

氏名	利府 数馬
学位の種類	博士 (医学)
学位記番号	乙第 846号
学位授与年月日	令和 5年 6月 29日
学位授与の要件	自治医科大学学位規定第4条第3項該当
学位論文名	音響放射力インパルスを伴う超音波の心臓照射後の不整脈について～超音波造影剤投与下での動物実験～
論文審査委員	(委員長) 教授 尾本 きよか (委員) 教授 桑田 知之 教授 西村 智

## 論文内容の要旨

### 1 研究目的

音響放射力インパルス (Acoustic radiation force impulse、以下 ARFI) を伴うエラストグラフィは剪断波 (Shear wave) を用いて組織の硬さを評価する技法である。臨床では、すでに肝臓や乳房等、臓器の硬さの評価に使用されている。ARFI の特徴は診断用超音波と比較してパルス持続時間 (Pulse Duration、以下 PD) が長いことであり、これまでの安全基準 Mechanical Index (以下、MI) では評価しきれない可能性がある。本研究の先行研究 (以下、先行研究) において、安全基準を超える MI 4.0、1.8 の ARFI 照射で超音波造影剤 (Ultrasound Contrast Agent、以下 UCA) 投与下に不整脈が発生することを報告した。しかし、先行研究のシステムでは B モード画像を確認しながら ARFI 照射を行えないという制限があり、照射部位を打ち分けることができず、より正確で臨床条件に近い条件での検討ができなかった。本研究の目的は、ARFI を伴う超音波の心臓に対する影響について、より生理的な条件下の動物実験で明らかにすることである。B モード画像を同時に確認しながら ARFI 照射ができる動物実験専用の新しいシステムを作成し、より臨床条件に近づけた低い MI で UCA 存在下にウサギの心臓へ ARFI 照射することで、

課題 1: 心臓の照射部位によって不整脈発生回数が増えるか。

課題 2: MI が不整脈発生回数に影響するか。

課題 3: UCA 投与後経過時間が不整脈発生回数に影響するか。  
について検討した。

### 2 研究方法

本研究では、B モード画像を同時に確認しながら ARFI 照射を行うことができる動物実験専用の新しいシステムを作成し、UCA 単回投与下の ARFI を伴う超音波照射によるウサギの心臓における不整脈誘発についての動物実験を行った。

ウサギ心臓に対する ARFI 照射モデルを用いて、それぞれの課題について、以下の実験を行った。

課題 1: 心臓の照射部位によって不整脈発生回数が増えるか。

実験①：a（右室）群とb（左室壁）群の比較（n=6）

実験②：a（右室）群とc（大動脈基部）群の比較（n=6）

課題2：MIが不整脈発生回数に影響するか

実験③：a（右室）群でMI0.9、1.2の比較（n=6）

実験④：b（左室壁）群でMI0.9、1.1の比較（n=6）

課題3：UCA投与後経過時間が不整脈発生回数に影響するか

実験⑤：a（右室）群でUCA静注後2分、4分の比較（n=10）

### 3 研究成果

課題1：心臓の照射部位によって不整脈発生回数が増えるか

実験①（a（右室）群とb（左室壁）群における不整脈発生数の比較）では、a（右室）群において有意に不整脈発生割合が高かった。a（右室）群とb（左室壁）群では逆方向の心室性期外収縮がみられたが、致命的な不整脈の発生はみられなかった。

実験②（a（右室）群とc（大動脈基部）群の不整脈発生数の比較）では、c（大動脈基部）群で不整脈発生割合が有意に高く（表2）、c（大動脈基部）群で発生した不整脈は94.8%（37/39）が上室性不整脈（narrow QRS）であった。

課題2：MIが不整脈発生回数に影響するか

実験③（a（右室）群への照射でMI1.2と0.9での不整脈発生数の比較）では、MI1.2で有意に不整脈発生割合が高かった。

実験④（b（左室壁）群への照射においてMI0.9、1.1で比較）では、MI1.1で不整脈発生割合は増加する傾向はあったものの有意な増加は認めなかった。

課題3：UCA投与後経過時間が不整脈発生回数に影響するか

実験⑤（a（右室）群でUCA静注後2分、4分の比較）では、UCA静注後2分で有意に不整脈発生割合が高かった。

### 4 考察

本研究では、先行研究の課題であった照射の正確性を新システム導入により克服し、UCA単回投与下のARFIを伴う超音波照射によるウサギの心臓における不整脈誘発について、より臨床に近い条件下で心臓の場所を特定した照射を行い、

