

平成 30 年 6 月 22 日現在

機関番号：15401

研究種目：基盤研究(A) (一般)

研究期間：2013～2017

課題番号：25249050

研究課題名(和文) 腫瘍の血管新生密度分布計測技術の研究

研究課題名(英文) Research on the measurement technology of breast tumor angiogenesis

研究代表者

吉川 公麿(Kikkawa, Takamaro)

広島大学・ナノデバイス・バイオ融合科学研究所・特任教授

研究者番号：60304458

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 34,300,000円

研究成果の概要(和文)：悪性腫瘍の転移及び浸潤の過程に生じる血管新生の密度分布を病理学的及び電磁気学的に計測する技術を開発した。具体的には、患者から摘出された乳腺腫瘍の血管新生の病理学的な密度分布を計測した。乳腺腫瘍組織の複素インピーダンスを測定するシステムを開発し、血管新生部位を含む悪性腫瘍の複素誘電率を計測し、誘電率と癌細胞の体積分率の相関を示した。腫瘍血管新生密度分布をインパルス電磁波形の解析から特定する測定システム用CMOS回路を開発した。

研究成果の概要(英文)：A measurement technology for the distribution of angiogenesis, which is spread by metastasis or infiltration of a malignant tumor, was developed with respect to pathology and electromagnetism. In particular, the angiogenesis distributions in the excised breast tumor tissues from patients were measured at the histopathology suite. A measurement system for the complex impedance of the malignant tumor angiogenesis region was developed and the complex permittivity was measured. The correlation between the complex permittivity and the volume fraction of the cancer cells was measured. The CMOS circuits for the measurement system by the use of impulse electromagnetic waves were developed for the measurement of the distribution of angiogenesis.

研究分野：電子工学

キーワード：乳腺腫瘍 血管新生 複素誘電率 免疫染色 乳がん 計測システム CMOS 回路

1. 研究開始当初の背景

悪性腫瘍の転移及び浸潤の過程は血管新生を伴って起こると考えられている。しかし、腫瘍や血管新生の病理学的知見と電磁気学的機能の関係については解明されていない。

一方、悪性腫瘍と正常組織を比較すると、誘電率と導電率に最大 5 倍程度の差があり、その組織界面で電磁波は散乱されるため、レーダーの原理で誘電率・導電率の分布を特定できる可能性がある。

2. 研究の目的

本研究の目的は悪性腫瘍の転移及び浸潤の過程に生じる血管新生の密度分布を電磁気学的に計測する技術を開発することである。

3. 研究の方法

研究の方法は以下の 3 つの手順で行う。

- ① 広島大学病院腫瘍外科で乳がん患者から摘出された乳腺腫瘍の血管新生の密度分布を計測する。
- ② 乳腺腫瘍組織の複素インピーダンス測定システムを開発し、悪性腫瘍血管新生部位の複素誘電率を計測する。
- ③ 腫瘍血管新生密度分布をインパルス電磁波形の解析から特定する UWB-CMOS 回路を開発する。

4. 研究成果

① 血管新生密度分布計測

広島大学病院腫瘍外科で患者から摘出された乳腺腫瘍組織の薄片を作成し、血管新生を識別するために、CD31、D2-40、Factor-VIII で染色した。乳腺腫瘍組織の中で癌細胞と正常細胞を見分けるために、ヘマトキシリン・エオジン (Hematoxylin Eosin : HE) 染色も行った。染色後のサンプルの血管新生密度分布を広島大学病院病理診断科において、顕微鏡下で観察し、撮影した写真を画像解析して計測した。

HE 染色はヘマトキシリンの酸化により生じたヘマテインが、負に帯電した細胞核と結合する。エオジンは酸性色素であり、正に帯電している細胞質や間質組織と結合する。

CD31 抗原 (cluster of differentiation 31) は PECAM-1 (Platelet endothelial cell adhesion molecule) 血小板内皮細胞接着分子と呼ばれ、血管内皮細胞間の接着部位に集積発現する。

