

図 1 1 周波数選択性分離層有り、T ビーム振動子を駆動した時の素子の変形

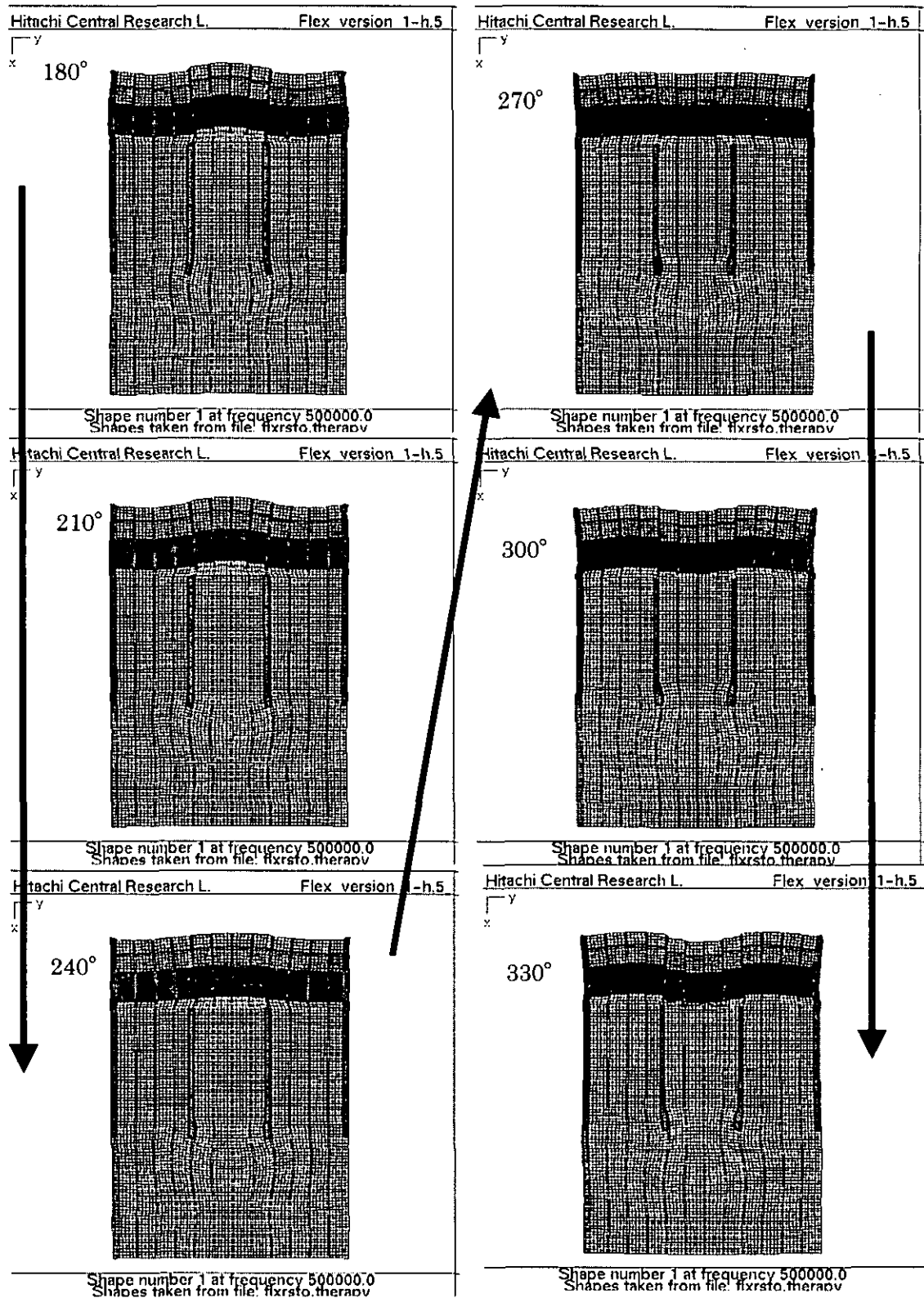


図 1 2 周波数選択性分離層有り、T ビーム振動子を駆動した時の素子の変形

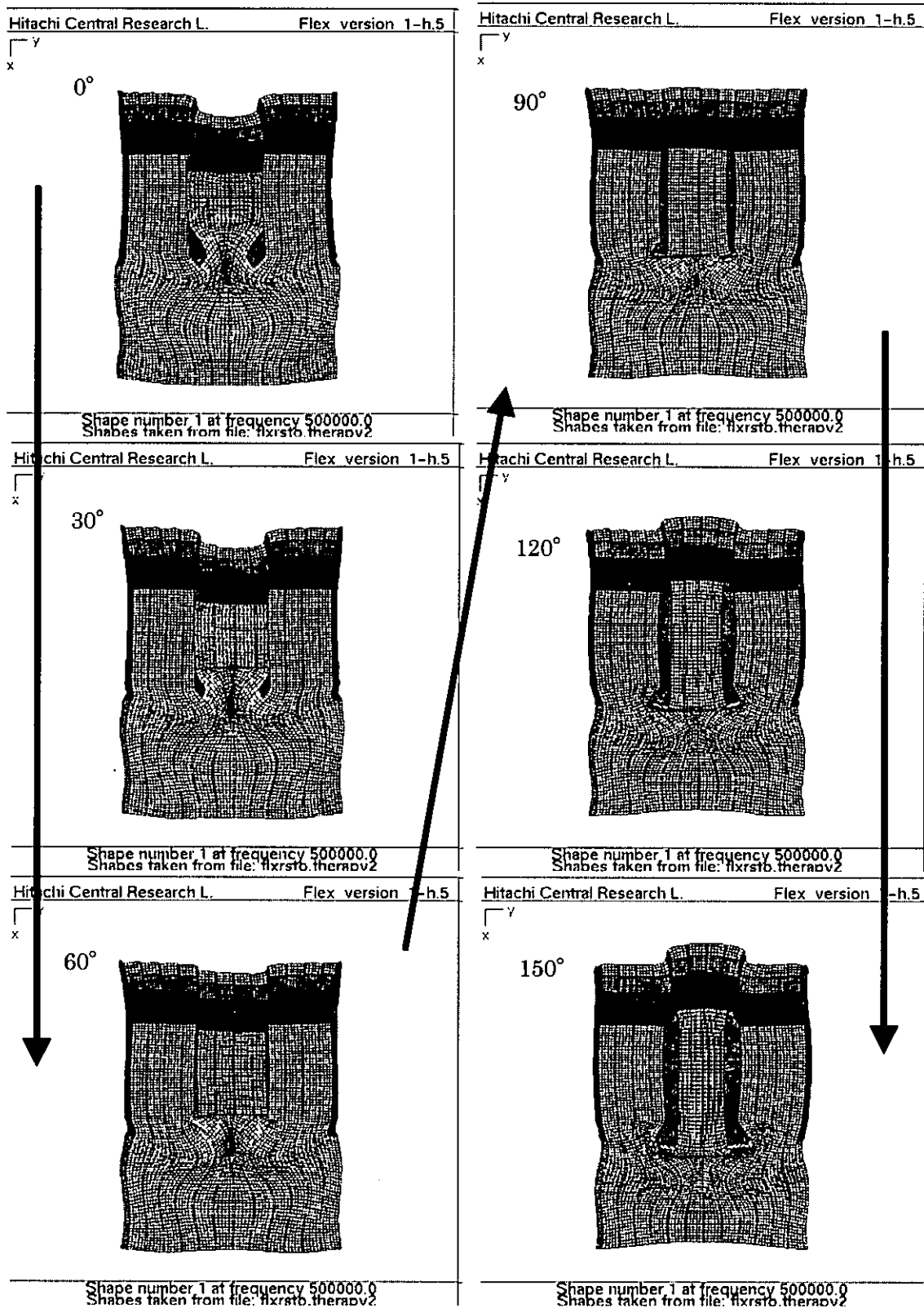


図 1 3 周波数選択性分離層無し、T ビーム振動子を駆動した時の素子の変形

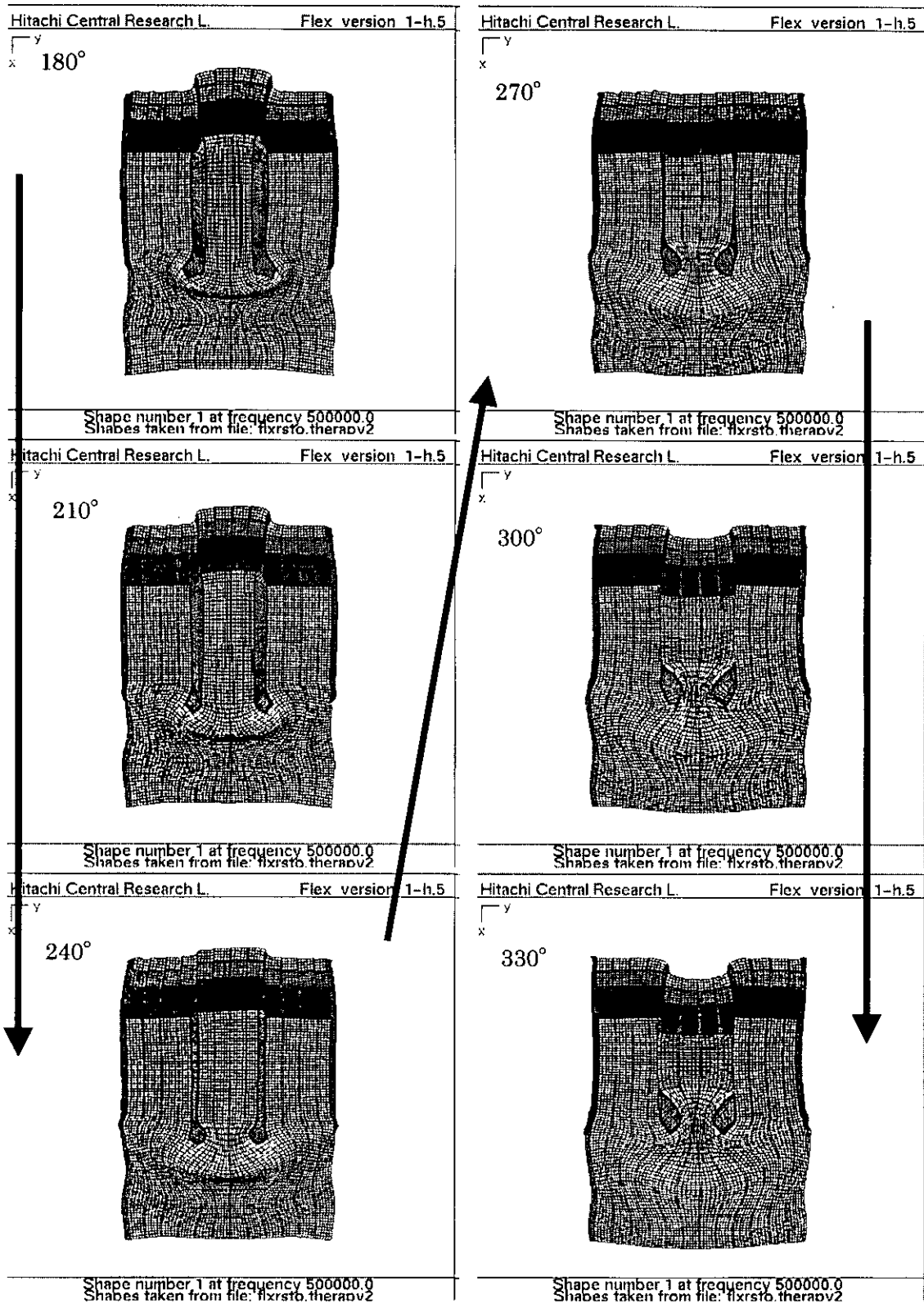


図 1 4 周波数選択性分離層無し、T ビーム振動子を駆動した時の素子の変形

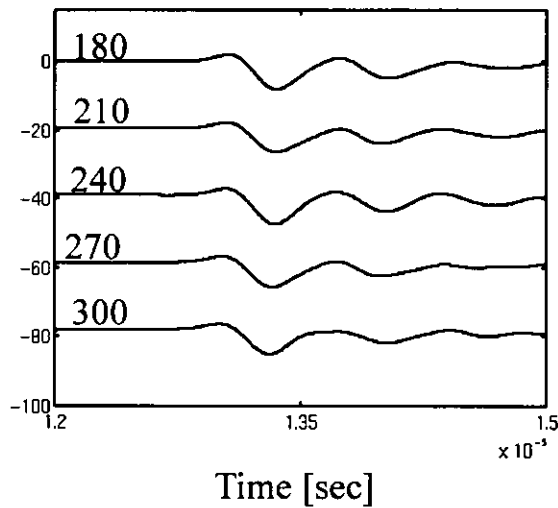


図 15 孔の平均直径を変えたときの板間層透過パルス波形

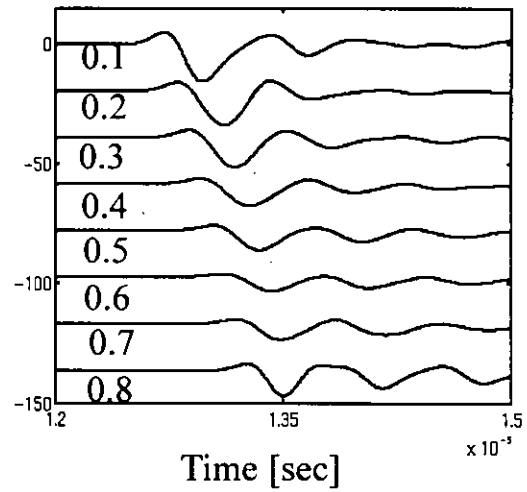


図 17 孔の割合を変えたときの板間層透過パルス波形

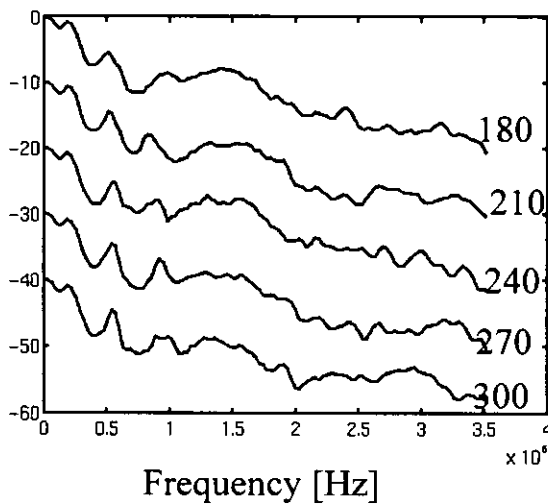


図 16 孔の平均直径を変えたときの板間層透過率の周波数特性

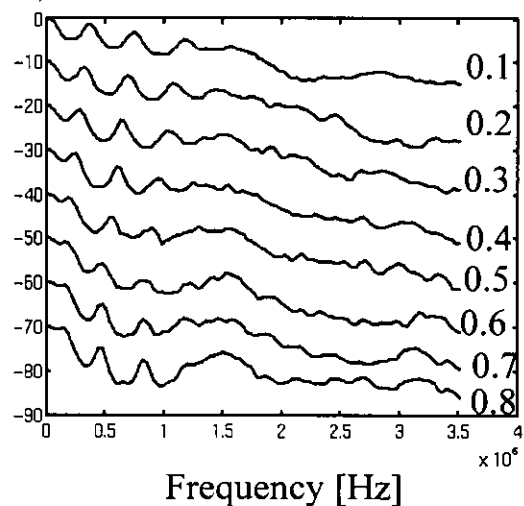


