

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24 年 6 月 10 日現在

機関番号：10107

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2009 ～ 2011

課題番号：21500437

研究課題名（和文） 高周波微細血流イメージによる肝癌抗血管新生療法のモニタリングシステムの開発

研究課題名（英文） A new monitoring system of anti-angiogenic therapy to liver cancer using high frequency ultrasonic microvascular imaging

研究代表者

鈴木 康秋（SUZUKI YASUAKI）

旭川医科大学・医学部・助教

研究者番号：60360989

研究成果の概要（和文）：超音波造影剤を用いた高周波微細血流イメージにより癌の腫瘍血管構築と機能をモニタリングする living vascular monitoring system の基礎的研究をおこなった。肝癌マウスの腫瘍血管は、Micro Flow Imaging にて vascular pattern が多く、Parametric Imaging 解析にて流速の速い腫瘍血管を多く認めた。また腫瘍壊死による腫瘍血管の減少と流速の低下を確認できた。高周波微細血流イメージは腫瘍血管の多寡に加え、腫瘍血管機能の評価も可能であり、抗血管新生療法のモニターに有用と考えられた。

研究成果の概要（英文）：We examined the basic study of a new monitoring system of anti-angiogenic therapy to liver cancer using high frequency ultrasonic microvascular imaging. With the Micro Flow Imaging (MFI), the vascular pattern was associated with HCC. With the Parametric Imaging (PI), the high blood flow was observed in the tumor vessels of HCC. Additionally, in the necrotic stage, tumor vessels were decreased and the blood flow were lower than non-necrotic stage. These results of our study should contribute new ideas toward development for living tumor vascular monitoring system using high frequency ultrasonic microvascular imaging.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2009 年度	1,500,000	450,000	1,950,000
2010 年度	700,000	210,000	910,000
2011 年度	800,000	240,000	1,040,000
年度			
年度			
総計	3,000,000	900,000	3,900,000

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：超音波医科学、画像診断システム、血管新生、肝癌

1. 研究開始当初の背景

近年、肝癌に対する分子標的療法（抗血管新生療法）が注目されているが、満足な成績は得られておらず、血管新生阻害剤と抗癌剤併用の必要性が論じられている。最近、抗血管新生療法として、腫瘍血管を「壊す」のではなく「正常化」という新たな概念

“vascular normalization”が提唱され、この「腫瘍血管の正常化」の時に抗癌剤を投与する相乗的併用治療が有効と考えられる。しかし、血管新生阻害剤により腫瘍血管が正常化したタイミングをリアルタイムに捉えるのは困難であり、生体において非侵襲的に腫瘍血管構築の変化をモニタリングする“living

vascular monitoring system”の実用化が望まれている。近年、超音波技術の進歩は著しく、超音波造影剤と高周波プローブを用い微細な血流イメージを評価することが可能となった。このため、高周波微細血流イメージにより、リアルタイムに腫瘍血管の多寡と機能をモニターするシステムの臨床応用が期待される。

2. 研究の目的

本研究は、超音波造影剤による高周波微細血流イメージを用いた、癌腫瘍血管の多寡や機能をモニターする“living vascular monitoring system”の開発の基礎的知見を得る事を目的とした。

3. 研究の方法

臨床での応用を念頭におき、超音波装置は臨床用の超音波診断装置 Aplio-XG(東芝メディカルシステムズ)、超音波造影剤は肝癌の使用が認可されているペルフルブタンマイクロバブル Sonazoid(第一三共)を使用した。なお、動物実験は本学動物実験施設運営委員会の承諾のもと施行し、「旭川医科大学における動物実験に関する指針」を遵守しておこなった。

高周波微細血流イメージの描出には、高周波プローブ PLT-1204AT(中心周波数14MHz)を用い、pulse subtraction法(MI値0.2, h10MHz)で撮像した。Sonazoidはヒト推奨投与量の200倍希釈に相当する $0.075 \mu\text{l}/\text{kg}$ を、isoflurane吸入麻酔下で経眼窩的に担癌マウスに静注した。

担癌マウスは肝発癌マウス(diethylnitrosamine(DEN)を腹腔内投与し、化学肝発癌した48週齢マウス)と、膵癌細胞株皮下移植マウス(KP1N, MiaPaca2, Suit2等を7週齢の雄ヌードマウスの背部皮下に移植)を用いた。

