

令和 3 年 6 月 15 日現在

機関番号：12605

研究種目：挑戦的研究（萌芽）

研究期間：2019～2020

課題番号：19K22956

研究課題名（和文）音響誘起電磁法を利用した臓器線維化の定量可視化

研究課題名（英文）Quantitative visualization of organ fibrosis using the acoustically stimulated electromagnetic method

研究代表者

生嶋 健司（Kenji, Ikushima）

東京農工大学・工学（系）研究科（研究院）・教授

研究者番号：20334302

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 4,900,000円

研究成果の概要（和文）：音響誘起電磁法（ASEM法）は、超音波（音圧）により誘起される電気分極（圧電分極）を検出する方法である。この分極は、一軸対称性をもつコラーゲン等の線維組織の圧電性に由来する。そこで、臓器の慢性疾患に伴う過剰なコラーゲンの蓄積が検出・画像化されることが期待される。本研究では、ラットの慢性心筋梗塞モデルおよび腎不全モデルを用いて、線維化の可視化検証を行った。その結果、健康な心臓では分極がほとんど観測されないため、心筋梗塞モデルにおいて明確なコントラストをもって線維化分布が得られた。腎臓については、健全な腎臓でも分極が観測されたため、分極発生面積比として評価したところ、明確な有意差が得られた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

臓器の線維化は、心臓、腎臓、肝臓および肺など、慢性疾患において普遍的に認められる組織変性である。通常、患者から組織の一部を摘出して分析する生体検査（生検）が行われている。生検は患者への負担が大きいいため、非侵襲検査が強く求められている。本研究により、超音波を用いた新手法（音響誘起電磁法）を用いて心臓や腎臓等のコラーゲン蓄積を直接画像化できることが実証された。音響誘起電磁法による線維化診断の実現は、患者の負担を軽減し、予後予測が頻繁に検査できる診断技術として新たな価値をもたらすことが期待される。

研究成果の概要（英文）：The acoustically stimulated electromagnetic method (ASEM method) is a novel measurement technique for detecting electric polarization (piezoelectric polarization) induced by ultrasonic waves (ultrasound pressure). This polarization is derived from the piezoelectricity of fibrous tissue such as collagen having uniaxial symmetry. Therefore, it is expected that excess collagen accumulation associated with chronic diseases of organs will be detected and imaged. In this study, we performed visualization verification of fibrosis using a rat model of chronic myocardial infarction and renal failure. As a result, (1) since polarization was hardly observed in a healthy heart, a fibrotic distribution was obtained with a clear contrast in the myocardial infarction model. (2) Regarding the kidney, since polarization was also observed in healthy kidneys, a clear significant difference was obtained when evaluated as the polarization occurrence area ratio.

研究分野：医工学

キーワード：臓器線維化 コラーゲン 超音波 圧電性 音響誘起電磁法

1. 研究開始当初の背景

心臓、腎臓、肝臓および肺など、脳を除く主要な臓器では、炎症等により活性化した線維芽細胞が多量にコラーゲンを産生し、組織が線維化されることがある。コラーゲン線維化は、臓器の慢性疾患において普遍的に認められる組織変性であるため、医師が治療介入を判断する重要な指標となっている。例えば、心筋梗塞においては、虚血により心筋細胞が壊死すると、壊死した細胞の跡を埋めるようにコラーゲンの蓄積が起これ、心臓が線維化する。また、難病指定されている拡張性心筋症や心サルコイドーシスにおいても心筋の線維化が診断基準の一つとなっている。腎臓や肝臓においても慢性不全において組織は線維化する。肺線維症は、ガス交換を行う上皮組織が慢性炎症によりコラーゲン線維化し、呼吸困難をきたす致死的疾患である。主流となっている検査は、患者から摘出された組織を染色して光学顕微鏡で観察する「生検」である。生検は、患者への負担が大きく、高齢者には適用できない場合がある。そこで、病態評価や予後予測がより頻繁に検査できる非侵襲・低侵襲の診断技術が求められている。各臓器・疾患に対して、MRI、X線、エラストグラフィおよびバイオマーカーの探索など、多くの技術開発が進められているが、線維化を直接的に診断できる手法はまだ十分確立されていない。

