

原 著

集束超音波治療の時間短縮を目指したトリガーパルス併用照射法の評価

¹東京女子医科大学大学院医学研究科（指導：村垣善浩教授）²東京動物医療センター³株式会社日立メディコ応用機器開発室⁴東京女子医科大学先端生命医科学研究所先端工学外科学分野ワダ アキヒデ アベ ノブタカ ナカモト ヒデカズ スズキ タカシ ムラガキ ヨシヒロ
和田 章秀^{1,2}・阿部 信隆³・仲本 秀和³・鈴木 孝司⁴・村垣 善浩⁴

（受理 平成24年7月30日）

Novel High-intensity Focused Ultrasound Therapy Using Triggered Pulse to Reduce Therapeutic Time

Akihide WADA^{1,2}, Nobutaka ABE³, Hidekazu NAKAMOTO³,
Takashi SUZUKI⁴ and Yoshihiro MURAGAKI⁴¹Graduate School of Medicine, Tokyo Women's Medical University²Tokyo Animal Medical Center³Application Development Office, Hitachi Medical Corporation⁴Faculty of Advanced Techno Surgery, Institute of Advanced Biomedical Engineering and Science,
Tokyo Women's Medical University

The use of high-intensity therapeutic ultrasound (HITU) for uterine fibroid is spreading, but problems remain, such as the small coagulation volume and long treatment time. Cavitation, representing the creation and implosion of microbubbles on application of a strong ultrasonic wave called a triggered pulse, offers a promising method to increase coagulation volume and optimize coagulation shape. We compared coagulation results in deep pectoral muscles in chicken under various conditions of heating wave power (36, 54 or 72 W) and pulse width and frequency of the triggered pulse (a: no triggered pulse; b: 30 μ s and 1 kHz; c: 300 μ s and 100 Hz; d: 3 ms and 10 Hz). Coagulation shape in the target region, cavitation collapse ratio, and burn injuries on the skin surface were also evaluated. Coagulation volume increased significantly under all conditions of triggered pulse except condition b at 54 W. Oblateness was adopted as an index of coagulation shape, and decreased significantly toward a spherical shape under conditions c and d at 36 and 54 W, and condition d at 72 W. Coagulation results were optimized under condition d at 36 W and condition c at 54 W. Coagulation volume in the optimized condition increased 2 to 4 times compared with the control results (condition a), which allows a decrease in treatment time of 25-50% compared with current treatment protocols.

Key Words: high-intensity therapeutic ultrasound, HITU, HIFU, uterine fibroids, cavitation

緒 言

子宮筋腫（子宮平滑筋種）は生殖年齢の女性の20~40%が罹患する良性腫瘍であるが、症状を伴う場合は治療を必要とする。外科手術が一般的な治療法だが、一方で集束超音波治療（high intensity therapeutic ultrasound：HITU）も選択肢の1つとなっている。集束超音波治療とは体外から照射した超音波

を焦点に集束させ強力な振動エネルギーを生じさせることで、主に熱的作用により体内の腫瘍を凝固壊死させる治療法である。体外から超音波を照射することのみであるため皮膚切開の必要がなく低侵襲であることから、子宮筋腫だけでなく前立腺、乳腺、肝臓、膵臓、脳などの腫瘍性疾患に、医療機器として、あるいは臨床研究として用いられている¹⁾²⁾。また市販

の治療装置 (ExAblate2000, GE Healthcare, アメリカ) が 2004 年 10 月に Food and Drug Administration (FDA) の承認を得たことも普及に拍車をかけている³⁾。

現行の HITU には 2 つの問題点が指摘されている。1 点目は照射 1 回あたりの凝固体積が小さく、また細長い楕円体形状 (機種・照射条件に依存するものの現行の前立腺用治療器では $3 \times 3 \times 12 \text{mm}^3$) のため、腫瘍全体の領域をカバーするためには照射が長時間に及ぶことである。先行研究¹³⁾によれば子宮筋腫の場合、平均 77.3cm^3 の照射に治療時間が平均 2.5 時間かかり、治療中患者は動かないことを強いられる。2 点目は、診断用超音波装置に比べ超音波強度が大きく、皮膚や筋膜、骨などの生体の境界面で超音波の反射・吸収が生じることで目的部位以外に形成された焦点で重度の熱傷が起こりうることである⁴⁾。皮膚については冷水を接触させながら患者が耐えることで対応しているが、根本的な解決には至っていない。これらの問題に対して、照射 1 回あたりの凝固体積を増大させ、体外から照射する超音波強度を下げるのが可能になれば上記 2 点の問題については解決可能である。