図 18 孔の割合を変えたときの板間層透過率の周波数特性

2. 板間層の超音波伝播特性

図 15～18 に板間層シミュレーションモデルを透過したパルス波形と透過率の周波数依存性を示す。図 15, 16 は孔の平均直径を 180 ミクロンから 300 ミク

ロンの範囲で変えた結果。図 17, 18 は孔/骨の体積分率を 0.1 から 0.8 の範囲で変えた結果である。いずれも透過率の周波数依存性には大きな変化が無いが、

パルスの伝播速度については、孔の体積分率を変えると変化している。

以下では、この孔と骨の体積弾性率をそれぞれ K_{water} 、 K_{bone} とする。混合物の体積弾性率を K_{mix} とすると並列モデルでは

は

$$1/K_{\text{mix}} = 1/K_{\text{water}} + 1/K_{\text{bone}}$$

直列モデルでは

$$K_{\text{mix}} = K_{\text{water}} + K_{\text{bone}}$$

と表現出来る。板間層中の孔のように、単純に並列とも直列とも表現できない場合には、

$$K_{\text{mix}}^\alpha = K_{\text{water}}^\alpha + K_{\text{bone}}^\alpha$$

と表現できないかと考えた。

α が -1 の場合が並列モデル、 1 の場合が直列モデルである。この α を変えた場合と、図 17 から求まる音速を比較した結果が図 19 である。

今回のシミュレーション結果と α を -0.5 にした場合の結果が良く一致していることが解る。この結果から板間層の音速は、孔と骨の体積分率がわかれば穴の実際の分布や、直径を正確に測定しなくても近似的に求まることがわかった。

体積分率は CT 値から求められることは知られており、更には超音波エコーから求まれば、実用的な音速補正に手段になりうることがわかった。

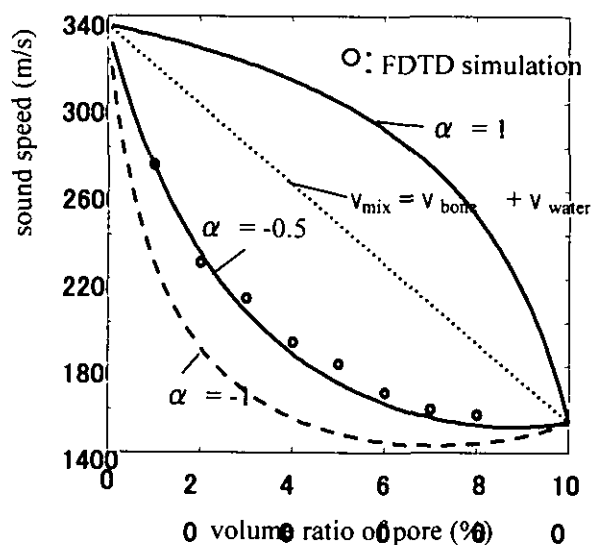


図 19 FDTD シミュレーションによる音速と体積弾性率並列/直列混合モデルの比較

D. まとめ

シミュレーションを通して、経頭超音波脳血栓溶解用探触子の試作の指針が得られた。また骨の伝播特性が空隙部分の体積分率と、水と骨の体積弾性率から推定出来ることがわかり、実用的な経頭蓋超音波照射のための音速補正に使用可能な見通しを得た。