肝癌、膵癌の各腫瘍の発症期、壊死期における腫瘍血管の構築、多寡、機能(流速)をMicro Flow ImagingとParametric Imagingにて解析した。

4. 研究成果

(1) 発症期(非壊死期)の腫瘍血管

Micro Flow Imagingによる腫瘍血管の構築は3つのパターンに分けられた。Sugimotらの肝腫瘍 MFI パターン分類(Hepatology Research 38, 2008)を一部改変し、Vascular pattern(明瞭な太い腫瘍血管の増生が強く染影、図1)、Dead wood pattern(口径不整、屈曲蛇行の強い腫瘍血管の増生で腫瘍内の分布も不均一、図2)、Reticular pattern(細かな網目状の腫瘍血管の増生が弱く染影、図3)に分類した。

図1 Vascular pattern



図2 Dead wood pattern

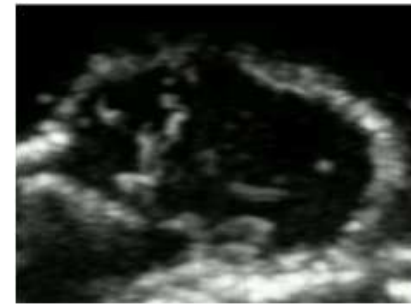


図3 Reticular pattern



その結果、肝癌5結節(平均腫瘍径11.2mm)はVascular patternが80%、Reticular patternが20%で、膵癌15結節(平均腫瘍径9.4mm)はDead wood patternが87%、Reticular patternが13%であった。同じ高血流性であっても癌の種類によって腫瘍血管構築が異なることが明らかになった。

Parametric Imagingでは、肝癌結節は内部に赤～橙色で表示される高速血流を認める(図4)。一方、膵癌結節では、腫瘍辺縁に黄～緑色で表示される中速血流を、内部には青～紫色で表示される低速血流を認める(図5)

図4 Parametric Imaging (肝癌)

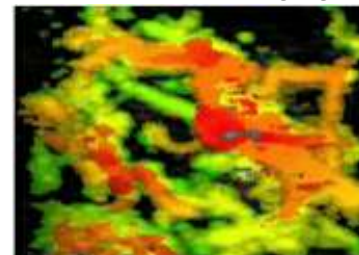
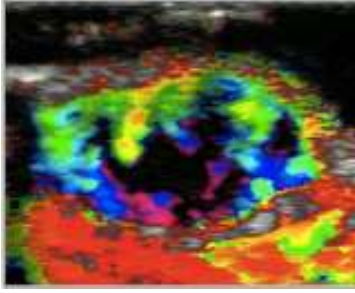


図5 Parametric Imaging (膵癌)



(2) 壊死期の腫瘍血管

組織学的に壊死に至ってない腫瘍の腫瘍血管と壊死に至った腫瘍の腫瘍血管のParametric Imagingを比較した。肝癌結節では、非壊死期は前述したように腫瘍内部に高速血流を認める(図6)。一方、壊死期では、内部の高速血流の腫瘍血管は消失し、辺縁のみとなっていた(図7)。

図6 非壊死期の肝癌

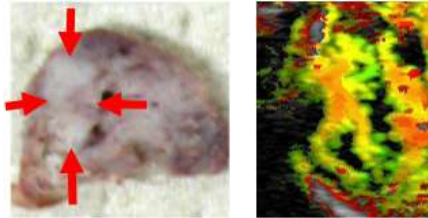
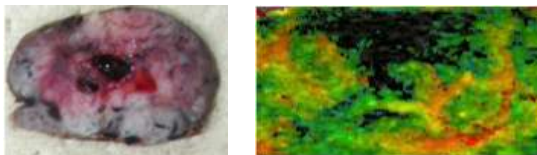


