

研究種目：基盤研究（C）
 研究期間：2006～2008
 課題番号：18500388
 研究課題名（和文） 超音波内視鏡下バイオセンサー穿刺法の開発と膵疾患の局所病態評価への応用
 研究課題名（英文） Development of endosonography-guided puncture with biosensor and its application to evaluation of local pathophysiology in pancreatic diseases
 研究代表者
 北野 雅之（KITANO MASAYUKI）
 近畿大学・医学部・准教授
 研究者番号：50314571

研究成果の概要：超音波内視鏡下穿刺術とマイクロダイアリス法を応用して局所における低分子物質量の測定法を開発し、薬物の局所薬物動態評価に成功した。また、超音波内視鏡を用いた膵疾患の局所病態生理を評価する方法として、超音波造影剤による血流評価、超音波内視鏡下穿刺による病理診断があり、その有用性を報告した。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2006年度	1,600,000	0	1,600,000
2007年度	1,200,000	360,000	1,560,000
2008年度	700,000	210,000	910,000
年度			
年度			
総計	3,500,000	570,000	4,070,000

研究分野：総合領域

科研費の分科・細目：人間医工学・医用システム

キーワード：超音波医学科、検査診断システム、消化器内視鏡、膵臓病学

1. 研究開始当初の背景

現在消化器系における医療技術は日進月歩を続けているが、膵癌の診断ならび治療は不十分であることは事実である。また、自己免疫性膵炎等の新しい疾患概念も出現し、その病態生理の解明が求められている。超音波内視鏡領域に電子コンベックス型が導入されて以来、穿刺生検あるいは造影が可能となり、消化器系疾患の診断能が飛躍的に向上している。また、超音波内視鏡ガイド下穿刺生検法は、Vilmann らにより初めて報告され (Endoscopic ultrasonography with guided fine needle aspiration biopsy in pancreatic disease. Vilmann P et al.

Gastrointest Endosc. 38, 172-31, 1992)、腹部臓器の目的病変を採取するのに適した方法、特に膵腫瘍性病変あるいは自己免疫性膵炎の診断に有用な方法として注目され、消化器系腫瘍性病変の組織学的診断および治療方針決定に利用されている。本研究は、超音波内視鏡ガイド下で穿刺可能なバイオセンサーを開発し、それを目的の病変へ正確に刺入することにより、局所における生化学的、薬物動態的あるいは病理学的情報を入手する方法を確立することを目的とした。バイオセンサーとしてファイバー式共焦点蛍光顕微鏡およびマイクロダイアリス法が挙げられる。ファイバー式共焦点蛍光顕微鏡では、

組織採取を行わずに病理診断が行える新しい内視鏡装置であり、免疫組織染色等が可能であるため、in vivo で癌遺伝子、薬物代謝酵素あるいは薬物耐性遺伝子の発現状態を可視化し、悪性度評価および抗癌剤治療予測（治療薬選択）に応用することが可能である。マイクロダイアリス法は、それぞれの臓器において、分泌あるいは放出される各種低分子量物質が測定され、その局所における病態生理をリアルタイムに観察できる方法である。

2. 研究の目的

超音波内視鏡検査は、その高感度な空間分解能のため、消化器疾患の診療に不可欠なものとなってきたが、近年は、造影剤の進歩および超音波観察下穿刺術などでさらなる発展を遂げつつある。本研究は、内視鏡の鉗子口を通過するマイクロダイアリスプローブあるいはファイバー式共焦点蛍光顕微鏡等を開発し、組織採取を行わずに直接的に膵疾患の局所情報（組織学的、生化学的、血行動態的、薬物動態学的および遺伝的）を得る方法を確立することが目的である。また、我々が新規開発した造影用 EUS スコープを用いた造影ハーモニック EUS により、膵腫瘍における局所微小循環動態を評価し、臨床的有用性を検討することも目的とする。

3. 研究の方法

(1) 超音波内視鏡ガイド下穿刺生検用穿刺針内に挿入可能であるバイオセンサーを作成し、臨床応用可能であるかどうかを検討した。バイオセンサーとして、マイクロダイアリスプローブおよびファイバー式共焦点蛍光顕微鏡を検討対象とした。前臨床研究として、ビーグル犬を用いて、その有用性および安全性を検討した。

(2) 超音波内視鏡ガイド下穿刺生検法における適切な穿刺針の選択法と膵腫瘍性病変の鑑別診断および治療方針決定における有用性を検討した。

(3) 局所情報入手の有用な方法のひとつとして、超音波造影剤を用いた血行動態評価がある。造影超音波検査を用いて、胆膵系腫瘍性病変の血行動態より、その存在、鑑別診断、さらに治療効果判定における有用性を検討した。

(4) 超音波内視鏡検査は、他のモダリティに比べると空間分解能に優れているため、消化器疾患の局所における多くの画像上の情報

が得られる。消化器系疾患診断における超音波内視鏡検査の有用性を検討した。

(5) 第二世代超音波造影剤を用いて超音波内視鏡において造影ハーモニックイメージングを行う超音波内視鏡システムを研究開発した。Phanton モデル、ビーグル犬を用いた前臨床研究を行った上で、実際の臨床で有用であるかどうかを検討した。

