

図 4 マルチスペクトルイメージングにより算出した、脱酸素化ヘモグロビン濃度(A, D)と酸素化ヘモグロビン濃度(B, E)及びそれらの比から求めた酸素飽和度分布画像(C, F)。上段(A, B, C)は血腫作成前、下段(D, E, F)は血腫作成後の画像。(A, B, D, E)の濃度分布画像のカラーバーのスケールは同一である。

示す。図 3(A) は脳組織サンプルの全体像で、図 3(B) は、撮像部位周辺の冠状断面である。図 3(B) より、血腫作成のために注入した血液は、注入した部位にとどまらず、周辺組織に流出し広く分布していることが確認された。周辺組織に流出した血液は脳表面にまで分布している点より、前述の光音響画像における脳表面で発生する光音響信号の強度上昇はヘモグロビン濃度の増加を反映していると考えられる。

この結果より、脳血腫作成前後の光音響画像の変化を確認でき、光音響画像化技術は脳血腫に対して感受性があることを確認した。このとき、脳血腫作成後の画像において観測された輝度値の上昇は、血液量の増加を反映していると考えられる。しかしながら、脳血腫の所在を局在するには至らなかった。この原因として、本実験に使用したアレイ型探触子が小型なため空間分解能に制約がある点が挙げられる。また、切片を観察した結果、

血液が注入部位に限局せず周囲に浸透していることを確認したため、血液の浸透も一因と考えられる。

【C-2】マルチスペクトル光音響イメージング

750 nm から 800 nm まで励起光の波長を 10 nm 刻みに変化させて取得した 6 枚の光音響画像を用いてマルチスペクトルイメージング処理を行い取得した酸素化ヘモグロビン分布画像、脱酸素化ヘモグロビン画像、及びこれらの画像の比より求めた酸素飽和度分布画像を図 4 にそれぞれ示す。

酸素化ヘモグロビン濃度と脱酸素化ヘモグロビン濃度のいずれも、血腫作成前と比較して血腫作成後に増加していることが確認された。これは、血腫を作成したことによる総ヘモグロビン量の増加を反映していると考えられる。

酸素飽和度について比較すると、血腫作成前は全体的に酸素飽和度が低かったのに対し、血腫作成後は、脳表面近傍において酸素飽和度の高い部

位が確認された。本算出結果は、血腫作成のために注入した血液が、頸動脈から採血した動脈血である点と関連する可能性が考えられる。

また、酸素化ヘモグロビンは、血腫作成前は脳表面のみに分布しているのに対し、血腫作成後は脳表面から深さ 2 mm 程度の領域においても検出されており、こちらも血腫作成時に注入した動脈血との関係が考えられる。

D. 考察

本実験において、脳血腫作成前後の光音響画像を比較した結果、脳血腫作成後は脳血腫作成前と比較して輝度値が増加していた。これは、血腫作成により脳表面におけるヘモグロビン濃度が増加したことを反映していると考えられる。また、血腫作成前後の画像を比較すると、血腫作成前の画像には、前述の高輝度点よりも 2 mm 程度深部に高輝度点が観測されているが、血腫作成後の画像においては明瞭には表れなかった。これは、脳表面における光吸収により、脳内に到達する光エネルギーが減弱し、光音響信号の強度が減少したためと考えられる。

マルチスペクトルイメージング実験においては、脳血腫作成後に生じた高輝度部分の酸素飽和度が 90 %程度と算出された。これは、脳血腫作成時に注入した血液が動脈血であることに関連すると考えられる。

本実験では脳の表面から深さ 2-3 mm と、比較的浅部の画像しか取得できていない。高分解能に画像を取得するために、小型かつ高周波数(10 MHz)のアレイ型探触子を使用したことが一因と考えられる。低周波数(2 MHz)の探触子を用いることにより、より深部の情報を取得可能と考えられる。

E. 結論

本研究では、光音響画像化技術の脳外科応用の例として、ウサギ脳血腫モデルを作成し、画像化実験を行った。目的は、従来の超音波エコーでは検出困難な、脳内深部での出血部位の同定である。光音響画像化技術により脳血腫を検出できるかを検証するために、脳血腫作成前後で光音響画像をそれぞれ取得して比較した結果、脳血腫作成後の光音響画像において輝度値の増加が観測され、脳血腫を検知している可能性が示された。

また、マルチスペクトルイメージングにより酸素飽和度を計測した結果、脳血腫作成後に現れた高輝度部分の酸素飽和度は 90 %以上であり、脳血腫作成時に注入した動脈血の酸素飽和度を反映している可能性がある。

これ等の結果より、本法により、脳血腫を検出可能でかつ酸素飽和度等の機能的な計測もできる可能性が示された。

F. 健康危険情報

総括研究報告書にまとめて記載する。

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 平沢壮, 石原美弥, 藤田真敬, 北垣学, 大谷直樹, 堀口明男, 菊地眞, “光音響技術を利用した選択的イメージングの動物モデルによる検証”. 日本レーザー医学会誌, 32(3), p.334, 2011.10.
- 2) 平沢壮, 石原美弥, 藤田真敬, 北垣学, 大谷直樹, 菊地眞, “光音響画像化技術の要素技術開発とシステム化:動物モデルによる性能検証”. Optics and Photonics Japan 2011, p.P65-1-P65-2, 2011.11.

平成 23 年度厚生労働科学研究費補助金(医療機器開発推進研究事業)
深部機能画像診断のための光音響画像化技術の有用性検証(H23-医療機器-一般-005)
分担研究報告書

2. 学会発表

国内学会

- 3) 平沢壮, 石原美弥, 藤田真敬, 北垣学, 大谷直樹, 堀口明男, 菊地眞. “光音響技術を利用した選択的イメージングの動物モデルによる検証”. 第 32 回日本レーザー医学会総会, 日本レーザー医学会誌, 32(3), p.334, 2011.11.
- 4) 平沢壮, 石原美弥, 藤田真敬, 北垣学, 大

谷直樹, 菊地眞. “光音響画像化技術の要素技術開発とシステム化:動物モデルによる性能検証”. Optics and Photonics Japan 2011, Optics & Photonics Japan 2011, p.P65-1-P65-2, 2011.11.

