

200713004A

厚生労働科学研究費補助金
身体機能解析・補助・代替機器開発研究事業

脳血管障害の診断解析治療統合化システムの開発に関する研究

平成19年度 総括・分担研究報告書

平成20(2008)年 3月

主任研究者 古幡 博

厚生労働科学研究費補助金
身体機能解析・補助・代替機器開発研究事業

脳血管障害の診断解析治療統合化システムの開発に関する研究

平成19年度 総括・分担研究報告書

平成20(2008)年 3月

主任研究者 古幡 博

目次

I. 総括研究報告

- 脳血管障害の診断解析治療統合化システムの開発に関する研究 3
古幡 博

II. 分担研究報告

1. 統合化システム全体系の音響生物学的な技術評価 3 3
古幡 博
2. 経頭蓋超音波血栓溶解療法の臨床適用 9 5
井上 聖啓
3. 救急医療における急性脳梗塞の治療 1 0 5
小川 武希
4. 脳卒中易発生高血圧自然発症モデルラット脳における
音響学的安全性の神経病理学的検討 1 1 3
福田 隆浩
5. 低体温による脳保護：本サル脳塞栓モデル実験の限界点 1 2 5
榛沢 和彦
6. 経頭蓋超音波脳血栓溶解療法の研究 1 3 1
峰松 一夫
7. 霊長類動物での自家血血栓脳梗塞モデルによる超音波
治療効果の評価 1 5 1
飯田 秀博
8. サル脳梗塞モデルの作製と血液凝血的学的検討に関する研究 1 5 7
寺本 登
9. 超音波治療における微小気泡の解析制御 1 6 5
梅村 晋一郎
10. 超音波治療システム取り纏め及び、
Brain Virtual Sonography ターゲティング技術の評価研究 1 6 9
窪田 純
11. 超音波治療用 MRI 対応プローブ、頭部固定具及び
冷却機構の研究 1 8 1
窪田 純
12. 超音波を利用した脳血管障害の治療における微小気泡の
制御及び頭蓋内超音波信号検出感度向上の検討 1 8 9
東 隆

III. 研究成果の刊行に関する一覧表

2 0 5

I. 総括研究報告

厚生労働科学研究費補助金
(医療機器開発推進研究事業: 身体機能解析・補助・代替機能開発研究事業)
総括研究報告書

脳血管障害の診断解析治療統合化システムの開発

主任研究者 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 室長・教授

研究要旨

研究要旨:

本年度は経頭蓋超音波脳血栓溶解法の確立を中心目標として、経頭蓋超音波脳血栓溶解部に関する安全性評価を霊長類急性脳梗塞(急性虚血性脳卒中)モデルで確認した。また急性脳梗塞患者は脳動脈硬化症の亢進状態にある割合が高いので、その標準的モデルとされる脳卒中易発症高血圧自然発症ラット(SHR/SP)を用い、病理組織学的に安全性を評価し、照射音響強度依存の閾値を約 $0.35\text{W}/\text{cm}^2$ 以下にすべきことを示した。ただし超音波条件は500kHz連続波の条件とした。開発したこの超音波脳血栓溶解法は超音波画像誘導下に行われる標的型照射治療法である。しかしその超音波画像検出は高齢者では約60数%と低いため、救急処置前に撮影される頭部XCTやMRIの三次元像で誘導可能とするBrain Virtual Sonography (BVS)も、本開発プロジェクトの基本技術である。その精度と有効性をボランティアによって検証し、臨床上的有効性を確認した。さらに将来対照群データとなる血栓溶解剤(rt-PA)の臨床適用成績を国立循環器病センターに蓄積し、3ヶ月後の神経病理学的改善率は約50%であった。将来開発システムが使用される救急室とその体制の検討も加え、最終的には開発システムの内、rt-PA併用の経頭蓋超音波脳血栓溶解法は臨床適用直前の状態とすることができた。

