

201015012A

厚生労働科学研究費補助金

医療技術実用化総合研究事業

光超音波マンモグラフィにおける乳がん診断基準の整備と
高機能化のための広帯域 PAT プローブの開発に関する研究

平成22年度 総括研究報告書

研究代表者 戸井 雅和

平成23(2011)年 5月

厚生労働科学研究費補助金

医療技術実用化総合研究事業

光超音波マンモグラフィにおける乳がん診断基準の整備と
高機能化のための広帯域 PAT プローブの開発に関する研究

平成22年度 総括研究報告書

研究代表者

戸井 雅和

京都大学大学院医学研究科外科学講座乳腺外科学教授

研究分担者

椎名 毅

京都大学大学院医学研究科人間健康科学系専攻・生体医工学教授

富樫 かおり

京都大学大学院医学研究科放射線医学講座(画像診断学・核医学)教授

佐藤 亨

京都大学情報学研究所・電磁波計測理論教授

浅尾 恭史

キヤノン(株)総合 R&D 本部・医用イメージング第二開発推進プロジェクト

主幹研究員

研究協力者

金尾 昌太郎

京都大学医学部附属病院放射線部助教

平成23(2011)年 5月

目 次

I. 総括研究報告	
光超音波マンモグラフィにおける乳がん診断基準の整備と 高機能化のための広帯域 PAT プローブの開発に関する研究	----- 1
戸井雅和	

厚生労働科学研究費補助金(医療技術実用化総合研究事業)
統括研究報告書

光超音波マンモグラフィにおける乳がん診断基準の整備と高機能化のための広帯域 PAT
プローブの開発に関する研究

研究代表者 戸井 雅和 京都大学大学院医学研究科 外科学講座 乳腺外科学教授

研究要旨

平成22年度の本研究事業の進捗は次の通りである。①光超音波マンモグラフィ(PAM)の臨床研究を開始し、病理組織との対比を開始した。②広帯域 PAT プローブの1次試作を完了し、課題の抽出を行った。

①は PAM 試作機を完成させ、京都大学病院内に設置した。PAM の臨床研究を開始し、乳がんの光超音波画像を取得した。他のモダリティーとの対比を開始している。また新たに開発した病理組織の定量解析システムを用いて、PAM 像を取得した被験者について、手術後に摘出した病理組織と手術前に得た PAM 像との対比を行い、良好に一致する症例を得た。②は平成21年度に選定した2つのPATプローブの候補技術(Focus transducerを用いた顕微鏡方式とFabry-Perot 型干渉計を用いた光検出方式)について、装置の試作を行った。これを用いてファントムデータの取得、ならびに動物実験を行った。これら実験を通じて課題の抽出を行った。

本テーマは以下の研究グループで推進しているが、研究代表者の戸井のもとに、互いに連携して広帯域 PAT プローブの開発を行っているため、報告書に関しても総括研究報告書と分担研究報告書に分けることなく、すべてを総括研究報告書としてとりまとめて作成した。

戸井 雅和	京大院医学研究科乳腺外科学教授
椎名 毅	京大院医学研究科人間健康科学系専攻・生体医工学教授
富樫 かおり	京大院医学研究科・画像診断学・核医学教授
佐藤 亨	京大院情報学研究科・電磁波計測理論教授
浅尾 恭史	キャン(株)・総合R&D本部・医用イメージング第二開発推進プロジェクト主幹研究員

A. 研究目的

本研究は、文部科学省「先端融合イノベーション事業」(京都大学-キャン協働研究プロジェクト:CKプロジェクト)の1つとして、取り組んでいる「光超音波マンモグラフィ」の臨床現場への適用を迅速かつ効率的に

進める上で必要な、広帯域PATプローブの開発と活用を進めるものである。

乳がん罹患者は全世界で110万人に達し、年々増加傾向にある。日本でも女性のがん罹患の1位は乳がんであるが、日本人の乳がんの好発年齢は40歳代で

あり、欧米よりも若いという特徴がある。乳がん検診ではマンモグラフィが普及してきたが、乳腺密度が高い40歳代では精度が低下し、また、被曝の問題から30歳代には適さないと言われている。

「光超音波マンモグラフィ」(以下 PAM)は、被曝の心配がなく、また乳腺密度の高い若年層の乳がん診断に適する超音波像との同時計測も可能なため、高齢者だけでなく30～40歳代の若年層の乳がん診断に関して飛躍的な精度向上が期待できる。また、形態と機能イメージングの統合を可能とする装置を目指している。これにより例えば腫瘍の新生血管の描出によるがんの超早期診断や、良悪性の鑑別診断、治療効果の正確な評価が可能となることで、適切な治療法選択につながり、患者のQOLの向上や医療費削減などの経済的効果も期待できる。また、簡便さに加え将来の小型化技術の開発により近くの診療所で受診可能になれば、乳がんの早期診断率も飛躍的に向上し、死亡率低下につながる事が予想される。本手法は、造影剤などを必要としないものであるが、さらに将来は分子プローブの開発により、腫瘍特異的に高コントラストなイメージを得られる可能性があり、更なる高精度な診断が期待できる。

PAM は、これまでの基礎研究(J. Biomed. Opt.9, 1129 (2004)等)で、近赤外光の吸収分布から、がん腫瘍の微細血管増殖の状態や組織性状の違いを捉えることで、早期検出に効果的であるとの見通しを得ている。一方で、各病態と光音響像との詳細な関係は解明されてない。このため、PAMの臨床応用を迅速かつ適切に行うために、各病態と光音響像との関係を明らかにして診断基準を整備するとともに、新規診断情報を提供しうる画期的な医療機器としての有効性を明らかにすることを本研究の目的とする。