D2-40 抗体 (抗原名 M2A) Podoplanin, Lymphatic endothelial marker はリンパ管内皮細胞マーカーで、抗ポドプラニン抗体は血管からリンパ管を見分けるために用いられる。

Factor-VIII は血液凝固タンパクで、血管内皮細胞に特異的な factor VIII related antigen に対するモノクローナル抗体を用いて免疫組織化学染色を行い、新生血管の分布を計測する。

乳腺腫瘍は病理組織学的には DCIS (ductal carcinoma in situ) と IDC (invasive ductal

carcinoma) に分けられる。さらに形態学的分類として、IDC の代表的な症例には、Papillotubular ductal carcinoma, Solid-tubular ductal carcinoma, Scirrhus carcinoma の 3 つがある。

図 1 に乳腺腫瘍の形態学的サブタイプである Solidtubular carcinoma の免疫染色写真を示す。(a)HE 染色、(b)CD-31 染色、(c)D2-40 染色をそれぞれ示す。この結果から、CD-31 染色が D2-40 染色より、血管分布をより鮮明に示すことがわかった。

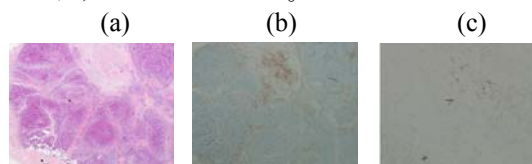


図 1. 乳腺腫瘍 Solid-tubular carcinoma の染色写真. (a)HE 染色. (b)CD-31 染色. (c)D2-40 染色.

図 2 に乳腺腫瘍の形態学的サブタイプである DCIS の免疫染色写真を示す。(a)HE 染色、(b)CD-31 染色、(c)FactorVIII 染色をそれぞれ示す。この結果から、FactorVIII 染色が CD-31 染色より、血管分布をより鮮明に示すことがわかった。

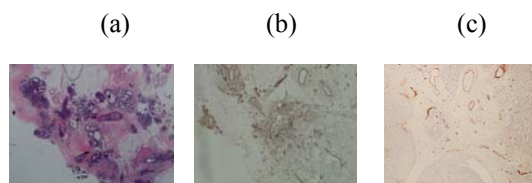


図 2. 乳腺腫瘍 DCIS の染色写真. (a)HE 染色. (b)CD-31 染色. (c)FactorVIII 染色.

以上の結果より、乳腺腫瘍の血管新生分布を解析するには FactorVIII 染色が適していることが分かった。以後、FactorVIII について考察する。

図 3 (a) は図 2 (c) の顕微鏡写真をコンピュータで画像解析し、血管部分だけ抽出したものである。(b) は乳腺腫瘍サンプルの誘電率と乳癌細胞の体積分率を表している。

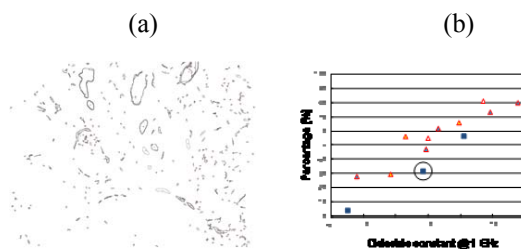


図 3. (a) 顕微鏡写真をコンピュータで画像解析し血管部分だけ抽出. (b) 腫瘍組織サンプルの誘電率と乳がん細胞の体積分率.

② 乳腺腫瘍組織の複素誘電率測定

広島大学病院腫瘍外科で乳がん患者から摘出された乳腺腫瘍組織は病理診断科で病理医により切開され診断された後、下図に示す複素インピーダンス測定装置で、腫瘍領域、正常乳腺領域、脂肪領域の複素インピーダンスを測定した。

