

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 23 日現在

機関番号：33920

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2015～2016

課題番号：15K15557

研究課題名(和文) 集束超音波技術を応用した変形性関節症の低侵襲治療法の開発

研究課題名(英文) Development of minimally invasive treatment for osteoarthritis using focused ultrasound technique

研究代表者

牛田 享宏 (USHIDA, Takahiro)

愛知医科大学・医学部・教授

研究者番号：60304680

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,700,000円

研究成果の概要(和文)：既存のHIFU(MRガイド下)治療装置による臨床応用を視野に入れたモデル動物を用いる研究を高知大学で、産総研が開発した新型プローブによるDrug Delivery技術の基礎研究を愛知医大で行なっている。これまでにモデル動物に対して関節部に正確に治療用超音波を照射するためのモデル動物実験用超音波照射実験システムを構築し、実際のモデル動物に対して照射実験を行い、成果を第15回日本超音波治療研究会等で発表、研究会ベスト発表賞を受賞するなど、本研究プロジェクトの構想やこれまでの研究成果について報告するとともに超音波治療分野の専門家から研究に対するきわめて高い評価および貴重なフィードバックを得た。

研究成果の概要(英文)：Aichi Medical University conducts fundamental research on Drug Delivery technology with a novel probe developed by AIST at Kochi University using a model animal with an eye to clinical application with an existing HIFU (MR guided) treatment device. To date, we have constructed an ultrasonic irradiation experiment system for model animal experiments to irradiate ultrasound for therapeutic treatment accurately to a joint part of a model animal, perform an irradiation experiment on an actual model animal, Presented at 15th Japan Society of Ultrasonic Therapy (JSTU2016) etc., received the Best Presentation Award of the Technical Committee, etc. We report on the concept of this research project and the results of research so far, and at the same time report from experts in ultrasonic therapy field to research I got a very high evaluation and valuable feedback.

研究分野：運動器疼痛学、整形外科、脊椎脊髄病

キーワード：関節病学 強力集束超音波治療 HIFU

1. 研究開始当初の背景

日本国内において、社会の急速な高齢化にともない非常に多くの患者が変形性膝関節症(700万人以上)や変形性脊椎症(1000万人以上)などの変形性関節症(以下 OA)による運動器の痛みを苛(さいな)まされており、痛みにより併発する生活障害によって要介護に至るケースも多い。

OAの痛みの機序については、これまで整形外科領域を中心に行われてきた骨軟骨研究により、加齢や負荷に伴う関節軟骨の減少や消失と同時に出現した局所の炎症、バイオメカニクスの問題が関与していることがわかっているが、一方で、画像上で関節軟骨の減少や消失がみとめられていても痛みが出現しない患者が実に2/3程度にものぼる。これは画像上の変化には現れない神経成長因子(NGF)やArtemin等の神経栄養因子、神経ペプチドなども痛みの発生機序に深く関与するためと推察される。

2. 研究の目的

我々はこれまでのOAにおける神経生理学的研究の知見と集束超音波(HIFU)技術を融合させる、言わば『融合的OA治療法』を新規に開発することで、関節変形があってもコントロールできることにより痛みの悪循環に陥っていない病態に戻すことができるものと期待され、課題解決に導くものと考えられる。

本研究では、申請者がこれまでに研究、開発してきた痛みに関する神経科学的診断・治療法を基盤とし、高精度な集束超音波(HIFU)照射技術と融合させることで変形性関節症・脊椎症(OA)の痛みを非観血的に緩和する画期的な治療法を開発する。この開発により痛みの緩和にとどまらず、国民病ともいべきOAによって著しく低下した歩行をはじめとする高齢者の運動機能をも大きく改善することが期待できるため、ロコモ

ティブ・シンドロームの予防・治療にも大きく資する。

本研究では研究期間内に下記を解明/確立する。

(1)モデル動物および健常動物を用いたHIFU照射実験を行い、照射条件と組織の温度変化、関節支配神経や局所の傷害及び有痛部位(照射部位)周辺の炎症性神経ペプチドなどの分布の変化、骨構造変化の短期的および中期的経時変化を解明する。

(2)ペンシル型トランスデューサを新規開発、これを用いて神経栄養因子のアンチセンスを線維芽細胞にDrug Deliveryし、炎症性神経ペプチドおよびプロテアーゼ活性化受容体のアンチセンスを侵害受容体にDrug Deliveryする技術を確立する。

