

平成 30 年 6 月 15 日現在

機関番号：32202

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2017

課題番号：26350544

研究課題名(和文)音響放射力を伴う超音波の心筋および周囲組織への影響

研究課題名(英文)The adverse effect of ultrasonic exposure with acoustic radiation force (ARF) impulse on the rabbit heart

研究代表者

谷口 信行 (Taniguchi, Nobuyuki)

自治医科大学・医学部・教授

研究者番号：10245053

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：肝臓、乳腺の超音波検査で臨床応用されているARFIは、組織内の音の伝搬速度で組織の硬さを評価する手法である。近年、心筋は、病態・疾患によりその硬さが変化することが予想されており、ARFIの心筋疾患への検査応用が検討されている。この研究では、ウサギを用いてARFIの心筋への影響について、強度の変化と超音波造影剤の有無による影響を検討した。その結果、ヒトで使用可能な強度であるMechanical Index1.8で、照射の心時相にかかわらず、超音波造影剤を注入した場合に期外収縮が見られた。実験を通して、致死的な不整脈は見られなかった。

研究成果の概要(英文)：ARFI is a modality for elasticity imaging of various organs using shear waves. In some situations, the heart is a candidate for elasticity evaluation with ARFI. Additionally, an ultrasound contrast agent provides information of the cardiac muscle. This study aimed to evaluate ARFI's effect on the heart concomitantly with contrast agents administration. Ultrasound with ARFI was applied to the hearts of rabbits using a single element focused transducer with or without contrast agents administration. They were exposed to ultrasound with a mechanical index of 1.8 or lower. Contrast agent was administered by a bolus injection or drip infusion. Electrocardiograms were recorded to identify arrhythmias during ultrasound exposure. Extrasystolic waves were observed following ultrasound exposure by contrast agents administration. Life threatening arrhythmia was not observed.

研究分野：超音波医学

キーワード：音響放射力インパルス 心臓 造影超音波検査 不整脈

1. 研究開始当初の背景

最近実用化された、生体内部で音響放射力を発生させる技術 (ARFI) は、高強度の超音波パルスを生体内部へ送波して焦点領域で音響放射力を発生させるもので、音響放射力により軟部組織を微小変位させて、「ずり波 (横波)」を発生させる。発生したずり波の伝搬速度は生体組織の硬さの情報を有しているため、組織性状診断の一つの指標として、超音波診断装置の一機能として搭載されている。

ARFI で用いられる超音波の送信波形や波連長は従来の診断用装置と大きく異なるため、その生体への影響については現時点では判断が難しく、ことに安全性が最も望まれる検査においては、さらに検討する必要があると考えられている。また、造影剤を投与した場合は、マイクロバブルとその残存物が体内から消滅するまでに必要な時間を経過した後、十分に注意して実施することを推奨している。

一方、臨床的な見地からみると、組織の硬さを非侵襲的に測定できることは大変興味深く、既に臨床応用された肝臓、乳腺などでは、現在その有用性について、さらには診断のガイドラインへの利用が検討され始めている。さらに新たな応用領域として、循環器領域でも、心筋の硬さ・性状を知るいわゆる超音波による組織性状診断としての応用が視野に入れられ始めている。

申請者らは、これまで平成23年度～25年度に行われた基盤研究B「音響放射力を伴う超音波の生体組織への影響 (研究代表者 秋山いわき)」の研究分担者として、医師の立場から協力し、実際の動物実験に携わってきた。その結果、従来の基準値より強力な超音波照射で超音波造影剤を用いた場合に、肝臓への障害がおこることがわかり、その強さについては、一定の制限が必要であると考えられた。

本手法は、組織の硬さを計測する手法であり、これまで肝臓、乳癌などで利用されてい

るが、心筋についても、その硬さを疾患、血圧・脈拍などの生理的变化、加齢などにより評価し、診断・治療に役立てることができる可能性がある。しかし、前述の研究の一環として行われたウサギの心臓への照射により、不整脈が発生することを認めた。よって、本手法を心臓・心筋へ適応するには、今後どの程度の強さまでなら可能であるか。どのような条件では、心筋障害および不整脈が起こりにくいかにについて、あらかじめ動物実験を行う必要がある。

