

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公開特許公報(A)

(11) 特許出願公開番号

特開2004-147872**(P2004-147872A)**

(43) 公開日 平成16年5月27日(2004.5.27)

(51) Int.Cl.⁷**A61B 8/00****G01N 33/483**

F I

A61B 8/00

G01N 33/483

B

テーマコード (参考)

2G045

4C301

4C601

審査請求 未請求 請求項の数 14 O L (全 11 頁)

(21) 出願番号 特願2002-316703 (P2002-316703)

(22) 出願日 平成14年10月30日 (2002.10.30)

特許法第30条第1項適用申請有り 2002年5月15日 社団法人日本超音波医学会発行の「日本超音波医学会第75回 学術集会プログラム・講演抄録集」に発表

(71) 出願人 503360115

独立行政法人 科学技術振興機構
埼玉県川口市本町4丁目1番8号

(72) 発明者 高井 俊行

宮城県仙台市青葉区中山4-18-1-506

(72) 発明者 西條 芳文

宮城県仙台市青葉区中山台3丁目4-5

(72) 発明者 菅原 章子

宮城県仙台市青葉区花京院2-2-16-201

Fターム(参考) 2G045 BA14 BB24 BB51 CB01 CB17

FA16 FA32 GC30

4C301 AA02 CC02 CC06 DD02 EE09

EE11 FF01 HH01 JB23 JB24

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 脳組織変性の診断方法

(57) 【要約】

【課題】脳組織や脳組織標本における超音波の音響特性の変化を利用した、ミエリンの発達障害に基づく精神分裂病及びそれに由来する痴呆症等の脳組織変性の侵襲的又は非侵襲的な診断方法を提供すること。

【解決手段】走査型超音波顕微鏡(SAM)を用いて、視床や海馬からなる中枢部位等の脳組織又は脳組織標本に周波数100~200MHzの超音波ビームを照射し、反射超音波における音響特性の変化、例えば反射波の強度と位相の解析により、周波数特性から厚みを計算し減衰値を算出し、オリゴデンドログリアにおける超音波の減衰を検出して脳組織変性の診断をする。

【特許請求の範囲】**【請求項 1】**

脳組織又は脳組織標本に超音波を照射し、超音波の波動としての属性を利用して、音響特性の変化を検出することを特徴とする脳組織変性の診断方法。

【請求項 2】

超音波の波動としての属性が、反射、屈折、散乱、減衰、伝播時間又はドップラー効果であることを特徴とする請求項 1 記載の脳組織変性の診断方法。

【請求項 3】

音響特性の変化が、反射超音波における音響特性の変化であることを特徴とする請求項 1 又は 2 記載の脳組織変性の診断方法。

10

【請求項 4】

反射超音波における音響特性の変化が、反射超音波の RF (Radio Frequency) 信号の解析、及び / 又はエコーのスペックル (粒状反射) パターンの変化であることを特徴とする請求項 3 記載の脳組織変性の診断方法。

【請求項 5】

反射超音波における音響特性の変化が、反射超音波の強度と位相の変化であることを特徴とする請求項 3 記載の脳組織変性の診断方法。

【請求項 6】

反射超音波における音響特性の変化が、オリゴデンドログリアにおける超音波の減衰であることを特徴とする請求項 3 ~ 5 のいずれか記載の脳組織変性の診断方法。

20

【請求項 7】

細径プローブを用い、得られた反射超音波における音響特性の定量的解析を行うことを特徴とする請求項 3 ~ 6 のいずれか記載の脳組織変性の診断方法。

【請求項 8】

パルス信号を用いて、広い帯域の反射超音波における音響特性を解析することを特徴とする請求項 3 ~ 7 のいずれか記載の脳組織変性の診断方法。

【請求項 9】

非侵襲的に音響特性の変化を検出することを特徴とする請求項 1 ~ 8 のいずれか記載の脳組織変性の診断方法。

【請求項 10】

周波数 2 ~ 450 MHz の超音波を照射することを特徴とする請求項 1 ~ 9 のいずれか記載の脳組織変性の診断方法。

30

【請求項 11】

周波数 12 ~ 200 MHz の超音波を照射することを特徴とする請求項 10 記載の脳組織変性の診断方法。

【請求項 12】

周波数 20 ~ 140 MHz の超音波を照射することを特徴とする請求項 11 記載の脳組織変性の診断方法。

【請求項 13】

脳組織が中枢部位であることを特徴とする請求項 1 ~ 12 のいずれか記載の脳組織変性の診断方法。

40

【請求項 14】

超音波顕微鏡を用いることを特徴とする請求項 1 ~ 13 のいずれか記載の脳組織変性の診断方法。

【発明の詳細な説明】**【0001】****【発明の属する技術分野】**

本発明は、脳組織や脳組織標本における超音波の音響特性の変化を利用した、ミエリンの発達障害に基づく精神分裂病及びそれに由来する痴呆症等の脳組織変性の診断方法に関する。

