

る、超音波照射血栓破碎療法の基礎的検討である。また本研究により既存の tPA による血栓溶解療法に比べ、塞栓部位血流再開通時間の飛躍的な短縮が期待される。

実験1) 超音波プローブの有効性の検討

我々の開発したコンビネーションプローブは、血栓溶解治療用500kHz超音波(T-ビーム)を照射する機能と共に、診断用2MHz超音波(D-ビーム)を用い血流監視が出来る機能を合わせ持つ。まず本プローブの有効性を検討するために下記の検討を行った。

対象: New Zealand White rabbit の両側大腿動脈(雄9羽、計18側)。平均体重: 3,146±54g。塞栓は全例で狭窄型トロンビン血栓²⁾とし、右側から左側の順に作成した。右側の血栓に対し、超音波コンビネーションプローブを血流方向に対して45度に固定した。初回 t-PA (Monteplase) 1.2mg を頸静脈より投与し超音波照射を開始した。強度 0.03W/cm² の D-ビームにより血流を30秒間監視し、強度 0.16W/cm² の T-ビームを2分間照射した(Fig.1)。D-ビームの送受信は Power M-mode Doppler System(PMD-100, Spencer Tec. Inc., Seattle)を用いて行なった。PMD は Doppler Power 信号による血流 M-mode 表示と血流ソノグラム表示を有し、血流状態は Doppler ソノグラムで監視し続けた。D-ビーム・T-ビームの間歇照射を交互に4回行なった後、5分間 T-ビームを休止しD-ビームで血流を監視した。この15分間を1セットとして4セット、計60分間の超音波照射を行なった。血栓末梢側にレーザー血流計を装着し、再開通状態を確認した。

実験2) 含気製剤の検討

実験1と同様に New Zealand White rabbit(計5羽10側)の両側大腿動脈を用い同様のプロトコールで含気製剤の血栓破碎効果の検討を行った。血流再開状態は超音波血流計を使用した。また含気製剤(Levovist)は各血栓溶解治療用500kHz超音波(T-ビーム)照射直前に400mg 静脈内投与を行った。(Fig1)

【結果】

結果1)

(Fig2 参照)

左右共に、9例中4例で血流の再開通を認めた(44.4%)。血流再開時間は、右超音波照射側19±3分、左非照射側26±14分と超音波照射側で血栓溶解効果の加速傾向を認めた。血栓溶解の認められた例でのPMDによるDoppler血流ソノグラムの記録例をFig2に示した。血栓溶解の進行に伴い①血流の無い状態から②心拍に伴う小さいspike patternが出現した後、③血流の再開を示すflow pattern(→)が出現した。更に溶解が進むと④bipolar spike patternから、⑤完全溶解、再開通の後、元の波形に回復した。また超音波血流計の観測ではFig2の如く超音波照射併用群で早期に再開通を呈した。

結果2) (Fig 3 参照)

含気製剤を併用した場合、超音波照射群で血流再開が早期に認められる傾向を示した

【考察】我々の開発したコンビネーションプローブは、血流監視により完全再開過程を確認した時点で、T-ビームを停止させることができる。従って必要最小限の超音波照射による安全な治療が可能である。ヒト頭蓋骨の500kHz超音波の透過性は2MHz超音波の約4倍である¹⁾。超音波

による血栓破壊能力は、超音波 mechanical index (MI)に依存しており、その音響強度が同一であれば、500kHzにおけるMI値は、2MHzの場合の約2倍である。TCD(2MHz)単独法に比べ、500kHzを用いた低周波併用法の溶解率は、超音波の骨透過性、高いMI値であることを踏まえれば、高値を示すものと考えられる。

また含気製剤併用におけるt-PA効果増強の有用性はin vitroにおける報告が既にされているが^{4),5)}、in vivoでの報告は渉猟する限り一報告⁶⁾のみで、levovistでは本検討が初の試みとなる。検討例数が少数ではあるが、含気製剤併用の超音波照射による血栓溶解促進効果の有用性が示唆される結果となった。しかしながら、検討すべき課題はいくつが挙げられる。第一に、含気製剤の局所浸透効果の問題である。完全閉塞血管への含気製剤の浸透効果は微小であると考えられるため、閉塞血管への含気製剤の浸透のメカニズムの検討を要すると考えられた。第二として、含気製剤の投与のtimingである。含気製剤の微小気泡発現の時間は非常に短くその間に効果的に超音波照射を行うことが必要である。そのため今回は治療用超音波照射直前に含気製剤の投与を行った。しかしながら、含気製剤を頻回に投与する必要があるため、投与量が問題になる。

また、通常の超音波照射併用血栓溶解療法と異なり、含気製剤を併用することによる期待される効果は超音波による血栓破壊効果である。いまだ、in vitroの実験報告しかなく、適切な超音波照射条件は不確定である。今回の検討では認められなかったが、効果増強による血管障害も想

定しなければならず、これらは今後の検討課題である。

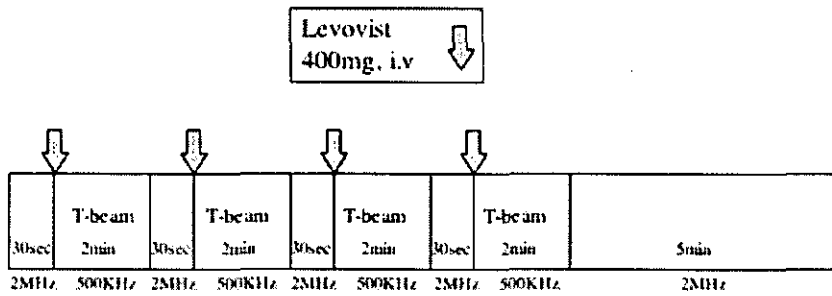
【結論】超音波治療・診断併用プローブは、血栓溶解療法を行なうと同時に、PMDによる溶解過程の観察が可能である。超急性期脳血栓溶解療法において極めて有用な臨床手法と成り得るものと期待される。また含気製剤併用による超音波照射血栓破壊効果は、in vivo閉塞血管モデルに対して有効と考えられ、今後の検討により更なる有効性の確立が期待できる。

