

平成 21 年 6 月 16 日現在

研究種目：基盤研究 (A)

研究期間：2006～2008

課題番号：18200035

研究課題名 (和文) HIFU (強出力集束超音波) の胎児治療への応用に関する基礎研究

研究課題名 (英文) A basic study of application of high-intensity focused ultrasound for fetal therapy.

研究代表者

岡井 崇 (OKAI TAKASHI)

昭和大学・医学部・教授

研究者番号：40126016

研究成果の概要：本研究は強出力集束超音波(HIFU)を用いて血流依存性疾患（胎児腫瘍など）胎児閉塞性尿路障害、胎児腔水症、双胎間輸血症候群に対する胎児治療に向けた基礎実験を行うことで臨床応用が可能かどうかを知ることを目的に行われた。実験結果から胎児胎内の血流遮断が可能で、血流遮断により腫瘍の増殖抑制ができることを確認した。また胎児膀胱皮膚瘻の作製、胎盤表面血管の閉塞が可能で、胎児胎内の血流遮断が可能であることを確認された。以上より HIFU の低侵襲胎児治療への臨床応用の可能性が示された。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2006 年度	11,800,000	3,540,000	15,340,000
2007 年度	9,700,000	2,910,000	12,610,000
2008 年度	6,400,000	1,920,000	8,320,000
年度			
年度			
総計	27,900,000	8,370,000	36,270,000

研究分野：総合領域

科研費の分科・細目：人間医工学・医用システム

キーワード：低侵襲治療システム、強出力集束超音波(HIFU)、胎児治療

## 1. 研究開始当初の背景

少産少死の時代を迎え、健康な児を出産することへの両親の願いは益々高まっている。異常児出産の増加は出生後長期に亘る保育・医療などに莫大な費用が掛かるばかりではなく、様々な社会的問題を引き起こしている。現在、胎児は、その 1～2% が何らかの疾患を有して出生に至る。また、種々な疾患のため出生前に子宮内で死亡する胎児や出生後に生存が不能な、或は後遺症を背負っての生存を強いられる新生児も少なくない。一方、近年の胎児診断の進歩と胎児疾患の詳細な病

態解明により、胎児期に治療を行うことで出生後の予後の向上が期待される疾患は増加している。にも拘らず、胎児治療に対する社会的認知度は低く、そのためこの分野の研究は他分野に比較し遅れを取って来た。胎児治療が最初に行われたのは 1963 年で、Liley らが貧血胎児に対して輸血を施行したことにはじまる (Liley AW, BMJ, 1963)。我が国では 1966 年金岡らが同治療を行ったのが最初である (金岡ら、日産婦、1966)。1987 年 Harrison らは、母体腹壁に切開を加え、更に子宮筋をも切開し、胎児の身体の一部を子宮

外に引き出し手術を施す“open fetal surgery”法を開発し、以後、胎児横隔膜ヘルニア、胎児仙尾部奇形腫、胎児肺腺腫、胎児尿路閉鎖などの疾患に対して種々な手術が臨床で実践された(Harrison MR, N Engl J, 1990)。このopen fetal surgeryは、数例で成功を収めたため、周産期医学の領域では高い評価を受けたが、実際の成功率は低く、また母体に多大な侵襲を与えることから、一般臨床には普及していない。その後、胎児治療は内視鏡下手術、カテーテルの挿入・留置などの低侵襲法へと方向を変え、2004年に閉塞性尿路疾患に対して胎児尿路-羊水腔シャント術が、2005年に胎児胸水に対して胎児胸腔-羊水腔シャント術が高度先進医療の対象と認められ、最近になって漸く臨床に定着しその重要性が認識され始めたと言える。これまでの解析で胎児治療が有益であるとされた疾患は胎児閉塞性尿路疾患、胎児胸水、一絨毛膜双胎における双胎間輸血症候群、胎児貧血、胎児頻拍性不整脈などである。また腫瘍増大に伴う血流供給から高拍出性心不全が問題となる胎児仙尾部奇形腫や無心胎児の血流を供給するために高拍出性心不全に陥るTwin reversed arterial perfusion (TRAP) syndromeなどに対しても諸外国では胎児治療が行われている。胎児治療を行う上で最も重要なことは母体及び胎児への安全性の配慮である。しかし、上述の胎児治療の殆どは母体腹壁及び子宮壁を通して胎児鏡をはじめとする医療機器を子宮腔内へ挿入する方法である。そのため、出血のリスクや破水、感染に引き続く早産のリスクが、胎児治療の成功の有無に関らず出生児の予後を左右する結果を招来している。また、胎盤が子宮前壁に存在する症例では医療機器の挿入が困難となるため治療が制限される。

