

## 【総説】

## 超音波治療 診断からのひろがり

佐々木 東

北海道大学大学院獣医学研究科獣医内科学教室  
 (〒060-0818 北海道札幌市北区北18条西9丁目)

## はじめに

超音波検査は非侵襲的かつ簡便であることから、臨床では欠かすことのできない診断法である。近年の超音波診断装置の技術革新によって、血行動態から腫瘍の鑑別診断を行う造影超音波検査、組織の硬さから腫瘍の鑑別診断を行うエラストグラフィ、心筋機能を解析する組織ドブラ法、さらには運動器エコーなどと、超音波診断法の適応は広がり続けている。北海道大学獣医内科学教室では滝口満喜教授の下、10年ほど前から伴侶動物医療における新たな超音波診断ツールを開拓している。これまでに肝臓および脾臓の腫瘍に対する造影超音波検査法<sup>[1,2]</sup>、膵炎に対する造影超音波検査法<sup>[3]</sup>、慢性心疾患における心機能評価法<sup>[4]</sup>などを確立してきた。

超音波診断の発展とともに、超音波治療への期待も高まってきている。超音波治療の特色は非侵襲性、つまり「刺さない、切らない」である。さらに、他の治療機器よりは低コスト、繰り返し治療が可能といった特徴から、ヒト医療のみならず獣医臨床でも超音波治療の果たす役割は十分にあると考えられる。今回は、現在実用化されているヒト医療用超音波治療法と我々が進めている研究を織り交ぜながら紹介させていただく。

## 超音波が生体に及ぼす作用

光や電磁波と同じで、超音波はエネルギーを持った波である。生体への影響は超音波エネルギーの変換方法に応じて、熱作用、機械的作用および化学作用に分類される。そして、超音波治療法にもそれらの作用に応じて3種類、熱凝固療法、破碎療法および音響化学療法がある。

## 熱凝固療法

昔、虫眼鏡でお日様の光を集めて紙を燃やしたことはないだろうか？太陽光を超音波に変えても同じことができる。

超音波による熱凝固療法は、凍結凝固療法、ラジオ波焼烙、陽子線治療などと同じ non-surgical ablation 法である。ヒト医療では集束超音波 (HIFU ; High Intensity Focused Ultrasound) と呼ばれる焼烙療法が既に臨床応用されている。これは超音波をすり鉢状に放射して焦点領域 (= 標的領域) に集中させ、短時間で焦点局所の温度を60℃以上にし、組織を凝固させる手法である (図1)。国内では前立腺肥大症と子宮筋腫に対して薬事承認があり (前者は保険適応でもある)、肝臓癌、乳癌、前立腺癌、膵臓癌、癌の骨転移などの治療に応用されている。海外では子宮筋腫および癌の骨転移の疼痛緩和に対して FDA 認証があるほか、ヨーロッパとアジアを中心に様々な癌への臨床応用が可能となっている。最近では、癌治療のみならず、本態性振戦<sup>[5]</sup>やアルツハイマー病<sup>[6]</sup>の治療法としても有望視されている。HIFU の世界的な現状は、Focused Ultrasound Foundation のホームページ ([www.fusfoundation.org](http://www.fusfoundation.org)) に詳細があるので、興味のある方は参照いただきたい。現時点では、獣医臨床での HIFU 治療は行われていない。現存の HIFU では焦

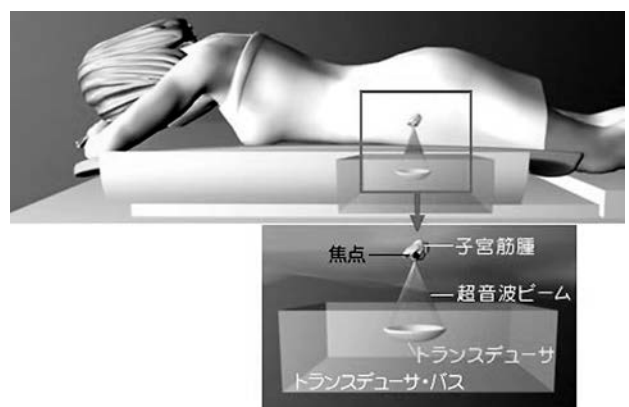


図1：子宮筋腫に対する HIFU 治療の模式図

体外から超音波を円錐状に照射し、焦点領域を焼烙する。1回の焼烙体積は小さいが、トランスデューサーを移動しながら焼烙を繰り返して筋腫全体を治療する (GEヘルスケアジャパン、Exablate2100のホームページより)。

