

学位論文

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

申請者

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

目次

1. 背景	1
2. 検討 I. In-vitro での静脈片への照射条件の検討	7
3. 検討 II. 皮膚熱傷減少を目指した皮膚処理条件の検討	20
4. 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	35
5. 検討 IV. 皮下注射の熱傷予防効果の検討	47
6. 検討 V. 静脈変性閾値の測定	59
7. 検討 VI. In-vivo における静脈への照射効果の検討	69
8. まとめ	88
9. 結語	89
10. 参考文献	90
11. 謝辞	98

背景

下肢静脈瘤は下肢に怒張した静脈が出現し、整容的な問題のほか、静脈うっ滞による下肢浮腫、倦怠感、血栓性静脈炎、皮膚炎、色素沈着、皮膚潰瘍を生じる疾患である。大・小伏在静脈(Great/ Small saphenous vein; GSV/ SSV)あるいは穿通枝の弁不全による原発性静脈瘤と、深部静脈血栓症(Deep vein thrombosis; DVT)や深部静脈不全(Deep vein insufficiency; DVI)に続発する二次性静脈瘤にその成因から分類される(図 B- 1)。どちらにおいても治療は、下肢のうっ滞を防ぐため弾性ストッキング・弾性包帯による圧迫治療、原因となり得る生活習慣の改善、下肢挙上が保存的治療として行われる。また、外科治療として原発性静脈瘤に対し、下肢うっ滞の原因となる弁不全のある大・小伏在静脈に対するストリッピング(抜去)手術、静脈瘤化した表在静脈分枝の局所切除手術、および原因穿通枝の結紮切離が行われてきた(図 B- 2)。

近年下肢静脈瘤に対する手術治療においては、レーザー治療(Endovenous laser treatment; EVLT)(1- 4)、ラジオ波(Radiofrequency; RF)(5)、鏡視下筋膜下穿通枝結紮術(Subfascial Endoscopic Perforator Surgery; SEPS)(6)、硬化療法(7- 9)に代表される治療デバイスが実用化され、元来行われてきた手術治療に代わり使用されるようになった。EVLTとRF治療は熱による血管自体の収縮と同時に血管内皮障害により生じる血栓形成により血管を閉塞させ、従来の手術によるストリッピング手術と同等の効果を狙ったものである(1, 5)。それぞれ伏在静脈を穿刺し、カテーテルのみを用いて治療を行う。これらの治療は原則として伏在静脈不全を対象として開発され、その治療成績において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(3, 4)。

重度の下肢静脈うっ滞症例において出現する皮膚潰瘍は難治であり、その治療は長期間に及び、圧迫、下肢挙上、伏在静脈処理と穿通枝処理からなる手術治療の全てが不可欠な処置となる(10)。不全穿通枝が遺残すると潰瘍治癒の遷延、再発の原因となる(6)。穿通枝の処理は、穿通枝上の皮膚切開による筋膜上での結紮が従来の手法である。ただし重度の下肢静脈うっ滞が存在する症例では、問題となる穿通枝直上の皮膚病変が強い場合が多く、その部位で皮膚切開を置くと創治癒が遅れ、潰瘍発生につながることになる(11)。皮膚性状が悪い部位を避け、比較的良好な部位で切開し、内視鏡を用いてSEPSが行われることもある(6)が、手術という侵襲が加わる以外、病変部が下腿末梢の場合は内視鏡で

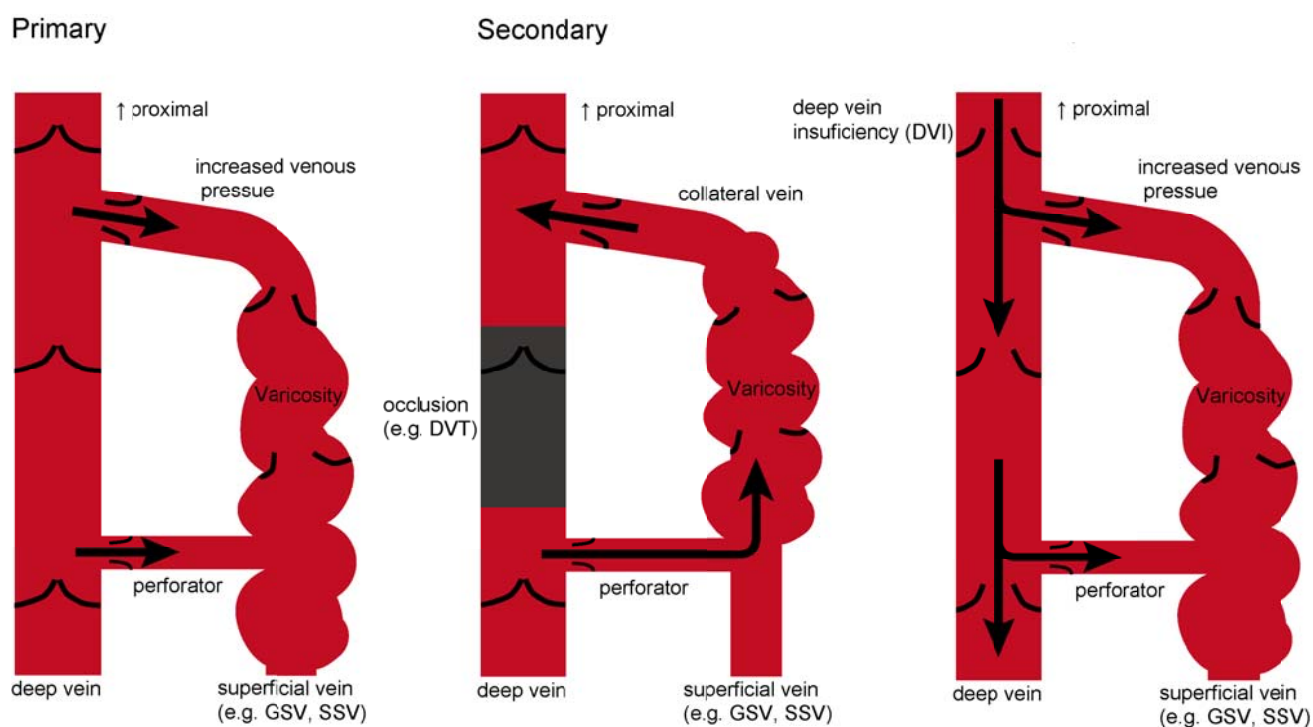


図 B- 1 下肢静脈瘤の病態

伏在静脈弁不全、穿通枝弁不全により原発性静脈瘤が生じる(左)。

二次性静脈瘤は DVT(中央)、DVI(右)に続発するもののほか、動静脈奇形でも認められる。

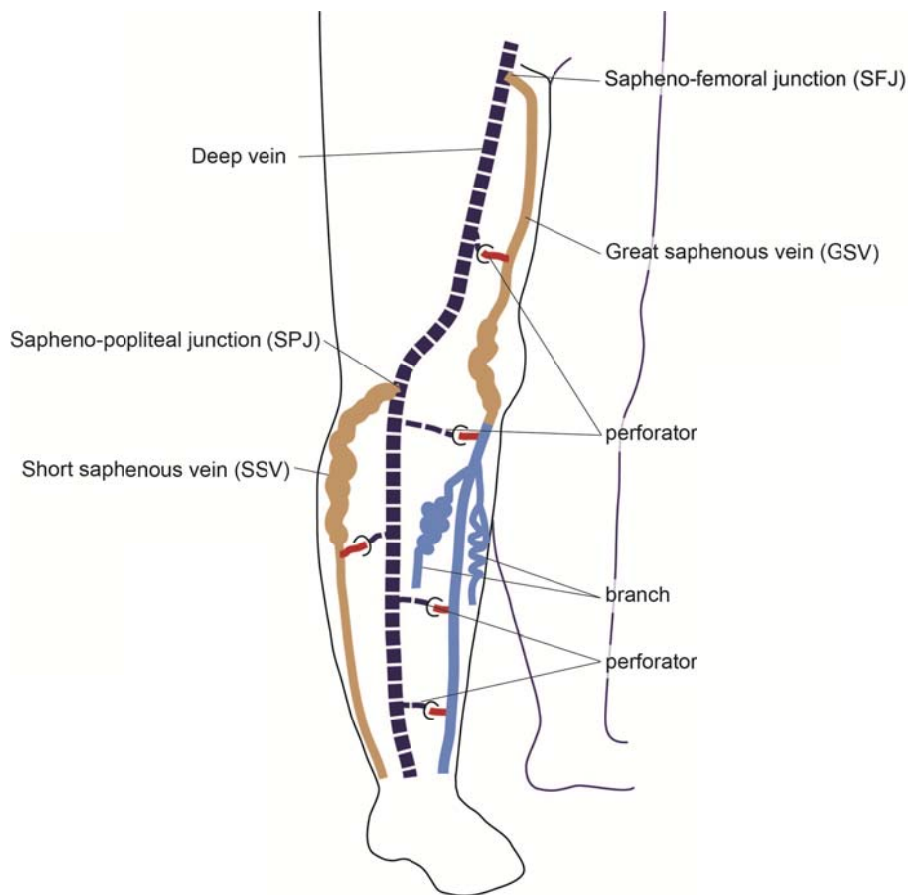


図 B- 2 下肢静脈瘤に関連する静脈系と治療適応

実線は表在静脈系、破線は簡略化した深部静脈系を示す。

黄色は大・小伏在静脈であり、ストリッピング手術、EVLT、RF が主に行われる。

水色は膝レベル以下の大伏在静脈と表在分枝であり、主に局所切除、硬化療法が行われる。

赤色は穿通枝であり、主に結紮術、SEPS が行われる。

到達できないという問題点がある。また、不全穿通枝が再発したときに SEPS による再治療は困難である(12)。最近では EVLT のデバイスを用いた穿通枝の血管内焼灼による閉塞を試みている施設もあり、それについて検討を行った論文も見られるようになってきている(13, 14)が、EVLT や RF は本来穿通枝処理に適した手技ではないため、不全穿通枝に対する新しい低侵襲治療法の開発が望まれている。われわれはこれらと異なった治療手法として集束

超音波 (High Intensity Focused Ultrasound; HIFU) を検討することとした。

HIFU は周囲組織に侵襲を与えることなく体内深部に組織壊死を安全に発生させるために用いられる技術である。HIFU は一般的に用いられている超音波と同様の原理で発生する。発生した超音波は、焦点以外の部位では生体組織に害を与えることなく透過するが、焦点においては、集束した超音波エネルギーにより局所組織の温度がピンポイントで上昇することになる。HIFU により、焦点付近の組織は 90℃以上まで過熱される。組織は 43℃で 60 分、56℃で 1 秒の熱暴露を受けると壊死するといわれており、介在する組織に対して障害を加えることなく、目的とする組織のみの加熱凝固壊死が可能となる(15) (図 B- 3)。温度上昇には主に二つの機序が関与する。一つは振動エネルギーの熱エネルギーへの変換であり、もう一つは照射途中で発生するキャビテーション気泡 (cavitation bubble) や蒸気気泡 (boiling bubble) と呼ばれる微小気泡による発熱の増幅効果である。キャビテーションとは、高い音波強度下で、組織の振幅が大きくなり陰圧が生ずる結果、気泡が発生する現象である。蒸気気泡は高温による気化で発生する。どちらの気泡も音波をより効率的に音波を熱エネルギーに変換し、組織内での HIFU による温度上昇を著明に増幅させるのである(16)。既に HIFU は前立腺肥大・癌や子宮腫瘍領域の治療分野で臨床応用されている(17- 20)。HIFU では EVLT、RF と同様に熱による血管壁の変性、内皮細胞障害によって血管閉塞すると考えられる(1, 5)。

これまで HIFU を下肢静脈瘤治療法として適応を検討したものとして、ウサギ腎動脈分枝(21)、ラット大腿動脈(22)やラット大腿静脈(23)へ照射を行い、数日後にそれぞれの照射

対象血管閉塞を得ている報告がある。これらはいずれも血流のある径 1mm 前後の血管に対して HIFU 照射を行い、血管壁の変性と血栓による閉塞を機序としていた。しかし、いずれも細径血管に対する照射による検討であり、径が太くなることで照射によって熱変性が促されないことも示唆されていた(23)。また、実際に静脈瘤となった大伏在静脈を実験に用いたものでは、Pichard ら(24)による In-vitro における実験がある。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によって弁機能を回復させる試みについての検討を行っていた。しかし、臨床への応用は進められていなかった。皮膚を障害せずに治療することができれば、下肢静脈瘤、特に穿通枝の処理に HIFU は有用な治療手段となり得ると思われる。

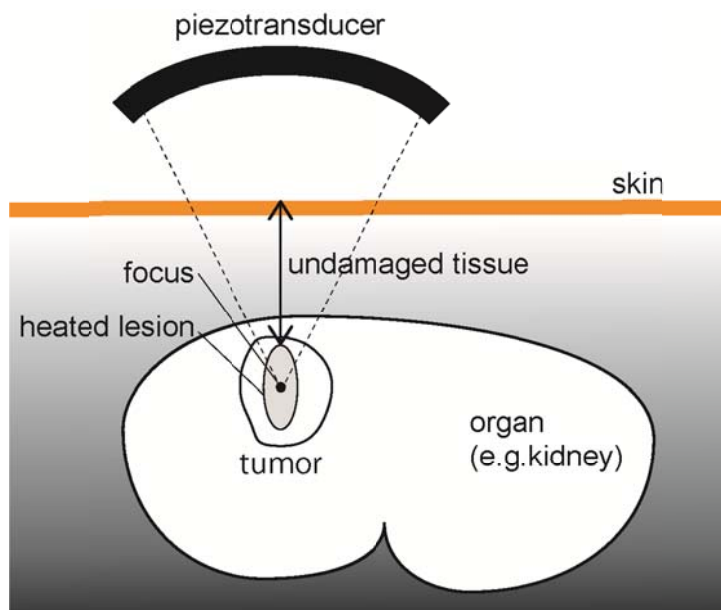


図 B- 3 集束超音波の概要。

HIFU を体外より照射する。焦点付近を中心とした高温域が発生し、組織の凝固壊死を生じさせる。焦点までの介在組織には影響を与えないとされている。高温の伝導によっても凝固壊死範囲は拡大するため、照射を継続することでも凝固壊死範囲は拡大する。音波はガスによって遮断されるため、トランスデューサと皮膚面は湿潤状態とする必要がある。

HIFU を下肢静脈瘤治療に応用する基礎研究として以下の検討 I から検討 VI までの検討を行った。静脈に対する HIFU 照射によつての閉塞を試みた in-vitro 実験は検討 I で行った。動物実験までに至るまでの様々な課題を検討 II から V までで検討し、検討 VI で動物を用いた in-vivo の検討を行った。

検討 I. In-vitro での静脈片への照射条件の検討

検討 II. 皮膚熱傷減少を目指した皮膚処理条件の検討

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

検討 IV. 皮下注射の熱傷予防効果の検討

検討 V. 静脈変性閾値の測定

検討 VI. In-vivo における静脈への照射効果の検討

この研究は東京大学医学部倫理委員会の審査・許諾(受付番号:1787)、および東京大学動物実験委員会の審査・承認(受付番号:医-P08-033、医-P10-096、医-P10-117)を受けた。この研究において使用された手術切除後静脈瘤は、実験利用について被手術患者の同意を得た。

また、この研究は日本学術振興会科学研究費補助金・基盤研究(C)の補助を受けた(課題番号 19591474)。

検討 I.

In-vitro での静脈片への照射条件の検討

静脈瘤手術時に摘出した静脈片を用いて、HIFU により静脈閉塞を生じさせるために望ましい血管形態や手法を in-vitro で検討した。

材料と方法

HIFU source

中央に照射野観察のためのリニア型超音波プローブを持つプロトタイプ 1.67MHz HIFU トランスデューサを作成した。トランスデューサの前面はプラスチック製カバーをおき、照射対象と接するカバー中央部はゴム製膜が張られる(図 I- 1)。カバー内は脱気した水で満たした。カバー内の水圧を上げることでゴム膜が膨張し、照射対象との接触時に焦点位置の調整が可能である。水温は調節可能であり、本検討では室温(24℃)に設定した。リニアプローベ(12L9A, Terason, USA)は医療用超音波診断装置(t3000/ Echo ultrasound system, Terason)に接続され、B モード画像により照射対象の検索を行うことができる。ファンクションジェネレータ(Function generator; Wave Factory WF1944A, NF Corporation, Japan)により音波信号を発生させ、アンプ(RF Power Amplifier 2100L, Electronics & Innovation, USA)で増幅して

トランスデューサの振動子へ伝導される。

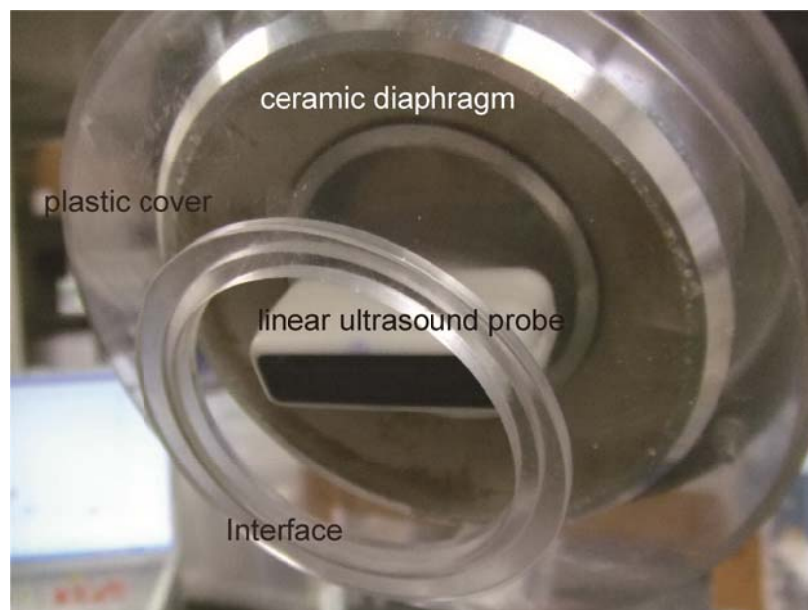


図 I- 1 HIFUトランスデューサ

周波数 1.67MHz、直径 10cm、焦点距離 7cm である。中央に径 6cm の穴があり、リニアプローブが設置される。透明なプラスチックカバーが前面に付き、この中央が照射対象との接触面となる。実際に使用する際には中央にゴム膜が張られ、カバー内部には脱気した水を満たした。

ポリアクリルアミドゲルファントム (polyacrylamide-gel phantom)

音波吸収の良い物体が照射領域近くにある場合、そこで発熱が生じることで実験結果に影響する恐れがある。このため、音吸収のほとんどないポリアクリルアミドゲルをファントムとして利用した。ポリアクリルアミドは液体であり、テトラメチルエチレンジアミン (tetramethyl-ethylenediamine; TEMED) と過硫酸アンモニウム (ammonium persulfate; AP) 溶液を混合することにより 10 分程度で硬化し、利用したい形状に形成することが可能である。その組成は、74.28%の脱気水、24.76%の 40%ポリアクリルアミド溶液、0.3%の TEMED、

0.66%の 10%AP 溶液である。音響学的特性は水に近いといわれており、ゲルの吸収係数を測定したところ 0.25dB/cm であった。

実験 1) 照射による焦点周囲の温度測定実験

径 8mm の円筒状空間をもつポリアクリルアミドゲルを作製し、この空間に脱気した生理食塩水 1ml を注入した。今回の検討ではゲル壁への接触を避けるために熱電対が可視できるよう材料には生理食塩水を用いた。この生理食塩水内に HIFU の焦点が合うように HIFU トランスデューサを配置した。生理食塩水中に熱電対を配置し、これを移動させて温度分布を測定した(図 I- 2)。実験は室温下(24℃)で行い、以下の 3 つの計測を行った。

- ① 焦点に熱電対を置き、150, 300, 600, 900, 1300, 1800W/cm² の焦点強度で 60 秒間照射し、照射中の焦点の温度上昇度を測定した。
- ② 焦点からトランスデューサの方向(direction A)に 0.5、1.0、2.0、3.0、4.0、5.0mm の距離に熱電対を配置し 300, 600, 900, 1300W/cm² の焦点強度で 60 秒間照射し、各ポイントにおける温度上昇度を測定した。
- ③ 焦点から direction A と垂直に(direction B) 0.5、1.0、2.0、3.0mm の距離に熱電対を配置し 300, 600, 900, 1300W/cm² の焦点強度で 60 秒間照射し、各ポイントにおける温度上昇度を測定した。

実験 2) 静脈片の熱凝固壊死発生条件測定実験

当院で行われた静脈瘤ストリッピング手術により摘出された大伏在静脈を用いた。切除後、静脈内腔を生理食塩水で洗浄し、静脈を 12cm 長に切離した。1 本の静脈に拡張部と圧迫部を作成しそれぞれに照射を行い、結果を比較した。静脈拡張部は、脱気した生理食塩水で 5cm 長の範囲を径 5mm に拡張させ、両端を鉗子で遮断して作成した。圧迫部は 5cm に渡り静脈の前後壁を密着させ両端に鉗子をかけ、元の状態に戻らないようにして作成した。

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

照射においては形成したポリアクリルアミドゲルに血管を固定した(図 I- 3)。拡張群は径 5mm の管腔に配置し、ガスを排除するため隙間を脱気した超音波検査用ゲルと脱気した生理食塩水で埋めた。圧迫群はゲルで血管を挟み、ガスの排除は拡張群と同様に行った。実験は室温下(25℃)で行った。

両群とも 600, 900, 1300, 1800W/cm²の焦点強度で 20 秒間照射を行った。焦点は、温度測定実験時の結果をふまえ、拡張群は血管内腔の中央から 2mm 奥、圧迫群も血管中央から 2mm 奥とした。トランスデューサ側に面した血管壁を前壁、そうでない面を後壁と定義し、肉眼的変化および組織学的検索により照射効果を評価した。組織学的評価ではピクロシリウスレッド染色を行った検体を偏光顕微鏡下で観察した(25, 26)。

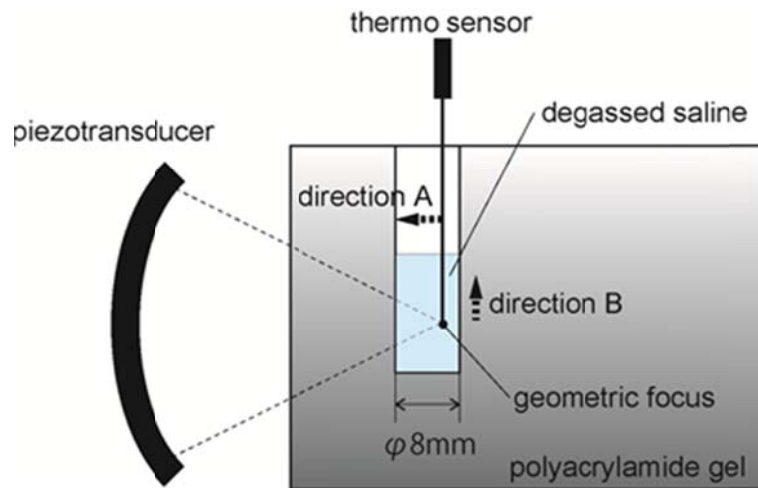


図 I-2 実験 1 の実験系

HIFU 照射による温度上昇を測定した。径 8cm の円柱状の空間を持つポリアクリルアミドゲル塊を形成し、空間には脱気した生食を注入した。空間には熱電対が配置され、空間内を移動する。また、生食内に焦点がくるようトランスデューサを配置した。

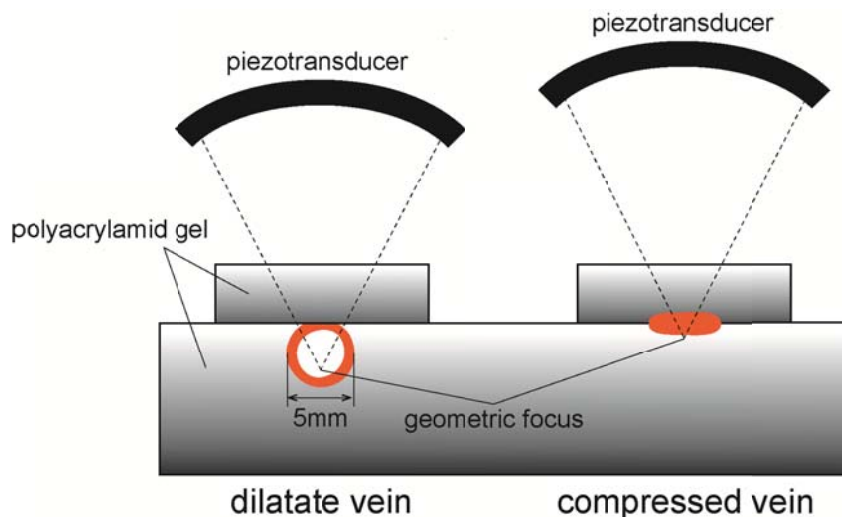


図 I-3 実験 2 の実験系

上面に径 8mm の円柱状の空洞と深さ 1mm のくぼみを持つポリアクリルアミドゲルを形成し、それぞれ拡張した静脈と圧迫される静脈を配置した。静脈とトランスデューサ接触面の間にも厚さ 10mm のゲルを配置した。ゲルと静脈の隙間は脱気した超音波用ゲルと脱気した生理食塩水で埋め、ガスを排除した。

