

利用課題名：強皮症発症リスク因子解明のための In-air micro-PIXE による組織内微量元素分析の高効率化

英文利用課題名：Improving the efficiency of trace element analysis in tissues by in-air micro-PIXE to clarify risk factors for scleroderma

古賀康彦¹⁾ 土橋邦生²⁾

Yasuhiko Koga Kunio Dobashi

¹⁾群馬大学大学院医学系研究科呼吸器・アレルギー内科 ²⁾上武呼吸器内科病院

(概要)

元素分布分析法である大気マイクロ粒子励起 X 線放出(in-air micro-particle induced X-ray emission, in-air micro-PIXE)分析はより高い元素感度と空間分解能で非侵襲的かつ非破壊的に測定することが特徴であり近年、生物学的サンプル中の元素の組成と濃度への解析に適用され始めている。同じ元素分布分析法で最も汎用されている走査型電子顕微鏡 SEM-EDS の検出感度と空間分解能は、それぞれ約 0.1~1%と 100 nm に制限されている。一方で、micro-PIXE の検出感度と空間分解能は、それぞれ約 1 ppm と 1 μm で SEM-EDS の約 10~100 倍高い。生物試料を用いた micro-PIXE による元素解析の特徴は、プローブとして用いる MeV 級の水素イオンマイクロビームの直進性及び透過力により、薄膜を通して大気中にビームを引き出し、含水試料内の ppm レベルの微量元素の分布を空間分解能 1 μm で測定することができる事が利点である。我々はこの技術を応用して近年、原因不明の特発性肺線維症の肺組織中にシリカが多く蓄積しており、シリカの肺組織への集積が不良な予後に影響していることを明らかにしてきた¹⁾。

キーワード：全身性強皮症、シリカ、PM2.5、PIXE、間質性肺炎

1. 目的

本研究では、全身性強皮症において吸入シリカが肺以外の組織として自己免疫の病態の首座である皮膚組織中にどのように分布しているのかを in-air micro-PIXE で解析する。今年度は昨年度の研究計画で実施してきた肺組織の元素解析結果を踏まえ、群馬大学皮膚科学講座の協力を得て、強皮症患者さんの皮膚生検の組織検体を用いた微量元素分布測定を行い、全身性強皮症の疾患の一因を解明することを目的とする。本研究開発は、in-air micro-PIXE の臨床応用範囲を拡大し、その実用的価値を高めるものである。

2. 実施方法

疫学的にシリカ暴露が自己免疫疾患である全身性強皮症の発症リスク因子であることが報告されているが、ヒト組織を用いた強皮症の元素解析の報告は極めて少ない。本研究では、昨年度の研究の延長として全身性強皮症症例の肺組織の元素分布解析の結果を踏まえて、群馬大学皮膚科学講座の協力の下で強皮症診断のために採取された 100 例以上の皮膚生検組織の元素解析を進めていく。全身性強皮症の元素分布を臨床データと照らし合わせて解析することで、全身性強皮症発症リスク因子の解明を行う。強皮症肺の組織検体と比して、全身性強皮症診断のための皮膚生検の検体数は多いため本研究においては、より多くの測定回数が必要となる見込みである。

そこで、測定時間の短縮するために、水素イオンマイクロビーム強度を数倍マイクロビーム形成用電磁石のアライメントの調整によって高める。さらに、複数の X 線検出器を用いて同時測定が可能になるようシステムを改造することで検出効率を高める。

また、強皮症肺の経時的な努力肺活量などの肺機能と元素絶対濃度及び相対濃度との相関関係を解析し、強皮症肺の予後予測因子についても検討を行う。さらに、強皮症の診断時には皮膚の硬化スコアや発赤部位、発赤の特徴等の皮膚所見が詳細に記録・保管されている。これらの臨床情報と解析された元素濃度との相関関係についても検討を進めていく。研究計画期間内に皮膚生検組織を用いた元素解析を完遂させることは症例数が多いため難しいが、強皮症肺を用いたコントロール肺と

強皮症肺の元素解析については昨年度の研究により予定通り解析を完了している。

3. 結果及び考察、今後の展開等

環境因子が一因と考えられている原因不明疾患の中で、数多くの疫学研究からシリカ暴露の影響が指摘されている難病として全身性強皮症が知られている。全身性強皮症は膠原病の代表疾患であり、皮膚のみならず肺や心臓、腎臓など多くの全身臓器の結合織に自己免疫性の炎症がもたらされる。特に肺や心臓、腎臓への合併症は予後不良な転帰を辿る原因として知られており、これらの臓器への合併症に対する有効な治療方法は未だに見いだされていない。さらに全身性強皮症のヒト組織を用いた元素解析に関する研究報告が乏しいのが現状である。全身性強皮症の炎症の首座である皮膚は肺組織よりもシリカやアルミニウム、マグネシウムなどの元素の蓄積がより微量であることが考えられ、生体内に分布するこれらの微量元素の検出には定量的な濃度測定が可能な高感度元素解析システムが欠かせない。そこで本研究計画のような医療分野の元素分布測定応用においては、検出限界の高い in-air micro-PIXE による高感度の元素解析能が重要となってくる。このような特徴は医学・医療分野において、培養細胞や組織切片等の生体試料内の微量元素分布の測定に最適と考えられる。我々はこれまでの研究 開発によって、ビーム照射量と検出器の検出効率から、ある程度の精度で各種の元素の相対定量が可能な解析手法を開発してきた。我々は、医療応用への in-air micro-PIXE のシステムの整備と改善を重ねてきた。これまでの研究技術を駆使し昨年度の研究計画で実施した強皮症肺の元素解析では、シリカの肺組織中の濃度が対照肺と比較して有意に増加していた。In-air micro-PIXE による元素解析は、疫学研究で報告されているシリカ暴露と全身性強皮症との関連性を裏付ける結果であった。さらにマグネシウム濃度も強皮症肺に有意に蓄積していた。アルミニウムも強皮症肺に多い傾向が見られたが、有意差は見られなかった。さらに、強皮症肺の in-air micro-PIXE による強拡大解析では、シリカが数 μm の粒子として集簇し、鉄など他の元素と存して分布しているイメージが確認出来た。この結果から強皮症肺において、シリカを含む粒子が環境から肺内に到達し蓄積している可能性が示唆された。本研究は、まとまった症例数の個々の組織検体と臨床情報を用いた画期的な研究である。疫学調査から長年にわたって議論されてきた全身性強皮症発症とシリカ暴露との関連性について、本研究結果が今後の全身性強皮症の新たな疾患概念を確立するきっかけになり得る事が期待される。

4. 引用(参照)文献等

1. Koga, Y. et al. Progression of Idiopathic Pulmonary Fibrosis Is Associated with Silica/Silicate Inhalation. Environ. Sci. Technol. Lett. 8, 903-910 (2021).