【文献】

- 1) Akiyama M et al. Neurosurgery. 1998;43:828-832.
- 2) Ishibashi T et al. Stroke. 2002;33:1399-1404.
- 3) Shimizu J et al. In: Program and abstracts of the 10th meeting of the Neurosonology Research Group of the World Federation of Neurology, Bad-Salzhausen, Germany, July 4-5, 2003, Abstract.
- 4) Nedelmann M, Eicke BM, Nolle F, Lierke EG, Kempfski O. The ultrasound contrast medium levovist increases the thrombolytic effect of low frequency ultrasound. Med Klin (Munich). 2002 Apr 15;97(4):216-20.
- 5) Mizushige K, Kondo I, Ohmori K, Hirao K, Matsuo H. Enhancement of ultrasound-accelerated thrombolysis by echo contrast agents: dependence on microbubble structure. Ultrasound Med Biol. 1999 Nov;25(9):1431-7.
- 6) Culp WC, Erdem E, Roberson PK, Husain MM. Microbubble potentiated ultrasound as a method

of stroke therapy in a pig model: preliminary
findings. J Vasc Interv Radiol. 2003
Nov;14(11):1433-6

Fig 1



500kHz power : 0.16W/cm²
2MHz power : 0.03W/cm²
 初回照射直前のみ mtPA(monteplase)1.2mg 頸静脈より投与
 間歇的超音波照射法15分×4回

Fig 2

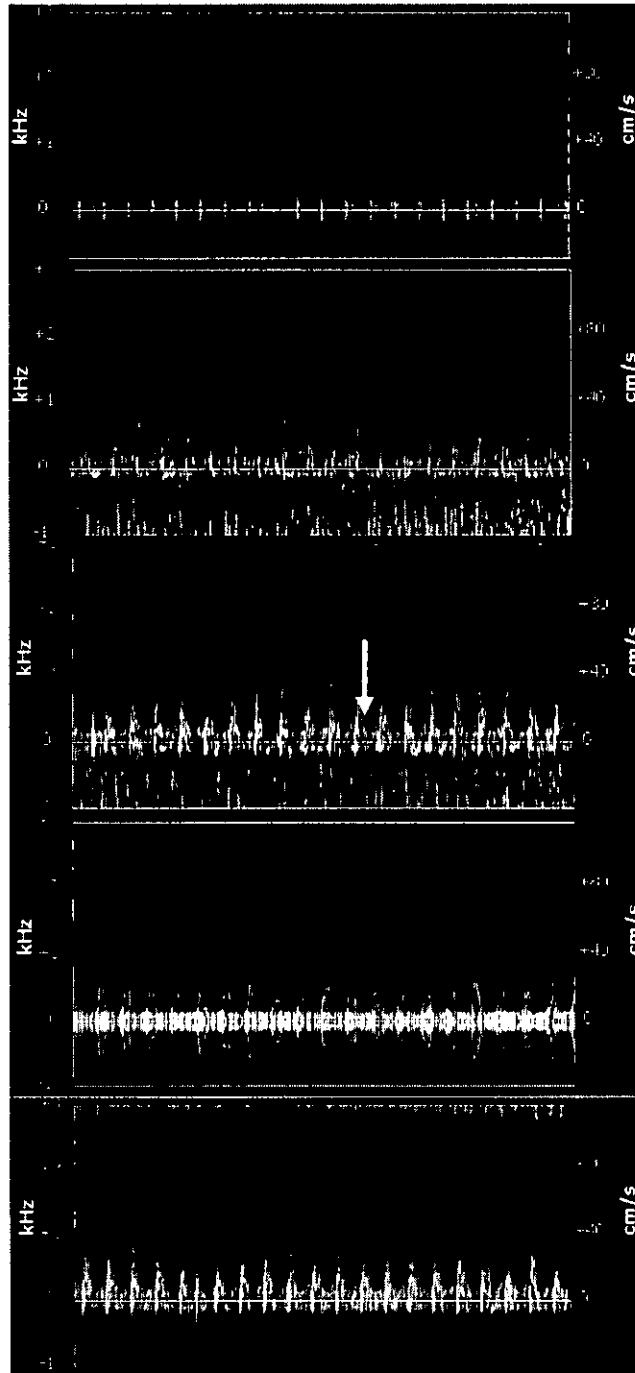
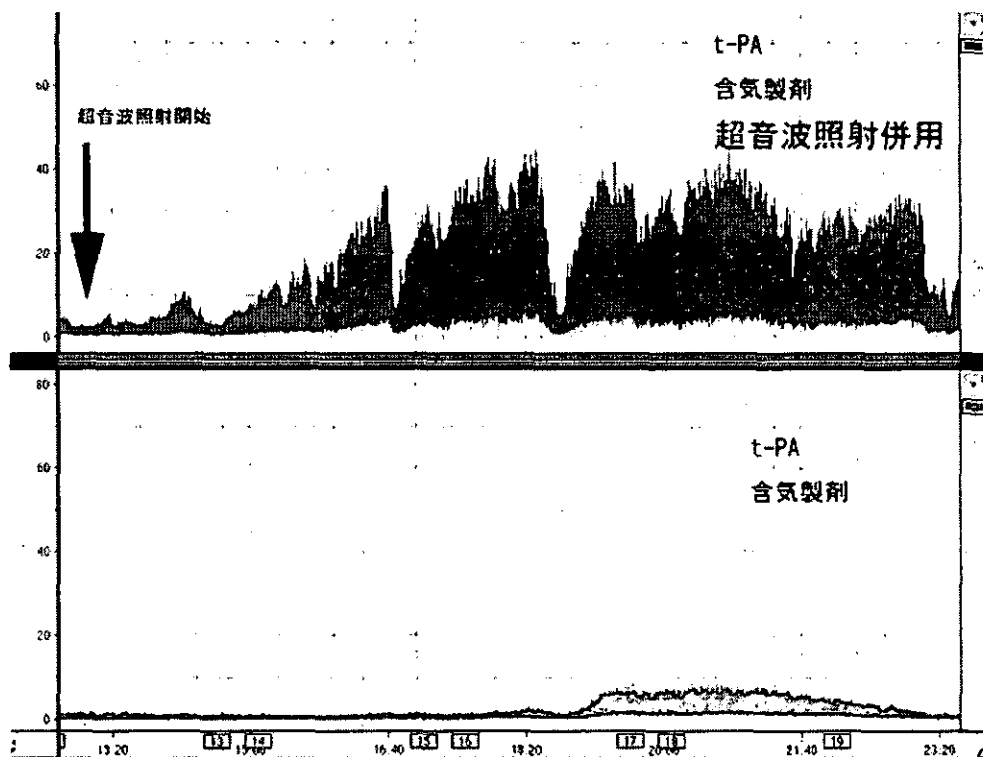