G. 研究発表

[I] 論文発表：本開発の構想・内容につき、論文執筆を準備中である。

[II]学会発表：本研究の構想及び基礎実験の結果につき発表した。(含準備中)

①Azuma et al.; “Analysis of Propagation through Cancellous Bone for Transcranial Ultrasonic Treatment”; ISTU 3 2003 Proceedings; pp.53 (2003)

②Azuma et al.; “DUAL FREQUENCY ARRAY TRANSDUCER FOR ULTRASOUND-ENHANCED TRANSCRANIAL THROMBOLYSIS”; IEEE 2003 Ultrasonics Symposium Proceedings; pp.680-683 (2003)

③Azuma et al.; “Dual Frequency Array Transducer with Bilaminar Structure for Ultrasound-Enhanced Transcranial Thrombolysis”; AFSUMB2004 (投稿中)

④東他；500kHz 血栓溶解／2MHz ドップラ血流画像撮像用積層型アレイトランスデューサの開発；第23回日本脳神経超音波学会抄録（投稿中）

H. 知的財産権の出願・登録状況

(ア) 特許取得：特願 2003-344327「超音波送波器及びこれを用いた超音波音波装置」

(イ) 実用新案登録：なし

(ウ) その他：なし

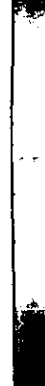
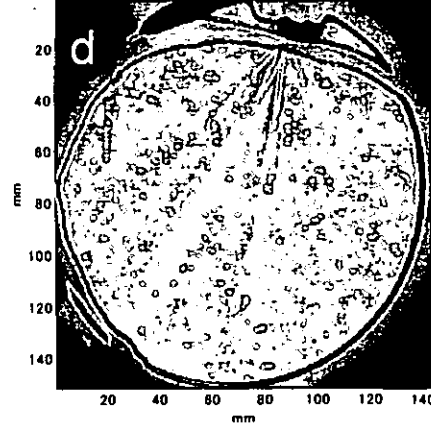
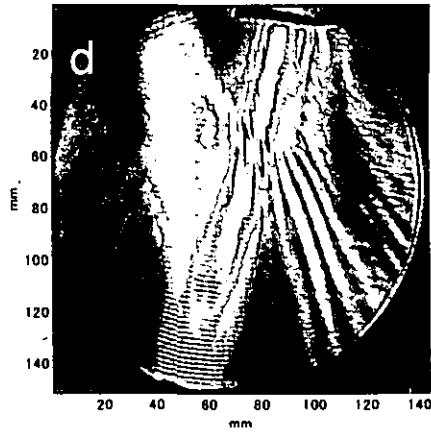
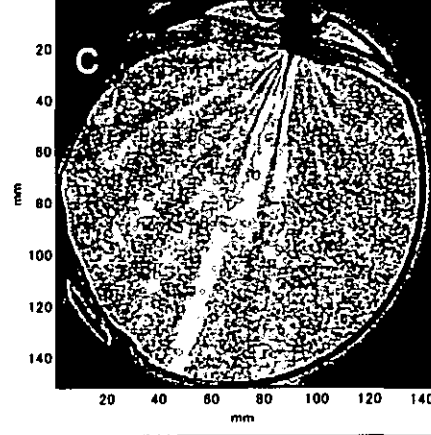
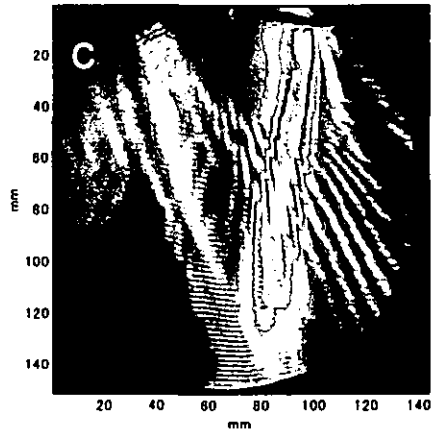
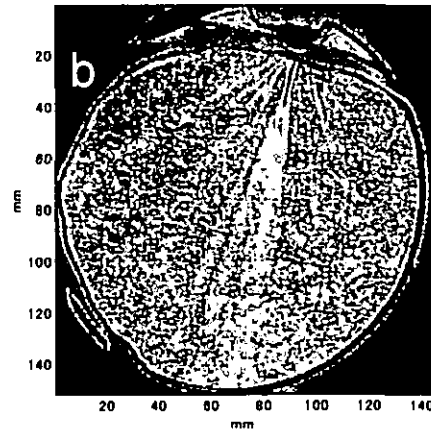
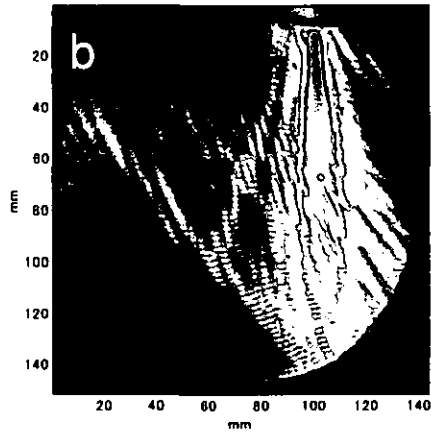
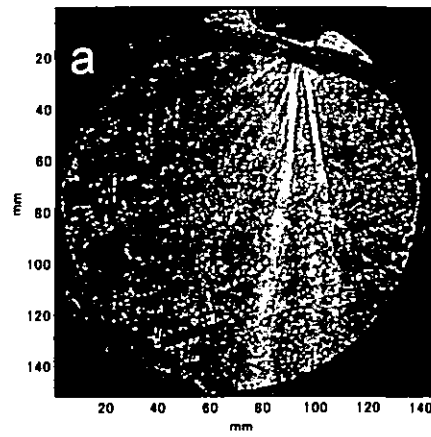
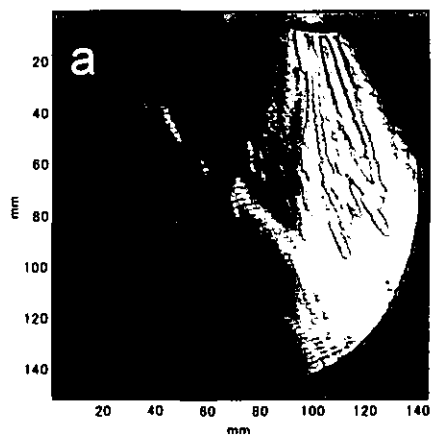