凝固体積の増大方法として、キャビテーションの利用が検討されている⁵⁾。キャビテーションとは、超音波で生体組織が振動した際に発生する高温高压の気泡のことであり、このキャビテーションが発生、成長、圧壊する過程で一重項酸素が発生し化学的な抗腫瘍効果をもたらすことや超音波照射による熱的作用を増強することが知られている⁴⁶⁾。これまでの集束超音波治療では、キャビテーションの発生、成長、圧壊の制御が難しく熱傷の原因になったため、キャビテーションを生じさせないような照射方法がとられていた⁴⁾。しかし、近年キャビテーション圧壊に伴う大きなエネルギーを効果的に利用する音響力学療法などの研究が行われている⁵⁷⁾。ごく短時間に大強度の超音波 (トリガーパルス) を印加することでキャビテーションの誘発が可能であり、それに続くキャビテーション圧壊による熱的作用の増強効果を用いることで凝固用超音波の出力を低下させることが可能になり、焦点以外での熱傷を防止し、かつ凝固形状が球形に近づく⁸⁾ことから治療時間の短縮が期待されている。しかし、トリガーパルス併用の効果についてはいくつかの報告がある⁸⁾⁹⁾ものの、最適な照射条件や凝固体積の増加効果については涉猟し得た限りでは十分に調べられていない。

そこで本研究ではトリ深胸筋 (ササミ) にトリガーパルスを併用した集束超音波を照射する基礎実験を行い、トリガーパルスの併用による凝固体積の増大、キャビテーション圧壊の誘発、組織表面の凝固 (熱傷) の回避、等を実現するための照射条件について調べた。

対象および方法

1. 実験環境および方法

実験環境の概要を Fig. 1A に示す。集束超音波の照射には独自に開発した専用トランスデューサ (周波数 1.09MHz, 焦点距離 75mm, F 値 1.0) を用い、ファンクションジェネレータ (WF1974, 株式会社エヌエフ回路設計ブロック, 日本) および波形増幅器 (A300, Electronics & Innovation, アメリカ) を用いてトランスデューサに電圧を印加し、集束超音波を生成した。また集束超音波の照射状況の観察は、超音波診断装置 (EUB-7500, 株式会社日立メディコ, 日本) を使用した。集束超音波の照射対象としてササミを用いた。ササミは 37°C の脱気水中に 1 時間留置した後、厚さ 0.04mm のチャック付きプラスチック袋に入れ、専用水槽内の集束超音波トランスデューサの焦点位置に固定した。脱気水の作成には脱気装置 (ERC-3502W, 株式会社イーアールシー, 日本) を用い、溶存酸素量が 3.0mg/L 以下を保つように循環脱気を継続した。またヒーター (POWER SAFE PRO 300, 株式会社マルカン, 日本) を用いて、脱気水の温度が $37.0 \sim 37.9^\circ\text{C}$ を維持するようにした。

照射条件 (Fig. 2) は予備実験の結果から、凝固用集束超音波 (heating wave) の音響出力パワー (total acoustic power: TAP) を 36, 54, 72W の 3 条件、トリガーパルスの時間幅および繰り返し周波数の組み合わせについて、a: トリガーパルスなし, b: 30 μ 秒 1kHz, c: 300 μ 秒 100Hz, d: 3m 秒 10Hz の 4 条件を設定し、各々の組み合わせ計 12 条件を設定した。測定は 20 回行った。照射は全条件で 10 秒間とした。

2. 評価手法

凝固体積は楕円体近似により評価した (Fig. 1B)。すなわち、凝固領域の断面において照射方向の長径 a と照射に対し垂直方向の短径 b をデジタルのノギスを用いて $1/100 \text{mm}$ 単位で計測し、以下の式 (1) で凝固体積 V を計算した。計測においては計測者のバイアスが入らないように、照射条件の順番をランダムに割り付けて計測した。

また凝固体積の形状の評価として、以下の式 (2)