Figure 1. Process of recanalization caused by thrombolysis. Doppler blood flow sonogram obtained by PMD

Fig 3



分担研究報告書

研究課題：神経保護薬投与下虚血脳における超音波作用

分担研究者；中野 みどり（東京慈恵会医科大学 総合医科学研究センターME 研究室）

研究要旨

経頭蓋超音波血栓溶解療法では、虚血状態の脆弱な脳に超音波を照射することが必要不可欠である。そのため、理論上安全であると予想される周波数および出力条件の超音波照射条件を選択している。他方臨床現場では脳神経系保護のためフリーラジカルスカベンジャーが脳梗塞発症直後から使用される状況がある。本治療法適用に当たってはそのフリーラジカルスカベンジャー使用環境下での安全性を担保する必要がある。本年度は *in vitro* 実験としてマウススライス標本に対する神経保護薬と超音波の相互作用と *in vivo* 実験としてラット脳虚血モデルに経静脈的エダラボン投与を行い、超音波照射の有無による神経学的症状の差異、病理学的以上の有無などに基づいて安全性の評価を行うこととした。その結果、*in vitro* の実験においては、例数は少ないものの本超音波条件下では神経保護薬の効果を変化させることのないことを認めた。また、*in vivo* 実験では虚血モデルの安定作成に至らないため、未だ十分な検討を行える段階には至らなかった。引き続き *in vitro* 及び *in vivo* 実験を重ね、統計学的に明らかな形で神経保護薬と超音波照射との中枢神経形への影響まとめられる。

(研究協力者) 馬目 佳信 (東京慈恵会医科大学総合医科学研究センターDNA 研究所分子細胞生物学研究部長)

A. 研究目的

脳梗塞に対する発症 3 時間以内の組織プラスミノゲンアクチベーターの経静脈的投与の有効性は認められている。1) その治療効果をさらに向上させる超音波照射を併用することの有効性は立花らや主任研究者古幡らにより示され、今日まで内外にそのメカニズムに関するもの、血管内超音波照射や経皮的照射法など、照射手法を交えた *in vitro* 実験性かも少なくない。しかし、最も汎用性が高く、発症早期に適用可能な経頭蓋超音波照射法は未だ存在せず、その臨

床用機器「経頭蓋超音波脳血栓溶解装置」を用いる経頭蓋超音波の脳血栓溶解療法を現在開発中である。その基礎検討として我々は、超音波照射の生体に対する影響、とりわけ、虚血/再灌流により脆弱になっている神経組織に対する超音波照射の安全性について検討を重ねてきた。さらにこの経頭蓋超音波血栓溶解療法の臨床応用に際しては、実際に新規脳梗塞患者の推定約 60% に投与されている、脳保護剤エダラボン(商品名ラジカット)と経頭蓋超音波溶解療法の相互作用についても検討が不可欠で

ある。

そのため次の2種類の実験系についてその作用を検討することにした。

1) マウス脳器官培養スライスを用いた *in vitro* 実験

2) ラット脳虚血モデルを用いた *in vivo* 実験

前者はマウス新生児の脳をスライスし、器官として生きたままの培養標本(数週間生存し続けた状態のスライス標本)をまず作り、これに対し神経保護薬エダラポンを注入した状態と超音波照射ただけの状態及び両者を適用した状態での神経細胞死の量を比較評価し、神経保護薬と超音波照射の相互関係、とりわけその安全性を検討した。

後者は、ラット右中大脳動脈閉塞/再灌流モデルに対して、エダラポンを経静脈的に投与し、経頭蓋的超音波照射・非照射群間での神経学的評価と、摘出した脳組織の組織学的評価から、虚血脳組織に対する超音波照射の安全性について検討した。

すなわち、スライスして培養された局所神経系と代謝循環系を維持した状態の脳全体の神経系とで、神経保護薬と超音波照射の相互作用と安全性を評価した。

なお、脳スライス標本の実験は研究協力

者として馬目佳信(東京慈恵会医科大学総合医科学研究センターDNA 研究所分子細胞生物学研究部長)の協力を得て行った。

また、この2つの実験は独立したものであるので、本報告書の構成として「B.研究方法」「C.研究成果」「D.考察」をその内部で分けて記述し、全体としての考察を「D.考察」に加え、全体としての結論にまとめる形で記述した。

B. 研究方法

1) マウス脳器官培養スライスを用いた *in vitro* 実験

フリーラジカルスカベンジャー (FRS) と超音波 (US) の複合作用が中枢神経系に及ぼす影響を次の群間で比較することにより検討した。

(1) 脳器官培養スライスの作成法

生後3日の新生児マウスから大脳を摘出し、マイクロスライサーを用いて厚さ 350 μ m にスライスした。これをフィルターに乗せ、スライスが培地と空気の両方に触れた状態にして6ウェルプレートで培養した。スライス時に傷ついた細胞が死に絶えてスライスの状態が安定するまで4週間培養した。

(2) 超音波照射条件

	control	FRS-, US-	FRS+, US-	FRS-, US+	FRS+, US+	Death control
FRS	何もしない	非添加	添加	非添加	添加	2%パラフォルム アルデヒド処理
US		非照射	非照射	照射	照射	
例数	6	6	6	6	6	2

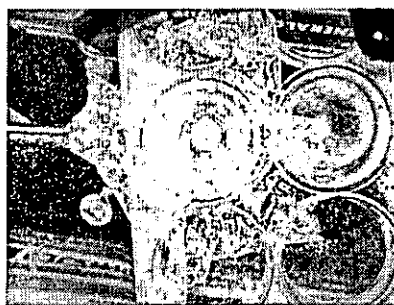
表-1. 比較群



実験装置全景



照射部真横から



照射部真上から

図-1. 脳スライス標本に超音波を照射しているシーン

直径 5 mm の超音波プローブを用い、周波数 500 kHz、出力 0.3 W/cm² の連続波を照射した。2 分間照射 30 秒休止を 4 回繰り返して、これを 1 セットとして、各々のサンプルに対して 4 セット計 1 時間ずつ超音波を照射した。照射方法は 37℃ の恒温槽の水面に 6 ウェルプレート を固定して、プレートの下面からプレートとフィルターを通して超音波を照射した。(図-1)