図4 500 kHz超音波のシュリーレン像

図5 2MHz 超音波のシュリーレン像

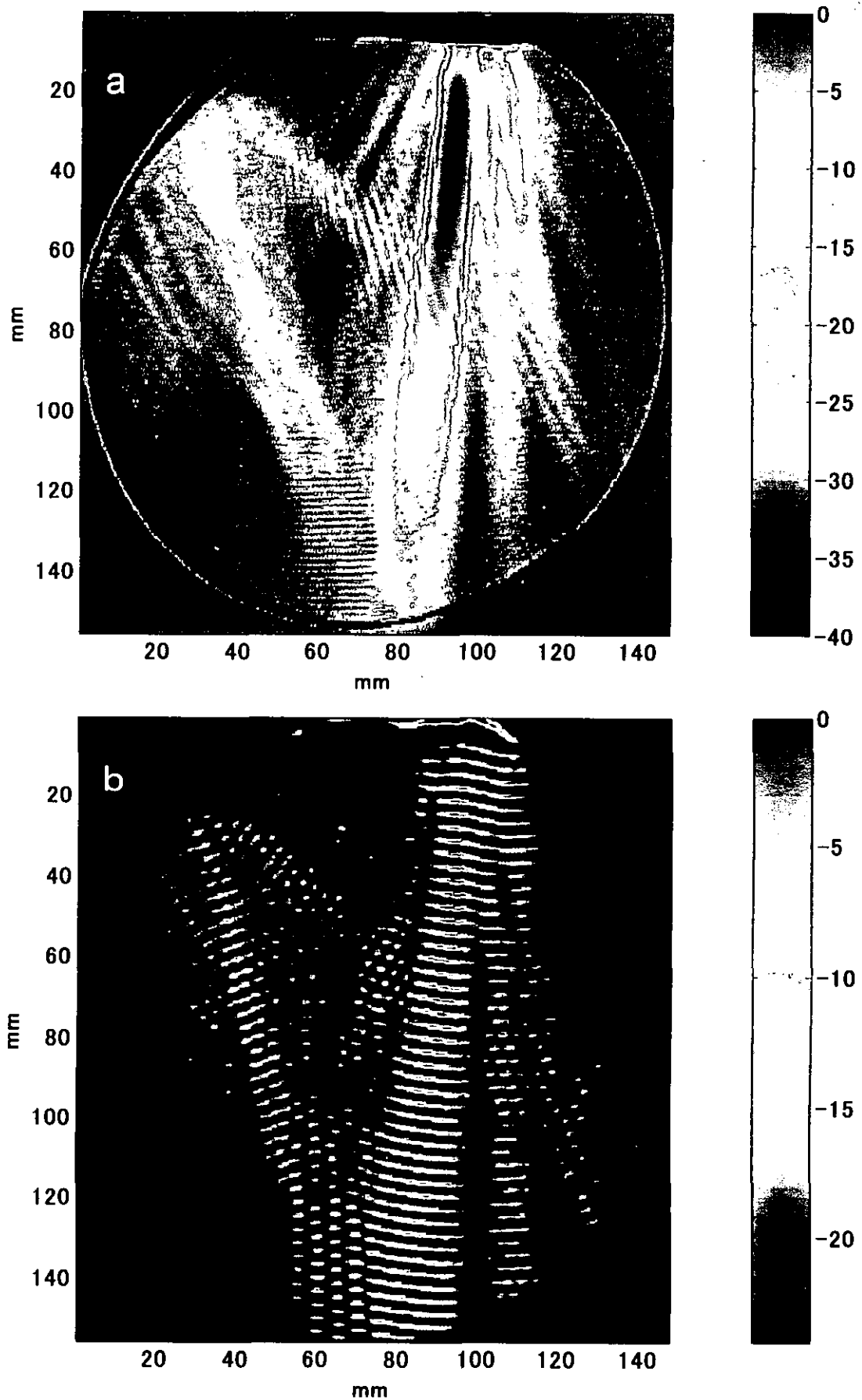


図6 同期シュリーレン測定と非同期シュリーレン測定の比較

Ⅲ. 資 料

Development of Transcranial Ultrasonic Thrombolytic Equipment with Color Flow Imaging

Furuhata H., Abe T., Saguchi T., Ishibashi T., Nakano M., Umemura S., Azuma T., Kubota J., Ogiwara ., Sasaki A., Ando K., Motoyama

[Purpose] A new transcranial ultrasonic thrombolysis equipment (TUT) has been developed, which can scan the thrombolytic beam to the thrombo embolic region guided by transcranial color flow imaging (TC-CFI). The thrombolytic beam and the TC-CFI beam were alternately emitted to the target by a single sector scan probe. The usefulness was examined from various experimental approaches.

[Methods and Materials] the probe providing both of thrombolysis and CFI was consisted by a bilayered array transducer in which 16 elements (Tarray) was used for 500 KHz for thrombolysis and 64 elements (D-array) for CFI at 2MHz were laminated in front of Tarray. Tarray transducer can scan the beam direction savaged from +45 to -45 and be arbitral fixed to the suitable direction the desired direction. The dual frequency ultrasonic beams were emitted alternatively according to the optimal alternating ratio. Particularly, we selected four repeats of 2-minute-sonication and 30 second resting and additionally 5-minute resting for cooling downth temperature rise in living tissue. We examined the newly developed probe for obtaining TC-CFI five healthy adults and for demonstrating the enhancement of thrombolysis in in vitro experiment. The in vitro experiment was used for comparing the Recanalization time in thrombo embolic tube models set in the skull in case of TUT beam combined with TC-CFI and TC-CFI alone.