B. 研究方法

B-1. 概要

PAM 装置については、京都大学-キヤノン協働研

究プロジェクトにおいて、これまで培ってきた高次超音波画像技術と、キヤノンの光イメージング技術を結集して、世界初の高乳房撮影可能なプロトタイプ機を開発し5年以内の医療機器の薬事申請を目指している。平成22年度は計画通り、PAM 試作1号機を用いて、乳がん患者を対象とした臨床研究を開始した。また、この開発を加速するため、先端医療開発特区「イメージングが拓く革新的医療機器創出特区」(研究代表：平岡真寛)にて早期実用化を図るべく開発を推進している。さらに、平成22年度完成予定の経済産業省「先端医療機器開発・臨床研究センター」を拠点とし、臨床研究を進める計画になっている。

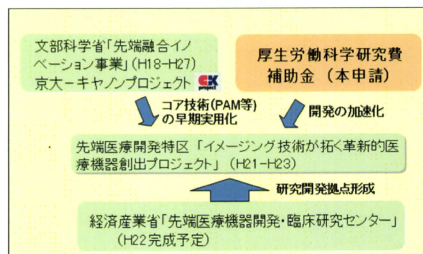


図1 研究スキーム

本研究テーマでは、上記 PAM の実用化を更に加速することを目指して、PAM で得られた画像の臨床的価値を明らかにするための診断基準の整備を行う。その手段として、血管像を詳細に観測するための高解像度 PAT プローブを開発する。

すなわち PAM ではがん部位で血管が集簇している領域が高コントラストとして描出されることを利用して、全乳房範囲でのがんの分布を撮影するため、解像度よりもむしろ十分な診断深度の確保を優先させている。このため現在開発中の PAM 装置単独では空間分解能が不足しており微細血管の詳細な描出には適さない。

そこで本研究では、新生血管など 100 μ m 以下の微

細血管の構造を詳細に捉え、さらにマルチスペクトルの光超音波像を計測できる、広帯域 PAT (Photo Acoustic Tomography)プローブを開発する。このプローブは高解像な像を得るために、PAM 装置よりも高周波帯(例えば数十 MHz)の範囲までの超音波が受信可能なものである。この場合、超音波や光の減衰によって体表から深部を見ることは困難であるが、逆に体表近くは詳細に観察することが可能となる。これにより、浅在性の腫瘍に対しては体表から、あるいは術中に患部近くに当てて計測することを想定すれば、高解像な血管イメージングを行うことが可能となる。この広帯域 PAT プローブにより、詳細な病態と PAM で得られる光超音波像との関係を明らかにすることを計画している。これにより PAM の診断基準の構築と、高機能化に向けて探索的な臨床研究を進め、その早期実用化を図る。

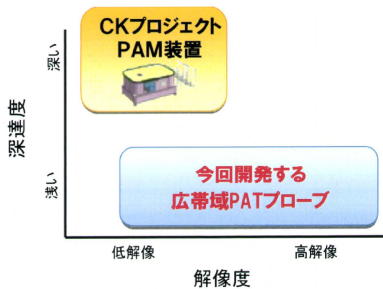


図2 広帯域 PAT プローブの狙い

また本 PAT プローブは詳細な血管像を描出できることから、化学療法等による血管収縮の様子を観測できる。このため、効果的ながん治療に役立てる装置としての臨床応用が期待できる。更に乳腺に限らず、他の診療科に対しても応用できるものと期待できる。

B-2. 研究計画

本研究は下図のロードマップに示すように、

- (1)広帯域PATプローブの開発、
- (2)診断基準の整備、
- (3)マルチスペクトルによる高機能化

の3つの課題について取り組む。(1)は、生体医学を専門とする椎名と、装置開発を担当とするキャンンの浅尾が主として担当する。(2)は、乳腺外科を専門とする戸井による臨床評価を中心に、富樫が画像診断学の立場からMRI、PETのマルチモダリティ解析を行う。(3)は椎名、浅尾に加え、電磁波計測が専門の佐藤が広帯域レーダー技術の応用の視点から加わる。実際には、相互に関連しあうので、研究代表者である戸井の統括のもとに、密接に協力して推進する。

年度	H21年度	H22年度	H23年度
研究課題			
①新規研究課題 広帯域PATプローブの開発	方式の絞り込み	プローブ設計・製作	動物実験 マルチモダリティ解析 (造影との関連解析)
②診断基準の整備		血管壁生の観察 (病理組織学的解析)	診断基準の構築 プローブでの計測値の検証 (動物実験)
③高機能化	マルチスペクトル計測法の開発 (抽出領域での分光解析)	臨床実験での安全特性の解析	造影剤への応用
④臨床での評価		臨床研究 (乳腺/消化器)	評価結果 臨床実用化 (全乳癌計画)
先駆者チームのフォローアップ	フォローアップ		

図3 研究計画のロードマップ

平成21年度は上記ロードマップに準拠して、広帯域 PAT プローブの候補技術の絞り込みと、マルチスペクトル計測法のための開発環境の整備を行った。平成22年度は、各病態の微細血管構造と PAM 像との相関を明らかにして診断基準を構築し、PAM 装置実用化を加速するための研究を推進した。

B-3. 研究の手段

本年度は各病態の微細血管構造と PAM 像との相関を明らかにするために、以下の二つの研究を推進した。

1. 新生血管の病理組織学的解析
2. 広帯域 PAT プローブの開発

一つ目はがんの成長にともなって形成される新生血管の病理組織学的解析であり、摘出がん病理標本での血管像と PAM 像とを対比する研究である。これは現

在の PAM 臨床研究のエビデンス構築の精度向上を狙いとし、病理組織像から得られる血管集簇度の定量解析を推進した。本年度は、昨年度に立ち上げた画像処理による血管密度の定量化をさらに発展させ、広範な領域を短時間で解析するシステムを構築した。

二つ目は冒頭に述べた広帯域 PAT プローブの新規開発である。平成21年度に絞り込んだ二つの候補技術について、本年度は試作を行い、ファントム評価および動物実験を行った。こうした実験により課題を抽出し実用化に向けた構想設計を開始した。