(3) 神経保護薬 (FRS) 投与条件

終濃度 6 μM になるように PBS で希釈して用いた。

(4) 細胞死の評価方法

ラット海馬器官培養スライスの実験において広く用いられているプロピディウムイオダイド (PI) 染色法を用いて細胞死の評価を行った。PI は死んで細胞膜に穴の開いた

細胞に取り込まれて DNA に結合すると赤色の蛍光を発する。細胞傷害性の低い 2 μM となるように培地に PI を加えて、継続的に細胞死の評価を行った。このスライスを蛍光顕微鏡下で撮影した。赤色量の測定は図-2 の枠の内部とした。赤色のヒストグラムを出して細胞死の程度を評価した。

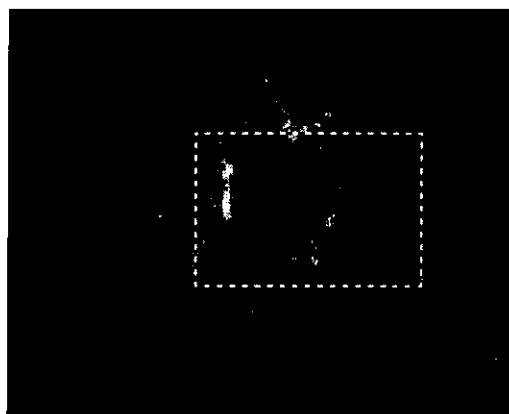


図-2. PI 染色された脳スライス標本
(写真は death control)

(5) 統計学的評価法

各群とも 6 サンプル以上の実験を行って平均値と標準偏差を算出した。また 7 日後に関しては FRS+, US- と FRS-, US+ そして FRS+, US+ の 3 群において、それぞれ 2 群間における t 検定を行った。

2) ラット脳虚血モデルを用いた in vivo 実験

1) 脳塞栓モデルの作成

生後 11 週、体重 200~300g の Wistar 系雄性ラット 30 匹を用いた。右中大脳動脈閉塞/再灌流モデルは小泉ら²⁾、Zhang³⁾ および Longa ら⁴⁾ が報告した方法で作成した。イソフルレン 2% と酸素 100% の吸入麻酔で導入し全身麻酔を維持した。右側頭骨を露出してレーザー血流計 (FLO-N1、オメガウェーブ社、東京) の光ファイバプローブを装着し、脳血流量を持続的にモニターした。頸部正中切開にて右総頸動脈と右外頸動脈を露出させた。遠位部を二重結紮して切断した右外頸動脈から右総頸動脈分岐部を経由して頭蓋内内頸動脈へ塞栓子を挿入し、右中大脳動脈分岐部を 1 時間閉塞した。

2) 塞栓用のマテリアル

脳塞栓モデルに使用した塞栓子は、4-0 ナイロン糸の先端 5mm をシリコンラバーでコーティングしたもの²⁾ を用いた。(図-3)

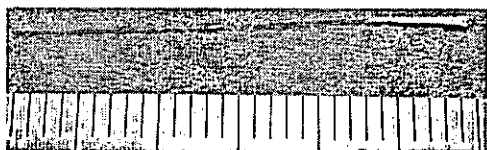


図-3. 塞栓子

3) 脳虚血状態の評価

脳血流量が確実に低下していることを以って、脳虚血状態と評価した。また、栓子抜去により血流量が上昇して戻ることによって再灌流と評価した。(図-4)

虚血状態はレーザー血流計の出力の減少率

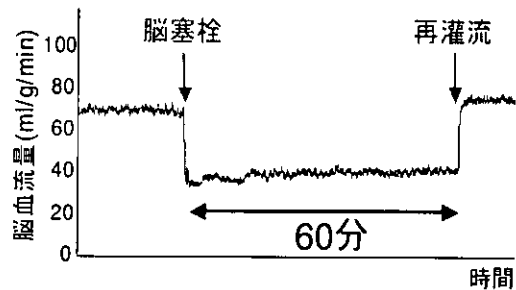


図-4. レーザー血流計による脳血流動態の評価を次の基準で分類した。

軽度虚血群：35%未満

中程度虚血群：35~60%

重症虚血群：60%以上

ただし、減少率は[正常血流量-虚血時血流量]/[正常血流量]×100%と定義した。また虚血時間は 60 分とした。

score 4 : circling to left
score 3 : turning to left
score 2 : failure to extend left forepaw fully
score 1 : right Horner's syndrome
score 0 : no neurological deficit

表-2. 神経学的症状評価スコア表

4) 神経学的評価

手術後に麻酔から覚醒させ、虚血/再灌流後のラットの神経症状を、以下に示すスコアを用いて評価した(表-2)。³⁾ この評価方

法は、ラットの脳虚血モデルの運動機能評価方法として、広く取り入れられている。

今回の検討は、すべて score 3 以上の左片麻痺を呈したケースを対象とした。

神経学的評価は、再灌流後麻酔覚醒時および再灌流 24 時間後に行うこととした。

5) 動物モデル群の比較

動物モデルは、以下の 3 群に分けた。

- A) 偽手術群 (コントロール)
- B) 虚血/再灌流群
- C) 虚血/再灌流/超音波照射群

6) 経頭蓋超音波照射法

本研究の超音波照射条件は、

周波数：490kHz、

出力：0.8W/cm²

波形：正弦波 連続波

照射法：インターミットtent法

(2 分間の連続照射後に 30 秒間の休止を繰り返し 4 回行った後、5 分間の休止を行う照射及び休止のパターンを 4 回繰り返した)

照射時間：1 時間

間欠的照射法を用いる目的は、超音波照射に伴う頭蓋内温度上昇の軽減を図るためである。経頭蓋超音波照射用のプローブは、動物実験用に作成した先端部の直径が 5mm のセラミック製(PZT)のものを用いた(図-5)。