4. 研究成果

(1) 超音波内視鏡を用いたバイオセンサーのひとつとして、全体長 2m のマイクロダイアリスプローブを作成した。このプローブは、直径 0.22mm、膜長 3mm の半透膜で構成されており、超音波内視鏡下穿刺生検用穿刺針（19G、ECHOTIP ULTRA、COOK）の内腔に挿入可能な形状に作成した。8 匹の犬を鎮静下超音波内視鏡を挿入し、1.0 μ l/分 の速度でマイクロインフュージョンポンプを用いて灌流した。代表的な膵癌化学療法薬である 5-fluorouracil (5-FU) を投与後の回収液中の 5-FU 濃度を測定（GC-MS 法）したところ、投与 10 分以内に最高（13900 ng/ml）に達し、時間の経過とともに減少していった。この経時的変化は血清濃度とほぼ同様の傾向を示した。以上の結果から、本法を用いることにより膵（膵腫瘍）内における局所薬物濃度の測定が可能であることが証明された。今回は 10 分間隔で採取した 10 μ l の検体を用いて 5-FU 濃度を測定したが、GC-MS 法の測定感度は 10ng/ml であるため、投与 10 分以内の高濃度の時間であれば数秒間隔での 5-FU 濃度が測定可能であると考えられる。

(2) 超音波内視鏡ガイド下穿刺生検法に用いる穿刺針サイズは、25G、22G および 19G (Trucut) に大別される。それぞれの穿刺針の特徴（適した穿刺部位、採取率）を検討した。25G 針は、22G 針や 19G 針と比べて、有意に採取率と正診率が高値であった。特に膵頭部と膵鉤部においてその差が明らかであった。一方、細胞診ではなく、組織診が必要な場合には、膵頭部および鉤部は 22G 針、膵体部および尾部は 19G (Trucut) 針が最も有効な選択であることを証明した。

(3) 超音波内視鏡ガイド下穿刺生検法は膵腫瘍性病変の存在診断に有用であるが、更に組織型診断にも利用可能である。我々は、当科にて加療を行った膵腫瘍 279 例中 4 例に超音波内視鏡ガイド下穿刺生検で小細胞癌と診断した。膵小細胞癌は、通常型膵癌と異なる化学療法プロトコール（Carboplatin およ

び Etoposide) を用いて治療を行ったところ、3 例が縮小し、そのうち 2 例が完全寛解となった。以上より超音波内視鏡ガイド下穿刺生検法が、膵腫瘍性病変の組織型診断、ひいては化学療法の実施に重要な役割を担っておりことが証明された。

(4) 膵癌の化学療法効果判定における造影超音波検査の有用性を通常の超音波および造影 CT と比較することにより検討した。造影超音波検査は、通常の超音波検査と比較すると膵癌の輪郭を明瞭に描出することが可能であった。また、腫瘍縮小率は、造影 CT が $13.1 \pm 5.5\%$ であったのに対して造影超音波検査が $21.1 \pm 14.1\%$ であった。以上より、造影超音波検査は膵癌化学療法における効果判定に有用な手段であると考えられた。

(5) 超音波内視鏡および造影超音波内視鏡検査による直径 2cm 以下の小膵癌の描出率および鑑別診断能を検討した。造影 CT 検査 (50%) と比較すると、超音波内視鏡検査 (94.4%) は直径 2cm 以下の膵腫瘍性病変の描出率が有意に高値であった。2cm 以下の膵腫瘍性病変の中で、乏血性腫瘍を膵癌とした場合、膵癌診断における感度は、造影 CT が 50% であったのに対して造影 EUS では 83.3% であった。以上より、超音波内視鏡および造影超音波内視鏡検査は小膵癌の存在および鑑別診断において造影 CT より高感度であることが証明された。

(6) 第二世代超音波造影剤対応の超音波内視鏡装置を開発し、Phantom モデルおよびビーグル犬を用いて、造影剤からの信号が最も強く検出可能である条件設定を行った。

(7) 第二世代超音波造影剤 SonoVue を用いて造影ハーモニック超音波内視鏡検査が実際の臨床で有用であるかどうかを検討した。最も適切な Mechanical Index は 0.4 であり、その条件設定で膵を観察すると、均一な実質像と枝分かたれていく血管像が認められた。また、この造影ハーモニック超音波内視鏡検査にて、胆膵疾患、消化管間葉系腫瘍およびリンパ節転移巣の実質像と血管像の観察が可能であった。

(8) 3 種類の周波数 (12, 20 および 30MHz) の超音波内視鏡を用いて、どの周波数が、胃癌の深達度診断に有用であるかどうかを検討した。m+sm1 の深達度診断では、30MHz が最も正診率が高値であった。

