

論文内容の要旨

論文題目 集束超音波を用いた低侵襲静脈瘤治療に関する基礎研究

指導教員 宮田 哲郎 准教授

東京大学大学院医学系研究科

平成 19 年 4 月入学

医学部博士課程

外科学専攻

鈴木潤

背景

下肢静脈瘤に対し、大・小伏在静脈に対するストリッピング(抜去)手術、瘤化した表在静脈分枝の局所切除、および原因穿通枝の結紮切離が手術治療として行われてきたが、近年種々の低侵襲治療デバイスが実用化され手術治療に代わり使用されている。伏在静脈不全を対象としたレーザー(EVLT)、ラジオ波(RF)の治療では従来のストリッピング術と同等の成績を示した文献が多数見られるようになった。しかし原因穿通枝に対する新しい低侵襲治療法はなく、その開発が望まれてきた

集束超音波(High Intensity Focused Ultrasound; HIFU)は生体組織に害を与えずに透過し、焦点局所の温度上昇により標的組織にのみ加熱凝固壊死を発生させる。EVLT、RFも

熱による組織変性が機序であり、HIFU でも同様に血管閉塞が可能と考えられる。これまで HIFU を血管閉塞手法として検討したものは細径血管を対象とした動物実験と Pichard による切除静脈瘤での実験がある。後者は切除した静脈瘤の弁部に HIFU を照射し、周径を縮小することで弁機能を回復させる試みを検討していた。しかし、臨床への応用は進められていなかった。

HIFU の特性を生かすことで有用な静脈瘤治療手段になると考えられることから、その有用性を検討した。

検討 I. In-vitro での静脈片への照射条件の検討

手術で摘出した静脈を用い、HIFU により静脈閉塞を惹起するために望ましい条件を in-vitro で検討した。

I-1 HIFU 照射による焦点周囲の温度測定実験

生理食塩水(NS) 1ml へ照射時の温度変化を測定した。

1.67MHz HIFU ピエゾトランスデューサ (PzT) を以下の検討に用いた。焦点において 150, 300, 600, 900, 1300, 1800W/cm² の焦点強度で 60 秒間照射し温度を測定した。焦点から PzT 方向に 0.5、1.0、2.0、3.0、4.0、5.0mm の位置と、焦点から軸に垂直に 0.5、1.0、2.0、3.0mm の位置で 300, 600, 900, 1300W/cm² の焦点強度で 60 秒間温度を測定した。

焦点付近の有意義な温度上昇が認められたが、NS 全体の温度上昇は組織変性を惹起するには不十分だった。焦点の温度上昇度が 50°C でも焦点から 2mm 離れると 4°C の温度上昇しか得られなかった。

I-2 静脈片の熱凝固壊死発生条件測定実験

拡張部では内部の生理食塩水の加熱による全周性の変化を、圧迫部では前後壁に変化をおこすことを目的とした。

静脈拡張部と圧迫部へ 600, 900, 1300, 1800W/cm² の焦点強度で 20 秒間照射を行い、有効な変化が得られるか評価した。組織学的評価をピクロシリウスレッド染色 (PSR 染色) (偏光顕微鏡下) で行った。

拡張した静脈では血管閉塞に目的とした組織学的変化を認めなかった。血管を圧迫した場合、目的とした組織学的変化を得た。

結論

管腔を保った場合、検討した条件では組織加熱変性に要する熱量は得られなかった。静脈を圧迫することで、静脈閉塞を惹起しうる壁の加熱変性が得られると確認された。

検討 II. 皮膚熱傷減少を目指した皮膚処理条件の検討

実験動物に照射する際の皮膚の状態について検証し、経皮的 HIFU 照射時に皮膚熱傷を避けるための皮膚処理条件を検討した。

II-1 組織の吸収係数測定

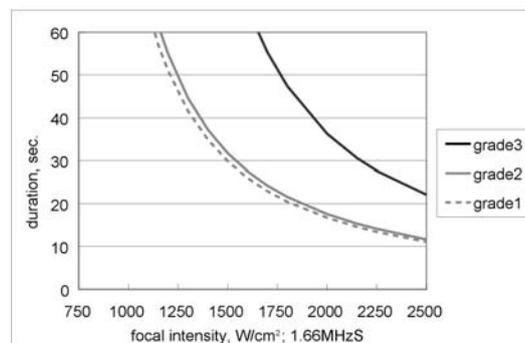
脱気 NS 中のウサギ組織 (皮膚、皮下組織、筋肉、3 度熱傷皮膚) を透過した音圧と、水中伝導での音圧を比較して吸収係数を算出した。1 検体につき 9 か所を測定してその平均値を算出した。

