

フルフィールドOCTで 正常組織と病理組織を診断

ユージーン・ダリミエ, ファブリス・ハルムス, ベルトラン・ド・ポリエ, A. クロード・ボッカラ

実験セットアップ

フルフィールド(全視野)OCT(FF-OCT)は、干渉計と顕微鏡を統合している^{(1)~(3)}(図1)。リニク(Linnik)構成のマイケルソン干渉計では、2つの同じ対物顕微鏡レンズを対象物アームとリファレンスアームに用いている。

光源は、標準出力150Wのタンゲステンフィラメントのハロゲンランプで、ケラ照明デバイスを介して干渉計を照射する。光源の出力スペクトラムは、近赤外に非常に近く、中心が800nm程度となっている。この広帯域インコヒレント光源は、非常に短い空間的、時間的コヒレンス長を持ち、クロストーク無しでサブマイクロメートルの分解能が実現できる。

光源から放出される光ビームは、広帯域の非偏光ビームスプリッタキューブを通して干渉計の2つのアームに分割される。サンプルに当たる平均パワーは、1mW/mm²のオーダーである。

対物レンズは液浸であり、標準でNA

0.3、10×水浸対物レンズが使用されている。2つの同じ対物レンズを選択したことで2つのアーム間の光路差が最小となり、干渉波面の重なりが最大になる。サンプル浸液(主に緩衝液)の利用により、照射によってサンプルに障害を与えることなく、長時間生物サンプルを観察できる。

断層画像の目的は、スライスが反射する強度を所定の深さで明らかにすることであり、これを $R_{obj}(x, y)$ と言う。後方散乱の大きさは、2または4画像を組み合わせて用いることで算出する。画像は、2つまたは4つ位相 ψ の値で得られるもので、位相はそれぞれ π または $\pi/2$ ずらしている。記録された信号は以下の式で与えられる:

$$I(x, y, t) = \frac{I_0}{4} \{ R_{inc}(x, y) + R_{ref}(x, y) + 2\sqrt{R_{obj}(x, y)R_{ref}(x, y)} \cos[\phi(x, y) + \psi] \}$$

ここでは ϕ は位相差(未知)である。この原理からLLTechは、図2に示したプ

ラグ&プレイ商用システムを作製した。

診断ツールとしてのFFOCT: 乳ガンの例

ここに示した実験は、図2のLLTechセットアップを用いて、医師の指導の下に病院で行われた⁽⁴⁾。ここでは、アプリケーションの範囲を意図的に胸部病変に限定した。他の組織に関心がある読者は、アトラス⁽⁵⁾や発表論文にもっと多くの2Dまたは3D画像を見つけられる。