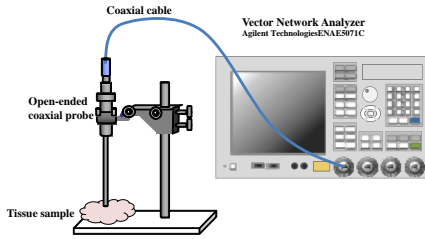


図 4. 複素誘電率計測装置。

測定した乳腺腫瘍の誘電率と乳癌細胞の間質細胞組織に対する体積分率を図 3(b)に示す。グラフの中のシンボルはそれぞれ形態学的サブタイプに対応し、■のシンボルは DCIS を示している。この結果、同じ DCIS でも乳腺腫瘍組織の中で癌細胞と間質細胞及び脂肪細胞の体積分率によって、誘電率が変化することがわかる。すなわち、乳癌といっても、病理学的には癌細胞が多いものと少ないものを区別しないので、電磁気学的には誘電率値は分散することを明らかにした。

③ UWB-CMOS 回路開発

腫瘍血管新生密度分布をインパルス電磁波形の解析から特定する UWB-CMOS 回路はインパルス生成回路、発振回路、位相同期回路、位相選択回路、トラックアンドホールド回路、アナログデジタル変換回路からなる。図 5 に回路ブロック図を示す。

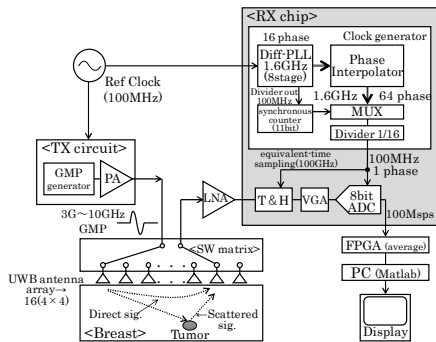


図 5. 乳腺腫瘍・血管新生分布測定用 CMOS 回路ブロック図。

ガウシアンモノサイクルパルス (GMP) をパルス周期 100 MHz で送信回路 (Tx) で発生し、送信アンテナアレイに伝送する。GMP パルス幅は 150-200 ps で、中心周波数は 6-5 GHz である。基準となる同期信号周波数は 100 MHz である。送信された GMP 信号は乳腺腫瘍で反射散乱し RX アンテナで受信する。アンテナアレイの組

み合わせは CMOS スイッチングマトリクスで制御する。乳腺腫瘍の 3 次元位置は、受信信号の遅れ時間 (電波の飛行時間) を計測すると、アンテナを焦点とする楕円軌道上にあることからアンテナアレイの組み合わせで位置画像を合成できる。信号は等価時間サンプリング技術でデジタル化されサンプリングレートは 100 GS/s である。図 6 に微弱な受信信号をトラッキングする回路を示す。図 7 にはそのトラッキング動作特性を示す。

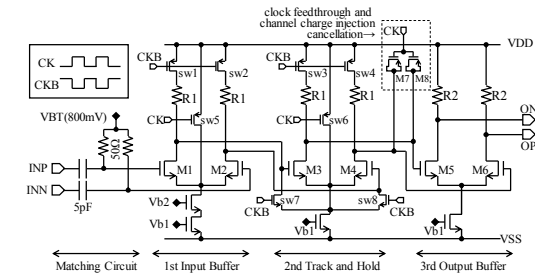


図 6. CMOS 差動トラック・ホールド回路

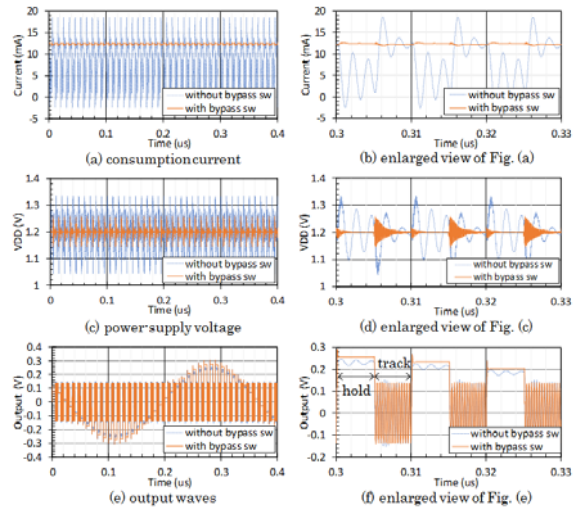


図 7. トラック・ホールド動作. (a) 回路の消費電流. (b) 消費電流の時間揺らぎの拡大図. (c) 電源電圧. (d) 電源電圧の時間揺らぎの拡大図. (e) 出力波形. (f) 出力波形の時間揺らぎの拡大図。