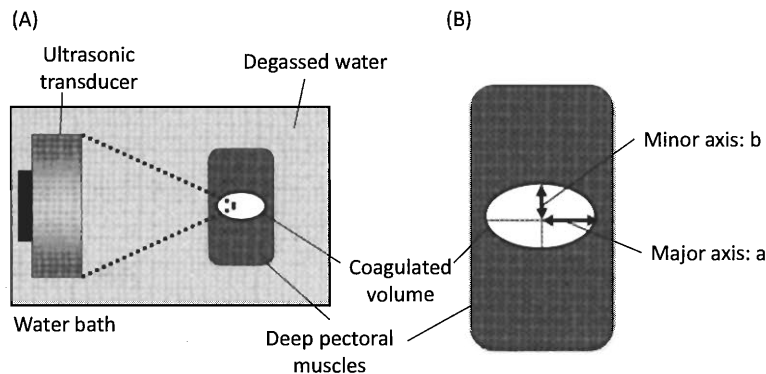


Fig. 1 Experimental setup. A) Ultrasonic transducer and specimen (deep pectoral muscles in chicken) were fastened in the degassed water; B) Enlarged view of specimen. Coagulated volume was approximated as an ellipsoid.

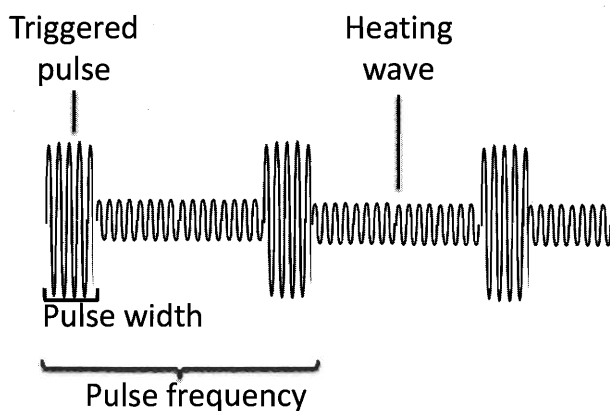


Fig. 2 Waveform for high-intensity therapeutic ultrasound with triggered pulse. Triggered pulse induces cavitation inside the tissue, and the heating wave coagulates the target. Pulse width and frequency were set as follows: a) only heating wave, with no triggered pulse; b) 30 μ s, 1 kHz; c) 300 μ s, 100 Hz; or d) 3 ms, 10 Hz.

で扁平率 f を定義した。0 に近いほど球形に近い。

$$V = \frac{4}{3} \pi a b^2 \quad (1)$$

$$f = 1 - \frac{b}{a} \quad (2)$$

キャビテーション圧壊の誘発については超音波画像上で評価した。集束超音波照射中に超音波診断装置でターゲット領域を観察すると、キャビテーション圧壊時には画像上にノイズが発生する。そのノイズが3.3秒以上確認できた場合にキャビテーション圧壊ありと定義した。そして $n=20$ の試行回数のうちキャビテーション圧壊が確認された割合を求め、キャビテーション圧壊率とした。組織表面の凝固(熱傷)の評価は、肉眼で凝固が確認できた場合に凝固ありとし、同様に $n=20$ の試行回数の中の割合を

求め、凝固発生率とした。

3. 統計処理

各条件間の比較は統計処理ソフト (JMP9.0, SAS Institute Japan 株式会社, 日本) を用いて評価した。体積と扁平率については一元配置分散分析を行い、群間での有意差を認めた場合に各ペアに対して Tukey-Kramer の honesty significant difference (HSD) 検定を行った。またキャビテーション圧壊率と表面の凝固についてはピアソンの χ^2 検定を行い、有意差を認めた場合に各ペアに対し残差分析を行った。 $p < 0.05$ を有意差ありとした。

結果

1. 凝固体積について

各条件における凝固体積の平均値、標準偏差を Table A に示す。集束超音波強度が 36, 54, 72W の全条件下で、トリガーパルスなし群に比べ、トリガーパルスを印加した場合は凝固体積が有意に増大した。また超音波照射強度 36, 54, 72W の各条件下で、一元配置分散分析によりトリガーパルス条件による凝固体積の有意差を認めた ($p < 0.0001$) ため、Tukey-Kramer の HSD 検定を施行した。各条件間の有意差は Fig. 3A に示される結果となった。

2. 凝固領域の扁平率

各条件における扁平率の平均値、標準偏差を Table B に示す。集束超音波強度が 36, 54W のとき、条件 a に比較して条件 c, d で扁平率は有意に低下した。72W のときは、条件 a に比較して条件 d で扁平率が有意に低下した。また超音波照射強度 36, 54, 72W の各条件下で、一元配置分散分析によりトリガーパルス条件による扁平率の有意差を認めた ($p < 0.05$) ため、Tukey-Kramer の HSD 検定を施行した。各条件間の有意差は Fig. 3B に示される結果となっ

Table Experimental results (mean \pm standard deviation)

A) coagulation volume (ml); B) oblateness; C) cavitation collapse ratio (%); and D) burn injury ratio (%). Measurements were taken 20 times repeatedly for each case.

