

氏 名	高山 法也
学位の種類	博士 (医学)
学位記番号	乙第 864 号
学位授与年月日	令和 6 年 6 月 13 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(Acoustic Radiation Force Impulse)を伴う超音波により引き起こされる肺胞出血についての研究
論文審査委員	(委員長) 教授 桑 田 知 之 (委 員) 教授 西 村 智 准教授 鯉 渕 晴 美

論文内容の要旨

1 研究目的

本研究の目的は、音響放射力インパルス(Acoustic Radiation Force Impulse: ARFI)を利用した新たな超音波診断法である ARFI エラストグラフィの生体への安全性について検証することである。ARFI エラストグラフィは音響放射力を伴う超音波(プッシュパルス)を使用し、組織の硬度を計測する手法で、現在乳腺や肝臓領域に適用されておりその需要は世界的に増加している。ARFI エラストグラフィではプッシュパルスの照射により対象組織を後方にわずかに変位させる現象を起こし、これを計測することで組織の硬度を評価することができる。このプッシュパルスは、従来の画像診断装置で使用する超音波パルスよりもパルス持続時間(Pulse Duration: PD)が非常に長い超音波パルスであるが、このように従来のものとは異なる超音波を使用しているにも関わらず、その生体組織への影響については十分に明らかにされていない。特に気体を含む組織である肺では、超音波の非熱的作用であるキャビテーションが発生して組織損傷を引き起こすリスクがある。ARFI エラストグラフィも含めて現在臨床使用されている超音波診断装置はこのキャビテーションの起こりやすさを示す安全指標である Mechanical Index (MI)が 1.9 を超えないように制御されている。しかしながら過去の動物実験においては従来の画像診断用超音波でも条件により微小な肺胞出血を来すことが分かっていたため、これまでの超音波とは大きく性格が異なるプッシュパルスでは、その肺損傷のリスクは未知であり検証が必要と考えた。

著者はウサギを用いて ARFI エラストグラフィに比較的近い条件(MI 0.8、照射回数 30 発)で、プッシュパルス(PD 10 ms)を肺表面に照射する予備実験を行い、2016 年にプッシュパルスによる肺胞出血の第一報を行った。この実験はプッシュパルスの照射に特化した凹面振動子を使用した盲目的な照射であったが、2017 年より B モードも可能な新たな照射システムを導入し、照射部位である肺表面を B モード画像上で視認しながらプッシュパルスのフォーカス合わせることで正確な条件の照射を行うことが可能となった。これによりさらなる予備実験を行い、臨床使用されている ARFI エラストグラフィにより近い条件のプッシュパルス(PD 0.3 ms)でも肺胞出血を来すことを証明した。

本研究では、これらの予備実験の結果を踏まえて、プッシュパルスの MI 値とそれにより引き起こされる肺損傷との関連、またその閾値を調べることで ARFI エラストグラフィによる肺損傷

のリスクを検証する。

2 研究方法

本実験は文部科学省による基本指針に従い、自治医科大学動物実験委員会の承認を得たもので、実験動物として 20 羽の日本白色ウサギ(3.0±0.2kg)を用いた。

本実験で使用する ARFI を伴う超音波(プッシュパルス)照射システムには中心周波数 5.2MHz で可変フォーカスのリニアプローブが搭載されており、同一のプローブで B モードとプッシュパルス照射モードを切り替えることができる。

実験手順としてはウサギを全身麻酔下に仰臥位とした後に、気管切開を施行し、気管チューブを留置して人工呼吸管理とした。左右の上腹部(肋弓下)を中心として可及的な除毛を得た上で、リニアプローブをウサギの左右の肋弓下へあて、B モード画像で経肝的に肺底部を描出し、プッシュパルスの照射部位を決定した。呼吸変動を抑制するためプロポフォールを投与し、肺底部を静止させた状態でプッシュパルスの照射を行った。照射はウサギ 1 羽につき左右で計 2 か所の照射を行った。プッシュパルスの照射条件は、ARFI エラストグラフィを想定し、パルス持続時間を 0.3 ms、照射回数は一か所につき 30 発、照射間隔 3 秒毎とした。20 羽のウサギを、プッシュパルスの MI 値によって 3 羽ずつ 6 つのグループ(① MI 0.37、② MI 0.49、③ MI 0.58、④ MI 0.75、⑤ MI 0.84、⑥ MI 0.88)に分け、残りの 2 羽のウサギはプッシュパルスを照射しない sham とした。プッシュパルス照射後、ウサギは全身麻酔下に安楽死とし、開胸して両肺を摘出し、肺底部に肉眼的な肺損傷(red spot)の有無を確認した。red spot があればそのサイズを計測し、さらに写真撮影を行い、イメージ解析ソフトを使用し red spot の面積を計算した。さらに病理学的な評価のために、この red spot の部位を切り出して検鏡を行った。red spot の発生率および面積とプッシュパルスの MI 値との関連について統計学的処理を行い解析した。red spot を認めなかった場合は red spot の面積を 0 と定義した。さらに 5%の発生確率を閾値と定義して、その推定値を求めた。