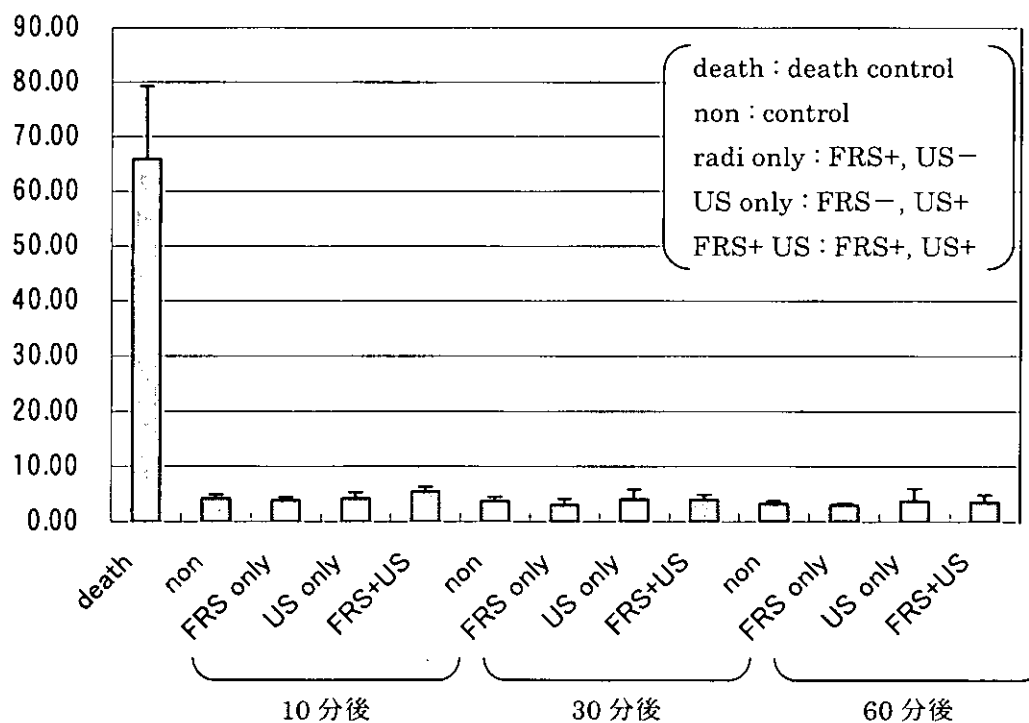


図-6 各群の細胞死を示す PI 染色による赤色輝度量の経時的比較 (10~60 分)



図5. 血流プローブおよび超音波プローブの装着

7) 安全性の評価方法-1 神経学的評価

実験翌日、すなわち脳虚血後 24 時間が経過した時点で、前述の神経学的評価を再び行った時の Score が 2 以下へ移行したケースを神経学的改善と評価した。

8) 安全性の評価方法-2 組織学的評価

摘出した脳から HE 染色を施した組織標本を作成し、光学顕微鏡下で評価した。特に、超音波プローブの直下の組織の標本を中心に検討することとした。

C. 研究結果

1) マウス脳器官培養スライスを用いた in vitro 実験結果

超音波単独照射, エダラボン単独投与(フリーラジカルスカベンジャー(FRS))及び両者共存の各群について、例数 n = 6 以上となるマウス脳スライス標本の経時的細胞死の状況を追跡した結果を図-6 及び図-7 にまとめた。縦軸は細胞死量に相当する PI 染色後の赤色輝度量である。

(1) 細胞間観測結果

各群の処置後短時間の細胞死の状況を示す。図-6 から明らかなように、コントロール群に比較し各群共に有意差はなかった。神経保護薬エダラボン投与単独群 (radi only) に比べ、超音波単独照射群 (US only) の方がやや細胞死の量が多い様であるが、

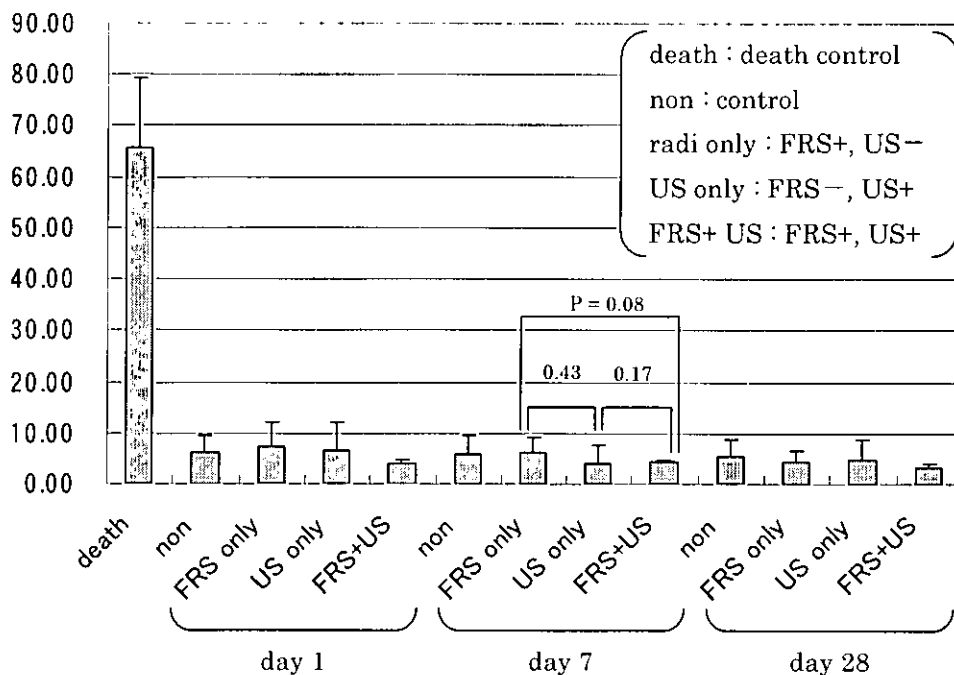


図-7 各群における細胞死を示す PI 染色時赤色輝度の経時的比較 (1 日~28 日)

有意差はなかった。また神経保護薬投与群はコントロール群よりも低値の傾向を示し、細胞死を抑制する傾向の存在を思わせたが、有意ではなかった。

(2) 長期観測結果

処置後の長期予後の示す図 7 においても、各群に有意差はなく、神経保護薬及び超音波による特異的な細胞死の増加を認めなかった。神経系評価として処置後 7 日目に注目されることが多いので、その 2 群間比較の P 値を図 7 には記載したが、特記すべき傾向は存在せず、本実験条件による超音波単独照射に伴う安全上の障害はないという結果であった。