図7 壊死期の肝癌



膵癌結節においても、非壊死期で内部に認められた低速血流(図8)が、壊死期では消失し、辺縁のみとなっていた(図9)。

図8 非壊死期の膵癌

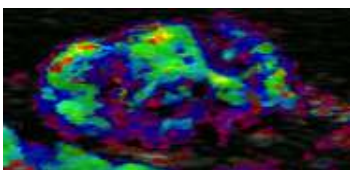
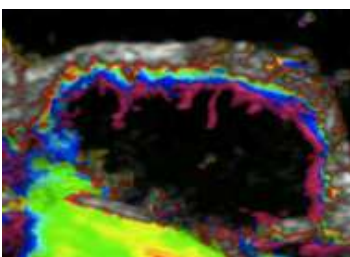


図9 壊死期の膵癌



Parametric Imagingより、各血流のvascularized areaを算出すると、肝癌結節では、非壊死期は高速血流が50%、中速血流が37%、低速血流が10%、無血流が3%を占めていた。壊死期では、高速血流が20%、中速血流が30%、低速血流が20%、無血流が30%を占めていた(図10)。膵癌結節では、非壊死期は高速血流が8%、中速血流が22%、低速血流が50%、無血流が20%を占め、壊死期では、高速血流が2%、中速血流が8%、低速血流が15%、無血流が75%を占めていた(図11)。

図10 肝癌のvascularized areaの変化

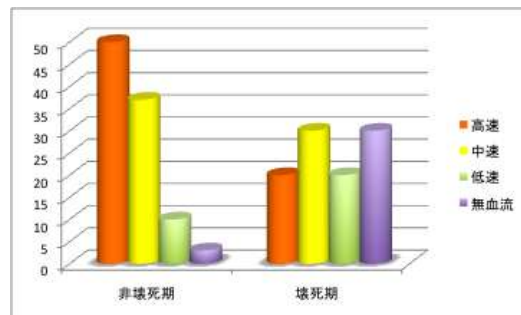
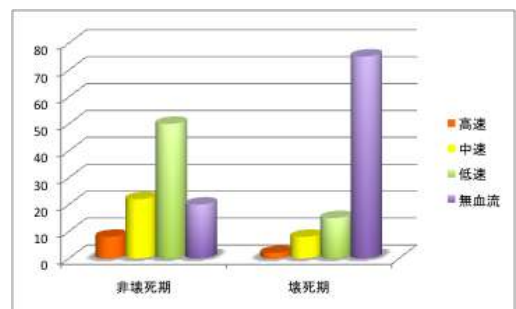


図11 膵癌のvascularized areaの変化



以上より、Micro Flow ImagingとParametric Imagingを組み合わせた高周波微細血流イメージにより、肝癌、膵癌における非壊死期、壊死期の腫瘍血管の血管構築、多寡、機能の差異を描出できた。これより、腫瘍血管をターゲットとした抗血管新生療法において、超音波造影剤を用いた高周波微細血流イメージは、非侵襲的に腫瘍血管の構築、多寡、機能の変化をモニタリングする“living vascular monitoring system”として臨床応用可能になると考えられた。

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1件)

1、鈴木康秋、大竹孝明、他.

ARFI 法による肝硬度測定と造影超音波を用いた分化度診断により多中心性発生と診断した多発肝細胞癌の2例.

Rad Fan 9, 76-79, 2011

〔学会発表〕(計3件)

1、鈴木康秋、大竹孝明、他.

造影超音波による担癌マウス(膵、肝癌)の腫瘍血管解析.

第37回日本超音波医学会北海道地方会、旭川、平成21年11月7日.

2、鈴木康秋、大竹孝明、他.

造影超音波による担癌マウスの腫瘍血管解析.

第23回日本腹部造影エコー・ドプラ診断研究会、熊本、平成22年4月4日.

3、鈴木康秋、大竹孝明、他.

臨床用超音波診断装置を用いた造影超音波による肝の drug delivery system の基礎検討-自家蛍光内視鏡(AFI)を用いた蛍光腹腔鏡による in vivo 解析-

第41回日本超音波医学会北海道地方会、札幌、平成23年9月3日.

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕

○出願状況(計0件)

○取得状況(計0件)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

鈴木 康秋(SUZUKI YASUAKI)

旭川医科大学・医学部・助教

研究者番号 : 60360989

(2) 研究分担者

大竹 孝明(OHTAKE TAKAAKI)

旭川医科大学・医学部・講師

研究者番号 : 10359490

(3) 連携研究者

なし