50

【 0 0 0 2 】

【 従来 の 技 術 】

硬化性白質脳症を伴う多発嚢胞性脂肪膜性骨異形成症、又は那須 - ハコラ病（例えば、非特許文献 1、2 参照。）は、日本とフィンランドにおいて発見された稀な中枢神経系疾患である。那須 - ハコラ病患者は、骨嚢胞組織の形成に加えて、性格変化などの精神異常の症状を経て初老期痴呆を必発する。フィンランドの患者では、5.3 kb の DAP12 [KARAP (Killer activating receptor associated protein) / TYROBP (protein tyrosine kinase binding protein)] 遺伝子座が欠損する変異が見られた。別の欠陥をもつ日本の患者は、遺伝子の第 3 エクソンで単一のヌクレオチドが欠損しており、両患者とも、主に免疫組織にみられる細胞膜アダプタータンパク質 (membrane adaptor protein; 例えば、非特許文献 3、4 参照。) である DAP12 の機能が失われることによるものであることが知られている (例えば、非特許文献 5 参照。)

10

【 0 0 0 3 】

上記 DAP12 (DNAX activation protein 12) は活性化モチーフ ITAM を有する膜貫通タンパク質であり、リン酸化により ZAP-70 や Syk と結合することが示唆されており、ヒトにおいて 19q13.1 に位置する 1 コピー遺伝子にコードされ、マウスにおいても存在することが知られている。かかる DAP12 の mRNA は単球、樹状細胞、ナチュラルキラー細胞などに多く発現され、DAP12 は単に KAR 群の活性化シグナリングに関与するだけではなく、ヒト signal regulatory protein (SIRP) beta1、ヒトやマウスの myeloid DAP12 - associating lectin (MDL) - 1、triggering receptor expressed on myeloid cells (TREM) と会合することも知られている。また、DAP12 が CD94 / NKG2C など、C タイプレクチンファミリーに属する KAR 分子とも会合し、機能していることが報告されている (例えば、非特許文献 6 ~ 8 参照。)

20

【 0 0 0 4 】

従来、中枢神経系疾患の器質的診断には、CT (Computed Tomography)、MRI (Magnetic Resonance Imaging)、PET (Positron Emission Tomography) などの画像診断が行われてきた。CT や MRI は癌やその他の病変を視覚的に診断することができることから、医療においてなくてはならない検査機器となっているが、CT は X 線及び放射性同位元素を使用するため、これら X 線や放射性同位元素が生体に与える影響を無視することはできず、MRI は非常に強力な磁気及び電波を使用するため、強力な磁気及び電波が生体に与える影響を無視することはできない。また、PET は、アイソトープ化されている薬剤 (FDG; 18F - 2 - デオキシ - 2 - フルオロ - D - グルコース) を使用することにより、腫瘍のように細胞活動の活発な箇所、すなわちグルコースの取り込み量が多く、放射活性の高い部位、組織についての情報を得ることができ、発病部位を特定する能力に優れているが、診断できる対象疾患が癌や一部の細胞活性の高い疾患に限られる。さらに、上記のい

30

40

【 0 0 0 5 】

他方、超音波は、現在医療界において臨床的な診断等に用いられている。超音波診断装置では 2 ~ 15 MHz、血管内超音波では 20 ~ 40 MHz、眼科領域では 12 ~ 100 MHz の周波数帯の超音波が用いられており、特に、眼科領域で 60 MHz 以上の高周波数のものは生体超音波顕微鏡 (Ultrasonic Biomicroscope; UBM) と呼ばれている。UBM は通常の超音波診断装置と同じ B モード (断層像) で、かつ高周波数、高解像度のものの総称で、この UBM を用いると定性的診断が可能となる。超