2) ラット脳虚血モデルを用いた in vivo 実験

(1) 本年度はモデル作成の安定化が主眼となった。塞栓状態は表 2 のようになった。

虚血度	例数
軽度虚血例	3 例
中等度虚血例	8 例
重度虚血例	6 例
合計	17 例

表-3. 塞栓状態

(2) 虚血/再灌流による細胞死の状況

虚血/再灌流による神経細胞死領域を知るため、TTC(2,3,5-triphenyl tetrazolium chloride)染色を試みた(図-8)。

(3) 神経学的評価

例数は少ないが、虚血/再灌流後 13 例について試みた。

Score3 以上 = 7 例

Score3 未満 = 6 例

を得た。しかし翌日まで生存し、再度神経学的評価を行えた例は 8 例にとどまった。

(3) エダラボン投与及び超音波照射実験に

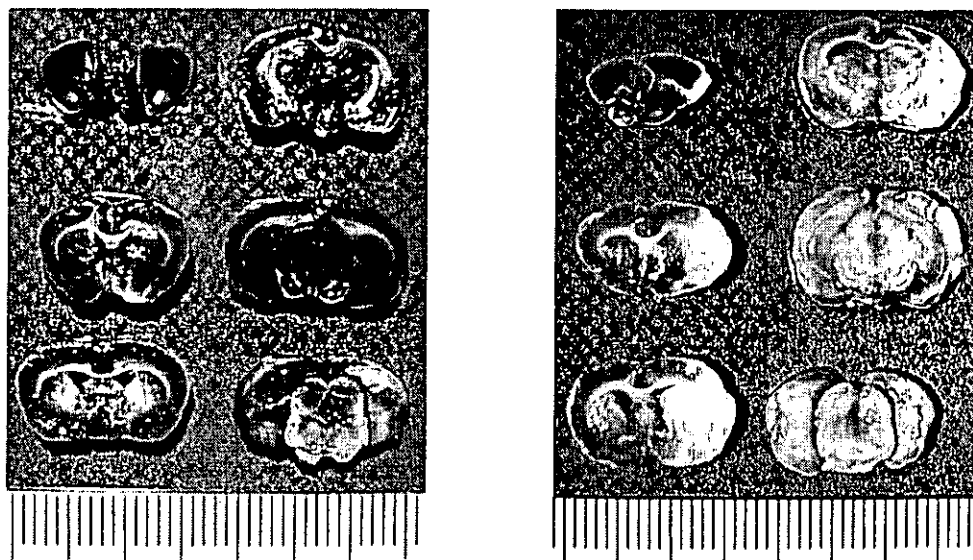


図-8. TTC 染色像 (左: control, 右: 虚血(60分)/再灌流(24時間))

(赤色部分が生存細胞領域、白色部分が死細胞(梗塞)領域)

まで到達するまでに安定なモデルには未だ至っていない。

D. 考察

1) マウス脳器官培養スライスを用いた in vitro 実験に関する考察

マウス脳スライス標本の実験では神経保護薬エダラボン 6 μM 投与と $0.3\text{W}/\text{cm}^2$, 500kHz の超音波照射との作用は特記すべきものがないことを示した。言わば、正常スライス脳に対し神経保護効果の認め難い結果で、一種の毒性試験と考えれば、現在広く臨床で使用されている薬剤であるので当然である。その臨床薬の前臨床試験としておこなわれた数々の in vitro 試験を通じ、エダラボンの作用機序は、アラキドン酸過氧化物による細胞死抑制と考えられている (Watanabe et al., 1988)。従って虚血状態になって初めて神経保護効果を認められるはずであるので、現在の我々の成果をコントロールデータとして虚血状態下での脳スライス標本による神経保護効果と超音波照射との相互作用について検討すべきであることは言うまでもない。ただ注目すべきことは、本実験のように脳スライス標本によって FRS の神経保護効果を実証した報告はなく、また超音波作用との関係を調べた報告もないということである。次年度の前臨床試験として克服すべき課題と考えている。

一方超音波照射に対して死細胞数の増加がなかったことは、安全性の観点から極めて重要な意義があった。すなわち正常脳に

対し、 $0.3\text{W}/\text{cm}^2$, 500kHz の超音波は神経細胞死を惹起しないことを示している。この超音波条件はラット脳虚血モデルを用いた経頭蓋超音波脳血栓溶解実験で用いた条件に等しい。すなわち、佐口らによる自家脳血栓溶解効果を経頭蓋超音波で行った時の照射条件 $0.83\text{W}/\text{cm}^2$ は頭蓋骨での減衰を経て、頭蓋内では $0.3\text{W}/\text{cm}^2$ になり、虚血再灌流実験では良好な動物実験成績を修めることができた条件であるからである。本器官培養スライス実験は、その超音波条件であれば正常組織には無害であることを長時間観察で示したことになる。神経保護薬の場合と同様に、超音波照射についても虚血状態下での評価が次年度の課題になると考える。

2) ラット脳虚血モデルを用いた in vivo 実験に関する考察

神経保護薬エダラボン投与や経頭蓋超音波照射の実験に供すべき脳虚血モデルを安定に作成するには至らなかった。しかし塞栓子を用いる Koizumi のモデルは多くの研究者によって活用され、梗塞状態の形成、塞栓子抜去による再灌流状態の形成などの安定な動物モデルとして評価されているので、今後さらに努力しモデル安定化を図る所存である。なお、神経保護薬エダラボンによる多施設 2 重盲検臨床試験の成績が本年度公表されたのでその点についてのみ触れておきたい。⁶⁾

急性脳梗塞患者 252 名(発症 72 時間以内にエダラボン投与の開始できた者)を対象とし、エダラボン 30mg を 1 日 2 回、14 日

間投与し続けた結果が報告された。125 名がエダラボン投与群であり、125 名はプラセボ群となり、2 名は除外例となった。除外例の 1 例はくも膜下出血となった者であり、他は血管内凝固亢進例であった。発症 3 ヶ月後の神経機能的帰途は退院した者を含めて、エダラボン投与群は非投与群に比べて著しい改善が見られた($p=0.0382$)と報告されている。この神経学的改善は、NIH の modified Ranking Score で行われている。この論文により、今後急性脳梗塞患者への神経保護薬の投与は今以上に普及するものと考えられる。それ故、ラット脳虚血モデルを用いた超音波併用時の神経保護薬との相互関係は益々重要になると考えられる。