分担研究者

小川武希 東京慈恵会医科大学
救急医学講座教授

峰松一夫 国立循環器病センター
内科脳血管部門
リハビリテーション部部長

井上聖啓 東京慈恵会医科大学
神経内科学教授

飯田秀博 国立循環器病センター
放射線医学部部長

福田隆浩 東京慈恵会医科大学
神経病理学講師

寺本 昇 国立循環器病センター
放射線医学部

遠藤怜子 東京慈恵会医科大学
ME研究室

榛沢和彦 新潟大学大学院
呼吸循環外科

梅村晋一郎 東北大学
工学研究科電気・通信工学教授

窪田 純 株式会社日立メディコ
応用技術開発部主管技師

荻原 誠 株式会社日立メディコ
応用技術研究所研究員企画員

東 隆 株式会社日立製作所
中央研究所研究員

A. 研究目的

脳血管障害は主に虚血性脳卒中(脳梗塞)と出血性脳卒中に大別されるが、本研究では急性脳梗塞に対する現行の脳血栓溶解法(rt-PA投与による血流再開通法)に併用する経頭蓋超音波脳血栓溶解療法と、急性脳出血に対する予防的な未破裂動脈瘤に対する経頭蓋超音波は脳動脈瘤塞栓療法を対象とする新たな超音波治療法開発を行って来た。最終年度としては予算上の制約も考慮し、経頭蓋超音波脳血栓溶解療法に限定し、その臨床適用を目標として次の研究目的を実施した。なお、システム全体の概念と構成を図1下段に示した。すなわち本年度の目的は、頭部XCTあるいはMRI及び超音波治療断面統合化システムのボランティアによる有効性検証、経頭蓋超音波脳血栓溶解法に関する急性脳梗塞霊長類(カニクイザル)モデルによる安全性(主に出血率)の画像診断学的及び病理組織学的評価、本開発システムにおける経頭蓋超音波血栓溶解法は周波数500kHzという、超音波としては中周波数帯のものを治療用に用い、連続波を併用し、経頭蓋超音波カラー Doppler断層法(Transcranial Color Flow Imaging : TC-CFI)による画像中の塞栓部へ治療用の超音波(以下US)を標的照射することを特徴

としている。同治療法をTranscranial Targeting Low Frequency Ultrasonic Thrombolysis (TCT-LoFUT)法と称する。

TCT-LoFUTのUS条件の安全性を、脳動脈硬化亢進モデルとしての脳卒中易発症高血圧自然発症ラット(Spontaneous hypertensive Rat/ Stroke Prone)で再検証した。

臨床適用時の対照群となる臨床成績の蓄積分析と救急体制に関する検討

なお、一般的に低周波超音波の経頭蓋照射に係わる音響学的安全性に関する検討も昨年に引き続いて実施した。

B. 研究方法

B-1. BVSのボランティアによる有効性検証法開発したBVSの原理図を図2に示した。またそれを使用するTCT-LoFUTの全景を図3にまた同装置の表示画面構成を図4に示した。このシステムに関して健常ボランティア5例を対象にMRI測定を行い、その三次元立体像を構築した。各例のUS治療画面のTC-CFI像を捕捉すると共に、対応するMRI断面像を表示させ、両画像における中大脳動脈(MCA)表示位置のずれを誤差として調べた。なおBVSの基本使用条件としてMRI画像用のマーカをボランティアの頭部に装着する方法を各種検討した。その際、そのMRIマーカと超音波プローブ先端位置を合わせるための固有のアタッチメントを用意し、MRI像とUS像の座標系の連結を計った。また患者の体動(頭部)に追従する患者位置センサとUSプローブの動きに追従するUSプローブ位置センサを装着した。各センサは磁気検出器で、患者用ベッドの下に磁気発生器を固定するようにした。