2. 研究の目的

本研究の目的は、超音波を利用する新手法——音響誘起電磁(ASEM)法——を用いて、非侵襲に臓器の線維化を定量可視化する基盤技術を提供することである。安全で繰り返し検査を行うことができる線維化の診断技術の確立は、循環器系、泌尿器系、消化器系、呼吸器系等の治療判断に大きく貢献することが期待される。

3. 研究の方法

ASEM法は、超音波(音圧)により誘起される電気分極や磁気分極を高感度に検出する手法である(図1)。従来のエコー法と異なり、対象物の電気・磁気物性が画像化される。これまでの研究から、圧電効果を有する骨やコラーゲン線維において超音波誘起による電気分極(ASEM信号)が観測されている。ASEM信号は、超音波周波数にチューニングされた静電結合共振アンテナにより検出される(図2)。ASEM法の特徴は、1)硬さや造影剤を通した間接的情報ではなく、コラーゲン線維に固有の信号を検出するため、線維化の蓄積を画像情報から直接的に評価できる、2)生体組織内にASEM信号の原因となる他の対象がほとんどないため、アーティファクトの少ない高いコントラストが期待される、3)超音波が対象臓器まで到達すればよい(エコー信号のように音波が往復する必要はない)、ヒト深部への適用に有利である、ことである。そこで、本研究では、各医療分野の専門家と連携して、(a)ラット心筋梗塞モデルと(b)ラット腎不全モデルを用いて、線維化の可視化検証実験を行う。

4. 研究成果

まず、健康な心臓と心筋梗塞モデルのASEM 2次元マップを取得した(図3)。健康な心臓では超音波により誘起される分極はほとんど観測されないが、心筋梗塞モデルではコントラストよく、線維化部分で分極している様子が画像化される。ただし、LAD結紮した上流部においても線維化を示す分極が観測されている。断層像も含めて詳細に画像解析したところ、上流部においては心臓内部で分極しており、下流部では心臓表面部分で分極していることが判明した。一般に、