胸部は最初に研究した器官であるが、理由は前臨床試験用に大量の材料が利用できること、乳ガンの発生率が高いことである。

1.4×1.4cm²視野の収集と処理時間は約5分。示した全ての画像は、直接(反転していない)LUTを用いて撮った。後方散乱レベルが高い組織は白く見える。

健全な胸部組織と病変組織の大量の画像を交互に比較することで、正常な胸部組織とガンで変化した組織のFFOCT画像の特徴を際立たせること

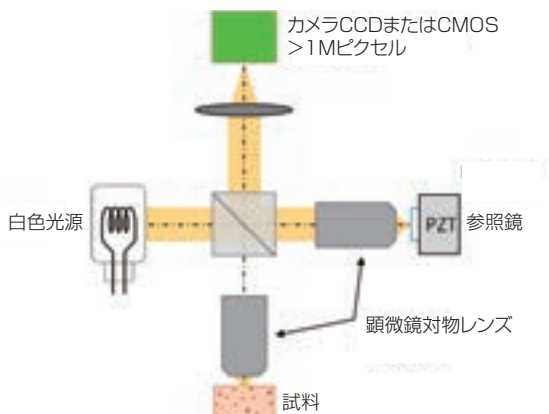


図1 FF-OCTセットアップの原理



図2 FF-OCTをベースにしたLLTechスキャナ

ができた。

これらは、小葉、乳管、線維組織、血管、脂肪組織で、**図3**に示されている。

一般に、コラーゲンの間質(線維組織や筋肉)を含む構造は、重要な後方散乱信号を返す(FFOCT画像では白色)。逆に、上皮性構造(小葉や管)は後方散乱が少なく、灰色に見える。小葉構造(図3a)は、濃い灰色で丸く見える。乳管の縦断面(図3b)は、濃い灰色に見える。これは厚さに変化がある上被膜の伸張構造である。FFOCTによって接線方向に切り取られているので、厚く柔軟な包囲膜の透明な階調レベルがこれらの分泌腺を目立たせている。また、真白に見える硬化の存在も指摘できる(図3c)。横断面の血管(図3d)は、管ほどに厚い上皮膜ではないが、薄い柔軟膜の存在によって明確に区別される。脂肪細胞(図3e)は後方散乱的な特徴はなく、黒く丸みを帯びた構造に見える。この構造は、拡散的で白く見える膜の存在によってのみ区別される。脂肪組織を特徴付けるハニカム構造は、FFOCT画像で非常によく再現されている。正常な線維組織(図3g)は、きめが粗く、適度な後方散乱レベルがある。ガン基質領域では、線維組織が非常に異なって見える。細かな後方散乱が強い構造で構成されており、白く見える。傷の部分では線維組織は厚く広い間隔となっており、後方散乱レベルは低い。さらに乳腺切除の手順に沿った組織学的検査中、パジェット病のために乳首を切除して分析する。

浸潤性ガンの例は、**図4**と**図5**に示している。図4は星形腫瘍、図5は結節性腫瘍。いずれの場合でも、線維組織と脂肪組織は分離されている。星形の場合、腫瘍間質が脂肪組織に侵入する傾向がある(図4c)。線維組織は、特徴的な外観として細かな散乱間質が

表1 診断ツールとしてのFFOCT:結果概要。正に初めての胸部組織についての結果は本表に要約。

Pathologists	True positives	True negatives	False positives	False negatives	Not interpretable	Sensitivity (%)	Specificity (%)
MA	28	34	9	3	4	90	79
BS	31	33	11	2	2	94	75

センチネルリンパ節について、初回の調査訓練なしの最初の読み取り結果(発表予定あり)。

表2 診断ツールとしてのFFOCT:結果概要

Pathologist# 1	FFOCT		SENSITIVITY=93% SPECIFICITY=90%
	Normal	Invaded	
H&E	Normal	27	3
	Invaded	1	13

医師または画像の専門家が、訓練後に得た結果はより満足 of のいくものである。

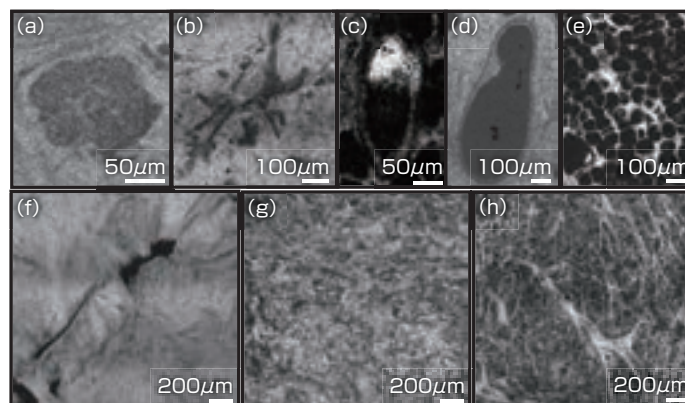


図3 胸部組織の基本構造。小葉(a)、乳管(b)、硬化した乳管を横断的に切り取る(c)、血管(d)、脂肪組織(e)。線維組織(f)、正常線維組織(g)、線維間質のガン細胞に囲まれた線維組織(h)。

見られ(図4d、図4c)、この点は正常な線維組織(図4d)と明確に区別される。基質縁の脂肪細胞(図4e)は、健全な組織と比べて小さく見え、形状に丸みがない。結節性腫瘍の場合、脂肪組織が濃い灰色の緻密領域を形成するガン細胞を取り囲んでいる。

線維網の外観上の違いは、腫瘍の範囲を示すために使用できる(図5c、d)。内腔中の分泌で広がった円形流路がサンプルの中央に見える(図5b)。線維組織や脂肪組織の形状の外観上の変化はFFOCT画像では十分に見ることができるが、組織画像でははっきりしない。このような特徴は、FFOCTイメージング技術による胸部組織の分類基準として使える。

また、**図6**に示すように、浸潤性ガンや上皮内ガンが同時に発達する例もある。非浸潤性乳管ガンは、内部のガン細胞の存在による流路伸張が特徴となっている(図6d)。浸潤性ガン成分、導管腺ガンは微細な散乱小腔の存在による結果で、良性病変は非浸潤性乳管ガン成分を持つ導管腺ガンである。線維組織は極めて散乱的に微細に広がっており、その肥大した弾性膜チャネル(図6c)によって見分けがつく。胸部ガン細胞(濃い灰色)を取り囲む線維組織(白色)(図6d)もFFOCT画像で認識できる。