A	36 W	54 W	72 W
a: no triggered pulse	0.055 \pm 0.027	0.153 \pm 0.059	0.207 \pm 0.040
b: 30 μ sec, 1 kHz	0.115 \pm 0.040	0.223 \pm 0.076	0.368 \pm 0.080
c: 300 μ sec, 100 Hz	0.180 \pm 0.062	0.294 \pm 0.115	0.363 \pm 0.089
d: 3 msec, 10 Hz	0.219 \pm 0.049	0.338 \pm 0.091	0.493 \pm 0.145
B			
a: no triggered pulse	0.648 \pm 0.104	0.575 \pm 0.067	0.545 \pm 0.106
b: 30 μ sec, 1 kHz	0.579 \pm 0.128	0.530 \pm 0.147	0.485 \pm 0.112
c: 300 μ sec, 100 Hz	0.553 \pm 0.112	0.446 \pm 0.154	0.444 \pm 0.159
d: 3 msec, 10 Hz	0.545 \pm 0.110	0.415 \pm 0.115	0.397 \pm 0.146
C			
a: no triggered pulse	0.0%	5.0%	15.0%
b: 30 μ sec, 1 kHz	15.0%	65.0%	100.0%
c: 300 μ sec, 100 Hz	75.0%	95.0%	95.0%
d: 3 msec, 10 Hz	100.0%	100.0%	100.0%
D			
a: no triggered pulse	0.0%	0.0%	0.0%
b: 30 μ sec, 1 kHz	5.0%	0.0%	5.0%
c: 300 μ sec, 100 Hz	0.0%	5.0%	20.0%
d: 3 msec, 10 Hz	5.0%	35.0%	50.0%

た。

以上より、トリガーパルス印加することで凝固形状が球状に近づくことが示された。

3. キャビテーション圧壊率

各条件下におけるキャビテーション圧壊率を Table C に示す。ピアソンの χ^2 検定により 36, 54, 72W でのキャビテーション圧壊率に有意差を認められた ($p < 0.0001$) ため、残差分析を施行した。各条件間の有意差は Fig. 3C に示される結果となった。

4. 組織表面での凝固 (熱傷) について

各条件下における組織表面での凝固発生率を Table D に示す。ピアソンの χ^2 検定により 36W の条件下においては表面での凝固発生率に有意差は認められなかったが、54, 72W においては有意差が認められた ($p = 0.0003$, $p = 0.0007$)。残差分析を施行した結果は Fig. 3D に示す結果となった。

考 察

ササミを対象に集束超音波を照射し、トリガーパルス併用による凝固体積と形状の変化、キャビテーション圧壊の誘発、組織表面での凝固について評価するとともに、トリガーパルスの照射条件について検討した。実験の結果、トリガーパルス印加した全条件において有意に凝固体積の増大が認められ、扁平率も複数の条件下で有意な減少が認められ、凝固形状が球状に近くなることが示された。キャビテーションの圧壊率についても同様に有意な上昇が

認められ、トリガーパルスの併用がキャビテーションの圧壊を誘発していることが示唆された。副作用の 1 つである表面の凝固については、有意に増加する条件が示された。

条件 b, c, d はトリガーパルスの条件が異なるのみで、照射した超音波エネルギーの総量 (音響出力パワーと照射時間の積) は一定である。条件 b は短時間のトリガーパルスを頻回印加し、d は比較的長い時間のトリガーパルスを少ない回数印加し、c はそれらの中間である。上記の結果より、凝固体積は条件 $b < c < d$ の順で増加することがわかった。しかし一方で、凝固用超音波の強度 (TAP) が大きい場合に表面の凝固 (熱傷) が起きやすくなる傾向があることから、凝固用超音波の強度には適切な範囲があることが示された。

これらの結果より、凝固体積の増大・球状の凝固形状を生じさせ、キャビテーションの圧壊を誘発し、かつ表面に凝固を起ささないトリガーパルスを併用した集束超音波の照射条件は、36W, 3m 秒, 10Hz, あるいは 54W, 300 μ 秒, 100Hz であることが示された。これらの条件ではコントロール比較して凝固体積が約 2~4 倍増大していることから、治療時間が 25~50% にまで短縮される可能性が示された。先行研究¹³⁾では、平均 77.3cm³ の子宮筋腫の治療に平均 2.5 時間を要したが、本研究で明らかになった条件のトリガーパルスを印加することで、38 分~1 時間 15

