

氏名（本籍） 納ス尔阿吉 買買堤艾力

学位の種類 博士（ 神経科学 ）

学位記番号 博甲第 7396 号

学位授与年月 平成 27 年 3 月 25 日

学位授与の要件 学位規則第 4 条第 1 項該当

審査研究科 人間総合科学研究科

学位論文題目

Observation of the Mouse Tissues in Open Aqueous Solution  
by Atmospheric Scanning Electron Microscope

大気圧走査電子顕微鏡による水中マウス組織の観察

主 査 筑波大学准教授 医学博士 野上晴雄

副 査 筑波大学教授 理学博士 志賀 隆

副 査 筑波大学教授（連携大学院）

博士（理学） 高島一郎

副 査 筑波大学教授 博士（理学） 石田健一郎

## 論文の内容の要旨

### （目的）

一般的に走査電子顕微鏡観察のために必須である組織の脱水や金属蒸着などの処理を行わず、生体試料を固定、染色後直ちに観察が可能な大気圧走査電子顕微鏡（Atmospheric Scanning Electron Microscope、ASEM）が開発され、すでに専用の容器で培養された細胞や、染色体標本、細菌などの観察が可能であることが示されている。しかし、動物組織の観察については報告が少なく、組織の処理方法、染色法など検討すべき点が残されている。本研究は、マウスの正常組織を ASEM で観察することが可能であるかどうか、そのためにはどのような前処置が有効かを検討するとともに、担癌組織の観察を通してこの装置の病理組織迅速診断への応用の可能性を探ることを目的として行われた。

### （対象と方法）

正常マウスから大脳、小脳、心臓、食道、胃、小腸、腎臓、肝臓、骨格筋組織などを採取し、4%パラホルムアルデヒドで固定した後、一部の実質臓器については 1-2 mmの厚さの切片を作成した。再び 4%パラホルムアルデヒドと 1%グルタルアルデヒドの混合液で固定後、0.5%トリトン X-100 で穿孔し、2%酢酸ウラニル、1-2%リンタングステン酸、TI ブルー液、NCMIR 染色法などにより染色した。また、マウスに 4T1E/M3 乳ガン細胞を背中に皮下移植、あるいは静脈内に投与し、ガン細胞が生着した脊髄と肺を上記と同様に処理し、ASEM による観察に供した。

## (結果)

上記の固定と重金属染色液による染色後、様々な正常マウス組織を ASEM により観察することが可能であった。大脳皮質では神経細胞とその突起の一部を確認することができ、小脳では分子層、プルキンエ細胞層、及び顆粒細胞層の区別を観察することができた。腓腹筋や上部食道の骨格筋組織では筋線維を確認することができ、I 帯、A 帯、Z 帯の区別も明瞭であった。さらに、これらの組織に分布する神経線維と思われる構造が立体的に確認できた。心筋組織でも同様に筋線維の構造が確認でき、さらに伸筋線維の核、介在板なども認められた。胃粘膜標本では、寄生細菌が明瞭に捉えられた。肝臓と腎臓はスライスを作成し、その断面の観察を行った。肝臓では中心静脈、幹細胞索など、腎臓では糸球体、ボウマン嚢、尿細管各部など器官に特徴的な構造を見ることができた。担癌組織では、ガン細胞が正常細胞よりも大型の核を持つことを指標とすることにより、ガンの病巣を識別することが可能であった。

## (考察)

本研究の結果は動物組織を脱水、包埋、あるいは金属蒸着などの処理を施すことなく、直接 ASEM で観察することが可能であることを示している。これは、電子顕微鏡観察のための前処置、特に脱水、包埋による組織の形態変化を防ぐことになり、より生体に近い形態観察が可能である。走査型電子顕微鏡は脱水乾燥させた組織に炭素や金属を蒸着させ、組織表面のみを観察する方法であるが、ASEM では細胞内の核など、組織表面から一定の深さにある細胞内構造の観察が可能であった。これによって、担癌組織のガン細胞の核を明瞭に観察することができ、ASEM がガンの迅速診断に応用できる可能性が考えられる。ASEM と同様に、固定、染色後直ちに組織観察が可能な「Environmental cell」と呼ばれる、別のタイプの走査型電子顕微鏡が開発されているが、ASEM は組織の観察範囲が広く、容器の上部に蓋がないので観察中の組織の操作が可能であるなど、生物学的研究の広い分野での観察が可能であると思われる。

## 審査の結果の要旨

### (批評)

本研究は固定と重金属染色を施した組織を、脱水などの処理を行わず直接 ASEM により観察することが可能であることを明らかにした。本研究で示された ASEM による様々なマウス正常組織の組織像は従来の光学顕微鏡像とほぼ同等の解像度を有しており、この装置の多様な分野への応用の可能性を示した点は評価に値する。さらに、担癌組織の観察結果はこの装置が、手術中に行われる病理組織の迅速診断に応用できる可能性を示した。この結果は腎生検などへの応用と共にこの装置の臨床応用への基礎的なデータとなる点で貴重な結果である。

平成 27 年 1 月 29 日、学位論文審査委員会において、審査委員全員出席のもと論文について説明を求め、関連事項について質疑応答を行い、最終試験を行った。その結果、審査委員全員が合格と判定した。

よって、著者は博士（ 神経科学 ）の学位を受けるのに十分な資格を有するものと認める。