

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 5 月 22 日現在

機関番号：82406

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2012～2014

課題番号：24592418

研究課題名(和文) 前立腺癌手術における的確な神経温存のための光音響画像化技術の有用性の検証

研究課題名(英文) Development of photoacoustic imaging system for improved real-time visualization of neurovascular bundle during radical prostatectomy

研究代表者

堀口 明男 (Horiguchi, Akio)

防衛医科大学校(医学教育部医学科進学課程及び専門課程、動物実験施設、共同利用研究・病院・講師)

研究者番号：20286553

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,000,000円

研究成果の概要(和文)：男性の勃起神経は前立腺周囲に微小血管と共在し、神経血管束を形成する。光音響画像は超音波断層法と同様の手法で、造影剤を使用することなく高コントラストに微細血管内のヘモグロビンの画像化が可能なモダリティである。世界初となるオリジナルの光音響リニアプローベ、光音響経直腸プローベを開発した。前立腺摘出標本をリニアプローベで観察したところ、前立腺後外側に強いシグナルが認められた。さらに、前立腺全摘術中に経直腸プローベにより術中にモニタリングを行ったところ、神経血管束と同一部位に強いシグナルが認められた。光音響画像による神経血管束内の微小血管をランドマークとしたイメージングの有用性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：Photoacoustic imaging (PAI) enables one to visualize the distribution of hemoglobin and acquire a map of microvessels without using contrast agents. We developed an imaging system equipped with a conventional linear PAI probe and a transrectal ultrasound (TRUS) type of PAI probe and examined whether PAI helps visualize periprostatic microvessels and improves visualization of the neurovascular bundle (NVB) during radical prostatectomy (RP). The images of periprostatic tissues from RP specimens showed substantial signals especially strong on the posterolateral surface of the prostate. Periprostatic tissues monitored intraoperatively also showed strong signals on the posterolateral surface of the prostate and clearly demonstrated the location and extent of the NVB better than does TRUS alone, suggesting that PAI could be an imaging modality useful in nerve-sparing RP.

研究分野：腫瘍学

キーワード：前立腺癌 神経温存 光音響画像 画像診断

### 1. 研究開始当初の背景

根治的前立腺摘除術は限局性前立腺癌に対する最も有効な治療法のひとつであるが、勃起神経のネットワーク(神経血管束)が前立腺に密接しているため、術中の神経損傷が不可避である。これまで神経血管束は前立腺後外側の限られた部位にのみ存在すると考えられてきた。しかし、fresh cadaver による詳細な検討や拡大視野下で行うロボット支援手術の開発により、勃起神経は前立腺全周を取り囲んでいること、そして神経分布や厚みには個体差が極めて大きいことが判明した<sup>(1, 2)</sup>。癌の局在、神経分布に関する詳細な情報を術前および術中にリアルタイムに得ることができれば、個々の症例で神経温存の可否や温存範囲をテーラーメイドに設定することが可能で、制癌効果を損なわずに最大限性機能を温存できる。現状では神経血管束の詳細かつリアルタイムなモニタリングが可能な画像モダリティは存在しない。より精度の高い神経温存のための、新たな画像モダリティの開発が待たれている。

光音響イメージングは、光と超音波のハイブリッドモダリティであり、超音波断層法と同様の手法で造影剤を使用すること無く、高コントラストにヘモグロビンを描出し、微小血管網の3D画像化が可能である。しかし、医療機器は世界で未だ発売されておらず、早期実用化が待たれる。我々は本研究開始前に開発した光音響画像実験機により、数百 $\mu\text{m}$ レベルの微細な血管の描出が可能であること示した。

### 2. 研究の目的

神経血管束は微細な血管と神経の複合体であることから、理論的に神経に伴走する血管をランドマークとして神経血管束を同定することが可能である。光音響画像化技術の高い血管解像度の利点を生かした、神経温存前立腺全摘術の術中モニタリングに有用な画像モダリティを開発することを目標に研究を行った。