## 2. 研究の目的

上記背景に鑑み、筆者らは、母体及び子宮・胎盤に全く侵襲を加えない胎児治療法として強力集束超音波(High Intensity Focused Ultrasound, HIFU)を応用する方法を考案した。HIFUはミリメートル単位の微小な領域に超音波エネルギーを集め、瞬時に組織温度を上昇させ組織に変性をもたらすことが出来る。また、超音波は生体深部の任意の場所に集束させることが出来る。これらの特徴を生かし超音波を利用する治療法は腫瘍治療の領域で進んでおり、前立腺腫瘍などでは既に臨床応用されている(Madersbacher S et al, Eur Urol, 2000)。

胎児は羊水中に存在するため超音波の透過効率がよく、HIFUは子宮内または胎児内の任意の場所で組織の熱変性を引き起こすことが可能であり、また胎児内の腫瘍血管や双胎間輸血症候群の原因となる胎盤表面の

吻合血管を閉塞することも可能となる(詳細後述)。また、HIFU照射は胎盤の位置に左右されず行うことが出来る。これにより従来法で問題となっている破水や感染などの出生児の予後を左右する合併症の併発を確実に避けることが出来る。本研究では、対象疾患として、胎児水腎症、胎児腫瘍、双胎間輸血症候群を選んだ。これらは動物モデルの作製が可能で、その成績が良ければ容易にヒトに応用できるからである。

(1) 胎児水腎症: 腎盂尿路移行部狭窄などで片側または両側の腎盂が著しく拡大する疾患で、放置すると出生時には腎機能が廃絶している可能性がある。この疾患に対しては、腎盂-羊水腔シャント術が行われ(Golbus MS, Am J OBGYN, 1982)腎盂の拡大防止と腎機能の保存が計られるが、現行の方法ではシャントカテーテルは母体腹壁と子宮壁を通して留置される。筆者らの考案した治療法は、HIFU照射により母体に全く無侵襲に胎児の腎盂と羊水腔に人工瘻孔を形成する治療法である(人工瘻孔は出生後容易に治療できる)。

(2) 本腫瘍は腫瘍の増大に伴い供給血流が増加し、最終的には高拍出性心不全から胎児水腫、胎児死亡となる予後不良の疾患である。しかしながら診断は比較的容易で、腫瘍そのものは良性であるため、胎児期の心不全さえ防げば出生児の良好な予後が期待でき、胎児治療の適応疾患である。従来治療としては子宮切開による腫瘍切除、高周波やレーザーによる腫瘍焼灼などが行われてきたが、治療の侵襲が大きいため早産のリスクが高く、また神経障害による機能損傷を残すなどの問題もある(Hedrick HL et al, J Pediatr Surg, 2004)。HIFU照射で栄養血管の血流を遮断し、高拍出性の心不全を防止できれば、無侵襲の胎児治療となる。

(3) 双胎間輸血症候群: 一絨毛膜双胎の10-20%に発症し、早期発症型の周産期死亡率は約80%で、予後はきわめて不良である。共通胎盤による吻合血管を通じて引き起こされる両児間のアンバランスな血流移動が原因と考えられており、供血児では慢性的な血液の損失により循環血液量の低下を引き起こし、貧血、低血圧、乏尿、羊水過少、腎不全を呈する。受血児では慢性的な容量負荷により多血、高血圧、多尿、羊水過多、心不全、胎児水腫を発症する。以前は羊水除去によって羊水過多を原因とする早産を防止し、妊娠期間の延長をはかることが治療の主眼であったが、病態そのものに対する治療とはならず、予後改善は難しかった(Saunders NJ et al, Am J Obstet Gynecol, 1992)。双胎間輸血症候群の原因である胎盤の吻合血管を遮断する胎児鏡下胎盤吻合血