なお、動物実験では、イヌ、ブタのような中等度の大きさの動物の利用も考えられるが、現状の動物実験の環境、造影剤の効果等を考慮し、より小型の動物であるウサギを用いて実験を行った。

2. 研究の目的

本研究では、平成26～28年度の3年間 (その後平成29年度まで延長) で次のような点を明らかにすることを目的としている。

(1) 音響放射力を発生させるために用いられる超音波について、どのような条件で心筋障害を起こすか (強さ、照射時間による影響)、(2) 照射により発生する不整脈は、どのような条件で発生しやすいか (照射部位、強さ、照射時間による影響)、(3) 超音波造影剤は増感剤として障害を起こしやすいことが知られているが、その併用の有無による生体組織への影響を検討する。また、これらの結果は、安全に利用できる超音波出力ならびに使用条件について、超音波医学会の担当委員会に報告する。

昨年度の日本超音波医学会の情報公開 (会告) に示されているように、ARFIでは超音波持続時間 (波連長) の長い超音波が用いられるため、生体組織では、特に骨が焦点近傍に存在する場合の急激な温度上昇による障害も懸念される。さらに、照射時に肺などの心周囲の組織に傷害が起こる可能性がある。そこで、本研究では、心筋自体だけでなく、

肋骨の近傍組織（前側の心筋を含む）、肺組織での組織障害についても、同様に検討する。

なお、最近世界超音波医学生物学会議の安全委員会で、ARFIの安全基準がこれまでの2倍程度に引き上げることについて議論されており、今回の研究はその議論のデータとしても重要となると理解している。また、本研究により明らかにされる心臓、心筋への影響については、引き続き日本超音波医学会機器及び安全に関する委員会で審議された後、同学会の会告の一部として公開される予定である。

3. 研究の方法

本研究では、音響放射力インパルス（ARFI）を発生するために用いられる超音波が心臓、周囲臓器に与える影響を調査検討し、安全に使用されるための超音波出力の範囲を明らかにすることを目的としている。

超音波照射システムは、任意の強度または音圧や、パルス繰り返し周波数、パルス繰り返し送波回数の設定が可能である。

平成26年度の研究では、まず心への影響の有無を調べるため、装置の照射強度を、Mechanical Index (MI) で評価し、MI 1.8 と MI 4.0 の2つとし、造影剤については、造影剤なしと造影剤あり（急速静注法と点滴法）の計3群について不整脈の発生を検討した。平成27年度の研究では、強度をMI 1.8とし、造影剤の有無については同様に3群で、不整脈の発生を検討した。平成28年度と延長した29年度は、改良された照射装置を用いて照射を行った。これは、これまで使用してきた実験用振動子では、心筋を画像下に観察しながら照射できず、事前に別の超音波装置により照射部位の確認と設定を行わねばならなかったためである。新たな装置と探触子は、同一の装置と探触子で観察しながら照射できるため、その探触子の完成をまち、実

験を行った。これまでの実験結果をもとに照射は、MI 1.0、超音波造影剤は静注法のみでおこない。右心系と左心系に分けて照射を行った。最後に、心臓周囲への影響を調べるため肺組織への照射を試みた。照射条件は、MI 1.0で、造影剤は使用していない。

なお、上記の期間を通じて、心臓に照射する時相は、致死性不整脈が発生しやすいといわれているいわゆる心電図のT波の前後において行った。

実験は、ウサギを用いた。超音波の照射は、ウサギを全身麻酔化に、除毛部から行い、心臓の左心室が描出される肋間を選択して行った。超音波照射は、波連長としては数百 μ s～数十ms、休止時間としては1秒～1分程度、繰り返し送波回数としては1回～数十回程度、音圧としては数百kPa～10MPaとした。超音波造影剤はヒトで利用されるperflubutane（ソナゾイド）を体重当たり0.015 ml/kgを使用し、静脈内にbolus injection または持続点滴を行った。

実験は、超音波照射の条件を変化させながら、心電図により不整脈の発生を観察した。実験後は、ヘマトキシリンエオジン染色により光学顕微鏡で心筋の障害の有無を観察した。なお、ある程度以上心筋細胞の破壊がおこれば、筋由来の酵素であるCK、AST、LDHが上昇すると予想されるため、実験前後で採血を行い、比較した。