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

血行再建術における光音響技術の有効性の検証

研究分担者 大谷 直樹 防衛医科大学校 脳神経外科学講座 助教
研究分担者 池脇 克則 防衛医科大学校 内科学講座 教授

要旨

血行動態性脳梗塞の発生率の上昇傾向に対して、予防治療としての外科的血管吻合による血行再建術の術前のドナー血管の走行把握は、本治療の安全性確保のために確実に実施する必要がある。光音響画像化技術の特長である皮下の微細な血管網の高コントラスト画像より、現在の超音波ドップラー画像よりも、手術操作の安全性の確保と手術成績の向上が見込まれる。非侵襲的な撮像も確保されているため、防衛医科大学校の倫理委員会に対して「血行再建術における光音響技術の有効性の検証」として申請し、承認された。

A. 研究背景と目的

わが国では目覚ましい生活習慣の欧米化に伴い、動脈硬化のリスクが高い高齢者が急増している。特に脳梗塞は身体的・知的機能障害をもたらし、日常生活動作や生活の質を阻害する最大の要因である。なかでも頭蓋内・外血管狭窄症にともなう血行動態性脳梗塞の発生率は近年上昇傾向にある。これらに対する予防治療としての外科的血管吻合による血行再建術の有効性は 1967 年に初めて報告されたがその有効性には確証がなかった。1998 年に本邦において randomized control study である Japanese EC-IC Bypass Trial (JET study) が開始された。その study において少なくとも重度の脳虚血症例では EC-IC bypass が有効であることが示され現在では標準的治療として広く普及している。本術式ではドナーとなる浅側頭動脈、後頭動脈を確認、剥離してレシピエントとなる脳表血管に吻合し血流を増加させることにある。その際、ドナー血管の走行を把握することは皮膚切開、開頭範囲を決める上で非常に重要な要因である。通常、術前に 3D-CTA によってある程度確認することは可能であるが、経皮的に確認する際には術中ドップラー血流計、ならびに動脈拍動を触知しながらマーキングしている。しかし、非常に細い

血管では走行を把握することは困難であり、さらに全身麻酔下では触知困難となりさらに走行を把握することは困難を極める。

ここで我々は光音響画像化技術に着目した。光音響画像化技術は、光と超音波の長所を融合した放射線被爆のない新しい画像診断ツールとして着目されており、造影剤の使用なく微細な血管網の画像化が可能な手法である。防衛医科大学校医用工学講座が富士フイルムと厚生労働省科学研究費補助金(医療機器開発推進研究事業)にて開発している光音響画像撮像システムでは、プローブ表面から約 30 ミリの深部で約 100 ミクロン径の血管の画像化が可能となっている。光音響画像化装置は、一般的に画像診断で用いられている超音波診断装置とそのプローブにレーザー装置及び、レーザー光を導光する光ファイバーから構成される(図 1 参照)。生体への安全性について、レーザーについては、JIS C 6802:レーザー製品の安全基準にて規定されている。種々の条件下(波長、露光時間、動作モード、点光源、測定開口と距離など)で安全性の目安を与える MPE(Maximum Permissible Exposure: 最大許容露光量)を十分に下回る 16 mJ/cm^2 にて実施する。超音波については、JIS T 060にて規定されており、十分な安全性が確保されている状況である。

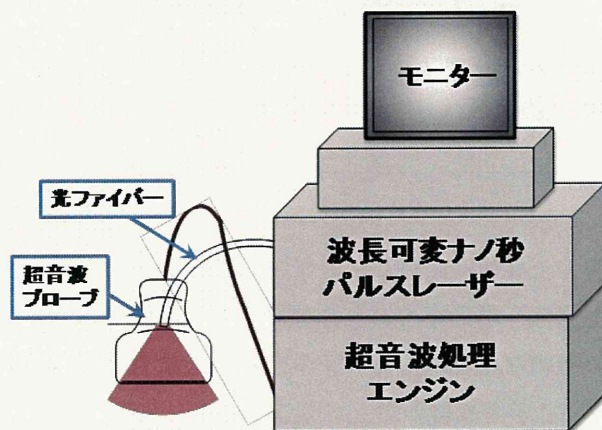


図1 光音響画像化装置の構成

すなわち、本装置を用いることで STA-MCA bypass 術前にドナー血管の確認を安全に非侵襲的に行うことが可能であると思われる。本研究では、血管位置情報取得により、光音響画像化手法の STA-MCA bypass 術の術前評価法への適用価値を検証することを目的とする。

B. 研究対象と方法

脳梗塞、もしくは一過性虚血発作を生じた症候性の患者で頭蓋内血管狭窄にともなう脳血管予備脳低下をきたし EC-IC バイパス術の適応となる患者を対象とする。病室、もしくは手術室において経皮的に浅側頭動脈、あるいは後頭動脈を本装置を用いて観察しマーキングする。得られた光音響画像と 3D-CTA 画像を比較検討するとともに実際の剥離血管の走行とサイズを比較検討する。研究に関する別紙の説明文書を手渡し、それに沿って口頭で詳細に説明した後で書面にて同意を得ることができた患者を対象とする。選択の自由と、研究に同意しない場合でも不利益を受ける事はないことを十分に説明する。得られた個人情報、防衛医科大学校の個人情報管理者の指導のもとで、すべての個人情報を厳重に管理し、公的な発表に関しては匿名化を行い個人が決して特定されないように十分に配慮する。研究データを目的外に使用しないことを明記する。研究期間は倫理委員会

承認後から 2 年間に 20 例を予定している。なお、研究結果については毎年一回、防衛医科大学校倫理委員会へ検討結果を報告する。本研究では通常の検査と比べて侵襲的な操作は何ら加わらないので、明らかに生じる不利益はない。本研究が、脳神経外科手術における光音響装置の有効性を実証することによって手術操作の安全性を確立することで患者の手術成績が上昇することを期待する。

C. 研究発表

1. 論文発表
 - 1) Naoki Otani, Hiroshi Nawashiro, Katsuji Shima. “Pathophysiological findings of selective vulnerability in the hippocampus following traumatic brain injury”. *Journal of experimental and clinical medicine*, 3(1), p.22-26, 2011.02.
 - 2) 平沢壮, 石原美弥, 藤田真敬, 北垣学, 大谷直樹, 堀口明男, 菊地眞, “光音響技術を利用した選択的イメージングの動物モデルによる検証”. *日本レーザー医学会誌*, 32(3), p.334, 2011.10.
 - 3) 平沢壮, 石原美弥, 藤田真敬, 北垣学, 大谷直樹, 菊地眞. “光音響画像化技術の要素技術開発とシステム化:動物モデルによる性能検証”. *Optics and Photonics Japan* 2011,

p.P65-1-P65-2, 2011.11.