3 研究成果

プッシュパルスの照射の前後において、いずれのウサギも全身状態は変化なく、心拍数や心電図変化、酸素飽和度の低下などは認めなかった。開胸所見としてはグループ①、②と sham では肺損傷は認めなかったが、グループ③～⑥では照射した部位に一致して肺表面に red spot と認め、病理組織標本から肺胞出血の所見を得た。いずれも気胸や血胸などの所見は認めなかった。それぞれのグループでの red spot の発生頻度とその平均面積は以下ようになった。③1/6 (1.7 mm²)、④4/6 (8.0 mm²)、⑤4/6 (11.2 mm²)、⑥5/6 (23.8 mm²)。これらを統計学的に解析すると、スピアマンの相関では MI 値と肺胞出血の大きさとの間には正の相関($r = 0.671$, $p < 0.01$)があり、ロジスティックリグレッションモデルでは肺胞出血が発生する閾値(ED05)は MI 0.5 と推定された。

4 考察

本実験における肺損傷の原因は肺胞組織の毛細血管からの出血と考えられ、その発生機序については超音波による熱的作用によるものか、非熱的作用(機械的作用)によるものかを病理標本から区別することは困難であった。しかしながら、本実験で使用したパルス持続時間 0.3 ms 程度では

組織の温度上昇は小さく、照射間隔が 3 秒毎と十分な冷却時間もあり、肺胞の毛細血管壁を変性させて出血を来すほどの温度上昇が起こった可能性は小さいと考えられた。一方、本実験では MI 値が大きくなるほど、肺胞出血の発生率やその範囲が大きくなることから、肺胞組織内でのキャビテーションの発生が主な原因であった可能性を推定する。本実験における ARFI エラストグラフィを想定したプッシュパルスによる肺胞出血の閾値は MI 0.5 であり、過去に報告された診断用超音波によるウサギの肺胞出血の閾値である MI 1.2 よりもずっと小さい。このことからパルス持続時間の長いプッシュパルスは、従来の診断用超音波に比べて肺胞出血を来しやすい可能性が示唆された。

本実験でのプッシュパルスによる肺損傷は、いずれも肺表面に局限する微小な肺胞出血であり、気胸や血胸のようにただちに臨床的に大きな意義をもつ肺損傷とは言えない。ただし基礎疾患などにより肺に脆弱性がある患者や出血傾向がある患者においては、このような微小な肺損傷であっても臨床的に問題となる可能性はあり得る。また大型の動物ほど胸膜の結合組織が厚く、肺胞出血を引き起こす MI 値の閾値も大きくなることが分かっており、現時点ではヒトにおいても同様の条件で肺胞出血を来すとは限らない。さらなる安全性の評価のためには、ヒトに近いブタなどの大動物による実験結果が必要と考えられた。

5 結論

本研究を通して、現在臨床使用されている ARFI エラストグラフィに近い条件のプッシュパルスにより肺損傷を来し得ることが明らかになった。さらにプッシュパルスの MI 値が大きくなるほど、肺胞出血の発症率や損傷範囲が大きくなることが証明され、ウサギに肺胞出血を来す閾値は MI 0.5 と示された。ARFI エラストグラフィは臨床現場において非常に有用性の高いモダリティであるが、乳腺や肝臓に近接している肺に意図しないプッシュパルスの照射が及ぶ場合、また特に今後 ARFI エラストグラフィが胸膜病変を含む肺組織に直接適応される場合には、潜在的な肺胞出血のリスクがあることを認識しておく必要がある。本研究成果は、世界的に需要が高まっている ARFI エラストグラフィの、より安全な使用のための一助になり得ると考える。