[Results] The TUT equipment demonstrated all fundamental function completely. Pictures by TC-CFI function did not show any differences in comparison with conventional TC-CFI at 2MHz. The mean Recanalization time in TUT+TC-CFI was about less than half times as short as that in TC-CFI alone in preliminary cases.

[Conclusion] These results suggested that the developed TUT with TC-CFI has a great advantage for the early treatment of acute ischemic stroke, which, which should be promoted the clinical practice after rechecking various safety problems.

In Vivo Trial of a Newly Developed Combination 500kHz/2MHz Therapy/Power M-mode Doppler Probe for Ultrasound Enhancement of t-PA Thrombolysis

J. Shimizu^{1,2}, M. Nakano¹, H. Matsuyama¹, T. Saguchi^{1,2}, T. Abe², H. Furuhata¹
M.A. Moehring³, A.H. Voie³, M.P. Spencer³

ME Lab.¹, Dept. of Neurosurg.² Jikei Univ. School of Medicine, Spencer Technologies, Inc.³

Introduction: We examined the change of Power M-mode Doppler (PMD) waveforms during the process of thrombolysis in the rabbit femoral thrombo-embolic model using a newly developed 500kHz/2MHz combination probe.

Methods: A new type of probe has two functions, providing therapeutic ultrasound (US) for enhancement of thrombolysis at 500kHz and PMD monitoring of residual blood flow at 2MHz US. US modes were alternated by an automatic switching circuit. Therapeutic US was applied in 2-minute intervals with 30-second pauses four times, followed by a 5 minute pause. These 10-minute cycles, followed by 5-minute pauses, were repeated four times. All timed pauses were used for monitoring the blood flow using PMD.

An occlusion model of a rabbit femoral artery was produced with thrombin after establishment of stenotic flow and endothelial damage. After stable occlusion was confirmed, motetplase(mtPA) and echo contrast agent (Levovist) were administered intravenously, and thrombolytic US (500kHz, 0.3W/cm²) was applied through an acoustic stand off model AC-4(ATS laboratories, Inc).

Results: The PMD waveforms after occlusion and at the beginning of thrombolysis changed from the normal systolic flow signals to a spike pattern synchronized to the heart beat. The waveform changed to two beat spike pattern during thrombolysis. These pattern changes were explained by increased vascular wall motion during thrombolysis. At the end of recanalization, the waveform showed a blood flow pattern depicting stenosis.

Conclusions: The study suggested that the newly developed 500kHz/2MHz combined probe is advantageous in that it is capable of US therapy and PMD US monitoring from the same footprint. This is anticipated to be an important combination in acute stroke therapy.

**経頭蓋超音波治療・診断併用プローブによる
脳血栓溶解療法の実験的検討
-血流再開過程の監視-**

清水 純^{1,2}、中野みどり¹、松山寛子^{1,3}、佐口隆之²、石橋敏寛²、尾上尚志²
阿部俊昭²、古幡 博¹、M.A. Moehring⁴、A.H. Voie⁴、M.P. Spencer⁴
東京慈恵会医科大学 総合医科学研究センター ME 研究室¹
東京慈恵会医科大学 脳神経外科² 上智大学 理工学部 電気電子工学科³
Spencer Medical Technology Inc. (USA)⁴

**Experimental trial of Transcranial Ultrasonic Thrombolysis Using a Newly
Developed Probe Combining Therapeutic and Diagnostic Ultrasonication
-investigation of the recanalization process-**

Shimizu J^{1,2}, Nakano M¹, Matsuyama H^{1,3}, Saguchi T², Ishibashi T², Onoue H²
Abe T², Furuhashi H¹, Moehring M. A.⁴, Voie A. H.⁴, Spencer M. P.⁴

ME Lab. Jikei Univ. School of Med.¹ Dept. of Neurosurgery Jikei Univ. School of Med.²
Faculty of Engineering, Sophia Univ.³, Spencer Medical Technologies, Inc.⁴

【目的】 t-PA に加えて頭蓋骨透過性の良い低周波超音波 (500kHz) を用い¹⁾、経頭蓋超音波脳血栓溶解療法を開発中である²⁾。臨床的に最適の治療法とするためには、治療中の連続的血流モニターが必須である³⁾。今回、血流動態を監視し得る治療と診断を同時に行なえる超音波プローブ (コンビネーションプローブ) を開発し、これを用いて血栓溶解過程の血流動態変化を家兎塞栓モデルで観察したので報告する。

【方法】 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。開発したコンビネーションプローブは、血栓溶解治療用500 kHz 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。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。照射方法は、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。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。

【結果】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血流ソングラムの記録例を図に示した。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。

【考察】我々の開発したコンビネーションプローブを用いれば、血流監視により完全再開通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。

【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〔本開発は一部厚労科学研究費補助金(基礎研究成果による臨床応用推進研究事業)による〕。

【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.

