

氏 名	石黒 保直
学 位 の 種 類	博士 (医学)
学 位 記 番 号	乙第 723 号
学位授与年月日	平成 28 年 12 月 12 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) を伴う超音波によるウサギ心臓の期外収縮誘発についての研究
論 文 審 査 委 員	(委員長) 教授 川 人 宏 次 (委 員) 教授 尾 本 きよか 准教授 宮 下 洋

論文内容の要旨

1 研究目的

超音波を用いて組織の硬さを計測する方法はエラストグラフィとして臨床で利用されているが、その技法のひとつとして音響放射力インパルス (Acoustic Radiation Force Impulse : ARFI) を用いるものがある。これは、持続時間の長いパルス波を用いて目的部位をわずかに変位させ、この変位量や周囲に伝搬する剪断波の速度を計測して組織の硬さを推定する。この超音波は通常診断に用いられるものより強い超音波が用いられるため、生体組織の温度上昇および組織破壊の懸念がある。

心臓においては、組織 (心筋) の硬さは有用な臨床情報になりえるため、ARFI を伴う超音波が用いられる可能性があるが、加えて、心筋血流評価のために超音波造影剤を、ARFI を伴う超音波と同時にしくは連続して使用する状況も起こりうる。微小気泡である超音波造影剤の存在下では、ARFI を伴う超音波の効果が増幅される可能性がある。肝臓や乳腺に対して超音波造影剤を投与する検査や ARFI を伴う超音波検査を行った際に超音波の照射範囲に心臓が入ることもある。強い超音波のもとでは微小気泡が破裂し高エネルギーを局所で発生するキャビテーションという現象がおこりやすくなり、心臓においては生体影響として不整脈を惹起する可能性がある。

本研究では、超音波造影剤の存在下に ARFI を伴う超音波が心臓に与える影響について、特に不整脈誘発の観点から、動物を用いて検討することを目的にしている。

2 研究方法

ARFI を伴う超音波照射には専用の振動子を用いた。振動子は口径 17.5mm、焦点距離 20 もしくは 30mm の円形凹面型である。超音波パルス照射条件としては、ARFI によるエラストグラフィを実装した超音波診断装置で実際に用いられ得る条件を考慮し、超音波の照射時間 (Pulse Duration : PD)、Mechanical Index : MI (音圧を周波数の平方根で除することで求められる、超音波の生体に与える物理的影響の指標) を変化させて行っている。なお、本研究における ARFI 照射の MI 値は世界的な規制値である 1.9 からその倍程度である 4.0 付近まで範囲を広げて実験を行った。

超音波造影剤は、ペルフルブタン (ソナゾイド R) を用いた。条件としては、造影剤投与なし、

単回静注、持続点滴の3条件を用いた。単回静注は、静注後10分から超音波照射を行っており、組織に造影剤が移行したあとを想定している。持続点滴では点滴開始後3分から超音波照射を行っており、血流中に十分な造影剤が存在していることを想定している。造影剤の投与量はそれぞれ、単回静注が0.1ml (0.8 μ IMB)、持続点滴が0.2ml (1.6 μ IMB) とした。持続点滴の場合は、0.2ml (1.6 μ IMB) 相当を30分かけて投与する速度で点滴を行った。

動物はウサギ（日本白色、オス、体重3kg）を用いた。全身麻酔下のウサギを仰臥位とし、実験を行う部位の除毛を行った。ウサギの心電図は皮下に刺入した針電極を通して記録した。超音波診断装置で心臓（左心室）の短軸像が描出できる肋間を選択、ARFIの焦点は心腔内とした。超音波用ゼリーを介してARFI照射用振動子を胸壁に密着させて照射を経皮的に行った。照射は、心電図のT波の頂点の手前30msecに存在するとされる刺激に対して感受性の高い時間帯を中心に行った。照射に伴う心電図波形の変化を造影剤の各条件について記録・集計した。MI=4.0を含む実験では大腿動脈にカニューレションし動脈圧測定も行った。