以下、これら研究の手段について詳細に述べる。

[新生血管の病理組織学的解析]

本研究対象とする PAM 装置では、用いる光の波長として、oxy-hemoglobin もしくは deoxy-hemoglobin の吸収が他の組織よりも強い近赤外光を用いているため、生体中の血液のコントラストを得ることができる。つまり、PAM 画像で強信号が得られる部位は、血管が集簇している部位であることが想定される。PAM を実用化するためには、Gold standard である病理解析との対比によってこの想定を実証することが必要である。

一般に病理解析では病理診断に必要な領域をつぶさに目視観測することで確実な診断が実現されている。ところが画像診断結果と対比しようとしたとき、広範囲に撮像される画像と病理の結果とを、従来の病理診断と同様の手法を採用して対比しようすると莫大な時間を要することは明白である。本研究では、画像処理技術を用いて短時間で大量の画像を定量化することを目指し、システムの構築を行った。

使用したソフトは平成21年度に導入し、動物の血管を用いてフィジビリティが検証された画像処理ソフト Image Pro Plus (IPP) を用いた。

手術により摘出した乳がん組織は、通常診療のプロトコールに従ってホルマリン固定されパラフィンブロックとして保存される。このブロックを用いて、京都大学大学院医学研究科附属総合解剖センターにおいて、

血管を染色するための免疫染色を行った。用いた抗体は文献情報を参考にして、CD31, CD34, Nestin, NG2 をピックアップし、事前検討を行った結果、CD31 と CD34 を選択した。その際、標準的な染色条件では画像処理に必要なコントラストが得られなかったことから、濃度を数種類変えて検討を行い、適切なコントラストが得られる免疫染色条件において実験を行った。

免疫染色されたスライドはバーチャルスライドとして電子データとして保存され、それを画像処理により2値化し、定量評価した。評価パラメータは血管の数および面積とした。

血管の数に関して、病理診断士の指導に基づいて手作業でカウントした結果と、IPP によって自動でカウントした結果が正しく対応付けられているかを検証するため、以下の相関を求めた。

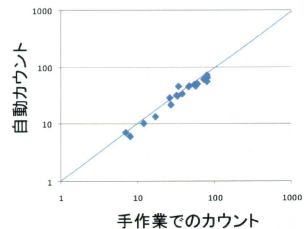


図4 カウント手法の比較

このグラフより求められる決定係数 R^2 は 0.925 であり高い相関を示していた。これによりヒト乳がん組織の免疫染色においても本研究による画像処理によって適切に評価できることが確認された。

この条件を用いて画像の二値化を行うとともに、さらに IPP のマクロ機能を用いた自動解析プログラムを作成した。これにより、画像読取-解析-解析結果の保存を、複数の画像について連続して自動で処理することを可能とした。

従来、1枚のスライド全体の血管数を手作業でカウントするためには1日以上かかっていた。一方、本手法

を用いることによって標準的な市販の事務用パソコン (Dell Inspiron 580s, インテル® Core™ i3-550 プロセッサ (3.20GHz)) であっても約20分程度で処理することが可能となり、大幅な処理時間の短縮を実現することが可能となった。

[広帯域 PAT プローブの新規開発]

上記のとおり病理解析により血管像を求め定量化する一方で、微細血管を *in vivo* でイメージングする手法に関して開発を進めている。これを実現する手段が広帯域 PAT プローブである。これにより PAM 測定結果と微細血管構造との対応関係が非侵襲で測定可能となるため、診断基準の構築に極めて有効な手段となる。

平成21年度では候補となる技術を選定した。平成22年度は前年度の選択結果に基づき、光音響顕微鏡方式 (Photo Acoustic Microscopy: 以下、PA-MS 方式と称する) と、Fabry-Perot 干渉系を超音波センサとして用いた方式 (以下、FP 方式と称する) の2種について同時並行で試作した。

ここでこれらの原理を簡単に述べる。

PA-MS 方式は Washington 大学を中心に研究が進められている方式であり、光音響波を受信する際にフォーカストランスデューサを用いることが特徴である。被験体の広い範囲に光が照射された場合、様々な位置から光音響波が生じるが、その一部分のみ、すなわちフォーカストランスデューサの焦点となる微小な範囲のみ信号を受信するように設定する。これにより微小な領域での光音響信号を得ることが可能となる。また時間軸方向で強度変化の解析を行うことによって、奥行き (Z) 方向に存在する吸収体の分布を知ることができる。こうした光音響波受信を被験体の水平面内 (XY 平面内) において走査しながら測定し、データ保存し、全体を統合して画像化することによって、高解像な三次元光音響像を得る方式である。

FP 方式は図5に表される原理によって超音波受信

を行う。

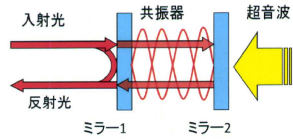


図5 FP方式の原理図

図5に示すとおり、2枚の平行なミラーを構成することによって干渉が生じる共振器が得られる。共振波長はミラー間の距離と用いる波長によって決定される。図6はシミュレーションによって求めたFP方式の特性を示す図である。この図のように干渉条件を満たす膜厚において急峻に反射率が変化する。

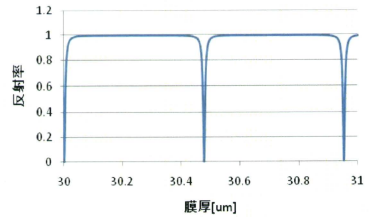


図6 FP方式の特性を示す図

ここで、共振器にパリレンなどの所定の弾性を有する高分子樹脂膜を用いれば、外部からの圧力によって変形が生じる結果、ミラー間の距離を変化させることが可能となる。これを利用すれば、音波の到達による圧力変化に伴って膜厚が変化するため、反射率の変化として検知することが可能となる。例えば、無圧の条件において図6における反射率50%の条件に膜厚を設定しておけば、音波受信によるわずかな膜厚変化を反射率の変化として観測することが可能となる。