2. 学会発表

国内学会

- 4) 平沢壮, 石原美弥, 藤田真敬, 北垣学, 大谷直樹, 堀口明男, 菊地眞. “光音響技術を利用した選択的イメージングの動物モデルによる検証”. 第 32 回日本レーザー医学会総会, 日本レーザー医学会誌, 32(3), p.334, 2011.11.

- 5) 平沢壮, 石原美弥, 藤田真敬, 北垣学, 大谷直樹, 菊地眞. “光音響画像化技術の要素技術開発とシステム化:動物モデルによる性能検証”. Optics and Photonics Japan 2011, Optics & Photonics Japan 2011, p.P65-1-P65-2, 2011.11.

平成 23 年度厚生労働科学研究費補助金(医療機器開発推進研究事業)
深部機能画像診断のための超音波画像化技術の有用性検証(H23-医療機器-一般-005)
分 担 研 究 報 告 書

血管外科領域の臨床価値探索に関する考察

研究分担者	藤田 真敬	防衛医科大学校	防衛医学研究センター 異常環境衛生研究部門	准教授
研究分担者	池脇 克則	防衛医科大学校	内科学講座	教授
研究協力者	北垣 学	自衛隊横須賀病院	診療部	内科医官

要旨

光音響画像の生体応用について過去の動物実験の現状と応用の可能性を探った。主に血管外科領域の臨床価値について考察を行った。微細な血管やリンパ管の立体画像の構築取得が報告されている。現状のドップラー血流画像計より、光音響画像の方が、分解能が高く、かつ血液の流れが無くてもその存在範囲を描出可能である。

下肢静脈瘤などの手術においては分岐血管の確実な結紮処理が再発の予防に重要とされるが、あらかじめ分岐血管の 3D 画像の取得が可能となれば、分岐の処理の効率化が期待できる。手術を行う術者の視野の範囲外から分岐する血管の立体的位置関係の把握は、手術中の不意の出血を予防可能となり、あらゆる血管手術の安全性を高めることになる。

癒着の多い再手術において血管の位置を術中に観察できれば、癒着剥離における出血の軽減も可能となる。

既存の超音波検査では難しい急性血腫、陳旧性血腫、注入液の鑑別も光音響画像の取得により確実に行うことが可能となる。下肢静脈瘤の血管内レーザー治療において、レーザーで焼却する静脈周辺に麻酔液を注入する手順(低濃度大量局所浸潤麻酔(Tumescent local anesthesia: TLA 麻酔))では現状の超音波画像モニターでは、薬液注入後から血管と薬液注入部の判別が難しくなり、安全な施行には熟練を要するが、光音響画像の取得が成されれば、判別は容易になる。各種超音波ガイド下穿刺においても血腫などの合併症が減少する。既存の超音波画像との組み合わせを行うことで、血管のモニター精度が大きく向上し、新しい外科手技の導入に際し医療安全の観点からも大きく貢献できることが期待される。

A. 光音響画像装置の医学応用

超音波画像は、音の反射を画像化する。光画像は、光の散乱や吸収を画像化する。光音響画像は、光の吸収体で発生した超音波を画像化する。いわば、体の深部を切開いていけば見ることができる色のコントラストを、体表から見ることができる。動脈血と静脈血の色の違い、血腫、貯留液などの色の違いから質的な診断が可能になる。皮膚の下では毛細血管、静脈、動脈により血液が循環している。色が着いていないため観察することはむづかしいが、リンパ液の循環も存在する。血管内には血液が流れていて、周辺組織とは異なる色合い

をしている。光音響画像の最大の特徴は深部(または体表から数センチメートル)にある血液や体液の色を体の外から検出し、画像化できる。最近の研究では、未だに動物実験や装置開発にかぎられているものの、血管、リンパ管などの立体画像化の報告がなされている¹⁻¹⁰⁾(表 1)。光音響の技術は生体計測にも応用されつつある。血液の酸素飽和度の計測¹¹⁾、血液中のグルコース濃度(血糖値)の計測¹²⁾、が実用化されつつある。画像分解能は数百マイクロン。超音波画像や CT 画像の分解能に相当する。この高分解能と画像の鮮明なコントラストから血管内径の計測も可能である¹³⁾(表 2)。注目する物質の濃度による血液の微細色調変化を

表 1 血管, リンパ管などの立体画像化における光音響画像の応用

著者	年	雑誌	臓器, 動物種
Jansen	2011	Opt Lett	ヒト 冠状動脈プラーク
Mallidi	2011	Trends Biotechnol	総説
Zhang	2011	Mol Imaging Biol	リンパ管
Hu	2010	Opt Lett	マウス 眼底血管
Kim	2010	J Biomed Opt	ラット リンパ管
Wang	2010	IEEE Trans Biomed Eng	マウス 血管, リンパ管の統合画像
Hu	2010	J Biomed Opt	マウス 微小血管網画像
Li	2010	J Biomed Opt	マウス 脳血管像
Song	2008	Med Phys	ラット 胸腔構造
Kolkman	2006	Lasers Surg Med	ヒト 静脈弁

表 2 生体情報計測における光音響画像の応用

著者	年	雑誌	臓器, 動物種
Wang	2011	Opt Lett	マウス 血液酸素飽和度
Sieg	2005	Diabetes Technol Ther	ヒト 血糖値計測
Kolkman	2004	Phys Med Biol	ウサギ 血管内径

表 3 各種診断における光音響画像の応用

著者	年	雑誌	臓器, 動物種
Hu	2011	J Biomed Opt	ラット 骨肉腫
Holotta	2011	J Biomed Opt.	マウス 心筋梗塞
Kruger	2010	Med Phys	ヒト 乳房血管
Wang	2010	Biomed Opt Express	イヌ 前立腺癌
Yang	2009	Opt Lett	ラット 内視鏡
Sun	2009	J Biomed Opt	ヒト 指関節腔
Hong	2008	Clin Cosmet Investig Dermatol	マウス 皮膚がん
Sato	2005	J Trauma	ラット 熱傷深度
Viator	2003	Appl Opt	ヒト 母斑深度

とらえることで, 本研究以外にも非侵襲的モニターが将来商品化される可能性がある。各種腫瘍の診断や予後診断には血管形態, 血管新生や血管浸潤の観察が必須である^{14, 15)}が, 現状では毛細血管を高分解能で特異的に描出可能な技術が無い¹⁶⁾ため, 摘出後の病理検査でしか分からなかった情報を摘出前に得ることが可能になる。この可能性から各種腫瘍の診断¹⁶⁻²²⁾や, 心筋梗塞²³⁾, 熱傷の深度診断²⁴⁾に応用する研究が進んでいる(表 3)。