(3)本研究によって得られた知見にもとづいてHIFUによるOA疼痛緩和治療法の高効率化を図るとともに標準的治療法を確立する。

3. 研究の方法

(1)MRガイド下-HIFU装置を用いた照射条件と関節周囲組織・神経の病理学的変化(動物実験)

実験 MR1: 神経病理学的変化の調査について、健常動物の短期研究

全身麻酔下に日本白色家兔の膝関節に対して既存のHIFU装置(現有)を用いて膝関節内側の関節裂隙6x6mmの焦点に体外から超音波を集束させ、照射超音波のエネルギー値(電力値:Wおよび照射時間:S)周波数と膝関節周囲の神経終末および侵害受容体の神経組織化学的变化との関係を解明する。

神経組織化学的变化の検討:H-E染色、鍍銀染色による組織、神経の形態学的変化を調査する。さらに、侵害受容体の機能を調べるため小径C線維およびA線維の自由神経終末付近の神経ペプチド(CGRPおよびS-P)の染色を行う、またTNF、IL-6、NGFについて

は ELISA 法により調査し、未治療の場合との比較検討を行う。

実験 MR2：神経病理学的変化の調査について、OA モデル動物の短期研究

OA モデル動物の作成は、Messner (Osteoarthritis and Cartilage 2000) を参考に日本白色家兔の内側半月板を切除して二次的 OA を作成する方法で行う。実験 MR-1 から得られた HIFU 照射のデータを参考に、モデル動物に HIFU を照射した際に侵害受容器やその周囲の神経学的炎症がどのように制御できるかについて検証を行う。

実験 MR3：神経病理学的変化および骨形成調査の長期研究

実験 MR-1 で得られた条件で、関節周囲の神経病理学的変化が引き起こされないか、骨形成の程度についての長期的な調査研究を行う。骨形成については高知大学動物実験センターが保有する動物用 CT を用いて、照射後 1 週から 3 ヶ月まで経時的な骨構造変化を観察する。

(2) HIFU 技術を用いた Drug Delivery についての in vitro 研究

実験 D1: マイクロバブルに Artemin, CGRP, Substance P の誘導をするプロテアーゼ活性化受容体のアンチセンスを混和するテストを行い、in vitro での安定性を検証する。

実験 D2-1: 力学強度が高い細胞培養の足場材料として用いられているペプチドハイドロゲルに線維芽細胞を培養させる。実験 D1 で作成した Artemin のアンチセンス - マイクロバブル混和液中で固定された細胞に新規に開発するペンシル型トランスデューサを使用して高精度に HIFU を照射し、アンチセンスが取り込まれる条件を明らかにする研究を行う。

実験 D2-2: ペプチドハイドロゲル上(もしくはアガロースゲル上)にラット(P7)の後根神経節細胞を単離し培養を行う。上記の実験 D1 で作成した CGRP, Substance P の誘導

をするプロテアーゼ活性化受容体のアンチセンス - マイクロバブル混和液中で、ゲル上に固定された細胞に HIFU を照射し、アンチセンスが取り込まれる条件を解明する。

実験 D3: 実験 D2-1、2-2 の結果をもとに、高精度ペンシル型トランスデューサによる Drug Delivery 技術を用いてマイクロバブルに混和した Artemin, PreNGF, CGRP, Substance P およびプロテアーゼ活性化受容体のアンチセンスを侵害受容器(自由神経終末)や線維芽細胞などに取り込ませる実験を行い、取り込まれている組織や量について定量的な評価を行う。

実験 D4: 実験 D3 で侵害受容器もしくは線維芽細胞などに取り込まれて有効性が期待されるリガンドについて、関節炎モデル動物(Ikeuchi et al. J Biomed Sci, 2012) 実験を行い、神経原性炎症やそれともなう痛みの抑制可能性について、行動学および免疫組織学的に検討する。

(3) HIFU 技術を用いた OA 疼痛緩和法の臨床応用の検討

転移性骨腫瘍に対する疼痛緩和の臨床症例の研究結果および上記の動物実験結果から、新型トランスデューサを用いてアンチセンスを Drug Delivery することで OA に対して骨関節組織障害や神経障害を引き起こすことなく、安全かつ長期的な疼痛緩和効果が得られるかについて臨床応用のための検討を行う。安全性と一定期間の疼痛緩和効果の見通しがつけば、ハイリスク例などの手術適応の困難な症例に対して融合的 OA 治療法の臨床研究を開始する。