反射率を測定する光のスポット径はレンズによって自由に変化させることが可能である。このため、光を絞ることによって微小な領域の圧力変化を検知すること

が可能となるために、簡便な構成で感度を低下させることなく超高精細な二次元アレイと同等の素子を得ることが可能となる。これにより、得られた音波を画像再構成することによって、高精細な三次元超音響画像を得ることが可能となる。

本年度は文献情報を参考にし、第一フェーズ試作機を完成させた。この試作機作成にあたり、論文に記載されていない点については、自ら設計を行った。光学系など、用いる部品は可能なかぎり市販の汎用品を用い、必要に応じて特注の加工を行った。

(倫理面への配慮)

試作した装置を用いてヌードマウスによる動物実験を行った。実験動物の使用は、本研究における課題抽出に必要な最小限の量とした。

ヒトを対象とした PAM 臨床研究や病理組織の解析においては、京都大学の倫理委員会ならびにキヤノン株式会社生命倫理委員会に諮り、倫理的に問題がないことを十分確認した上で検討を行った。

C. 研究結果

C-1. 新生血管の病理組織学的解析

本検討はPAMの探索的臨床研究と並行して行っているものである。現在行っている PAM の探索的臨床研究は平成23年度末まで継続される予定であるので、ここではその結果の一例を紹介する。

図7は PAM で得られた画像と、造影 MRI 画像との対比を行った図である。この症例は、浸潤性乳管癌の患者であり、術前薬物療法が奏功し腫瘍が小さくなる過程において、元々1つであった腫瘍が2つ以上の腫瘍塊に分かれたことが、MRI によって確認されていた症例である。その2ヶ所に分離した腫瘍の場所を図5のMRI像において”a”と”b”とで表している。

その被験者に対して PAM 撮影を行ったところ、PAM においても MRI と同様のスライス面において2ヶ

所に強信号を得ることができた。

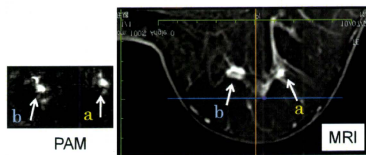


図7 PAM とMRI との対比

この症例について、病理解析によって画像と血管集簇度との対比を行った。図8は病理解析の一連のスキームと、その結果を表したものである。

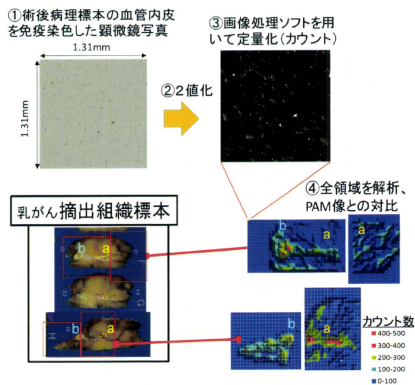


図8 病理解析の具体例

図8の①は CD31にて免疫染色された組織のパーチャルスライド画像の一部である。これについて適切な条件で2値化してカウントしたものが図8③に示す結果の写真である。このように血管部位が抽出され結果が記録される。

この①③で処理した領域は 1.31mm 角の正方形である。病理スライド全体を解析するために、順次データを読み取って自動解析を行った。通常スライド全体では概ね 500~600 画像を処理することになる。こうして

処理されたそれぞれの画像における血管のカウント数を、その数に応じて色分けしてマッピングしたものが図8④に示されたグラフである。ここでは赤色がカウント数の多い箇所、青色が少ない箇所とするように色付けを行った。

このマッピングによると、摘出病理組織の、向かって左と右とにそれぞれ血管集簇の多い箇所が観測された。またこの集簇の多い箇所は通常病理診断において、浸潤性乳管癌と診断された領域と一致していた。これら血管集簇位置や病理診断結果での主要位置にも”a””b”という符号を図中に記載した。これを先の図7と対比してみると、こうした2ヶ所に分かれている様子が画像診断結果とも対応していた。

C-2. 広帯域 PAT プローブの開発

先に述べたとおり、本検討ではPA-MS方式とFP方式とを同時並行で開発を行った。それぞれについて結果を示す。

(PA-MS方式)

PS-MS方式について文献を参照しながら試作を行った。図9がPA-MS方式の構成図である。

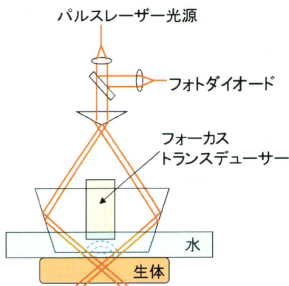


図9 PA-MS方式の構成図

今回の試作機では、ファントムや生体などの測定対

象物を水に浸し、Q-スイッチ YAG レーザー光の2倍波 (532nm)を照射して、発生した光音響信号を50MHzのフォーカストランスデューサーにて受信する構成とした。作製した試作品を図10に示す。

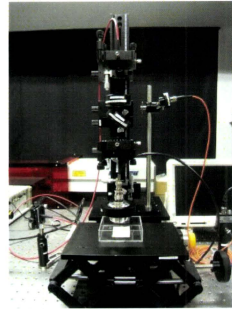


図10 PA-MS方式の試作機

この装置を用いて、分解能評価、ファントム測定、動物実験を行った。それぞれの結果を以下に示す。

[A]分解能チャート:

解像度テスト用ターゲットである USAF 1951 Chart (図11)を用いて、PA-MSの分解能の評価を行った。

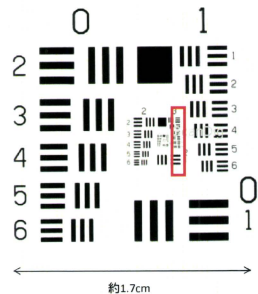
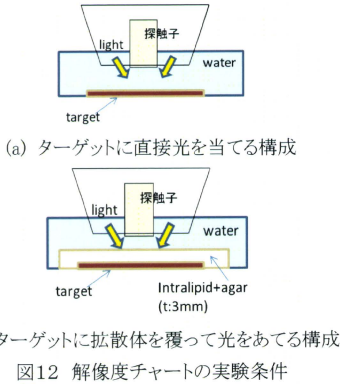