B. 光音響画像装置の位置付け

表 4 に現状で利用可能な医療用画像装置の比較を行った。CT はごく軽度の被曝という弊害はあるものの, 全身の臓器構造や広範囲の観察が可能のため, 内科医は幅広い範囲の診断が可能となり, 外科医は正確な手術計画を練ることができる。画像合成による 3D 画像は正確な処置や手術の計画に威力を発揮している。

表 4 各種生体画像装置の比較

装置	普及度	被曝	汎用性	分解能	深部 診断	広範囲 画像	血流 診断	立体 画像	検査 時間
MRI	○	◎	△	○	◎	○	◎	○	△
CT	○	△	△	◎	○	◎	◎	◎	△
超音波	◎	◎	◎	◎	△	△	△	△	○
超音波 ドップラー	○	◎	○	○	△	△	○	△	○
超音響	△	◎	○	◎	△	△	○	○	○
X線	◎	△	◎	△	○	○	△	△	○

MRI は CT と比べると検査時間が長くなるが、被曝せず、全身の臓器構造が観察できる。骨にかこまれた脳幹部の病気の診断は CT では画像上の雑音（アーチファクト）に邪魔されて困難な場合が多いが、MRI による脳幹部の病気の診断能力は CT を遙かにしのぐ。

超音波検査では検査範囲に制限があるものの、臓器の形態に生じる異常を痛み無くリアルタイムに表示できる。また画像の輝度によりある程度の質的な診断が可能である。超音波ドップラー法の追加により、血流という動きについて正常異常の診断も可能になった。

レントゲン画像は最も汎用性、利便性に優れているが、立体的な画像表示を行うことができず、撮影方向を変えた複数の写真から立体構造を想像するしか無い。

超音響画像装置は、簡便に造影剤を使うことなく血管の画像化が可能という特徴から、かつて無い医療応用の可能性が指摘されている。診断が難しい、さまざまな腫瘍の無侵襲診断が各種画像検査所見の組合せにより議論される場合が多い。これらの治療前診断の議論の中では常に腫瘍と血管との関係が考察されている。CT, MRI, 超音波検査に加えて、血管の分布情報が得られる超音響画像検査が普及すれば、診断効率の向上が期待できる。

C. 心臓血管外科，関連内科診断分野への応用の可能性と期待

超音響画像が血液中のヘモグロビンの色調を微細に検出し、画像のコントラストに鋭敏に反映する特性は、心臓血管外科，関連内科診断分野への応用が期待できるものと考えている。現状のドップラー血流画像は血液の流れを検出できるが、超音響画像はより分解能が高く、かつ血液の流れが存在しない場合でも血液の存在範囲を描出できる。

下肢静脈瘤などの手術においては分岐血管の確実な結紮処理が再発の予防に重要とされる²⁵⁾が、あらかじめ分岐血管の 3D 画像が取得できれば、分岐の処理の効率化が期待できる。手術を行う術者の視野の範囲外から分岐する血管の立体的位置関係の把握は、手術中の不意の出血を予防可能となり、あらゆる血管手術の安全性を高めることになるであろう。

癒着の多い再手術において血管の位置を術中に観察できれば、癒着剥離における出血の軽減にもつなげることが可能となる。高齢化に伴う再手術症例の増加に対応する有効な手段となり得る。これまでの超音波検査では難しかった急性血腫、陈旧性血腫、注入液の鑑別も超音響画像の取得により確実となる。

下肢静脈瘤の血管内レーザー治療が普及しつつあり、需要も高まるものと思われるが、レーザーで焼却する静脈周辺に麻酔液を注入する手順(低濃度大量局所浸潤麻酔 (Tumescent local anesthesia: TLA 麻酔))がある²⁶⁾。血管の熱焼却時の疼痛の予防と周辺組織の保護のために血管周囲に大量の麻酔液を注入するものである。この手順において現状の超音波画像によるモニターでは、薬液の注入後から血管と薬液注入部の判別が難しくなり、熟練を要するものと思われるが、光音響画像の取得が成されれば、判別は容易になる。

同様に各種エコーガイド下穿刺において上記の難点が解消され、血腫などの合併症の頻度が減少するであろう。血管のモニター精度が大きく向上することから、新しい外科手技の導入に際し医療安全の観点からも大きな貢献が期待される。

現状の画像構築時間で検査診断に十分応用可能と思われるが、手術中や血管穿刺のモニターへの応用にはリアルタイムの画像構築が求められる。これらの技術開発に大きく期待したい。

D. まとめ

新規技術である光音響画像の主として血管外科領域への応用範囲を考察した。

- 1) 下肢静脈瘤の手術において分岐血管の立体画像取得により高い処理効率が期待できる。
- 2) 血管手術において血管の立体的位置関係の把握により手術の安全性を高めることが可能となる。
- 3) 癒着の多い再手術において癒着剥離における出血の軽減が可能となる。
- 4) 急性血腫、陳旧性血腫、注入液の鑑別がより確実に施行できる。
- 5) 各種エコーガイド下穿刺において血腫などの合併症が減少する。

光音響画像の医療分野への導入により以上の効果が期待され、血管のモニター精度が大きく向上

することから、新しい外科手技の導入が相次ぐ昨今、医療安全の観点からも大きな貢献が期待される。

E. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 藤田真敬, 平沢壮, 石原美弥, “次世代の画像診断装置としての光音響画像化技術開発と医師の期待”. O Plus E (optics +electronics), 34(2), p.151-154, 2012.02.
- 2) Takeshi Hirasawa, Miya Ishihara, Kazuhiro Tsujita, Kazuhiro Hirota, Kaku Irisawa, Manabu Kitagaki, Masanori Fujita, Makoto Kikuchi. “Continuous wavelet-transform analysis of photo-acoustic signal waveform to determine optical absorption coefficient”, Proceedings of SPIE 8223, p.822333-1-822333-7, 2012.01.
- 3) 平沢壮, 石原美弥, 藤田真敬, 北垣学, 大谷直樹, 菊地眞. “光音響画像化技術の要素技術開発とシステム化:動物モデルによる性能検証”. Optics and Photonics Japan 2011, p.P65-1-P65-2, 2011.11.
- 4) 平沢壮, 石原美弥, 藤田真敬, 北垣学, 大谷直樹, 堀口明男, 菊地眞, “光音響技術を利用した選択的イメージングの動物モデルによる検証”. 日本レーザー医学会誌, 32(3), p.334, 2011.10.
- 5) 平沢壮, 石原美弥, 辻田和宏, 入澤寛, 北垣学, 藤田真敬, 菊地眞. “深部組織の高分解能画像化に向けた光音響画像診断法の開発と評価”. 第 50 回日本生体医工学会 (CD-ROM), 2011.04.

