構造を削除することにより目的の構造を表出(図4, 5)することが簡単にできるようになった。また、色づけも自由にできるので、擬似カラー化した構造により目的の構造を強調して示すことも可能である。

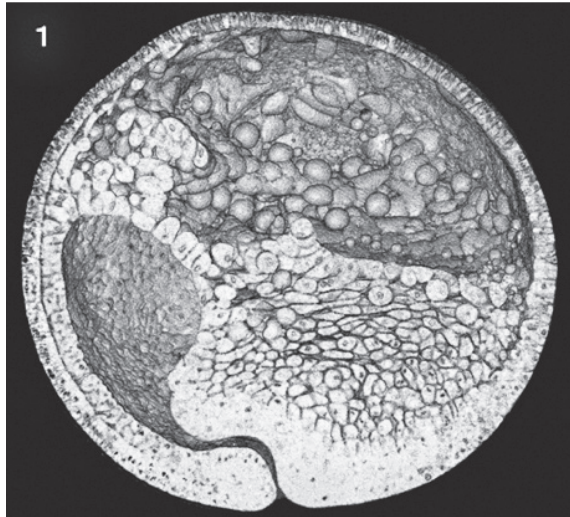


図1. 両生類（アカハライモリ, *Cynops pyrrhogaster*) の原腸胚の断面. 原腸が陥入している時期を示す. 予定中胚葉細胞の活発な移動が見られる.



図2. ニワトリの神経胚の断面.

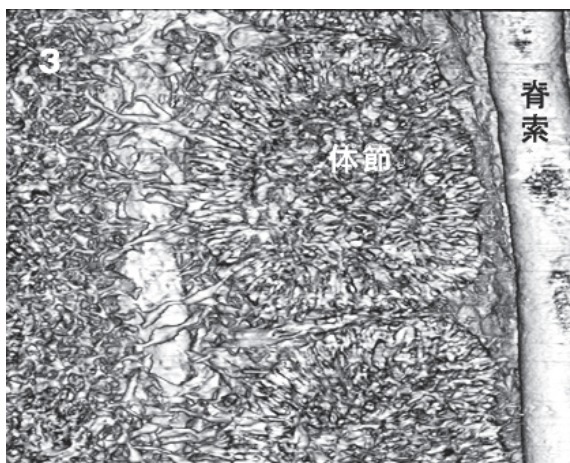


図3. 図2に示したニワトリの胚の点線で示した部分の断面. 断面を背側から見たもので、体節を構成する細胞の詳細な構造が分かる.

考 察

今回の方法で作製された立体構造には連続切片から得られる全ての情報が含まれているので、工夫しだいでは、多様な方法による観察が可能である. たとえば、胚の内部構造を透かして見たり、特定の構造物を強調して示したりすることができる. それと同時に、コンピュータの内部で胚や組織の微小解剖をバーチャルで行うことも可能である. それにより、今までの走査型電子顕微鏡ではできなかった、内部構造の詳細な観察や、見たい内部構造を取り出してみることもできるようになった. このような利点をうまく活用すれば、さまざまな医学教材の作成や研究における応用の発展性が広がると考えられる.

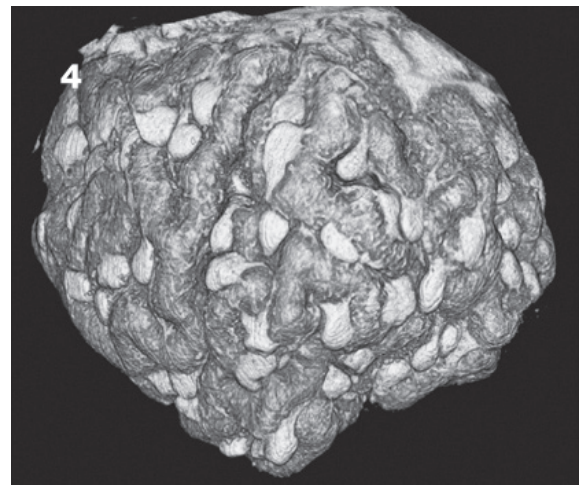


図4. マウスの腎臓の糸球体. 糸球体の周囲の尿細管とボウマン嚢をバーチャル微小解剖で取り除いたもの.

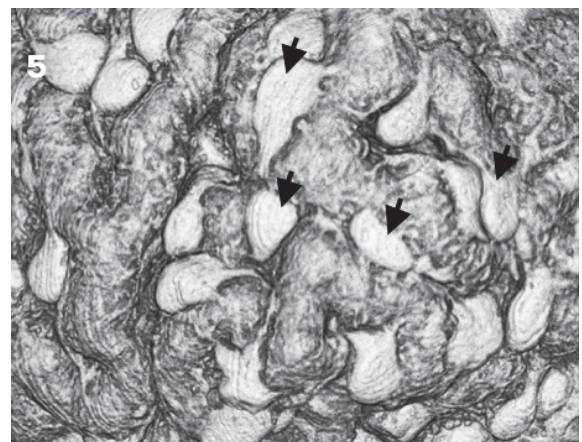


図5. 図4で示した糸球体の拡大図. 突起を伸ばした足細胞（矢印）が毛細血管の周囲ににまとわり付いているのが分かる.

また, いったんデジタル化された連続切片のデータは保存と管理が容易になるとともに, 複製によりいくらかでも同じものを増やすことが可能になる. その結果, 標本のデータを世界的な共有財産として教育や研究に幅広く活用することも可能である. しかも, 世界中の教育者や研究者により作製された多くの種類の3Dモデルを1ヶ所に集めてデータベース化し, それらをインターネットで公開すれば, 世界中の教育者や研究者が膨大なデータを自由に利用することができるようになり, それらの教材の利用価値が無限に広がることが期待される.

謝 辞

本研究を進めるにあたり, 立体モデルの作製作業に終始ご協力を頂いた亀澤一助手(解剖学)に感謝いたします.

引 用

- 1) <http://rsbweb.nih.gov/ij/>
- 2) <http://www.osirix-viewer.com/>
- 3) <http://www.mccauslandcenter.sc.edu/microgl/>