管焼灼術は根本的な治療として 1990 年 De Lia により最初に報告され( De Lia JE et al, Am J Obste Gynecol, 1995 ) 我が国でも 1992 年名取らにより施行され( 名取ら、日産婦誌、1992 ) 2002 年より本格的に実施されているが、胎児鏡を子宮内に挿入する侵襲は大きく、術後の破水や早産が児の予後を左右している。これに対して母体の外から HIFU を照射し、吻合血管を閉塞できれば無侵襲に胎児鏡手術と同じ効果が得られることは明らかである。

本研究の目的は、上記胎児疾患に対する HIFU 治療の有効性と安全性を動物実験で検証することとその治療に適した HIFU 照射装置を開発することであり、具体的には、

上記胎児疾患の動物モデルの作製、目標とする効果が動物で認められるかの検証、そのための HIFU 照射に必要な出力、最適の周波数や照射時間などの検討、HIFU 治療による母体及び胎児の副作用の有無についての検討(安全性の検証)と胎児治療用 HIFU 照射装置(焦点距離及び焦点部位が可変で、母体腹壁への密着性の良いプローブ)の開発、を行うことである。

### 3. 研究の方法

HIFU トランスデューサーの作製: これまでの実験結果の検討から本研究では 8MHz のイメージングプローブと一体化した 2.3, 2.8 および 3.2MHz の HIFU トランスデューサー(セラミック)を作製した。

(1)胎児水腎症: 妊娠 25 日齢の JW ラビットを麻酔下で開腹し、子宮および卵膜を切開した後、胎仔外尿道口を 4-0 ナイロンで結紮し、子宮内に戻し卵膜、子宮を縫合後、閉腹した。妊娠 28 日に帝王切開術を施行し胎児を娩出し、実験に供した。出生仔を脱気水中に固定し、イメージング用プローブ(8MHz)を結合させた HIFU トランスデューサー(2.8Hz)を用い、胎児胸腹部を描写し、照射強度は 8kw/cm<sup>2</sup> で、照射時間を 1クール 60 秒として胎児胸部及び下腹部に HIFU 照射を行った。

と同様の方法で胎仔外尿道口を 4-0 ナイロンで結紮後、生理食塩水を子宮内に 2cc 入れ卵膜、子宮を縫合後、閉腹した。妊娠 28 日に超音波で水腎症が完成していることを確認後母獣腹壁から HIFU 照射を行い胎仔下腹壁に人工瘻孔ができるかを確認した。HIFU 照射後に母獣腹壁に熱傷などの副作用、および腹腔内の HIFU 照射部位以外の腹障害の有無を開腹し、確認した。両実験とも新生仔の瘻孔部分および膀胱を HE 法で組織学的に検討した。

(2)胎児腫瘍: 血管閉塞による支配下腫瘍の増大抑制効果の有無および組織学的変化の検討: Japanese-White ラビット大腿にラビット腺扁平上皮癌細胞株である VX2 を移

植し、移植後 3 週間目に腫瘍が生着したことを確認した後実験に供した。超音波で腫瘍体積を計測、栄養血管を描出し HIFU(2.3MHz, 4kw/cm<sup>2</sup>)で血流遮断にいたるまで 5 秒を 1クールで複数回照射した。A 群(n=3): HIFU 照射後に腫瘍摘出。B 群(n=7): HIFU 照射後 1 週間後に腫瘍評価。C 群(n=7): HIFU 照射せず、1 週間後腫瘍評価。B, C 群で 1 週間後に超音波で腫瘍体積を計算、さらに HE 染色で組織学的検討を行った。(3) 双胎間輸血症候群: イメージング用プローブ(8MHz)を結合させた HIFU トランスデューサー(焦点距離 4cm, 周波数 2.3MHz)を用いた。ファントムを用い焦点での HIFU ビームの広がり(縦方向および横方向)を検討した。照射の対象は合併症のない正期産分娩で同意の得られた褥婦の娩出直後の胎盤(n=4)の表在血管(血管径 1mm から 2mm)とした。ヘパリン処理を行い血管内の凝固を阻害した後、胎盤を脱気水中に固定した。200W の照射強度で 20 秒を 1クールとして胎盤表在血管に HIFU 照射を行った。HIFU 照射部位および周辺組織を HE 染色し病理学的に検討した。