50

音波顕微鏡 (Acoustic microscope) は、試料面を機械的に走査しながら、集束型の超音波プローブによって試料に超音波を照射し、試料表面に表面波を励起させて、試料からの反射超音波の振幅や位相の分布を画像化することにより、試料の表面及び内部の情報や試料の弾性的性質を取得できるとされている。一般的には 100 MHz ~ 数 GHz の周波数を使用し、C モード (平らに置いたものを上から見た画像) で、高精度の定量的診断が可能となる。液体カプラには純水が多く使われているため、非常に高価である。そのため、周波数 30 ~ 50 MHz の低周波センサが考案されている。

【0006】

本発明者らも、医学及び生物学において超音波顕微鏡を応用してきた (例えば、非特許文献 9、10 参照。)。また本発明者らは、聴覚パラメータを定量測定するための線収束型超音波顕微鏡を開発し (例えば、非特許文献 11 参照。)、生物組織の定量聴覚測定に応用してきた。そして、超音波顕微鏡が胃ガン (例えば、非特許文献 12 参照。)、腎臓 (例えば、非特許文献 13 参照。)) におけるガンの種類を分析できることを報告している。

10

【0007】

【非特許文献 1】

Acta Pathol. Jpn. 23, 539 - 558, 1973

【非特許文献 2】

J. Med. Genet. 34, 753 - 757, 1997

【非特許文献 3】

J. Immunol. 158, 5083 - 5086, 1997

20

【非特許文献 4】

Nature 391, 703 - 707, 1998

【非特許文献 5】

Nature Genet. 25, 357 - 361, 2000

【非特許文献 6】

Immunity 8, 693 - 701, 1998

【非特許文献 7】

J. Immunol. 161, 7 - 10, 1998

【非特許文献 8】

J. Immunol. 160, 4148 - 52, 1998

30

【非特許文献 9】

IEEE Trans Sonics Ultrason, SU-32, 132 - 135, 1985

【非特許文献 10】

Jpn J appl Phys, 26, 52 - 54, 1987

【非特許文献 11】

Ultrason Med Biol, 26, S30 - S32, 2000

【非特許文献 12】

Ultrason Med Biol, 17, 709 - 714, 1991

【非特許文献 13】

Ultrason Med Biol, 22, 1261 - 1265, 1996

40

【0008】

【発明が解決しようとする課題】

上記のように、精神分裂病及びそれに引き続く若年性痴呆を必発する那須 - ハコラ病では、免疫系受容体シグナルアダプター分子である DAP12 遺伝子の欠損が、その病因であると証明された。また、精神分裂病の脳組織所見として、視床及び海馬におけるミエリン形成不全、つまりオリゴデンドログリア発達障害が特徴的であることが示され、病因遺伝子と組織異常の相関が解明されつつある。したがって、DAP12 欠損マウスの脳組織におけるミエリン形成不全の検出は、DAP12 欠損マウスが痴呆モデルであることを示すと同時に、痴呆の早期診断方法開発の鍵となる。特に、ミエリンの発達障害 (形成不全)

50

に基づく精神分裂病及びそれに由来する若年性痴呆は、100～1000人に1人とも言われ、その早期診断による的確な病態評価と診断を基礎にした治療が、QOLの観点から強く望まれている。

【0009】

一方、超音波を利用し、正常細胞と異常細胞の音響特性変化（超音波の減衰）を検出することにより、これまでの画像診断によってはこれらを判別することが不可能であった通常のCTやMRIでは一見して正常な組織形態を有する病変や、視覚によっては捕らえることのできないほどの大きさの病変までも臨床的に検出できることは知られていなかった。特に、これまで脳組織におけるミエリン形成不全や、それに伴う精神分裂病或いは痴呆、及び那須-ハコラ病を超音波の音響特性の変化によって、検出できることは知られていなかった。本発明の課題は、脳組織や脳組織標本における超音波の音響特性の変化を利用した、ミエリンの発達障害に基づく精神分裂病及びそれに由来する痴呆症等の脳組織変性の診断方法を提供することにある。

【0010】

【課題を解決するための手段】

本発明者らは、使用周波数200MHzの超音波顕微鏡を用いて、ミエリンの鞘状構造の形成が不全であるDAP12欠損マウスの脳組織における音響特性の変化を、反射波の強度と位相の解析により検出したところ、ミエリンの形成不全を示す部位では超音波が減衰することを観察し、高周波数超音波を用いることで、通常の光学顕微鏡では検出されない脳組織の異常が検出可能であり、脳のGeometryに異常のない変性疾患の診断に、臨床的にも超音波が有用であることを見出し、本発明を完成するに至った。