図 6 における CMOS 回路バイパススイッチトランジスタの効果により、電圧、電流、信号の波形の時間揺らぎが抑制されている。

図 8 に高速のインパルス GMP 信号をデジタル化サンプリングするための位相補間・多重変換回路を示す。

差動 8 段のリングオシレータの 1.6GHz 発振信号を 16 位相分割して取り出し、さらに 4 分割に補間して 64 位相でサンプリングする。1/64 (100MHz) のタイミングで入力信号をサンプリングする。出力信号は分周回路で低速化され、13bit カウンタが 128 カウントごとに多重変換回路を制御してスイッチする。測定は 128 回繰り返し平均化してアナログデジタル変換回路に送られる。

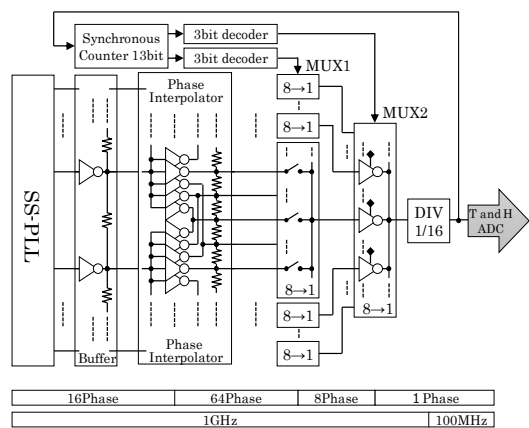


図 8. CMOS 位相補間回路・多重変換回路のブロック図。

図 9 は 65nmCMOS テクノロジーで設計製作した受信用等価時間サンプリング回路のチップを実装した評価基板の写真を示す。

この CMOS-IC は時間領域の信号を処理する回路であるから、性能指標として、ジッターと呼ばれる信号の時間的揺らぎで評価する。周波数 1kHz-10MHz の帯域で積分される平均ジッターは 0.9ps で、帯域内の位相雑音は -119.3dBc/Hz であった。

一方、時間領域のインパルス信号は周波数領域で広い帯域を占有するから、回路がその帯域でインピーダンス整合する必要がある。散乱パラメータ S11 が -10dB 以下の帯域は 1.87GHz-9.47GHz で、超広帯域を満足している。消費電力は 54mW で AD 変換器は 8bit である。

表 1 に示すように、研究期間内に発表された他の研究グループのデータと比較しても消費電力や周波数帯域に技術優位性がみられる。

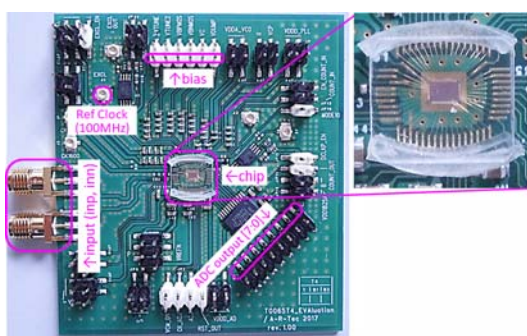


図 9. 65nmCMOS テクノロジーで設計製作した受信用等価時間サンプリング回路のチップを実装した評価基板の写真。

表 1. 開発した受信回路の性能比較

	unit	This work	[17]	[16]	[6]	[15]
Published	year	2017	2017	2013	2013	2012
Process	nm	CMOS-65	CMOS-65	CMOS-65	CMOS-65	CMOS-130
Bandwidth	GHz	1.87-9.47	3-6	1.75-15	1.9-6.5	0-6
Power	mW	54	70	124	125	679
Gain	dB	16-26	—	31	0	0-68
ADC resolution	bit	8	6	Analog	4	12
Application	—	Cancer detection	Indoor localization	Cancer detection	Cancer detection	Vector Signal Analyzer