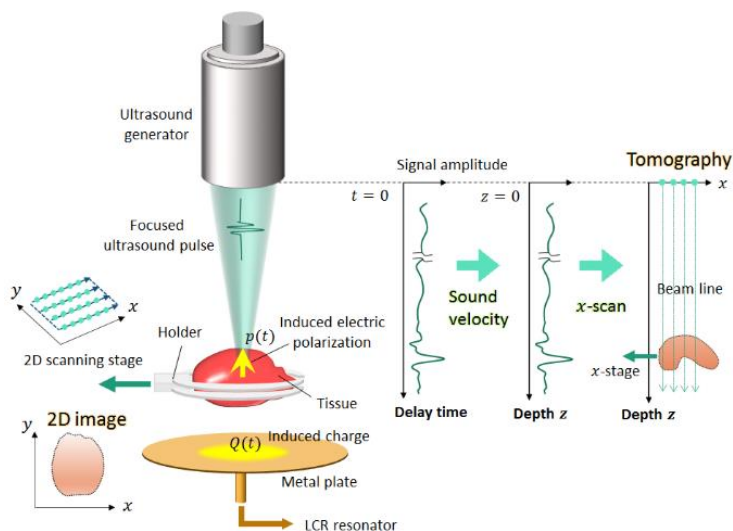


図1 ASEM測定系の概念図

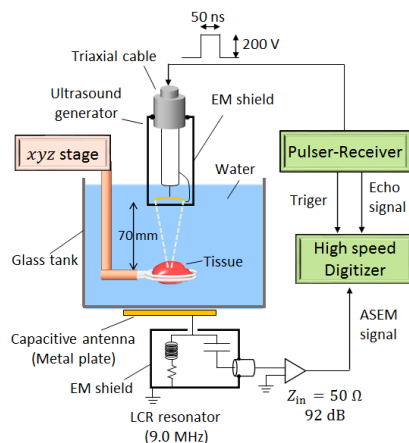


図2 ASEM測定系のブロック図

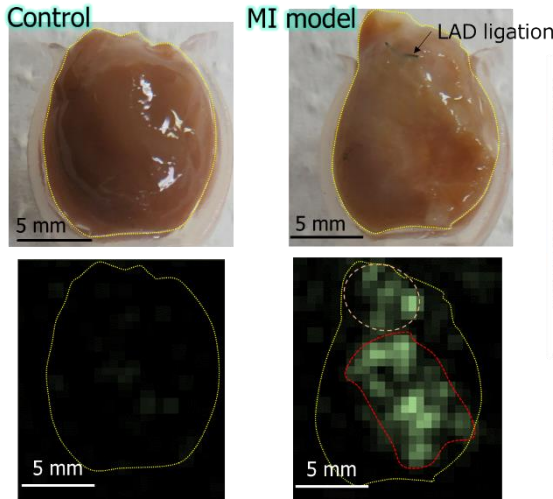


図3 健康な心臓と心筋梗塞モデルの比較

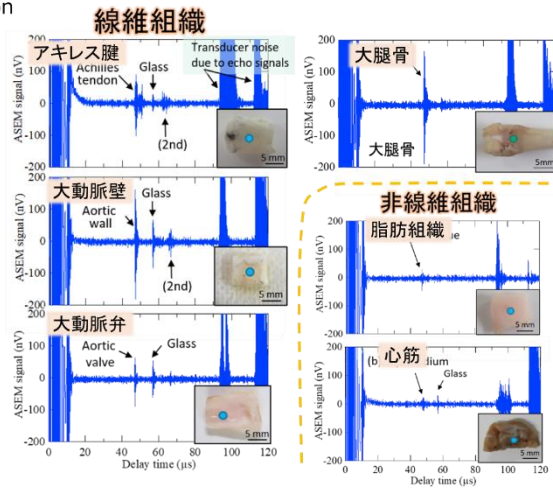


図4 軟組織における ASEM 信号波形

慢性心筋梗塞におけるコラーゲン蓄積は心臓表面部分であることがわかっている。そこで、病理評価を行い測定したサンプルのコラーゲン分布を確かめた。その結果、心筋梗塞モデルの上流部では、内部に大動脈や大動脈弁が一部切除されずに残されていたことがわかった。つまり、本来線維化しないはずの上流部内部は、コラーゲン等で形成された大動脈および大動脈弁によるものだと考えられる。一方、下流部では、病理評価により得られたコラーゲン蓄積分布と ASEM 信号分布がほぼ一致した。このことから、心臓では大動脈や大動脈弁を除き、ほぼ背景信号のない高いコントラストの可視化が可能であることが実証された。ここで注目すべきことは、大動脈や大動脈弁で ASEM 信号が観測されたことである。このことは、大動脈や大動脈弁も圧電性を有していることを示唆する。大動脈壁はエラスチンで構成される線維状組織であるが、近年、走査型プローブ顕微鏡により、圧電性のみならず、強誘電性を有していることが報告されている。一方、圧電性、強誘電性ともないと主張する報告もあり、その真否が明らかにされていない。そこで、我々は、生体内の線維状軟組織の圧電性を実証する実験を行った。代表的な線維状軟組織として、ウシのアキレス腱、ブタの大動脈壁・大動脈弁、非線維状軟組織として脂肪組織、心筋を選び、信号強度を比較した(図4)。ここで、参考までに、体積比にして半分がコラーゲン線維である大腿骨のデータも追記している。線維組織では明確な ASEM 波形が得られており、非線維組織では信号はずっと小さいことがわかる。さらに我々は、双極子モデルを用いて、超音波によって誘起される分極電荷量を算出し、音圧と分極電荷量との線形性を示し、圧電性であることを実証した。この傾きから圧電係数が見積られ、報告されている値と同程度であることを確認した。これまで生体組織の圧電性は乾燥組織でしか確かめられていなかったが、本研究により生体環境に近い湿潤状態でも圧電性を計測できることを示した。また、真否が問われていた大動脈壁の圧電性・強誘電性については、少なくとも圧電性を有することが示された。これらの成果は、Phys. Rev. Lett. の Editors' Suggestion として highlight された。この highlighted letter は採択率 25% 以下の Phys. Rev. Lett. 掲載論文の中でさらに 6 分の 1 程度の論文だけがピックアップされる。本研究成果は米国物理学会 (APS) ニュースサイト『Physics』、および『Nature』誌における Research Highlights でも紹介され、世界的にインパクトを与えた。国内プレス発表もおこなった。