結果

実験 1) 照射による焦点周囲の温度測定実験

焦点強度 $600\text{W}/\text{cm}^2$ 以上で照射直後に焦点での温度上昇は 19°C を超えた。 $1300\text{W}/\text{cm}^2$ では 63°C の上昇が認められた。 $300\text{W}/\text{cm}^2$ 以下では最大でも 10°C の上昇に留まった(図 I-4a)。

焦点を 0 で示す。最も高い温度は 2mm directionA 方向に移動した点で記録された。温度最高点から directionA 方向に 3mm 離れた場合、 $1300\text{W}/\text{cm}^2$ では 18°C の上昇が認められた。 $900\text{W}/\text{cm}^2$ 以下では 10°C 未満の上昇だった。(図 I-4b)

directionB 方向へ離れた場合、温度上昇は directionA に比べ極めて狭い範囲でしか観察されなかった。焦点の温度上昇度が 50°C あっても焦点から 0.5mm では約 12°C の上昇に留まり、2mm 離れると温度上昇はプラトーとなり、 4°C しか温度上昇していなかった(図 I-4c)。

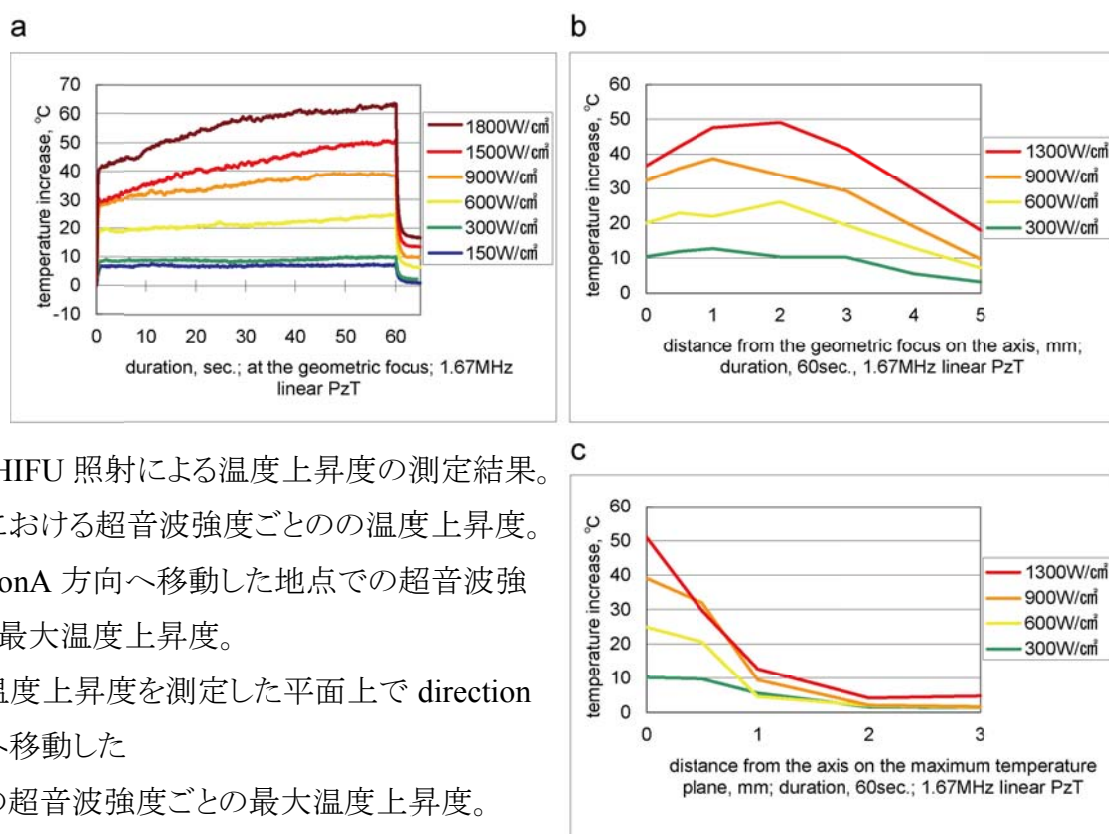


図 I-4 HIFU 照射による温度上昇度の測定結果。
a) 焦点における超音波強度ごとの温度上昇度。
b) directionA 方向へ移動した地点での超音波強度ごとの最大温度上昇度。
c) 最高温度上昇度を測定した平面上で direction B 方向へ移動した地点での超音波強度ごとの最大温度上昇度。

実験 2) 静脈片の熱凝固壊死発生条件測定実験

拡張群では 600, 900, 1300W/cm² では血管壁に肉眼的・組織学的に変化を認めなかった。1800W/cm² では前壁のみに肉眼的・組織学的変化を確認できた(表 I- 1, 図 I- 5a-d)。

内部の生理食塩水の加熱による全周性の変性は認めなかった。

圧迫群では 900W/cm² 以上において前壁に肉眼的な変性が認められた。組織学的には前後壁の血管変性が確認された(表 I- 1, 図 I- 5e-h)。600W/cm² では肉眼的変化は認められなかったが、組織学的に前後壁に狭い領域であるが変性を認めた。1300W/cm² 以上では血管の狭窄が認められた。

Focal intensity		600 W/cm ²	900 W/cm ²	1300 W/cm ²	1800 W/cm ²
Dilated vein	Denatured lesion	-	-	-	Ante.
	stenosis	-	-	-	-
	occlusion	-	-	-	-
Compressed vein	Denatured lesion	Ante. and Post.	Ante. and Post.	Ante. and Post.	Ante. and Post.
	stenosis	-	-	+	+
	occlusion	-	-	-	-

表 I- 1 切除静脈瘤に対する 20 秒の HIFU 照射の結果

Ante., 前壁(anterior wall); Post., 後壁(posterior wall); +, 所見あり ; -, 所見なし

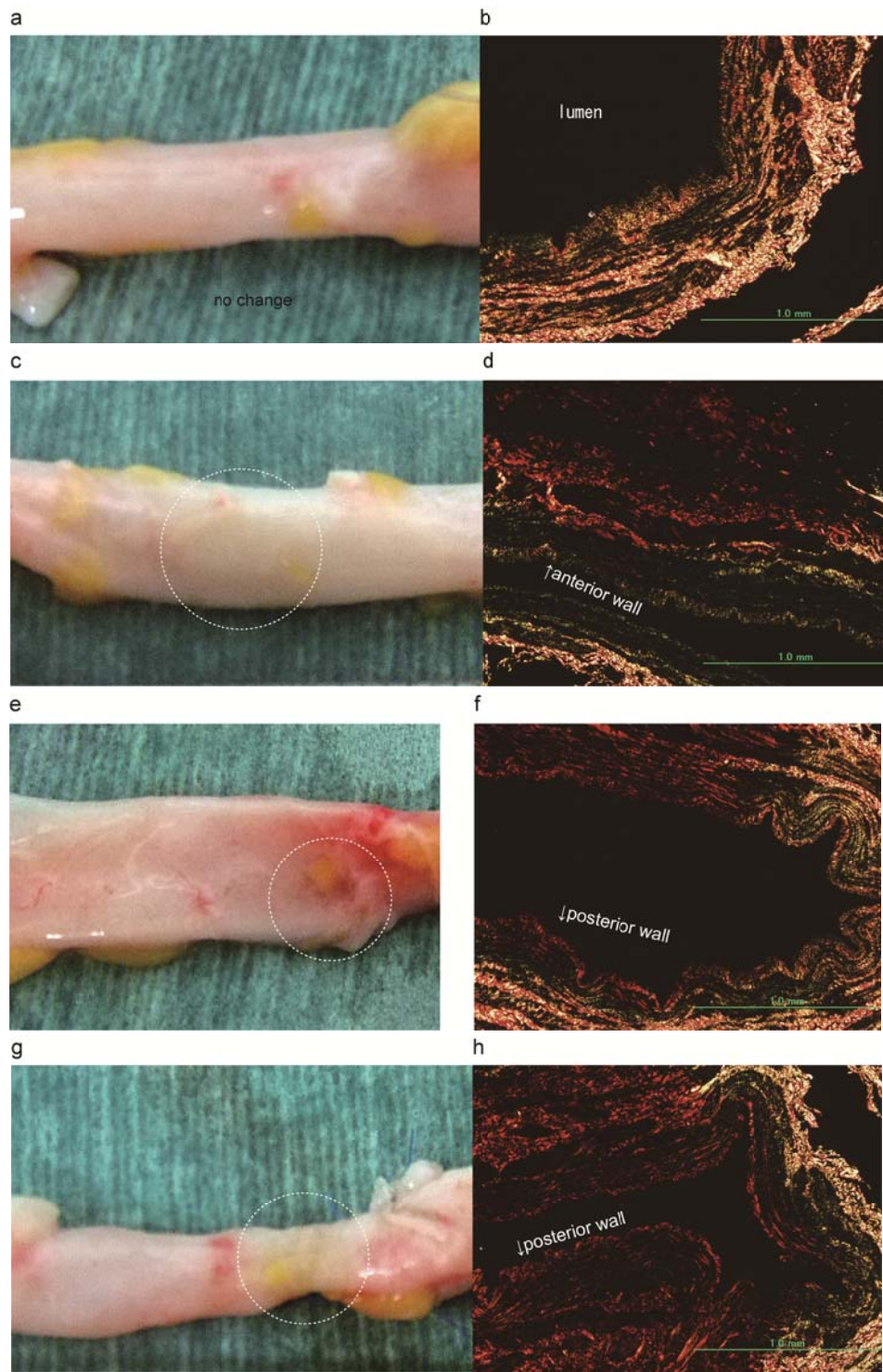


図 I-5 HIFU 照射後の静脈所見

a, c, e, g は肉眼的所見、b, d, f, h は組織学的所見である。組織学的所見はピクロシリウスレッド染色後偏光顕微鏡下で観察。a, b は血管拡張群に対し焦点強度 $900\text{W}/\text{cm}^2$ 、照射時間 20 秒で照射した。c, d は血管拡張群に対し焦点強度 $1800\text{W}/\text{cm}^2$ 、照射時間 20 秒で照射した。e, f は血管圧迫群に対し焦点強度 $900\text{W}/\text{cm}^2$ 、照射時間 20 秒で照射した。g, h は血管圧迫群に対し焦点強度 $1300\text{W}/\text{cm}^2$ 、照射時間 20 秒で照射した。白破線内は変性箇所を示す。

考察

今回我々は、下肢静脈瘤治療に応用するために、実際に HIFU が血管を変性させ内腔閉塞させる手段となり得るかを検討するために基礎実験を行った。

まず EVLT、RF 治療のように血管内の液体を発熱源とした血液温上昇により血管壁を変性・収縮させて閉塞させる試みを検討した結果、今回の実験で用いた超音波強度では血管壁の変性には至らなかった。また、血管壁全層に変化が及ばない場合でも硬化療法のように内皮障害を通じて閉塞を起こすこともできると考えられるが(8, 27, 28)、内皮細胞障害を期待させるような内膜浅層の変化も得られなかった。温度上昇の測定からも血管内腔にある液体の温度上昇を起こし、血管壁を加熱するには血管壁を直接凝固壊死させるよりも高い音エネルギー強度を要することが示唆された。これは液体の吸収係数が低いためと、照射時に発生する音響流のために血管内腔の液体が攪拌され、与えられたエネルギーが血管内腔全体に拡散してしまうことによると推定される。文献的には、Ishikawa らは血流のあるラット大腿動脈へ HIFU 照射により閉塞を惹起しているが(22)、超音波強度が高くなるにつれ血管の組織学的変性が顕著になり、中膜の変性が生じ、さらに高強度で血栓形成に至っている。血流の存在により冷却されるため内膜の変化は最後に現れ、血栓が生じる結果となっていた。また、Hynynen らはウサギ腎動脈の閉塞を評価したが、まず血管壁変性が生じない強度で血管攣縮が生じ、血流が落ちることで冷却効果がなくなるため血管壁での変化が生じるとしている(21)。また、Delon-Martin らはラットの大腿静脈への照射において、細径血管では熱の伝導による拡散が少ないため内皮の障害により血栓形成が生じるとしている

(23)。これらは内腔の流量がごく少なくなるか内腔に存在する液体がごく少量とならなければ、血管壁、特に内膜には有意な熱変性が与えられないことを示唆している。これらの実験検討は 1mm 程度の血管に対する HIFU 照射であり、彼らの考察は本検討の結果を裏付けている。このことは以下の照射時の発生熱量試算および温度上昇測定実験からも導かれる。

焦点では充分有意義な温度上昇度を示していたが、これは高強度となる焦点付近に限られていた。焦点付近以外の温度上昇は主に焦点付近から拡散してくる熱による。HIFU によって与えられる熱量(Q)は以下の式で計算される(29)。

$$Q = 2\alpha I$$

α は吸収係数、 I は超音波強度を表す。この実験系では径 5mm、長さ 5cm の分節であり、その容積は 1ml である。脱気された生理食塩水の吸収係数は $\alpha=0.011$ であった。焦点強度 $1300\text{W}/\text{cm}^2$ の焦点強度で血管内腔中心を焦点として照射した場合、内腔が生理食塩水であれば 1 分あたり 0.25J の熱量が発生し、血管内では $0.06^\circ\text{C}/\text{min}$ の温度上昇が得られる計算となる。内腔を血液とした場合、吸収係数は 0.018 といわれており(30)、0.43J である。レーザー治療と同等のエネルギー(4)を与えることは長時間あるいは極めて高強度の音波が必要であることが推測された。血管をさらに短いセグメントとすることも有用かもしれないがトランスデューサが接触するための面積が必要であり、われわれのシステムでこの状況を作るのは困難であると考えられた。

今回、ポリアクリルアミドゲル内の生食は焦点強度 $1300\text{W}/\text{cm}^2$ を 1 分与えた場合、焦点か

ら離れると4℃温度が上昇していたが、これは Takegami らの検討とほぼ同様であった(30)。

計算値との差は熱電対での発熱が影響しているためと考えられる。比較的血管の cross-section 方向には広く温度上昇域があり、特に焦点強度 $1300\text{W}/\text{cm}^2$ では、血管拡張時でも前壁、後壁の一部に血管壁変性が得られることを期待したが、変性は得られなかった。これは血管内腔の生理食塩水がクーリングの効果を果たしていることが原因と推測した。また液体内同様、血管壁内の温度上昇も熱電対での計測より低く考える必要があるだろう。

さらに高強度を与えようとした場合(e.g. $1800\text{W}/\text{cm}^2$, 図 I- 6c, d)、血管前壁のみに強い凝固壊死が生じた。これは音波の血管面での音響抵抗の違いから強い反射が起こり、血管前壁外付近の音波強度が上がることで前壁の変化のみを生じさせる。さらに温度が上昇することで蒸気気泡 (boiling bubble) が発生する(16)。キャビテーション気泡と同様にこの気泡は音波を効率的に熱変換するため、それを核として著明な温度上昇が起こる。それによりまたさらに気泡が発生するという悪循環が続くためと思われる。われわれの行った予備実験において、少なくとも $2500\text{W}/\text{cm}^2$ の焦点強度の HIFU 照射により血管前面のゲルに気泡が発生していた。HIFU 照射を継続することで、気泡はよりトランスデューサ近位に出現した。結果として、焦点強度を上げても、血管の前壁しか凝固壊死しないばかりか、照射を続けることで熱源はトランスデューサへ接近していき、介在する組織に予期し得ないより大きな損傷を与えることになる恐れがある。

静脈内は血流がありエネルギーが流されてしまうため、比較的弱い強度での長時間照射は期待できない。また、圧迫により血流遮断が行えたとしても、周囲組織の予想できない損

傷を防止するためにも長時間の持続照射は避けられるべきであると思われる。前立腺や子宮筋腫への臨床応用では照射時間は 4-20 秒程度にとどめられていることが多く、これは上記に対する懸念のためであると考えられる。以上より、血管が拡張している状態では血管閉塞を惹起するために適切と思われる凝固壊死を発生させるのは困難と結論付けた。

血管を圧迫し血管壁自体に直接超音波エネルギーを集簇させることで、前壁、後壁同様ではないが、前後壁に組織学的な変性を得ることができた。主に気泡の出現を含めた HIFU の直接的な作用によって加熱されていると考えられる。圧迫によりできるだけ静脈内の血流は除去されていることが望ましいが、実質的には本検討における圧迫状態も完全に内腔の生理食塩水が存在しない状態とはなっていない可能性もある。できるだけ HIFU により直接的に加熱される領域に血管壁を置きかつ、血流が止まる程度の圧迫をすることが重要であるのかもしれない。1 照射で血管全周に変化を与えることはできなかったが、cross-section の方向に数回並べて行うことで全周にわたる変化を与えることは可能であると思われる。血管収縮が作用機序の一つであるが、サイズの大きな静脈になると、血管壁全体を収縮させて閉塞させることは困難であると思われた。他の低侵襲治療法と同様に、HIFU 照射後に静脈を圧迫し内腔閉塞を図ることは必須である。

今回得られた結果から、静脈を圧迫することによって中口径以上の静脈に対しても HIFU で閉塞させうる壁の加熱凝固壊死を惹起させることができると確認された。これにより本来治療が必要とされる部位の静脈瘤に対し HIFU の適応が可能であることを証明できた。今回用いた HIFU トランスデューサによって血管壁の加熱凝固壊死を惹起するために設定すべき

音波強度は 20 秒照射すると仮定した場合、焦点強度 $600\text{W}/\text{cm}^2$ 以上で可能であることがわかった。今回の検討は室温下で行われており、生体内の血管に照射した場合もう少し弱い焦点強度から変性を得ることができると思われる。照射強度の上限は周囲組織、特に皮膚との距離が影響してくると思われる。今後、Friedら(31)が行っている HIFU 照射時のシミュレーション計算によつての検討や動物実験において静脈へ照射して血管閉塞と熱傷の出現の関係について検証を行っていく必要がある。

検討 II.

皮膚熱傷減少を目指した皮膚処理条件の検討

経皮的 HIFU 治療で解決される必要がある合併症は皮膚熱傷である(32- 34)。

Hepatocellular carcinoma と Metastatic abdominal tumors への HIFU 照射時の合併症について記述した Li らの論文によれば、皮膚熱傷はそれぞれ 56/72 および全例で発生している。焦点が比較的皮膚近くとなる場合だけでなく、肝臓程度の深度に焦点が位置する場合においても高率に皮膚熱傷は生じていることから、HIFU の皮膚合併症予防については十分な検討を要する。皮膚は臓器や皮下組織より高い超音波吸収係数を持つため組織における発熱量が高くなることから障害が生じやすい。そのうえ、皮膚の表面にはたくさんの毛髪やごみが存在し、毛髪の間や毛根の微小なガスも問題となり、超音波の伝導を阻害する。これらによる超音波の吸収増加と反射により皮膚での発熱量は増加し、皮膚での超音波強度が高くなくても皮膚熱傷が頻発する原因となることが推測される。また、HIFU 照射による発熱領域が皮膚の近傍にある場合は高温の波及による皮膚障害も生じ得る。一般的に HIFU 治療では照射対象を水沈させ、水中において経皮的に HIFU を照射することが多い。これは皮膚における超音波伝導の問題を解決する有用な手段の一つである。我々の HIFU 照射は空気中での経皮的照射を考えており、皮膚とその付着物に対する照射前処理に関して十分に検討する必要がある。

動物実験における経皮的 HIFU 照射は、ウサギ腎血管閉塞を目的とした HIFU 照射検討 (21)、ラット大腿動脈を閉塞対象とした検討 (22) と、犬の精管に照射を行った Roberts の文献 (35) で見られる程度である。これらのうち Hynynen らは体毛の処理をバリカンと除毛ローションで行うと記載しており、体毛の除去を重視している (21)。Roberts らの結果においては一部の検体において皮膚熱傷が認められているが、皮膚の処理方法については具体的な記述はなされていない。Ichikawa らも特に記載はしていない (22)。動物は体毛が多く、皮膚の照射前処置が結果に影響する可能性がある。

本検討では実験動物に照射する際の皮膚の状態やその付着物について検証し、経皮的 HIFU 照射時における皮膚熱傷を避けるための皮膚処理条件の検討を行った。

材料と方法

HIFU source

中央に照射や観察のためのセクタ型超音波プローブを持つプロトタイプ 1.66MHz (直径 100mm、焦点距離 70mm、中心に径 50mm) HIFU トランスデューサを作成した (図 II- 1a)。プローブを除きトランスデューサのデザインとシステムは検討 I と同様である。

このトランスデューサの焦点強度曲線と中心軸上の強度分布 (the profile on the axis)、焦点を含む軸に垂直な平面上の強度分布 (the profile in the focal plane of the transducer.) を図 II- 1b, c に示す。

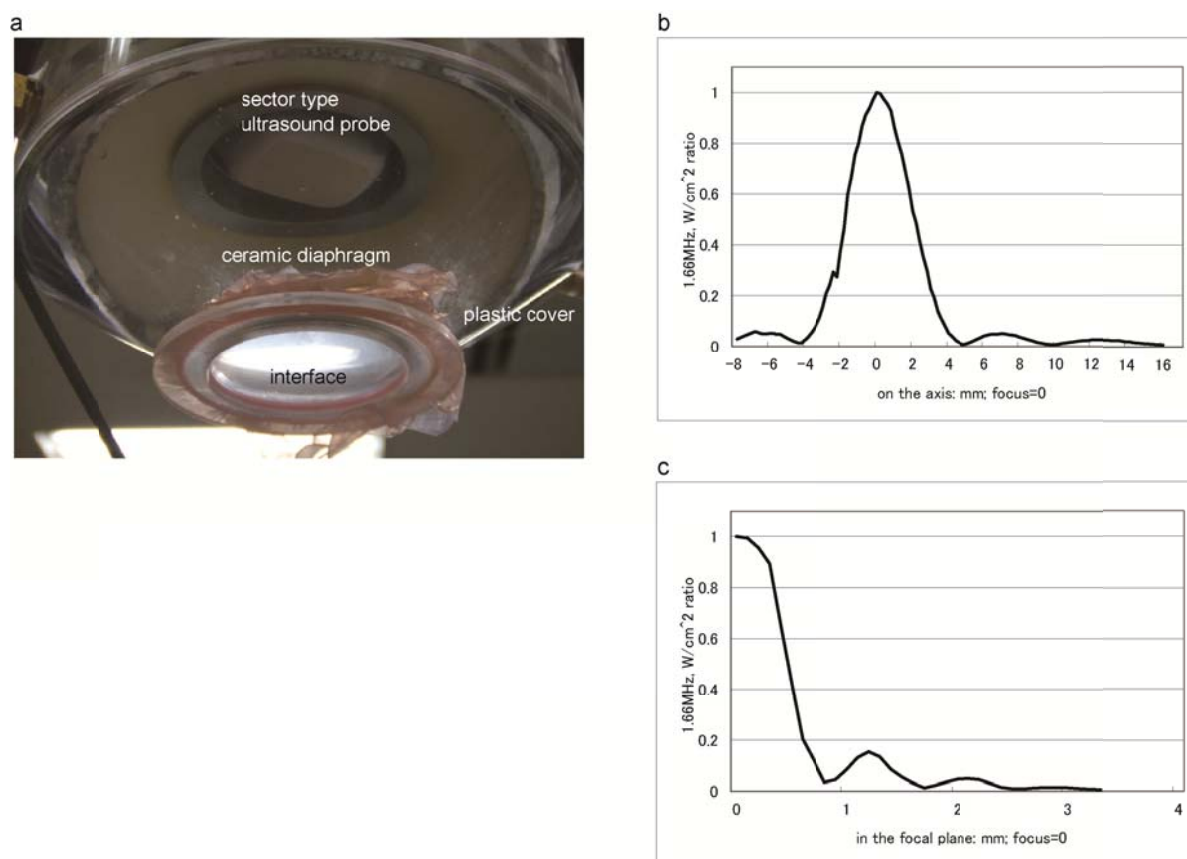


図 II- 1 HIFU トランスデューサ

a, プロトタイプ HIFU トランスデューサ (1.66MHz)。トランスデューサ中央に位置するセクタプローベの B モード画像で照射野を検索する。透明なプラスチックカバーが前面に付き、この中央が照射対象との接触面となる。実際に使用する際には中央にはゴム膜が張られ、カバー内部には脱気した水が満たされる。

b, トランスデューサ軸上の超音波強度分布。幾何学焦点での超音波強度を 1 とする。

c, 幾何学焦点を含み軸に垂直な平面上の超音波強度分布。幾何学焦点での超音波強度を 1 とする。

動物と皮膚処理方法

4kg のウサギ(おす、日本白色種)を実験に用いた。ケタミン 33mg/kg とキシラジン 0.007mg/kg の筋肉注射で麻酔後、仰臥位とした。

照射前処理として、腹部の体毛を広くバリカンで刈毛し、除毛フォームを用いて除毛を 2

回行った。体毛と除毛フォームを十分に脱気水で洗い流した。脱脂のため石鹼を用いて洗浄し、脱気水で洗い流した。皮膚の乾燥を避けるため、処理後は脱気水に浸したガーゼで処理部を保護した。照射野は腹壁に腫瘍、外傷、熱傷、皮膚炎を認めない部位とし、臍が癒合する部位は避けた。照射時は脱気した超音波検査用ゲルを腹壁皮膚とトランスデューサの接触面に気泡が残らないように塗布した。これらの条件を全て満たす処置を基準とした（表 II- 1）。