2. 学会発表

国際学会

- 6) Takeshi Hirasawa, Miya Ishihara,

Kazuhiro Tsujita, Kazuhiro Hirota,
Kaku Irisawa, Manabu Kitagaki,
Masanori Fujita, Makoto Kikuchi.
“Continuous wavelet-transform analysis
of photo-acoustic signal waveform to
determine optical absorption coefficient”.
SPIE Photonics West Biomedical Optics,
BiOS 2012, SPIE Photonics West BiOS
Technical Summaries, p. 268, 2012.01.

国内学会

- 7) 平沢壮, 石原美弥, 藤田真敬, 北垣学, 大谷直樹, 堀口明男, 菊地眞. “光音響技術を利用した選択的イメージングの動物モデルによる検証”. 第 32 回日本レーザー医学会総会, 日本レーザー医学会誌, 32(3), p.334, 2011.11.
- 8) 平沢壮, 石原美弥, 藤田真敬, 北垣学, 大谷直樹, 菊地眞. “光音響画像化技術の要素技術開発とシステム化:動物モデルによる性能検証”. Optics and Photonics Japan 2011, Optics & Photonics Japan 2011, p.P65-1-P65-2, 2011.11.
- 9) 平沢壮, 石原美弥, 辻田和宏, 入澤覚, 北垣学, 藤田真敬, 菊地眞. “深部組織の高分解能画像化に向けた光音響画像診断法の開発と評価”. 第 50 回日本生体医工学会大会, 生体医工学, 49(特別), p.311, 2011.04-2011.05.

参考文献

- 1) K. Jansen, A.F. van der Steen, H.M. van Beusekom, J.W. Oosterhuis, G. van Soest: Intravascular photoacoustic imaging of human coronary atherosclerosis, Opt Lett., 36(5), pp.597-599 (2011)
- 2) S. Mallidi, G.P. Luke, S. Emelianov: Photoacoustic imaging in cancer detection, diagnosis, and treatment guidance,

Trends Biotechnol., 29(5), pp.213-221 (2011)

- 3) F. Zhang, G. Niu, G. Lu, X. Chen: Preclinical lymphatic imaging, Mol Imaging Biol., 13(4), pp.599-612 (2011)
- 4) S. Hu, B. Rao, K. Maslov, L.V. Wang: Label-free photoacoustic ophthalmic angiography, Opt Lett., 35(1), pp.1-3 (2010)
- 5) C. Kim, T.N. Erpelding, K. Maslov, L. Jankovic, W.J. Akers, L. Song, S. Achilefu, J.A. Margenthaler, M.D. Pashley, L.V. Wang: Handheld array-based photoacoustic probe for guiding needle biopsy of sentinel lymph nodes, J Biomed Opt. 15(4), p.046010 (2010)
- 6) Y. Wang, K. Maslov, C. Kim, S. Hu, L.V. Wang: Integrated photoacoustic and fluorescence confocal microscopy, IEEE Trans Biomed Eng., 57(10), pp.2576-2578 (2010)
- 7) S. Hu, L.V. Wang: Photoacoustic imaging and characterization of the microvasculature, J Biomed Opt., 15(1), p.011101 (2010)
- 8) C Li, A Aguirre, J Gamelin, A Maurudis, Q Zhu, LV Wang: Real-time photoacoustic tomography of cortical hemodynamics in small animals, J Biomed Opt., 15(1), p.010509 (2010)
- 9) K.H. Song, L.V. Wang: Noninvasive photoacoustic imaging of the thoracic cavity and the kidney in small and large animals, Med Phys., 35(10), pp.4524-4529 (2008)
- 10) R.G. Kolkman, N. Bosschaart, B. Kok, T.G. van Leeuwen, W. Steenbergen: Photoacoustic imaging of valves in superficial veins, Lasers Surg Med., 38(8), pp.740-744 (2006)
- 11) Y. Wang, S. Hu, K. Maslov, Y. Zhang, Y. Xia, L.V. Wang: In vivo integrated photoacoustic and confocal microscopy of hemoglobin oxygen saturation and oxygen partial pressure, Opt Lett., 36(7), pp. 1029-1031 (2011)

- 12) A. Sieg, R.H. Guy, M.B. Delgado-Charro: Noninvasive and minimally invasive methods for transdermal glucose monitoring, *Diabetes Technol Ther.*, 7(1), pp.174-197 (2005)
- 13) R.G. Kolkman, J.H. Klaessens, E. Hondebrink, J.C. Hopman, F.F. de Mul, W. Steenbergen, J.M. Thijssen, T.G. van Leeuwen: Photoacoustic determination of blood vessel diameter, *Phys Med Biol.*, 49(20), pp.4745-4756 (2004)
- 14) 日本癌治療学会, がん診療ガイドライン, GIST, 診療ガイドライン <http://www.jsco-cpg.jp/guideline/03.html> 平成 23 年 9 月 15 日 閲覧
- 15) 日本医学放射線学会, エビデンスに基づく画像診断ガイドライン 2007 <http://www.radiology.jp/modules/news/article.php?storyid=555> 平成 23 年 9 月 15 日 閲覧
- 16) J. Hu, M. Yu, F. Ye, D. Xing: In vivo photoacoustic imaging of osteosarcoma in a rat model, *J Biomed Opt.*, 16(2), p.020503 (2011)
- 17) R.A. Kruger, R.B. Lam, D.R. Reinecke, S.P. Del Rio, R.P. Doyle: Photoacoustic angiography of the breast, *Med Phys.*, 37(11), pp.6096-6100 (2010)
- 18) X. Wang, W.W. Roberts, P.L. Carson, D.P. Wood, J.B. Fowlkes: Photoacoustic tomography: a potential new tool for prostate cancer, *Biomed Opt Express*, 1(4), pp.1117-1126 (2010)
- 19) J.M. Yang, K. Maslov, H.C. Yang, Q. Zhou, K.K. Shung, L.V. Wang: Photoacoustic endoscopy, *Opt Lett.*, 34(10), pp.1591-1593 (2009)
- 20) Y. Sun, E. Sobel, H. Jiang: Quantitative three-dimensional photoacoustic tomography of the finger joints: an in vivo study, *J Biomed Opt.*, 14(6), p.064002 (2009)
- 21) H. Hong, J. Sun, W. Cai: Anatomical and molecular imaging of skin cancer, *Clin Cosmet Investig Dermatol.*, 1, pp.1-17 (2008)
- 22) J.A. Viator, B. Choi, M. Ambrose, J. Spanier, J.S. Nelson: In vivo port-wine stain depth determination with a photoacoustic probe, *Appl Opt.*, 42(16), pp.3215-3224 (2003)
- 23) M. Holotta, H. Grossauer, C. Kremser, P. Torbica, J. Völkl, G. Degenhart, R. Esterhammer, R. Nuster, G. Paltauf, W. Jaschke: Photoacoustic tomography of ex vivo mouse hearts with myocardial infarction, *J Biomed Opt.*, 16(3), p.036007 (2011)
- 24) S. Sato, M. Yamazaki, D. Saitoh, H. Tsuda, Y. Okada, M. Obara, H. Ashida: Photoacoustic diagnosis of burns in rats, *J Trauma*, 59(6), pp.1450-1456 (2005)
- 25) 石川雅彦, 森本典雄, 笹嶋唯博, 下肢静脈瘤に対する伏在静脈高位結紮術及び硬化療法の治療成績 再発形式と合併症の対策, *静脈学*, 10(1), p.11-16 (1999)
- 26) 広川雅之, 下肢静脈瘤血管内レーザー治療 第 1 版, 5 章 レーザー治療のテクニック pp.53-81. 日本医事新報社・東京, (2011)