経頭蓋US照射は血栓溶解の場合は60分と長く、固定を安定にする必要がある。そのためUSプローブ頭部固定具に関する工夫を毎年度行って来たが、新たに空気圧方式によるポイントセッタ(三鷹光器株)の活用を提

案し、その使用感についても健常ボランティア4例で検討した。

B-2. 急性脳梗塞霊長類(カニクイザル)モデルによるTCT-LoFUTの安全性評価実験法

本開発におけるTCT-LoFUTの安全性については小動物(主にラット)を用いて検討し、然るべき安全性が確認されてきた。その前臨床試験の最終的検討としてカニクイザルを用い、その急性脳梗塞モデルを作成し、TCT-LoFUTを適用したときの安全性評価を次の様に行った。

対象:カニクイザル10頭、体重6.3~7.8kg、年齢8~11歳

塞栓法:自家血栓(フィブリノーゲン及びトロンビン注入で作成)をその形状直径1mm、長さ3~5cmに作成した。下肢股動脈からカテーテルを内頸動脈サイフォン部直前まで挿入し、血栓を放出し、MCA塞栓を作成した。このMCAO(MCA occlusion)状態をX線アンギオで確認した。また、塞栓前後でのMRA撮影による評価を行った。

梗塞領域の評価法:塞栓直後の状態をPETでMRI及びTC-CFIで評価した。さらに24時間後のMRI-T2強調画像でも評価した。

実験の経時的流れ:図5に全体の実験プロセスを示した。MCAO状態を作成しMRI撮影後、rt-PAを投与による血栓溶解治療を施行した。同時にTCT-LoFUTによるUS曝露による治療も開始した。治療開始は、塞栓後約2時間30分を目標時間として設定した。US曝露時間60分、インターミット法(後述)で行った。24時間後にMRI撮影を行った。なお治療終了後から24時間後まではTC-CFIにて15分~1時間及び3時間間隔でTC-CFIを施行して再灌流事態を監視した。

病理組織学的出血評価法:24時間後の画像評価後に脳の灌流固定を行い、その後摘出し、ホルマリン内に浸潤させた。これを後

日、5mm幅で切断し、肉眼所見とHE染色による出血状態評価を行った。

TCT-LoFUTの照射条件:TCT-LoFUTのUS条件は500kHz連続波、音響強度0.5W/cm²とし、MCAO部分に焦点を合わせて曝露した。照射法は2分照射、30秒休止を4回繰り返した後5分休止とし、このセットを4回繰り返した。すなわち全体で60分間とした。なお休止期間中は同一プローブより発射される診断用の2MHzパルスによるTC-CFI画像で観察することとした。

比較群と評価法:10頭のカニクイザルをrt-PA単独投与治療群とTCT-LoFUT併用群の2群に5頭ずつ割付けた。塞栓による梗塞体積(T2強調画像)、また出血状態については肉眼所見及び病理所見について2群間比較をいずれもマンホイットニの平均値の差の検出法で評価した。

実施場所と倫理委員会の実験は国立循環器センター研究所先進医工学研究センター内で行った。脳摘出後は東京慈恵会医科大学に運び、神経病理学的評価を施行した。両施設における実験動物倫理委員会の承認を得、同倫理規定に従って実験を施した。

B-3 SHR/SPによる低周波US条件の安全性評価実験法

a. 安全性評価実験法

TCT-LoFUT適用患者には、脳動脈硬化症の亢進した患者が少なくない。急性脳梗塞発症の背景には、高血圧や糖尿病等に起因する高度脳動脈硬化を伴っているからである。この様な脳動脈硬化亢進状態の標準動物モデルSHR/SPを用いて低周波US条件を変えて経頭蓋照射し、その副作用を神経病理学的に評価した。

