

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 18 日現在

機関番号：10101

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23580436

研究課題名(和文) 客観的病態診断を可能とする新たな超音波検査法の確立と獣医臨床応用の進展

研究課題名(英文) Establishment of novel and objective ultrasonographic examination and its application to clinical veterinary medicine

研究代表者

滝口 満喜 (TAKIGUCHI, MITSUYOSHI)

北海道大学・(連合)獣医学研究科・教授

研究者番号：70261336

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,200,000円、(間接経費) 1,260,000円

研究成果の概要(和文)： 伴侶動物における超音波検査による客観的病態診断の確立に向けた基盤を形成し、その臨床応用の進展を検討することを目的として、まず正常犬の膵臓の灌流状態に関する基礎的知見を得た。次いで、実験的に作出したセルレイン誘発性急性膵炎モデルにおける造影超音波検査所見を解析して、膵臓の血流変化に着目した急性膵炎の新しい診断基準を確立した。

また、左心房機能に着目した心エコー図検査による新たな心機能評価法の確立を目指し、正常犬の左心房面積の時相による変化を解析して正常値を確立するとともに、本手法の再現性を明らかにし、臨床応用への基盤を構築した。

研究成果の概要(英文)： To establish novel and objective ultrasonographic examination and apply it to clinical veterinary medicine, fundamental parameters of normal canine pancreatic perfusion were determined by using contrast agent Sonazoid. Then, novel diagnostic criteria for acute pancreatitis focused on pancreatic perfusion changes was established based on analysis of contrast-enhanced ultrasonographic examination in experimentally induced acute pancreatitis model in the dog.

In addition, left atrial phasic function in healthy dogs by means of 2-D speckle tracking echocardiography with time-left atrial area curve analysis was evaluated. The repeatability and reproducibility of obtained measurements were adequate. This results indicates that studies are needed to determine clinical applicability in canine patients.

研究分野：農学

科研費の分科・細目：畜産学・獣医学 臨床獣医学

キーワード：超音波検査 造影超音波検査 膵臓 犬 膵炎 超音波造影剤 ソナゾイド

1. 研究開始当初の背景

我が国の少子化、高齢化に伴う伴侶動物に対する高度獣医療への国民の期待と要求は高まるばかりである。高度獣医療の実践の根幹をなすのは的確な診断であり、高次画像診断の担う役割は益々増大している。その中でも超音波検査は全身麻酔を必要とせず、検査費用も CT や MRI にくらべると安価であることから、X 線検査とともに獣医画像診断の中核をなし、広く普及してきた。しかし、その一方で、超音波検査は客観性に乏しいという欠点があり、その有用性は認知されながらも、生検なしでは確定診断につながる事が少ないことから、CT や MRI にくらべると過小評価される傾向にある。このような現状は、超音波検査はいわば第一世代的な役割を果たしたものの、欠点を克服して第二、第三世代的な役割を担うことが大きな課題であることを意味している。こうした状況の中、近年、医学領域では超音波診断における大きなブレークスルーが起きた。それは、肝腫瘍性病変の診断精度を飛躍的に向上させた第二世代超音波造影剤ソナゾイドを用いた造影超音波検査と、組織の硬度を可視化することで乳がん検診に新たな潮流をもたらした組織弾性イメージングによりもたらされた。2007年に我が国で開発された第二世代超音波造影剤ソナゾイドは、クッパー細胞に取り込まれる性質を有することから、クッパー細胞を欠く悪性腫瘍では実質相で造影欠損像を呈する。この性質を利用して、医学領域では肝臓腫瘍の早期発見ならびに良悪性鑑別が限りなく可能となった(Hatanaka, *et al. Interviol* 2008)。一方、組織弾性イメージングは組織の硬度を圧力による歪みの違いとして色分けして可視化することに成功した画期的技法(Matsumura, *et al. J Med Ultrasonics* 2003)で、特に乳がんにおいては組織の硬度と悪性度が正の相関を示すことから、良悪性鑑別のみならず、病勢診断までもが可能になりつつある(Ginat, *et al. Radiographics* 2009)。また、最近では腫瘍性病変のみならず、肝硬変や脂肪肝などのびまん性肝疾患の非侵襲的評価法としても応用されはじめている(Cohen, *et al. J Clin Gastroenterol* 2010)。

超音波検査の非侵襲性や経済性を鑑みると、客観的病態診断が超音波検査で可能となるこうした革新的診断技法の伴侶動物臨床への応用を検討することは、まさに国民の要求に合致しており、前述の超音波検査の課題の克服につながるため、それを目的とした研究を行うことの意義は極めて大きい。