線維腺腫を**図7**に示している。この病変は、管状の拡張管の存在によって特徴付けられ、FFOCT画像で簡単に見分けがつく(図7b)。

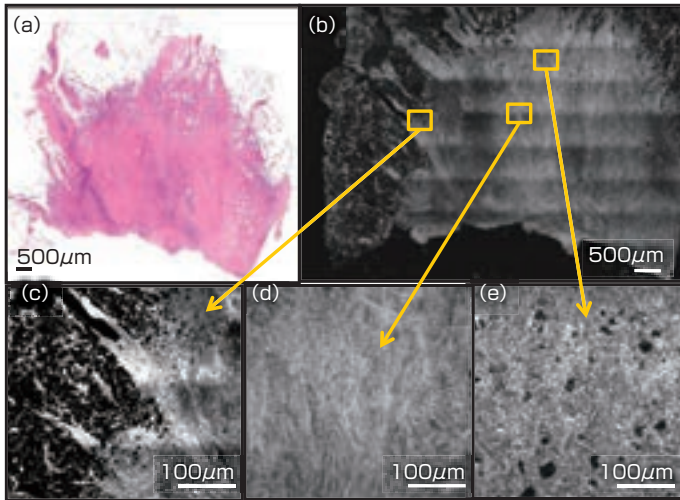


図4 浸潤性ガン。星形腫瘍(a, b)、脂肪組織の浸潤(c)、線維組織腫瘍(d)、小脂肪細胞と変形細胞(d)。

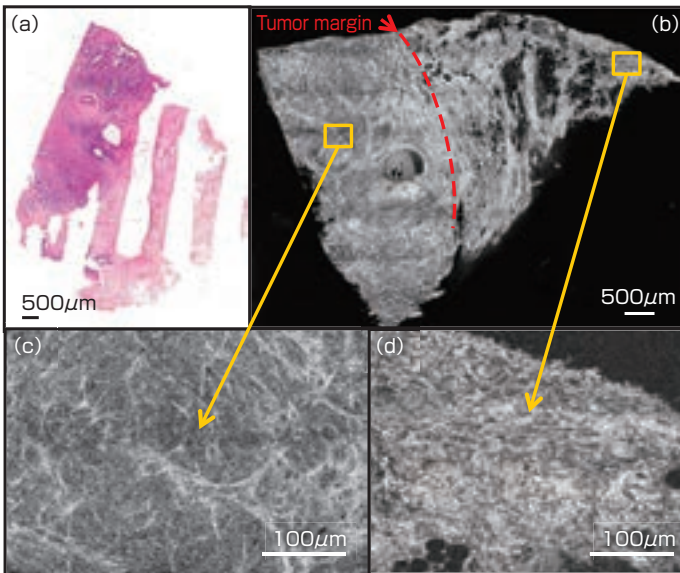


図5 浸潤性ガン。結節性腫瘍(a, b)。ガン細胞を取り囲む線維組織(c)、正常線維組織(d)。

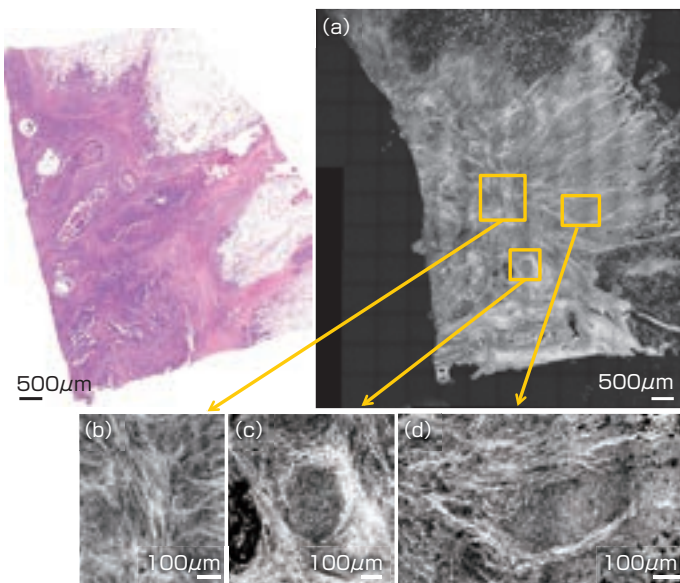


図6 非浸潤性乳管ガン成分を持つ導管腺ガン。線維組織は極めて散乱的に微細に広がっており(c)、その肥大した弾性膜チャンネル(c)、ガン細胞(濃い灰色)(d)を取り囲む線維組織(白色)によって見分けがつく。