対象:SHR/SP、20~25週齢、体重平均312g±15%、全60匹
方法

手順: イソフルレン麻酔下にrt-PA溶液3mlを尾静脈より注入。注入方式は10%ボラスし、残りをシリンジポンプにて1時間注入。rt-PA溶液注入と同時に経頭的US照を開始し、TCT-LoFUTと同様のインターミット照射法を適用した。体温を治療前・後で記録した。US治療後覚醒させ、24時間後に再麻酔下に灌流固定し、頭を摘出した。2mm幅で切断し、断面の肉眼所見を得、パラフィン包埋後、HE染色で出血状態を病理学的に評価した。US条件: 音響強度 I_{spta} 0.3、0.5、0.73、1.0W/cm²の4条件とし、5φのUSプローブをラット右頭頂部に置いて実験した。

比較評価: 3mlの生理食塩水(PS)を注入したPS群、rt-PA溶液3mlを注入したrt-PA単独群、(rt-PA静注)と同時に(USの経頭蓋照射)を施したUS群(4条件)の6群を用意した。副作用としてはrt-PA投与の主要副作用とされる出血を観察した。各群10例ずつとし、比較は各2群間に対し、マンホイットニイの平均値の差の検定法で統計学的に行った。なお病理標本として作成した6断面全体とUS照射断面(2断面)とについて行った。特にUS照射断面については左右の比較を行った。出血状態は特にUSの影響を評価するため24時間以内の新鮮出血に注目し、次の7分類の評価を行った。

- A 急性梗塞+出血
- B 亜急性梗塞+出血
- C 陳旧性梗塞+出血
- D 新鮮出血(梗塞外)
- E 急性梗塞
- F 亜急性梗塞
- G 陳旧性梗塞

なお、本実験は東京慈恵会医科大学の実験動物委員会の承認を得て、人道的擁護指針に基づいて同大学内実験動物施設内で行われた。

B-4 事前臨床成績の蓄積法本開発研究の目指す最終ゴールとなるべき臨床適用の際に、その有効性あるいは安全性評価の比較対照となる臨床成績、すなわち経頭蓋超音波併用治療の対照データとなるUS照射臨床成績を次の2点に関して蓄積した。
(1)TC-CFI(TCCS)による頭蓋内主要動脈の検出率
(2)rt-PA単独投与治療成績
以下にその方法を示す。

(1)TC-CFI(TCCS)の頭蓋内主要動脈検出率の検討方法。東京慈恵会医科大学附属病院及び国立循環器病センター脳血管内科に来院し、入院した脳梗塞患者を対象とした。

①東京慈恵会医科大学附属病院神経内科におけるTC-CFI検出率検討法

(a)神経内科へ入院した脳梗塞患者218例、脳出血3例、その他6例、計227例、平均年齢67.0歳、男性163名、女性64名

(b)測定法:TC-CFI用装置は日立メディコ製EUB8500、プローブ(S50A)2MHz診断用を使用。

左右の側頭骨エコーウィンドウを検索し、中大脳動脈(MCA)のM1及びM2,そして後大脳動脈(PCA)の描出を試みた。検出状態を次の3段階に分けて分析した。すなわち、
A:両側共にM1、M2及びPCAが検出
B:いずれかの血管が描出
C:いずれも検出不能

また、年齢、性別による分析も行った。年齢は40代以下、50歳代、60歳代、70歳代、80歳代以上に分けて比較した。

②国立循環器病センター脳血管部門におけるTCCS検出率の検討法

(a)対象:111例(頸動脈や頭蓋内主幹動脈に50%上の狭窄のない者)、年齢平均67±13再、男性79例、女性32例。疾病内訳は脳

梗塞83例、一過性脳梗塞虚血発作12例、脳出血16例

(b)測定法:描出は前大脳動脈のA1、A2部、中大脳動脈M1、後大脳動脈P1からP2部とした。その際前頭骨窓と側頭骨窓の比較も行った。

当施設に脳梗塞、一過性脳虚血発作、脳出血のために入院した脳血管障害患者をSonos5500と探触子S3(Philips社製)もしくはE33と探触子S5-1(Philips社製)を用いて評価した。検査には、前頭骨窓と側頭骨窓を用い、前大脳動脈のA1、A2、中大脳動脈のM1、後大脳動脈のP1、P2の検出率を調べた。2人以上の脳血管内科医師が、カラードプラで血流信号が良好に描出できパルスドプラで血流速度を測定可能な場合に検出可能と判定した。前頭骨窓、側頭骨窓およびその両方を用いた場合の各々の血管の検出率を算出し、骨窓間で比較した。