【0011】

すなわち本発明は、脳組織又は脳組織標本に超音波を照射し、超音波の波動としての属性を利用して、音響特性の変化を検出することを特徴とする脳組織変性の診断方法（請求項1）や、超音波の波動としての属性が、反射、屈折、散乱、減衰、伝播時間又はドップラー効果であることを特徴とする請求項1記載の脳組織変性の診断方法（請求項2）や、音響特性の変化が、反射超音波における音響特性の変化であることを特徴とする請求項1又は2記載の脳組織変性の診断方法（請求項3）や、反射超音波における音響特性の変化が、反射超音波のRF（Radio Frequency）信号の解析、及び/又はエコーのスペックル（粒状反射）パターンの変化であることを特徴とする請求項3記載の脳組織変性の診断方法（請求項4）や、反射超音波における音響特性の変化が、反射超音波の強度と位相の変化であることを特徴とする請求項3記載の脳組織変性の診断方法（請求項5）に関する。

【0012】

また本発明は、反射超音波における音響特性の変化が、オリゴデンドログリアにおける超音波の減衰であることを特徴とする請求項3～5のいずれか記載の脳組織変性の診断方法（請求項6）や、細径プローブを用い、得られた反射超音波における音響特性の定量的解析を行うことを特徴とする請求項3～6のいずれか記載の脳組織変性の診断方法（請求項7）や、パルス信号を用いて、広い帯域の反射超音波における音響特性を解析することを特徴とする請求項3～7のいずれか記載の脳組織変性の診断方法（請求項8）や、非侵襲的に音響特性の変化を検出することを特徴とする請求項1～8のいずれか記載の脳組織変性の診断方法（請求項9）や、周波数2～450MHzの超音波を照射することを特徴とする請求項1～9のいずれか記載の脳組織変性の診断方法（請求項10）や、周波数12～200MHzの超音波を照射することを特徴とする請求項10記載の脳組織変性の診断方法（請求項11）や、周波数20～140MHzの超音波を照射することを特徴とする請求項11記載の脳組織変性の診断方法（請求項12）や、脳組織が中枢部位であることを特徴とする請求項1～12のいずれか記載の脳組織変性の診断方法（請求項13）や、超音波顕微鏡を用いることを特徴とする請求項1～13のいずれか記載の脳組織変性の診断方法（請求項14）に関する。

【0013】

【発明の実施の形態】

本発明の脳組織変性の診断方法としては、脳組織又は脳組織標本に超音波を照射し、反射超音波における音響特性の変化を検出する診断方法であれば特に制限されるものではなく、例えば、超音波診断装置、ＣＴスキャン、超音波顕微鏡等を用いて、これら機器の発信装置から超音波を脳組織（患部）又は脳組織標本に向け照射し、反射して得られる超音波の音響特性の変化（相違）を測定・検出し、データ化し、評価・判定する方法を挙げることができるが、光波や電子線を通さない試料でも表面又は表面下の構造を通常数 μm の分解能で検出できる点で超音波顕微鏡を用いることが好ましい。上記脳組織としては、視床、海馬等からなる中枢部位を好適に例示することができる。また、上記脳組織標本としては、脳組織を固定・包埋した後の薄片物を具体的に例示することができる。

10

【００１４】

また、上記反射超音波の音響特性の変化を検出する方法としては、反射超音波の音響特性の相違を測定することのできる検出方法であれば特に限定されるものではないが、反射超音波のＲＦ（Radio Frequency）信号の解析を行い、音響特性の相違を測定する検出方法や、エコーのスペックル（粒状反射）パターンの相違を測定することにより音響特性の変化を検出する方法や、反射超音波の強度と位相の変化を検出する方法などを列挙することができる。例えば、視床におけるミエリン形成不全、すなわちオリゴデンドログリア発達障害を超音波の減衰という音響特性の変化で検出することにより、痴呆の早期診断が可能となる。

【００１５】

20

本発明の脳組織変性の診断方法において使用する超音波としては、周波数が可聴周波領域を越える１ＭＨｚから１ＧＨｚの弾性波であればどのようなものでもよく、超音波の周波数帯として２～４５０ＭＨｚの超音波を用いることが好ましく、特に１２～２００ＭＨｚの周波数帯の超音波を用いることが好ましく、中でも２０～１４０ＭＨｚの周波数帯の超音波を用いることが特に望ましい。

