

日本医療研究開発機構 官民による若手研究者発掘支援事業 事後評価報告書

公開

I 基本情報

補助事業課題名：

(日本語) 近赤外ハイパースペクトルイメージングによる腸管神経叢の非染色可視化システムの開発

(英語) Development of an Unstained Visualization System of the Myenteric Plexus by Near-Infrared Hyperspectral Imaging

実施期間：令和5年6月8日～令和7年3月31日

補助事業担当者 氏名：(日本語) 高松 利寛

(英語) Toshihiro Takamatsu

補助事業担当者 所属機関・部署・役職：

(日本語) 国立研究開発法人産業技術総合研究所・健康医工学研究部門・主任研究員

(英語) Health and Medical Research Institute, National Institute of Advanced Industrial Science and Technology(AIST), Senior researcher

II 補助事業の概要

<本研究の目的>

ヒルシュスプルング病(以下H病)は約5千人に1人の先天性疾患で、遠位側腸管の神経節細胞が欠如しているため、蠕動運動がおこらず、機能的腸閉塞をきたす病気である。出生直後より症状が現れ、診断は直腸粘膜生検で病理組織学的に粘膜下の神経節細胞の欠如とAchE陽性神経線維の増生を認めることにより確定する。

H病の病変部は遠位側から無神経節部、移行帯、正常部と連なっている(図1)。無神経節部では壁内神経叢が観察されないが、移行帯ではまばらに存在し、正常部ではよく観察される。そのため、根治術では移行帯までを切除し、正常腸管と肛門の吻合を行う。病変が長い場合は一時的に正常部の最も遠位に人工肛門造設術を施行し、体重が増えてから二期的に根治術を

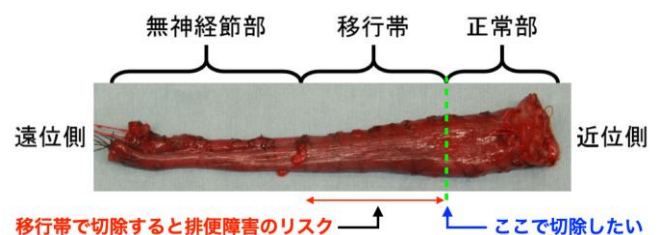


図1. H病患者の切除腸管組織

計画する。このとき、機能温存のために正常腸管を多く残したいが、移行帯を残すと術後の排便障害につながる。それ故、切除範囲の判定のために、壁内神経叢の確認が術中迅速病理診断にて行われている。

しかし、1回の迅速病理診断では判定困難な場合があり、複数回施行されることがある。その頻度は数症例に1回程度あり、結果判定に1回約30分要することから、2～3時間費やすこともある。また、夜間救急で運び込まれた際に病理医が待機しているとは限らず、診断・治療が遅れることもある。そのため、リアルタイムな診断技術が求められている。

腸管に存在する神経節は図2のように、マイスネル神経叢とアウエルバッハ神経叢によって構成される。このいずれかの観測によって切除範囲の診断に有効と考えられるが、浅い漿膜側からでも200 μm 程度の深さに50 μm 程度の大きさで分布する。そこで、深部観察が可能な共焦点や多光子励起の顕微光学系による可視化が検討されている。しかし、共焦点は使用する蛍光物質の生体内投与が認可されていないこと、厚み200 μm 以上の深い観察が難しいことが挙げられ、多光子励起は高出力レーザーを照射するため、生体安全性に問題がある。

そこで本研究では、H病の確定診断と、初期治療や根治手術の際の人工肛門造設部位や切除腸管の範囲を、非染色、非破壊でリアルタイム診断するシステムを構築し、実用化指針を得ることを目的とした。

<研究方法・結果>

研究代表者らはこれまでに、近赤外ハイパースペクトラルイメージング(NIR-HSI)が可能な硬性鏡を世界に先駆けて開発してきた。近赤外光(特に1000～1400 nm)は可視光よりも高い生体透過性を持つことが知られており、例えば図3のように、可視像では10 mm程度の厚みがあるささみ肉はほとんど透けないが、近赤外像では透過す