ヒト前立腺癌モデルマウスの作製

研究協力者	櫛引 俊宏	防衛医科大学校	医用工学講座	准教授
研究分担者	堀口 明男	防衛医科大学校	泌尿器科学講座	講師
研究分担者	津田 均	国立がん研究センター中央病院	病理科臨床検査課	課長

要旨

本研究事業では超音響画像化技術を臨床応用する対象疾患として前立腺癌を挙げている。そこで、前立腺癌組織の超音響イメージングを取得する動物実験として、ヒト前立腺癌モデルマウスを作製し、その評価を行った。その結果、癌組織特異的に集積することが知られている蛍光イメージング試薬(MMPSense™750)の集積が認められ、さらに病理画像から多くの血管組織の走行も観察できた。これらことから、本モデルマウスは超音響イメージング画像取得のための適したモデルである。

A. はじめに

本研究事業では、超音響画像化技術の臨床応用の対象疾患として前立腺癌を挙げている。超音響画像化技術を用いて腫瘍辺縁や腫瘍内腔の画像特性を取得し、正常組織を比較対象として、超音響画像と超音波画像を取得することを目標としている。また、腫瘍組織の病理標本組織像と超音響画像とを比較し、選択性(抽出精度)、感度(画像化範囲)、解像度を指標とした超音響画像診断の適用疾患を絞り込むことを目的としている。

そこで、平成 23 年度は、これらの目的を達成するために、ヌードマウスにヒト前立腺癌細胞株を移植した皮下腫瘍モデルマウスを作製し、その形成腫瘍の確認を行った。

マトリックス分解酵素(MMP: Matrix Metalloproteinase)は細胞外基質を分解する酵素である。多くの種類の癌細胞が MMP を強く発現しており、その活性が癌の増殖、浸潤、転移能などと関係している。MMPSense™750 は、MMP-2, -3, -7, -9, -12 や-13 が発現している組織で分解され、近赤外領域の蛍光を生じる酵素活性型蛍光 *in vivo* イメージング試薬である。本研究では MMPSense™750 を用いて腫瘍組織の確認を行い、病理画像とともに作製した腫瘍組織の評価を行っ

た。

B. 方法

・ヒト前立腺癌細胞株 PC-3 の培養

ヒト前立腺癌細胞株である PC-3 は、10 % Fetal Calf Serum (FCS) とペニシリン(100 units/mL)・ストレプトマイシン硫酸塩(100 µg/mL)を含む Minimal Essential Medium (MEM) を用いて、37°C・5 %CO₂ 条件下で培養を行った。

・腫瘍モデルマウスの作製

PC-3 細胞の浮遊液 100 µL (2×10⁶ cells) を、体重 20-25 g の BALB/c ヌードマウスの左腹部側皮下に投与し、17 日後のマウスを観察に供した。

・*in vivo* 蛍光イメージング

観察は、担癌マウスに MMPSense™750 を 100 µL (2 nmol) 静脈内投与し、6 時間後にイソフルラン麻酔下で生体観察システム・オリンパス OV110 を用いて観察した。励起波長は 750 nm、検出蛍光波長は 775 nm とし、皮膚を切開して腫瘍組織を露出させた状態で観察を行った。

・病理学的観察

同様の手法で別に作製した担癌マウスから腫瘍組織を含む周辺組織を摘出し、ホルマリン水溶液で固定後、常法に従いヘマトキシリン-エオジン

(HE) 染色を行った。

C. 結果

図 1 に皮膚を切開して露出させた腫瘍組織の明視野画像および MMPSense™750 を用いた腫瘍組織の蛍光画像を示した。作製した腫瘍組織は直径約 2 mm の半球状であり、腫瘍組織特異的に MMPSense™750 に由来する蛍光を検出することができた。



図 1 ヒト前立腺癌細胞を皮下移植後の腫瘍部位画像(上)および MMPSense™750 を静脈内投与後の蛍光画像(下)

図 2 に腫瘍組織及びその周辺組織を摘出後の HE 染色結果を示す。皮下組織と腫瘍組織の間には、摘出時に肉眼で観察可能な血管が走行していたほか、腫瘍組織周辺には多くの血管が新生されることが観察できた。

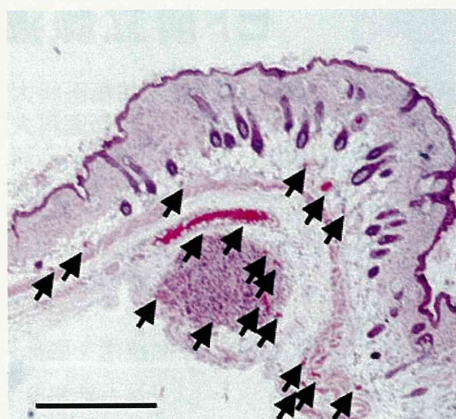


図 2 ヒト前立腺癌細胞を皮下移植後の HE 染色画像。矢印は血管組織を示している。Bar=500 μm

D. 考察

平成 23 年度はヌードマウスにヒト前立腺癌細胞株を移植した皮下腫瘍モデルを作製し、MMPSense™750 を用いた腫瘍組織特異的な蛍光イメージングにより、その腫瘍形成の確認を行うことができた。しかしながら、皮膚を切開し腫瘍組織を露出させない限り、蛍光イメージング画像を得ることは困難であった。ヌードマウス皮膚組織は厚さ 1 mm にも満たないが、その皮膚組織でさえも蛍光イメージング画像取得時には障壁となっている。このことから、本研究事業である光音響画像化技術を用いて、皮膚を切開することなく非侵襲的に腫瘍組織をイメージングすることができれば、従来の蛍光イメージングでは補えなかった深部組織のイメージング技術として有用である。さらに、HE 染色画像から腫瘍組織周辺に多くの新生血管の存在を確認できた。本研究事業における光音響画像化技術は血液中のヘモグロビンを光吸収体としてイメージングすることを主眼としているため、正常組織と比較して多くの新生血管が存在する腫瘍組織の光音響画像を取得できると考えられる。