ウサギへの超音波の照射は、ウサギを全身麻酔下に、腹壁側の脱毛部から行った。なお、結果については、随時日本超音波医学会機器及び安全に関する委員会に報告した。結果は、同委員会が会員向けに掲載する「おしらせ」の資料の一部として引用された。

4. 研究成果

平成26年度は、MIが1.8および4.0、照射時間（Pulse Duration: PD）が0.3および10msとした。超音波造影剤は、単回静脈

注射と持続点滴の2種類の投与方法を用いた。

MI が 4.0 の条件では、超音波造影剤の併用により期外収縮が確認された。MI が 1.8、PD が 0.3m s の条件では、超音波造影剤の持続点滴でのみ期外収縮の出現が確認された。MI が 1.8、PD が 10m s の条件では、静脈注射と持続点滴の両方で期外収縮の出現が確認された。造影剤を投与していない状態では期外収縮は確認されなかった。観察された期外収縮はいずれも単発のもので、致死的な不整脈は観察されなかった。

平成 27 年度の実験は、MI が 1.8、照射時間(PD)が 0.3 としている。超音波造影剤は、単回静脈注射と持続点滴の2種類の投与方法を用いている。

超音波造影剤の持続点滴でのみ期外収縮の出現が確認され、造影剤を投与していない状態では期外収縮は確認されなかった。観察された期外収縮はいずれも単発のもので、主に上室性期外収縮が記録された。

平成 28 年度、平成 29 年度では、観察しながら照射することができる探触子の完成をまち、照射することとした。ここで、作成に想定以上の時間がかかり、実験施行は平成 28 年度終わりから 29 年度の前半となった。新規装置により、3 羽のウサギを用いて、心臓の右心系、左心系に分けて照射し、かつ造影剤あり (bolus injection) と造影剤なしの状態では MI は 1.0 前後で照射を行った。その結果、これまでの結果同様、造影剤ありのもののみ期外収縮が観察された。みられた不整脈は、単発の心室性あるいは上室性期外収縮であり、右心系の照射と左心系の照射では起源の異なる期外収縮が起こることも確認した。

最後に、心周囲の臓器として、肺への照射も今後の検討事項であり、心臓と並行して肺への照射実験を行った。MI 0.8-1.2 で超音波造影剤を使用しない条件で、経肝臓で横隔膜を通して肺への照射を行った。肉眼所見とし

ては、照射した部位に一致して肺表面に red spot を認めた。いずれも病理組織所見 (HE 染色) としては、照射部位の胸膜直下に肺胞出血を認めた。いずれの症例でも気胸や血胸は認めなかった。

肝臓、乳腺組織で組織の硬さを計測する手法として用いられている ARFI の心筋組織への影響について検討した。MI 4.0 強度の大きい場合だけでなく、臨床で利用される最大の値である 1.9 を下回る (MI 1.8) 場合でも、造影剤の使用により、期外収縮が認められた。また、照射部位を左心系と右心系に分けて照射を行ったが、いずれでも期外収縮が観察された。ただし、造影剤を使用しない場合では、期外収縮は観察されず、造影剤の存在が、不整脈発生の閾値を下げていると考えられた。なお、重大な不整脈の発生は見られなかった。今回の実験の解釈については、動物実験であり種による感受性の違いがあること、健全な動物のみであり、ヒトで対象となる心筋に疾患を有する場合は、感度が異なることも想定され、臨床で用いられる場合には、十分な検討が必要である。

一方、肺への検討は、時間的な制限で十分な検討ではないが、照射により肺損傷が起こり得ることが証明され、従来の通常の超音波照射でも動物実験において報告されているだけでなく、ARFI による照射でも再現された。その発生機序としては、肺表面で位相反転を起こすことも含めキャピテーションの影響が大きいと考えられている。臨床利用されている超音波診断装置は最大音響出力が MI 値 1.9 より低い強度で、また造影剤を使用しなくとも肺表面に傷害が発生することは、ARFI の適応を考えるうえで重要であり、今後も強度と閾値について検討は必須と考えられる。

5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 4 件)