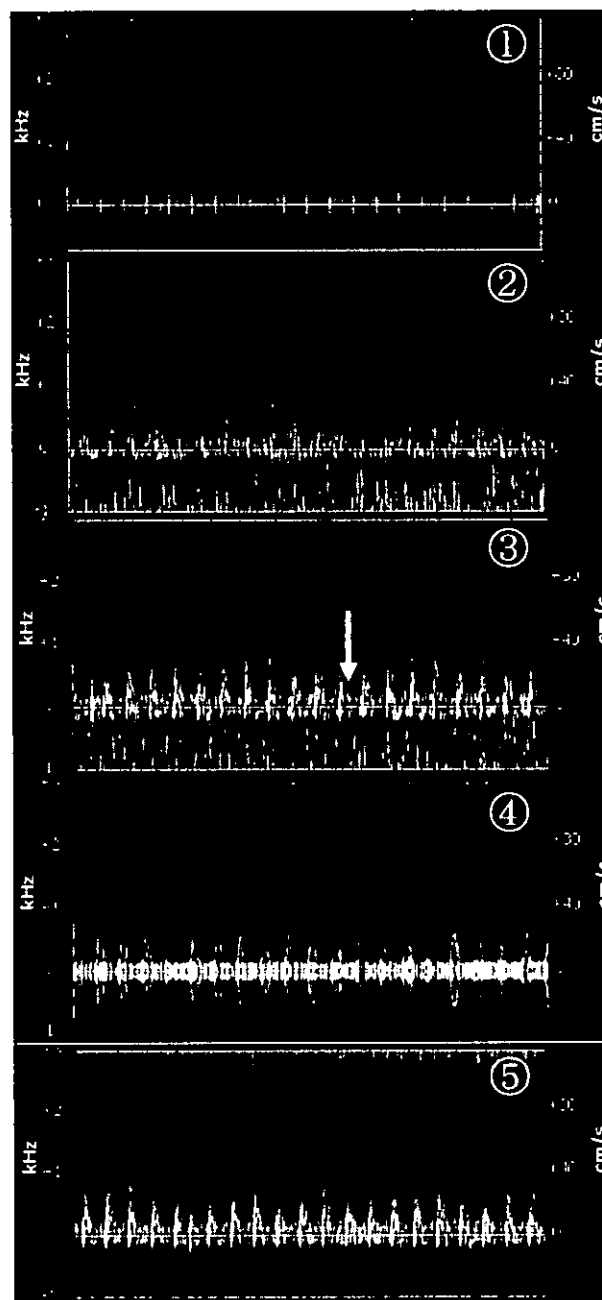


Figure 1. Process of recanalization caused by thrombolysis. Doppler blood flow sonogram obtained by PMD

Authors: Manome Y, Nakayama N, Nakano M, Mizuno S, Furuhashi H
Title: Safety evaluation of insonation for thrombolysis with a free radical scavenger, edaravone

Abstract:

Purpose: Many investigators have reported previously that insonation enhanced the thrombolytic effect of tissue plasminogen activator (tPA). Based on these results, we determined an ultrasonic condition for treatment of patients with acute cerebral embolism in combination with systemic administration of tPA and a free radical scavenger, edaravone. While both drugs were known to have least toxic effect to human body, safety of the insonation has not been demonstrated. In this study, we tried to evaluate the adverse effects of the insonation in our protocol.

Materials and Methods: Mouse primary cerebral culture slices and SK-N-MC human neuroblastoma cell line were used for the study. Frequency and power level of the ultrasound were 500kHz and 0.3W/cm². Samples were insonated with four repeats of 15 minutes protocol that consists of four sets of 2 minutes insonation and 30 seconds break followed by 5 minutes interruption. Edaravone was used at the concentration of 6 μ M. To evaluate the effect on the central nervous cells, whole culture slice was exposed to 2 μ M of propidium iodide and its uptake to the dead cells was scored. The apoptotic cell number was measured by tunel and cell cycle analysis.

Results. Insonation, edaravone, and their combination did not disintegrate cell membrane in culture slices. The effect was minimal compared to the death controls. In addition, neither of the treatment increased apoptotic cell number after treatment. Also, effect on cell cycle was not detected by FACS subpopulation analysis.

Conclusion. Insonation has been proved to perforate cellular membrane in therapeutic doses. However, significant adverse effects were not demonstrated in our protocol. Although further confirmations will be required, combination of ultrasound and edaravone may be a safe approach in treatment of patients with acute cerebral embolism by tPA.

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 -

Safety evaluation of transcranial ultrasonic thrombolysis with free radical scavenger

中山尚人, 馬目佳信, 中野みどり, 水野聡子, 古幡博

東京慈恵会医科大学 総合医科学研究センター 医用エンジニアリング(ME)研究室

Medical Engineering Laboratory, Research Center for Medical Science, Jikei

University School of Medicine, Tokyo, Japan

東京慈恵会医科大学 総合医科学研究センター DNA 医学研究所 分子細胞生物

研究部門

Department of Molecular Cell Biology, Institute of DNA Medicine, Jikei University

School of Medicine, Tokyo, Japan

キーワード: ultrasonic thrombolysis, free radical scavenger, acute ischemic stroke

目的: 急性脳塞栓症などに適用される tPA の血栓溶解効率は超音波照射によって増強される。さらにフリーラジカルスカベンジャー”Edaravone”の使用頻度の高い臨床状況を考慮して、Edaravone 投与時に適用する超音波照射法の安全性を評価した。

対象と方法: マウス脳器官培養スライス及びヒト神経芽細胞腫 SK-N-MC 細胞を用い

た。Edaravone 投与単独, 超音波照射単独, 両者併用と何もしない対照群の 4 群を設定し、スライスに関しては $n = 6$, SK-N-MC 細胞に関しては $n = 2$ とした。超音波は周波数 500 kHz, 出力 0.3 W/cm^2 の正弦連続波とした。照射時間は 2 分間照射 30 秒休止を 4 回繰り返した後 5 分間休止するセットを 4 セットで計 1 時間とした。Edaravone は $6 \mu\text{M}$ で使用した。スライスについては PI 染色により 28 日間に渡って細胞死を評価した。また SK-N-MC 細胞に関してはアポトーシスを起こした細胞数を TUNEL 法及び FACS により評価した。

結果: Edaravone 投与単独, 超音波照射単独及び両者併用の全群について、スライスに対する傷害性は認められなかった。また SK-N-MC 細胞に対するアポトーシス誘導も認められなかった。

結論: 本研究で検討した治療用超音波照射条件では有意な副作用は認められなかったが、さらに確認の実験を行う必要がある。

虚血及び再灌流後のラット脳組織に対する経頭蓋超音波照射の安全性

Safety of transcranial ultrasonication in ischemic rat brain after reperfusion

佐口隆之、中野みどり、中川清隆、石橋敏寛、清水純、尾上尚志、阿部俊昭、古幡 博

【目的】虚血性脳血管障害に対する超急性期経頭蓋超音波照射脳血栓溶解療法の臨床応用に際し、虚血脳組織に対する超音波照射の影響と、血栓溶解後の再灌流時の脳組織に対する超音波照射の影響を評価することは極めて重要である。この目的のため、以下の検討を行った。