(2)アルテプラゼ静注療法の治療成績
承認後2年間(平成17年10月～平成19年10月)に当センター内科脳血管部門を発症3時間以内に緊急受診した脳血管障害またはその疑い例の症例数、同じく発症3時間以内に緊急受診した脳梗塞例におけるアルテプラゼ静注療法の実施率を分析した。

次いで、アルテプラゼ静注療法を実施した80例のアルテプラゼ静注までの時間経過、臨床像、治療成績を分析した。治療効果の判定基準を、治療開始24時間以内にNIHSSスコアが4点以上改善する場合(早期神経学的改善あり)と、3ヵ月後の転帰がmRSスコア0,1(3ヵ月後の転帰良好)として、様々な臨床情報からそれぞれを規定する要因を調べた。臨床情報としては、年齢、性別と、高血圧、糖尿病、高脂血症、心房細動、喫煙、飲酒、脳卒中の既往、発症前の抗血小板剤使用、発症前のmRS \geq 2の有無、入院時の収縮期血圧、拡張期血圧、血糖、血清

尿素窒素、血清クレアチニン、血清alanine aminotransferase(ALT)や、発症から治療開始までの時間、脳梗塞病型、脳動脈閉塞部位、椎骨脳底動脈系梗塞の有無、ASPECTS/ASPECTS-DWIで評価したCTやMRIでの早期脳虚血所見、来院時のNIHSSスコアを用いた。

C. 結果

「脳血管障害の診断・解析・統合化システムの開発」の最終年度としての結果は、急性脳梗塞に対する経頭蓋超音波脳血栓溶解法の開発と、BVSシステムの完成が中心となった。未破裂動脈瘤に対する経頭蓋塞栓法の研究は予算の制約もあり中止することとした。

C-1 BVSシステムの完成

BVSシステムの基本技術系は昨年度までに完成していたので、その使用環境に近い臨床的データチェックとしてボランティア5名に対するTC-CFI画像とその断面に対応するMRA断層像とを用い、MCAを標的とした比較結果は次の通りであった。

MCA描出像はTC-CFIとMRAの各断面像で概ね一致した場合はその誤差約1mm程度であった。しかし、中には1cm程ずれたと考えられるデータも存在した。

そのずれの原因はMRAから三次元合成された立体像から切り出す面を決定するMRI用のマーカ位置の設定に依存した。

図6に実際のMRA断面像とTC-CFIの断面像とを並べて表示した。

BVS用の頭部固定具についても、固定及び再固定が容易な新提案としてポイントセットの使用感の良好なことを確認した。(図7)ただし、臨床現場へ導入するには小型化、頭部固定法等に関する更なる工夫を要することが明らかとなった。

以上のようにBVSは臨床現場へ適用するには二、三の改善を要するものの、基本的に

は臨床適用可能であり、TC-CFI像が得られない高齢者などに対しても、適切な超音波治療の行いえる技術が整ったことを示す結果であった。

C-2 霊長類急性脳梗塞モデル(カニクイザル)によるTCT-LoFUTの安全性評価実験結果

カニクイザルの自家血急性脳梗塞モデル実験はrt-PA単独投与群5例とrt-PA+TCT-LoFUT併用群5例について比較した。

各群5例前例に死亡例はなかった

図8にrt-PA+TCT-LoFUT併用例(monf704)の結果を示した上段はAngio、PETによるCBF、MRAによって塞栓状況を判定した後、併用治療した時の経時的画像記録を示した。また同図下段にはTCT-LoFUTによって再開通した時のTC-CFI記録を示した。

