

平成 30 年 5 月 24 日現在

機関番号：13802

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K08375

研究課題名(和文)超音波顕微鏡を用いて組織の加齢性変化を描出する

研究課題名(英文)Imaging of tissue aging by scanning acoustic microscopy

研究代表者

三浦 克敏(Miura, Katsutoshi)

浜松医科大学・医学部・教授

研究者番号：20173974

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：組織中の音速(SOS)と組織の硬さが相関することを利用して、老化を数値化して評価しようとした研究である。皮膚、血管、心臓弁について評価した。

皮膚について高齢者の真皮は若年者よりもSOSが低い、一方表皮はSOSが高く、高齢者の皮膚は表面は硬いが、深部がゆるい事実に対応した。表皮はペプシン消化で急速に低下し、脆いことがわかった。大動脈、腎動脈は加齢に伴って非動脈硬化部のSOSは低下がみられ、蛋白分解処理に抵抗性を示した。大動脈解離、大動脈弁閉鎖不全、僧帽弁腱索の断裂部は周囲と比べ、SOSの低下があり、蛋白分解処理を受けやすかった。蛋白分解処理を取り入れたSOSの計測による老化評価は可能である。

研究成果の概要(英文)：The aim of this study is to try evaluate tissue aging because speed of sound (SOS) through tissues correlates with tissue rigidity. We have evaluated aging of skin, blood vessels, and cardiac valves.

About skin, dermis of elderly was less SOS values compared with younger adults while epidermis of elderly showed higher SOS, which correspond to the fact that top of elderly skin is rigid but loose at the bottom. Epidermis presented rapid reduction of SOS after pepsin digestion, which indicate fragile of the elderly epidermis. Non-atheromatous portions of aortae and renal arteries with aging showed declined SOS and resistance to protease treatment. Portion of aortic dissection, aortic valve regurgitation, and ruptured cords of mitral valve were less SOS values and high protease sensitivity compared with surrounding portions. Aging evaluation is possible by measuring SOS assisted with protease treatment.

研究分野：人体病理学

キーワード：ultrasound imaging tissue rigidity aging protease microscopy skin aging cardiovascular pathology

1. 研究開始当初の背景

組織の加齢性変化についてはこれまでの研究で糖付加や酸化による組織の不可逆性変化が積み重なることが、重要な機序に挙げられていた。病理検体として提出される組織から老化を推測する方法として確立されたものはなかった。我々の超音波顕微鏡 (SAM) のこれまでの研究で、蛋白に架橋や糖化が起こると、酵素による消化を受けにくくなり、SMA による音速や音の減衰の変化が出にくくなることを見出した。この現象を利用して組織の老化を明らかにしようと試みた。

2. 研究の目的

加齢に伴って変化する蛋白の糖化や架橋などの組織修飾を超音波顕微鏡による画像化で検出する研究であり、心臓弁の硬化、創傷治癒の遅延、糖尿病変化、皮膚血管の加齢性変化などを通常の病理組織切片を用いて客観的に評価し、発症機序を明らかにすることを目的とする。

3. 研究の方法

10 ミクロンの平坦なホルマリン固定パラフィン切片または新鮮凍結切片を作成して、走査型超音波顕微鏡による画像を作成する。切片の各ポイントを通過する音速 (SOS)、減衰 (AOS)、厚さのデジタルデータをスクリーンに描出し、画像化する。さらに、切片上で蛋白分解酵素処理やシッフ反応を行って、超音波画像の変化を経時的に観察し、光顕像の変化と比較する。年齢や疾患別による音速、減衰の変化を調べる。変化の見られた場所の病因をエラスチカ・マッソントライクローム染色や抗体を用いる組織化学の方法を用いて分析する。

4. 研究成果

2017 年のヨーロッパ病理学会、日本抗加齢医学会では以下の発表をおこなった。加齢に伴って大動脈、腎動脈とも非動脈硬化部の SOS は低下がみられた。低下部には LOX の発現亢進があり、蛋白分解処理に抵抗性を示した。アテローム性動脈硬化部は平滑筋が消失し、膠原繊維が増えることで SOS の数値が高かった。線維間を架橋する物質が増え、蛋白分解処理に抵抗性を示した。大動脈解離、大動脈弁閉鎖不全、僧帽弁腱索の断裂部は周囲の正常部と比べ、SOS の低下があり、蛋白分解処理を受けやすかった。SAM は線維化や線維の粗鬆化を客観的に数値で評価ができる。