以上まとめると、本研究開発期間内において、研究目的である悪性腫瘍の転移及び浸潤の過程に生じる血管新生の密度分布を病理学的及び電磁気学的に計測する技術を開発した。具体的には、摘出された乳腺腫瘍の血管新生の病理学的な密度分布を計測した。乳腺腫瘍組織の複素インピーダンス測定するシステムを開発し悪性腫瘍血管新生部位の複素誘電率を計測し、誘電率と癌細胞の体積分率の相関を示した。腫瘍血管新生密度・腫瘍組織の 3 次元位置をインパルス電磁波形の解析から特定するための UWB-CMOS 回路を開発した。特に、等価時間サンプリング回路、アンテナアレイスイッチングマトリクス回路の性能において技術優位性を示した。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 16 件)

[1] (査読有) Afreen Azhari, Yuki Kuwano, Xia Xiao, and Takamaro Kikkawa, "Transmit/receive 3–20 GHz 1.2mW packaged double pole 16 throw switching matrix for radar based target detection," Japanese Journal of Applied Physics 57(1):014101-1-9, January, 2018, DOI: 10.7567/JJAP.57.014101

[2] (査読有) Hang Song, Shinsuke Sasada, Takayuki Kadoya, Morihito Okada, Koji Arihiro, Xia Xiao and Takamaro Kikkawa, "Detectability of Breast Tumor by a Hand-held Impulse-Radar Detector: Performance Evaluation and Pilot Clinical Study, Scientific Reports, volume 7, Article number: 16353, November 27, 2017, pp.1-11. doi:10.1038/s41598-017-16617-6.

[3] (査読有) Hang Song, Afreen Azhari, Xia Xiao, Eiji Suematsu, Hiromasa Watanabe, and Takamaro Kikkawa, "Microwave Imaging Using CMOS Integrated Circuits with Rotating 4 × 4 Antenna Array on a Breast Phantom," International Journal of Antennas and Propagation Volume 2017 (2017), Article ID 6757048, 13 pages.

doi.org/10.1155/2017/6757048

[4] (査読有) 平野拓一, 吉川公麿, 広川二郎, 安藤真, "人体検査用広帯域五角形パッチアンテナ," "Wideband pentagonal patch antenna for body diagnosis" 電子情報通信学会論文誌 C Vol. J99-C No.8 pp.365-372, 2016