申請者は近年、その可能性を実現するべく、ソナゾイドを用いた造影超音波検査の獣医臨床応用に向けた研究にいち早く着手し、犬の肝臓におけるソナゾイド造影超音波検査法を確立するとともに、本法が高い診断精度で肝臓腫瘍の良悪性鑑別に有用であることを世界に先駆けて報告した(Nakamura and Takiguchi, *et al. Vet Radiol Ultrasound* 2010)。また、結節性病変が

よくみられる犬の脾臓に着目し、ソナゾイドが犬の脾臓に取り込まれることを示したうえで、犬の脾臓におけるソナゾイド造影超音波検査法を確立し(Nakamura and Takiguchi, *et al. Vet Radiol Ultrasound* 2009)、本法が犬の脾臓の結節性病変の鑑別診断にも極めて有用であることを示した(Nakamura and Takiguchi, *et al. J Vet Intern Med*, 2010)。

2. 研究の目的

高次画像診断の究極の到達目標は、病理診断なしで画像情報のみから確定診断を下すことである。獣医学領域においては、検査費用の問題や全身麻酔の必要性から、経済性、安全性および利便性において超音波検査の方が CT や MRI よりも優れている。しかしながら、超音波検査は検者の技量によるところが大きく、経験による主観的判断に頼らざるを得ない欠点を有する。また、病変の検出率は高いが確定診断には至らず、質的診断は困難である。したがって、超音波診断で定性的な病態診断が可能となれば、獣医臨床での有用性は計り知れない。そこで本研究の目的は、伴侶動物における超音波検査による客観的病態診断の確立に向けた基盤を形成し、その臨床応用の進展を検討することである。

本研究では、以下の5つの具体的目標を掲げて取り組む。

- (1)ソナゾイド造影超音波検査による犬の腫瘍の血管構築ならびに血行動態解析
- (2)犬の肝細胞がんにおけるソナゾイド造影超音波所見による分化度診断
- (3)慢性肝疾患におけるソナゾイド造影超音波検査による門脈高血圧の非侵襲的評価
- (4)肝臓、脾臓以外の臓器へのソナゾイド造影超音波検査の適応の拡大

様々な臓器における腫瘍の血流情報を集積するとともに、消化管疾患、膵胆疾患、泌尿生殖器疾患、甲状腺疾患に本法を応用し、適応拡大をはかる。特に临床上重要な疾患である急性膵炎については実験モデルを作成し、新たな診断法の開発に取り組む。

- (5)組織弾性イメージングの獣医臨床応用の可能性の検討

様々な腫瘍組織の硬度と悪性度の関係を検討するとともに、胆嚢粘液嚢腫の手術適期の決定、ならびに慢性肝炎における肝線維化の指標としての有用性を検討する。

3. 研究の方法

本研究は実験動物を用いた解析と臨床例における検討の大きく2つの領域から構成される。前者については平成23年度にソナゾイド造影超音波検査の臨床応用の適用拡大を目的として、未だに診断が困難な膵炎に着目し、実験的に作出した急性膵炎モデルにおける造影超音波検査所見を解析して膵臓の血流変化に着目した診断基準を確立する。それをもとに平成24年度以降の2年間に膵炎の臨床例での検討を行う。後者については研

究期間を通じてソナゾイド造影超音波検査および組織弾性イメージングの画像情報を集積し、多様な疾患における特徴的な所見を明らかにすることで、最終的に客観的病態診断の確立に向けた基盤を形成する。特に腫瘍性疾患については、良悪性鑑別のみならず分化度判定に役立つ診断基準の確立を目指すとともに、様々な疾患にソナゾイド造影超音波検査ならびに組織弾性イメージングを適用することで、これらの新しい画像診断モダリティの臨床応用の進展をはかる。

4. 研究成果

(1) 実験的急性膵炎モデルを用いたソナゾイド造影超音波検査所見の解析と診断基準の確立

ビーグル犬6頭を用い、セルレインを持続静脈内投与することで浮腫性膵炎を誘発した。右腎頭側の膵臓右葉に関心領域を設定し、ソナゾイド0.01ml/kg 静脈内投与後のエコー輝度の変化を経時的に記録し、Time intensity curve を作成した。コントロールには同一個体の生理食塩水を投与して得られたTime intensity curve を用いた。