図11 解像度テスト用チャート

ここで、図11において赤色の四角で囲った領域

(Group3 element 1-6)について評価を行った。この測定は図12に示すように2つの条件で実験を行った。まず、ターゲットに直接光を当てて解像度を測定した(図12(a))。次いで、寒天で固めた厚さ3mmの光拡散体をターゲットに覆って測定した(図12(b))。図12(b)は生体を模した条件を想定しており、光拡散体に隠されているために目視ではチャートを視認することができない。



本実験で用いたサンプリングレートは250MHz、X方向の走査として0.01mmピッチで501ステップ、Y方向の走査として0.02mmピッチで31ステップ、の操作を行った。

得られた画像を図13(a), (b)に示す。(a)と(b)の測定条件はそれぞれ図12(a), (b)に示した内容と対応している。この結果を見ると、(a)(b)ともに概ね35ミクロンのラインが分離された画像が得られている。これにより、解像度は35ミクロン以上であるといえる。

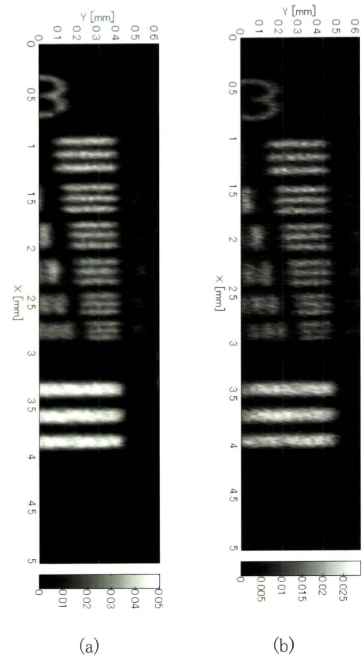


図13 測定結果

なお、図13の(a)(b)間で比較したとき、画像上からは両者の解像度に有意な差が観測されなかった。それに対し、信号強度はスケールバーの数値を見ると、(b)の方が半分程度に落ちている。これは拡散体の影響によりターゲットに到達する光密度が低下したためと考えられる。実際の生体では、光吸収が存在するためさらに強度は低下すると考えられるが、生体を模した拡散体の中においても有意に解像度が低下しないという上記の結果から、実際の生体でも良好な解像度が得られるものと考えられる。

[B]血管ファントム:

内径 0.25mm, 外径 0.76mmのタイゴンチューブ中にヌードマウスの血液を注入し、屈曲させたものをファントムとした。このファントム写真を図14に示す。

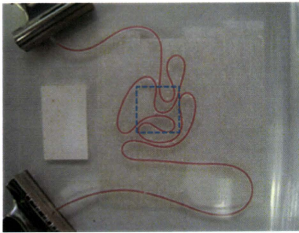


図14 血管ファントム

図14の中で、青い点線で囲った 1cm 角の領域を PA-MS 装置による測定を行った。このときの走査条件は、サンプリングレート500MHz、スキャンピッチは 0.1mm であり、縦横共に100ステップとした。これにより 1cm 角の領域を走査した。

結果を図15に示す。

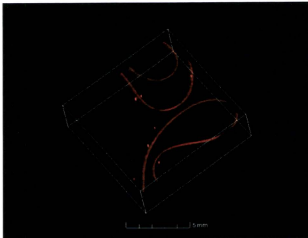


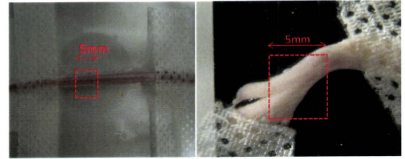
図15 PA-MS による血管ファントム測定結果

この結果のように血液を良好に三次元画像化できることを、動物実験に先立って検証することができた。

[C]動物実験:

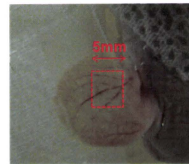
ヌードマウス(BALB/c nu-nu, メス)を炭酸ガスにより安楽死させ、本実験に用いた。測定部位は、(a) 尾、

(b) 後ろ足、(c) 耳、とした。図16に測定部位の写真を示す。



(a) 尾

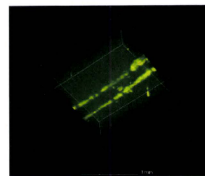
(b) 後ろ足



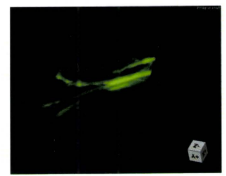
(c) 耳

図16 測定部位の写真

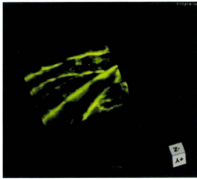
上記部位を PA-MS で画像取得した。このときの走査条件は、(a)においては、サンプリングレート 500MHz、スキャンピッチは 0.1mm であり、縦横共に 50 ステップとし、(b) (c)においては、サンプリングレート 250MHz、スキャンピッチは 0.05mm であり、縦横共に 100 ステップとした。これにより 5mm 角の領域を走査した。測定時間は(a)においては 15 分、(b) (c)においては約1時間であった。こうして得られた像を図17に示す。



(a) 尾



(b) 後ろ足



(c) 耳

図17 PA-MS で得られた光音響像

このように、PA-MS 方式を用いることにより、目視で観察できる皮膚表面の血管を画像化することができた。さらに、目視では視認できない、やや深部に存在する血管についても PA-MS で画像化することが可能であった。

(FP 方式)

この方式は University College London(UCL)の研究グループからの報告例(L.J. Zhang et al., Applied Optics, 48(10), 2009)があるが、本研究で開発する広帯域プローブとして実用化する際の課題を抽出する必要がある。