点領域が直径およそ3 mmの楕円形であり、巨大な癌の治療にはかなりの時間がかかる。獣医臨床へ応用するためには、機器の改良・汎用化とともに、大きな癌にも通用する新たな戦略が必要である。

### 破砕療法

超音波治療の分野では最も臨床応用が進んでいる。一般的に知られているのは、体外衝撃波結石破砕術 (ESWL; Extracorporeal Shock Wave Lithotripsy) である。獣医臨床でのエビデンスは少ないが、ヒト医療では第一選択になることもある。この他には、(難治性)骨折癒合促進のための低出力パルス超音波 (LIPUS; Low Intensity Pulsed Ultrasound)<sup>[7]</sup>もヒト医療では利用可能で、保険適応でもある。LIPUSの正確な機序には不明な点もあるものの、超音波の物理的な刺激(圧力の高低)が骨基質の産生および血管新生を促すとされている。血管新生という観点では、虚血性心疾患に対する低出力体外衝撃波治療法は厚生労働省から先進医療B指定を受け、国内の数カ所で利用可能である(治療法の詳細は <http://www.cardio.med.tohoku.ac.jp/shockwave/> を参照)。

### 音響化学療法

音響化学療法は研究段階であり、我々の超音波治療法もその一つである。

キャビテーション (cavitation) という言葉を聞いたことがあるだろうか? 端的に言い表すと「超音波と気泡の相互作用により生じるすべての現象」である<sup>[8]</sup>。超音波洗浄機を使った時に湧き上がる泡や、超音波洗浄機で汚れを落とせるのは、その例である(図2)。キャビテーションは瞬間的かつ局所的に、

- (1) 高温高压状態を作り出し、
- (2) フリーラジカルや活性酸素種を生じさせ、
- (3) また、衝撃波や微小な流れを生み出す。

これら(1)~(3)の機械的また化学的な現象を治療へ応用する。(1)~(3)の作用の組み合わせやそれぞれの貢献度に

よって幾つかの治療手法が研究されている。我々は主に(3)を利用する「ソノポレーション」の獣医臨床への応用を目指して研究を行ってきた。

### ソノポレーション “sonoporation” とは

日本語では音響穿孔、「音波 “sono” で穴 “pore” を空けること」である。キャビテーションが持つ前述の(1)~(3)の作用により、気泡近くにある細胞の細胞膜透過性を一時的に変化させ、普段は細胞内に入らない物質を細