2017 年日本病理学会ではホルマリン固定パラフィン包埋された皮膚切片にペプシン消化を行い、経時的に音速 (SOS) の変化を追跡した。高齢者と若年者、糖尿病と非糖尿病、慢性の創傷と急性の創傷を比較した。音速像の解像度は光学顕微鏡画像に匹敵し、ペプシン消化後に特徴的な音速像の変化を見せた。皮膚については高齢者の真皮は若年者よりも SOS が低く、高齢者の皮膚はゆるく、柔らかであることを示唆した。一方表皮は SOS が高く、ペプシン消化で急速に低下した。糖尿病患者の真皮網状層は非糖尿病患者に比べ、ペプシン消化に抵抗性を示した。慢性の創傷部は急性に比べて、高い SOS を示し、ペプシン消化抵抗性であった。以上から、皮膚の老化、糖尿病状態、線維化による SOS の変動は老化や疾患の状態による機械的变化をよく反映しているといえた。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)
〔雑誌論文〕(計 6 件)

1. Miura K, Katoh H. Structural and Histochemical Alterations in the Aortic Valves

of Elderly Patients: A Comparative Study of Aortic Stenosis, Aortic Regurgitation, and Normal Valves. Biomed Research International.

2016. DOI: 10.1155/2016/6125204

2. Miura K, Egawa Y, Moriki T. Skin stripping method using proteases to evaluate structural stability by a scanning acoustic microscope. Virchows Arch. 2016;469:S140-S.

3. Miura K, Yamamoto S. A scanning acoustic microscope discriminates cancer cells in fluid. Sci Rep. 2015;5:15243.

4. Miura K, Tsuchida T, Yamamoto S. A Scanning Acoustic Microscope - A Novel Tool for Cytological Discrimination. Faseb Journal. 2015;29.

5. Miura K, Egawa Y, Moriki T, Mineta H, Harada H, Baba S, et al. Microscopic observation of chemical modification in sections using scanning acoustic microscopy. Pathol Int. 2015;65(7):355-66.

6. Nakamura Y, Miura K, Yasumizu R, Sato M, Suda T. Dendriiform pulmonary ossification visualised by scanning acoustic microscope. Thorax. 2015;70(5):512-3.

〔学会発表〕(計 6 件)

BIT 's 9th Annual International Congress of Cardiology-2017 2017.11.15-17. Singapore.

Application of Scanning Acoustic Microscopy to Elucidate Cardiac Valvar Diseases

29th European Congress of Pathology 2017.9.2-6. Amsterdam. Codeposition of apolipoprotein A-4 with amyloid protein of systemic and localized type

第 3 回 光超音波画像研究会 2016.11.12 浜松 核磁気共鳴エラストグラフィと走査型超音波顕微鏡による髄膜腫弾性率の評価

第 8 回 バイオ超音波顕微鏡研究会 2016.7.2. 東京. 音速の標準サンプルと線維構造の描出法

第 17 回日本抗加齢医学会総会. 2017.6.3. 東京
老化に伴う心血管のゆるみの原因

第 106 回 日本病理学会総会 東京
2017-4-29
走査型超音波顕微鏡による蛋白分解酵素消化法は皮膚の老化、糖尿病、線維化を評価できる

〔図書〕(計 1 件)

Miura K. Application of Scanning Acoustic Microscopy to Pathological Diagnosis. In: Stanciu SG, editor. Microscopy and Analysis. Croatia: Intech; 2016. p. 381-403.

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

名称：
発明者：

権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況（計 0 件）

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

三浦 克敏 (MIURA, Katsutoshi)
浜松医科大学・医学部・教授
研究者番号：20173974

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし

(4) 研究協力者

山本 清二 (YAMAMOTO, Seiji)

深水 秀一 (FUKAMIZU, Hidekazu)

峯田 周幸 (MINETA, Hiroyuki)

小林 和人 (KOBAYASHI, Kazuto)

山下 寛奈 (YAMASHITA, kannna)

加藤 秀樹 (KATOU, Hideki)