皮膚は 6.9±2.7dB/cm、3 度熱傷の皮膚は 21.0±2.2dB/cm、皮下組織は 2.5±0.8dB/cm、筋

肉は $3.6 \pm 2.1 \text{ dB/cm}$ だった。

II-2 HIFU 照射時の温度分布推定と皮膚熱傷出現予測

ウサギ腹壁への HIFU 照射時の計算検討を、まず生体熱輸送方程式で温度分布の経時的推定を行い、その結果から損傷係数によって皮膚熱傷出現を予測した。



ウサギ腹壁に対する照射時の熱傷出現予測を示す(図)。

II-3 ウサギ腹壁への HIFU 照射、皮膚処置に関する検討

どの皮膚処理過程が熱傷出現に影響するかを検証した。検討項目は①除毛フォームによる除毛の有無、②石鹸による洗浄の有無、③HIFU 照射までの脱気水による浸水の有無、④十分な脱気水がトランスデューサ接触面に存在する状態と、脱気された超音波検査用ゲルがトランスデューサ接触面に存在する状態との比較、とした。1.67MHzPzT を用い、ウサギの腹壁に対し処置を全て施したコントロール群と4項目のうち1つを省いた処理省略群を割り当て 1800 W/cm^2 、20 秒、焦点を皮下 5mm として 12 回ずつ HIFU を照射した。熱傷は 1 度以上をカウントした。

体毛除去が不十分であると、熱傷は有意に出現した(処理省略群 11/12vs コントロール 3/11; $p < 0.001$)。その他の項目は差を認めなかった。

結論

HIFU の合併症である皮膚熱傷を避けるために、特に体毛の十分な除去を中心とした照

射前の皮膚処理を丁寧に行うことが重要である。

検討 III. ウシ血清アルブミン (BSA) 加ポリアクリルアミドゲルを用いた加熱変性域の検討

計算検討は気体の影響が加味されず、予測より大きくなると言われる。我々の経験上、想定した位置に加熱凝固壊死が得られないことも経験された。BSA 加ポリアクリルアミドゲル (BSA ゲル) を使用し、照射による加熱変性の拡大様態と位置を検討した。

III-1 BSA ゲルの吸収係数測定

7, 14, 21, 28% の BSA ゲルと変性させた 14% BSA ゲルを作成した。

検討 II-1 と同様に吸収係数を求めた。

7, 14, 21, 28% の BSA ゲルと変性 14% BSA ゲルの吸収係数はそれぞれ $0.33 \pm 0.04 \text{ dB/cm}$ 、 $0.56 \pm 0.11 \text{ dB/cm}$ 、 $0.64 \pm 0.06 \text{ dB/cm}$ 、 $0.87 \pm 0.02 \text{ dB/cm}$ 、 $2.36 \pm 0.79 \text{ dB/cm}$ であった。

III-2 BSA ゲルへの HIFU 照射: 予測値との比較検討

照射により生じた変性領域と計算値との比較を目的とした。

1.67MHzPzT を以下の検討に用いた。14% BSA ゲルに 900, 1050, 1300, 1500, 1800, 2150, 2500, 3000W/cm² の焦点強度でそれぞれ 5, 10, 20, 30, 60 秒間、焦点を BSA ゲル表面から 10 mm のゲル内とし照射した。各条件での変性の長軸長、変性の中心点から焦点の距離を測定した。照射による予測値は吸収係数 0.56 dB/cm と 2.36 dB/cm の BSA ゲルを想定し、生体熱輸送方程式で温度分布を推定して 65°C に達した範囲を変性した領域とみなし、実測と同部位を算出した。実測値と予測値の結果を比較した。

長軸長は実測値が大きく、変性の中心点から焦点の距離は実測値と想定値で 1.5-3.0mm 異なり、実際は PzT 側へ移動していた。

結論

BSA ゲルは HIFU 照射により生じる変性領域の観察において一定の有用性を持っている。しかしその結果をもとに in vivo において再評価する必要がある。

検討 IV. 皮下注射の熱傷予防効果の検討

皮膚とその直下にある対象物間のヒアルロン酸溶液(HA)皮下注射が皮膚熱傷予防手段となるか検証した。

IV-1 HA と NS の物性測定

HA と NS の物性値の差異の検証を目的とした。0.4%、0.2%HA と NS 生理食塩水の吸収係数と音速、密度、比熱、熱伝導率を測定した。

各溶液を厚さ 10mm の直方体容器に封入し、検討 II-1 と同様に吸収係数を測定した。その到達時間から音速を算出した。1 検体につき 12 か所を測定してその平均値を算出した。溶液の熱物性の検証は密度、比熱、熱伝導率の測定を行った。密度は同体積の試料と蒸留水の重量を比較することで算出した。蒸留水は 27°C であった。27°C における水の密度は 0.996512 とした。5 回計測しその平均値を算出した。比熱は示差走査熱量計を用いて測定した。3 回計測しその平均値を算出した。熱伝導率は熱物性測定装置を用いて測定した。5 回計測しその平均値を算出した。