3) 経頭蓋超音波脳血栓溶解療法との関係

急性脳梗塞発症患者がしかるべき医療機関に到達したときに発症 3 時間 (状態によっては 6 時間) 以内であれば、超急性期治療法として血栓溶解剤の動注又は静注が行われると同時に神経保護薬の投与も開始されよう。これら薬物治療開始と共に「経頭蓋超音波脳血栓溶解装置」が患者梗塞野に向けて超音波を照射することになろう。血栓溶解剤と超音波照射の有効性は既知であり、本報告で用いた 500kHz より 4 倍高い周波数 2MHz を用いれば、診断用の超音波であるにもかかわらず、血栓溶解が進み、再開通率が相当増加し、予後の良好なことさえ報告された。この Clot Buster の成績以上のことが低周波数の超音波を用いる現在開発中の装置に期待できることは既に基礎研究で我々のグループが示してきた。し

かし、神経保護薬を投与されている患者に対し、本開発中の経頭蓋超音波脳血栓溶解療法の超音波がどのような効果を惹起するかは未知である。

上記、1) 2) の考察の通り、非虚血下の *in vitro* 成績で安全性は示されたが、虚血下の神経細胞や動物での神経保護薬との相互関係は未検討で、次年度の課題とされた。

E. 結論

臨床現場での使用の著しい神経保護薬エダラボン投与患者に対する超音波作用の検討を行い、本年度は次の結論を得た。

1) 頭蓋内超音波強度 $0.3W/cm^2$ 、500kHz インターミitttent 照射法適用による正常脳神経系の損傷は 1 ヶ月観察でも認められない。

次年度への課題として、次の実験が要求された。

1) マウス脳スライス標本を用いた虚血下での神経保護薬と超音波作用との相互関係を示す実験

2) ラット脳虚血モデルを用いた神経保護薬と超音波照射共存時の安全性評価実験

Reference

1. The National Institute of Neurological Disorders and Stroke rt-PA Stroke Study Group. Tissue plasminogen activator for acute ischemic stroke. *N Engl J Med.* 1995;333:1581-1587
2. Koizumi et al. *Jpn J Stroke* 1986; 8:1-8
3. Zhang et al. *Brain Research* 1997;766: 83-92

4. Longa et al. Stroke 1989;1:84-91.
5. Hedrick WR, Hykes DL. An overview of thermal and mechanical acoustic output indices. JDMS 1993;9:228-235
6. Edaravone Acute Infarction Study Group. Effect of a novel radical scavenger, edaravone (MCI-186), on acute brain infarction. Randomized, placebo-controlled, double-blind study at multicenters. Cerebrovasc Dis. 2003; 15(3):222-9.

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

①. 論文発表

なし

②. 学会発表

1. Manome Y., Nakayama N., Nakano M., Mizuno S., Furuhata H. "Safety evaluation of insonation for thrombolysis with a free radical scavenger, edaravone.", 9th Meeting of the European Society of Neurosonology. 9-11 May 2004, Wetzlar. (予定)

2. 中山尚人, 馬目佳信, 中野みどり, 水野聡子, 古幡 博. "フリーラジカルスカベンジャー薬剤投与時における超音波血栓溶解療法の安全性評価—in vitro 実験による検討—". 第 23 回日本脳神経超音波学会, 2004 年 6 月 3~4 日, 久留米. (予定)

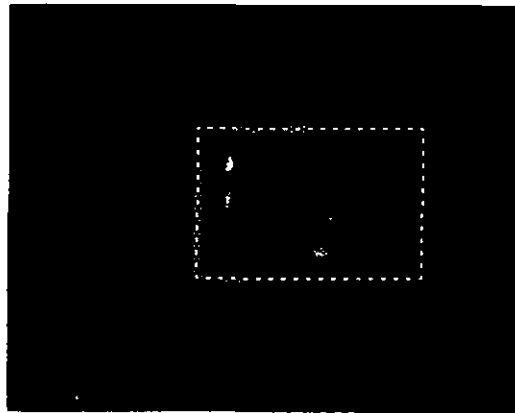


図-2. PI 染色された脳スライス標本
(写真は death control)

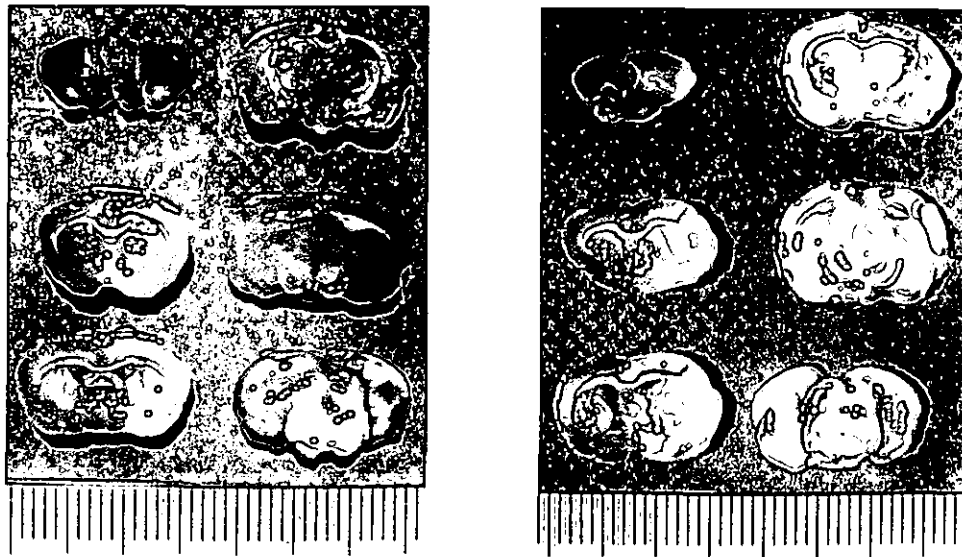


図-8. TTC 染色像 (左 : control, 右 : 虚血(60分)/再灌流(24時間))
(赤色部分が生存細胞領域、白色部分が死細胞(梗塞)領域)

平成 15 年度厚生労働科学研究費補助金(基礎研究成果の臨床応用推進研究事業)

分担研究報告書

研究課題：経頭蓋超音波脳血栓溶解装置の開発と探索的臨床研究 (H14・トランス-016)