【００１６】

被験者の生体脳組織に超音波を照射して脳組織における器質的診断を非侵襲的に行う場合は、単一の周波数ではなく、パルス信号を用いて、例えば２０～１４０ＭＨｚの広い帯域の超音波の音響特性の変化を解析することが好ましく、また、血管内超音波のような細径プローブによって得られた信号の定量的解析により、微細構造の判定を行うことが好ましい。他方、脳組織標本に超音波を照射する場合は、超音波素子と標本対象との距離を一定にして精密な計測をしうることから、１００～４５０ＭＨｚ、例えば２００ＭＨｚの高周波数の超音波を用いることにより、音響特性の変化を検出することが好ましい。

30

【００１７】

上記細径プローブとしては、上記の超音波周波数帯の超音波を発信及び受信することができ、且つ、生体内に挿入し得る細径のプローブであれば、特に限定されるものではないが、直径２ｍｍ以下、特に１ｍｍ程度のもを用いることが好ましく、また、プローブの表面は生体に反応しない材質に覆われていることが望ましい。

【００１８】

超音波顕微鏡は走査型超音波顕微鏡（ＳＡＭ）ともいわれ、細く絞った超音波ビームを２次元走査しながら照射し、反射波や透過波を解析し得るものであればどのようなものでもよいが、微小領域の測定精度に優れ、深さ方向に焦点位置を変化させて３次元像を得ることができることから、反射波を解析する反射型のＳＡＭが好ましい。また、１２～１００ＭＨｚの周波数帯の超音波を用いる場合、通常のエコー装置と同様にＢモード表示（超音波のビーム方向と平行な平面の断面像；断面表示モード）とすることが、１００ＭＨｚ以上の周波数帯の超音波を用いる場合、Ｃモード表示（超音波のビーム方向と垂直な平面の画像；平面表示モード）とすることが好ましい。

40

【００１９】**【実施例】**

以下、実施例等により本発明をより具体的に説明するが、本発明の技術的範囲はこれらの

50

例示に限定されるものではない。

参考例 (DAP12ノックアウトマウスの作製)

DAP12ノックアウトマウスは、文献 (Cell 76, 519-529, 1994) 記載の方法により、129/SvJ (H-2^b) と C57BL/6 (B6、H-2^b) とのハイブリッドにより作製した。129/SvJマウス遺伝子ライブラリー (ストラタジーン社製) から DAP12 ゲノム DNA を単離し、プロモーター領域及び DAP12 遺伝子のエクソン 1~3 を含む 5.1 kb の BamHI 断片を、neo^r カセット (ストラタジーン社製) に置換し、負の選択マーカーとして単純ヘルペスウィルスチミジンキナーゼ (HSV-TK) を挿入することにより構築した (図 1a)。なお、neo^r カセットは、5.1 及び 1.2 kb の相同配列をフランキング配列として有していた。このベクターを線状化し、エレクトロポレーションすることによって ES 細胞 (RW4) に導入し相同的組換えを行った結果、7.1% の頻度で ES 細胞の相同的組換え体を得ることができた。

10

【0020】

上記の相同的組換え体から ES クローンを単離し、G418 及び GANC (ガンシクロピア) に対してネオマイシン耐性 ES クローンをスクリーニングし、サザンブロット法によって相同的組換え体を確認した。かかる相同的組換え体からゲノム DNA を単離して、KpnI でダイジェストし、neo^r カセットを含むターゲッティングアレルを含んでいることを確認した。かかる確認された ES クローンを胚盤胞中にマイクロインジェクションし、キメラマウスを作製し、作製されたマウスを野生型の C57BL/6 マウス (Charles River 社製) とインタークロスさせ、コントロールされた環境下で特異的病原体を遮断した施設において飼育することによってヘテロ接合体マウスを得た。また、ホモ接合体マウスを得るために、このヘテロ接合体マウスをインタークロスさせ、DAP12 遺伝子が染色体上で欠損した欠損マウス及びその野生型マウスを作製した。このようにして作製された本発明の DAP12 ノックアウトマウスは少なくとも 10 ヶ月齢までは、文献 (Immunity 13, 345-353, 2000、Immunity 13, 355-364, 2000) 記載のように特段の異常を示すことなく、健康に成長した。この得られた DAP12 ノックアウトマウスにおいて DAP12 発現能が欠失しているかどうかの確認は、DAP12^{+/+}、DAP12^{+/+}、DAP12^{-/-} 等のマウスの尾から得たゲノム DNA を KpnI で消化し、図 1a に示されている領域のプロンプを用いたサザンブロット法により調べた (図 1b)。