4. 研究成果

既存の HIFU (MR ガイド下) 治療装置による臨床応用を視野に入れたモデル動物を用いる研究を高知大学で、産総研が開発した新型プローブによる Drug Delivery 技術の基礎研究を愛知医大で行った。モデル動物に対して

関節部に正確に治療用超音波を照射するためのモデル動物実験用超音波照射実験システムを構築し、実際のモデル動物に対して照射実験をすでに開始してため、これまでの具体的な研究成果として超音波照射条件を変化させながら、膝関節部に正確に治療用超音波を照射することができるシステムを構築した。さらに、膝関節部の組織的变化を神経レベルまで含めて観察・評価系することが可能な実験系を構築し、その有効性を確認した。また、ペンシル型トランスデューサについてその1次試作および動作実験を行い、その有効性を確認した。また、成果を様々な学会等で発表し、中でも第15回日本超音波治療研究会(JSTU2016)においては研究会ベスト発表賞を受賞するなど、本研究プロジェクトの構想やこれまでの研究成果について報告するとともに超音波治療分野の専門家から研究に対するきわめて高い評価および貴重なフィードバックを得ることができた。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計98件)

- 1) Koizumi N, Tsukihara H, Yoshinaka K, Miyazaki H, Fukuda H, Numata K, Homma Y, Matsumoto Y, Mitsuishi M. Construction methodology for non-invasive ultrasound theragnostic system by medical digitalization. The Journal of the Acoustical Society of America 2016;140:3309. 査読無. doi: <http://dx.doi.org/10.1121/1.4970537>
- 2) Yoshinaka K, Takeuchi H, Toyoda S, Sasaki A, Azuma T, Takagi S. All-in one small modular transducer system for ultrasound therapy. The Journal of the Acoustical Society of America 2016;140:3369. 査読無. doi: dx.doi.org/10.1121/1.4970759
- 3) 小泉憲裕, 月原弘之, 松本洋一郎, 光石衛. 超音波利用の動向 超音波による診断・治療統合技術 : 医デジ化 (Me-DigIT)による医療技能/技術の再構築. 電気評論 2016;101(9): 12-6. 査読無.
- 4) 牛田享宏. 【関節痛に対する新しい治療】 関節痛における慢性痛の発生メカニズム. 査読無. 整形・災害外科 2016;59(9):1159-67.
- 5) 泉仁, 川崎元敬, 南場寛文, 牛田享宏, 池内昌彦. 【関節痛に対する新しい治療】変形性膝関節症に対する MR ガイド下集束超音波治療. 整形・災害外科 2016; 59(9): 1197-1201. 査読無.
- 6) Aso K, Izumi M, Sugimura N, Okanoue Y, Ushida T, Ikeuchi M. Nociceptive phenotype alterations of dorsal root ganglia neurons innervating the subchondral bone in osteoarthritic rat knee joints. Osteoarthritis Cartilage. 2016 Sep;24(9):1596-603. 査読有. doi:10.1016/j.joca.2016.04.009.
- 7) Yamanaka H, Kobayashi K, Okubo M, Noguchi K. Annexin A2 in primary afferents contributes to neuropathic pain associated with tissue type plasminogen activator. Neuroscience. 2016 9; 314: 189-99. 査読有. doi: 10.1016/j.neuroscience. 2015.11.058.
- 8) Yamanaka H, Kobayashi K, Okubo M, Noguchi K. Annexin A2 in primary afferents contributes to neuropathic pain associated with tissue type plasminogen activator. Neuroscience, 2016; 314:189-199 査読有 doi: 10.1016/j.neuroscience.2015.11.058.
- 9) 川崎元敬, 南場寛文, 泉仁, 武政龍一, 池内昌彦, 牛田享宏. 新しい医療技術運動器の慢性痛に対する MR ガイド下集

束超音波治療. 整形・災害外科
2015;58(13): 1731-6. 査読無.