我々は次にラット腎臓サンプルの測定を実施した。図6に示すように、健康な腎臓と腎不全モデルでは明確な差が見られた。ただし、健康な腎臓においても一定程度の信号が観測さ

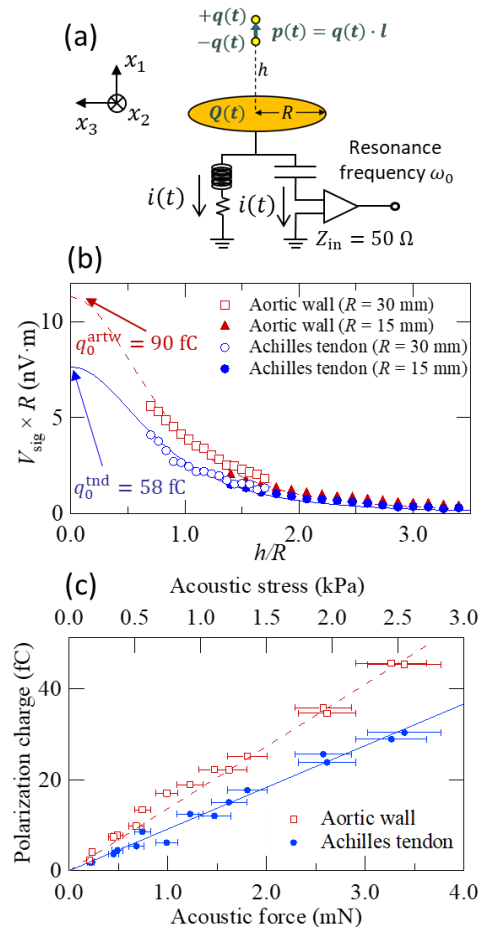


図5 圧電性の検証

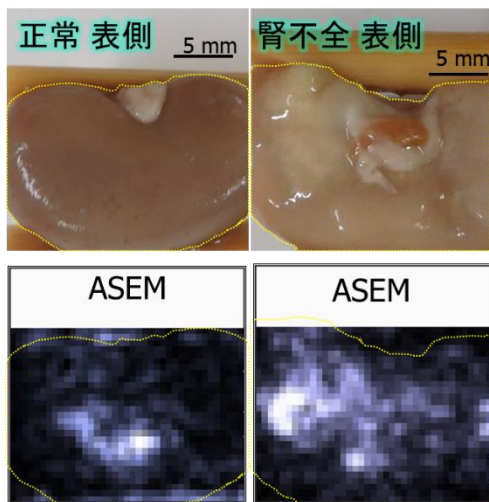


図6 健康な腎臓と腎不全モデルのASEM像

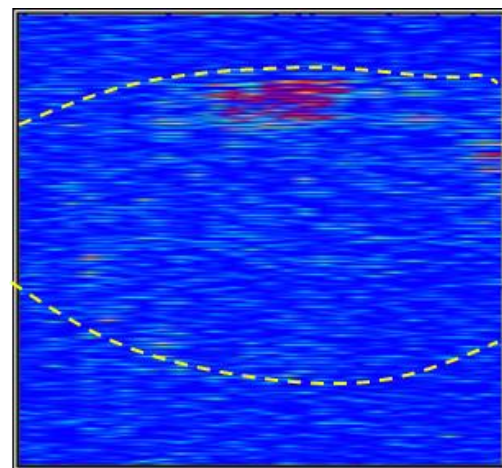


図7 腎不全モデルのASEM断層像

れたため、定量的な評価方法が必要であることがわかった。心臓に比べると、腎臓にはコラーゲン等の線維組織も含まれていることが示唆される。そこで、閾値電圧を超えた信号発生面積を指標として評価したところ、健康腎と腎不全モデルとの違いが面積比として明瞭に定量化できることがわかった。分極が生じる面積としてコントロールと腎不全モデルを比較してみたところ、面積比としておよそ10倍の違いとして定量評価された。これらの結果は、「臓器線維化測定装置、線維化測定方法および特性測定装置」として特許申請された(特願2019-153856, PCT出願)。ただし、病理評価を行ったところ、腎臓の皮膜はコラーゲン線維で形成されており、皮膜有り無しにより信号強度が約2倍異なることが判明した。皮膜の影響を加味しても、腎臓の線維化によりASEM信号強度は増大するが、定量評価においては十分考慮する必要がある。