ソナゾイドのボラス投与では膵臓の至適観察時間が16秒と短かったため(図1)、ソナゾイドを0.05 ml/kg で持続点滴することで観察時間を150秒に大幅に延長させる膵臓造影超音波検査法を確立した(図2)。

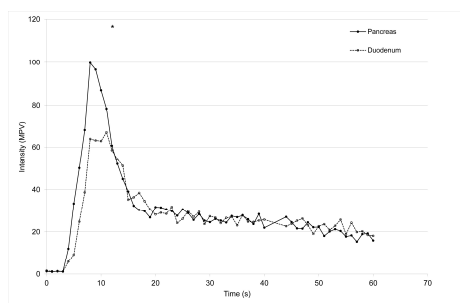


図1. ソナゾイド0.01 ml/kg 静脈内ボラス投与時の膵臓および十二指腸の時間輝度曲線

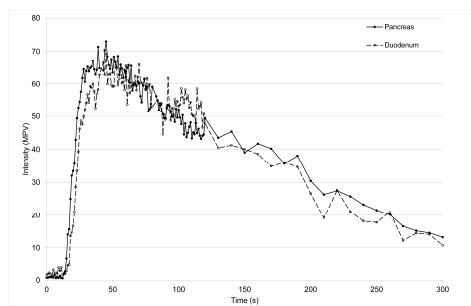


図2. ソナゾイド0.05 ml/kg 静脈内持続点滴投与時の膵臓および十二指腸の時間輝度曲線

また、セルレイン誘発浮腫性膵炎では膵実質のエコー輝度のピークに達するまでの時

間短縮し、最高輝度が上昇することを明らかにした(図3)。

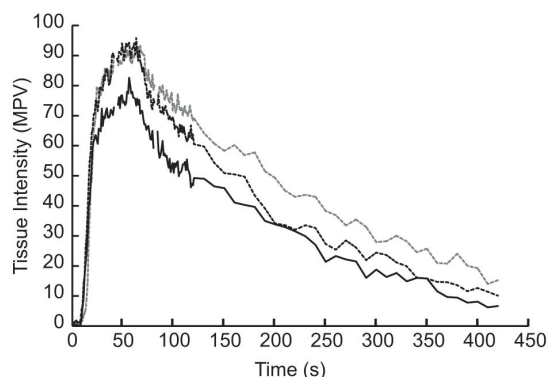


図3. 急性膵炎誘発前後の膵臓の時間輝度曲線
誘発前(黒実線)にくらべ誘発後2時間(黒点線)および4時間(灰色点線)では最高輝度が上昇し、造影持続時間の延長が認められた。

これまで犬の膵臓の造影超音波検査に関する報告は皆無であり、本研究は造影超音波検査を犬の膵臓の評価に応用したはじめての研究である。本研究成果によって、犬の膵臓の造影超音波検査法が確立され、実験的に作出した浮腫性膵炎における膵臓の灌流状態の変化の特徴が明らかとなったことは、今後の臨床例での解析に向けてその礎を築いた点でその意義は大きい。事実、現在、臨床例での解析に取り組んでいる最中であるが、実験例での結果が臨床例においても確認され、国際学術誌へ投稿中である。

(2) 左心房機能に着目した心エコー図検査による新たな心機能評価法の確立

2Dスペックルトラッキング法を用いて正常犬の左心房面積の時相による変化を解析し、正常値を確立するとともに、本手法の再現性を明らかにした。今後は本法を臨床例に応用し、心不全の新たな予後因子の確立を目指す。

(3) 脾臓腫瘍性病変の造影超音波所見の機械学習による良悪性自動判別法の開発

犬の脾臓腫瘍性病変の造影超音波検査における時間輝度曲線を機械学習を用いて解析し、鑑別に有用な時間は造影剤到達から8秒間であることを明らかにした。これをもとに脾臓腫瘍性病変の良悪性自動判別法を開発し、正診率は91.7%であった。本法は特許申請にいたった。

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 5件)

Sasaki N, Kudo N, Nakamura K, Lim SY, Murakami M, Bandula Kumara WR, Tamura Y,

Ohta H, Yamasaki M, Takiguchi M.
Ultrasound image-guided therapy enhances
antitumor effect of cisplatin. J Med Ultrasonics,
査読有, 41, 2014, 11-21.

DOI: 10.1007/s10396-013-0475-y

Lim SY, Nakamura K, Morishita K, Sasaki N,
Murakami M, Osuga T, Ohta H, Yamasaki M,
Takiguchi M. Qualitative and quantitative
contrast-enhanced ultrasonographic assessment
of cerulean-induced acute pancreatitis in dogs.
J Vet Intern Med, 査読有, 28, 2014, 469-503.