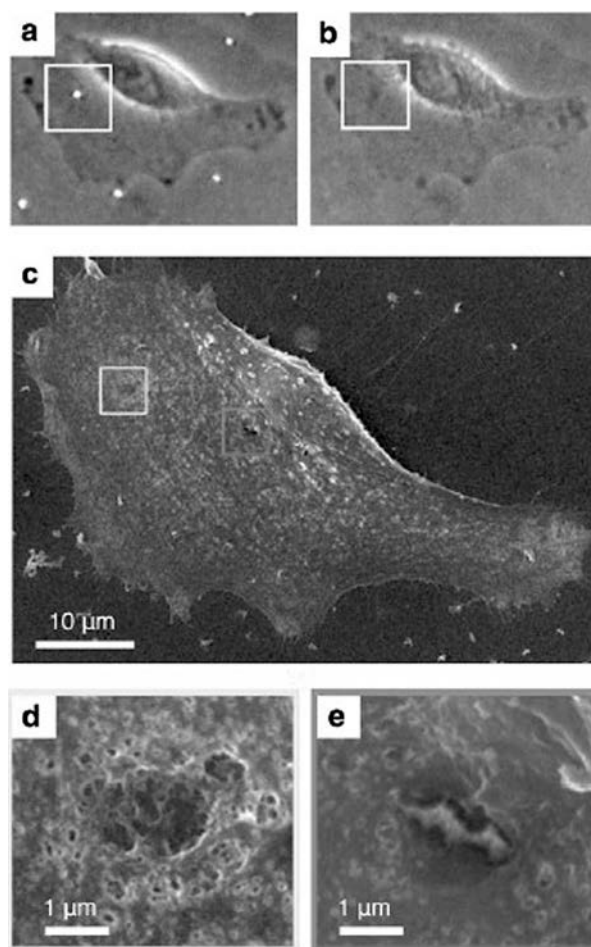


図3：ソノポレーションと細胞膜<sup>[8]</sup>

細胞に気泡が接している状態で超音波を照射すると (a)、細胞内に蛍光色素が入り核で発色する (b)。同じ細胞を電子顕微鏡で観察すると、気泡のあった部分に一致して細胞膜に穴が空いている (cの左上の□、およびd)。

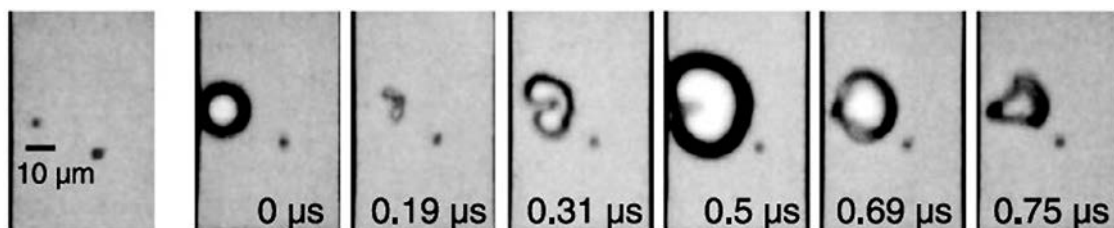


図2：キャビテーションの高速度撮影<sup>[8]</sup>

超音波照射前には数μmの気泡(左端)が、超音波照射によって膨張収縮を繰り返している。

胞内に送り込む手法である<sup>[8]</sup> (図3)。いわば、ドラッグデリバリーの一つの方法でもある。直感的に言い表すと、「泡をブクブクさせて薬を届ける」であろうか。

熱凝固療法と破碎療法に使用する超音波治療機器は、超音波診断装置とは全く異なる特殊な治療機器である。特殊化した理由は単純で、超音波診断用装置では安全面への配慮から超音波のパワーを低く設定しており、腫瘍の焼烙や結石破碎にはパワー不足である。しかし、ソノポレーションは少し事情が違う。固めの殻に包まれた直径数 $\mu\text{m}$ の気泡が最初から存在する場合には、超音波診断装置でもソノポレーションにつながるキャビテーションを起こせる可能性が指摘されている。そこで、獣医臨床にも応用可能な、つまり特殊な機器を必要としない超音波治療法として、我々は超音波診断用装置によるソノポレーションの研究に着手することになった。

### 超音波診断装置と超音波造影剤による ソノポレーション

超音波診断用装置でソノポレーションを可能にするかもしれない「固めの殻に包まれた直径数 $\mu\text{m}$ の気泡」は、既に獣医臨床でも使われていた。それは、超音波造影剤である。最初に述べた通り、北海道大学獣医内科学教室

では造影超音波検査の適応拡大に取り組んでいる。造影超音波検査とは超音波造影剤を血管内に投与して腫瘍の良性悪性の鑑別を行う、究極の非侵襲的診断法と言える<sup>[1,2]</sup> (図4)。日本で認可を受けている第2世代超音波造影剤ソナゾイド<sup>®</sup> (第一三共) は、直径2~3 $\mu\text{m}$ のリン脂質の一重膜に包まれた難溶性ガス ( $\text{C}_4\text{F}_{10}$ ; ペルフルブタン) (図5) である。

実際に研究を開始するにあたり、超音波診断用装置でのソノポレーションの可能性を少しでも高めるため、

- (1) 表在臓器の腫瘍性疾患に対して、
- (2) 第2世代超音波造影剤ソナゾイド<sup>®</sup>と抗がん剤の存在下で、
- (3) 超音波診断装置のパワーを最大にして超音波を照射する、