(9) 胆嚢疾患における造影超音波検査の有用性を検討した。造影超音波検査は、通常の

超音波検査や造影 CT と比較すると胆泥と他の疾患との鑑別診断に優れていることが証明された。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 10 件)

- ① Sakamoto H, Kitano M, Komaki T, Noda K, Chikugo T, Dote K, Takeyama Y, Das K, Yamao K, Kudo M. Prospective comparative study of the EUS guided 25-gauge FNA needle with the 19-gauge Trucut needle and 22-gauge FNA needle in patients with solid pancreatic masses.、Journal of Gastroenterology and Hepatology、2009、掲載決定、査読有
- ② Sakamoto H, Kitano M, Komaki T, Noda K, Chikugo T, Kudo M. Small cell carcinoma of the pancreas: role of EUS-FNA and subsequent effective chemotherapy using caecoplatin and etoposide.、Journal of Gastroenterology、2009、掲載決定、査読有
- ③ 北野雅之、坂本洋城、工藤正俊、膵疾患の Interventional EUS、Jpn J Med Ultrasonics、35、2008、663-670、査読有
- ④ Suetomi Y, Kitano M, Kudo M, Sakamoto H, Maekawa K. Evaluation of therapeutic response to gemcitabine in pancreatic Cancer.、55、2008、1785-1788、査読有
- ⑤ Sakamoto H, Kitano M, Suetomi Y, Maekawa K, Takeyama Y, Kudo M. Utility of contrast-enhanced endoscopic ultrasonography for diagnosis of small cell pancreatic carcinomas.、Ultrasound in Medicine and Biology、34、2008、525-532、査読有
- ⑥ Sakamoto H, Kitano M, Dote K, Chikugo T, Takeyama Y, Kudo M. In situ carcinoma of pancreas diagnosed by EUS-FNA.、Endoscopy、39、2008、E70-E71、査読有
- ⑦ Kitano M, Sakamoto H, Matsui U, Ito Y, Maekawa K, von Schrenck T, Kudo M. A novel perfusion imaging technique of the pancreas: contrast-enhanced harmonic EUS.、Gastrointestinal Endoscopy、67、2008、141-150、査読有
- ⑧ Ichikawa T, Kudo M, Matsui S, Okada M,

Kitano M, Endoscopic ultrasonography with three miniature probes of different frequency in an accurate diagnostic tool for endoscopic submucosal dissection.

Hepatogastroenterology, 54, 2007, 325-328、査読有

- ⑨ Sakamoto H, Kitano M, Komaki T, Takeyama Y, Kudo M, EUS-guided pancreaticogastrostomy reconstruction, Endoscopy, 39: 2007, E70-E71、査読有
- ⑩ Inoue T, Kitano M, Kudo M, Sakamoto H, Kawasaki T, Yasuda C, Maekawa K, Diagnosis of gallbladder diseases by contrast-enhanced phase-inversion harmonic ultrasonography. Ultrasound In Medicine and Biology, 33, 2007, 353-361、査読有

[学会発表] (計 8 件)

- ① 北野雅之、当院における Therapeutic EUS の現状、第 76 回日本消化器内視鏡学会総会、2008 年 10 月 3 日、東京
- ② 北野雅之、膵癌早期診断のためのアプローチ、第 39 回日本膵臓学会大会、2008 年 7 月 30 日、横浜
- ③ 北野雅之、胆膵疾患に対する EUS ガイド下ドレナージ術、第 75 回日本消化器内視鏡学会総会、2008 年 5 月 25 日、横浜
- ④ 北野雅之、Sonazoid を用いた造影ハーモニック EUS 検査、日本超音波医学会第 81 回学術集会、2008 年 5 月 24 日、神戸
- ⑤ 北野雅之、造影ハーモニック EUS による胆膵疾患の診断、第 49 回日本消化器病学会総会、2008 年 5 月 9 日、福岡市
- ⑥ 北野雅之、当院における EUS ガイド下ドレナージ術の成績、第 74 回 日本消化器内視鏡学会総会、2007 年 10 月 20 日、神戸
- ⑦ 北野雅之、造影ハーモニック超音波内視鏡装置の新規開発と臨床応用、日本超音波医学会第 80 回学術集会、2007 年 5 月 18 日、鹿児島
- ⑧ 北野雅之、次世代超音波造影剤 SonoVue を用いた造影ハーモニック超音波内視鏡検査、第 73 回 日本消化器内視鏡学会総会、2007 年 5 月 10 日、東京

6. 研究組織

(1) 研究代表者

北野 雅之 (KITANO MASAYUKI)

近畿大学・医学部・准教授

研究者番号：50314571

(2) 研究分担者

工藤 正俊 (KUDO MASATOSHI)

近畿大学・医学部・教授

研究者番号：10298953

竹山 宜典 (TAKEYAMA YOSHIFUMI)

近畿大学・医学部・教授

研究者番号：70263374

筑後 孝章 (CHIKUGO TAKAAKI)

近畿大学・医学部・講師

研究者番号：90171933