3 研究成果

PDを10msecに固定し、MIが1.8、4.0の場合でそれぞれ造影剤の有無による比較を行った実験（n=1）では、造影剤投与のない照射では、どのMIでも心電図波形の変化を認めなかった。造影剤の投与下ではMIが4.0のときにのみARFIを伴う超音波照射により心電図上に単発の狭いQRS波形を認めた。MIが1.8の実験では同様の波形を認めなかった。造影剤の投与方法では、単回静注よりも持続点滴で高頻度に追加の狭いQRS波形を認めた（単回静注：16.0%、持続点滴：70.0%）。同時に測定した動脈圧では、期外収縮のすべてに動脈圧波形の変化を伴っているわけではなかった。ARFI照射から期外収縮までの時間差は80-110msecであった。

より臨床で用いられる条件に近づけ、PDは0.3msec、MIが1.8の条件で行った実験（n=3）でも、造影剤投与のない照射では心電図波形の変化を認めなかった。造影剤投与下では、持続点滴の条件でのみ期外収縮波形を認め（持続点滴の全照射中25.0%）、ほとんどが狭いQRS波形であった。実際に照射されたタイミングの分析では、T波の頂点の手前30msec以内に照射されたかそうでないかで期外収縮波形の出現率に差を認めなかった。ARFI照射から期外収縮までの時間差は80-125msecであった。

いずれの条件でも致死性の不整脈の出現は認めなかった。

4 考察

今回の研究では、超音波造影剤投与下にウサギ心臓にARFIを伴う超音波照射をすることで、期外収縮波形が観察されており、ARFIと造影剤の相互作用が示唆された。今回の実験で致死性不整脈は観察されなかったが、超音波造影剤の投与方法（単回静注・持続点滴）を変更することで出現頻度に差があり、期外収縮波形の発生に造影剤が濃度依存的に関連していると思われる。期外収縮の発生機序としては、ARFI照射の焦点は左心室腔内であることと、持続点滴のほうが期外収縮の出現頻度が高いことから、強い超音波により血流中で微小気泡である超音波造影剤が振動したり破壊されたりしてキャビテーションが起こるきっかけになっていると推測される。心内膜直下には通常の心筋より伝導速度の速い刺激伝導系が存在するため、期外収縮の出現に関与していると思われる。左心室に対して照射をおこなってきたが、出現する期外収縮の波形は、そ

のほとんどが上室性であったため、照射部位によらず、心腔内を伝搬する刺激により、刺激伝導系のより上流から期外収縮が発生している可能性がある。ARFI を伴う超音波照射と期外収縮との間に時間差があることもこれを支持する。前半の実験で MI=1.8 で出現していなかった期外収縮が、後半の実験では出現していることについては、全照射回数の違いに加え、照射用振動子のわずかなずれやウサギの個体差も影響していると考えられる。

5 結論

超音波造影剤投与下においては、通常用いられる強度・条件の ARFI を伴う超音波照射であっても期外収縮波形が誘発されることがある。動物実験でありただちに人間に結果を外挿できないが、実臨床においてこれらの検査を行う場合は、超音波造影剤を用いた検査は ARFI を伴う超音波照射の検査後に行うなど、慎重に対応していく必要がある。

論文審査の結果の要旨

本学位論文は何を明らかにしたのか（研究内容の具体的なエッセンス）

本研究では、超音波を用いて組織の硬さを測定するエラストグラフィの一つである音響放射力インパルス (Acoustic Radiation Force Impulse; ARFI) を伴う超音波照射において、超音波造影剤併用下では微小気泡の破裂によるキャビテーションが生じ、不整脈が誘発される危険があることを明らかにした。

上記内容をどのように評価したのか

学問的意義：今後、増加するであろうと思われる造影剤投与下での ARFI を伴う超音波照射における不整脈の発生に対する警鐘として本研究は有意義であると評価する。

新規性：ARFI を伴う超音波を超音波造影剤投与下にウサギ心臓に照射することで期外収縮が誘発されることを確認している。ARFI を伴う超音波照射と組織温度、肺損傷などの研究はあるが、造影剤と不整脈発生に関連に関する研究は少なく、とくに本研究では血中濃度が維持される点滴静注下での検討がなされている点に新規性/独創性がある。また、申請者らは本研究等を通してウサギを用いた in vivo 実験系を確立しており、この点でも独創性がある。

問題点および改訂の指導内容

審査委員会からの指導内容と申請者からの回答は別紙参照。

申請者は別紙の如く、指摘に従って論文の改訂を行った。

本学学位論文としての合否の判断結果およびその理由

ARFI による超音波の応用の安全性に関する諸条件の確認という点で研究目的に意義があり、今後、増加するであろうと思われる造影剤投与下での ARFI を伴う超音波照射における不整脈の発生に対する警鐘として本研究は重要であると評価する。