という戦略を立てた。表在臓器の腫瘍性疾患として犬の甲状腺癌を念頭に、抗癌剤にはシスプラチンを選択した。

まずは培養細胞を用いた実験系でシスプラチンをソノポレーションしたところ、良好な結果が得られた。ソナゾイド<sup>®</sup>もシスプラチンも臨床的な濃度で使用し、超音波診断用装置を最大出力で1分間照射したところ、ソノポレーションの細胞生存率は62%で、シスプラチン単独

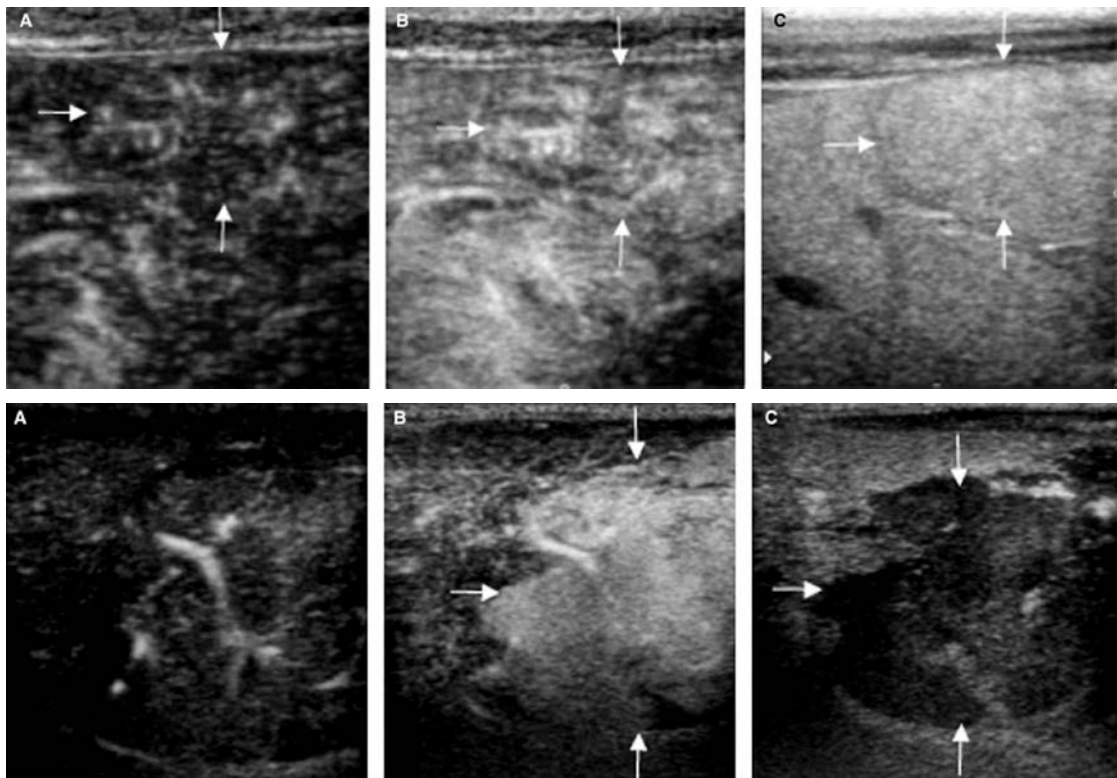
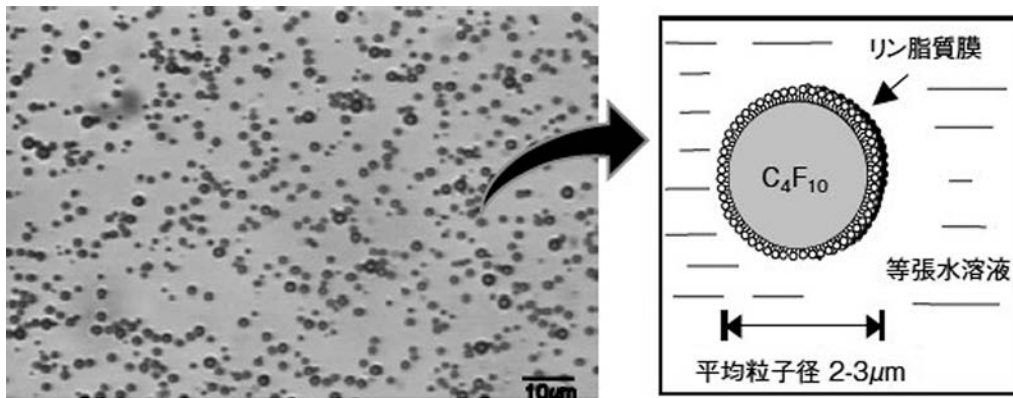