図9にはmonf704における同一スライス面の病理(macro, 及びmicro(HE染色))T1W、T2W、そしてT2*の記録を示した。

実験した全例治療結果と病理組織学的所見を表1に示した。

本実験は安全性評価を目的としたものではあったが、rt-PA単独投与群での再開通率は60%、US併用群では40%であった。

図10に脳梗塞の体積をT2W画像から三次元的に計算した結果を示した。梗塞体積はバラツキが多い結果で、両群間に優位差を認めなかった。

図11に病理組織学的に評価した出血率のグラフを示した。左が肉眼所見であり、右がHE染色に基づくミクロ所見である。肉眼所見では両群間に差を認めなかったがミクロ所見ではUS併用群全例で出血を認めた。しかし、その出血は表1に記載されているように血管周囲の小出血であった。そして1例も症候性出血と考えられるmassiveな出血状態は認められなかった。以上の如くカニクイザルを用いた急性脳梗塞モデルにおいて、TC

T-LoFUT曝露(1時間)の結果、有意な出血傾向を認めて、その安全性が示されたものと考えられた。

C-3

脳動脈硬化亢進モデル(SHR/SP)に対する中周波超音波の安全性実験結果

急性脳梗塞発症の背景因子として脳動脈硬化亢進が多い。その原因としては高血圧や糖尿病などがあげられる。脳動脈硬化亢進動物モデルとしては先天性高血圧動物として知られているSHR/SPを用い、rt-PA投与と共に経頭蓋的超音波照射をした時の脳出血の程度を評価した。超音波条件500kHz、CW、インターミittent照射60分として、その音響強度を0.3W/cm²~1.0W/cm²まで変化させた時の主要な結果は次の通りであった。

- 1) 超音波照射部位の出血率の傾向SHR/SP頭部6切片(前額面)の内US曝露(プローブ径5mm)部位を含む2切片に注目し、その切片の内の右半球側、すなわちUSビーム曝露側についてHE染色にて病理組織学的に評価した結果を図12に示した。
 - ① 図12から明らかな如く、陳旧性梗塞の履歴のある部位における出血率はバラツキが大きく各群間に有意差はなかった。しかし、massiveな出血の出現(棒グラフ中の分数の分子)がUS照射群にのみ認められた。
 - ② 陳旧性梗塞部位以外の正常組織内での新鮮出血の発現率は音響強度依存的に増加した。またその内のmassiveな出血が、0.72W/cm²以上では全例がmassiveと判定された。
 - ③ rt-PA投与量と同量のPSによってもSHR/SPでは陳旧性梗塞領域内での出血率は44%強を呈した。それに比較しrt-PA投与(単独)では亜急性梗塞内及び陳旧性梗塞内を合わせても20%にとどまった。

すなわち体重の平均約310gの1.0%の水分を静注するだけでも出血率がSHR/SPでは倍増する傾向を認めた。

- 2) 超音波非照射側での出血傾向SHR/SP 頭部前額面6切片の内のUS照射部位を含む2切片の内の非照射側(左側)の出血状態に関する病理組織学的判定を整理した結果を図13に示した。図より次の点が明らかとなった。
 - ① 非照射側においても、陳旧性梗塞領域内の出血は全群で生じ、各群間に有意差は認められない傾向であった。
 - ② ただし、massive所見はUS曝露群にのみ認められた。例数は少ないため音響強度依存性は認められないが、US曝露との関連性を示唆する様にも考えられる結果であった。
- 3) 図12と図13全体を整理すると、陳旧性梗塞内の出血率は各群40~70%の間に含まれる。また平均としては50%程度の出血率となった。しかしPS群、rt-PA単独投与群でも同率の値を示し、US曝露による特異的な出血率増高は認められなかった。しかし、massiveな出血所見はUS曝露群のみ認めた。このmassiveな出血傾向はUS依存の傾向を示唆し、かつ強度依存性の傾向も認められた。