図18に今回の試作に用いた装置構成図を示す。

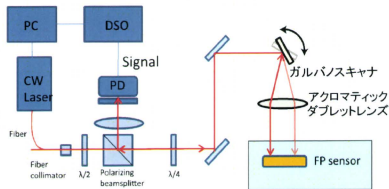
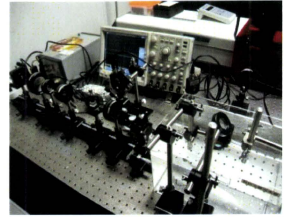
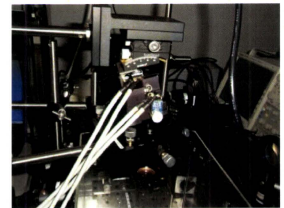


図18 FP 方式の装置構成図

図19に試作した装置の外観を示す。



(a) FP 方式の光学系(ガルバノスキャナを設置していない状態での写真)



(b) 今回の実験に用いたガルバノスキャナ

図19 FP 方式の試作装置外観写真

この試作および画像化を通じて様々な課題が明らかとなってきた。我々が知見を得た代表的な課題について、以下に記載する。

1. 受信膜への異物の混入
2. 受信膜の膜厚分布
3. 測定時間

課題1の異物混入については、平成21年度報告書には「気泡の混入」として記載した。

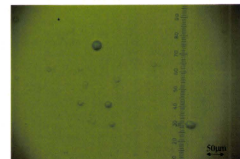


図20 異物を示す写真

この異物について、集束イオンビームによって異物

内部を断面加工し、走査型電子顕微鏡にて分析を行った。その結果、当初予測していた気泡ではなく、この異物はバリレンの微小粒塊であることが明らかとなった。これをもとに発生原因を推察したところ、基板表面に付着した微小なパーティクルが核となり、他の部位とは異なる状態にバリレンが成膜されるために微小粒塊が形成されることが考えられた。

上記異物がある場合、FP特性に対してどのような影響をおよぼすかを調べた。図21はその結果の一例である。なお本検討において微小粒塊の位置を同定するために、別のゴミが付着している部分を目印として、その近傍の微小粒塊の特性を評価した。

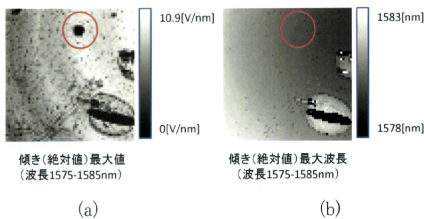


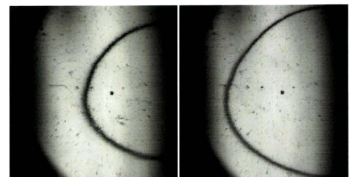
図21 微小粒塊がFP特性に与える影響

図21の写真右下に写っているのはゴミあるいは膜剥がれなどの成膜異常部である。この近傍にある微小粒塊の特性について評価を行った。図21(a)において赤い円で囲った部分に微小粒塊が存在していた。ここで各位置において測定波長を1575nmから1585nmまで掃引し、反射光強度(単位:V)を測定した。この結果を元に、各位置において波長1nmあたりの反射光強度の変化率(単位:V/nm)の最大値を求めた。この最大値をそれぞれの位置で測定し、面内分布として示したものが図21(a)である。赤丸で示した微小粒塊部分は黒くなっている。すなわち波長を掃引しても反射率は大きく変化しないことがわかる。こうした位置では、超音波による圧力を受けても反射率変化も小さいことから、感度が小さいことが予想される。

一方、図21(b)は上記の最大変化量を与える波長の分布を示した図である。この図によると、赤丸の部分は周囲とほぼ同じ値を示し、微小粒塊の部分は周囲と比較しても同一の光路長であることがわかる。この結果から、微小粒塊の影響は感度が低下させるのみであり、最適波長を変化させるものではないことが明らかとなった。

こうした膜を実用する際には、微小粒塊を根絶しておくことが好ましいが、もし残存していた場合にも予めその位置を計測しておき、感度補正を行って使用すればよいと考えられる。

課題2の膜厚分布に関し、現在のプロセスで得られるバリレン膜を用いて特性を測定し現状の把握を行った。直径30mmのFP膜のうち、約17.4mm角の領域について、波長を変化させて反射光強度の分布について観測を行った。結果を図22に示す。



(a) 1582nm (b) 1585nm
図22 FP特性の波長依存性

本来膜厚が完全に一定であれば、膜全体が最適となる波長条件が存在するはずであるが、今回の試作ではそれがわずかに幅1mm以下の帯状になって現れているのみである。そしてこの帯は、(a)から(b)へと波長を大きくすることによって素子外側に向かって移動することから、バリレン膜は素子の外側ほど厚く成膜されていることがわかる。

こうした膜厚分布を有する素子を使いこなすには、それぞれの場所に応じて最適波長を求め、その波長

を用いて測定する必要がある。より好ましくは膜厚が完全に一定になるように成膜することが理想的である。現在はこうした理想的な成膜に向けて、プロセス条件を探索しているところである。

課題3の測定時間に関し、現在の実験では最適波長を求めるための波長掃引および得られたデータをオシロスコープに転送するための時間がかかるため、1cm 角のデータを取得するために現在のところ1時間以上かかっている。これを短縮するためには、波長掃引を極力減らすために膜厚分布を低減させること、データ転送時間を短縮することが必要である。

さらに将来的には現在 UCL グループが進めている点順次のデータ取得方式を脱却し、それをさらに発展させ、二次元面内全体を一括でデータ取得する方法を探索する必要がある。これにより高速な受信が実現できる。UCL グループは CCD カメラを用いた二次元面内一括データ取得システムの論文を報告しているが、単発的な報告にとどまり継続的には報告されていない。こうしたシステムを安定に実現するには、膜厚分布の課題を解決することが非常に重要となると考えられる。