1. 心臓照射部位によって不整脈発生頻度が変わること。
2. 照射部位によりMIが不整脈発生に影響を与えうること。
3. UCA投与後経過時間によって不整脈発生が有意に低下すること。

を明らかにした。

心臓の照射部位での比較では、c（大動脈基部）群、a（右室）群、b（左室壁）群の順で有意に不整脈が多く発生した。本研究ではa（右室）群、c（大動脈基部）群で右室心腔内、大動脈腔内に照射を行ったが、b（左室壁）群で左室壁に対して照射を行った。UCAとして使用しているソナゾイド®は、血中濃度よりも心筋内濃度が低いと報告されており、流血への照射となるa（右室）群、c（大動脈基部）群では、心筋への照射となるb（左室壁）群と比較してUCAの濃度が

高かった可能性があり、そのためキャビテーションが発生しやすかったのではないかと考えられた。また、a（右室）群とc（大動脈基部）群の不整脈発生数の差は、刺激伝導系の関与が想定される。c（大動脈基部）群では、洞房結節に近い刺激伝導系が刺激され、a（右室）群では房室結節やそれより末梢のプルキンエ線維が刺激され、より刺激伝導系の中核（洞房結節）に近いc（大動脈基部）群の不整脈の頻度が高かったと考えられた。c（大動脈基部）群で上室性不整脈が多く発生し、a（右室）群、b（左室壁）群では心室性不整脈が多く発生したことが、それぞれ刺激伝導系の上流および下流を刺激していることと一致していた。

a（右室）群ではMIが大きいほど不整脈発生が増えたが、b（左室壁）群ではMIが増えても不整脈発生は有意に増加しなかった。これは流血への照射であるa（右室）群ではMIの影響が大きく、心筋への照射であるb（左室壁）群ではMIの影響が少ないことが考えられた。

a（右室）群のUCA静注後2分と4分の検討では、UCA静注後2分で有意に不整脈発生頻度が高かった。ソナゾイド®は静注後2分でCmaxへ到達し、静注後4分でCmax/2となるとされており、UCA濃度が高いほうが不整脈が発生しやすいことを示唆していると考えられた。この結果はUCA濃度が高いとされる流血への照射で不整脈発生頻度が高かったこととも合致する結果であった。

現在まで心臓に対するARFIの影響を検討した研究は先行研究と本研究だけである。ARFIによる臓器損傷の検討としては、肺への照射で肺泡出血が生じるという報告や、骨への照射で温度上昇が生じる報告があり、ARFIによる生体作用については注意を要する。本研究における不整脈はUCA存在領域へのARFI照射により、UCAの微小気泡がキャビテーションを誘発することでエネルギーが発生し、プルキンエ線維などの刺激伝導系を介して生じたと考えられた。通常の診断用超音波よりも100倍PDが長いとされているARFIでは、通常臨床で用いられる安全基準内のMI強度でも照射部位によっては不整脈が発生することが明らかになり、特に心臓に近い部位への照射は致命的な不整脈発生の可能性もあり、肺泡出血、骨温度上昇の報告も合わせて、安全基準再検討の必要性が示唆された。

## 5 結論

本研究ではUCA投与下のARFI照射によるウサギの心臓における不整脈誘発についての動物実験を行い、臨床に近い条件下で心臓の場所を特定して照射し、心臓照射部位によって不整脈発生頻度が変わること、照射部位によってMIが不整脈発生に影響を与えうること、UCA投与後経過時間によって不整脈発生が有意に減少することを示した。

## 論文審査の結果の要旨

本論文は、「超音波画像下に、ARFIの心臓に及ぼす生体作用を動物実験により研究」したもので、前研究の結果をふまえ、より確実な方法でARFIの心臓に対する影響を検討したもので、新規性はあると判断できます。