上皮内小葉ガンは図8に示している。大きく拡張した小葉腺房の小さな細胞の増殖によって特徴付けられる(図8c)。この病変は、ここに示した例では良性であるが、乳管(図8d)がその増殖の中央にあり、これは悪性の兆候である。

FFOCT画像に基づいて分析すると、胸部組織の分類を始めることができる⁽⁶⁾。

ここで、このイメージング技術がリンパのより効率的な外科的アブレーションで役に立つかどうかを評価するためにリンパ節の分類用ツールとしてFFOCTの有用性を考察したい。

原発腫瘍の切除と補助的切除に基づいた悪性乳ガンの外科的処置では、同じ側の腋窩のリンパ節を半分以上切除することになる。リンパの切除プロセスは、たとえ数々の難点があるとしても、いまだに標準と見なされている。

正常な乳房結節組織は図9に示している。白みを帯びた緻密線維組織と間隔が見える(図9d)。辺縁洞(図9c)は被膜の下にあるが、末端中心(図9e)は円形の灰色に見える。

腫瘍リンパ節は図10に示している。ガングリオン構造には、もはや配慮する必要がない。リンパ領域内の細胞浸潤は明るい灰色領域として表示されている。これらの領域は、HESスライスの紫色の領域に対応しており、ガン細胞の一群である(図10c下)。健全なリンパ球は濃い灰色に見える(図10c上)。また、FFOCT画像で拡大すると、多くの血管が転移の存在の特徴である血管過剰増生を反映していることが分かる(図9a)。

最後に、FFOCTを使って病院で行った、初めてのこれらの研究は、術中診断ツールとして多くの極低温切除を置き換える過程で重要な一歩となる。画像のコントラストは病理学者が利用する化学的、生物学的特徴を提供するこ