前処置

1. バリカンによる刈毛
2. 除毛フォームによる除毛。10 分以上置き、脱気水による皮膚面洗浄。これらを 2 度繰り返す。
3. 石鹼での洗浄。脱気水による水洗。
4. HIFU 照射までは脱気水で湿らせたガーゼにより皮膚湿潤を保つ。

HIFU 照射時

5. トランスデューサ接触面と皮膚の間に脱気された超音波検査用ゲルを塗布する。
6. 接触面の超音波ゲル内に気泡が残らないように接触させる。

表 II- 1 皮膚処理手順

組織の吸収係数測定

2.04MHz の浸水式のトランスデューサを測定に用いた。測定した組織はウサギの皮膚（上記のプロトコールで処理）、HIFU により 3 度熱傷を起こした皮膚、皮下組織（脂肪）、腹壁筋層である。Takegami らと同様（36）、脱気生理食塩水中において 2.04MHz トランスデューサから発せられた超音波を特定の距離に設置したハイドロフォンによって音圧を測定すること

で行った。等距離において、検体を透過して測定された音圧と検体を配置せず脱気生理食塩水中のみを透過して測定された音圧について測定した。発生時と測定時の音圧の差からそれぞれの組織の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。

HIFU 照射時の温度分布推定と皮膚熱傷出現予測

HIFU 照射により生じる経時的温度分布は Penne が提唱した生体熱輸送方程式 (Bioheat transfer equation) により推定することができる (37)。計算式は

$$\rho_t C_t \frac{\partial T}{\partial t} = K_t \nabla^2 T - W_b C_b (T - T_a) + Q \quad \text{—(1)}$$

として表される。 T は組織温度、 K_t と ρ_t はそれぞれ組織の熱伝導係数と密度、 C_t と C_b は組織の比熱と血液の比熱、 W_b は血流率、 T_a は血液温度で 37°C (一定)、 Q は単位体積当たりの HIFU 照射により与えられた熱量である。代謝による発熱は無視した。式(1)を差分化することによって温度分布の時間変化を数値的に計算した。

HIFU 照射による熱量 Q は

$$Q = 2\alpha I \quad \text{—(2)}$$

で与えられ、 α は組織の吸収係数、 I はここに数式を入力します。超音波強度である。

また、軸方向に伝播し透過してきた超音波強度 $I(z)$ は

$$I(z) = I_0 \exp(-2\alpha z) \quad \text{—(3)}$$

で表され、 z は伝搬方向の座標を指す(29)。

以上より HIFU 照射時の経時的温度分布を推定した。各地点における経時的温度から損傷係数を算出することにより皮膚熱傷の出現を判定した。

熱傷の出現に関しては Henriques らの実験によって、皮膚熱傷の臨床分類(38)ごとに閾値が検証された(39)。皮膚損傷係数を Ω とし、以下の式で表される。

$$\Omega = 3.1 \times 10^{98} \int_0^t \frac{e^{-75000}}{T_t + 273} dt \quad \text{—(4)}$$

この中で損傷係数 Ω は組織損傷の程度を示すために用いられる。熱傷の程度を示す臨床的分類によって関数 Ω を表すと、1 度熱傷は $\Omega=0.53$ 、2 度熱傷は $\Omega=1.0$ 、3 度熱傷は $\Omega=10000$ と一致する(39- 41)。

今回使用したパラメータを表 II- 2 に示す(30, 42)。吸収係数は本実験で測定されたものを使用した。超音波画像上でウサギの腹壁を測定したところ、各層の厚さはそれぞれ皮膚 0.6mm、皮下組織 1.6mm、筋層を 3.4mm であり、計算上の設定とした。HIFU 照射時の焦点を皮下 5mm に設定した。トランスデューサは 25℃であり、照射前に 1 分間の接触時間がある。

熱傷の出現について超音波強度と照射時間の関係から検証した。

layer	Skin	Subcutaneous tissue	Muscle
Thickness (mm)	0.6	1.6	3.4
Thermal conductivity (W/m/K)	0.7	0.21	0.47
Tissue density (kg/m ³)	1040	1040	1040
Specific heat capacity (J/kg/K)	3770	3770	3770
Specific heat capacity of blood (J/kg/K)	3800	3800	3800
Blood perfusion rate (kg/m ³)	0.5	0.5	0.5
Blood temperature (centigrade)	37	37	37

表 II- 2 皮膚熱層出現予測に用いた数値

ウサギ腹壁への HIFU 照射、皮膚処置に関する検討

皮膚の照射前処理(表 II- 1)を、①除毛、②皮脂除去、③除毛・脱脂後から照射時までの皮膚面の湿潤環境の維持、④トランスデューサ接触面の超音波伝導物質、の要素に分解した。以下の 4 項目に関し、どの処理過程が超音波伝導に影響するかを検証した。

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。
3. HIFU 照射までの脱気水による浸水の有無。
4. HIFU 治療時の照射は一般に水中で行われることが多く、これを想定した状態である充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、脱気水の代わりに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。

ウサギの腹壁を中央で左右に分け、片側をプロトコール通り全ての皮膚処理を施したコン

コントロール群 (control group) とした。もう片側は 4 つの検証項目のうち 1 項目を省いた手順で処理を行い、処理省略群 (abbreviation group) とした。焦点はシミュレーションと同様に腹壁皮下 5mm とし、照射する超音波強度は $1800\text{W}/\text{cm}^2$ 、照射時間 20 秒、トランスデューサ内水温は 25°C とした。トランスデューサで腹壁を圧迫することで、照射対象となる腹壁の呼吸による移動は抑止できた。圧迫したのち、照射前に 1 分間の接触時間をとった。両側とも、12 か所ずつの HIFU 照射を行い、HIFU 照射によって筋層内に加熱凝固壊死による硬結が出現した。皮膚熱傷は肉眼的臨床所見より分類 (38) し、皮膚に 1 度以上の熱傷が出現した箇所をカウントした。両群間の統計学的検定はカイ2乗検定で行った。

結果

組織の吸収係数

測定した皮膚、不可逆熱傷皮膚、皮下組織、筋肉、脱気生理食塩水の吸収係数を表 II-3 に示す。皮膚、皮下組織、筋肉の吸収係数はそれぞれ 6.9、2.5、3.6dB/cm であった。不可逆熱傷 (3 度熱傷) を生じた皮膚は正常皮膚に対しグレーに色調変化し、肥厚した。その吸収係数は 21.0dB/cm と著明に上昇していた。

HIFU 照射時の温度分布推定と皮膚熱傷出現予測

数式より導いた皮下 5mm の腹壁へ HIFU を照射した際の 1 度熱傷、2 度熱傷、3 度熱傷

が出現する超音波強度と照射時間の関係を図 II- 2 に示す。たとえば焦点強度 $2000\text{W}/\text{cm}^2$ で HIFU 照射を行った場合、それぞれ熱傷の臨床分類の 1 度 16.8 秒、2 度 17.6 秒、3 度 36.2 秒で熱傷が生じる結果となった。

この結果より実際の腹壁への照射実験は熱傷が発生しないと予測された焦点強度 $1800\text{W}/\text{cm}^2$ 、照射時間 20 秒の条件で行うこととした。

Material	Attenuation Coefficient (dB/cm)
skin	6.9 ± 2.7
Denatured skin, grade 3 burn	21.0 ± 2.2
Subcutaneous tissue, fat	2.5 ± 0.8
muscle	3.6 ± 2.1
Degassed saline	0.01 ± 0.02

表 II- 3 ウサギ組織の吸収係数

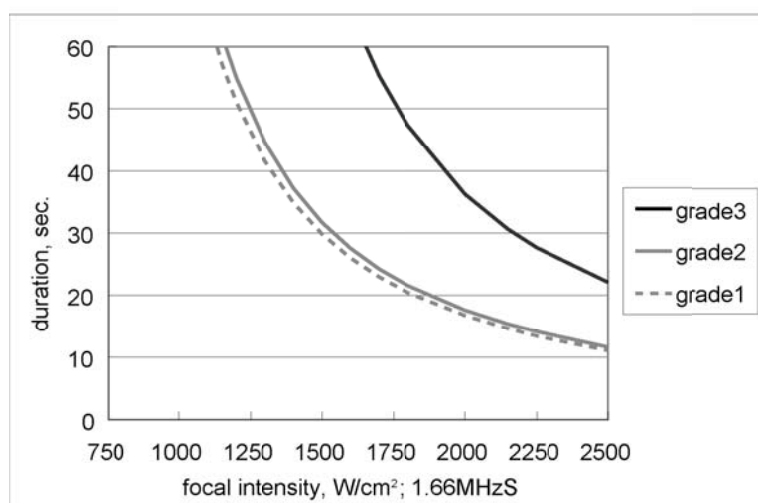


図 II- 2 皮膚熱傷出現の閾値に関する超音波強度と照射時間の関係
灰色破線＝1 度熱傷、灰色実線＝2 度熱傷、黒実線＝3 度熱傷を示す。

ウサギ腹壁への HIFU 照射、皮膚処置に関する検討

結果を表 II- 4 に示す。

コントロール側において、何か所かで不可逆熱傷が生じた。体毛が充分に取り除かれなかった場合、熱傷は明らかに出現しやすいことが分かった (depilatory foam; 項目除群 vs. コントロール=11/12 vs. 3/11; $p<0.001$)。脱脂 (石鹸) の検討、照射までの湿潤の検討についてはその有無で差がなかった。空気中で接触面に脱気した超音波ゲルを用いた場合と、脱気された水中を伝導した場合でも差を認めなかった。

Tested item	Number of the irreversible burn		p value
	Abbreviation	Control	
Dehairing coat with the depilatory foam	11 /12 ^a	3 /11	<0.001
Washing with the soap	3 /12	3 /12	1.00
Soaking with the degassed water	0/12	0/12	ns
Degassed water (DW) or Degassed ultrasonographic gel (DG) in the contact space	DW: 4/12	DG: 5/12	0.67

表 II- 4 皮膚処理検討の結果

Abbreviation と Control 項目内は、熱傷出現数／照射箇所数、を表す。a, 体毛は長さ 3mm 以下。ns は有意差なしを示す。

考察

HIFU の利点とするべき点はその低侵襲性であるにもかかわらず、照射による合併症として多くの皮膚熱傷が生じている。特に我々は下肢静脈瘤の治療適応について検討しており、皮下浅層にある対象物に対する照射において皮膚への影響の低減は最も考慮すべき問題

であった。本検討は皮膚の処理段階で音波への影響をなるべく抑制できるように照射前処置の最適化を行い、この問題を解決するための一手段として行ったものである。

ウサギ組織の吸収係数測定の結果はほぼヒトのものと同等であり(43)、皮膚の吸収係数は非常に高かった。そのうえ、不可逆熱傷となった皮膚はさらに吸収係数が上昇していた。今回カウントした 3 度熱傷では、加熱凝固壊死した皮膚は平常皮膚に比べ厚く、硬く、グレーに変化し、そこで超音波はさらに高率に吸収されるようになることがわかった。本検証の結果では熱傷を生じた皮膚を 1mm 透過した場合、超音波強度は半分以下に減少することを示していた。熱傷を生じた部位を透過させるように HIFU を照射すると超音波吸収が増加したことにより、焦点付近での変性部位が得られない、または変性が意図した大きさにならないばかりか、皮膚熱傷領域が拡大していく結果となることが推測された。照射中も一定の頻度で皮膚を観察し、熱傷を生じた際には HIFU 照射を中止するべきであると考えられる。

トランスデューサの超音波強度分布を考慮すると、焦点から 4mm 離れた地点での超音波強度は焦点の 5%にも満たない。しかし、組織の音波吸収係数が高い場合、弱強度でも有意な発熱を生じる恐れがある。照射領域にあたる皮膚の冷却や、何らかの皮下注射を行って焦点からの距離をさらに離すことでその地点における音波強度を下げる試みは有効であると考えられる。HIFU 照射によって作られる変性領域は mm オーダーと小さいが、皮膚熱傷が生じなければ、回数をかけて範囲を広げることで大きい照射対象にも適応は可能である。

HIFU トランスデューサの周波数、直径、焦点距離、曲率といった設計により音圧・超音波強度分布が異なることから、その分布に従って加熱される領域も異なることとなる。そして、

照射時の焦点強度や照射時間によってもその加熱領域は異なることとなる。トランスデューサの超音波強度分布または音圧分布が確認されることで、照射対象の組織の熱物性、音響物性をパラメータとした熱輸送方程式から HIFU 照射時の温度分布を推定することが可能である(42)。体組織内においての熱を与えられた際に生じる発熱分布は、1948 年に Penne が発表した検討による bioheat transfer equation (生体熱輸送方程式)が一般的に用いられている(37)。これにそれぞれ標的組織の加熱壊死条件を検討し、各デバイスの条件設定に利用されている。HIFU 照射によって発生する発熱、温度分布においてもこの理論を基本として検討が行われている。超音波が変換され発生する熱エネルギー量とある媒質を透過する際に減衰する超音波強度はそれぞれ関数で表される(29)。組織が加熱による変性・壊死を生じる閾値について Sapareto らは悪性腫瘍の温熱療法施行時に要した熱量を暴露温度とそとの暴露時間の関数で示し、43℃で加熱した場合に要する暴露時間として表す thermal dose を発表した(44)。この理論を用いて組織変性の判定を行っている検討も多い(31, 42)。加熱損傷に関して、多くの検討が行われているのは皮膚熱傷であり、多くの文献を参照することが可能である。Jansen らはマウスの皮膚に対する熱傷温度と暴露時間と組織学的変化の関係を示した(45)。この観察結果を参照して Fried らは HIFU 照射時の皮膚熱傷出現に関し thermal dose を算出し、熱傷の出現を予測することで HIFU 照射強度と照射時間の検討を行っていた(31)。本検討のように皮膚熱傷の出現に関しては暴露熱量と暴露時間の関係から Henriques らの式を用いて損傷係数(damage function; Ω)を算出して判定することも可能である(39)。この Henriques らの検討により皮膚熱傷の臨床分類における1度熱傷は損傷

係数 $\Omega=0.53$ 、2 度熱傷は $\Omega=1.00$ であることがわかっており、Tanaka らの検討において 3 度熱傷は $\Omega=10000$ に達すると生じることがわかっている(40, 41)。

上記の計算によって HIFU 照射時の熱分布を推定し、それに伴った周囲組織の損傷を予測することができる。周囲組織の熱損傷の発生機序は熱伝導方程式にも表される通り、ひとつは HIFU の音波振動が熱に変換される直接的な HIFU の影響(気泡による増幅も含む)であり、もうひとつは熱源からの熱伝導である。われわれの目的のように特に体表の浅い照射対象物に HIFU 照射を行う際には、焦点近くに位置する組織にはある程度集束した超音波となっている(焦点領域)。この領域に例えば皮膚のように音波吸収係数が高い組織があった場合、超音波の直接的な影響による発熱機序も熱傷の原因となりえる(29, 43)。熱源からの熱の伝導に関して、EVLТ や RF 治療施行時には Tumescent local anesthesia (TLA) として麻酔溶液の大量皮下注射が行われており(2, 5)、麻酔以外に周囲組織を熱から保護する役割も果たしている。HIFU においてもこの手技は有効であると考えられる。また、皮下注射により HIFU の焦点領域から保護したい組織を遠ざけることができ、HIFU の直接的な機序による発熱を減らすことも可能と考えられる。組織保護の手段としては冷却することも HIFU 照射による温度上昇の開始温度を下げるができることから有効であると考えられ、pre-cooling を HIFU 照射前に行っている検討もある(31)。

体毛の残存した皮膚は非常によく超音波を吸収すると推測される。このため損傷係数 $\Omega=0.53$ や 1.0、10000 をも HIFU 照射後瞬時に超過し、不可逆熱傷への原因となる。HIFU 照射時には、体毛の除去は極めて厳重に行われるべきである。その後の石鹸での洗浄は皮

膚や毛穴の皮脂と汚れの除去を目的とした。本検討ではこの処置を行うことに有意性がなかったが、皮脂やゴミは幾度となく脱気水で洗い流していることで落ちてしまっていた可能性もある。逆に薬品処置を重ねていくことで皮膚が荒れてささくれてしまう場合があった。これらの処置に対する耐性は個体差があると思われるが、省くことのできる処置は行わないほうが良いと判断した。また、操作は極めて愛護的に行われるべきである。このような皮膚変化が皮膚処理中に生じてしまった場合、HIFU 照射は控えるべきである。HIFU 照射まで皮膚の湿潤を保っておくことにおいても違いが見出せなかった。長時間水浸状態としておくことで表皮に存在する小気体を排除することを目的としたが、照射時に皮膚面の湿潤が十分に保たれていれば照射には問題が生じないと判断された。トランスデューサと皮膚の接触面に存在する小気泡は cavitation bubble や boiling bubble のように発熱を増強する恐れがある。HIFU 照射時に適切な量の超音波用ゲルを配し、十分に気泡を排除することで HIFU 照射が浸水状態でなくても超音波伝導について問題はないと結論付けた。皮膚処理において重要であるのは体毛の十分な除去である。その際に、異物も洗い流されていると考えられる。脱気された超音波検査用ゲルにより空気中での HIFU 照射時においても水中と変わらない超音波伝導を行うことができた。また、それには照射時の air tight な接触も重要である。HIFU 照射時にはこれらが保たれるよう準備がなされるべきである。

結論

HIFU の合併症である皮膚熱傷を避けるためには、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

HIFU トランスデューサにより与えられる超音波エネルギーが強く、また、照射時間が長くなればより大きな熱量を照射対象に与えることができ、結果として得られる加熱凝固壊死巣の大きさも異なることとなる。しかし制限なく HIFU 照射を行うことは、不必要な周囲組織の損傷を増加させることになる。照射対象物に対して要求された加熱凝固壊死巣の条件に適した照射条件を設定することは、その治療成果を有意義なものとするためだけではなく、HIFU の照射合併症の予防にもつながると考えられる。

体組織内においての HIFU 照射により生じる加熱変性領域は体熱輸送方程式 (bioheat transfer equation) を用い (37)、これにそれぞれ標的組織の加熱壊死条件を加えることで検討されることが多い (31, 41, 42)。しかしこれら計算による予測は特に照射によって発生する気体の影響は加味されていないため、得られた加熱凝固壊死巣の長軸長がこの方程式から予測されたサイズより大きくなると言われている (46)。Kaneko らや Yu らの検討においても、気泡の存在により有意な温度上昇や得られる凝固壊死巣の体積の増加が起きることが確認されている (47, 48)。また、われわれの経験として、期待した位置に有効な加熱凝固壊死が得られないことが多く、何らかの均質な照射対象物に HIFU を照射する実験を行い、in vivo

へ実験を移す前に有用な照射条件をある程度特定することや実際に加熱凝固壊死領域が焦点位置を基準としてどのように拡大するのかを検討した。

そのため計算結果と実際の照射結果を対比させるものとして、何らかの均質な照射対象物に HIFU を照射する実験に関しての試みが行われている。この *in vitro* における HIFU 照射対象物については以前から様々な物質を用いて検討が行われてきており、組織疑似物質(組織疑似材料)、Tissue mimicking material あるいは Tissue mimicking phantom と呼ばれている。HIFU の照射実験対象として生体を代替するものとして、現在まで様々な材質が tissue mimicking phantom として用いられてきた(16, 33, 46, 47)。寒天やアクリルアミドのような固化する物質を基剤とし、これに HIFU 照射時の変化を観察できるような性質を示す物質を混和することが多く、その物質は生体由来のタンパク質であることが多い。基剤は溶液であり全てを混合したのち硬化させるため、実験に適した形態に形成することができる。

Bovine serum albumin(BSA)は白黄色の粉末として容易に入手でき、それを一定濃度溶解して作成したポリアクリルアミドゲルは透明・黄色であるため照射中のゲル内の変化が観察可能であり、加熱すると BSA は変性しゲルは白色・不透明となる。その変性温度は 65℃で生じるとされており、生体組織に近似していると言われている(16)。現在 BSA 加ポリアクリルアミドゲルは HIFU の照射対象として多くの文献で利用されている。

本項は BSA 加ポリアクリルアミドゲルを使用し、HIFU 照射を行った時に生じる加熱変性部位の拡大様態を検証し、焦点位置と HIFU 照射により生じた変性領域の範囲を比較することで我々の目的に合致した焦点位置の検討を行った。

材料と方法

HIFU source

検討 I で用いた 1.67MHz HIFU トランスデューサおよびシステムを用いた (図 I- 1)。

このトランスデューサの中心軸上の強度分布 (the profile on the axis)、焦点を含み軸に垂直な平面上の強度分布 (the profile in the focal plane of the transducer.) を図 III- 1A, B に示す。

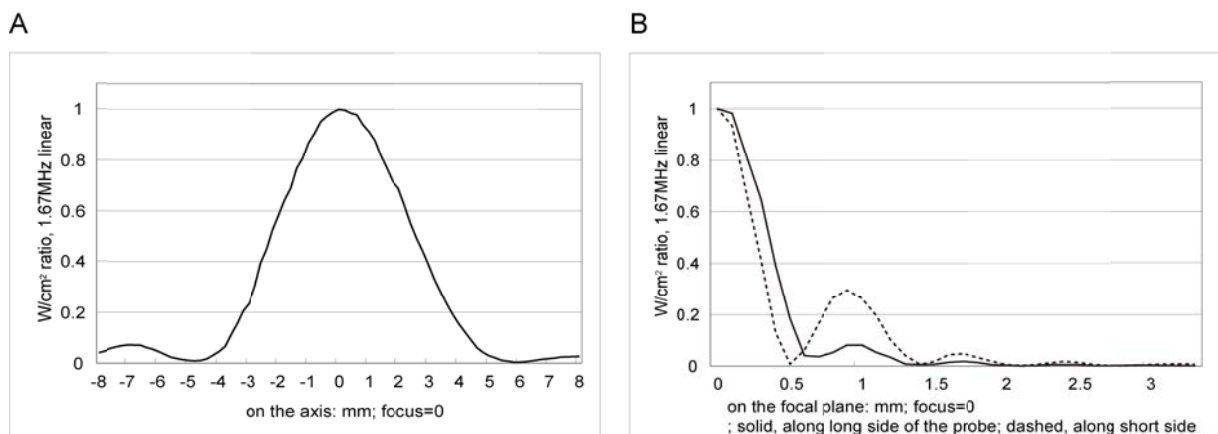


図 III- 1 1.67MHz HIFU トランスデューサ超音波強度分布

A, トランスデューサ中心軸上の超音波強度分布。幾何学焦点での超音波強度を 1 とする。
B, 焦点を含み軸に垂直な平面上の超音波強度分布。幾何学焦点での超音波強度を 1 とする。実線は焦点から linear probe の長辺方向の超音波強度分布、破線は焦点から短辺方向の超音波強度分布をそれぞれ示す。

BSA 加ポリアクリルアミドゲル

BSA 加ポリアクリルアミドゲルは黄色透明であるが、加熱することにより白色不透明に変化する。その閾値は 65°Cとされている(16)。BSA 濃度を増加させることで変化時の境界は鮮