### 4. 研究成果

(1) 胎児巨大膀胱モデルが完成した。下腹部に 1クールで径 1mm の瘻孔が作製できた。下腹部においては瘻孔作製直後より尿の排出が認められた。周囲に出血は認められなかった。また尿腹水も認められなかった。組織学的検討において瘻孔周囲には影響を認めなかった。同様の HIFU 強度数クールの照射で胎仔下腹部に膀胱皮膚羊水腔老瘻孔が作製できた。開腹後の確認では子宮壁を含む HIFU 照射部位以外では副障害は確認されなかった。組織学的検討においても瘻孔周囲には影響を認めなかった。HIFU を用いて臨床応用可能な超音波強度でラビット胎仔の下腹部に人工瘻孔を作製することができた。本方法を用いれば胎盤位置に左右されず、非観血的手技により胎児人工瘻孔を作製できる可能性が示され、シャント術に代わる胎児腔水症・閉塞性尿路疾患の治療になり得ることが示された。

(2) 照射群の腫瘍平均体積増大率は 198.0 ± 109.7%であったのに対しコントロール群のそれは 527.6 ± 462.1%であり、両者とも 1 週間後には腫瘍の増加傾向が見られた。組織学的検討では A 群では栄養血管の中膜に空胞変性が、B 群では同部位の空胞変性に加え血管内皮細胞の剥離、変性も認められた。支配領域の腫瘍は虚血性変化に伴う壊死変性が認められた。腫瘍増大はコントロールでは有意(Wilcoxon 検定)であったが、HIFU 照射群では有意ではなく、HIFU 照射による腫瘍栄養血管の閉塞、血流遮断で腫瘍増殖の増加を抑制できる可能性が示

唆された。また HIFU 照射後から経時的に照射血管に変化が認められることから、照射直後には血流遮断が得られなくてもその後慢性変化により血流遮断に至ることも示唆された。

(3) 焦点部位での HIFU ビームの広がり直径 2mm 深さ方向 3mm であった。照射後の血管は超音波では高輝度に描出され、肉眼的には白色変性が認められた。HE 染色では照射領域の血管部位に空胞変性を伴う凝固壊死変性が認められた。照射周囲には明らかな変化は認められなかった。In vitro の実験では HIFU を用いて周囲組織に影響を及ぼすことなく胎盤の表在血管を選択的に凝固壊死変性させることが可能であった。

以上の実験結果から治療に必要な HIFU 出力が臨床応用の可能な範囲であることがわかった。また HIFU による肉眼的、組織学的副障害のないことも確認された。

胎児疾患の治療に HIFU を応用することは筆者らの独自の考案であり、筆者の知る限り、国内外に於いて、同様の研究を本格的に実施している施設はなく、世界に先駆けて本研究を遂行し、知見が集積できたことの意義は大きいと考えられる。我々の発案した HIFU への胎児治療が実現すれば今までの胎児治療に必須であった、子宮腔内に医療器具を挿入することのない、低侵襲治療となると考えられる。今後は本研究成果から得られた知見をもとに更に発展させ、ヒトへの応用を目指したい。

## 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 5 件)

Sequential changes in rat femoral artery blood flow and tissue degeneration after exposure to high-intensity focused ultrasound. Tetsuya Ishikawa, Takashi Oka i, Kazuaki Sasaki, Shin-ichiro Umemura, Nozomi Miyazaki, Miki Kushima, Hiroko Aoki, Mitsuyoshi Ichihara, Kiyotake Ichizuka  
Journal of Medical Ultrasonics. (35)177-182. 2008 査読有

Application of high-intensity focused ultrasound for umbilical artery occlusion in a rabbit model.