20

30

【0021】

また、文献 (Cell 76, 519-529, 1994) 記載の方法により DAP12^{+/+} 及び DAP12^{-/-} マウスから骨髓マスト細胞 (BMMC) を調製し、かかるマスト細胞 (各レーン 2.5 × 10⁵ 細胞相当) から抽出したタンパク質と、文献 (Cell 70, 351, 1992) 記載の方法により調製した抗ウサギ DAP12 抗血清 (1:500 で希釈) とを用いたイムノブロット分析においても調べた (図 1c)。その結果、DAP12^{-/-} マウス由来の細胞において DAP12 タンパク質が検出されなかった。

【0022】

実施例 (痴呆モデルマウスにおける脳組織変性の音響特性)

生後 12 週齢及び 50 週齢の DAP12 ノックアウトマウス (-/-) 又は野生型マウス (+/+) を麻酔した後、ホルマリン溶液で灌流し、かかるマウスから脳を単離した後、ホルマリン溶液で 1 晩固定し、固定した脳を標準プロトコルによりパラフィン処理 (100% エタノール、メチルベンゾアート、キシレン、キシレンパラフィン又はパラフィン溶液で各 1~2 時間ずつ処理する操作) を施しパラフィン包埋した。包埋した脳をマイクロトームで 4 µm の厚さにスライスし、スライドガラス上に載せ、標準プロトコルにより脱パラフィン処理 (キシレン、100% エタノール、90% エタノール、70% エタノール、PBS) を施して、超音波顕微鏡用試料を作製した。超音波顕微鏡のトランスデューサと試料の間に脱気水を注入して音響カプラとし、周波数 100~200 MHz の超音波ビー

40

50

ムを発信して、反射波を受信し、既報 (U l t r a s o u n d i n M e d . & B i o l . , V o l . 2 6 , S u p p l e m e n t 1 , p p . S 3 0 - S 3 2 , 2 0 0 0) のごとく、反射波の強度と位相の解析により、周波数特性から厚みを計算し減衰値を算出し、超音波の減衰を定量的にカラー表示した。12週齢における結果を図2 (参考写真1) に、50週齢における結果を図3 (参考写真2) に示す。

【0023】

図2及び図3に示されるように、正常マウス (右、12週齢及び50週齢) の視床ではオリゴデンドログリアと考えられる部分の減衰が高く、D A P 1 2 欠損マウス (左、12週齢及び50週齢) では同部位の減衰は周囲と同様であった。超音波の減衰は、組織の微細構造を強く反映するため、ミエリンの形成不全を示す部位では減衰が低いものと考えられた。高周波数超音波を用いることで、通常の光学顕微鏡では検出されない脳組織の異常が検出可能であり、脳のジオメトリーに異常のない変性疾患の診断に、臨床的にも超音波が有用であることが示された。

10

【0024】

比較例 (光学顕微鏡や電子顕微鏡における脳組織変性の所見)

脳組織変性の音響特性変化の検出方法の有効性を検証するために、光学顕微鏡や電子顕微鏡における脳組織変性の所見について調べてみた。それぞれ可視光で判別できるH E 染色試料、ミエリンの主要かつ特異的な構成要素であるミエリン塩基性タンパク (M B P) 抗体染色試料を常法により作製し、光学顕微鏡にて観察し、また、電子顕微鏡にてオリゴデンドログリアの発達状況を観察し、これらの所見を超音波顕微鏡の所見と対比した。H E 染色の結果を図4 (参考写真3) に、M B P 抗体を用いた免疫染色の結果を図5 (参考写真4) に、電子顕微鏡の撮像結果 (×2000、×10000、×50000) を図6 (参考写真5) にそれぞれ示す。

20

【0025】

H E 染色組織においては、D A P 1 2 欠損マウスと正常マウスの組織所見上の相違は観察されなかった (図4) 。M B P 抗体染色では、D A P 1 2 欠損マウスの視床において特にミエリン形成不全が顕著であった (図5) 。視床中心部について電子顕微鏡によりミエリン構造を微細に観察すると、正常では鞘状の構造が多数認められるのに対し、D A P 1 2 欠損マウスでは鞘状構造の形成が不全であった (図6) 。なお広範な脱髄ではなく、有髄線維の数が低下し (×2, 000倍拡大画像)、髄鞘を持たない神経線維が多く見られるという点が特徴的であり (×10, 000倍拡大像)、しかも×50, 000倍の拡大像ではシナプスに小胞が異常に蓄積している個所が数多く観察された。