### 3. 研究の方法

富士フィルムとの共同研究により、手術室へ移動可能な小型で、実臨床で用いられている超音波プローベと同一形状の光音響リニアプローベ、ならびに光音響経直腸用プローベを開発した(図1)。リニアプローベの中心周波数は8 MHzである。レーザーの使用波長は756 nm、フルエンスは8  $\text{mJ}/\text{cm}^2$ の条件で取得した。経直腸プローベは中心周波数が6 MHzである。画像取得時の使用波長は756 nm、フルエンスは11  $\text{mJ}/\text{cm}^2$ の条件で取得した。

はじめに限局性前立腺癌の診断で前立腺全摘除術を行った症例のうち、両側の神経血管束を合併切除した16例の全摘標本を摘出直後にホルマリン未固定のまま、光音響リニアプローベを用いてメカニカルステージで走査しながら、もしくは用手下に前立腺周囲

組織の観察を行った(図2)。撮像可能な範囲の深さや幅を確認しながら、神経血管束内の微小血管の光音響シグナルを観察した。神経血管束に相当する前立腺周囲組織内の光音響シグナルと実際の微小血管分布の整合性、および神経線維との局在の関連を確認するために、摘除標本のホルマリン包埋切片を用いて、抗CD31抗体(血管内皮の同定目的)と抗S100抗体(神経細胞の同定目的)による二重免疫組織染色を行った。次に8例の前立腺癌患者を対象に、実際の恥骨後式根治的前立腺摘除の術中にリニアプローベを用いて術野から経腹的な神経血管束の観察と光音響画像の取得、そして経直腸用プローベを用いて神経血管束を中心とした前立腺周囲組織の光音響画像の取得をおこなった。すべての研究は防衛医科大学校倫理委員会の承認を得て行った(研究課題名 前立腺周囲神経血管分布診断における光音響診断の有用性検証、平成23年10月23日承認、研究課題名 光音響診断画像による前立腺周囲神経血管の術中モニタリングの有用性検証、平成24年8月9日承認)。



図1: 開発した光音響リニアプローベ(上)と経直腸プローベ(下)

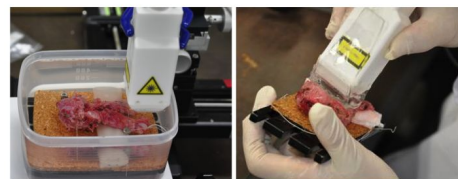


図2: メカニカルステージによる測定(左)と用手下の測定(右)

### 4. 研究成果

生理食塩水中に糸で固定した摘出直後の前立腺にプローベ側面から光を照射し、発生した光音響波を検出した。前立腺横断面の代表的な光音響と超音波の融合画像を図3左に示す。得られた画像は光音響画像信号を赤で、超音波画像を白黒画像で示した。前立腺全周にわたって光音響シグナルが認められ、神経血管束が豊富に分布する前立腺後外側に特に強いシグナルが認められた(図3左、点線、実線内)。深さ20mm程度までの信号を検知す

ることができた。シグナル強度に差はあったが、検討した 16 例全てにおいて前立腺周囲に光音響シグナルが認められた。図 3 左の前立腺横断面と同一割面における血管内皮、神経細胞の発現を抗 CD31、抗 S100 抗体二重染色にて検出した（図 3 右、血管内皮は赤、神経線維は緑）。これまでの知見と同様に、血管密度の高い部位には神経細胞も多く局在していることが確認された。実線と点線はそれぞれ同一部位の光音響シグナルと二重染色像を示している。光音響シグナルが強く認められた実線と点線内のシグナル分布は、血管内皮染色像における血管密度に相同した。前立腺周囲の微小血管分布と光音響シグナルの分布には整合性が認められ、光音響画像が正確に微小血管の局在を描出していることが示された。

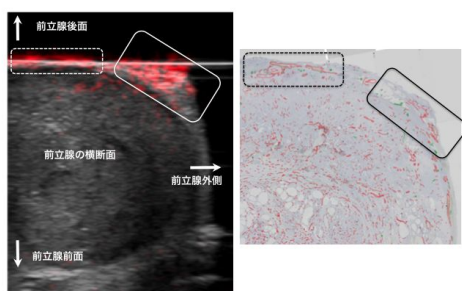


図 3: 神経血管束の光音響画像所見(左)と同断面における血管内皮と神経細胞の共在(右)(前立腺摘除標本での観察)