明となるが、非変性箇所の透明度も低下し変性の確認が困難となる。

生理食塩水に BSA を 500rpm の攪拌下で溶解させ、これにポリアクリルアミド、テトラメチレンジアミン (tetramethyl-ethylenediamine; TEMED) を混合したのちに 500rpm の攪拌下で 700mmHg、1 分間の脱気を行った。その後、過流酸アンモニウム (ammonium persulfate; AP) 溶液を混合し、硬化させた。ゲルを吸収係数測定には $10 \times 6.5 \times 1\text{cm}$ 、HIFU 照射用には $10 \times 6.5 \times 2\text{cm}$ の直方体に形成した。

BSA 加ポリアクリルアミドゲルの吸収係数測定

7, 14, 21, 28%BSA 加ポリアクリルアミドゲルに加えて、 $3000\text{W}/\text{cm}^2$ で 20 秒間照射をゲル全面に行い全体を変性させた 14%BSA 加ポリアクリルアミドゲルを測定検体とした。検討 II での組織検体における吸収係数測定と同様の方法で行った。1 検体につき 9 か所を測定してその平均値を算出した。

BSA 加ポリアクリルアミドゲルへの HIFU 照射: 予測値との比較検討

ーBSA 加ポリアクリルアミドゲルへの HIFU 照射と発生した変性領域の計測方法

14%BSA 加ポリアクリルアミドゲルを 37°C の温水中に配置した。14%BSA ゲルの組成を表 III- 1 に示す。ゲルが 37°C に加温されたのちに、ゲル表面 (superior surface) から 10mm のゲル内を幾何学焦点とし 900, 1050, 1300, 1500, 1800, 2150, 2500, $3000\text{W}/\text{cm}^2$ の超音波強度でそれぞれ 5, 10, 20, 30, 60 秒間の HIFU 照射を行った。1 枚のゲルにつき各超音波強度 \times 照射時間の組み合わせを 1 度ずつ行い、5 枚のゲルに対して同様の HIFU 照射を行った。

照射後、白色不透明の変性領域の長軸長 (Major axis) と長軸上の中心点から焦点間の距離 (*) を測定した (図 III- 2)。

Total volume	135ml	100%
Degassed saline	100.2ml	74.2%
Acrylamid 40% solution; AA	33.43ml	24.8%
Tetramethyl-ethylenediamin; TEMED	0.40ml	0.3%
Ammonium Persulfate 10% solution; AP	0.89ml	0.7%
Bovine Serum Albumin; BSA	18.9g	14.0%

表 III- 1 14%BSA 加ポリアクリルアミドゲル組成

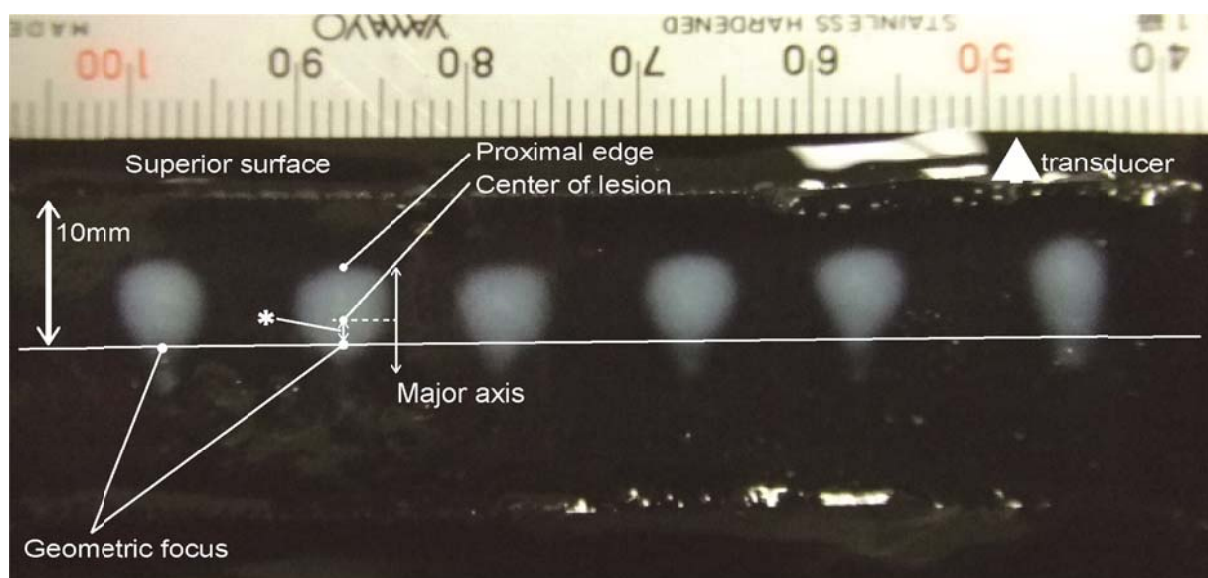


図 III- 2 HIFU 照射により出現した BSA 加ポリアクリルアミドゲル内の変性部位、測定方法
写真はゲルの横断面で上面 (Superior surface) が HIFU トランスデューサに面し、上面から 10mm を HIFU の焦点として照射した。BSA 加ポリアクリルアミドゲルは熱により白色に変色・非透過性となる。この変性領域の長軸長 (Major axis)、および変性領域の長軸の中心からゲル表面から 10mm に設定した焦点間の距離 (*) を測定した。

BSA 加ポリアクリルアミドゲルへの HIFU 照射と予測値の比較検討

ーHIFU 照射時の温度分布と出現する変性領域の予測シミュレーション

HIFU 照射により生じる温度分布は検討 II と同様に熱輸送方程式で推定した(34)。これを差分化することによって温度分布の時間変化を数値的に計算した。今回、組織は BSA 加ポリアクリルアミドゲルに置き換えられており、血流は存在しないため C_b 、 W_b は 0 である。吸収係数 0.56 dB/cm と想定した BSA 加ポリアクリルアミドゲル(14%)および吸収係数 2.36 dB/cm と想定した BSA 加ポリアクリルアミドゲル(変性後の 14%)内における HIFU 照射時の経時的温度分布を算出した。今回使用したパラメータを表 III- 2 に示す。照射前の温度は 37°C とした。経時的に算出した温度が 65°C に達した範囲を変性した領域とみなした(16)。予測された変性領域の長軸長と、変性領域の長軸の中心から焦点間の距離を算出した。

parameter	14%BSA gel	BSA gel (AC=2.36)
Attenuation coefficient (dB/cm)	0.56	2.36
Thermal conductivity (W/m/K)	0.69	0.69
Density (kg/m ³)	1044	1044
Specific heat capacity (J/m ³ /K)	5.3×10^6	5.3×10^6

表 III- 2 変性領域予測に用いたパラメータ

結果

BSA ゲルの吸収係数

BSA 濃度ごとの吸収係数を図 III- 3 に示す。吸収係数はほぼ BSA 濃度に従い増加していた。7, 14, 21, 28%BSA 加ポリアクリルアミドゲルの吸収係数は、それぞれ 0.33 ± 0.04 dB/cm、 0.56 ± 0.11 dB/cm、 0.64 ± 0.06 dB/cm、 0.87 ± 0.02 dB/cm であった。HIFU 照射により変性した

BSA 加ポリアクリルアミドゲルの吸収係数は著明に増加し $2.36 \pm 0.79 \text{ dB/cm}$ であった。

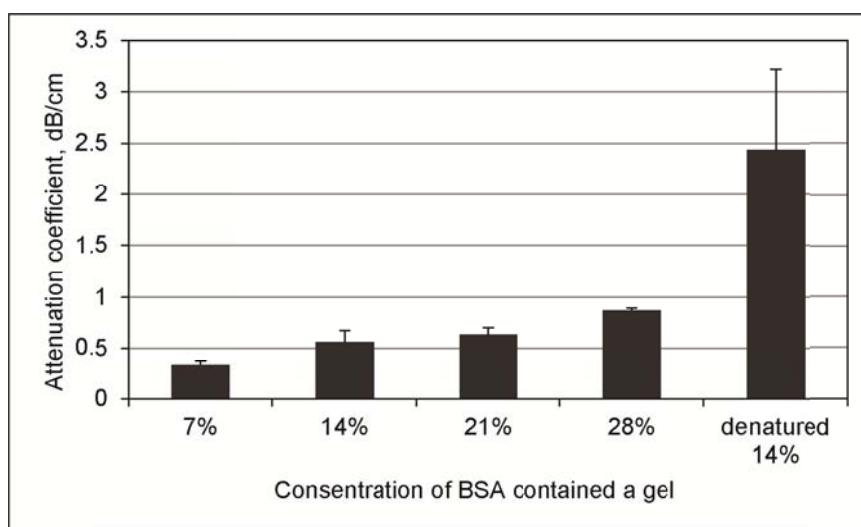


図 III- 3 各濃度の BSA 加ポリアクリルアミドゲルの吸収係数と変性した 14%BSA 加ポリアクリルアミドゲルの吸収係数 (\pm 標準偏差)

BSA ゲルへの HIFU 照射: 予測値との比較検討

結果を図 III- 4 に示す。

A, C, E, G, I は 14%BSA 加ポリアクリルアミド内に生じた変性領域の長軸長について実測値と予測値を示している。実測値はすべて変性前の吸収係数 0.56 dB/cm の BSA 加ポリアクリルアミドゲルの予測値より大きく、変性後の吸収係数 2.36 dB/cm の BSA 加ポリアクリルアミドゲルの予測値より小さくなった。また、吸収係数 0.56 dB/cm の BSA 加ポリアクリルアミドゲルの予測では変性領域が発生し得ない照射条件でも実際の HIFU 照射では変性領域が発生していた。

B, D, F, H, J は、14%BSA 加ポリアクリルアミド内に生じた変性領域の中心から焦点間の距離について実測値と予測値を示している。実測値は $1.5\text{--}3.0 \text{ mm}$ の距離があったのに対し、

吸収係数 0.56dB/cm および 2.36dB/cm での予測値は 0.5mm 以下であった。

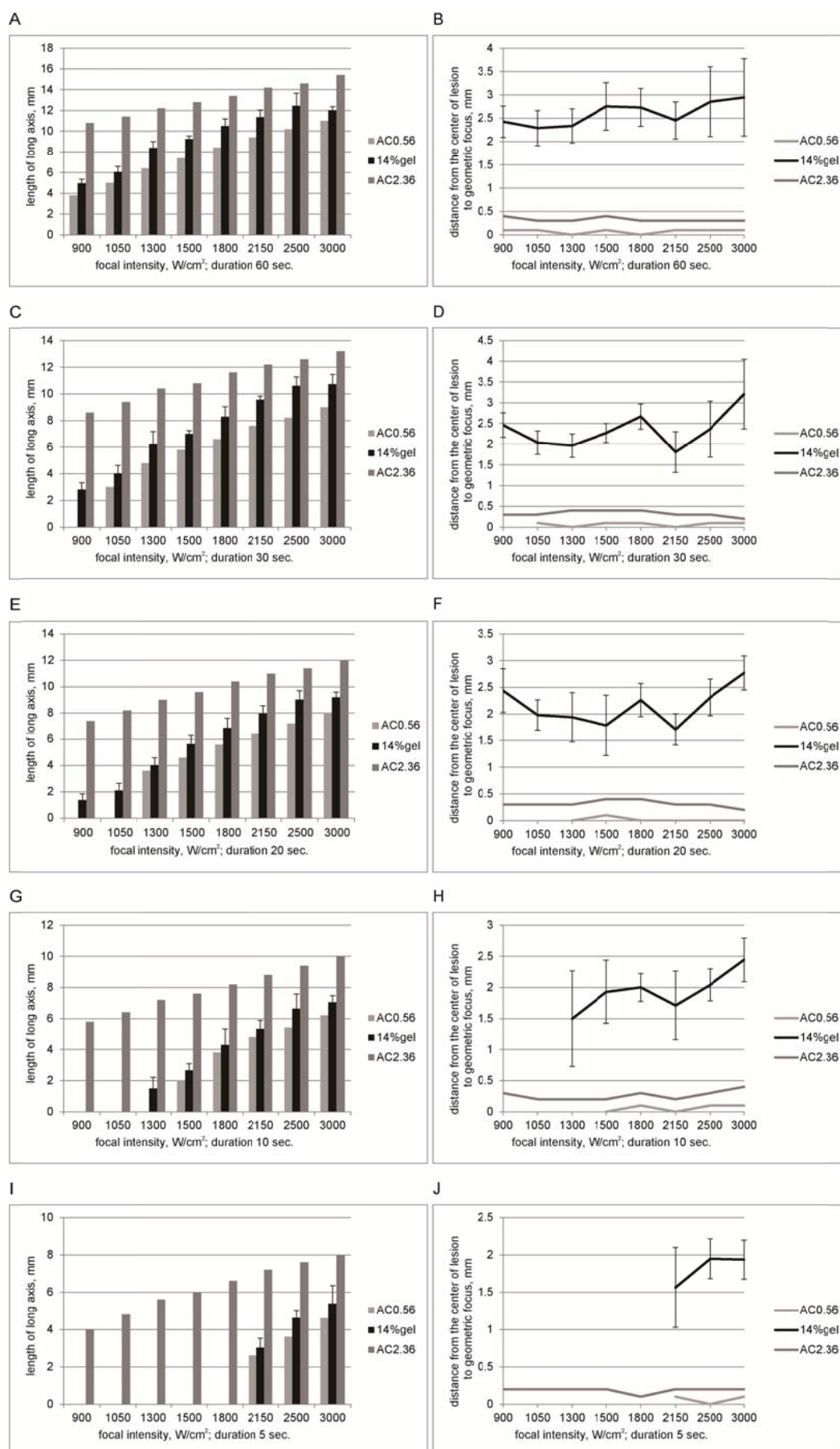


図 III- 4 変性領域の実測値とシミュレーション予測値(前頁)

A, B は照射時間 60 秒、C, D は照射時間 30 秒、E, F は照射時間 20 秒、G, H は照射時間 10 秒、I, J は照射時間 5 秒の結果をそれぞれ示す。

A, C, E, G, I は、14%BSA 加ポリアクリルアミド内に生じた変性領域の長軸長について実測値と予測値を示している。薄灰色:吸収係数 0.56dB/cm の BSA 加ポリアクリルアミドゲル予測値、黒:変性領域実測値(±標準偏差)、濃灰色:吸収係数 2.36dB/cm の BSA 加ポリアクリルアミドゲル予測値。

B, D, F, H, J は、14%BSA 加ポリアクリルアミド内に生じた変性領域の中心から焦点間の距離について実測値と予測値を示している。薄灰色実線:吸収係数 0.56dB/cm の BSA 加ポリアクリルアミドゲル予測値、黒実線:変性領域実測値(±標準偏差)、濃灰色実線:吸収係数 2.36dB/cm の BSA 加ポリアクリルアミドゲル予測値。

考察

HIFU の照射実験対象として生体を代替するものとして、現在まで様々な材質が tissue mimicking phantom として用いられてきた(16, 33, 46, 47)。これらの tissue mimicking phantom は透明であるため、HIFU 照射により生じた変化が容易に可視できる点が特長であり、照射中の焦点領域の変化の観察にも用いられる。また、本検討のような微小な変性領域が生じた場合にも発見が容易であった。しかし実際に生体へ照射した場合との比較を目的とした場合、変性する熱暴露量が同一であっても凝固壊死領域の広がりには音波吸収係数、密度、比熱、熱伝導率にも依存するため、対象とする組織と tissue mimicking phantom の音響学的物性および熱物性を近似させる必要がある。また、tissue mimicking phantom に組織血流を再現することは不可能である。熱伝導率を上げることで組織血流については代償が可能であるが、その設定量の決定は困難である。本検討において、BSA 濃度を上げた場合

BSA 加アクリルアミドゲルの吸収係数は濃度に従い増加していたが、28%のゲルの作成過程において BSA の溶解は極めて困難であった。この 28%BSA 加ポリアクリルアミドゲルの吸収係数は 0.86dB/cm であったのに対し、ウサギの皮下組織は 2.2dB/cm、皮膚は 6.9dB/cm である。28%はすでに飽和状態に近いと考えられることから、音波吸収係数の観点では、BSA のみをアクリルアミドゲルに含ませたものでは tissue mimicking phantom にはなり得ないと考えられ、焦点強度や照射時間の決定においては in vivo で照射実験を行う際の参考程度の位置づけと言わざるを得ない。現在 BSA に加え、音波高吸収素材を混合してさらに吸収係数を生体に近づける検討がなされており、その成果が期待される。また、現状では個々の実験検討により BSA 濃度をはじめとしたその作成方法は多種多様であり、決定的な tissue mimicking phantom が作られているわけではないため、さらに材質の研究が進められ生体に近い phantom が作られれば、HIFU の医療応用に関する検討も促進される可能性がある。

今回の検討においても HIFU 照射により 14%BSA 加ポリアクリルアミド内に生じた加熱変性領域の長軸長は、シミュレーションにより予測された結果よりも大きくなった。また、変性領域が生じないと予測された焦点強度×照射時間においても変性領域が認められた。実際に得られた変性ゲル内には気泡が認められており、照射途中で発生した微小気泡による発熱の増幅効果によるためであると考えられる。また、BSA 加ポリアクリルアミドゲルが変性した部位は吸収係数が 2.36dB/cm へ上昇するため、発生する熱量が増加することも寄与していると考えられる。

実際に HIFU 照射により生じた変性領域の中心位置については 1.5mm から 3mm 程度ト

ランスデューサに近づいたところにあった。今回のシミュレーションではBSA加ポリアクリルアミドゲルの透過過程において超音波が減衰することを組み込み、この影響により焦点から中心軸上の等距離にある2点での発熱量が異なることとなり、ランスデューサ側において変性領域がより拡大しやすくなると想定した。この結果、シミュレーションによる予測においても変性領域の中心位置は設定した焦点からランスデューサ側へずれることとなったが、実測値のほうがさらにランスデューサ側へ変性領域が拡大していた。音波はその透過過程で媒質が変わる時に屈折を生じることがわかっており、これは

$$\frac{\sin(\theta_1)}{c_1} = \frac{\sin(\theta_2)}{c_2}$$

の関係で表される(43)。この実験においては θ_1 、 c_1 は水中の入射角、音速である。 θ_2 、 c_2 はゲル内における入射角、音速である。25℃での参考となるが、水中の音速は 1486m/s、7%BSA 加ポリアクリルアミドゲルの音速は 1544m/s とされている(16)。この数値を参考に計算すると、我々のランスデューサにおいては屈折で焦点位置は 0.8mm 程度ランスデューサ側へ移動することとなる。しかし音波減衰と屈折だけでは位置の説明がつかず、これらに加え生じる変性サイズに影響を与えた照射途中に発生する気泡も多分に影響していると考えられる。Khokhlova らは BSA 加ポリアクリルアミドゲルに対する照射中の観察を行い、HIFU 照射開始後はまず対称性の変性領域が thermal growth として出現し、照射途中から気泡が生じることで急速に増大し焦点からランスデューサ側とその反対が非対称型となる tadpole growth となるとしている(16)。HIFU 照射を継続すると気泡の発生も継続的になされることとなり、さらに近位に気泡が発生することでランスデューサ方向へ変性領域が拡大し

ていく原因となる。発生する気泡は超音波強度が高くなっている範囲に発生することは確かであるが決まった位置に生じるわけではないため、気泡の出現位置についての予測は困難である。そのため変性領域が生じ得る正確な位置を知ることは困難であると考えられるが、今回の実験により焦点を照射対象から数 mm 奥に設定したほうが照射対象に確実に加熱による変化が得られると考えられた。さらに、照射時間を長くすることで予測よりもよりトランスデューサ側へ加熱凝固領域が広がっていることがわかり、in vivo においては照射時間を比較的短く設定することが合併症予防につながると考えられた。

結論

BSA 加ポリアクリルアミドゲルは HIFU 照射により生じる変性領域、変性領域の発生位置を検証することにおいて一定の有用性を持っていると考えられる。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

体表の浅い照射対象物に HIFU 照射を行う際には、皮膚熱傷が問題となる。焦点部位に発生した熱の伝導や、HIFU の焦点領域が近いことからある程度集束した超音波が皮膚を透過するため、超音波吸収による発熱機序が熱傷の原因となりえる。

皮下注射は下肢静脈瘤 EVLT や RFA 施行時に TLA として行われており(2, 5)、大伏在静脈の周囲の皮下へ大量に注射される。これは、麻酔以外に周囲組織を熱から保護する役割も果たしている。

我々は皮下注射により HIFU の焦点領域から保護したい組織を遠ざけることができ、HIFU の直接的な機序の発熱による副損傷を減らすことが可能となると考えた。また、皮下で介在する液体は HIFU 照射時には音響流により攪拌されるため熱エネルギーは液体全体へ拡散されることとなり、個体(組織)が介在するよりも熱の伝導も抑制されるものと考えられる。TLA と同様に、その溶液中にリドカイン等の局所麻酔剤を混合することで、HIFU 照射時の麻酔としても作用させることができる。

検討 I.の結果から、HIFU を用いて血管に有意な加熱凝固壊死を起こすためには圧迫して血液を血管から排除する必要がある。しかし圧迫した場合に皮下注射された液体は周囲組織へ拡散することが問題となる。ここで粘弾性のあるヒアルロン酸の特性に注目し、皮下

注射液にヒアルロン酸を混合することで生理食塩水に比べて皮下注射液が周囲へ拡散しにくくなることを期待した。

ヒアルロン酸は分子量 10^5 - 10^7 Da の高分子物質であり、生体内の細胞外基質に広く分布している(51)。水に対する浸透圧と拡散・流動の抑制作用を有しておりヒアルロン酸溶液は強い粘弾性を持つ。このようなヒアルロン酸溶液の生体力学的特性は硝子体や関節液といった液状の組織において極めて重要な役割を担っている(52)。また、生体化合物として合成されるようになり、関節に対する抗炎症治療として関節内に注入されるほか、眼科白内障手術において術操作時の周囲組織保護を目的とした操作空間保持のために使用されている(53)。また、我々の意図と同様に胃腫瘍の内視鏡的切除における粘膜下注射剤として粘膜の挙上効果が生理食塩水よりも優れていることが実験的に確認されている(54)。

しかし、ヒアルロン酸溶液に関する熱物性や音響学的特性の詳細は不明であるため、それらは HIFU 照射に際し皮下注射剤をヒアルロン酸溶液とする場合の検討が必要となる。

この検討では、皮膚とその直下にある対象物の間に皮下注射を行うことで皮膚と対象物の間隔を広げ(図 IV- 1)、液体を存在させることがどの程度皮膚熱傷の予防になりえるか検証することを目的とした。

材料と方法

HIFU source

検討 I で用いた 1.67MHzHIFU トランスデューサおよびシステムを用いた (図 I- 1, 図 III- 1)。本検討ではカバー内水温を 5℃および 25℃に設定した。

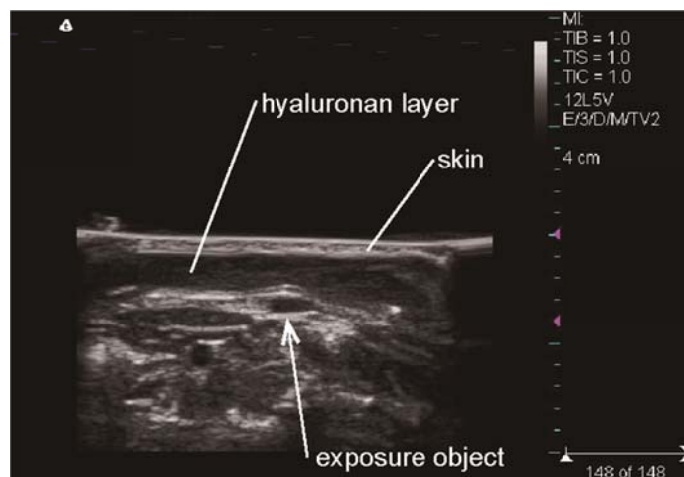


図 IV- 1 皮下注射直後のエコー画像

皮膚に近く、浅い所に位置する照射対象に HIFU 照射する際、発生した熱の伝導や高い音波吸収により皮膚熱傷が生じる。熱傷を予防するため、皮下注射を行っている。また、これに麻酔薬を混合することで局所麻酔としても作用し得る。

ヒアルロン酸溶液

本実験ではヒアルロン酸溶液は 1%ヒアルロン酸ナトリウム (アドマック関節注、大正製薬) を生理食塩水で希釈して 0.2%、0.4%溶液とした。ヒアルロン酸の平均分子量は 60 万から 120 万である。希釈後、500rpm の混和下にて 700mmHg で 1 分間の脱気を行った。また、生理食塩水についても同様の脱気を行った。