ASEM法による線維化検知の原理検証はできたが、本技術を医療の臨床現場に導入する上でいくつかの課題が浮かび上がった。

(1) 腎臓のように皮膜があり、尿管・毛細血管を含む複雑な構造を有する臓器では、健康な臓器においても圧電分極が一定程度生じる。したがって、適切な閾値電圧の設定により、分極面積等で定量評価していく必要がある。

(2) 物理モデルで検討すると、金属平面アンテナで検出する場合、臓器表面に垂直方向の分極が検出される。表面に平行な分極成分は検出されない。したがって、臓器の表面形状とアンテナ平面の平行度を統一して比較すべきである。臨床応用を考慮するとき、複数のアンテナで受信して構成する、臓器表面形状をエコー像で確認し、その結果を用いてデータを補正する、もしくは、臓器の表面形状に合わせてアンテナ構造を変える、などの工夫が必要であろう。

(3) 臓器の線維化で生じるコラーゲンは高々0.2 mm程度である。したがって、ASEM信号も極めて微弱なため、測定点1点当たり、10秒近く積算する必要がある。高解像度の画像を得るためには長時間計測が必要であり、臨床現場ではとても使えない。この技術的課題は、次の二通りの方法で解決できると考えている。①詳細な線維化分布を調べる用途ではなく、臓器全体の線維化度合いを評価する場合、集束超音波ビームを走査して画像を取る必要はない。たとえば、50 mm程度の広い領域に超音波を照射し、その面積で合算された信号強度を比較すればよいだろう。その場合、現状セットアップでも数秒程度の積算時間で評価可能である。②最近、レーダーや通信分野で用いられるパルス圧縮技術(送信波形を符号化して圧縮し、受信後に相関信号処理により復元する技術)を試験的に導入してみたところ、想定される波形がSN比よく復元され、測定時間を1/1000まで短縮できる見込みが出てきた。ただし、通常のPCでは符号化信号と受信波形との相関計算に時間を要し、データを取得してから1時間後に画像を得ることにある。患者の負担を考えると、測定時間が短いだけでも大きな利点がある。さらに、FPGAを利用すれば相関計測の信号処理時間を1点当たり10 ms程度まで短縮できるかもしれない。

本研究により、ASEM法を用いて臓器線維化が原理的に可能であることがわかった。今後、対象とする各臓器に応じて測定装置、測定手順、解析・評価方法など多くの工夫が必要であるだろう。しかしながら、繰り返し検査ができる慢性疾患の診断は、超高齢化社会の本邦において大きな価値をもたらすため、上記課題を一つずつ解決し、臨床現場で使われる技術に向けて開発を推進したい。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 3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 J. Yotsuji, K. Ikushima, and H. Yamada	4. 巻 60
2. 論文標題 Flaw Detection for Thin Sheet Using Acoustic Stimulated Electromagnetic Wave Technique	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 ISIJ international	6. 最初と最後の頁 948-953
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.2355/isijinternational.ISIJINT-2019-481	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 -
1. 著者名 Y. Suzuki, H. Yamada, and K. Ikushima	4. 巻 67-4
2. 論文標題 Tensile-stress dependence of magnetic hysteresis properties measured by the acoustically stimulated electromagnetic response in steel	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 IEEE Transactions on Ultrasonics, Ferroelectrics, and Frequency Control (IEEE T-UFFC)	6. 最初と最後の頁 825-831
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1109/TUFFC.2019.2956040	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 K. Ikushima, T. Kumamoto, K. Ito, and Y. Anzai	4. 巻 123
2. 論文標題 Electric Polarization of Soft Biological Tissues Induced by Ultrasound Waves	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Physical Review Letters	6. 最初と最後の頁 238101
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1103/PhysRevLett.123.238101	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Y. Suzuki, Y. Ichikawa, H. Yamada, and K. Ikushima	4. 巻 -
2. 論文標題 Nondestructive evaluation of residual stress through acoustically stimulated electromagnetic response in welded steel	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 2019 IEEE International Ultrasonics Symposium Proceedings	6. 最初と最後の頁 19242858
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1109/ULTSYM.2019.8926251	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計12件（うち招待講演 2件 / うち国際学会 2件）