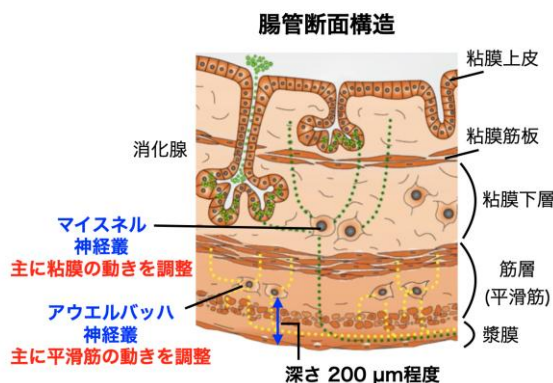


図2. 腸管内組織における神経叢の分布

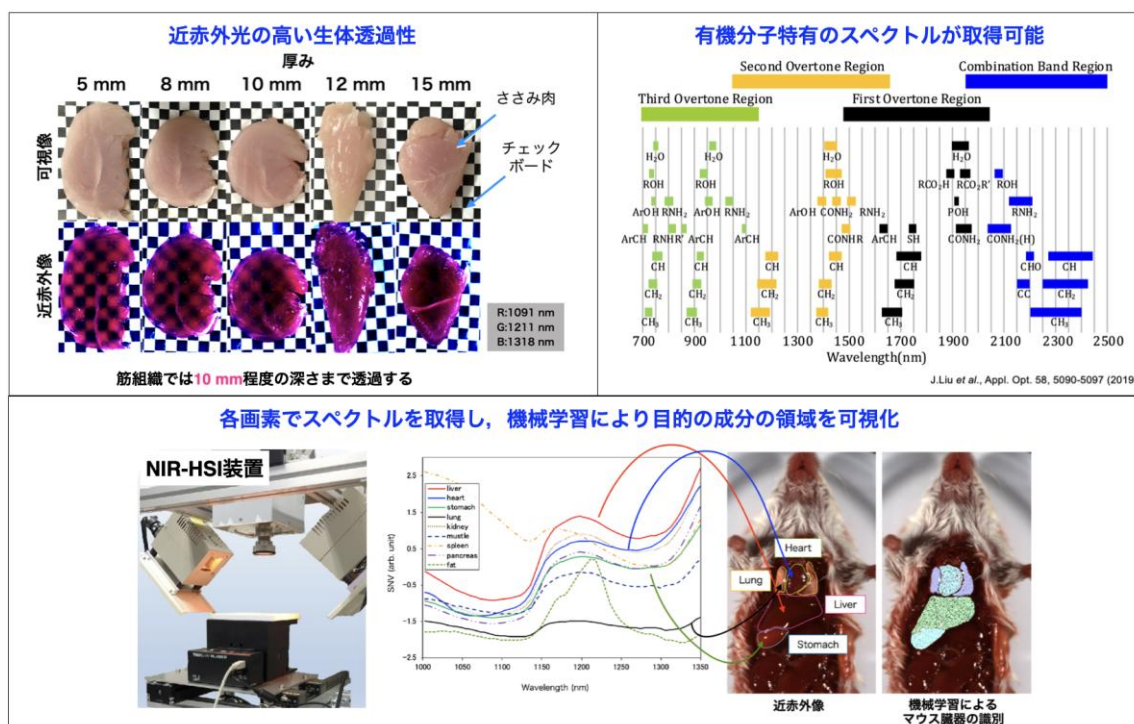


図3. 近赤外ハイパースペクトラルイメージングの原理

る様子が確認できる。加えて、近赤外領域は分子振動由来の光吸収が起こる。つまり、非染色・非破壊で生体深部の組成を吸収分光情報から同定することが可能である。そして、カメラの各画素で分光する技術(HSI)により、高い位置分解能で成分分析が可能となる。そのため、高倍率なNIR-HSI光学系により、漿膜側から筋組織中の神経叢可視化が期待できる。

本事業では臨床現場でオンサイトに腸管神経叢の可視化を行うデバイス構成として、顕微倍率なハンドヘルド型のNIR-HSI光学系の開発に取り組んだ。その結果、図4のような5 μm 以下の解像度をもつ硬性鏡の開発に成功した。このデバイスは近赤外波長も考慮して光学設計を行っており、色収差なくNIR-HSIを取得できることが示されている。また、蛍光画像と一対一対応させるために、近赤外光と可視光を分岐する光学系を設計し、蛍光画像も同時に取得可能な光学系も実現した。

そこで、本デバイスで腸管神経叢の可視化が可能か検討するために、腸管神経叢が蛍光するGFPマウスを用い、摘出した大腸の蛍光画像とNIR-HSIデータを取得して比較した。その結果図5に示されるように、NIR-HSIで取得した像において、蛍光している神経叢の領域で明らかなコントラストの違いが得られた。平均スペクトルを比較すると、1000 nm以上の近赤外波長領域で差が見られることから、神経叢を分類できる可能性が示唆された。このような非染色かつ非破壊的に腸管神経叢を観察できた知見はマウスの実験においても、前例がなく、世界初の成果であると言える。

<結論>

以上の結果から、本提案は図6のような、従来の術中迅速病理診断に代わって視覚的にリアルタイムで腸管神経の分布を把握する診断法として導出できる可能性が示されている。そのため、実現すれば経験則に基づく組織収集により確定診断がなかなかつかずに長時間化するリスクを大幅に減少させる技術として実用化が期待できる。