ただし、提出された論文の中には、今回行った主要な動物実験、研究ではない部分が多く含ま

れており、論文のタイトルを含め、全体の構成、個々の用語の使用法、不要な部分の削除など、大幅な修正が必要と考えます。

本審査は、三回の修正再提出を行い、指摘された箇所について適切に修正されており、慎重に審議しました結果、判定は「合格」と致します。

## 試問の結果の要旨

- ・申請者利府数馬氏より「ARFIを伴う超音波が心臓に及ぼす生体作用、ならびに急性膵炎診断への臨床応用に関する系統的レビュー」について発表がなされた。
  - ・発表内容は、前半が本研究に至った背景「前研究」について詳細な内容の説明があった。次いで、今回の超音波画像をガイドにウサギの心臓にARFIを正確に照射し、心臓に対する生体作用の結果を報告した。後半はARFIによるエラストグラフィの膵疾患への応用について、系統的レビュー結果を報告した。
- 慎重に審議しました結果、試問の判定は「合格」と致します。

### 《審査委員からの質問内容》

- ・今回使用したソナゾイドは臨床で使用する量ではなく2倍量であり、なぜか。
- ・心造影の影響を調べる際に条件を統一していないのはなぜか。右室は心尖部走査で右心腔内を、一方左室は長軸像で右室を経由してしかも左室壁に照射している。条件がまったく異なっているのに、この条件下で右心系・左心系の生体影響を比較するのはいかなるものか。揃えて（再）実験すべきでないか。
- ・前研究に関する記述が28頁にわたるが、これは申請者の業績ではなく、背景に過ぎず、結果としてのせるべきではない。また、後半のレビュー（論文検索の結果）も、学位論文としてメインに扱うものではないので考察として取り扱うべきと考える。  
したがって、学位論文は今回行った動物実験を中心に記載すべきである。
- ・figure, figure legends をみても、Nが何をさしているのかわからない。5匹の動物に対して一定期間の観察を行ってようだが、その場合、あくまでも、nは5と考えるべきであり、5vs5での検定をしているのか不明である。その場合、図はエラーバーを伴ったグラフになると思われる。検討、修正が必要と考える。
- ・MI値は、通常装置により設定される数値であり、この学位論文で記載されているMI

値は推定値ではないかと思われる。その点をしっかり区物して使用すべきであり、場合によっては推定 MI 値など別の符号を使うべきである。

・ ARFI を伴う、ARFI を用いた、など表現が混在している。「ARFI を用いた」とするのが適切と思われる。すべての文章を確認し適宜修正が必要と考える。

・ 「エラストグラフィー」ではなく「エラストグラフィ」が正しい表現。要修正。

・ P6 下から 3 行目、「ARFI を伴うエラストグラフィーは、」⇒削除

・ P15 周辺臓器へ及ぼす影響として、骨への影響についてもコメントすべきである。

・ P 36、8 行目、自治医大さいたまメディカルセンターという施設は存在しない。  
自治医大さいたま医療センターではないか？

・ P41、4 行目、ドップラーではなく、ドプラが正確な記述。

・ P43、4～5 行目、図 22 の a のような～、図 22 の b のような～、これはそれぞれ、  
図 22 の b のような～、図 22 の c のような～の誤りではないか？

・ P47、12 行目、早期診断と治療が最も～の文章が意味が不明である。CT 以外の画像診断があれば、という表現がおかしいと思われる。要確認。

・ P47、16～18 行目入院時の IL-6 をの文章、2 度同様の内容を繰り返しているように見える。文章をまとめるか、表現を整理すべきと考える。

・ P50、異質性について、I2 は、通常 0-40%重要な異質性なし、30-60%、中等度異質性、50-90%実質的な異質性があるかもしれない、75-100%かなりの異質性、といった形に分類されるが、先生の表現は中等度異質性が消えている。なぜ？  
引用文献を提示した上で、正しい表記への変更が望まれる。

・ P54 冒頭、ARFI エラストグラフィーの表現、ARFI を用いたエラストグラフィ、他のものを含め、統一が必要である。

・ P55 下から 4 行目後半、「ARFI を照射が容易であったことが考えられた」、表現が不適切である。

・ P55 最後の部分、「非侵襲的で」の表現であるが、これまで先生は ARFI の生体への影響があることを話しているのに、非侵襲的というのは矛盾しないか？