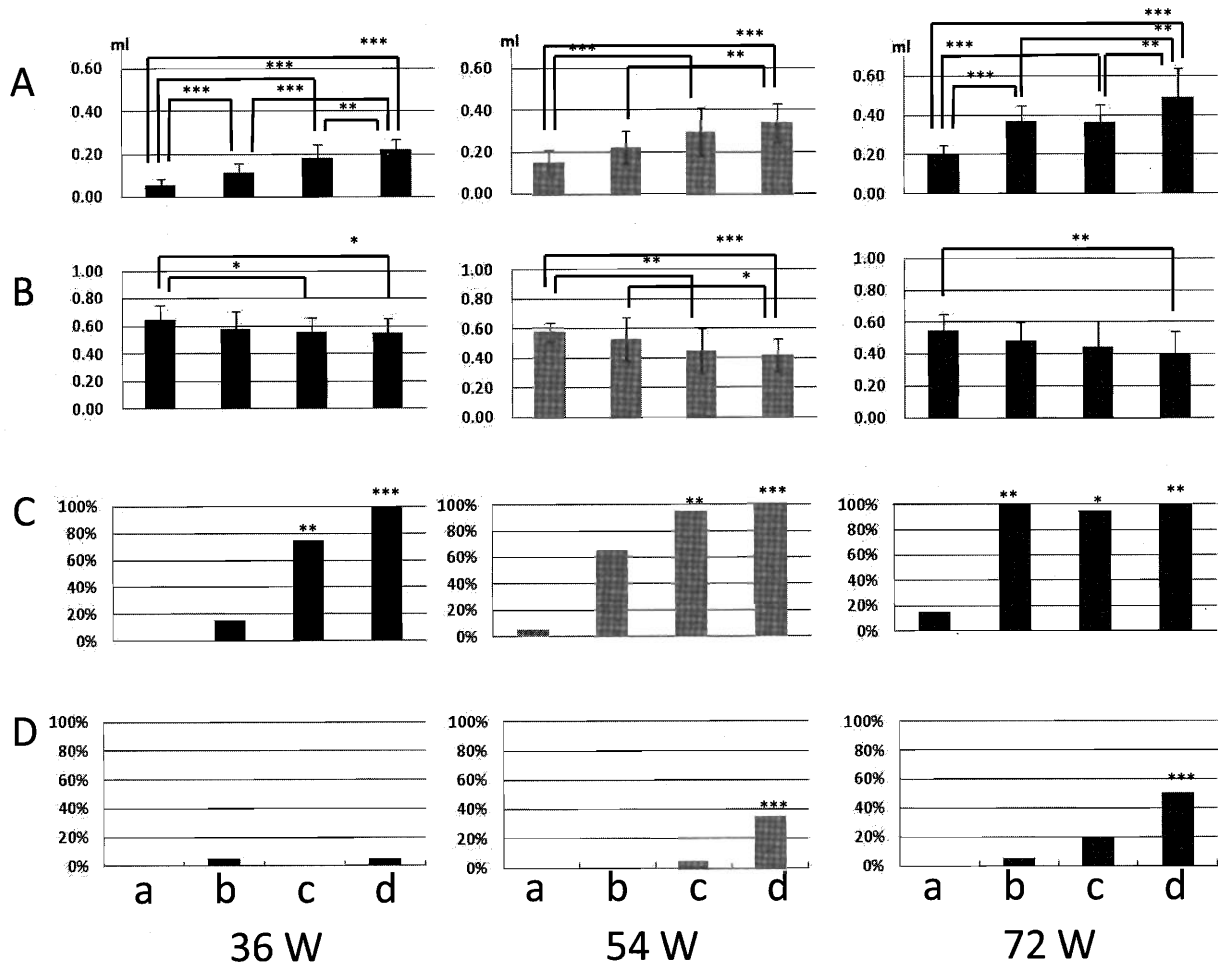


Fig. 3 Comparison of pulse width and frequency conditions. A) coagulation volume (ml); B) oblateness; C) cavitation collapse ratio [%]; and D) burn injury ratio [%]. * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$.