生理食塩水とヒアルロン酸溶液の物性測定

ヒアルロン酸溶液を皮下注射するにあたり、皮下局所麻酔や TLA の基剤として通常用い

られる生理食塩水と 0.2%ヒアルロン酸溶液、0.4%ヒアルロン酸溶液の音響学的物性や熱物性の比較検討を行った。

溶液の音響学的物性の検証は吸収係数と音速の測定を行った。

各溶液は音波透過面の音波吸収が極めて少ない厚さ 10mm の直方体容器に封入され、検討 II での組織検体における吸収係数測定と同様の方法で評価した。また、その到達時間から音速を算出した。脱気水温は 22℃であった。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℃であった。27℃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 (DSC-50、島津製作所) 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 (TPA-501、京都電子工業) を用いて測定した。5 回計測しその平均値を算出した。

溶液への HIFU 照射による温度上昇測定

径 8mm の円筒状空間をもつポリアクリルアミドゲルを作製し、この空間に測定検体として 1ml の脱気した生食、あるいは 0.2%ヒアルロン酸溶液、あるいは 0.4%ヒアルロン酸溶液を注入した。この検体溶液内に HIFU の焦点が合うように HIFU トランスデューサを配置した。検

体溶液中に熱電対を配置し、これを移動させて温度分布を測定した(図 I- 2)。実験は室温下(24℃)で行い、以下の3つの計測を行った。

- ① 焦点に熱電対を置き、 $600\text{W}/\text{cm}^2$ の焦点強度で60秒間照射し、照射中の焦点の温度上昇度を測定した。
- ② 焦点からトランスデューサの方向(direction A)に0.5、1.0、2.0、3.0、4.0、5.0mmの距離に熱電対を配置し $600\text{W}/\text{cm}^2$ の焦点強度で60秒間照射し、各ポイントにおける温度上昇度を測定した。
- ③ 焦点から direction A と垂直に(direction B)0.5、1.0、2.0、3.0mmの距離に熱電対を配置し $600\text{W}/\text{cm}^2$ の焦点強度で60秒間照射し、各ポイントにおける温度上昇度を測定した。

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のウサギ(おす、日本白色種)を実験に用いた。ケタミン 33mg/kg とキシラジン 0.007mg/kg の筋肉注射で麻酔後、仰臥位とした。照射前皮膚処理は、表 II- 1 に示す皮膚処理手順から手順 3 を省いて行った。照射野は腹壁に腫瘍、外傷、熱傷、皮膚炎を認めない部位とし、臍が癒合する部位は避けた。

腹壁をランダムに以下の4群に分け、皮下注射効果と皮膚冷却効果を検討した。

1. 皮膚非冷却、非皮下注射群
2. 皮膚冷却、非皮下注射群
3. 皮膚非冷却、皮下注射群

4. 皮膚冷却、皮下注射群

皮膚冷却群ではトランスデューサ灌流脱気水を 5℃に設定し、照射前 1 分間腹壁に接触させ皮膚を冷却した。皮膚非冷却群はトランスデューサ灌流脱気水を 25℃に設定し、同様に照射前に 1 分間腹壁に接触させた。皮下注射は照射野の皮下にエコーガイド下で 1ml の 0.2%ヒアルロン酸溶液を 25G 針で注射した。注射時の注射剤は室温(25℃)であった。

照射時は脱気した超音波検査用ゲルを腹壁皮膚とトランスデューサの接触面に気泡が残らないように塗布し、トランスデューサにより腹壁を圧迫した。トランスデューサで腹壁を圧迫することで、照射対象となる腹壁の呼吸による移動は抑止できた。焦点を皮下 5mm に設定し、450, 600, 750, 900, 1050, 1300, 1500, 1800W/cm² の各照射強度で、20 秒間照射した。照射後、筋層に生じた熱凝固壊死巣と皮膚熱傷を肉眼的にカウントした。臨床的分類(38)で 1 度以上の熱傷を有意とした。1 匹のウサギに対し、各群とも各照射強度を 1 度ずつ施行し、4 匹のウサギに対しこの検討を行った。

結果

生理食塩水とヒアルロン酸溶液の物性測定

生理食塩水と 0.2%、0.4%ヒアルロン酸溶液の音響学的物性、伝熱学的物性を表 IV- 1 に示す。ヒアルロン酸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があったが、吸収係数は全て同等に低かった。

Material	Saline	0.2%hyaluronan	0.4%hyaluronan
Density (g/cm ³)	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.01
Specific heat capacity (J/g/K)	4.13 ± 0.03	4.12 ± 0.10	4.04 ± 0.12
Thermal conductivity (W/m/K)	0.62 ± 0.00	0.58 ± 0.01	0.57 ± 0.01
Attenuation coefficient (dB/cm)	0.01 ± 0.02	0.04 ± 0.02	0.03 ± 0.03
Sound speed (m/s)	1502.1 ± 0.6	1502.4 ± 0.5	1504.1 ± 1.2

表 IV- 1 生理食塩水とヒアルロン酸の熱物性と音響学的物性

溶液への HIFU 照射による温度上昇測定

- ① 照射 60 秒後の焦点温度上昇度は 0.4%ヒアルロン酸溶液で 37.6℃、0.2%ヒアルロン酸溶液で 33.8℃、生理食塩水で 24.8℃であった(図 IV- 2A)。
- ② directionA 方向へ離れた場合、最も高い温度は 2mm directionA 方向に移動した点で記録された。ヒアルロン酸溶液のほうが全般に温度上昇度が高かった(図 IV- 2B)。
- ③ directionB 方向へ離れた場合、音圧分布と同様に溶液温度上昇は directionA に比べ極めて狭い範囲しか得ることができなかった。全体に温度上昇度は 0.4%ヒアルロン酸溶液、0.2%ヒアルロン酸溶液、生理食塩水の順で高かった。焦点から 3mm 離れた地点ではそれぞれ約 1℃の上昇だった(図 IV- 2C)。

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

各群の筋層内加熱凝固壊死巣発生率と熱傷発生率を図 IV- 3 に示す。

皮膚非冷却、非皮下注射群では、焦点強度 750W/cm² から腹壁の筋層内に加熱凝固壊死が認められた。しかしそれよりも弱強度から皮膚熱傷が発生した。(図 IV- 3A)

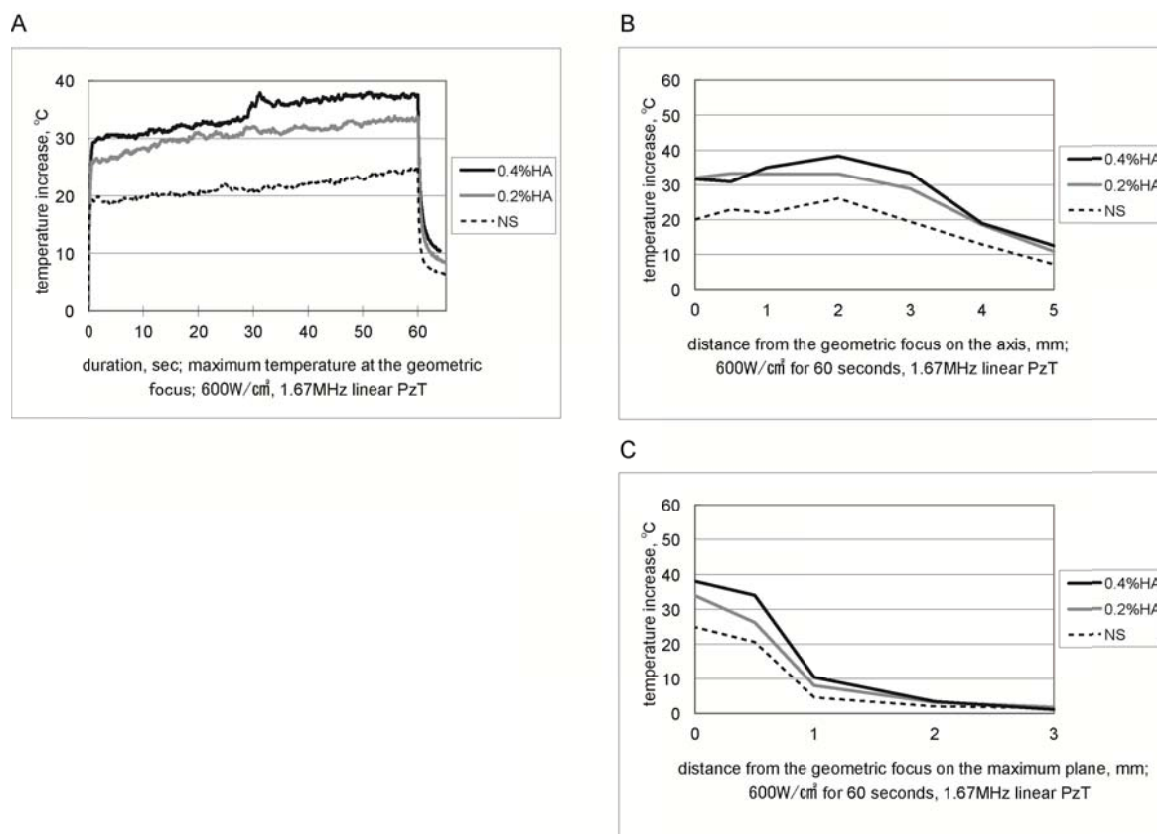


図 IV-2 溶液へ HIFU 照射時の温度上昇度

A、焦点での照射 60 秒間の温度上昇度。 B、トランスデューサ軸上 (direction A 方向) へ移動した地点での 60 秒間の最高温度上昇度。 C、温度最高点を含む平面上を軸から離れたとき (direction B 方向) へ移動した地点での 60 秒間の最高温度上昇度。それぞれ黒実線＝0.4%ヒアルロン酸溶液、グレー実線＝0.2%ヒアルロン酸溶液、破線＝生理食塩水を示す。

皮膚冷却、非皮下注射群では、焦点強度 $1300\text{W}/\text{cm}^2$ から腹壁の筋層内に加熱凝固壊死が認められた。皮膚熱傷の出現も皮膚非冷却、非皮下注射群と比較してより高強度照射側にシフトした。依然として筋層内凝固壊死より低強度で熱傷が生じたが、検討強度内では筋層凝固壊死が確実に生じた強度でも熱傷の出現は半数以下に抑えられていた。(図 IV-3B)

皮膚非冷却、皮下注射群では $600\text{W}/\text{cm}^2$ から筋層内凝固壊死が生じた。この強度では皮膚熱傷が生じなかった。曲線は常に筋層内凝固壊死出現率のほうが高い状態が維持され

た。(図 IV- 3C)

皮膚冷却、皮下注射群では、筋層内凝固壊死巣の出現は $750\text{W}/\text{cm}^2$ から認められたのに対し、 $1500\text{W}/\text{cm}^2$ から皮膚熱傷が出現しており、皮膚非冷却、皮下注射群よりさらに 2 曲線の関係が改善された。(図 IV- 3D)

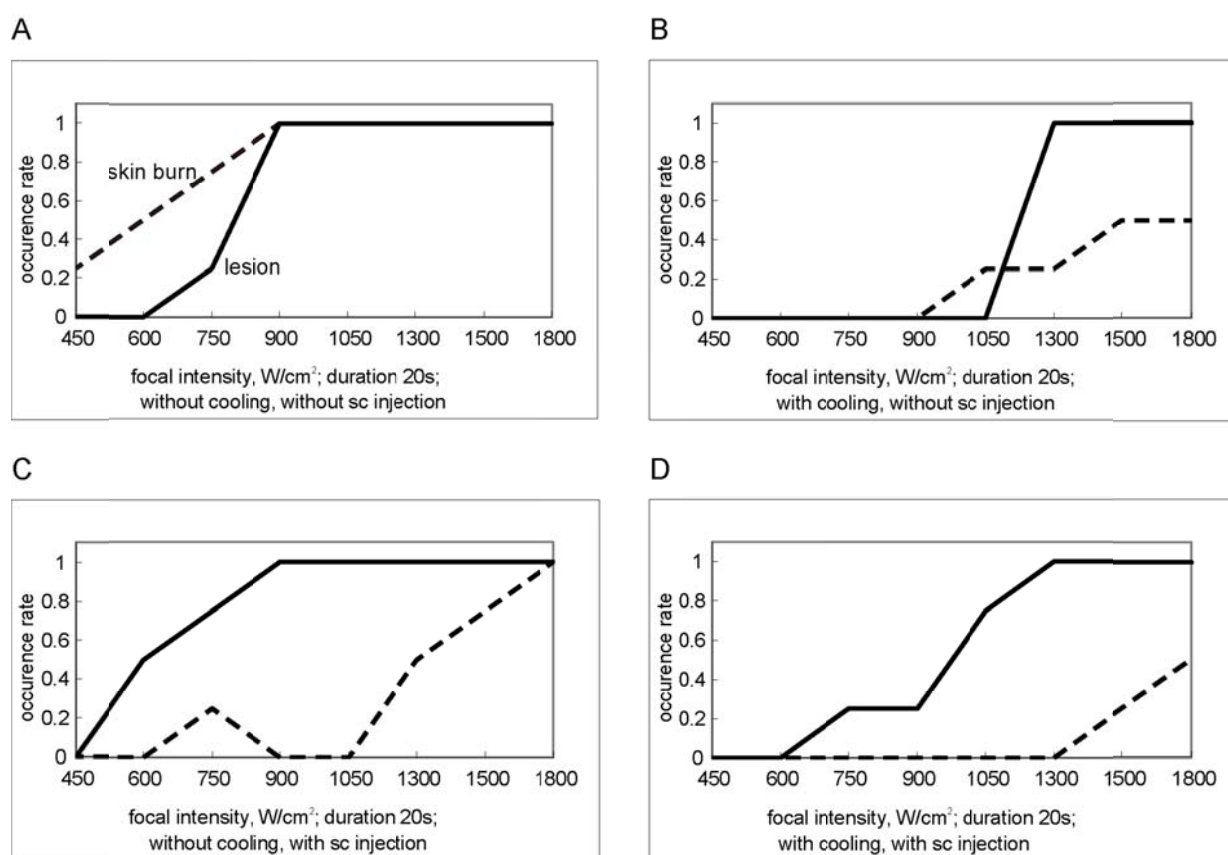


図 IV- 3 腹壁への HIFU 照射結果

A, 皮膚非冷却、非皮下注射群、B, 皮膚冷却、非皮下注射群、C, 皮膚非冷却、皮下注射群 D, 皮膚冷却、皮下注射群をそれぞれ示す。実線は筋肉内の加熱凝固壊死の出現率、破線は皮膚熱傷の出現率をそれぞれ示す。

考察

今回の検討は、下肢静脈瘤に対する HIFU 技術の適応において血管の位置が皮膚に極めて近く存在することを解決しなければならないために考案した。焦点から近くに位置する組織の保護を目的とした場合、熱伝導による損傷のほかに、HIFU の直接的な作用による発熱・損傷を考える必要がある。図 III- 1A のように、集束過程ではあるものの透過する組織によってはその吸収係数次第で組織変性に要求される温度上昇が得られてしまう音波強度とになっている領域が存在する。この場合、局所の冷却によっても熱傷を十分に予防できないことがわかった。そのため焦点からの距離を作り、皮膚にかかる超音波強度をなるべく低くすることが熱傷の予防に重要であった。

液体を熱伝導経路に介在させることも熱傷予防に有用であったと推測される。血管に閉塞を惹起できるような加熱変性を与えるためには血管を圧迫する必要があり、この時に皮下注射液の周囲への拡散を抑える目的でヒアルロン酸での評価を行うこととした。生理食塩水とヒアルロン酸溶液では音響学的特性において大きな差異は認めなかった。特に HIFU 照射時の発熱量を規定する音波吸収はほぼ 0 であった。HIFU による発熱 Q は、 $Q=2\alpha I$ (α は吸収係数、 I は超音波強度を表す) で表されるため(29)、温度上昇度測定における発熱は測定のために用いた熱電対での発熱であると考えられる。各地点の温度上昇度はヒアルロン酸溶液中のほうが高くなったが、わずかではあるが比熱、熱伝導率の差が理由として考えられる。また、粘弾性が強くなることで照射時の音響流による液体の攪拌がされにくくなり、熱エネルギーが拡散されにくくなることが推測される。液体中の分子運動が抑制されることでエネルギーの拡散がされにくくなり、実際の熱伝導も測定された熱伝導率と同等の固体

を介した状態に近づくと考えられる。逆に粘性がなくなることで液体全体に同量の熱エネルギーが分散するため、この外側(皮膚)がさらされる温度、単位面積当たりの熱エネルギーは少なくなると考えられる。この点から考慮すれば、今回物性を測定した3検体では生理食塩水が最も熱遮断においては有利であると思われる。しかし0.2%ヒアルロン酸溶液によって皮膚熱傷が生じやすくなることはなかった。

Polymeros らによれば、胃粘膜下に注入したヒアルロン酸溶液の層は生理食塩水よりも有意に粘膜の隆起量は大きかったとしている(54)。圧迫時にも溶液の粘弾性によって、エコー検索時の画像上では0.2%ヒアルロン酸溶液による皮下注射液の層は、生理食塩水単独で皮下注射した層よりも減少しにくくなった印象を持っている。ヒアルロン酸溶液は粘弾性を持った液体であり、細い注射針で1%ヒアルロン酸溶液の皮下注射を行うのは極めて困難である。また、粘度が高くなることにより液体内に気泡が維持されやすくなる。気泡の注射液の混入あるいは注射時の混入は気泡を核とした想定外の発熱の原因となるため、避けるべきである。注射液の脱気も必須である。圧迫時に層を維持するためには高濃度としたほうが良いと考えられる。しかし液体性状や注射時のハンドリングの観点から、*in vivo*での検討は0.2%が妥当であると考えられた。また、われわれは検討しなかったが、層の維持を目的とするならば、皮下注射剤にコンドロイチン硫酸を混入することやヒアルロン酸をより高分子なものに変えることにより粘弾性が増すため(53)、より良い状況が得られるかもしれない。

加熱領域はBSA加ポリアクリルアミドゲルを用いた検討で示されているところによれば、生体熱輸送方程式をもとにしたシミュレーションよりの大きくなる傾向があることや焦点からトラ

ンスデューサ側に加熱変性域が広がることがわかっている(16, 46)。この現象に対する対策としても有用である。特に下肢静脈瘤は良性疾患であり、皮膚熱傷のような合併症は極めて低く抑えられるべきであると考えている。Wu らによる乳癌症例 23 例にする HIFU 照射の報告(55)では、1 例において小さい皮膚熱傷が認められたとしている。この検討において対象症例は皮膚から 5mm 以上離れている腫瘍に限定していた。しかし、本実験の結果から、皮下注射を行うことでさらに皮膚近くに位置する腫瘍に対しても治療が可能となると考えられる。

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。その際、ヒアルロン酸溶液を用いても目的とする HIFU 照射に影響は認められなかった。

検討 V.

静脈変性閾値の測定

熱による組織変性・壊死に関して一般的な閾値は HIFU の文献内にも散見され 43℃で 60 分、56℃で 1 秒の熱暴露により組織壊死が生じる(15)とされているほか、皮膚熱傷については多くの文献を参照することが可能である。しかし、血管壁に関しての熱伝導率や変性に要する熱量についての記載は参照できなかった。

Thermal dose (t_{43}) は悪性腫瘍に対する温熱療法時に要した熱量の算出方法として考案されたものであり(44)、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℃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。

in-vivo 実験の前段階として焦点強度や照射時間のシミュレーションを行うにあたり、切除された静脈瘤を用いて静脈壁の熱伝導率の測定と、それに基づいて thermal dose を実際の加熱変性モデルの実験結果と比較することで検証した。

材料と方法

静脈検体

本検討で使用した静脈は当院で行われた 2 例の静脈瘤ストリッピング手術により摘出され

た大伏在静脈を用いた。切除後、静脈内腔を生理食塩水にて洗浄し、静脈を 3cm 長に切断した。切断後は 37°C の生理食塩水中に保存した。

静脈の熱伝導率測定

熱伝導率は、熱物性測定装置 (TPA-501、京都電子工業) を用いて測定した。静脈は縦切開し 2 本が横に並ぶように配置し、太さ 6-0 の非吸収性ナイロン製縫合糸 (6-0Proline, Johnson and Johnson, USA) にて連続縫合してシート状とした (図 V- 1)。これを 3 枚ずつ重ねたもの 2 つ作成し、測定用センサーの両側より挟み密着させた。熱伝導率は 5 回計測しその平均値 (±標準偏差) を算出した。室温下 26°C で行った。

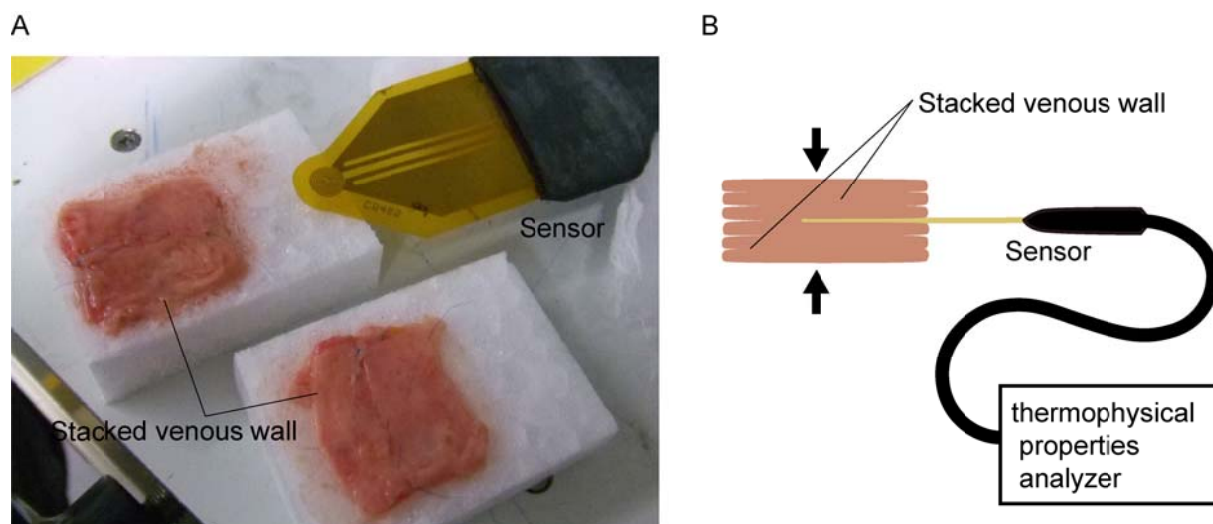


図 V- 1 熱物性測定装置による血管壁の熱伝導率測定

縦切された 3cm 長の静脈 3 本を縫合し、シート状とした。(A)これを 3 枚重ねたものを 2 つ用意し、(B)熱物性測定装置のセンサーの両側から密着させて測定した。

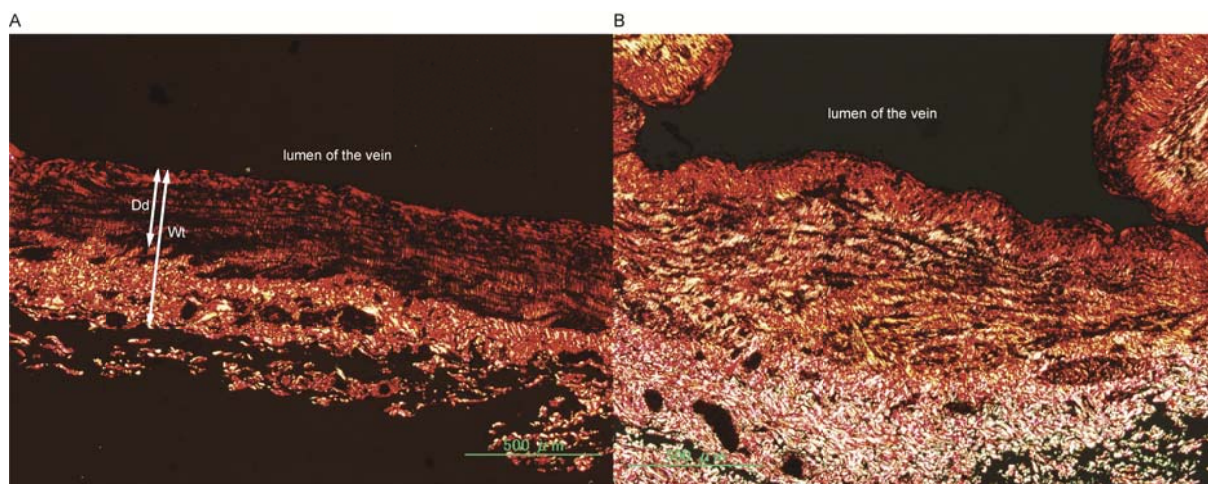


図 V- 2 組織学的所見

A、加熱生理食塩水による壁内の変性。ピクロシリウスレッド染色、偏光顕微鏡による観察。内腔側より加熱され変性した部位は背景と同色調となり、壁内に境界が認められる。与えられる熱量が大きければ、この変化は全周、全層に及ぶ。血管壁厚(Wt)と内腔からの変性深度(Dd)を測定した。