これらのことから、選択性(抽出精度)、感度(画像化範囲)、解像度を指標とした光音響画像取得対象として本腫瘍モデルを利用できることが確認された。

薬事戦略相談実施

研究代表者	石原 美弥	防衛医科大学校	医用工学講座	教授
研究分担者	辻田 和宏	富士フイルム株式会社 R&D 統括本部	メディカルシステム開発センター	専門主任研究員

要旨

H23 年 7 月に開始された厚労省の新規施策に薬事戦略相談事業がある。日本発の新たな医薬品・医療機器の登場を後押しする制度であるので、相談対象を細胞・組織加工製品以外の医療機器として、独立行政法人 医薬品医療機器総合機構にて、事前面談を 2 回行った後、対面助言を実施した。本研究事業遂行の結果、医療機器として速やかに確立するためには、有効性と安全性の確保が重要であることが確認された。

A. 研究目的

有望性の高いシーズの実用化に向けて、シーズ発見後の大学・研究機関、ベンチャー企業を主な対象とし、医薬品・医療機器候補選定の最終段階から臨床開発初期(POC(Proof of Concept)試験(前期第Ⅱ相試験程度)まで)に至るまでに必要な試験・治験計画策定等に関する相談への指導・助言するという薬事戦略相談事業が創設・開始された。本研究事業で求められている成果の 1 つに、研究終了時には臨床研究を開始することが挙げられている。そこで、非臨床で確認しておくべき事項や、既存の診断装置(技術)との位置づけなどの開発の大まかな方向性を示す助言を得る事を目的として、実施した。

B. 研究方法

平成 23 年 8 月 29 日に大阪会場で実施された医薬基盤研究所セミナー「薬事戦略相談事業」及び、その日の午後の相談会に申し込み、参加した。その後、薬事戦略相談事前面談質問申込書を担当分野第 8 分野(主として多科に関わる医療機器、高度医用電子機器及び他分野に属さない医療機器)として提出し、2 回(平成 23 年 11 月 9 日と平成 23 年 12 月 14 日)の事前面談を実施した。薬事戦

略相談に係る相談手数料低額要件適用申請を経て、平成 24 年 3 月 22 日に対面助言実施の調整ができた。

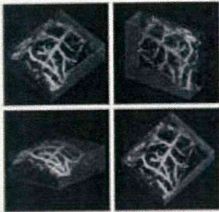
C. 研究結果

医薬基盤研究所セミナー「薬事戦略相談事業」の後の相談会では、相談対象の開発項目(技術)が、本研究事業(厚生労働省研究費補助金(医療機器開発推進研究事業)(H23-医療機器-一般-005))により有用性が検証される技術である旨を提示した(図 1)。

事前面談の第 1 回目(平成 23 年 11 月 9 日)では、薬事申請を想定した場合に、開発技術の有効性及び安全性を評価する際に必要となる要求事項や臨床試験に至前に非臨床で確認しておくべき事項や、超音響画像化技術の位置づけについて、助言を求めた。引き続いて、第 2 回目の事前面談(平成 23 年 12 月 14 日)では、対面助言の事前面談として実施するために下記を提示した。

1. 品目の概要
2. 仕様及び安全試験項目、性能試験項目
3. 今後行おうとしている試験内容
4. 医療ニーズに関連する資料
5. 承認申請までのロードマップ
6. 今までに行った実験データ

平成23年度 厚生労働科学研究費補助金
 医療機器開発推進研究事業
 医療機器開発(ナノテクノロジー等)総合推進研究



深部機能画像診断のための 超音響画像化技術の有用性検証

研究代表者	防衛医科大学校	医用工学講座	石原美弥
研究分担者	防衛医科大学校	泌尿器科学講座	堀口明男
		脳神経外科学講座	大谷直樹
		内科学講座	池脇克則
		防衛医学研究センター	藤田真敬
		医用工学講座	平沢 壮
	国立がん研究センター中央病院病理科		津田 均
	富士フイルム(株) R&D統括本部		辻田和宏