Ishiguro Y, Nitta N, Taniguchi N, Akai

K, Takayama N, Sasanuma H, Ogata Y, Yasuda Y, Akiyama I. Ultrasound exposure (mechanical index: 1.8) with acoustic radiation force impulse evokes extra systolic waves in rabbit heart under concomitant administration of an ultrasound contrast agent. J Med Ultrasonics. 43:3-7, 2016. (査読あり)

Takayama N, Ishiguro Y, Taniguchi N, Akai K, Sasanuma H, Yasuda Y, Nitta N, Akiyama I. : The effect of ultrasound with acoustic radiation force on rabbit lung tissue: a preliminary study. J Med Ultrasonics. 2016; 43(4): 481-5. DOI 10.1007/s10396-016-0730-0. (査読あり)

Ishiguro Y, Sasanuma H, Nitta N, Taniguchi N, Ogata Y, Yasuda Y, Akiyama I. The arrhythmogenic effect of ultrasonic exposure with acoustic radiation force (ARF) impulse on the rabbit heart with ultrasound contrast agent; perfluorobutane. J Med Ultrasonics. 42:47-50, 2015 (査読あり)

Nitta, N., Ishiguro, Y., Sasanuma, H., Taniguchi, N., Akiyama, I.: Experimental system for in-situ measurement of temperature rise in animal tissue under exposure to acoustic radiation force impulse. J Med Ultrasonics (2015) 42:39-46 DOI 10.1007/s10396-014-0562-8 (査読あり)

〔学会発表〕(計 5 件)

石黒保直, 新田尚隆, 赤井一輝, 高山法也, 小形幸代, 笹沼英紀, 安田是和, 谷口信行, 秋山 いわき: 超音波造影剤投与下の音響放射力インパルス (ARFI: Acoustic Radiation Force Impulse) のウサギ心臓への照射とその期外収縮発現. 日本超音波医学会第 88 回学術集会, 東京, 2015 年 5 月 23 日.

Akai, K., Ishiguro, Y., Sasanuma, H.,

Nitta, N., Taniguchi, N., Akiyama, I. : On the thermal effect in biological tissues exposed to ultrasound of longer pulse duration after administration of contrast agents. IEEE/IUS2015, Taipei, Taiwan, Oct.21-23, 2015.

Ishiguro, Y., Nitta, N., Taniguchi, N., Akai, K., Takayama, N., Sasanuma, H., Ogata, Y., Yasuda, Y., Akiyama, I. : The extra systolic waves evoked by the ultrasound exposure (mechanical index: 1.8) with acoustic radiation force impulse for the rabbit heart under administration of ultrasound contrast agent. Euroson2015, Athens, Greece, Nov.6-8, 2015.

Takayama N, Sasanuma H, Ishiguro Y, Taniguchi N.: The effect of ultrasound with acoustic radiation force on rabbit lung tissue: preliminary study. BMUS Annual Scientific Meeting, 2016.12.7-9, York, England

音響放射力インパルスが肺に及ぼす影響 - ウサギを用いた動物実験 - 高山法也、笹沼英紀、利府数馬、高野わかな、新田尚隆、石黒保直、秋山いわき、谷口信行 第 90 回日本超音波医学会総会 2017.4.26-28 宇都宮

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

名称:
発明者:
権利者:
種類:
番号:
出願年月日:
国内外の別:

取得状況 (計 0 件)

名称:
発明者:
権利者:
種類:

番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等
音響放射カインパルスを伴う超音波の生体
組織への影響について 2017年8月21日
公益社団法人日本超音波医学会
機器及び安全に関する委員会
音響放射力の生体への影響検討小委員会

6. 研究組織

(1) 研究代表者

谷口信行 (Nobuyuki Taniguchi)
自治医科大学・医学部・教授
研究者番号 10245053

(2) 研究分担者

小形幸代 (Yukiyo Okgata)
自治医科大学・医学部・講師
研究者番号 10448847

研究分担者

石黒保直 (Yasunao Ishiguro)
自治医科大学・医学部・助教
研究者番号 10646326

研究分担者

笹沼英紀 (Hideki Sasanuma)
自治医科大学・医学部・講師
研究者番号 90511709

(3) 連携研究者

()

研究者番号：

(4) 研究協力者

()