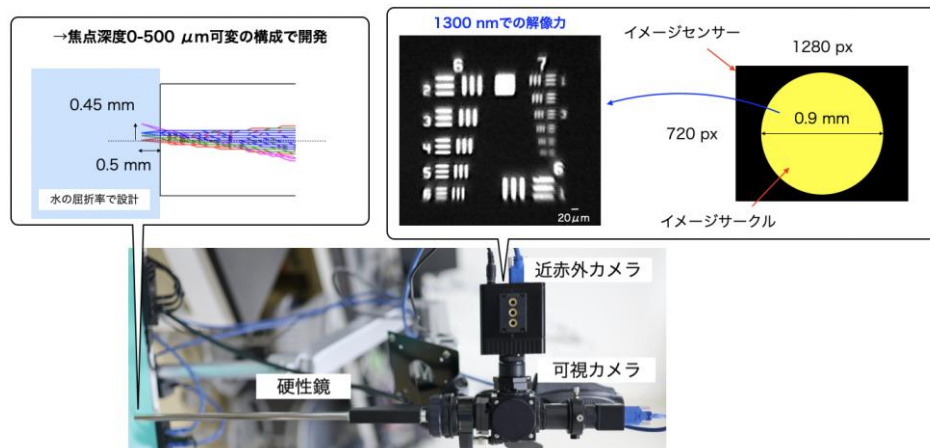


図4. 高倍率なハンドヘルド型近赤外スコープの光学系検討

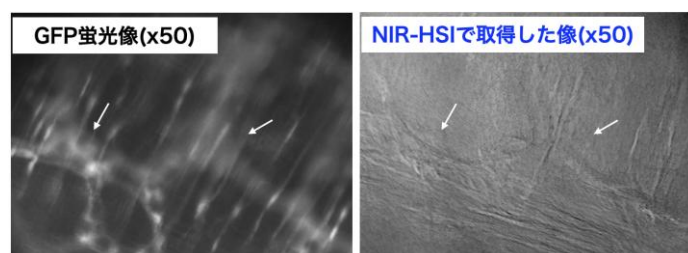


図5. GFPマウスの腸管神経叢



図6. NIR-HSIによる神経叢可視化が実現した際の臨床現場での利用方法

<Background>

Hirschsprung's disease is a congenital abnormality of the enteric nervous system presenting functional intestinal obstruction due to the lack of ganglion cells in the distal gut. Therefore, resection of the lesion is a curative procedure. Although it is desirable to preserve a large amount of normal intestinal tract to preserve function, leaving the lesion can lead to postoperative defecation problems. Therefore, the surgery requires an intra-operative histopathological diagnosis to assess the extent of digestive nerve plexus. However, it is sometimes difficult to determine the extent of the lesion by a single intra-operative histopathological diagnosis, and the procedure is performed multiple times, which frequently lengthens the operating time. In addition, pathologists are not always on call when patients are brought to the emergency room at night, thus it can delay diagnosis and treatment. Therefore, a simple and real-time diagnostic technique is required.

<Methods & Results>

In our group, we have previously developed the world's first rigid speculum capable of near-infrared hyperspectral imaging (NIR-HSI). Near-infrared light (especially 1000–1400 nm) is well known to have higher tissue penetration than visible light. For example, visible image is difficult to recognize checkerboard under 10 mm-thickness chicken breast, but it can be seen with near-infrared imaging. In addition, in the near-infrared region, optical absorption originating from molecular vibration occurs. In other words, it is possible to identify the composition of the deep part of the living body from the absorption spectral information in a non-staining, non-destructive manner. The technique of spectroscopy at each pixel of the camera (HSI) makes it possible to analyze components with high spatial resolution. Therefore, it is expected to visualize the nerve plexus in muscle tissue from the serous side by using a high-magnification NIR-HSI optical system.

In this project, we developed a hand-held NIR-HSI optical system with microscopic magnification as a device configuration for on-site visualization of the enteric nerve plexus at clinical sites. As a result, we succeeded in developing a rigid endoscope with a resolution of less than 5 μm . The optical design of this device also takes into account near-infrared wavelengths, and it has been shown that NIR-HSI can be acquired without chromatic aberration. In addition, we designed an optical system that can obtain near-infrared and visible image by splitting NIR and visible light for one-to-one correspondence with fluorescence images.

To investigate whether this device can visualize the nerve plexus, we compared the fluorescent image of the removed colon with the NIR-HSI data using GFP mice, in which the nerve plexus fluoresces. The NIR-HSI images showed a clear contrast difference in the region of the fluorescing nerve plexus. Comparison of the average spectrum showed differences in the near-infrared wavelength region above 1000 nm, suggesting the possibility of nerve plexus classification. This finding of non-staining and non-destructive observation of the nerve plexus is unprecedented, even in mouse experiments, and is the first such result in the world.

<Conclusion>

These results indicate that the proposed method has the potential to replace the conventional intraoperative rapid pathological diagnosis as a diagnostic method to visually grasp the distribution of nerve plexus in real time. Therefore, if realized, this technology can be expected to be put to practical use as a technique to significantly reduce the risk of prolonged time required to obtain a definitive diagnosis due to the difficulty of collecting empirical tissues.