分程度まで短縮できる可能性を示した。

また凝固形状については、例えば扁平率が0.6の場合は長径と短径の比が2.5:1であり、0.5の場合は2:1, 0.4の場合は1.7:1となる。短径を一定とした場合、扁平率が0.6から0.5に変化すると長径は20%短くなり、0.5から0.4に変化すると15%短くなる。つまり上記の条件下では凝固形状がより球形に近くなる。対象領域を隈なく治療するためには球形の凝固領域が得られるほうが効率がよく、またマージン設定など治療計画が容易に想像でき、未治療領域の残存度を低下できると考えられる。

本研究ではトリガーパルス併用時の照射条件の最適化を目的として、摘出したササミを用いた基礎実験を行った。そのため、血流のない筋肉組織に対する超音波エネルギーによる急性期の熱凝固のみを評価している。翻れば現段階では血流による冷却効果に対する考慮は十分ではなく、特に大血管近傍等の血流による高い冷却効果が予想される部位について

は凝固体積の減少が考えられる。この点について、実際の治療の際に超音波診断装置やMRI (magnetic resonance imaging) などによるモニタリングが不可欠である。

結 論

本研究では、現在の集束超音波治療の問題点であった長い治療時間と皮膚表面の熱傷を解決すべく、トリガーパルスを併用した新たな集束超音波治療法の検討を行った。ササミを用いた基礎実験の結果、トリガーパルスの併用によるキャビテーション圧壊の誘発、凝固体積増加と形状変化、組織表面の凝固の回避を実現するための最適な新規照射条件が得られた。その結果、副作用が少なく、さらに治療時間の短縮が可能となる集束超音波治療法の開発を前進させる知見が得られた。

謝 辞

本研究の実施にあたり、先端工学外科学分野教授伊関

洋先生, 助教吉光喜太郎先生, 東京動物医療センター院長石井宏志先生, 松浦巧先生, 小寺祥平先生, そしてスタッフの多大なる協力を得た。ここに謝意を表す。また, 本研究の一部は, 最先端研究開発支援プログラム, 経済産業省工業標準化推進事業委託費, NEDO「疾患動物を用いた新規治療機器の安全性・有効性評価手法の開発」の一環として実施したものである。

開示すべき利益相反状態はない。

文 献

- 1) **Kennedy JE**: High-intensity focused ultrasound in the treatment of solid tumours. *Nat Rev Cancer* **5**: 321-327, 2005
- 2) **ter Haar GR**: High intensity focused ultrasound for the treatment of tumors. *Echocardiography* **18**: 317-322, 2001
- 3) **Fan TY, Zhang L, Chen W et al**: Feasibility of MRI-guided high intensity focused ultrasound treatment for adenomyosis. *Eur J Radiol* 2011, doi: 10.1016/j.ejrad.2011.05.036, Published online (accessed on Apr 4, 2012)
- 4) **Frenkel V, Kimmel E, Iger Y**: Ultrasound-induced cavitation damage to external epithelia of fish skin. *Ultrasound Med Biol* **25**: 1295-1303, 1999
- 5) **Rosenthal I, Sostaric JZ, Riesz P**: Sonodynamic therapy—a review of the synergistic effects of drugs and ultrasound. *Ultrason Sonochem* **11**: 349-363, 2004
- 6) **Kim YS, Rhim H, Choi M et al**: High-intensity focused ultrasound therapy: an overview for radiologists. *Korean J Radiol* **9**: 291-302, 2008
- 7) **Frenkel V, Li KC**: Potential role of pulsed-high intensity focused ultrasound in gene therapy. *Future Oncol* **2**: 111-119, 2006
- 8) **Takagi R, Yoshizawa S, Umemura S**: Cavitation inception by dual-frequency excitation in high-intensity focused ultrasound treatment. *Jpn J Appl Phys* **49**: HF21, 2010
- 9) **Inaba Y, Yoshizawa S, Umemura S**: Coagulation of large regions by creating multiple cavitation clouds for high intensity focused ultrasound treatment. *Jpn J Appl Phys* **49**: HF22, 2010
- 10) **Hundt W, Yuh E, Steinbach S et al**: Mechanic effect of pulsed focused ultrasound in tumor and muscle tissue evaluated by MRI, histology, and microarray analysis. *Eur J Radiol* **76**: 279-287, 2010
- 11) **Feril LB Jr, Kondo T, Cui ZG et al**: Apoptosis induced by the sonomechanical effects of low intensity pulsed ultrasound in a human leukemia cell line. *Cancer letters* **221**: 145-152, 2005
- 12) **Hundt W, Yuh E, Steinbach S et al**: Comparison of continuous vs. pulsed focused ultrasound in treated muscle tissue as evaluated by magnetic resonance imaging, histological analysis, and microarray analysis. *Eur Radiol* **18**: 993-1004, 2008