30

【0026】

【発明の効果】

本発明の脳組織変性の診断方法によると、方法脳組織や脳組織標本における超音波の音響特性の変化を検出することにより、例えばミエリンの発達障害に基づく精神分裂病及びそれに由来する痴呆症等の診断、特に器質的診断が非侵襲的且つ簡便に検出することができる。

【図面の簡単な説明】

【図1】痴呆モデルD A P 1 2 ノックアウトマウスと野生型マウスの遺伝子地図と、各マウスにおけるP C R法及びサザンブロット法の結果を示す図である。

40

【図2】本発明の、オリゴデンドロサイト発達障害モデルマウス (12週齢) における脳組織変性の音響特性変化の検出方法による当該モデルマウスの脳切片の超音波顕微鏡写真を示す図である。

【図3】本発明の、オリゴデンドロサイト発達障害モデルマウス (50週齢) における脳組織変性の音響特性変化の検出方法による当該モデルマウスの脳切片の超音波顕微鏡写真を示す図である。

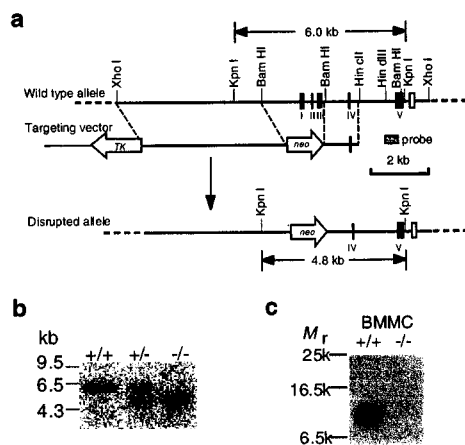
【図4】オリゴデンドロサイト発達障害モデルマウスにおける脳組織変性の音響特性変化の検出方法と対比するための、H E 染色した当該モデルマウスの脳切片の光学顕微鏡写真を示す図である。

50

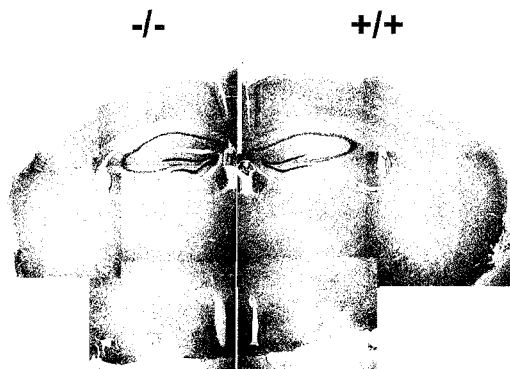
【図 5】オリゴデンドロサイト発達障害モデルマウスにおける脳組織変性の音響特性変化の検出方法と対比するための、当該モデルマウスの脳切片の M B P 抗体染色の結果を示す図である。

【図 6】オリゴデンドロサイト発達障害モデルマウスにおける脳組織変性の音響特性変化の検出方法と対比するための、当該モデルマウスの脳切片の電子顕微鏡写真を示す図である。