HA 濃度が高くなるにつれ音速と熱伝導率、比熱が低くなる傾向だった。音響学的物性、

熱物性とも差は認められなかった。

IV-2 溶液への HIFU 照射による温度測定

HIFU 照射時の HA と NS の差異の検証を目的とした。1.67MHzPzT を以下の検討に用いた。検討 I-1 と同様の実験系を用いた。各溶液 1ml の照射野の温度測定を行った。焦点において $600\text{W}/\text{cm}^2$ の焦点強度で 60 秒間照射し温度を測定した。焦点から PzT 方向に 0.5、1.0、2.0、3.0、4.0、5.0mm の位置と、焦点から軸に垂直に 0.5、1.0、2.0、3.0mm の位置で $600\text{W}/\text{cm}^2$ の焦点強度で 60 秒間の温度を測定した。

温度上昇度は 0.4%HA、0.2%HA、NS の順で高かった。3mm 離れた地点ではそれぞれ約 1°C 上昇した。

IV-3 皮下注射および皮膚冷却による皮膚熱傷抑制効果の検討

4kg の日本白色種ウサギ(オス)の腹壁を対象とし 0.2%HA の皮下注射と皮膚冷却による皮膚熱傷抑制効果を検討した。皮膚処理後、ウサギ腹壁をランダムに皮下注射と冷却の有無で 4 群に分けた。450, 600, 750, 900, 1050, 1300, 1500, $1800\text{W}/\text{cm}^2$ の照射強度で 20 秒間、皮下 5mm を焦点として照射し、筋層に生じた熱凝固壊死巣と皮膚熱傷(1 度以上)をカウントした。

皮下注射により常に筋層内凝固壊死出現率の方が高く維持された。冷却により加熱凝固壊死巣と熱傷の出現がともに抑制された。

結論

皮下注射は HIFU 治療時の皮膚熱傷予防手技として有用である。ヒアルロン酸溶液を用

いても目的とする HIFU 照射に影響は認めなかった。

検討 V. 静脈変性閾値の測定

血管壁の熱物性は不明である。Thermal dose (t_{43}) は暴露温度とその暴露時間の関数で示され、与えられた熱量を 43°C で加熱した場合に要する暴露時間として表すものである。

照射条件の計算検討に必要な静脈壁の熱物性を測定した。

V-1 静脈壁の熱伝導率測定

静脈瘤手術由来の大伏在静脈を 3cm 長に切断したものをを用いた

熱物性測定装置を用いて測定した。5 回計測しその平均値を算出した。

静脈壁の熱伝導率は $0.22 \pm 0.02 \text{ W/m/K}$ だった。

V-2 加熱変性モデル測定値からの thermal dose 計算

静脈の加熱変性モデルは $80^\circ\text{C} \times 5, 10, 20$ 秒間、 $75^\circ\text{C} \times 5, 10, 20$ 秒間、 $70^\circ\text{C} \times 5, 10, 20, 30$ 秒間、 $65^\circ\text{C} \times 20, 30, 40$ 秒間、 $60^\circ\text{C} \times 30, 60$ 秒間静脈片の内腔に加熱した NS を注入することで作成した。標本は PSR 染色し偏光顕微鏡下で観察した。静脈壁内に変性部位と正常部位の境界を認めた検体で血管壁厚と変性深度を測定した。この境界の経時温度を円筒の熱伝導方程式から推定し血管壁の thermal dose を導いた。

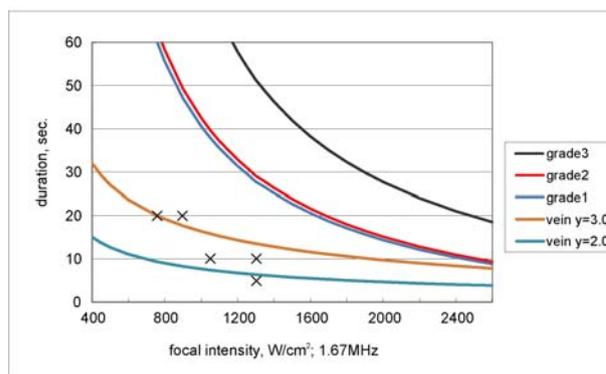
$80^\circ\text{C} \times 5, 10$ 秒間、 $75^\circ\text{C} \times 10$ 秒間、 $70^\circ\text{C} \times 10, 20, 30$ 秒間、 $65^\circ\text{C} \times 20, 30, 40$ 秒間加熱した静脈壁で、有効な加熱変性と正常部位の境界を認めた。静脈壁の thermal dose は $t_{43} = 157.61 \pm 65.83 \text{ eq min}$ だった。