B、37℃生理食塩水を20秒間注入した静脈壁。ピクロシリウスレッド染色、偏光顕微鏡による観察。

静脈の加熱変性モデルの作成

実験は80℃×5, 10, 20秒間、75℃×5, 10, 20秒間、70℃×5, 10, 20, 30秒間、65℃×20, 30, 40秒間、60℃×30, 60秒間の熱暴露を与えることとし、3cm長の静脈の一方の切断端より血管内腔に設定温度まで加熱した生理食塩水を1ml/secの流速で規定時間注入した。反対の切断端より生理食塩水は排出されることとした。生理食塩水の注入終了後、室温の空気を20ml急速に注入した。室温は24℃であった。

熱暴露後の検体はピクロシリウスレッド染色し、偏光顕微鏡で観察した。加熱変性が生じた部位はコラーゲン線維が複屈折性を失っており背景と同調となる(25, 26)。また、偏光角度により疎な赤色を呈する部位が認められることもある。

全周全層に変化が認められた加熱条件の検体と全周に変化が認められなかった加熱条件の検体は除外し、壁内に変性部位と正常部位の明瞭な境界が認められた加熱条件の検体において最も深く変性が認められた切片の血管壁厚 (Wt) と内腔からの変性深度 (Dd) を 5 か所で測定した (図 V- 2)。

加熱変性モデル測定値からの thermal dose 計算

血管を円筒と考え、内腔半径 $r_1 = 2.5\text{mm}$ 、外腔半径 $r_2 = 2.5 + \text{Wt mm}$ とし、加熱生理食塩水による熱伝達率 h_1 、外膜から外気への熱伝達率 h_2 で表せると仮定した (図 V- 3)。

円筒内の温度分布は、

$$\rho C \frac{\partial T}{\partial t} = \frac{1}{r} \frac{\partial}{\partial r} \left(\kappa r \frac{\partial T}{\partial r} \right) + \frac{1}{r^2} \frac{\partial}{\partial \theta} \left(\kappa \frac{\partial T}{\partial \theta} \right) + \frac{\partial}{\partial z} \left(\kappa \frac{\partial T}{\partial z} \right) \quad \text{—(1)}$$

の熱伝導方程式によって求められる。 ρ は組織密度を示し 1070kg/m^3 、 c は組織比熱を示し 3770J/kg/K とおいた。 κ は熱伝導率を示す。一次元熱伝導とした場合、第 2 項、第 3 項は無視でき式(1)は半径 r のみによる熱伝導方程式

$$\rho C \frac{\partial T}{\partial t} = \frac{1}{r} \frac{\partial}{\partial r} \left(\kappa r \frac{\partial T}{\partial r} \right) \quad \text{—(2)}$$

となる。式(2)を差分化することによって温度分布の時間変化を数値的に計算した。

数値計算の確認のために、式(2)式の定常解 ($t = \infty$) について求めた。円筒を内から外へ向かう熱量 Q は

$$Q = 2\pi r_1 L h_1 (T_1 - T_{1s}) \quad \text{---(3)}$$

$$Q = 2\pi r_1 L \frac{1}{r_1} \frac{\kappa(T_1 - T_2)}{\ln\left(\frac{r_2}{r_1}\right)} \quad \text{---(4)}$$

$$Q = 2\pi r_2 L h_2 (T_{2s} - T_2) \quad \text{---(5)}$$

$$Q = \frac{2\pi L(T_1 - T_2)}{\frac{1}{r_1 h_1} + \frac{1}{\kappa} \ln\left(\frac{r_2}{r_1}\right) + \frac{1}{r_2 h_2}} \quad \text{---(6)}$$

と表される。L は円筒の長さを示す。式(3)=式(6)より T_{1s} 、式(4)=式(6)より T_{2s} が求められる。

また、円筒内の位置 r_d における温度 $T(r)$ は、

$$T(r) = T_{1s} - \frac{\ln\left(\frac{r_d}{r_1}\right)}{\ln\left(\frac{r_2}{r_1}\right)} (T_{1s} - T_{2s}) \quad \text{---(7)}$$

より求められる。

組織の thermal dose (t_{43}) は、

$$t_{43} = \sum_{t=0}^{t=final} R^{(43-\bar{T})} \Delta t \quad \text{---(8)}$$

で表される。 t_{43} は目的とする 43°C 相当の加熱時間(eq min)である。R は $T \geq 43^\circ\text{C}$ で 0.5、 $T \leq 42^\circ\text{C}$ で 0.25 に設定される。 \bar{T} は Δt における温度の平均値である。式②より求められた壁内の変性部位と正常部位の境界地点 ($r = r_1 + Dd$) での温度分布の時間変化から thermal dose

を導き、その平均値(±標準偏差)を算出した。

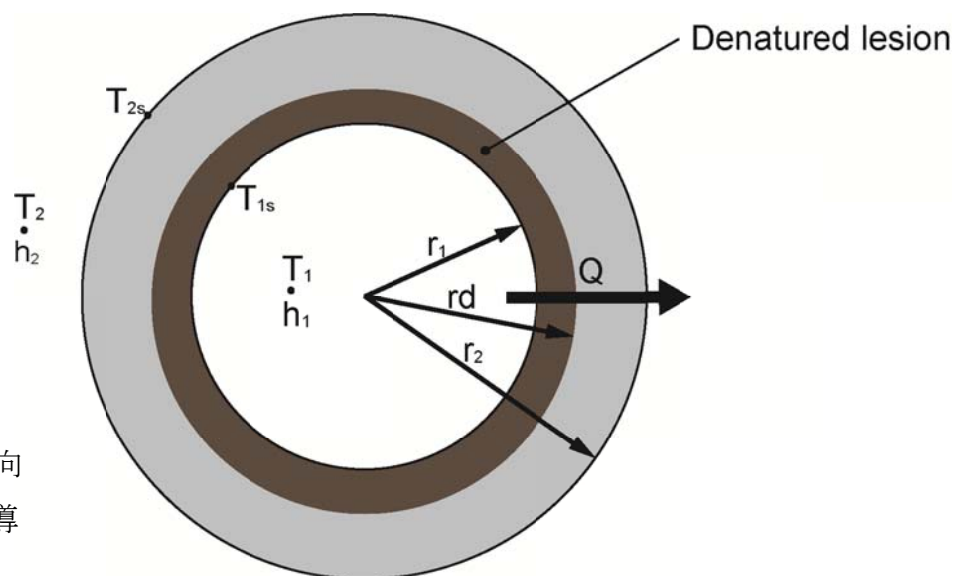


図 V-3 半径 r の方向
における1次元熱伝導

Q は熱量を表す。

r_1 は内腔径を示し、2.5mm である。 h_1 は生理食塩水の熱伝達率を表し、 $532\text{W/m}^2/\text{K}$ とした。 T_1 は生理食塩水の温度、 T_{1s} は静脈内腔側表面の温度である。

rd は内腔径＋組織変性深度の距離を示し、 $2.5+Dd$ mm である。

r_2 は内腔径＋静脈壁厚を示し、 $2.5+Wt$ mm である。 h_2 は外気の熱伝達率で、 $100\text{W/m}^2/\text{K}$ とした。 T_2 は外気温、 T_{2s} は静脈外側表面の温度である。

結果

静脈の熱伝導率測定

静脈瘤切除検体を用いて測定した静脈壁の熱伝導率は $0.22 \pm 0.02\text{W/m/K}$ であった。

静脈の加熱変性モデルの作成

$80^\circ\text{C} \times 5, 10$ 秒間、 $75^\circ\text{C} \times 10$ 秒間、 $70^\circ\text{C} \times 10, 20, 30$ 秒間、 $65^\circ\text{C} \times 20, 30, 40$ 秒間の熱暴露を与えた静脈壁において、全周に連続した加熱変性部位と正常部位の明瞭な境界が認められた(図 V-2)。これらにおいて測定された Wt 、 Dd について、結果を表 V-1 に示す。

80℃×20 秒間、75℃×20 秒間の熱暴露を行った場合、静脈壁の全周全層の加熱変性が認められた。

75℃×5 秒間、70℃×5 秒間、60℃×30, 60 秒間の熱暴露を行った場合、内膜の一部に変性が認められたが全周の変化は認められなかった。

モデル測定値からの thermal dose 計算

図 V- 4A-D には加熱生理食塩水を注入した場合を想定した静脈壁内の経時的温度分布を示した。 r_1 が静脈内膜側、 r_2 は外膜側を示している。加熱により静脈内腔側より温度が上昇し、加熱当初では温度上昇度は大きく、加熱開始後 60 秒経過するとほぼ定常状態となり式(7)より求めた $t \rightarrow \infty$ の曲線とほぼ一致していた。

静脈壁の thermal dose は $t_{43} = 157.61 \pm 65.83 \text{ eq min}$ であった(表 V- 1)。

Temperature of saline (°C)	Duration (sec)	Depth of the denatured lesion \pm SD (mm)	Thickness of the vein wall \pm SD (mm)	Thermal dose ; $t_{43} \pm$ SD (eq min)
80	5	0.84 \pm 0.05	0.18 \pm 0.02	168.42 \pm 89.97
80	10	0.87 \pm 0.04	0.44 \pm 0.04	136.34 \pm 67.07
75	10	1.05 \pm 0.04	0.33 \pm 0.02	71.74 \pm 21.48
70	10	0.84 \pm 0.13	0.23 \pm 0.03	110.23 \pm 34.05
70	20	0.87 \pm 0.03	0.44 \pm 0.02	225.97 \pm 68.28
70	30	1.26 \pm 0.06	0.54 \pm 0.03	209.64 \pm 100.18
65	20	0.97 \pm 0.09	0.29 \pm 0.02	118.45 \pm 29.11
65	30	0.74 \pm 0.07	0.42 \pm 0.02	192.71 \pm 46.60
65	40	0.85 \pm 0.04	0.48 \pm 0.02	185.02 \pm 38.14
Total				157.61 \pm 65.83

表 V- 1 静脈の加熱変性モデルの測定値と thermal dose

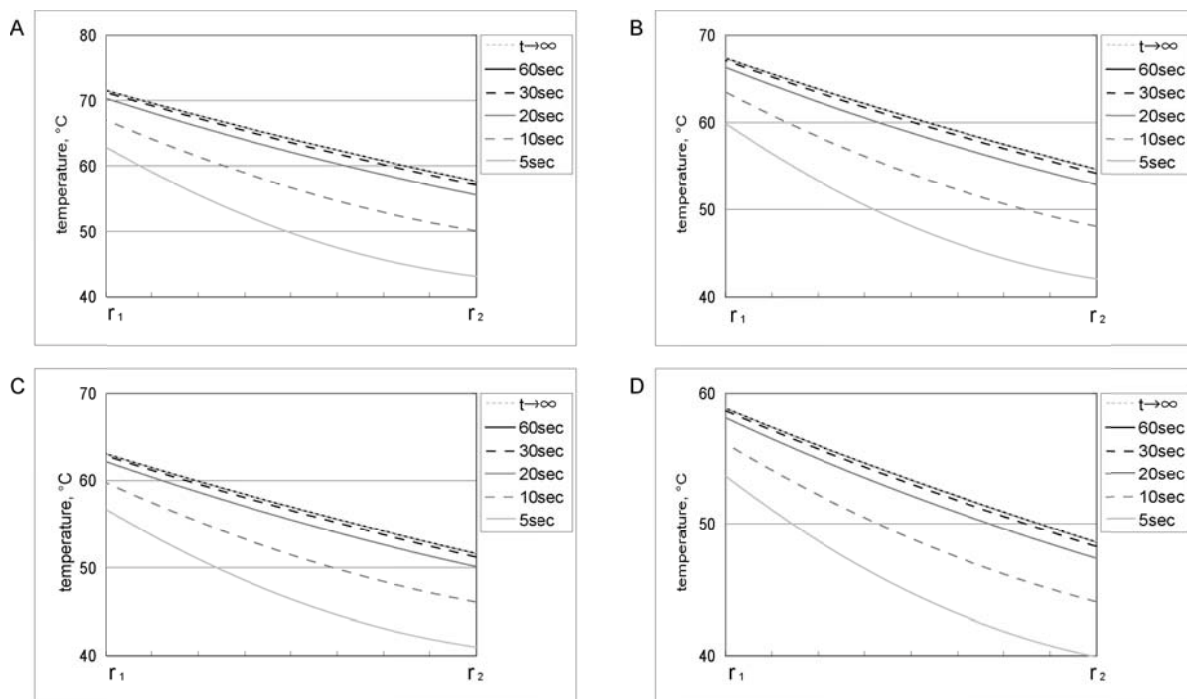


図 V-4 加熱した生理食塩水を注入したときの静脈壁内の経時的温度分布

A は 80℃生理食塩水、B は 75℃生理食塩水、C は 70℃生理食塩水、D は 65℃生理食塩水をそれぞれ注入したときの温度変化を示す。

r_1 は内腔面、 r_2 は静脈外面である。この Fig 中での r_2 は 3.3mm と仮定した。

黒色実線は 60 秒、黒色破線は 30 秒、濃灰色実線は 20 秒、濃灰白色破線は 10 秒、淡灰色実線は 5 秒の熱暴露後の静脈壁内温度分布を示す。また、淡灰白色狭破線は式(7)より求められた $t \rightarrow \infty$ を示す。

考察

レーザー治療 (EVLT)、ラジオ波 (RF) といった下肢静脈瘤に対する低侵襲治療の作用機序はデバイスの先端から発生された熱による組織の加熱凝固壊死である (1, 5)。HIFU は前述のデバイスと同様に熱による組織の加熱凝固壊死を機序とする治療手法であり、HIFU 照射時の熱分布は Penne によって検証された Bioheat transfer equation を原型とした熱輸送方程式を用いて計算することが可能である (37)。この方程式には組織の熱伝導率、密度、比熱が要求される。また、その熱により加熱損傷を受ける範囲の判定が必要である。内腔を

流れる血流は局所の熱を奪いかつ拡散させる働きを持つものとして重要視されるものの、血管壁自体は薄い膜状であるため、熱移動においては存在が無視されてきた。

熱伝導率は多くの組織でその測定がなされている。Yokoyama は多くの測定結果を著している(56)が、血管壁のデータは認められないため切除静脈瘤を用いて測定を行った。皮膚の熱伝導率測定は多様な条件のもとで行われており、血流のないものが 0.25W/m/K から 2.41W/m/K まで広い数値幅があり、体温や外気温により血流が変化しそれに伴い熱伝導率が大きく変化することがわかっている。今回の測定も切除静脈瘤であるため 0.22W/m/K は最低限の数値であり、生体内に存在する場合には今回の測定値より大きくなると考えられる。

今回我々の検討では実際に静脈内に認められた変性の限界地点での温度を経時的に算出し、この結果から Thermal dose (t_{43}) を算出した。組織の加熱損傷に関して最も問題となるのは皮膚熱傷である。Jansen らはマウスの皮膚に対する熱傷温度と熱暴露時間と組織学的変化の関係を示しており(45)、 44°C の加温を継続した場合、表皮、真皮の潰瘍出現、脂肪壊死、筋壊死はそれぞれ 60 分、45 分、30 分で生じるとしている。これらの結果から上皮、真皮は $t_{43}=120$ 、脂肪組織 $t_{43}=90$ 、筋組織 $t_{43}=60$ となる。この観察結果を参照して Fried らは HIFU 照射時の皮膚熱傷出現に関し thermal dose を算出し、熱傷の出現を予測することで有効な HIFU 照射強度と照射時間の検討を行った(31)。しかし、体組織に関して 43°C で 60 分、 56°C で 1 秒が加熱壊死の閾値と言われているものの(15)、血管壁の加熱変性の閾値を記した文献はなく、この一般的な閾値が血管壁にも当てはまるかも不明であった。その

ため HIFU 照射による熱の分布については熱輸送方程式で推定可能であったが静脈の加熱変性の判定に問題が生じていた。今回の検討はこの加熱変性の可否とその範囲を推定するうえで必要な検討である。組織において 56°C で 1 秒の温度が維持された場合、式(8)から $t_{43} = 123.73 \text{ eq min}$ となる。今回得られた血管の加熱変性における閾値から、静脈壁では 56°C の温度が維持された場合 1.3 秒間で加熱変性が生じることが確認された。

静脈の熱伝導率、および加熱変性のひとつの指標として静脈の thermal dose が明らかにされたことは、熱を機序とした医療デバイスの開発・発展に有用であると考えている。

結論

静脈壁の熱伝導率は $0.22 \pm 0.02 \text{ W/m/K}$ であった。それをもとに算出された静脈壁の thermal dose は $t_{43} = 157.61 \pm 65.83 \text{ eq min}$ であった。

検討 VI.

In-vivo における静脈への照射効果の検討

本検討ではウサギ外頸静脈を対象とした in-vivo 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。

材料と方法

HIFU source

検討 I で用いた 1.67MHz HIFU トランスデューサおよびシステムを用いた (図 I- 1, 図 III- 1)。

HIFU 照射条件決定

HIFU 照射により生じる温度分布は検討 II で示した生体熱輸送方程式と表 VI- 1 に示す生体物性から HIFU 照射時の経時的温度分布を推定した。方程式を差分化することによって温度分布の時間変化を数値的に計算した。

layer	Skin	Hyaluronan solution	Subcutane- ous tissue	vein
Thickness (mm)	0.6	2.0	2.0	1.0 (+0.6)**
Attenuation coefficient (dB/cm)	6.9	0.04	2.5	5.9
Thermal conductivity (W/m/K)	0.7	0.58	0.21	0.22
Tissue density (kg/m ³)*	1040	1040	1040	1040
Specific heat capacity (J/kg/K)*	3770	3770	3770	3770
Specific heat capacity of blood (J/kg/K)*	3800	3800	3800	3800
Blood perfusion rate (kg/m ³)*	0.5	0	0.5	0.5
Blood temperature (centigrade)	37	37	37	37

表 VI- 1 ウサギモデルでのシミュレーションに用いたパラメータ

*引用(28)

**設定した幾何学焦点の奥を表す。

つぎに算出された経時的温度分布から皮膚熱傷および加熱による血管の組織変性の出現について予測した。HIFU 照射時にエコー画像上で血管は横断面として検索されるため、血管の変性はリニアプローベの長辺方向における加熱領域の広がり重要である。同一断面において2回の照射で血管断面全体が処理されることを考慮し、この方向に2mm および3mm の変性領域が得られる焦点強度と照射時間の関係を算出した。血管の加熱組織変性は thermal dose (t_{43}) を各地点の HIFU 照射時の経時的温度変化から算出して予測した(44)。

なお、静脈の変性に必要と考えられる熱量は thermal dose は $t_{43}=157.61 \text{ eq min}$ とした。

皮膚熱傷は検討 II と同様に損傷係数 (damage function; Ω) を用いて予測した(39)。皮膚熱傷の臨床分類(38)における1度熱傷は損傷係数 $\Omega=0.53$ 、2度熱傷は $\Omega=1.00$ 、3度熱傷は $\Omega=10000$ に達すると生じる(40, 41)。HIFU 照射時に最も早く損傷係数がこれらに達した

時間で皮膚熱傷出現として照射条件を決定した。この結果照射条件を $750\text{W}/\text{cm}^2 \times 20$ 秒、 $900\text{W}/\text{cm}^2 \times 20$ 秒、 $1050\text{W}/\text{cm}^2 \times 10$ 秒、 $1300\text{W}/\text{cm}^2 \times 5$ 秒、 $1300\text{W}/\text{cm}^2 \times 10$ 秒の 5 群とした。

実験動物と HIFU 照射

照射前処置から HIFU 照射まで

4kg のウサギ(おす、日本白色種)を実験に用いた。ウサギの外頸静脈は皮下 2-3mm に存在しその径は 5mm 程度である。

ケタミン 33mg/kg とキシラジン 0.007mg/kg の筋肉注射により麻酔後、ウサギを仰臥位とした。

照射前皮膚処理は、表 II- 1 に示す皮膚処理手順から手順 3 を省いて行った。

ウサギ左外頸静脈を HIFU 照射対象とし、右外頸静脈はコントロールとした。エコーガイド下で皮下から血管が 5mm 以上となるように 0.2%ヒアルロン酸を皮下注射した。ウサギ頸部では頸部頭側にて上顎静脈と舌顔面静脈が合流し外頸静脈となり体幹へ向かう。HIFU 照射はこの合流部から中枢側 3mm を開始地点とした。HIFU トランスデューサにより外頸静脈を圧迫し、内腔が認められない状態とした(図 VI- 1A)。かつ、圧迫された静脈の奥 2mm に焦点が位置するようにトランスデューサ位置を調整し、HIFU 照射を行った(図 VI- 1B,C)。現システムでは連続的な照射は不可能であるため、トランスデューサは静止した状態で HIFU 照射を行い既定された時間の照射が終了後、照射領域が連続するように位置を移動して次の照射を行った。横断面全体に照射領域が含まれるようにするため、未照射の横断面方向

ヘトランスデューサを移動させ HIFU 照射を行い、1 断面につき 2 回照射を行った。HIFU 照射後血管及びその周囲は輝度が上昇するため、横断面全体に輝度の上昇が認められた場合は静脈の中枢側へ移動し HIFU 照射を継続した(図 VI- 1D)。中枢側照射野の限界は鎖骨上 30mm とした。右外頸静脈については、HIFU 照射以外は左側と同様の処置を行い、照射回数分の同時間の圧迫を行った。

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

照射条件を $750\text{W}/\text{cm}^2 \times 20$ 秒、 $900\text{W}/\text{cm}^2 \times 20$ 秒、 $1050\text{W}/\text{cm}^2 \times 10$ 秒、 $1300\text{W}/\text{cm}^2 \times 5$ 秒、 $1300\text{W}/\text{cm}^2 \times 10$ 秒の 5 照射群とし、各群につき 5 羽を短期的検討群として使用した。1 本の左外頸静脈につき 20 回の照射を行った。HIFU 照射後すぐにエコーでの観察により静脈の閉塞の有無を確認した。各群のはじめの 2 羽においてエコー検査後、肉眼的評価と静脈を切除して組織学的検討を行った。残り 3 羽は両外頸静脈をガーゼ枕子と弾性包帯によって圧迫し、3 日後に圧迫解除しエコーでの観察、両側舌顔面静脈穿刺による静脈造影を行った。皮膚熱傷は肉眼的所見で臨床分類 1 度以上(38)の熱傷が確認された場合に陽性とした。画像的検索ののち、静脈を切除し、HE 染色とピクロシリウスレッド染色された。ピクロシリウスレッド染色された標本は偏光顕微鏡下で観察した(25, 26)