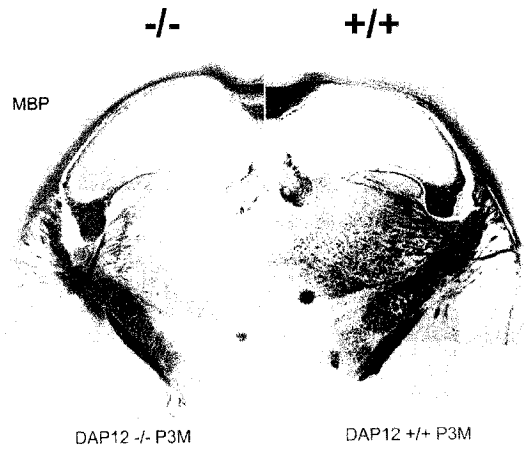
【図 1】



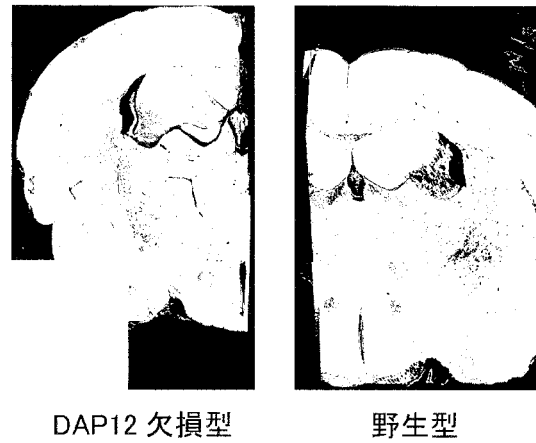
【図 2】



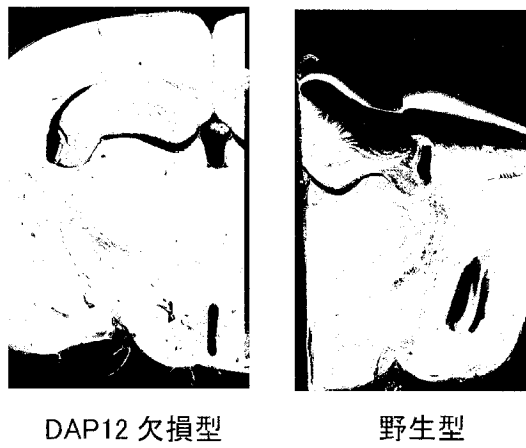
【 図 3 】



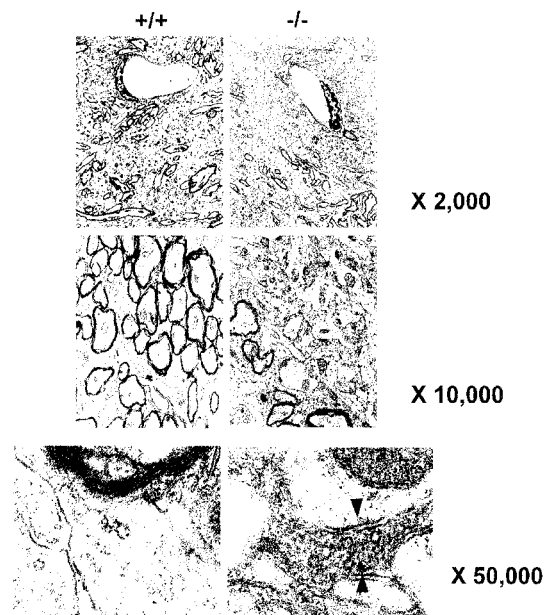
【 図 4 】



【 図 5 】



【 図 6 】



フロントページの続き

F ターム(参考) 4C601 DE01 EE06 EE09 HH04 JB34 JB35 JB36 JB37 KK12 KK15

专利名称(译)	诊断脑组织变性的方法		
公开(公告)号	JP2004147872A	公开(公告)日	2004-05-27
申请号	JP2002316703	申请日	2002-10-30
[标]申请(专利权)人(译)	独立行政法人科学技术振兴机构		
申请(专利权)人(译)	独立行政法人 科学技术振兴机构		
[标]发明人	高井俊行 西條芳文 菅原章子		
发明人	高井 俊行 西條 芳文 菅原 章子		
IPC分类号	G01N33/483 A61B8/00		
CPC分类号	A61B8/0808		
FI分类号	A61B8/00 G01N33/483.B A61B8/14		
F-TERM分类号	2G045/BA14 2G045/BB24 2G045/BB51 2G045/CB01 2G045/CB17 2G045/FA16 2G045/FA32 2G045/GC30 4C301/AA02 4C301/CC02 4C301/CC06 4C301/DD02 4C301/EE09 4C301/EE11 4C301/FF01 4C301/HH01 4C301/JB23 4C301/JB24 4C601/DE01 4C601/EE06 4C601/EE09 4C601/HH04 4C601/JB34 4C601/JB35 4C601/JB36 4C601/JB37 4C601/KK12 4C601/KK15 4C601/DD11 4C601/HH06		
其他公开文献	JP4550356B2 JP2004147872A5		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

要解决的问题：基于髓磷脂和衍生自其的痴呆症的发展性疾病，利用脑组织或脑组织样本中超声声学特性的变化，以侵入性或非侵入性方式诊断诸如精神分裂症的脑组织退化。提供一种方法。解决方案：扫描超声显微镜 (SAM) 用于将100至200 MHz频率的超声波束照射到脑组织或脑组织样本 (例如丘脑和海马的中央区域)，以及反射超声的声学特性。在反射波中，例如，通过分析反射波的强度和相位，从频率特性计算厚度以计算衰减，并检测少突胶质细胞中超声波的衰减以诊断脑组织变性。

【 図 2 】