図4：犬の肝臓腫瘍の造影超音波画像<sup>[1]</sup>

周囲の肝臓組織と比較して、良性病変の結節性過形成 (上段矢印) では大きな差がない。一方、悪性腫瘍の肝細胞癌 (下段矢印) では、病変が早く造影された後、造影効果が消失する。超音波造影剤投与後の時間経過はA→B→Cの順。



① ソナゾイドの懸濁液の光学顕微鏡像 ② PFBマイクロバブルの模式図

図 5：超音波造影剤ソナゾイド®[9]

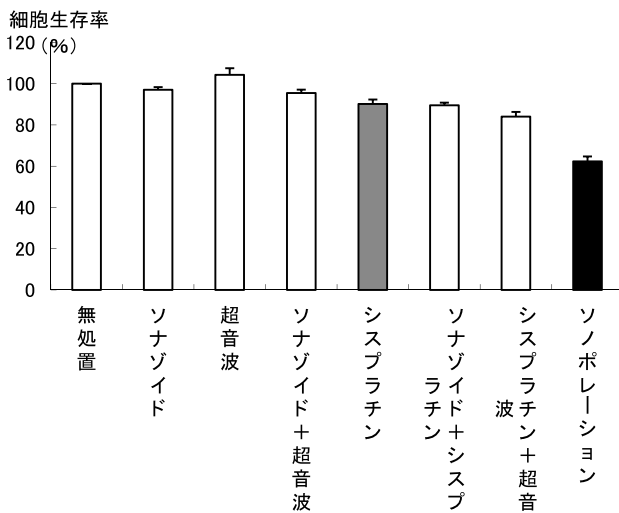


図 6：培養細胞におけるソノポレーションによるシスプラチンの効果増強

ソノポレーション（黒）の細胞生存率は62%で、シスプラチン単独（灰色）の90%より有意に低下した。

の90%より有意に低下しており、シスプラチン単独より強い細胞障害効果を示した<sup>[10]</sup>（図 6）。

続いて、マウスに培養細胞を移植した腫瘍モデルで同様の治療を行い、抗腫瘍効果を判定した。ソナゾイド®とシスプラチンを直接腫瘍内に投与し、超音波診断用装置を最大出力で1分間照射する治療を2日に1回、合計4回行った。その結果、腫瘍消失には至らなかったが腫瘍成長は遅延し（図 7）、全身的な副作用は生じなかった<sup>[11]</sup>。