上記のように課題は残存しているものの、現在の装置を用いてデータを取得した。上述したとおり、各位置において最適波長を探索しながら測定したものである。0.3mmのゴムワイヤーをファントムとして使い、画像取得した結果を図23に示す。

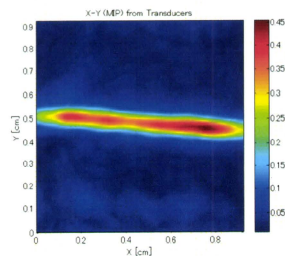
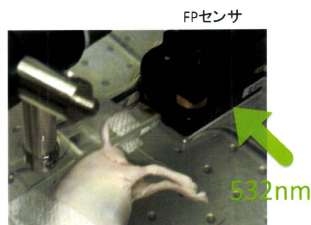


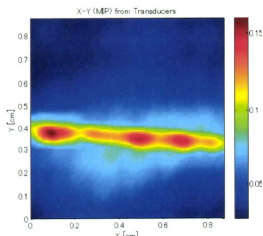
図23 FP方式で得られたファントム像

この結果より、解像度に関しては、図23において半値幅が0.75mm程度となっており、上記のPA-MS方式と比較して大きく劣っている結果となった。これに関して、従来報告されているFP方式はかなり良好な解像度を取得できている。今後光学系の調整を含め、解像度劣化の原因を追求する予定である。

次いで、動物実験を行った。用いた波長は PA-MS方式と同様に 532nm とし、サンプリングレートは100 MHz、スキャン点数は XY ともに51点、スキャンピッチは 0.174mm とした。結果を図24に示す。



(a) 動物実験の様子



(b) マウスの尾のFP-PAT 画像

図24 動物実験結果

上述したとおり解像度が現在のところ不十分であるため、マウスの尻尾にある複数の血管が分離された結果は得られなかった。UCL グループでは微細血管構造を描出しているため、その違いについて今後も検討を進め、再度動物実験により血管像の描出を試みる予定である。

D. 考察

D-1. 新生血管の病理組織学的解析

今回立ち上げた病理組織の定量化システムは高速に血管の定量化を進めることが可能となるため、有効なツールである。今回の探索的な臨床研究の中で、PAM 画像や MRI 画像のような広い撮像範囲を有する画像診断方法と、病理による血管解析というマイクロな解析結果とを半定量的に対比するには問題ない精度を有していると考えられる。そのため、今後も臨床研究の中でデータを蓄積して診断基準の構築に寄与するものと考えられる。

また今回の検討では数や面積に着目してデータを蓄積しているが、最近の報告例によると血管の形状、すなわち真円度として表されるパラメータががんの悪性度や転移に影響を及ぼす可能性が示唆されている。こうした形状についても今後は検討の対象に加え、画像解析を進めることによって新規な知見が得られると

考えられる。そのためには、これまで以上に二値化の精度を高め、形状を表すパラメータを評価することが必要である。その結果と PAM 画像との対比を行うことによって新たな知見が得られることが期待されるため、今後の検討課題とする。

さらに本方式の完成度を高めることによって、病理診断医の負担軽減の一助になることが期待される。そのためには今後自動解析の症例を積み重ね、精度を高めることによって、診断医の結果に近づけ信頼性を確立していくことが必要と考えられる。

何れの場合においても、病理解析というマイクロな解析と、画像診断というマクロな解析とを直接結びつける検討は、従来存在しなかった新たな解析手法ということができる。この手法を用いることによって、PAM で得られた信号強度が血管集簇から得られた所望の値なのか、別の吸収体もしくはアーチファクトなどの予期せぬ要因で発生した信号であるかが明らかになるため、PAM 画像による診断のエvidens構築に寄与するものと考えられる。平成23年度はPAMの探索的臨床研究を通じて、数十症例分についてこうした病理画像解析結果を蓄積するとともに、他のモダリティとの対比を繰り返すことによって、PAM 診断でのエvidensの基礎を構築しようとしている。今年度の検討結果により、そのための基盤構築ができたと考えている。

D-2. 広帯域 PAT プローブの開発

PA-MS 方式は概ね計画通り、良好な成果が得られている。現在のところ計測時間が長いのが課題であるが、今後データ転送時間を改善する見通しがある。さらに、励起パルス光の繰り返し周波数を上げることで計測時間は大幅に軽減される。これにより生きたままのマウスを使用した動物実験においてデータを蓄積することができると考えている。また、今回の装置では、532nm の波長にて測定を行ったが、今後波長可変レーザーを採用することによって酸素飽和度などの計測

が可能となる。このように生きたままのマウスを用いて PAT 像を取得できる環境が整うことによって、さまざまな用途に用いることが可能となる。今後本装置は、広帯域 PAT プローブ製作のリファレンス的な位置づけのみならず、動物実験を通じて各種検討を実施し、PAM の診断基準の構築や、装置の改良に役立てることができると考えられる。将来的には分子プローブや各種薬剤が微細血管中を流動する様子を観測することで、体内動態を把握する基礎検討にも使用できると考えられる。

FP 方式は当初予測していたよりも課題が大きいことが明らかとなった。当初予定では、平成22年度中に実用化を視野に入れた改善項目を盛り込んだフェーズ2試作を完成させることとしていたが、論文のトレースと課題抽出ができたというのが現状である。概ね計画に対して半年程度の遅延と考えられる。

フェーズ2試作に向けて、成膜プロセス改善という地道な努力も必要であるが、根本的に課題を解決するためのブレークスルーが必要となる。現在はそのアイデアについて基礎検討を行っており、その検討結果を元にしてフェーズ2試作に着手する予定である。