Ichizuka K, Ando S, Ichihara M, Ishikawa T, Uchiyama N, Sasaki K, Umemura S, Matsuoka R, Sekizawa A, Okai T, Akabane T, Kushima M.

Ultrasound Obstet Gynecol. 2007 Jul;30(1):47-51. 査読有

Blood flow occlusion via ultrasound image-guided high-intensity focused

ultrasound and its effect on tissue perfusion.

Ichihara M, Sasaki K, Umemura S, Kushima M, Okai T.

Ultrasound Med Biol. 2007 Mar;33(3):452-9. 査読有

Effect of echo-guided high-intensity focused ultrasound ablation on localized experimental tumors.

Sasaki K, Medan MS, Azuma T, Kawabata K, Shimoda M, Umemura S.

J Vet Med Sci. 2006 Oct;68(10):1069-74. 査読有

成育医療における胎児診療 無心体の治療 .市塚清健、松岡 隆、大槻克文、下平和久、関沢明彦、岡井 崇

産科と婦人科 P477-481 Vol.73(4) 2006 査読無

〔学会発表〕(計 8 件)

超音波の安全対策 治療の立場から  
市塚清健. 第 81 回日本超音波医学会学術集会 ワークショップ 5.23-25 神戸 2008

The study of reducing effect of tumor by ablation of the tumor-feeding artery using HIFU sonication: Potential for the therapy of uterine fibroid. Kiyotake Ichizuka  
10<sup>th</sup> International symposium on therapeutic ultrasound  
June 20-22, 2007 Seoul, Korea

Application of high-intensity focused ultrasound for fetal therapy -experimental study using animal model-  
Kiyotake Ichizuka. 8<sup>th</sup> World Congress of Perinatal Medicine  
September 9-13, 2007 Florence, Italy

Basic study of high-intensity focused ultrasound for fetal therapy  
Kiyotake Ichizuka. 8<sup>th</sup> Korea-Japan symposium of ultrasound in Obstetrics and gynecology  
October 20, 2007 Jeju, Korea

子宮筋腫の発育制御とその管理  
強出力集束超音波(HIFU)を用いた栄養血管閉塞による子宮筋腫の低侵襲治療  
市塚清健. 第 59 回日本産科婦人科学術講演会 シンポジウム. 平成 19 年 4 月 京都

強出力集束超音波 (High-intensity focused ultrasound: HIFU)を用いた胎児腔水症・閉塞性尿路疾患の治療に向けての基礎的検討  
市塚清健. 胎児治療学会. 平成 19 年 10 月 19 日 大阪

強出力集束超音波による子宮筋腫の栄養血管閉塞による治療に向けての基礎的検討.  
市塚清健. 日本超音波医学会関東甲信越地方会第 19 回学術集会. 平成 19 年 11 月 10 日. 東

京  
強出力集束超音波(HIFU)の胎児治療への  
応用に向けての基礎研究  
市塚清健. 第4回日本胎児治療学会  
平成18年10月20-21日. 浜松

〔図書〕(計 0件)

〔産業財産権〕  
出願状況(計 0件)

取得状況(計 0件)

〔その他〕

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

岡井 崇 (OKAI TAKASHI)  
昭和大学・医学部・教授  
研究者番号: 40126016

### (2) 研究分担者

市塚 清健  
昭和大学・医学部・講師  
研究者番号: 00338451

関沢 明彦  
昭和大学・医学部・准教授  
研究者番号: 10245839

松岡 隆  
昭和大学・医学部・助教  
研究者番号: 20349111

梅村 晋一郎  
東北大学・大学院医工学研究科・教授  
研究者番号: 20402787

九島 巳樹  
昭和大学・医学部・准教授  
研究者番号: 80161628

(3) 連携研究者