このように、超音波診断装置と超音波造影剤の組み合わせにより抗癌剤をソノポレーションし、抗癌剤の効果を高めることに成功した。

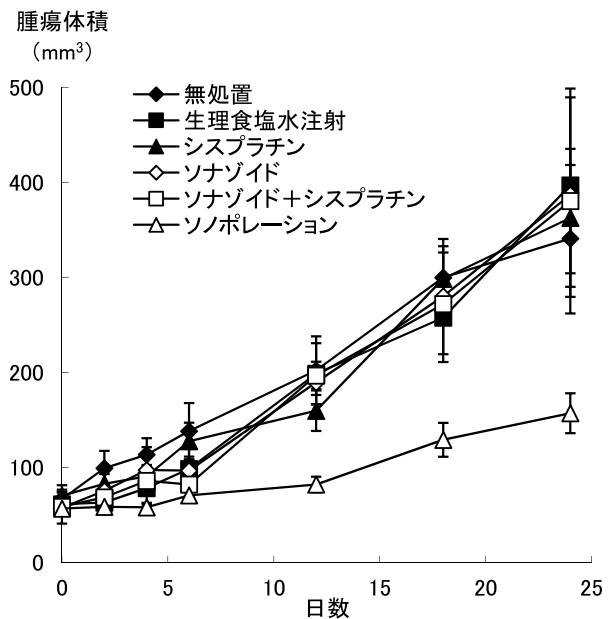


図 7：ソノポレーションによるシスプラチンの抗腫瘍効果増強

4回の治療後（0、2、4、6日目）、ソノポレーション（△）では腫瘍成長が遅延した。

### より効果の高いソノポレーションへ

さて、これですぐに臨床応用となるだろうか？研究者側としては是非お願いしたいところだが、小さなマウス移植腫瘍での成長遅延という結果では若干不安である。やはり、効果をもっと強くしなければならないだろう。そしてもう一つ。本当にシスプラチンがマウスの腫瘍細胞の中に入って抗腫瘍効果につながったのだろうか？これらを解明するために、薬剤のデリバリーを簡単に可視化できる3次元培養系を確立し、ソノポレーションがどこまで届いているかを検討することにした。まずは蛍光色素を使ってソノポレーションの広がりを確認したとこ

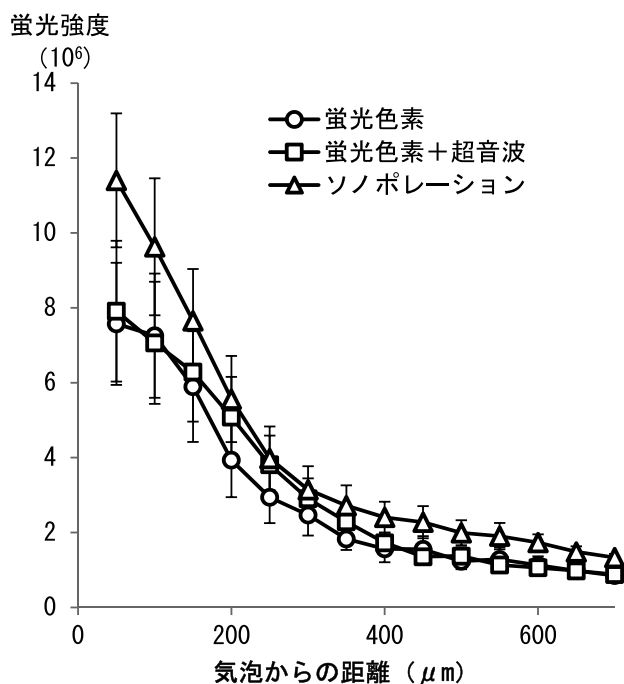


図8：ソノポレーションの距離

ソノポレーション (△) により気泡から100~150 μm の範囲で蛍光強度が上昇傾向を示した。

ろ、気泡からおよそ100~150 μm までの範囲内で蛍光強度が増加する傾向にあった<sup>[12]</sup> (図8)。つまり、ソノポレーションによって気泡が元々あった位置からおよそ100 μm までの範囲で組織中に送り込める薬剤の量は増加することが予想された。ただし、この実験では蛍光色素が細胞内にあるかどうかは確認しなかった。現在、シスプラチンを使ってソノポレーションを行い、細胞内のシスプラチン濃度を測定する実験を計画中である。これらの結果を利用して、臨床応用にも耐えうるソノポレーションへと発展する可能性があると考えられる。

### 超音波治療法の今後

超音波治療法では HIFU が最も脚光を浴びており、癌治療および脳神経疾患への応用が進むと考えられている。しかし、獣医臨床に HIFU が導入されるかは定かでない。そう考えると、超音波診断装置と超音波造影剤、抗癌剤を組み合わせることができるソノポレーションは、獣医臨床へ応用できる可能性を秘めているのではないだろうか。なんといいてもお手軽である。さらに、超音波診断用装置で病気を診断してそのまま治療できれば、いわゆる診断と治療の融合 “theranostic” を実現できる。獣医臨床ではヒト医療からの外挿が多いが、獣医発のヒト医療技術が誕生するかもしれない。