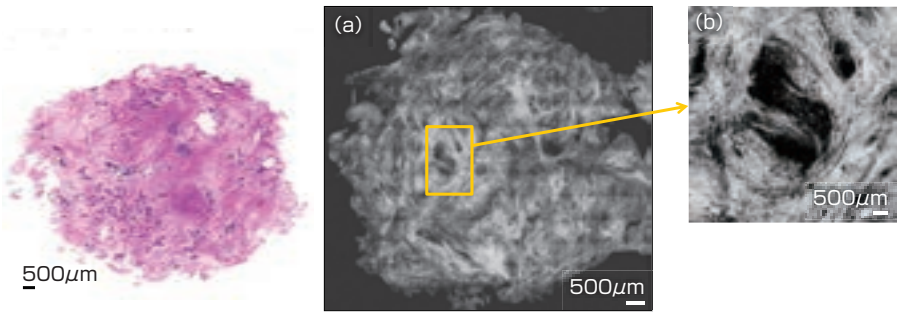


図7 肥大した流路(B)を特徴とする線維腺腫(a)。

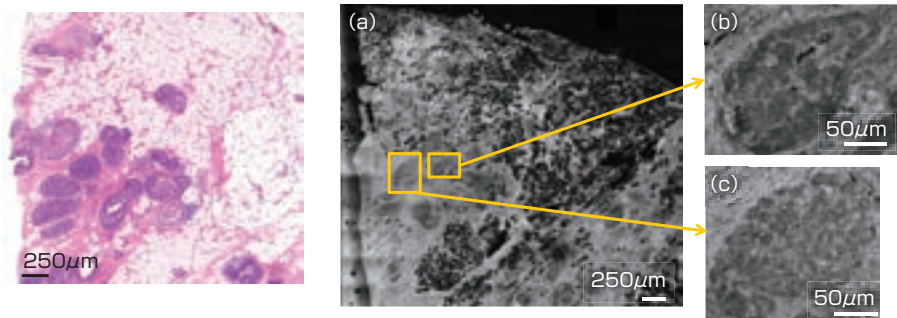


図8 上皮内小葉ガン(a)。中央に細胞増殖が広がり(b)、腺房小葉も広がっている(c)。

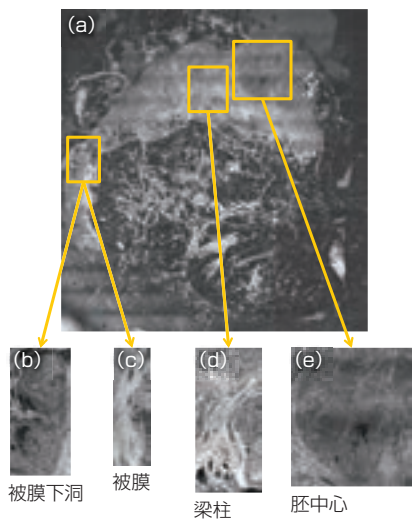


図9 正常リンパ節FFOCT画像

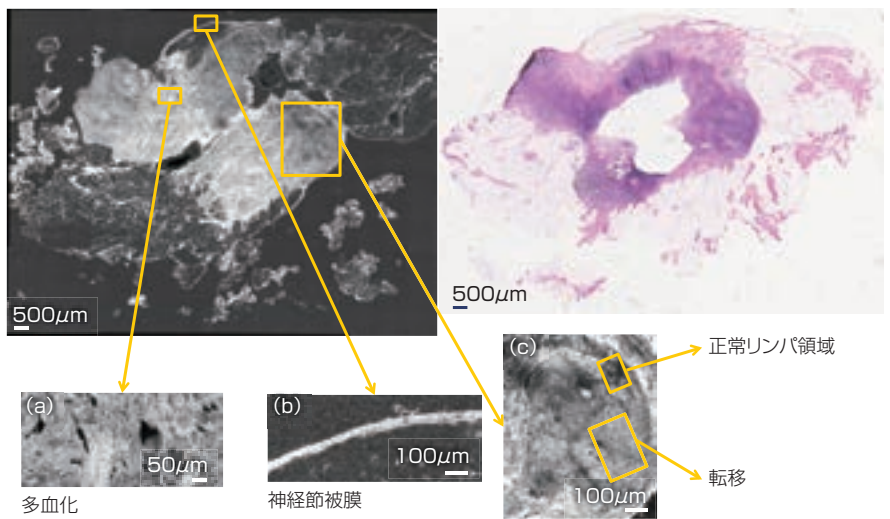


図10 浸潤リンパ節FFOCT画像

とはできないが、この非破壊的技術は、悪性腫瘍、その周辺などに関する多くの貴重な情報をもたらしてくれる。

期待されるFFOCTのアプリケーション分野は、組織の選択や同定であることははっきりしている。

- ・手術室におけるコアニードル生検はスタートしており、ここでの狙いは、さらに化学的、生物学的分析のための組織サンプルの「品質」確認である。
- ・バイオバンクはもう1つの分野で、ここでは組織の選択が重要であり、FFOCTを使用する初めてのトライアルが進行中である。

最後に、内視鏡的なFFOCTアプローチは、あるがままの診断、生体内診断で医師にとって有用なツールになると思われる。

参考文献

- (1) Vabre L, Dubois A, Boccara A.C., 《Thermal-light full-field optical coherence tomography》, Optics Letters, vol. 27, p. 530-532, 2002.
- (2) Dubois A, Vabre L, Boccara A.C., Beaufrepaire E., 《High-resolution full-field optical coherence tomography with a Linnik microscope》, Applied Optics, vol. 41, p. 805-812, 2002.
- (3) Dubois A, Grieve K, Moneron G, Lecaque R, Vabre L, Boccara A.C. 《Ultrahigh-resolution full-field optical coherence tomography》, Applied Optics, vol. 43, p. 2874-2882, 2004.
- (4) The hospitals involved in FF-OCT studies are: Curie and Tenon Hospitals in Paris, MD Anderson (Texas), Cornell Weill (New York) and Hôpitaux Universitaires de Genève.
- (5) <http://www.lltechimaging.com/>: Atlas of images(home page bottom left) and references to published papers.
- (6) Assayag O, Antoine M, Sigal-Zafrani B, Riben M, Harms F, Burcheri A, Grieve K, Dalimier E, Le Conte de Poly B, Boccara C. Large field, high resolution full field optical coherence tomography: a pre-clinical study of human breast tissue and cancer assessment. Technol Cancer Res Treat. 13(5) : 455-68, 2014.

著者紹介

ユージーヌ・ダリミエはLLTech社のプロジェクトマネージャー、ファブリス・ハルムスはCTO、ベルトラン・ド・ポリエはCEO、A.クロード・ボッカラはCSO。コンタクト先はユージーヌ・ダリミエ (Eugénie Dalimier)。e-mail: edalimier@lltech.fr URL: www.lltechimaging.com