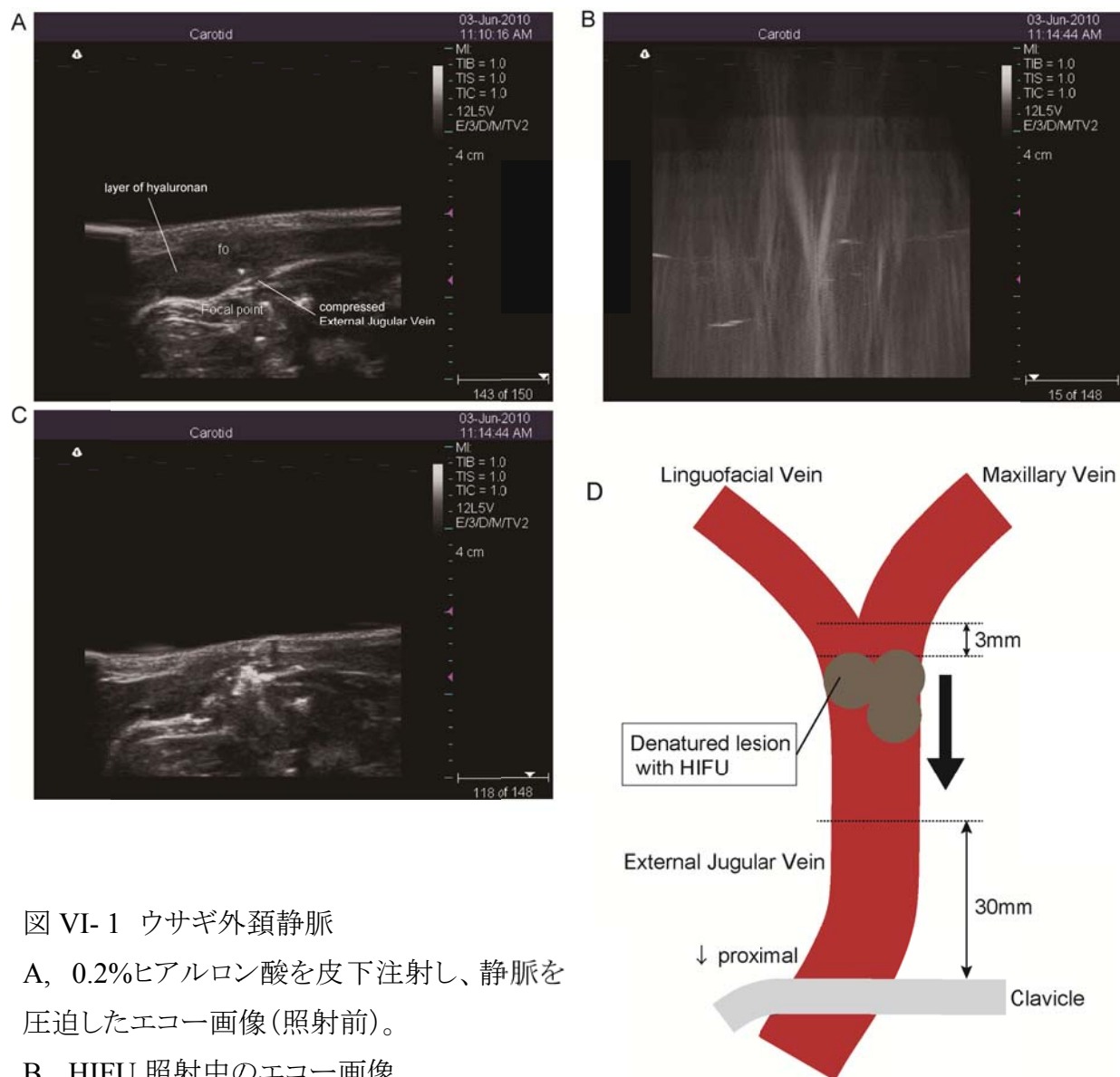


図 VI- 1 ウサギ外頸静脈

A, 0.2%ヒアルロン酸を皮下注射し、静脈を圧迫したエコー画像(照射前)。

B, HIFU 照射中のエコー画像。

C, 照射直後のエコー画像。血管壁の輝度が高くなり、気泡の出現のためと考えられる音響陰影が認められる。

D, 左外頸静脈照射野のシェーマ。照射野(変性領域)はウサギ前面から観察した場合点状であり、これを連続させて血管を横断する変性を作る。外頸静脈頭側から中枢側へ向けて連続した静脈変性部を延長していく。中枢側の限界は鎖骨があるため、鎖骨上 3cm である。

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

照射条件を $1300\text{W}/\text{cm}^2 \times 10$ 秒とし、左外頸静脈に HIFU 照射を行った。実験は 7 羽に対して行った。予定照射域にエコー画像上の変化が得られるまで照射した皮膚熱傷はそれぞれ肉眼的所見で臨床分類 1 度以上の熱傷が確認された場合に陽性とした。HIFU 照射後にガーゼ枕子と弾性包帯によって圧迫した。3 日後に圧迫解除した。照射直後、圧迫解除時、HIFU 照射 1 か月後にエコーを用いて静脈閉塞の有無、閉塞している場合はその長さを計測した。照射 1 か月後においては、両側舌顔面静脈穿刺による静脈造影を行った後、静脈を切除し、HE 染色とピクロシリウスレッド染色を行った。ピクロシリウスレッド染色は偏光顕微鏡下で観察した。

結果

HIFU 照射条件の決定

結果を図 VI-2 に示す。

検討を行った焦点強度では血管の加熱変性を起こし、かつ皮膚熱傷が回避できる結果となった。×は短期的検討で行った照射条件を示す。

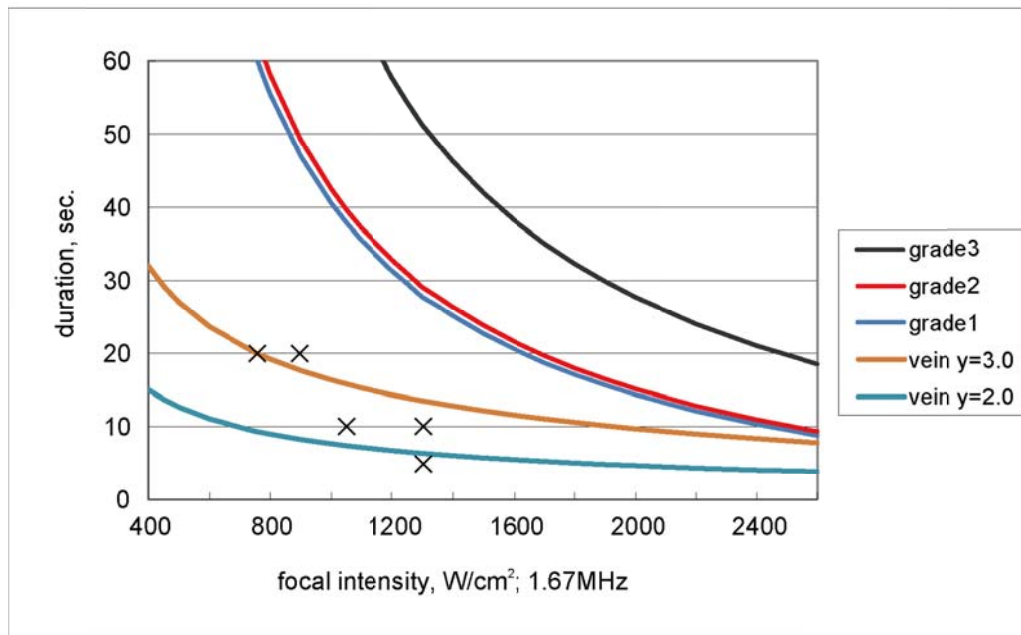


図 VI- 2 静脈変性領域と皮膚熱傷出現の閾値に関する超音波強度と照射時間の関係

緑線＝血管横断方向に 2mm の変性領域、橙線＝血管横断方向に 3mm の変性領域、青線＝1 度熱傷、赤線＝2 度熱傷、黒線＝3 度熱傷の閾値をそれぞれ示す。×は短期的検討において用いた照射条件を示す。

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

死亡例はなく、5 群全てにおいて HIFU 照射による組織学的変性、静脈閉塞が認められた (表 VI- 2、図 VI- 3A, B)。

1300W/cm²×10 秒の照射群では 80%で皮膚熱傷を生じずに静脈が閉塞した。その他の群において皮膚熱傷が生じず静脈閉塞した割合は、750W/cm²×20 秒、900W/cm²×20 秒、1050W/cm²×10 秒の照射群ではそれぞれ 40%、1300W/cm²×5 秒の照射群では 20%であった。

1050W/cm²×10 秒の照射群で 40%、1300W/cm²×5 秒の照射群では 20%で組織学的にも変化が認められなかった。

照射当日に血管閉塞が認められなかった静脈では、3 日後でも閉塞が認められなかった。

組織学的には、閉塞した例全てにおいて、HE 染色では血管壁は全周に肥厚し、内皮細胞の消失、コラーゲン線維の腫脹・ろう状変性が認められ(図 VI- 3C,D,E)、ピクロシリウスレッド染色では偏光下の観察においてコラーゲンの変性を示す複屈折性の消失を認めた(図 VI- 3F,G)。図 VI- 3H-L に図 VI- 3C-G で示した検体のコントロール側を示す。

Focal intensity (W/cm ²)	750	900	1050	1300	1300
Duration (second)	20	20	10	5	10
Number of exposed vein	5	5	5	5	5
Denatured vein	5	5	3	4	5
Occlusion	4	3	2	1	5
Skin burn	2	3	1	1	1
Occlusion without burn	2	2	2	1	4

表 VI- 2 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;結果

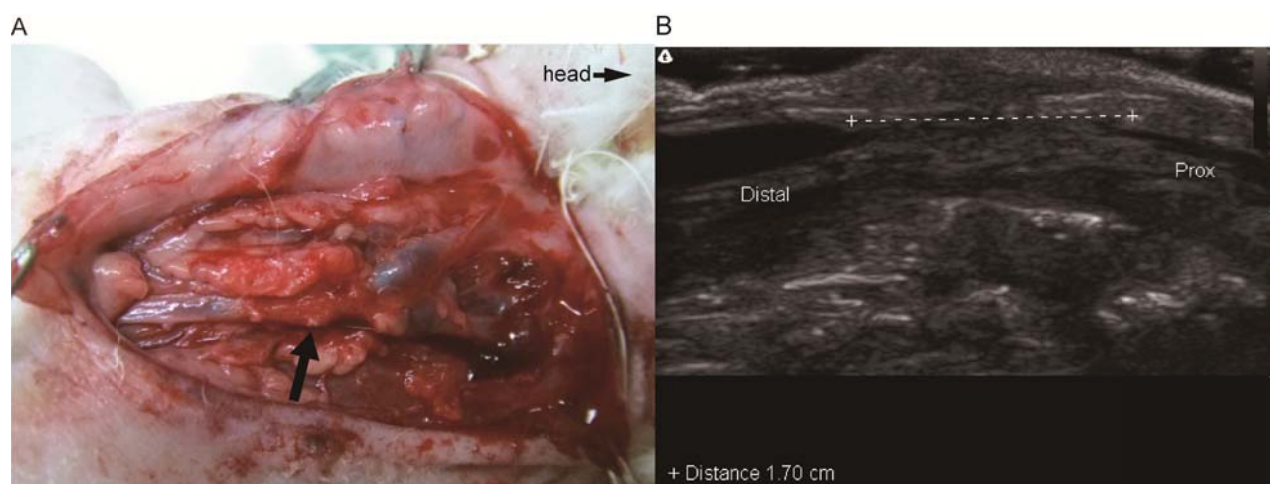


図 VI- 3(次頁に続く)

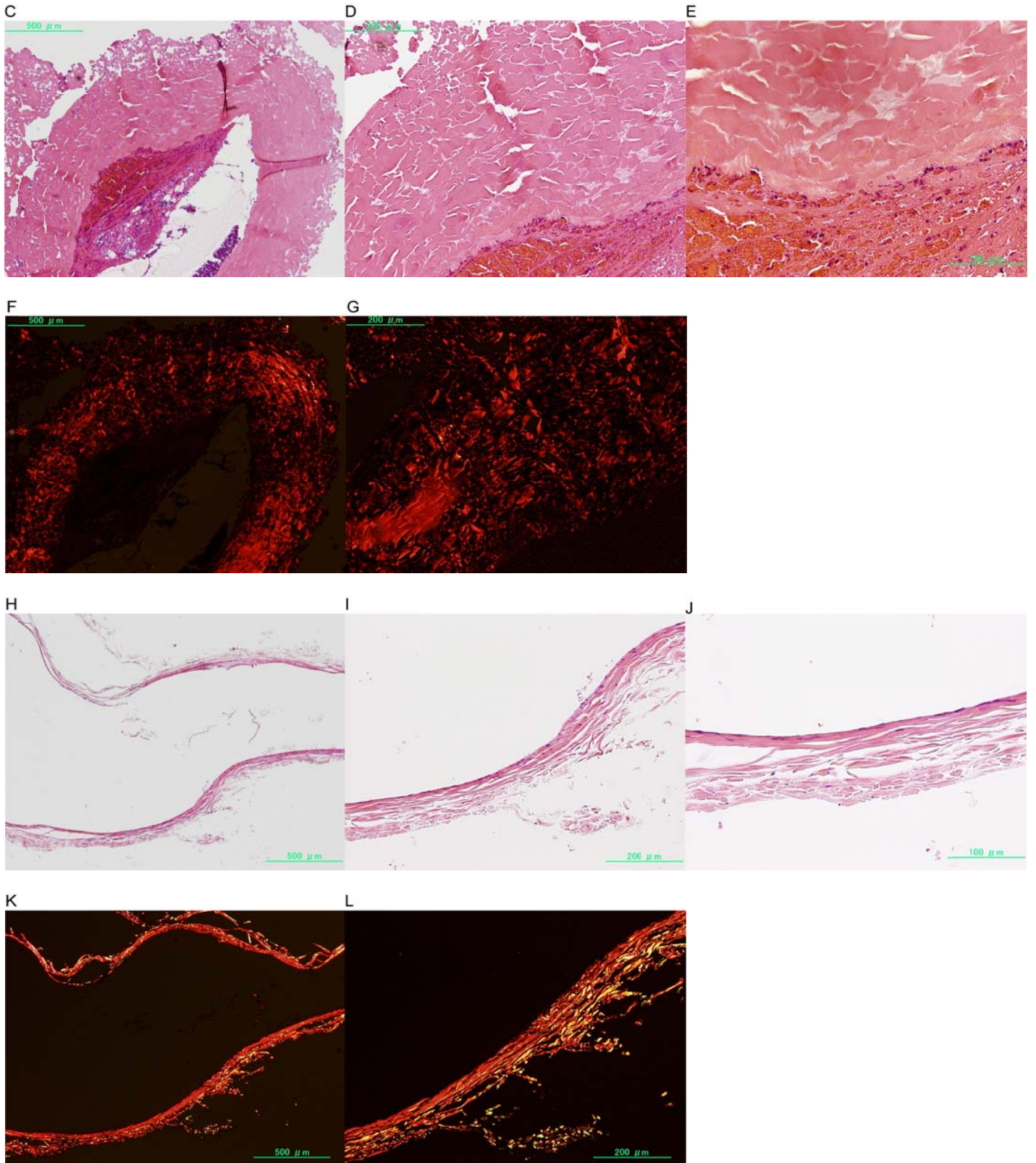


図 VI- 3 外頸静脈を照射対象とした血管閉塞についての短期的検討

A, 閉塞した静脈の照射当日の肉眼所見。静脈は灰白色調に変色し、狭小化を認めた。頭側の静脈は拡張している。

B, 閉塞した静脈の照射 3 日後の超音波画像。加熱変性し閉塞した部位の血管壁は輝度に変化しており、血栓により上顎静脈・舌顔面静脈の合流部まで閉塞していた。

C, D, E, 加熱変性した静脈壁 (HE 染色)。E は D の一部を、D は C の一部を拡大したものである。全周に壁の著明な肥厚、内皮細胞の消失、壁内細胞核の消失、コラーゲン線維の腫脹、硝子化が認められる。静脈内腔には血栓が認められる。

F, G, 加熱変性した静脈壁 (ピクロシリウスレッド染色; 図 VI- 3C,D と同部位)。偏光顕微鏡下で観察。G は F の一部を拡大したものである。全周が背景と同調に変化している。角度により赤色調に見える部位もあるが、偏光角度を変えることで背景と同調になる。

H, I, J, 図 VI- 3C-G のコントロール側標本 (HE 染色)。J は I の一部を、I は H の一部を拡大したものである。

K, L, 図 VI- 3C-G のコントロール側標本 (ピクロシリウスレッド染色; 図 VI- 3H,I と同部位)。偏光顕微鏡下で観察。L は K の一部を拡大したものである。

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

平均照射回数は 23.7 ± 6.9 回であった。直後の観察では HIFU 照射による全例静脈の閉塞を認め、3 度熱傷が 2 例 (28.6%、個体 4, 7) で認められた。1 か月後にも静脈の閉塞が認められたのは、7 例のうち 1 例 (14.3%、個体 6) のみで (表 VI- 3, 図 VI- 4A)、6 例は再疎通していた。死亡例は認めなかった。

閉塞していた個体 6 では、閉塞した血管周囲から側副血行路の発達が認められた (図 VI- 4B)。再疎通していた 6 例では、全例で狭窄が認められ、一定期間は閉塞していたためと考えられる側副血行路の発達を認めた。

組織学的には、個体 6 では外頸静脈の内腔が壁同士の接着によって不明瞭である部位

と内皮細胞の脱落と血栓閉塞が維持されている部位が認められた。一塊として切除した周囲の皮下組織内にも側副血行路と考えられる壁の薄い血管を多数認めた。短期閉塞例に認められたコラーゲン線維の腫脹や強い壁肥厚は認められなかった(図 VI- 4C,D,E)。ピクロシウスレッド染色での観察では、コラーゲン線維の変性による複屈折性の消失が認められた(図 VI- 4F,G)。これに対し、再疎通が認められた個体では内皮細胞が認められた。コラーゲン線維の腫脹や強い壁肥厚は認められなかった(図 VI- 4H,I,J)。ピクロシウスレッド染色での観察では、複屈折性の消失が認められた(図 VI- 4K,L)。

No.	Number of times of exposure	Length of occlusion with denaturing at PED3 (cm)	Stenosis and Occlusion at PED30 (sten./occl.)	Diameter reduction of vein	Comment
1	15	2.2	+ / -	0.6	recanalization
2	25	1.0	+ / -	0.43	recanalization
3	33	1.2	+ / -	0.62	recanalization
4	12	2.1	+ / -	0.54	recanalization
5	33	1.2	+ / -	0.50	recanalization
6	20	1.7	+ / +	-	occlusion
7	28	1.0	+ / -	0.51	recanalization

表 VI- 3 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; 結果

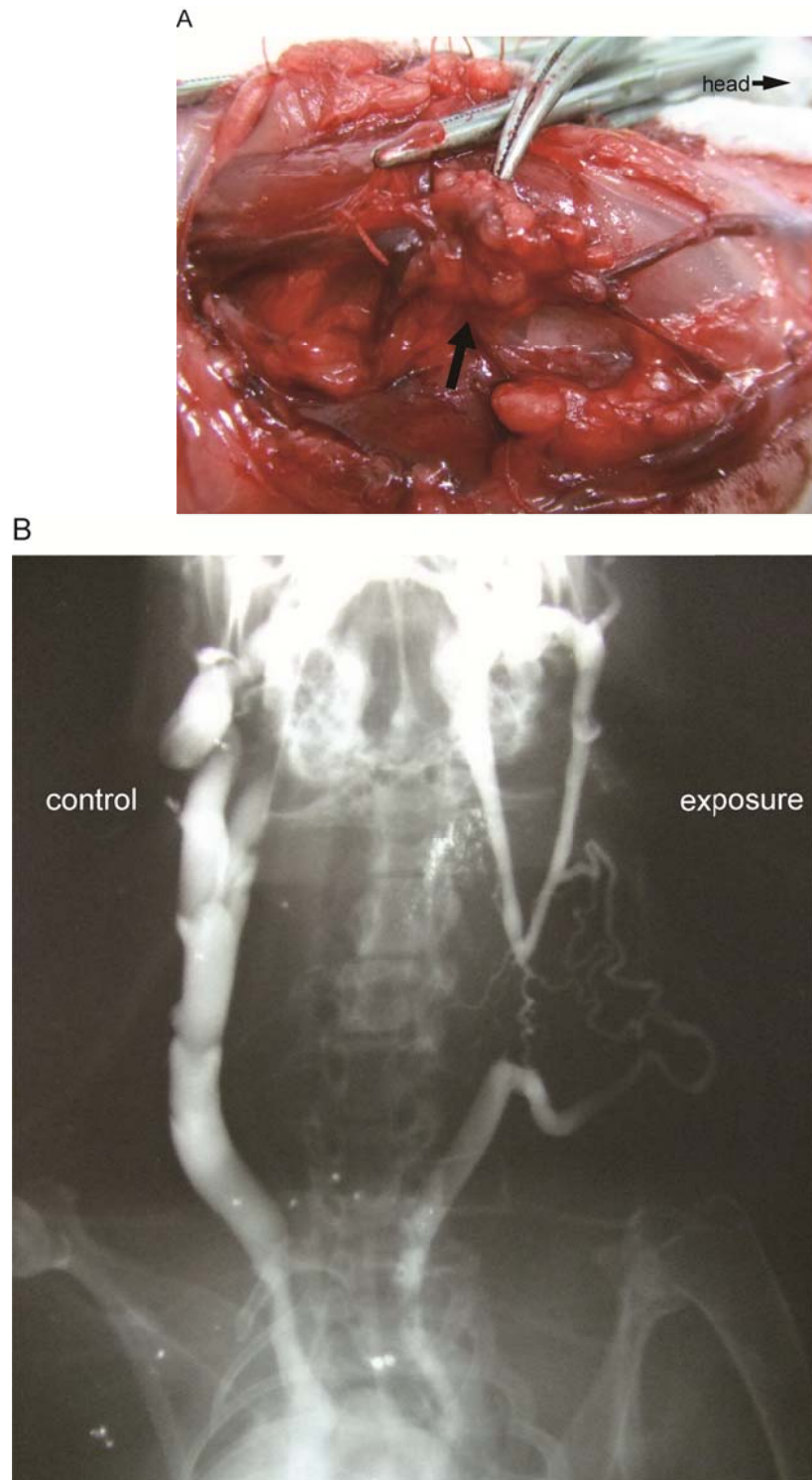


図 VI-4 外頸静脈を照射対象とした血管閉塞についての中期的検討

A, 個体6の肉眼所見。血管閉塞部位は周囲皮下組織を一塊となっていた(矢印)。閉塞部の頭側にある上顎静脈と舌顔面静脈も狭小化していた。

B, 個体6の静脈造影写真。HIFU照射側では上顎静脈と舌顔面静脈合流部から中枢側で閉塞し、複数の側副血行路が発達していた。側副血行路は閉塞の中枢にある分枝に流入し、外頸静脈の中枢側が造影された。

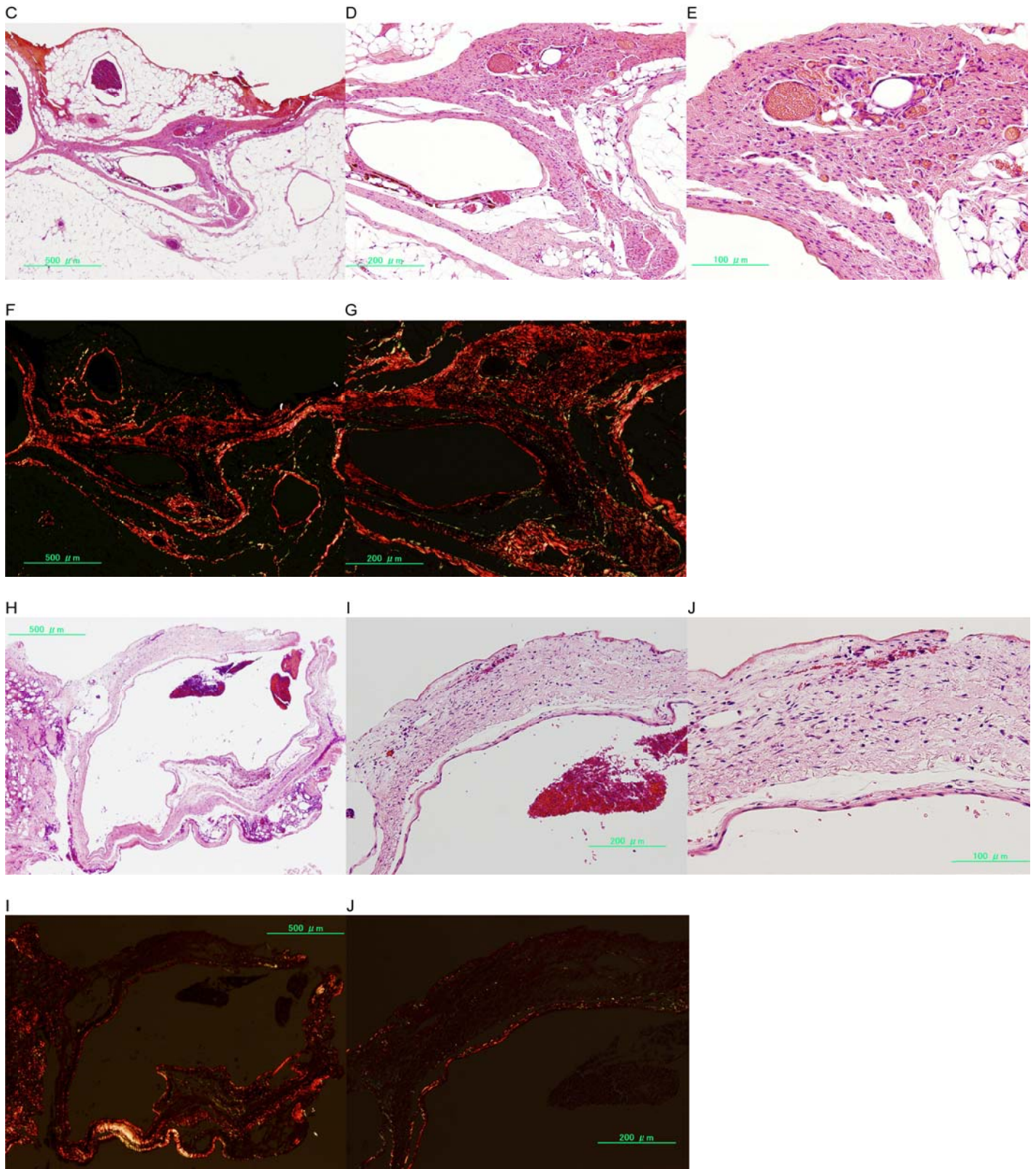


図 VI- 4(続き)