- [5] (査読有) Afreen Azhari, Takumi Sugitani, Xia Xiao, and Takamaro Kikkawa, "DC-17-GHz CMOS single-pole-eight-throw switching matrix for radar-based image detection," *Japanese Journal of Applied Physics* 55, 127301-7 (2016) DOI: 10.7567/JJAP.55.127301
- [6] (査読有) Liang Wang, Xia Xiao, Takamaro Kikkawa, "MRI-aided tissues interface characterization: An accurate signal propagation time calculation method for UWB breast tumor imaging," *Applied Surface Science*, Vol.388, 2016, pp 24-34, DOI: 10.1016/j.apsusc.2016.05.135.
- [7] (査読有) Q. Li, X. Xiao, L. Wang, H. Song, H. Kono, P. Liu, H. Lu, and T. Kikkawa, "Direct Extraction of Tumor Response Based on Ensemble Empirical Mode Decomposition for Image Reconstruction of Early Breast Cancer Detection by UWB," *IEEE Transactions on Biomedical Circuits and Systems*, Volume:9, Issue: 5, Page(s):710 – 724, Oct. 2015.
- [8] (査読有) H. Song, H. Kono, Y. Seo, A. Azhari, J. Somei, E. Suematsu, Y. Watarai, T. Ota, H. Watanabe, Y. Hiramatsu, A. Toya, X. Xiao and T. Kikkawa, "A Radar-Based Breast Cancer Detection System Using CMOS Integrated Circuits," *IEEE Access*, Volume:3, Page(s):2111 – 2121, 29 Oct., 2015.
- [9] (査読有) 平野拓一, 吉川公麿, 広川二郎, 安藤真, "人体内部診断用アンテナ設計のための皮膚及び脂肪の電磁界モデリング," "Electromagnetic Modeling of Skin and Fat for Design of Body Diagnostic Antennas," *電子情報通信学会論文誌 C* Vol.J98-C No.12 pp.456-458, 発行日: 2015/12/01
- [10] (査読有) S. Kubota, A. Toya, T. Sugitani, T. Kikkawa, "5-Gb/s and 10-GHz Center frequency Gaussian monocycle pulse transmission using 65-nm logic CMOS with on-chip dipole antenna and high-k interposer," *IEEE Trans. Comp. Package and Manufact. Technol.*, vol. 4, 2014, pp.1193-1200.
- [11] (査読有) T. Sugitani, S. Kubota, A. Toya, X. Xiao, T. Kikkawa, "Three-dimensional confocal imaging for breast cancer detection using CMOS Gaussian monocycle pulse transmitter and 4×4 ultra wideband antenna array with impedance matching layer," *Japanese Journal of Applied Physics* 53 (2014) 04EL03 (9 pages)
- [12] (査読有) T. Sugitani, S. Kubota, S. Kuroki, K. Sogo, K. Arihiro, M. Okada, T. Kadoya, M. Hide, M. Oda, and T. Kikkawa, "Complex permittivities of breast tumor tissues obtained from tumor surgeries," *Applied Physics Letters* 104, 2014, pp. 253702-1-5.
- [13] (査読有) T. Sugitani, S. Kubota, A. Toya, X. Xiao, T. Kikkawa, "Three-dimensional confocal imaging for breast cancer detection using CMOS Gaussian monocycle pulse transmitter and 4×4 ultra wideband antenna array with impedance matching layer," *Japanese Journal of Applied Physics* 53 (2014) 04EL03 (9 pages)
- [14] (査読有) T. Sugitani, S. Kubota, A. Toya, X. Xiao, T. Kikkawa, "A Compact 4×4 Planar UWB Antenna Array for 3-D Breast Cancer Detection", *Antennas and Wireless Propagation Letters*, IEEE Volume: 12, Digital Object Identifier: 10.1109/LAWP.2013.2270933, Publication Year: 2013, Page(s): 733 – 736
- [15] (査読有) L. Xua, X. Xiao., T. Kikkawa, "Ultra-wide band microwave image reconstruction for early breast cancer detection by norm constrained capon beamforming," *Mathematical and Computer Modelling* 58 (2013) 403–408,
- [16] (査読有) L. Xu, X. Xiao, and T. Kikkawa, "Improved beamforming algorithm for imaging reconstruction for early breast cancer detection by UWB," *Journal of Circuits, Systems and Computers*, Volume 22, Issue 10, December 2013, 1340027 (2013) [11 pages].
- [学会発表] (計 37 件)
- [1] (査読有) Akihiro Toya, Yoshihiro Masui, Mitsutoshi Sugawara, Tomoaki Maeda, Masahiro Ono, Yoshitaka Murasaka, Atsushi Iwata, and Takamaro Kikkawa, "Sampling Clock Generation Circuits for Time-domain Breast Cancer Detection System," *Proc. 2017 IEEE Biomedical Circuits and Systems Conference*, October 19-21, 2017, Turin, Italy.
- [2] (査読有) Yoshihiro Masui, Akihiro Toya, Mitsutoshi Sugawara, Tomoaki Maeda, Masahiro Ono, Yoshitaka Murasaka, Atsushi Iwata, and Takamaro Kikkawa, "Differential equivalent time sampling receiver for breast cancer detection," *Proc. 2017 IEEE Biomedical Circuits and Systems Conference*, October 19-21, 2017, Turin, Italy.
- [3] (査読有) H. Song, H. Sato, X. Xiao, T. Kikkawa, "A Portable Breast Cancer Imaging System with Cross-shaped Dome Antenna Array," *Proc. EuCAP*, p. 3486, Paris, France, 19-24 March, 2017.
- [4] (査読有) H. Song, H. Kohno, X. Xiao and T. Kikkawa, "Propagation of Gaussian Monocycle Pulses in Breast Phantoms with Slot Antenna Arrays," *Proc. 10th European Conference on Antennas and Propagation*, p.129, Davos, Switzerland, 10-15 April, 2016,
- [5] (査読有) Hang Song, Yuji Seo, Hikaru Sato, Taiichi Uruma, and Takamaro Kikkawa, "Breast cancer imaging with a dome antenna array using a radar-based Ultra-wideband CMOS detection system," in *Extended Abstract International Solid-State Devices and Materials*, H-4-03, Tsukuba, Japan, Sept. 26-29, 2016.
- [6] (査読有) Hang Song, Hayato Kono, Yuji Seo, Afreen Azhari, Xia Xiao, and Takamaro Kikkawa, "Confocal imaging by turning antennas with CMOS integrated circuits for breast cancer detection," in *Proc. International*