詳細は次年度報告書に記載予定である。

E. 結論

本研究テーマに関して本年度は PAM の臨床研究の結果と連携しながら推進し、病理組織学的な解析手法の立ち上げに大きな進展があった。つまり病理結果や他モダリティ画像と、PAM 像との対比を行うためのインフラを構築することができた。これにより、平成23年度中に PAM の診断基準を構築するための見通しが立てられた。

一方、広帯域 PAT プローブ製作に関して、PA-MS 方式については順調に装置製作が進み、マウスの微細な血管を描出することが可能となった。今後データ取得の高速化や多波長化のための装置改良を進める

ことによって、生きたままのマウスを測定出来れば有意義なデータを蓄積することが可能になる。

FP 方式は論文には十分記載のない課題を明らかにした。この課題をクリアするための検討のため、当初計画に対して遅延が生じる結果となった。しかしながら、この方式によって高速に微細血管構造を描出することが出来れば画期的な成果であることは間違いない。今後も完成に向けて新技術の導入や装置改良を進めていくことが重要である。

F. 健康危険情報

なし。

G. 研究発表

1. 論文発表

1) Inamoto T, Takada M, Toi M. Results of questionnaire survey of breast cancer specialists about optimal surgery for patients with breast cancer. Local and systemic management of primary breast cancers. Edited by Toi M and Winer EP. Kyoto University press. 2010

2) Kumagai Y, Toi M, Kawada K, Kawano T. Angiogenesis in superficial esophageal squamous cell carcinoma: Magnifying endoscopic observation and molecular analysis. Dig Endosc. 2010 Oct; 22(4): 259-67. doi: 10.1111/j.1443-1661.2010.01010.x. Epub 2010 Aug 12.

3) Shuhui Bu, Kengo Kondo, Makoto Yamakawa, Tsuyoshi Shiina, Kazuhiko Fukutani, Yasuhiro Sameda and Yasufumi Asao. Adaptive and quantitative reconstruction algorithm for photoacoustic tomography. Proc. SPIE 7899, 78992G-1

(2011);doi:10.1117/12.871436

4) Kazuhiko Fukutani, Yasuhiro Sameda, Masakazu Taku, Yasufumi Asao, Shuichi Kobayashi, Takayuki Yagi, Makoto Yamakawa, Tsuyoshi Shiina, Tomoharu Sugie, and Masakazu Toi. Characterization of photoacoustic tomography system with dual illumination. Proc. SPIE, vol. 7899, 78992J-1 (2011); doi: 10.1117/12.873690

5) Koichi Tanji, Katsuhiko Watanabe, Kazuhiko Fukutani, Yasufumi Asao, Takayuki Yagi, Makoto Yamakawa, and Tsuyoshi Shiina. Advanced model-based reconstruction algorithm for practical three-dimensional photoacoustic imaging. Proc. SPIE, vol. 7899, 78992K-1 (2011);doi: 10.1117/12.873704

6) 高田正泰 戸井雅和 「腋窩の診断と治療」
カレントセラピー 29巻5号 61-67 2011年

2. 学会発表

1) Shuhui Bu, Makoto Yamakawa, and Tsuyoshi Shiina. Interpolation Method for Model-based 3-D Planar Photoacoustic Tomography Reconstruction. The Biomedical Engineering International Conference 2010, Kyoto, Japan, July 2010.

2) Shuhui Bu, Makoto Yamakawa, Tsuyoshi Shiina. Adaptive Depth Compensation Algorithm for Photoacoustic Tomography. Proc. IEEE Ultrason. Symp., P5-M2-4 (2010).

3) Kazuhiko Fukutani, Takuro Miyasato, Takao Nakajima, Yasuhiro Sameda, Yasufumi Asao, Takayuki Yagi, Makoto Yamakawa, and Tsuyoshi Shiina. Dual

illumination mode photoacoustic tomography for quantitative imaging. Proc. IEEE Ultrason. Symp., P5-M2-5 (2010).

4) 金尾昌太郎 中本裕士 石津浩一 富樫かおり、
乳房専用 PET 装置の使用経験、第 46 回日本医学放射線学会秋季臨床大会、2011 年 9 月 横浜

5) 金尾昌太郎、乳房 MRI における pitfall、第 8 回日本乳癌学会近畿地方会、2010 年 12 月 京都

6) Shotaro Kanao, Tomohisa Okada, Kazuna Takeda, Takeshi Kubo, Shigeaki Umeoka, Tomoharu Sugie, Yukiko Matsumura, Masakazu Toi, Yoshiki Mikami, Kaori Togashi. Differentiating Breast Mass with Hyper-intensity Area on T2 Weighted Image: Value of Diffusion Weighted Imaging. European congress of Radiology 2011, March 2011, Vienna

7) Kazuna Takeda, Shotaro Kanao, Tomohisa Okada, Takayuki Ueno, Masakazu Toi, Hiroshi Ishiguro, Yoshiki Mikami, Kaori Togashi. MRI evaluation of residual tumor size of the breast cancer after neoadjuvant endocrine therapy vs neoadjuvant chemotherapy: is there any difference? European congress of Radiology 2011, March 2011, Vienna

8) Masae Torii, Shotaro Kanao, Takayuki Ueno, Tomoharu Sugie, Megumi Takeuchi, Wakako Tsuji, Masakazu Toi. Response Evaluation of Breast Cancer after Neoadjuvant Chemotherapy: Dynamic MRI vs. FDG-PET. European congress of Radiology 2011, March 2011, Vienna

9) Shotaro Kanao. Evaluation of presurgical systemic therapy by breast MRI, Kyoto Breast Cancer

Consensus Conference International Convention 2011,
April 2011, Kyoto

10) Masakazu Toi. Latest research outcome regarding
Angiogenesis and Breast Cancer. The 3rd CCH
International Breast Cancer Conference, August 2010,
Taiwan

11) 戸井雅和 乳癌の新規治療法開発、第18回日本
乳癌学会学術総会 2010年6月 札幌

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

1. 特許取得
なし。
2. 実用新案登録
なし。
3. その他
なし。