C, D, E, 個体 6 の静脈閉塞部位 (HE 染色)。E は D の一部を、D は C の一部を拡大したものである。内皮細胞の消失と静脈内腔の血栓閉塞を認める。短期検討群の閉塞例で認められた著明な壁肥厚や、コラーゲン線維の腫脹、硝子化は明らかではない。周囲組織内には側副血行路と考えられる壁の薄い血管が多数認められる。

F, G, 個体 6 の静脈閉塞部位 (ピクロシウスレッド染色; 図 VI- 4C,D と同部位)。偏光顕微鏡下で観察。G は F の一部を拡大したものである。全周が背景と同調に変化している。しかし角度により赤色長に見える部位もあるが、偏光角度を変えることで背景と同調になる。

H, I, J 個体 4 の加熱変性、狭窄部位 (HE 染色)。J は I の一部を、I は H の一部を拡大したものである。内皮細胞が認められる。コラーゲン線維の腫脹や壁肥厚は認められなかった。

K, L, 個体 4 の加熱変性、狭窄部位 (ピクロシウスレッド染色; 図 VI- 4H,I と同部位)。偏光顕微鏡下で観察。L は K の一部を拡大したものである。コラーゲン線維の複屈折消失は維持されていた。

考察

実際に外頸静脈を照射する際に、血管は断面で検索したほうが照射位置合わせは容易であったため、この状況を想定してシミュレーション計算を行った。HIFU の加熱領域はトランスデューサの軸上が長径となる楕円形をしているため、加熱領域拡大によって生じる副損傷を避けるため数回で 1 断面を処理することを念頭に置き、2mm、3mm の血管変性が圧迫された血管断面で発生させられる焦点強度、照射時間を検討した。また、実際には照射途中より照射領域に気泡が生じ、これにより HIFU 照射による温度上昇が増強され生じる加熱変性が予測より大きくなること(46)や生じた変性が幾何学焦点よりトランスデューサの方向へ拡大することがわかっており(16)、検討 III での結果も加味しウサギに対する照射を行う際の照射条件の選定を行った。また、幾何学焦点を血管より 2mm 奥に設定したことについても同様の理由による。

それぞれの照射群において静脈閉塞が得られたが、その割合は異なっていた。照射時間を長めにとった群では超音波強度を弱くしたものの熱傷が増加する傾向となった。シミュレーションでは皮膚熱傷が生じ得ないと考えられたが、実際に皮膚熱傷が出現したのは気泡の出現が大きく影響していると考えられた。Liらは音波の反射による影響を含めトランスデューサ方向への変性領域の拡大を腹腔内照射時の副損傷の原因として考察している。

(32)。また、照射時間を短くとした群では組織学的には変化が認められるものの、その範囲は小さいため閉塞に至らない例が認められた。画像上照射直後の血管壁はより高輝度となるが、実際画像が示す範囲よりも組織学的な変化の範囲は狭いことが疑われた。また、中期的観察群では検体により照射回数が大きく異なっていることの原因にも当てはまるが、トランスデューサの接触角度によっては屈折により音波が設計された幾何学焦点で結ばないことが考えられる。この2点についてはまだHIFUのシステム上の問題として改善の余地が残されている部分である。

ProebstleらはEVLТ後の組織学的変化について、HE染色上で内皮細胞の消失、静脈内膜の露出、壁内細胞境界の消失、空胞変性、海綿化、コラーゲン線維の腫脹・ろう状変性を特徴として挙げている(1)。今回のHIFUの照射によって閉塞した短期群では、超音波強度にかかわらずすべてこれらと同様の変化が認められた。また、ピクロシリウスレッド染色においても、偏光顕微鏡下の観察においてコラーゲン線維の変性による複屈折性の変化が認められた。1か月後の閉塞率は低かったが、HIFUによっても血管閉塞に有効と考えられる血管壁変化は得られたのではないかと考えている。

短期成績が最も良好であった $1300\text{W}/\text{cm}^2$ で照射 1 か月後の成績を中期成績として検討した。7 例中 6 例では 43%から 62%の狭窄が認められたものの、再疎通が認められた。血管造影では一定の期間は閉塞していたことを覗わせる側副血行路がいずれも認められた。これらの組織標本では、全てにおいて内皮細胞が認められており、ピクロシリウスレッドでの複屈折性の変化は認められたが短期での閉塞例のような血管壁の肥厚は認めなかった。

Weiss が行ったヤギの頸静脈への EVLT、RF の閉塞実験においても再疎通が認められており、彼らは頸静脈が太く、流量が多いため短い領域への処置では閉塞しなかった、と説明している(55)。この報告では 70%以上の内皮細胞消失が認められても、全例が再疎通している。そのため、血管径や流量等の血管因子は加熱によって血管閉塞を起こす治療デバイスの選択において重要であると考えられる。硬化療法においても内皮細胞の残存が再疎通の原因となることがわかっている(27)が、短期群の閉塞例での組織標本は一様に図 VI-3C,D,E のように内皮細胞の消失が認められることから、中期検討例において再疎通の原因となり得る血管内皮細胞が残存していた可能性は低く、re-endothelization(57)が生じたと考えられる。硬化療法による内膜損傷後の線維化はおよそ 4 週間で成立する(23)とあり、圧迫期間を損傷血管の器質化がもっと進むまで行うことで再疎通率を下げるができる可能性はあると思われる。また、動物種により内皮細胞の回復に関し優劣があると推測された。

Weiss らは RF デバイスによる血管の径減少率を 50%としていたが、今回の自験例では 5 例で 50%以上の狭窄率が得られていた。この点に遜色はないと考える。しかし、本検討において再疎通した検体の平均静脈処理長は $1.45 \pm 0.47\text{cm}$ であった。Proebstle らの検討では径

1.1- 8.0mm(長さは未記載)の穿通枝 67 本に対し EVLT で処理し全例において閉塞(13)、Ozkan らの穿通枝に対する EVLT デバイスの適応検討では平均径 3.3(3.0- 4.6)mm、長さ 2- 5cm の穿通枝に対して使用した結果、穿通枝 7 本中 6 本において閉塞が得られており(14)、同等の距離を HIFU で処理した場合は同様の成績が得られることが期待される。

HIFU の臨床応用に向けた場合を仮定し、今後の課題を挙げる。まず、外部からの圧迫が効かない部位の静脈への対処を検討する必要がある。本検討において横方向(トランスデューサ軸に対しほぼ垂直)の静脈に対して圧迫して照射を行った。血管が軸と平行になるにつれ圧迫が困難となる。この場合、血管が圧迫可能であればトランスデューサの超音波強度分布から考えると 1 度の照射でより長い範囲での処理が行える。圧迫が効かない位置への照射は、血管径が太い場合発生した熱が血液へ拡散し何ら変化が生じない可能性がある(検討 I 結果参照)。しかし血管径が細い場合、何らかの内皮細胞障害が生じ血栓閉塞する可能性があり(23)、超音波強度によっては壁の変性が得られることもあり得る(22)。この場合、血管壁の収縮が生じても血栓閉塞が機序としては主体となるため Delon-Martin らのラット大腿静脈の閉塞検討でも 1 か月後の血栓閉塞箇所における血栓は完全に消失していることから、再疎通すると考えられる。また、圧迫して十分な加熱変性を与えられた場合でも、その閉塞主体が血栓であれば再疎通のリスクは高くなると考えられる。

次に他の静脈瘤治療用低侵襲デバイスとの使い分けである。特に昨今発表されている EVLT の治療成績をみると、成功率(閉塞率)は 93.7%、平均施行時間は 29 分となっており(4)、非常に優れている印象をうける。また、穿刺法で行われることが主流となっており、

創を心配する必要もほとんどない。現在のわれわれの HIFU システムは照射しながら動いていくことは不可能であることから、大伏在静脈(GSV)のように長く連続した部位への治療は、不可能ではないが時間的なデメリットが大きく、不向きであると考えている。このため EVLT による治療が適していない穿通枝の処理への応用が最も HIFU の特徴を生かせる使用法と考えられる。

HIFU では EVLT や RF と同様の合併症が生じるものと考えられる。温度上昇実験や音圧分布から考えて、現トランスデューサの設計上軸の方向において圧迫した血管厚よりも HIFU の直接的作用(音波振動の熱への変換)により加熱される領域が長い可能性があることと、気泡の発生によりそれが助長される可能性があることから、加熱領域が血管外にも広がり得るリスクがある。伴行する神経をはじめとした血管周囲組織も加熱凝固壊死させる恐れがあり、異常知覚や筋の加熱変性、疼痛が生じる恐れがある。

HIFU のシステム上の問題点として、ひとつはエコー画像上で照射直後の血管変性の判定が困難なことがあり、輝度の変化が認められても実際には血管の変化が生じていないことがあった。また、組織を透過することで音波の屈折が生じ、照射角度や照射対象物の形状によっては集束せず温度上昇が得られないことが経験された。特に短期的検討での $1050\text{W}/\text{cm}^2 \times 10$ 秒および $1300\text{W}/\text{cm}^2 \times 5$ 秒において変性すら認められなかったことについては、この非集束を疑っている。これらの問題点に加え、検討 III における気泡の影響による位置変化については、さらに工学的な検証・検討が必要である。また、現トランスデューサはプロトタイプでありいままでの検討の結果からさらにわれわれの目的に合致したものへと修正

していく必要があると考えている。トランスデューサに取り付けられる超音波プローベの画像についても HIFU に適した条件に改良が必要である。

静脈性潰瘍などの皮膚病変を伴っている場合の責任穿通枝の処理に関して HIFU の利点を発揮できると考えているが、硬化した皮膚への HIFU 照射は検討課題とすべきである。原因逆流枝の閉塞が 1 度の処置で得られなかった場合や再発した場合でも容易に再処置を施すことができる点も利点となるだろう。複数回行うことで次第に血管径縮小を経て閉塞が得られることが期待される。皮下に存在する静脈、特に中口径以上の静脈に対しての、HIFU による閉塞手法として至適な条件を検証できたと考えている。

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。また、組織学的にも 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がまだ必要であると考えられた。

まとめ

今回の検討結果をまとめると以下ようになる。

○HIFU は管腔内の液体(血液等)に対し照射を行った場合、組織を加熱変性させるために要する熱量を得るには長時間の照射を要する。また加熱される液体は流れが遮られている必要がある。短時間での温度上昇を意図した高強度超音波の照射は、副損傷を起こす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。

○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に対し適応しうる可能性が示唆された。

参考文献

1. Proebstle TM, Lehr HA, Kargl A, Espinola-Klein C, Rother W, Bethge S, Knop J. Endovenous treatment of the greater saphenous vein with a 940-nm diode laser: Thrombotic occlusion after endoluminal thermal damage by laser-generated steam bubbles. *J Vasc Surg* 2002; 35: 729-736
2. Ash JL, Moore CJ. Laser treatment of varicose veins: Order out of chaos. *Semin Vasc Surg* 2010; 23: 101-106
3. Desmyttere J, Grard C, Wassmer B, Mordon S. Endovenous 980-nm laser treatment of saphenous veins in a series of 500 patients. *J Vasc Surg* 2007; 46: 1242-1247
4. Bremer JVD, Joosten H, Hamming JF, Moll FL. Implementation of endovenous laser ablation for varicose veins in a large community hospital: the first 400 procedures. *Eur J Vasc Endovasc Surg* 2009, 37: 486-491
5. Goldman MP. Closure of the greater saphenous vein with endoluminal radiofrequency thermal heating of the vein wall in combination with ambulatory phlebectomy: Preliminary 6-month follow-up. *Dermatol Surg* 2000; 26: 452-456
6. TenBrook JA, Iafrati MD, O'Donnell TF, Wolf MP, Hoffman SN, Pauker SG, Lau J, Wong JB. Systemic review of outcomes after surgical management of venous disease incorporating Subfascial endoscopic perforator surgery. *J Vasc Surg* 2003, 39: 583-589
7. Wright DDI. What is the current role of foam sclerotherapy in treating reflux and

- varicosities. *Semin Vasc Surg* 2010; 23: 123-126
8. Frullini A, Cavezzi A. Sclerosing foam in the treatment of varicose veins and telangiectases: History and analysis of safety and complications. *Dermatol Surg* 2002; 28: 11-15
 9. Rabe E, Otto J, Schliephake D, Pannier F. Efficacy and safety of great saphenous vein sclerotherapy using standardized polidocanol foam (ESAF): a randomized controlled multicenter clinical trial. *Eur J Vasc Endovasc Surg* 2008, 35: 238-245
 10. Barwell JR, Davies CE, Deacon J, Harvey K, Minor J, Sassano A, Taylor M, Usher J, Wakely C, Earnshaw JJ, Heather BP, Mitchell DC, Whyman MR, Poskitt KR. Comparison of surgery and compression with compression alone in chronic venous ulceration (ESCHAR study): randomized controlled trial. *The Lancet* 2004, 363: 1854-1859
 11. Eidson JL, Bush RL. Diagnosis and current management of incompetent perforator veins. *Semin Vasc Surg* 2010, 23: 113-117
 12. Elias S, Peden E. Ultrasound-guided percutaneous ablation for the treatment of perforating vein incompetence. *Vascular* 2007; 15: 281-289
 13. Proebstle TM, Herdemann S. Early results and feasibility of incompetent perforator vein ablation by endovenous laser treatment. *Dermatol Surg* 2007; 33: 162-168
 14. Ozkan U. Endovenous laser ablation of incompetent perforator veins: a new technique in treatment of chronic venous disease. *Cardiovasc Intervent Radiol* 2009; 32: 1067-1070

15. Kennedy JE, Haar GR, Cranston D. High intensity focused ultrasound: surgery of the future? *Br J Radiol* 2003; 76: 590-599
16. Khokhlova VA, Bailey MR, Reed JA, Cunitz BW, Kaczkowski PJ, Crum LA. Effects of nonlinear propagation, cavitation, and boiling bubble in lesion formation by high intensity focused ultrasound in a gel phantom. *J Acoust Soc Am* 2006; 119: 1834-1848
17. Ripert T, Azemar MD, Menard J, Bayoud Y, Messaoudi R, Duval F, Staeman F. Transrectal high-intensity focused ultrasound (HIFU) treatment of localized prostate cancer: review of technical incidents and morbidity after 5 years of use. *Prostate Cancer Prostatic Dis* 2010; 13: 132-137
18. Funaki K, Fukunishi H, Funaki T, Kawakami C. Mid-term outcome of magnetic resonance-guided focused ultrasound surgery for uterine myomas: from six to twelve months after volume reduction. *J Minim Invasive Gynecol* 2007; 14: 616-621
19. Wu F, Wang ZB, Cao YD, Zhu XQ, Zhu H, Chen WZ, Zou JZ. "Wide local ablation" of localized breast cancer using high intensity focused ultrasound. *J Surg Oncol* 2007; 96: 130-136
20. Leslie TA, Kennedy JE. High intensity focused ultrasound in the treatment of abdominal and gynaecological diseases. *Int J Hyperthermia* 2007; 23: 173-182
21. Hynynen K, Colucci V, Chung A, Jolesz F. Noninvasive arterial occlusion using MRI-guided focused ultrasound. *Ultrasound Med Biol* 1996; 22: 1071-1077

22. Ishikawa T, Okai T, Sasaki K, Umemura S, Fujiwara R, Kushima M, Ichihara M, Ichizuka K. Functional and histological changes in rat femoral arteries by HIFU exposure. *Ultrasound Med Biol* 2003; 29: 1471-1477
23. Delon-Martin C, Vogt C, Chignier E, Guers C, Chapelon JY, Cathignol D. Venous thrombosis generation by means of high-intensity focused ultrasound. *Ultrasound Med Biol* 1995; 21: 113-119
24. Pichardo S, Milleret R, Curiel L, Pichot O, Chapelon JY. In vitro experimental study on the treatment of superficial venous insufficiency with high-intensity focused ultrasound. *Ultrasound Med Biol* 2006; 32: 883-891
25. Brooks SG, Ashley S, Wright H, Davies GA, Kester RC, Rees MR. The histological measurement of laser-induced thermal damage in vascular tissue using the stain picrosirius red F3BA. *Lasers Med Sci* 1991; 6: 399-405
26. Rich L, Whittaker P. Collagen and picrosirius red staining: a polarized light assessment of fibrillar hue and spatial distribution. *Braz J Morphol Sci* 2005; 22: 97-104
27. Ikponmwosa A, Abbott C, Graham A, Homer-Vanniasinkam S, Gough MJ. The impact of different concentrations of sodium tetradecyl sulphate and initial balloon denudation on endothelial cell loss and tunica media injury in a model of foam sclerotherapy. *Eur J Vasc Endovasc Surg* 2010; 39: 366-371
28. Orsini C, Brotto M. Immediate pathologic effects on the vein wall of foam sclerotherapy.

Dermatol Surg 2007; 33: 1250-1254

29. Lerner RM, Carstensen EL, Dunn F. Frequency dependence of thresholds for ultrasonic production of thermal lesions in tissue. J Acoust Soc Am 1973; 54: 504-506
30. Takegami K, Kaneko Y, Watanabe T, Maruyama T, Matsumoto Y, Nagawa H. Erythrocytes, as well as microbubble contrast agents, are important factors in improving thermal and therapeutic effects of high-intensity focused ultrasound. Ultrasound Med Biol 2005; 31: 385-390
31. Fried NM, Sinelnikov YD, Pant BB, Roberts WW, Solomon SB. Noninvasive vasectomy using a focused ultrasound clip: Thermal measurements and simulations. IEEE Trans Biomed Eng 2001, 48; 1453-1459
32. Li JJ, Xu GL, Gu MF, Luo GY, Rong Z, Wu PH, Xia JC. Complications of high intensity focused ultrasound in patients with recurrent and metastatic abdominal tumors. World J Gastroenterol 2007; 13: 2747-2751
33. Li JJ, Gu MF, Luo GY, Liu LZ, Zhang R, Xu GL. Complications of high intensity focused ultrasound for patients with hepatocellular carcinoma. Technol Cancer Res Treat 2009, 8; 217-224
34. Kennedy JE, Wu F, Haar GR, Gleeson FV, Phillips RR, Middleton MR, Cranston D. High-intensity focused ultrasound for the treatment of liver tumours. Ultrasonics 2004, 42; 931-935

35. Roberts WW, Chan DY, Fried NM, Wright EJ, Nicol T, Jarrett TW, Kavoussi LR, Solomon SB. High intensity focused ultrasound ablation of the vas deferens in a canine model. *J Urology* 2002, 167; 2613-2617
36. Takegami K, Kaneko Y, Watanabe T, Murayama T, Matsumoto Y, Nagawa H. Polyacrylamide gel containing egg white as new model for irradiation experiments using focused ultrasound. *Ultrasound Med Biol* 2004, 30; 1419-1422
37. Pennes HH. Analysis of tissue and arterial blood temperature in the resting human forearm. *J appl physiol* 1948, 1: 93-122
38. Moschella SL, Hurley HJ. *Dermatology*, third edition. W. B. Saunders company 1993; p1847-1850
39. Henriques FC. Studied of thermal injuries V. The predictability and the significance of thermally induced rate processes leading to irreversible epidermal injury. *Arch Pathol* 1947; 43: 489-502
40. Tanaka AN. Development of criterion for skin burns. *Aerospace Med* 1974; 45: 634-637
41. Ng EYK, Chua LT. Comparison of one- and two-dimensional programmes for predicting the state of skin burns. *Burns* 2002; 28: 28-34
42. Damianou C, Hynynen K. The effect of physical parameters on the size and shape of necrosed tissue volume during ultrasound surgery. *J Acoust Soc Am* 1993, 95: 1641-1649
43. Fan X, Hynynen K. The effect of wave reflection and refracriion at soft tissue interfaces

- during ultrasound hyperthermia treatments. J Acoust Soc Am 1992; 91: 1727-1736
44. Sapareto SA, Dewey WC. Thermal dose determination in cancer therapy. Int J Radiation Oncology Biol Phys 1984, 10: 787-800
 45. Jansen W, Haveman J. Histopathological changes in the skin and subcutaneous tissue of mouse legs after treatment with hyperthermia. Path Res Pract 1990; 186: 247-253
 46. Lee KI, Choi MJ, Prediction and measurement of the size of thermal lesion induced by high intensity focused ultrasound in a tissue-mimicking phantom. Jpn J Appl Phys 2009, 48: on line
 47. Kaneko Y, Maruyama T, Takegami K, Watanabe T, Mitsui H, Hanajiri K, Nagawa H, Matsumoto Y. Use of a microbubble agent to increase the effects of high intensity focused ultrasound on liver tissue. Eur Radiol 2005; 15: 1415-1420
 48. Yu T, Wang G, Hu K, Ma P, Bai J, Wang Z. A microbubble agent improves the therapeutic efficiency of high intensity focused ultrasound: a rabbit kidney study. Urol Res 2004; 32: 14-19
 49. Holt RG, Roy RA. Measurements of bubble-enhanced heating from focused, MHz-frequency ultrasound in a tissue-mimicking material. Ultrasound Med Biol 2001, 27; 1399-1412
 50. Lafon C, Zderic V, Noble ML, Yuen JC, Kaczkowski PJ, Sapozhnikov OA, Chavrier F, Crum LA, Vaezy S. Gel phantom for use in high-intensity focused ultrasound dosimetry.

Ultrasound Med Biol 2005, 31; 1383-1389

51. Balazs EA, Gibbs DA. The rheological properties and the biological function of hyaluronic acid. In: Balazs EA, ed. Chemistry and molecular biology of the intracellular matrix. London: Academic press 1970: 1241-1254
52. Liu J, Cowman MK. Thermal analysis of semi-dilute hyaluronan solutions. J Therm Anal Cal 2000; 59: 547-557
53. Arshinoff SA. Dispersive-cohesive viscoelastic soft shell technique. J Cataract Refract Surg 1999; 25: 167-173
54. Polymeros D, Kotsalidis G, Triantafyllou K, Karamanolis G, Panagiotides JG, Ladas SD. Comparative performance of novel solutions for submucosal injection in porcine stomachs: An ex vivo study. Dig Liv Dis 2010; 42: 226-229
55. Weiss RA. Comparison of endovenous radiofrequency versus 810 nm diode laser occlusion of large veins in an animal model. Dermatol Surg 2002; 28: 56-61
56. Yokoyama S. Seitainai-netsuidougensyou. Sapporo: Hokkaido daigaku tosyokankoukai 1993; p76, in Japanese. 横山真太郎 生体内熱移動現象. 北海道大学図書刊行会 1993. P76
57. Moaveni DK, Lynch EM, Luke C, Sood V, Upchurch GR, Wakefield TW, Henke PK. Vein wall re-endothelialization after deep vein thrombosis is improved with low-molecular-weight heparin. J Vasc Surg 2008; 47: 616-624

謝辞

本研究を遂行する機会およびご指導ご鞭撻を賜りました、東京大学大学院医学系研究科外科学専攻血管外科宮田哲郎准教授に深謝いたします。

本研究を始めるきっかけを与えてくださり、なおかつ終始懇切なるご指導を賜りました、東京大学大学院工学系研究科機械工学専攻松本洋一郎教授、高木周教授、東京大学大学院工学系研究科バイオエンジニアリング専攻葭仲潔講師、および東北大学大学院工学系研究科電気・通信工学専攻吉澤晋助教に深謝いたします。

本研究において伝熱計算の遂行に際し終始懇切なるご指導を賜りました、東京大学大学院工学系研究科機械工学専攻丸山茂夫教授に深謝いたします。

本研究において熱物性測定の遂行に際し測定設備の提供および懇切なるご指導を賜りました東京大学生産技術研究所機械・生体系部門白樫了准教授に深謝いたします。

実際の実験遂行に際し、ご助言・ご指導・ご協力を頂きました東京大学腫瘍・血管外科の川喜田絢子女史、島田孝枝女史、そして網谷かほる女史に厚くお礼申し上げます。また、実際の実験遂行に際し、ご協力頂きました東京大学大学院工学系研究科修士課程妹尾直彦氏に厚くお礼申し上げます。

最後に、大学院生活を支えて下さりました東京大学大学院医学系研究科外科学専攻血管外科学教室の皆様に心よりお礼申し上げます。