以上から、脳動脈硬化亢進という背景因子を有する急性脳梗塞患者に、本開発で提唱する中周波数US、CWの照射条件としてはその音響強度の低減化が必要と考えられた。ただし、本実験における最低音響強度0.3W/cm²でもmassiveな出血所見が認められたため、実験からは閾値を決定することは出来なかった。

C-4 臨床成績蓄積結果

本開発システム、特にその経頭蓋超音波脳血栓溶解部分の臨床適用に先立って、その対照となる比較臨床成績を蓄積した。第一はBVSシステムを必要とする理由にもなった

高齢者におけるTC-CFI検出率の低さに関するデータ(脳梗塞発症患者の場合)、また第二は急性脳梗塞患者に対するrt-PA投与による再開通治療成績である。

1) 経頭蓋超音波カラードプラ断層法の 高齢者における検出率結果

ここでは慈恵医大神経内科に入院した脳梗塞患者の中からTC-CFI検査が行えた227例(年齢67.0歳)の検出結果を図14に示した。加齢と共に検出率は低下する傾向を示すが、特に女性においてその傾向は強く、80歳代以上では両側共に良好な骨窓を持つ患者は0%となっていた。ただし男性では加齢に伴う検出率低下傾向は余り認められなかった。

2) rt-PA静注療法による急性脳梗塞患者治療結果

国立循環器病センター内科脳血管部門で過去2年間に行われたアルテプラゼ静注療法適用患者計80例について詳細な検討を行った。これらは、同期間に急性虚血性脳血管障害で入院した820例の約10%、発症3時間以内に入院した284例の28%であった。発症から治療開始までは138分(中央値)であった(図15)。患者性別は男61例、年齢は54~94歳(平均74歳)であった。NIHSSスコアは治療開始前13点(中央値)が24時間後は8点、退院時は3点へと改善した。発症前から日常生活が自立していた75例中3ヶ月目の転帰良好「modified Rankin scale (mRS)スコア0もしくは1」は35例(47%)であった(図16)。36時間以内の症候性頭蓋内出血は4例(5%)に認められた。死亡例は2例(3%)であった。多変量解析により、24時間以内にNIHSSスコアが4ポイント以上改善しなかった要因は、糖尿病と近位部主幹脳動脈閉塞(内頸動脈もしくは中大脳動脈起始部

閉塞)であった。3ヶ月後の転帰が不良(mRSスコア2以上)の要因は、高血圧、近位部主幹脳動脈閉塞、来院時NIHSSスコア高値であった。

このようなrt-PA単独投与による臨床成績は今後TCT-LoFUT適用による超音波併用rt-PA静注療法との成績と比較する対照データとして十分なものと考えられた。

D. 考察

開発システム全体としては、未破裂動脈瘤塞栓治療部は割愛した形で完成した。すなわちTC-CFI検出率の低い高齢者にも経頭蓋超音波治療が施行できるようなCTやMRIに基づくナビゲーションシステム、すなわちBVSを完成し、これを用いて急性脳梗塞患者の超急性期治療に供するrt-PA併用経頭蓋超音波脳血栓溶解療法とまず技術的に完成したのでその安全性を中心にした霊長類を用いた実験を行い、rt-PAの副作用に比べ、本US併用法がその副作用を増強させるものでないことを確認した。さらにその脳血栓溶解法を臨床に適用する際に必要となる対照データを国立循環器病センター内科脳血管部門を中心に蓄積し、分析した。以下に本年度研究成果に関する考察を述べる。