経頭蓋超音波脳血栓溶解装置の開発

分担研究者 窪田 純 (株) 日立メディコ 技術研究所 第1部 主管技師

分担研究者 佐々木 明 (株) 日立メディコ USシステム本部 副事業本部長

研究要旨

脳血栓溶解用超音波(T ビーム)と脳血栓監視用診断超音波(D ビーム)の走査面を共有するように T/D 各アレイ振動子を配置し同一プローブ内へ格納した複合式プローブの製作に関し、音響窓を分割利用する並置型、共用する積層型両タイプにつき試作・試験・検討の結果、並置型の D 画像分解能の劣化は当初予想の通りであったが、一方、積層型の感度低下は予想以下であったため、後者を採用することとした。

T ビーム D ビーム同期及び全体制御法に関し、頭蓋内定在波によるキャビテーション現象発生抑制のため、治療超音波送波アンブに T ビーム送波波形変調と微小偏向の、夫々機能を備える改良を加え試験検討の結果、所要仕様を満足することが確認された。

プローブを患者の頭部に当て、塞栓部に向けてプローブ位置とビーム方向を調節する保持具及びソフトウェアに関し、プローブ保持機構の試作による検討、及び、T/D 両ビームの走査試験による検討の結果、両ビームを断層面内で $\pm 45^\circ$ 内の任意方向に走査しつつ微小偏向及びパルス変調可能なこと、及び、発熱による温度上昇に対する放熱機能が確認され、システムとしての総合特性の面で検討・改良により臨床適用への道筋を確認した。

A. 研究目的

本邦死因第3位で回復後もしばしば言語障害や麻痺を多く残し、要介護老人の原因ともなる脳血管障害の、約7割を脳梗塞が占めることが知られている。その治療は、主原因である塞栓(血栓)を、発症後数時間以内の超急性期に溶解することが第一選択であり、その再開通が早ければ早い程、予後は良好とされている。

る。代表研究者らが、基本技術として、

脳血栓溶解を加速する経頭蓋的超音波照射併用法の有効性を、in vitro, 及び、in vivo 実験で示している。

本研究は、様々な脳梗塞の病型に対する本脳血栓溶解療法の有用性を探索的に研究するために、臨床適用可能な、次の特徴を有する「経頭蓋超音波脳血栓溶解装置」を開発することを主目的としている。

る。

- ① 診断/治療用両装置を一体化
 - ② 同一プローブで実時間カラー Doppler 断層血流監視と経頭蓋血栓溶解とを
実現
 - ③ 診断/治療用両超音波を自動切換
 - ④ 血栓溶解剤の最適投与に向けた血流
状態モニタ
 - ⑤ 再開通状態に合わせ超音波照射制御
- 基本的コンセプトとして、実時間カラー Doppler 断層血流監視と経頭蓋血栓溶解とを統合し、脳血流監視による最適治療で、効率的投薬量軽減、及び、副作用抑制を図るフィードバック型治療法を提案するものである。その為に、特に、診断装置と治療装置の結合技術（治療・診断同一プローブ）が必要となる。頭蓋骨の限られた超音波透過ウィンドウに対応し、治療用ビーム（T ビーム）及び診断用ビーム（D ビーム）の両トランスデューサは一体化する。治療用ビーム（T ビーム）は、周波数 500kHz、強度 0.72W/cm² 以下、一方、診断用と治療用両超音波の交互（インターミテント）照射で、診断用ビーム

（D ビーム）は、周波数 2MHz 近傍、強度 0.72W/cm² 以下と、何れも強度を診断装置の規格内とするが、安全上、限局照射の必要性が生じた場合に対応すべく、治療用超音波ビームの 2 次元走査も可能とする。

経頭蓋超音波脳血栓溶解装置の開発

開発装置の原理は脳血栓塞栓症患者に血栓溶解剤を静注又は動注すると同時に、塞栓部へ向けて全く無侵襲的に超音波照射し、脳血栓の早期溶解、急速再開通を行うもので、虚血耐性の脆弱な脳神経系ライフラインを確保することで救出する目的のものである。

開発装置の特徴は、血栓溶解超音波治療法に加え、経頭蓋超音波診断画像法を合体させ、梗塞部(含周辺部)へビーム照射方向を限局して走査し、更に、診断画像により血流再開通をモニタし Dose を調節可能な方法としていることである。

3 年計画の初年度に次の 2 点、(1) 診断・治療一体型プローブの設計と原理試作、及び、(2) 一体化に伴う診断・治療

切換システムの設計と要素試作について実施し、昨年度報告した。

本年度は第2年度として次の3項を実施し、臨床適用可能な経頭蓋超音波脳血栓溶解装置をほぼ完成した。

(1) T/D 複合プローブの振動子配列比較

走査面を共有するようにT/D各アレイ振動子を配置する方法として、音響窓を分割利用する並置型と、共用する積層型とについて試作し試験・検討を行う。

(2) 超音波ビーム三次元走査法の検討

頭部の限定された音響窓へのプローブ固定を前提としたT/D両ビーム照射方向の限局走査に関し、二次元配列振動子によるコーン状電子走査法と、一次元配列による扇形電子回転機械走査法とを比較検討する。

(3) 頭蓋内超音波挙動の検討

頭蓋内でキャビテーション現象生起の可能性に対する定在波の影響を避けるTビーム制御方式の検討 {変調, ビーム方向微小偏向, パースト・パルス化}

H15年度は2号機を試作し、次の各項を通じ、出血性梗塞や再灌流障害に対する無害性等について動物実験で評価し、超音波照射仕様を再検討した。

(a) 治療(T)/診断(D)複合プローブの振動子配列法比較実験、(b) 超音波ビーム三次元走査法の検討、(c) 試作各要素、積層型治療(T)診断(D)ビーム発生検出用トランスデューサ(セクタ探触子)、送波アンプ、保持具の特性の検討

(1) T/D 複合プローブ振動子配列法比較

走査面を共有するようにT/D各アレイ振動子を配置する方法として、音響窓を分割利用する並置型と、共用する積層型とについて試作し試験検討の結果、並置型のD画像分解能の劣化は当初予想の通りであったが、一方、積層型の感度低下は予想以下であったため、以後、後者を採用することとした。

(2) 超音波ビーム三次元走査法の検討

頭部の限定された音響窓へのプローブ固定を前提としたT/D両ビーム照射方向