Symposium on Antenna and Propagation, Okinawa, Japan, Oct. 24-28, 2016.

[7] (査読有) H. Song, S. Kubota, X. Xiao and T. Kikkawa, "Design of UWB Antennas for Breast Cancer Detection," in Proc. International Conference on Electromagnetics in Advanced Applications (ICEAA), No. 140, p.321, Session 38, Sept. 22, 2016, Cairns, Australia.

[8] (査読有) Hayato Kono, Takumi Sugitani, Xia Xiao, Katsuhiko Aritome, Ryo Miyake, and Takamaro Kikkawa, "Confocal Imaging of Breast Tumor Phantom Using 3-D-Printed Breast Phantom," 2015 IEEE International Symposium on Antennas and Propagation & USNC/URSI National Radio Science Meeting, 19-24 July 2015, Vancouver, BC, Canada, Page(s):530 - 531.

[9] (査読有) Hang Song, Xia Xiao, Zongjie Wang and T. Kikkawa, "UWB microwave breast cancer detection with MRI-derived 3-D realistic numerical breast model," 2015 IEEE International Symposium on Antennas and Propagation & USNC/URSI National Radio Science Meeting, 19-24 July 2015, Page(s):544 - 545, Vancouver, BC.

[10] (査読有) T. Sugitani, K. Arihiro and T. Kikkawa, "Comparative study on dielectric constants and conductivities of invasive ductal carcinoma tissues," 2015 37th Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society (EMBC) 2015 Pages: 4387 - 4390, 25-29 Aug, 2015, Milano, Italy,

DOI: 10.1109/EMBC.2015.7319367

他 27 件

〔図書〕 (計 0 件)

〔産業財産権〕

○出願状況 (計 15 件)

名称：異常組織検出装置

発明者：吉川公麿他

権利者：広島大学

種類：特許

番号：2017-175803

出願年月日：2017/9/13

国内外の別：国内

○取得状況 (計 4 件)

名称：異常組織検出装置

発明者：吉川公麿他

権利者：広島大学

種類：特許

番号：6198097

取得年月日：2017/9/1

国内外の別：国内

〔その他〕 ホームページ等

6. 研究組織

(1)研究代表者

吉川 公麿 (Kikkawa, Takamaro)

広島大学・ナノデバイス・バイオ融合科学研究所・特任教授

研究者番号：60304458

(2)研究分担者

小出 哲士 (Koide, Tetsushi)

広島大学・ナノデバイス・バイオ融合科学研究所・准教授

研究者番号：30243596

(3) 研究分担者

有廣 光司 (Arihiro, Koji)

広島大学・病院・教授

研究者番号：70232064

(4) 研究分担者

黒木 伸一郎 (Kuroki, Shin-ichiro)

広島大学・ナノデバイス・バイオ融合科学研究所・准教授

研究者番号：70407281