【方法】Wistar 系ラット♂、体重 300-400 g を用いた。イソフルレン吸入による全身麻酔下に頸部正中皮膚切開を施し、右内頸動脈を露出した。切断して尾側に翻転した右外頸動脈から、4-0 ナイロン糸の先端 5mm をシリコンでコーティングした塞栓子を右内頸動脈経路で頭蓋内右中大脳動脈分岐部まで挿入して、脳虚血モデルを作成した。この時、レーザー血流計を用いて、CBF の低下を確認した。虚血モデル作成 3 時間が経過した時点で神経症状（左片麻痺）を呈していることを確認した。実験モデルは以下の 4 群に分けた。1) 虚血群（3 時間後に 1 時間全身麻酔を施行）2) 虚血 3 時間後から全麻下に 1 時間超音波照射した群 3) 虚血 3 時間後に血流を再開させ、1 時間全身麻酔をかけた群 4) 虚血 3 時間後に血流再開させ、全麻下に 1 時間超音波照射した群。なお、超音波照射条件は 490 kHz、0.8W/cm²、照射時間は間欠的に 1 時間であった。虚血 24 時間後に脳を摘出し、H-E 染色標本にて、脳梗塞の範囲、出血巣の出現・増加を検討した。

【結果】組織学的な変化は各群間に認めなかった。

【結論】虚血脳組織に対する、低出力、低周波数の超音波照射の安全性が確認された。

Key Words : transcranial ultrasound safety

海外出張報告

出張者：(技研一) 副技師長 窪田 純； 出張先： Hilton Hawaiian Village, Honolulu, Hawaii, USA.

出張期間：2003年10月4日～10月10日(7日間)；同行者：日立中研 梅村晋一郎他

面会者： K. K. Shung, Southern California Univ.; A. Cittadine, Sensant; S. Vaezy, Univ. Washington; O. I. Baron, Imasonic 他

出張目的： IEEE Ultrasonics Symposium 2003 (10/5-8)に参加、本研究の要素となる積層式診断治療複合プローブと、関連の経直腸 HIFU 治療用プローブについて発表し、討論により妥当性を確認する。

概要：

治療分野の特徴：今回、Therapy 関連セッションの発表は、1H(cavi&HIFU)の6件、1I, 1Jの各6件、2B(HIFU)の5件、P1B(Therapy&Bioeffects)で5件、合計28件であった。

経頭蓋治療では、Brigham women's hospital の Hynynen さんから HIFU¹治療技術に関する発表があったが、血栓溶解は診断/治療複合プローブに関する我々の発表のみであった。

HIFU 治療の Hynynen らの発表は、500ch フェーズドアレイで兎の脳を経頭蓋で治療する実験結果である。経頭蓋 HIFU で脳神経の焼灼に成功したのは世界初と思われ、治療分野で今回もとても注目された。

I. 発表内容と反応

(1)[タイトル]：“EFFECT OF MATCHING LAYER ON ACOUSTIC LENS SUPPRESSING LAMB WAVE FORMATION”；超音波治療に使う強力超音波(HIFU)発生用探触子のレンズの整合層について、トランスデューサ材料のセッションで発表した。[反応]：内容的にはこのセッションの人達にとって当然と受け取られたようだ。最終日の最後の講演ということで聴衆が少なく、他の並行3セッションで治療/診断/バイオ関係の人が取られたため活発な議論とは行かなかったが、整合層の材料について質問があった。(回答：粒入りエポキシレジンは) [Ab3 参照]

(2)[タイトル]：“DUAL FREQUENCY ARRAY TRANSDUCER FOR ULTRASOUND-ENHANCED TRANSCRANIAL THROMBOLYSIS”；経頭蓋血栓溶解用の診断治療複合プローブに用いる二周波数アレイの構想についてシミュレーション結果を用いて発表した。[発表への反応]：5件の質問があった。(1) 診断レベルの超音波用であるが、HIFU に応用できるか(回答：可能性はある。)(2) 素子間のアイソレーションは如何(回答：シミュレーション上は使用できるレベル)、(3) 時間軸上のシミュレーションは？(回答：やったが 尾引き？)、(4) 音響インピーダンスは $\lambda/4$ でやっているが $\lambda/24$ でもやったら？(回答：抜けていたのでやるがおそらく結論は変わらない)、(5) マッチング層の厚みは治療側か診断側に合わせるのか？(回答：診断側) [Abstract は5月研究会議資料参照]

¹ High Intensity Focused Ultrasound (高強度集束超音波)

II. 主なトピック

- (1) 複合材の Imasonic 社が展示しており、経頭蓋用 T (治療) /D (診断) 複合探触子で交渉中の O. Baron 氏及び技術担当の R. Berriet 氏と話す事ができた。T/D に同一素子を使用するがピッチの T/D で3倍の違いを内蔵スイッチにより切替えるアイデアを確認した。今後2週間以内にそれら仕様の最終案を受け取れる事となった。
- (2) 経頭蓋強力超音波に関し、” A 500 ELEMENT ULTRASOUND PHASED ARRAY SYSTEM FOR NONINVASIVE FOCAL SURGERY OF THE BRAIN- A PRELIMINARY RABBIT STUDY WITH EX VIVO HUMAN SKULLS”と題し、Brigham and Women’s Hospital から発表があった。内容は、500ch-フェーズドアレイ HIFU を用い、経頭蓋で兎の脳の高温度治療実験に成功したというもの。我々の将来課題である瞬時局所的 BBB 開放による DDS 等に応用の可能性がある。[Ab1 参照]
- (3) 血栓溶解関連： EMBOLI DETECTION/CONTRAST AGENTS のセッションがあり、” ULTRASONIC DETECTION OF CEREBRAL EMBOLI”と題し、Leicester 大 D. H. EVANS の招待講演があった。[Ab2 参照]

III. 感想

IEEE の超音波シンポジウムも医療応用の発表が年々増加し、診断/治療/バイオ他の演題数で全体の 2/3 を締めている。平行5セッションのうち、3セッションは目が離せない程、技術発表が盛んである。経頭蓋治療では、HIFU 技術に関する発表があったが、血栓溶解は我々のみであるが、今後増加すると考えられるので、今のうちにアイデアを積極的に出して行きたい。

—以上—