DOI: 10.1111/jvim.12319

Lim SY, Nakamura K, Morishita K, Sasaki N,
Murakami M, Osuga T, Ohta H, Yamasaki M,
Takiguchi M. Qualitative and quantitative
contrast enhanced ultrasonography of the
pancreas using bolus injection and continuous
infusion methods in normal dogs. J Vet Med
Sci 75, 査読有, 2013, 1601-1607.

DOI: 10.1292/jvms.13-0199

Osuga T, Nakamura K, Lim SY, Tamura Y,
Rajapakshage BKW, Murakami M, Sasaki N,
Morishita K, Ohta H, Yamasaki M, Takiguchi
M. Repeatability and reproducibility of
measurements obtained via two-dimensional
speckle tracking echocardiography of the left
atrium and time-left atrial area curve analysis
in healthy dogs. Am J Vet Res, 査読有, Vol.
74, 2013, 864-869.

Sasaki N, Kudo N, Nakamura K, Lim SY,
Murakami M, Bandula Kumara WR, Tamura
Y, Ohta H, Yamasaki M, Takiguchi M.

Activation of microbubbles by short-pulsed
ultrasound enhances the cytotoxic effect of
cisdiamminedichloroplatinum (II) in a canine
thyroid adenocarcinoma cell line in vitro.
Ultrasound Med Biol, 査読有, Vol. 38, 2012,
109-118.

DOI:10.1016/j.ultrasmedbio.2011.09.017

[学会発表](計 6件)

Lim SY, Nakamura K, Morishita K, Suzuki S,
Ohta H, Yamasaki M, Takiguchi M.

Quantitative contrast-enhanced
ultrasonographic assessment of naturally
occurring pancreatitis in dogs. 2014 ACVIM
Forum, 2014.6.4-6.7, Gaylord Opryland
Resort and Convention Center (Nashville,
USA)

Lim SY, Nakamura K, Morishita K, Ohta H,
Suzuki S, Yamasaki M, Takiguchi M.

Quantitative contrast-enhanced
ultrasonographic assessment of naturally
occurring pancreatitis in dogs. JCVIM Forum,
2014.2.7-2.9, パシフィコ横浜 (横浜市)
Lim SY, Nakamura K, Morishita K, Sasaki N,
Murakami M, Osuga T, Ohta H, Yamasaki M,
Takiguchi M. Qualitative and quantitative
contrast enhanced ultrasonographic
assessment of cerulein-induced pancreatitis in

dogs. 2013 ACVIM Forum, 2013.6.12-6.15,
Washington State Convention Center (Seattle,
USA)

Lim SY, Nakamura K, Morishita K, Ohta H,
Yamasaki M, Takiguchi M. Qualitative and
quantitative contrast enhanced
ultrasonographic assessment of cerulein-
induced pancreatitis in dogs. JCVIM Forum,
2013.2.22-2.24, パシフィコ横浜 (横浜市)
中村健介, 高木一也, 近藤敏志, 滝口満喜.
ソナゾイド造影超音波検査と機械学習を
組み合わせた脾臓腫瘍の自動良悪性鑑別
の試み. 日本獣医画像診断学会 2012年
9月16日, 岩手大学(盛岡市)

Lim SY, Nakamura K, Ohta H, Yamasaki M,
Takiguchi M. Quantitative comparison of
bolus versus continuous infusion contrast
enhanced ultrasonography of pancreas in
normal dogs. 2012 International veterinary
radiology association meeting, 2012.8.26-8.31,
Almira Hotel (Bursa, Turkey)

[図書](計 0件)

[産業財産権]
出願状況(計 1件)

名称: 医用データ処理装置、医用データ処理
方法、及び超音波診断装置
発明者: 高木一也、滝口満喜、中村健介
権利者: パナソニック株式会社
種類: 特許
番号: PCT/JP2013/004697
出願年月日: 2013年8月2日
国内外の別: 国際出願

取得状況(計 0件)

[その他]
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

滝口 満喜 (TAKIGUCHI, Mitsuyoshi)
北海道大学・大学院獣医学研究科・教授
研究者番号: 70261336

(2) 研究分担者

山崎 真大 (YAMASAKI, Masahiro)
北海道大学・大学院獣医学研究科・准教授
研究者番号: 40322846

大田 寛 (OHTA, Hiroshi)
北海道大学・大学院獣医学研究科・助教
研究者番号: 50431333

(3) 連携研究者 なし