以上を以て、本学学位論文として合格とする。

試問の結果の要旨

申請者による発表の具体的内容

音響放射力インパルス (Acoustic Radiation Force Impulse; ARFI)は、超音波を用いて組織の硬さを測定するエラストグラフィの一つである。この方法は組織の硬さを数値化して評価する方法として近年、臨床で広く用いられるようになってきている。しかしながら、本法では通常診断で 사용되는超音波より強いものを用いるため、組織に対する影響が危惧される。本法に超音波造影剤（微小気泡）を併用した場合、微小気泡が破裂しキャビテーションが生じ、とくに心臓においては不整脈を誘発する危険がある。本研究では、ARFI による心筋に対する不整脈誘発作用をウサギも用いた in vivo 実験において検討したもので、超音波照射時間 (Pulse duration; PD)と Mechanical Index (MI: 超音波の生体に与える物理的影響の指標)を変えた異なる条件下で、超音波造影剤の有無で不整脈が誘発されるかどうかを検討している。結果として、造影剤非投与では不整脈の誘発はなかったが、造影剤投与下では期外収縮が認められた。実臨床において超音波造影剤投与下に ARFI を伴う超音波照射を行う場合、不整脈の誘発に留意すべきである。

審査員の質疑の内容と申請者の応答

1. プローベの焦点距離は 20–25 mmとのことであるが、各実験において心腔内に焦点があっていることを確認したか？

応答：実験開始時に体表エコーで位置を確認している。

2. 点滴投与された造影剤が心腔内に均等に分布しているかどうかをリアルタイム画像で確認したか？

応答：確認していない。

3. 実験後に心臓の組織のダメージを病理で検討したか？

応答：確認していないが、他の論文では病理変化を検討した報告があり、本研究でも検討したほうがよかったと思う。

4. 造影剤の有無で血行動態に変化はなかったか？

応答：血圧、酸素飽和度を持続的に測定したが、大きな変動はなかったので血行動態は安定していたと考えている。

5. 造影剤を点滴投与することで水分負荷となった可能性がある。プラシーボとして造影剤の代わりに輸液を負荷した実験を行ったか？

応答：造影剤は 50ml を 30 分かけて点滴静注したが、コントロール群においても生理食塩水 50ml を約 30 分で点滴静注している。両群ともに循環動態に影響がなかったので over volume の影響は少ないと考えている。

6. 実験では上室性不整脈しか誘発されていないが、心腔に焦点をあてているにも関わらず、心室性不整脈が出ずに上室性不整脈がでたのはどのような理由か？

応答：キャビテーションにより瞬間的に心室内圧が上昇し心筋細胞に進展刺激が加わり、イオンチャンネルの活性化を経由して不整脈が発生する機序が考えられる。また、心室内腔でおこったキャビテーション刺激が心内膜下の刺激伝導系を刺激して期外収縮を発生させている機序も考えられる。

7. プローベの高周波電流が期外収縮を引き起こしていないか？

応答：実験計画立案の時点で問題として留意していた。対策として、心電図電極をプローベに近づけない、プローベの絶縁対策（表面をエポキシ樹脂で被覆）を行う等で対応した。

8. 本実験結果はヒトへ応用できるのか？

応答：今回の実験では造影剤はヒトで用いる血中濃度の2-4倍量となっている。今回の実験結果から造影剤の血中濃度が不整脈発生と関連しているので、超音波条件を固定して造影剤濃度の影響をみるのが課題である。なお、ヒトへ応用する場合は減衰量を補正する必要がある。

申請者の応答に対する評価

不整脈発生の原因に関する究明、心室性期外収縮が誘発されずに上室性期外収縮しか検出されていないことに関する考察、および不応期に関する考察がやや不十分であったが、他は問題なかった。

試問の可否の判断結果とその理由

今後、増加するであろうと思われる造影剤投与下での ARFI を伴う超音波照射における不整脈の発生に対する警鐘として、本研究は有意義であると評価する。

研究の背景、目的、方法、結果、考察、結論と体系的にプレゼンテーションされており、質疑に対する応答もおおむね良好に行われた。

以上より試問は合格と評価した。