〔学会発表〕(計152件)

- 1) K Yoshinaka, H Takeuchi, S Toyoda, A Sasaki, T Azuma, S Takagi. All-in one small modular transducer system for ultrasound therapy. 5th Joint Meeting of the Acoustical Society of America and the Acoustical Society of Japan. 2016.11.28. ホノルル(米国)
- 2) 村松脩大、南場寛文、川崎元敬、泉仁、武政龍一、池内昌彦、牛田享宏. 有痛性骨関節疾患の圧痛部位へのMRガイド下集束超音波治療(MRgFUS)の効果. 第15回日本超音波治療研究会. 2016.11.12. 東京女子医科大学・早稲田大学連携先端生命医科学研究教育施設(東京)
- 3) H Namba, M Kawasaki, M Izumi, M Ikeuchi, T Ushida, S Oda, H Kondo. MR-guided Focused Ultrasound Surgery (MRgFUS) for the Treatment of Chronic Osteoarthritic Knee Pain. 16th World Congress on Pain. 2016.9.30. パシフィコ横浜(神奈川)
- 4) T Ushida. Chronic Musculoskeletal Pain Update: Nonspecific Pain and Persistent Postoperative Pain. 16TH WORLD CONGRESS ON PAIN. 2016.9.26. パシフィコ横浜(神奈川)
- 5) 飯田博己, 李玉強, 木全弘治, 木村伸也, 牛田享宏. マウス術後痛モデルの確立と疼痛の病態および発現遺伝子の検討. 第89回日本生科学会大会. 2016.9.25. 仙台国際センター(宮城)
- 6) H Namba, M Kawasaki, M Izumi, R Takemasa, M Ikeuchi, T Ushida. Effect of MRgFUS for the tender points in patients with painful bone metastasis and with chronic osteoarthritic pain.

5th International Symposium on Focused Ultrasound. 2016.8.31. Bethesda North Marriott Hotel & Conference Center(米国)

- 7) Kawasaki M, Izumi M, Takemasa R, Ikeuchi M, Ushida T. Therapeutic Monitoring of MRgFUS for the Bone and Joint Diseases. Ultrasound Week 2016. 2016.5.29. ICC京都(京都)
- 8) 野口光一. 神経障害性疼痛の分子メカニズム. 第68回日本自律神経学会総会. 2015.10.29. ウィンクあいち(愛知)
- 9) 葭仲潔. モジュール型超音波治療機器研究開発プラットフォームの構築. 産総研 新技術説明会. 2015.6.30. JST 東京本部別館(東京)
- 10) 牛田享宏. 変形性関節症治療の Update: 新規治療の方向性 疼痛治療を中心に、第59回日本リウマチ学会総会・学術集会 2015.4.23. 名古屋国際会議場(愛知)

〔図書〕(計3件)

- 1) 牛田享宏、中外医学社、慢性疼痛診療ハンドブック、1-13
- 2) 川崎元敬、中外医学社、慢性疼痛診療ハンドブック、169-84

〔産業財産権〕

出願状況(計1件)

名称: 生体内運動追跡装置
発明者: 小泉憲裕、李東俊、藤井達也、福田浩之、月原弘之、東隆、杉田直彦、宮寄英世、本間之夫、沼田和司、松本洋一郎、光石衛
権利者: 同上
種類: 特許(実用新案)
番号: PCT/JP2015/075132
出願年月日: 2015.9.2.
国内外の別: 海外

6 . 研究組織

(1)研究代表者

牛田 享宏 (USHIDA, Takahiro)
愛知医科大学・医学部・教授
研究者番号： 6 0 3 0 4 6 8 0

(2)研究分担者

野口 光一 (NOGUCHI, Koichi)
兵庫医科大学・医学部・教授
研究者番号： 1 0 2 1 2 1 2 7

葭仲 潔 (YOSHINAKA, Kiyoshi)
国立研究開発法人産業技術総合研究所・そ
の他部局・研究員
研究者番号： 9 0 3 5 8 3 4 1

池内 昌彦 (IKEUCHI, Masahiko)
高知大学・医学部・教授
研究者番号： 0 0 3 7 2 7 3 0

川崎 元敬 (KAWASAKI, Motohiro)
高知大学・医学部・講師
研究者番号： 5 0 3 9 8 0 5 4

小泉 憲裕 (KOIZUMI, Norihiro)
電気通信大学・情報理工学系研究科・准教
授
研究者番号： 1 0 3 9 6 7 6 5