### 謝 辞

今回紹介した研究のうち、超音波診断用装置のソノポレーションでは北海道大学獣医内科学教室の滝口満喜教授、北海道大学情報科学研究科の工藤信樹准教授のお力添えを頂いた。また、ソノポレーションの広がり研究はオランダのユトレヒト大学病院放射線科 Chrit Moonen 教授の下で行った。お三方に感謝致します。最後に、物理の混じった基礎的な内容の中、ここまで読んでくださった皆様にお礼申し上げます。

### 引用文献

- [1] Nakamura N, Takagi S, Sasaki N, Bandula Kumara WR, Murakami M, Ohta H, Yamasaki M, Takiguchi M: Contrast-enhanced ultrasonography for characterization of canine focal liver lesions, *Vet Radiol Ultrasound*, 51, 79-85 (2010)
- [2] Nakamura K, Sasaki N, Murakami M, Bandula Kumara WR, Ohta H, Yamasaki M, Takagi S, Osaki T, Takiguchi M: Contrast-enhanced ultrasonography for characterization of focal splenic lesions in dogs, *J Vet Intern Med*, 24, 1290-1297 (2010)
- [3] Lim SY, Nakamura K, Morishita K, Sasaki N, Murakami M, Osuga T, Yokoyama N, Ohta H, Yamasaki M, Takiguchi M: Quantitative contrast-enhanced ultrasonographic assessment of naturally occurring pancreatitis in dogs, *J Vet Intern Med*, 28, 496-503 (2014)
- [4] Nakamura K, Osuga T, Morishita K, Suzuki S, Morita T, Yokoyama N, Ohta H, Yamasaki M, Takiguchi M: Prognostic value of left atrial function in dogs with chronic mitral valvular heart disease, *J Vet Intern Med*, 28, 1746-1752 (2014)
- [5] Elias WJ, Huss D, Voss T, Loomba J, Khaled M, Zadicario E, Frysinger RC, Sperling SA, Wylie S, Monteith SJ, Druzgal J, Shah BB, Harrison M, Winterark M: A pilot study of focused ultrasound thalamotomy for essential tremor, *New Engl J Med*, 369, 640-648 (2013)
- [6] Burgess A, Dubey S, Yeung S, Hough O, Eterman N, Aubert I, Hynynen K: MR imaging-guided focused ultrasound targeted to the hippocampus opens the blood-brain barrier and improves pathologic abnormalities and behavior, *Radiology*, 273,

- 736-745 (2014)
- [7] Watanabe Y, Matsushita T, Bhandari M, Schemitsch EH: Ultrasound for fracture healing; Current Evidence, J Orthop Trauma, 24, S56-S61 (2010)
- [8] Kudo N, Okada K, Yamamoto K: Sonoporation by single-shot ultrasound with microbubbles adjacent to cells, Biophys J, 96, 4866-4876 (2009)
- [9] 松村 学、杉原 博: 超音波検査用造影剤ベルフルブタン (ソナゾイド<sup>®</sup>注射用) の基礎および臨床試験成績、日薬理誌、130、413-420 (2007)
- [10] Sasaki N, Kudo N, Nakamura K, Lim SY, Murakami M, Bandula Kumara WR, Tamura Y, Ohta H, Yamasaki M, Takiguchi M: Activation of microbubbles by short-pulsed ultrasound enhances the cytotoxic effect of *cis*-diamminedichloroplatinum (II) in a canine thyroid adenocarcinoma cell line *in vitro*, Ultrasound Med Biol, 38, 109-118 (2012)
- [11] Sasaki N, Kudo N, Nakamura K, Lim SY, Murakami M, Bandula Kumara WR, Tamura Y, Ohta H, Yamasaki M, Takiguchi M: Ultrasound image-guided therapy enhances antitumor effect of cisplatin, J Med Ultrasonics, 41, 11-21 (2014)
- [12] Sasaki N, Bos C, Escoffre JM, Storm G, Moonen C: Development of a tumor tissue-mimicking model with endothelial cell layer and collagen gel for evaluating drug penetration, Int J Pharm, 482, 118-112 (2015)