次に、恥骨後式根治的前立腺全摘除の術中に、膀胱頸部から前立腺周囲を露出し、光音響リニアプローベで神経血管束に相当する部位の観察を行った(図 4)。前立腺側面から膀胱頸部にかけては神経血管束が密集しており、リニアプローベによる観察で、同部位に強い光音響シグナルが観察された。術野への出歯によるアーチファクトは軽微であった。



図 4: 光音響リニアプローベによる前立腺周囲組織の撮像

経腹的なりニアプローベによる観察の後に、経直腸プローベを用いて神経血管束の観察を行った。前立腺の横断面で、前立腺尖部から膀胱頸部までの連続した断面で撮像した。プローベ直上の直腸粘膜下、そして摘除標本における所見と同様に、前立腺後外側を中心に強い光音響シグナルが観察された(図 5)。シグナル強度や分布に差は見られたが、全ての症例で光音響シグナルが観察された。

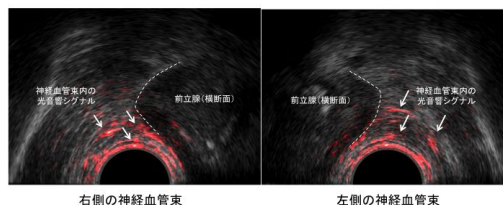


図 4: 光音響経直腸プローベによる神経血管束の術中画像所見

#### < 引用文献 >

- [1] Tewari A, Takenaka A, Mtui E et al. The proximal neurovascular plate and the tri-zonal neural architecture around the prostate gland: importance in the athermal robotic technique of nerve-sparing prostatectomy. *BJU Int.* 2006; **98**: 314-23.
- [2] Takenaka A, Leung RA, Fujisawa M, Tewari AK. Anatomy of autonomic nerve component in the male pelvis: the new concept from a perspective for robotic nerve sparing radical prostatectomy. *World J Urol.* 2006; **24**: 136-43.

#### 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 2 件)

1. 堀口明男, 浅野友彦. 前立腺癌に対する光音響イメージングを用いた局在診断の可能性(査読なし). *日本レーザー医学会誌.* 2013; **34**: 19-23
2. Ishihara M, Tsujita K, Horiguchi A, Irisawa K, Komatsu T, Ayaori M, Hirasawa T, Kasamatsu T, Hirota K, Tsuda H, Ikekawaki K, Asano T. Development of photoacoustic imaging technology overlaid on ultrasound imaging and its clinical applications(査読あり). *Proceeding of SPIE 2015*, 9323, 93232K1-7.

[学会発表](計 2 件)

1. Horiguchi A, Tsujita K, Irisawa K, Kasamatsu T, Kawaguchi M, Ito K, Asano T, Tsuda H, Ishihara M. Development of photoacoustic imaging system for improved real-time visualization of neurovascular bundle during radical prostatectomy. Annual Meeting of American Urological Association. 2014.5.17. Orland.

2. 堀口明男、辻田和宏、川口真、伊藤敬一、  
浅野友彦、石原美弥. 第27回日本泌尿器  
内視鏡学会総会 (特別企画) 未来の  
名匠を発掘する. 根治的前立腺全摘術に  
おける的確な神経温存のための超音響画  
像化技術の有用性. 2013.11.8. 愛知県名  
古屋市

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕

出願状況(計0件)

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

堀口 明男 (HORIGUCHI, Akio)

防衛医科大学校・泌尿器科学講座・講師

研究者番号: 20286553

### (2) 研究分担者

石原 美弥 (ISHIHARA, Miya)

防衛医科大学校・医用工学講座・教授

研究者番号: 30505342

浅野 友彦 (ASANO, Tomohiko)

防衛医科大学校・泌尿器科学講座・教授

研究者番号: 40167226

平沢 壮 (HIRASAWA, Takeshi)

防衛医科大学校・医用工学講座・助教

研究者番号: 60583086

### (3) 研究協力者

辻田 和宏 (TSUJITA, Kazuhiro)