

様 式 C - 1 9、F - 1 9 - 1、Z - 1 9 （共通）

科学研究費助成事業 研究成果報告書



令和 4 年 5 月 2 3 日現在

機関番号：24601

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2021

課題番号：19K20716

研究課題名（和文）超音波加温時の音速変化率の測定による、癌治療効果の早期予測

研究課題名（英文）Ultrasonic Heating Detects Lipiodol Deposition within Liver Tumors after Transarterial Embolization: An In Vivo Approach

研究代表者

齊藤 夏彦（Saito, Natsuhiko）

奈良県立医科大学・医学部附属病院・研究員

研究者番号：30790290

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000 円

研究成果の概要（和文）：肝癌に対する経カテーテル的動脈塞栓術（TACE）治療後の効果判定は、癌に集積したリピドールの程度をCTで画像化して行う。しかし、CTには被曝の問題があり多用するべきではない。そこで、近年注目されている超音波加温を使ってTACE後の効果判定を試みたのが本研究である。生体物質が超音波加温を受けた際に性状が変化することは良く知られており、これを用いてリピドールと残存腫瘍の評価ができないか評価を試みた。癌を植え付けたラットにTACEを施行し、治療効果をCT、超音波加温、病理組織で比較検討したところ、超音波加温の測定値はCTでの測定値と遜色ない値であり、今後CT装置の代用となる可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

TACE後の効果判定として長い間CTしか使用されてこなかったこの分野で、新たな評価方法が使用できる可能性が出たのは非常に学術的に有益な点である。CTは被曝の問題があるが、超音波はその心配がない点でも画期的な発見である。

また癌患者は一度癌を発症すると、終生に渡りフォローアップの画像診断を受けなくてはならない患者が多く、医療コストやひっ迫する検査数を緩和するためにも、超音波加温による診断法が普及すれば有益である。

研究成果の概要（英文）：The accumulation of Lipiodol after transarterial embolization is known to reflect tumor necrosis. In general, the treatment effect is evaluated by computed tomography. However, there is a problem of radiation exposure. The purpose of this study was to evaluate the efficacy of using the rate of change in sound velocity caused by ultrasonic heating to reflect Lipiodol accumulation after TAE in a rat liver tumor model. We analyzed the association of this developed technique with CT images and histological findings. Eight rats bearing N1S1 cells were prepared. After confirmation of tumor development in a rat liver, Lipiodol was injected via the hepatic artery. Seven days after TAE, CT scan and sound velocity changes caused by ultrasonic heating were measured, and then the rats were sacrificed. In the result, the correlation between CT value and histological analysis was similar to that of ultrasonic heating and histological analysis. From the results, this technique can replace CT.

研究分野：放射線医学・IVR学

キーワード：超音波加温 組織性状診断 組織定量化 癌治療効果判定

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

1. 研究開始当初の背景

癌治療は治療効果の有無が組織性状に変化を来すと予想される。しかし治療後早期には、従来の造影 CT や造影超音波を用いた評価方法では組織性状を定量的に評価することができない。治療部位の組織性状を治療後早期に診断すれば、治療効果が早期に予測可能であり、今後の治療方針決定に大きく寄与する。最終的に癌治療成績の向上に直結する。

近年超音波医学の分野で注目されている技術の一つに超音波治療がある。超音波を病変に照射して熱を発生させ、生体の熱凝固作用により様々な症状に役立てる手法(超音波加温)である。ここで、加温前後の単位時間あたりの音速変化率は超音波強度を一定に保てば、組織により固有の値を有することが知られており、さらに微小な温度変化であればこの値は音速の温度係数、超音波減衰係数、比熱に依存して変化するパラメータであることが辻本、秋山らにより報告されている(Y.Tsujimoto et al., Journal of Medical Ultrasonics, accepted)。これまでの測定結果ではこれらの物性値の中では音速の温度係数が最も大きく寄与するため、in vivo で癌治療後の壊死組織と癌組織が混在した組織の音速変化率を測定できれば、双方の組織を定量化できる可能性があり、癌治療成績向上に寄与する。

2. 研究の目的

癌治療は治療効果の程度により組織性状に変化を来すと予想される。組織性状の違いを利用した癌治療後効果を予測するモダリティとして Perfusion CT、MRI の拡散強調像、造影超音波、超音波 Elastography などがある。この中で超音波 Elastography は、硬変肝の肝硬度測定において臨床で利用されており、近年癌治療の効果予測への応用が期待されている。しかしその代表的な測定方法である、Shear wave imaging では剪断波伝播速度の測定値と硬さが一致しない場合や、肝線維化以外の肝臓の病態に影響を受けやすいという課題が指摘されている(Arena et al. Hepatology 2008.47:380-384)。そこで本研究は近年注目されている超音波加温による音速の変化率測定から、組織の性状診断・定量化を行おうとする試みである。

生体組織に超音波を照射すると熱が発生し組織温度が上昇(超音波加温)し、温度上昇に伴って音速変化が生じる。ここで、組織の温度上昇率(照射時間に対する温度の変化率 dT/dt)は音速時間変化率(照射時間に対する音速の変化率 dc/dt)と音速の温度係数(温度上昇に対する音速の変化率 dc/dT)の逆数の積で表されることが知られている。

$dT/dt = dc/dt \times (dc/dT)^{-1} \dots (式1)$

つまり超音波加温中、音速の温度係数は音速変化率と温度変化の逆数の積で表される。

$dc/dT = dc/dt \times (dT/dt)^{-1} \dots (式2)$

ここで音速の温度係数は組織によって特徴的な値を示すため、組織の性状診断に有効である可能性がある。例えば脂肪組織では負の値を示し、非脂肪組織では正の値を示すことが報告されている(Bamber JC et al. Ultrasound Med Biol. 1979;5:149-57.)。