図1 提示資料の一部

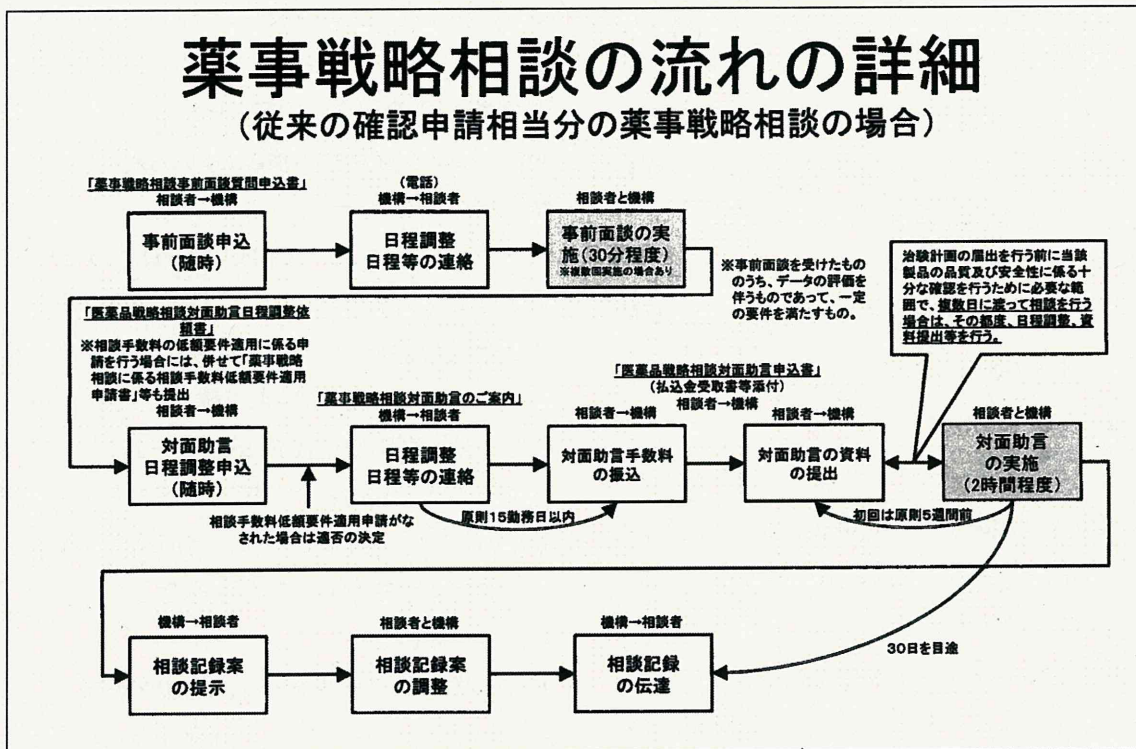


図2 薬事戦略相談の流れ

目次

I. 品目概要	1
II. 使用目的、効能または効果	2
	(添付資料 1 参照)
III. 形状、構造及び原理	
1. 基本構成	3
2. 動作原理及び各ユニットの機能	5
2.1 基本的な動作原理	(添付資料 2 参照)
2.2 各ユニットの主な機能	
2.3 付帯機能	
3. ブロック図	10
3.1 システム構成	
3.2 電源構成	
3.3 プローブ接続部	
4. 電氣的定格及び分類	13
5. 外観図	14
5.1 超音波画像診断装置(光音響画像)	
5.2 光音響プローブ	
IV. 原材料または構成部品	17
V. 品目仕様	
1. 特性・性能または機能	18
2. 安全性に関する項目または規格	19
3. 重要ハザード抜粋	20
4. 試験項目	22
	(添付資料 3~6 参照)
VI. 操作方法または使用方法	23
添付資料	
1. 医療ニーズに関連する資料(12月14資料3)	
2. 原理説明補足文献	
3. レーザ安全基準(12月14資料2)	
4. エネルギー密度測定方法と結果	
5. 画像評価ファントム画像	
6. 画像取得シーケンス	
7. 承認申請までのロードマップ(12月14資料4改)	

図 3 提出資料の目次

今回相談する光音響画像化技術は、皮下の血管診断を可能にする画像化技術ということで、医療ニーズに関連する書類を研究分担者から提示された論文や書籍、資料を提出した。医療機器の有効性を示すためには、医療現場のニーズを明らか

にし、それに対して開発技術が解決できることを科学的に立証する必要がある。

その後、薬事戦略相談に係る相談手数料低額要件適用申請をし、平成 24 年 3 月 22 日に対面助言を実施することが決定した。

表 1 レーザー照射に対する皮膚の MPE

露光時間 t (s)	$<10^{-9}$	$10^{-9} \sim 10^{-7}$	$10^{-7} \sim 10$	$10 \sim 10^3$	$10^3 \sim 3 \times 10^4$
波長 λ (nm)					
180~302.5	$3 \times 10^{10} W \cdot m^{-2}$	$30 J \cdot m^{-2}$			
302.5~315		$C_1 J \cdot m^{-2} (t < T_1)$		$C_2 J \cdot m^{-2} (t > T_1)$	
315~400		$C_1 J \cdot m^{-2}$		$10^4 J \cdot m^{-2}$	$10 W \cdot m^{-2}$
400~700	$2 \times 10^{11} W \cdot m^{-2}$	$200 J \cdot m^{-2}$	$1.1 \times 10^4 t^{0.25} J \cdot m^{-2}$	$2000 W \cdot m^{-2}$	
700~1400	$2 \times 10^{11} C_4 W \cdot m^{-2}$	$200 C_4 J \cdot m^{-2}$	$1.1 \times 10^4 C_4 t^{0.25} J \cdot m^{-2}$	$2000 C_4 W \cdot m^{-2}$	
1400~ 10^6	$10^{11} W \cdot m^{-2}$	$100 J \cdot m^{-2}$	$5600^4 t^{0.25} J \cdot m^{-2}$	$1000 W \cdot m^{-2} \text{ } ^3$	

1) 補正係数については、表1および表4に対する備考を参照。
 2) 10^{-9} 秒以下の露光に関する影響については、限られた証拠しかない。これらの露光時間に対するMPEは、放射照度を 10^{-9} 秒間維持して得られたものである。
 3) $0.1m^2$ よりも大きく露光された皮膚の領域に対して、MPEは $100W \cdot m^{-2}$ に軽減される。 $0.01m^2 \sim 0.1m^2$ の間で、MPEは照射された皮膚領域に反比例して変化する。

図 2 に示されている流れの通り、対面助言を実施する 5 週間前までの平成 24 年 2 月 13 日に必要書類を提出した。その目次を図 3 に示す。

本技術の安全性における、特にレーザー使用に対する安全性の確保については、JIS C6802 に規定されているレーザー照射に対する皮膚の MPE (Maximum Permissible Exposure: 最大許容露光量)の遵守ということで回答した(表 1)。具体的には、 $20 mJ/cm^2$ 以下を照射条件とすることとした。

提出した資料に対する事前照会が 2 回あり、提出資料の加筆・修正、及び、添付資料を追加した。照会事項の 1 例として、現在までに取得したデータであるファントム実験に対してファントムの設定根拠や、光音響画像を撮像するために照射したレーザーの波長の設定根拠、及び、臨床現場のどのようなニーズに基づいて開発された(又は用途を定めた)ものなのかの追加説明が要求された。

平成 24 年 3 月 22 日の対面助言は、医療機器審査第一部の司会のもと実施された。最初に、相談事項に関する簡単なプレゼンテーションを実施し、その後助言という進行であった。

D. 考察

独立行政法人 医薬品医療機器総合機構の承認審査に関する知見や観点が現時点で得られたことは、今後の開発過程において必要な試験・治験計画策定に有用であった。また、有用な独立行政法人 医薬品医療機器総合機構の助言や相談記録を得る為に、必要事項や書類が明らかになった。逆に、当初から計画している本研究事業を円滑に推進できれば、今回の薬事戦略相談の実施により抽出できた課題が解決できることが判明したので、開発の大まかな方向性の修正は不要である。

E. 結論

本研究事業遂行の結果、光音響画像診断装置が日本発の医療機器として速やかに確立するためには、有効性と安全性の確保が重要であることが確認された。

IV. 添付資料