論文審査の結果の要旨

近年の医用超音波の開発技術の進歩はめざましく、これまで観察しかできなかった超音波検査において、硬さの評価などができるようになった。音響放射力インパルス (ARFI) を利用した ARFI エラストグラフィが組織の硬度を計測する新技術として、乳腺や肝臓領域で使用されるようになった。この ARFI エラストグラフィは、プッシュパルスと呼ばれる音響放射力インパルス (AFRI) を伴う超音波を使用し、対象組織を後方に変位させ、その組織の振動から発生される剪断波を計測することで硬さの評価を行うのであるが、そのプッシュパルス自体が従来の超音波診断装置で発生される超音波パルスと比べ、パルス持続時間が非常に長い特徴をもつため、従来の安全性の尺度では評価しきれないことから、薬事承認された装置でも、安全であるとは必ずしも言い切れない状況となってきた。

高山氏の研究グループは、これまで動物実験からプッシュパルスが心臓に当たることで不整脈を発生するなど、安全性に関する研究をしてきたが、今回、氏は「肺」に着目し、音響放射力インパルス（ARFI）が肺に与える影響について研究を行った。超音波の特性として、気泡に従来の装置で使用されている超音波を照射すると、キャビテーションが発生し、組織損傷を起こすリスクがあることが知られている。肺は空気で満たされた直径約 200 μ m の中空の多面体である肺胞の集合体からなる組織であり、組織内に気泡が存在している状況に近いものがある。過去に、従来の診断用超音波でさえ、動物実験で微小な肺損傷をきたす事が明らかにされており、より大きな超音波強度を持つ音響放射力インパルス（ARFI）では、どれほどの影響があるのか、日本超音波医学会の安全に関する委員会でも注目されていた。特に近年、救急 ICU の領域で肺の超音波検査(POCUS)が広く行われるようになったため、ARFI の肺への影響を明らかにすることは緊急の課題とされていた。氏はこの学位論文で、現在使用されている ARFI エラストグラフィに近い条件で、プッシュパルスによって肺損傷（肺胞出血）をきたしうることを明らかにした。さらにプッシュパルスの強度（MI 値）が大きくなるほど肺損傷の発症率や損傷範囲が大きくなることを明らかにし、肺胞出血をきたしうる閾値まで明らかにした。この研究成果は、世界的に需要が高まっている ARFI エラストグラフィの利用者に対して有益な情報を提供でき、社会に与えるインパクトは高いと考えられた。

当初提出された論文において、自身のおこなった予備研究について、関連する研究であるにもかかわらず記載されていない点、肺の傷害メカニズムについてこれまでの臓器との違い、表現や誤字等について、申請者に改訂を指導した。研究施行の倫理的配慮、方法、結果の解析、考察は十分されており、今後の超音波医療へ与えるインパクトは高いと思われ、医学博士論文に値する論文であるという点で、審査委員全員の意見の一致をみた。

試問の結果の要旨

音響放射力インパルス(ARFI)を伴う超音波により引き起こされる肺胞出血についての研究について、原著論文、学位論文をもとに、高山氏よりプレゼンテーションがなされた。その後行われた主な質疑応答、審査委員からの指摘について下記に示す。

- ① 参考論文で提示された予備実験について、学位論文に記載されていないことに関して、予備実験も含めて本研究の一部であることを指摘し、これらを含めて広く記載することで、学位論文としての価値は上がると考えられたため、修正を指示した。
- ② 実質臓器と、肺で、どのような傷害メカニズムが違うと考えているのか、について、結果から推察されること、さらに、著者の予想もふくめて、考察に記載するように指導した。
- ③ 音圧の測定方法、肺胞出血の臨床的意義について委員からの質問があり、それぞれ適切に答えた。これらについて学位論文中で適切に表記するよう指導した。
- ④ 研究背景について、冗長とならずに、かつ専門外の読者も十分理解が得られるように充実させるよう指示した。

- ⑤ ところどころ、文献を記載すべきと思われる箇所や、用語についての加筆、表現の追記等について、修正を指示した。
- ⑥ 用語の統一、誤字についての修正を指示した。

高山氏は、これまでの外科医として、超音波検査医としての経験から、この分野について豊富な知識を有しており、本研究の背景やその意義についても十分に理解していた。真摯な態度で質問には的確に答えており、試問を通じて十分な周辺の知識ならびに見識を備えていると考えられた。

以上の点から、高山氏は医学博士号を受けるに値する人物であると判断し、試問に合格とした。