更に音速変化が微小な短時間の超音波加温下では、音速時間変化率(dc/dt)は加温前後の超音波パルスのエコー信号の時間シフト($d\tau/dt$)を測定することで算出することができる。加温前後で音速が変化し、組織を超音波が往復伝搬するのに要する時間に変動が生じ、その変動をエコー信号の時間シフトとして捉え、音速変化を算出する手法である。更に生体熱輸送方程式から、温度変化率は1秒以内の短時間の加温でありその温度上昇が小さければ、 $dT/dt = 2I \cdot \alpha / C_v \dots (式3)$

と近似される(I :超音波強度、 α :減衰係数、 C_v :体積熱容量)。(式3)を(式2)に代入すると、 $dc/dT = 2I \cdot \alpha \cdot dc/dt \cdot \tau^2 / C_v \dots (式4)$ が得られる。

ここで、 dc/dT (音速の温度係数)、 α 、 C_v は軟部組織で固有の値を有するため、 I が常に同じ値なら、このパラメータは組織性状を反映する。よって、超音波加温による dc/dt (音速時間変化率)を in vivo で測定し、in vitro であらかじめ測定しておいた壊死組織と癌組織の値と比較検討すれば、それぞれの存在率の相対的定量化が可能となる。と C_v は、壊死組織と癌組織で大きく変動することがないと考えられるため、音速の温度係数が両者の鑑別に寄与する程度を調べる前段階の試験が必要である。そこで以下の研究計画を立案した。

Step1: 様々な生体組織の音速の温度係数を恒温槽で測定し、測定値をデータベース化する

Step2: 壊死組織と癌組織の音速の温度係数を恒温槽で測定し、両者が鑑別可能か検証する

Step3: 壊死組織と癌組織が混在した組織の音速時間変化率を超音波加温により測定し、混合比を定量化することで早期治療効果判定を目指す。

3. 研究の方法

上記パラメータの中核を成すと思われる、音速の温度係数の差で組織性状診断可能かどうかを検証するために、まずは *in vitro* で試料の音速の温度係数を測定する。図3のように、恒温槽の中に測定試料と振動子を設置し、恒温槽内部の温度を変化させながら試料の音速と温度を測定する。得られた測定値から音速の温度係数を算出する(式2)。既に予備試験として、正常肝及び肝臓癌の音速の温度係数を測定しており、図4のようにほぼ2本の直線として計測され、組織性状診断が可能であることを検証した。今後更に症例数を重ねて恒常性を検証する。次は *in vivo* の音速時間変化率測定である。図5の如く、加温領域と測定領域を一致させるため、加温用と音速測定用の振動子が同軸一体型になった振動子を用いる。発信器の信号を増幅器で増幅し、加温用振動子に付加する。また音速測定用振動子をパルサーで駆動し、加温前後の試料からのエコー信号をオシロスコープで記録する。予備試験として既に、豚の筋・脂肪組織に対して音速時間変化率測定を行い、図6のような結果を得ており、音速時間変化率で組織性状診断可能なことが示唆された。そこで今後は壊死組織・癌組織の音速時間変化率を測定し、鑑別可能か評価する。ラット肝細胞癌モデル・大腸癌肝転移モデルを用いて、抗癌剤治療を行い、開腹下に図5の装置を肝臓に当てる。治療部位を超音波加温し、音速時間変化率を測定する。得られた数値と、求めておいた壊死組織と癌組織の数値を比較して、壊死と残存腫瘍を定量化する。例えば、癌組織・治療後組織・壊死組織の音速温度変化率が各々図7の結果になったと仮定すると、 b/a が治療後組織の壊死率を表す。更に算出結果を裏付けるため、病理組織標本を作製し腫瘍の壊死率を顕微鏡的に概算する。

4. 研究成果

8匹のラットで上記の如く、TACE後のCT値と超音波加温による測定値を病理組織学的検討と比較し、相関係数を算出した。CT値と病理との相関は $r=0.835$ ($p=0.010$)、超音波加温による測定値と病理との相関は $r=0.804$ ($p=0.016$)であり、音速変化と病理の相関はCTと病理の相関とほぼ同じで、精度は同等に近いと評価された。

超音波加温の利点として簡便、安価、被曝なし、造影剤使用なし、といった点が挙げられる。一方で、超音波加温の欠点として、描出不良域があること、多発病変に弱いといった点が挙げられる。

臨床応用への課題として、抗癌剤やゼラチン混合でも測定可能かという点、経皮的に行う場合、途中の組織の影響の問題(今回は開腹)、月単位での評価が可能か(今回は1週間程度での評価)等を評価する必要がある。

超音波加温はCTに置き換わる可能性が示唆されたが、これらの課題を克服していくという問題が将来的に解決すべき点である。

5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 1件）

1 . 著者名 Saito N, Tanaka T, Minamiguchi K, Taiji R, Nishiofuku H, Matsumoto T, Hirai T, Kichikawa K, Kawahara N, Matsuda D, Akiyama I.	4 . 巻 10
2 . 論文標題 Ultrasonic Heating Detects Lipiodol Deposition within Liver Tumors after Transarterial Embolization: An In Vivo Approach	5 . 発行年 2021年
3 . 雑誌名 Biology	6 . 最初と最後の頁 901
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/biology10090901.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6 . 研究組織

	氏名 （ローマ字氏名） （研究者番号）	所属研究機関・部局・職 （機関番号）	備考
研究協力者	秋山 いわき (Akiyama Iwaki)		

7 . 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------