1. 発表者名 生嶋健司
2. 発表標題 超音波による電気・磁気センシング
3. 学会等名 日本磁気学会第228回研究会（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 細川大介、鈴木優平、市川裕一、山田尚人、生嶋健司
2. 発表標題 音響誘起電磁法を用いた溶接鋼材における残留応力分布の評価
3. 学会等名 第67回応用物理学会春季学術講演会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 井上智博、安齋也真人、熊本貴司、生嶋健司、谷口歩、今村亮一、野々村祝夫
2. 発表標題 音響誘起電磁法を用いた腎不全による線維化の検出
3. 学会等名 第67回応用物理学会春季学術講演会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 安齋也真人、熊本貴司、生嶋健司、道本樹、松川真美
2. 発表標題 生体組織における超音波誘起電気分極の異方性
3. 学会等名 第81回応用物理学会秋季学術講演会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 細川大介、鈴木優平、山田尚人、生嶋健司
2. 発表標題 音響誘起電磁応答で観測される局所的保磁力の応力依存性
3. 学会等名 第81回応用物理学会秋季学術講演会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 皆藤信人、生嶋健司
2. 発表標題 音響誘起電磁法を用いた服薬アドヒアランス測定を試み
3. 学会等名 第68回応用物理学会春季学術講演会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Y. Kojima, N. Niimi, K. Ikushima, Y. Yabe, and Y. Hagiwara
2. 発表標題 Acoustically stimulated electric polarization in osteoporotic bone
3. 学会等名 ASBMR 2019 (The American Society for Bone and Mineral Research Annual Meeting) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Y. Suzuki, Y. Ichikawa, H. Yamada, and K. Ikushima
2. 発表標題 Nondestructive evaluation of residual stress through acoustically stimulated electromagnetic response in welded steel
3. 学会等名 IEEE International Ultrasonics Symposium (IEEE IUS) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 伊藤惇、前川貴浩、川端康之亮、村山文仁、生嶋健司
2. 発表標題 複素誘電率を利用した半解凍状態の検査方法の開発
3. 学会等名 2019年日本水産工学会春季シンポジウム
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 熊本貴司、伊藤賢四郎、生嶋健司、今村亮一、野々村祝夫
2. 発表標題 音響誘起電磁法を用いた腎不全による線維化の検出
3. 学会等名 第80回 応用物理学会 秋季学術講演会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 安齋也真人、熊本貴司、生嶋健司
2. 発表標題 超音波によって誘起される生体組織の電気分極
3. 学会等名 第80回 応用物理学会 秋季学術講演会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 鈴木優平、山田尚人、生嶋健司
2. 発表標題 Non-destructive inspection using acoustically stimulated electromagnetic method
3. 学会等名 日本磁気学会第43回学術講演会（招待講演）
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔出願〕 計1件

産業財産権の名称 線維化測定装置、線維化測定方法および特性測定装置	発明者 生嶋健司	権利者 国立研究開発法人科学技術振興機構（JST）
産業財産権の種類、番号 特許、2019-153856	出願年 2019年	国内・外国の別 国内

〔取得〕 計0件

〔その他〕

IKUSHIMA GROUP http://web.tuat.ac.jp/~ikushima/members_j.html Soft Biological Tissues Can Be Piezoelectric https://physics.aps.org/synopsis-for/10.1103/PhysRevLett.123.238101 The body electric https://www.nature.com/articles/d41586-019-03806-8
--

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
---------------------------	-----------------------	----

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
---------	---------