検討 VI. In-vivo における静脈への照射効果の検討

ウサギ外頸静脈を対象とした経皮的 HIFU 照射を行い、これまでの検討に基づいて皮膚熱傷を予防しつつ血管の閉塞が得られるかを検討した。

VI-1 HIFU 照射条件の決定

生体熱輸送方程式から HIFU 照射時の熱分布を推定し、皮膚熱傷出現は損傷係数、血管変性は検討 V で求めた thermal dose を用いて予測した。



予測結果を図に示す。×を動物実験時の検討強度とした。

VI-2 実験動物と HIFU 照射

4kg のウサギ(おす、日本白色種)を用いた。ウサギの外頸静脈は皮下 2-3mm に存在し径は 5mm 程度である。ウサギは麻酔後、頸部に皮膚に照射前処置を行った。皮膚処理後、0.2%HA を皮下注射した。左 EJV に照射し、右を対照とした。EJV を圧迫後、その奥 2mm を焦点とし 1.67MHzPzT で照射した。右 EJV は、照射以外は左側と同様の処置を行った。

VI-2-1 外頸静脈を照射対象とした血管閉塞についての短期的検討

HIFU による短期的変化の観察と条件選定を目的とした。750W/cm²×20 秒、900W/cm²×20 秒、1050W/cm²×10 秒、1300W/cm²×5 秒、1300W/cm²×10 秒の照射条件で 20 回照射した。各群のはじめの 2 羽は照射後すぐに評価し、残り 3 羽は照射後圧迫し 3 日後に評価した。皮膚熱傷は 1 度以上とした。切除した静脈を HE 染色と PSR 染色で組織学的評価を行

った。

1300W/cm²×10 秒では 80%で皮膚熱傷を生じず静脈が閉塞した。その他の群では、750W/cm²×20 秒、900W/cm²×20 秒、1050W/cm²×10 秒で 40%、1300W/cm²×5 秒で 20%だった。全閉塞例で EVLT や RF 後と同様の壁の加熱変性を認めた。

VI-2-1 外頸静脈を照射対象とした血管閉塞についての中期的検討

HIFU による血管閉塞について中期的変化の観察を目的とした。

1300W/cm²×10 秒で 7 羽に照射した。予定照射域の画像変化が得られるまで照射を行った。照射後圧迫し 3 日後に解除、照射側の閉塞を確認した。照射 1 か月後に静脈造影、エコー、組織学的 (HE 染色、PSR 染色) に評価した。

全例閉塞したが、1 か月後の閉塞維持は 7 例中 1 例だった。全再疎通例で狭窄を認めた。組織学的に、閉塞例で内腔は壁の接着のため不明瞭であり、再疎通例では内皮細胞が認められた。

結論

In vivo 検討により、HIFU 照射によって静脈閉塞を惹起できた。組織学的には EVLT や RF に認められる所見と同様であった。しかし実際に使用する機器としての最適化を更に要すると考えられた。

まとめ

検討結果をまとめると以下のようになる。

○管腔内の液体に対し照射した場合、組織加熱変性に要する熱量を得るには長時間の照射を要する。加熱される液体は交通が遮られている必要がある。高強度超音波の照射は、副損傷の可能性が極めて高い。

○圧迫により管腔内の液体を排除し、前後壁を圧着すると閉塞させるために有効な血管壁の加熱変性が得られた。

○HIFU 照射を空気中で行う場合、極力体毛の除去を行うべきである。

○皮下注射は HIFU 照射による加熱損傷を抑制するために有用であった。冷却が照射対象にまで影響する場合、照射対象への加熱損傷が不十分となり得る。

○血管壁の熱耐性は皮膚や皮下組織より高かった。

○HIFU を用いて皮膚熱傷を予防しつつ径 5mm 程度のウサギ外頸静脈を閉塞させることができた。組織学的変化は EVLT や RF と同様であった。今回は再疎通率が高かった要因として血管処理長が短かった可能性と種の特異性を考えている。

○中口径以上の静脈に対し HIFU による至適な閉塞手法を検証できた。

結語

集束超音波の下肢静脈瘤治療に対し適応しうる可能性が示唆された。