D-1. BVSシステムの完成

経頭蓋超音波治療をTC-CFIの誘導ばかりでなくCTやMRI画像の誘導でも行える様に、超音波治療用断面に対するCTまたはMRI断面像を表示し、そのガイド下に超音波治療を行えるシステムとして、既に信号処理系の技術は完成した。しかし、その精度については問題ないとしなし。ファントム実験では精度約1mmが得られ、CT三次元像からの切断面はTC-CFI像に相当するUS像と概ね一致していた。これはヒトMCAの血管径が3~4mmと考えれば問題にはならない、十分な精度

である。特にUSビーム自体がそれ程小さな焦点を形成するものではないので、この精度は充分ということが出来た。しかしながらボランティア実験の結果の中にはTC-CFI像に対するMRI断面像が相当にずれてしまう例もあった。これは二基準点BVSにおける患者用MRI基準点マーカの配置位置にも影響されており、適切な工夫、例えば基準となるマーカ三点の位置を幅広く設けるなどの配置上の工夫が求められている。全体系としての精度向上が求められる一面が存在している。

臨床使用環境を考慮した超音波プローブの頭部固定具についても、ポイントセッタの導入は良かったが、課題が残っている。ポイントセッタが高額で、やや大きいため、救急室の様な狭いところで使用しにくいように考えられる。患者の枕やベッドにより馴染める小型化が求められる。

以上のようなさらに改善は必要であるが、今日TC-CFIが検出できない様な患者に対し、MRIやCT三次立体像を活用して経頭蓋超音波治療を行え得るシステムは内外にない。世界の先端を走る各種画像フュージョンシステムであることに間違いはない。此のシステムの臨床現場への導入は我々開発者の責務と考えている。

D-2.

D-3. 脳動脈硬化亢進モデル(SHR/SP)における中周波超音波照射の影響

結果C-3で述べた如く、SHR/SPに対し血栓溶解剤rt-PA投与下で経頭蓋的に我々のUS条件を曝露すると、陳旧性梗塞領域内外に病理組織学的にmassiveな出血がUS群にのみ出現した。しかも、陳旧性梗塞領域外では強度依存的にその出血の出現率は向上した。ただし、非US照射群であるPS投与、及びrt-PA単独投与群においても陳旧性梗

塞領域内ではUS照射群と同等の新鮮出血を認めた。使用したSHR/SP20~25週齢の状態は体重の4.0%溶液を静注するだけでも脳血管系に異常を呈する状態であった。この結果から、20~25週齢のSHR/SPでは、 $0.3W/cm^2$ のような弱い強度条件でも小出血にとどまらない血管損傷を惹起する危険が考えられる。Massiveな出血を招来する音響条件の閾値について本実験では不明であった。 $0.2W/cm^2$ 、 $0.1W/cm^2$ さらに、 $0.05W/cm^2$ の様に音響強度を低減させた状態でmassiveな出血所見の無くなる強度を探す追加実験が必要になる。また加えて、虚血モデルでは脳血管系の脆弱化が進み、超音波照射に対する危険性が増すとされている。これを考慮すればSHR/SPを用いた急性脳梗塞モデル実験も必要になると考えられる。その様な虚血脳モデルによって初めて中周波USの急性脳梗塞患者に対する安全性が担保されるものとする。ただしmassiveな出血所見はないまでも、PS3ml投与あるいはrt-PA3ml単独投与という処置をただけでも陳旧性梗塞領域内では出血が認められているのは余りに脳血管系が弱くなっているのではないかと考えられる。SHR/SPのもう少し低週齢の状態での出血状態を検討し週齢依存的な傾向の有無についても検討を要すると考えられる。

なお、この様なSHR/SPを用いたことによってWistar ratを用いた安全性実験では認められない上述の出血現象は経頭蓋US血栓溶解法の安全性を医学生物学的に考えるべきことを改めて注視させるものである。それというのもDaffertshoferらの行った300kHz、BWを用いたTRUMBI trialが、単にその超音波条件が不適切であったというばかりではなく、急性脳梗塞患者の背景因子として、動脈硬化症の様な血管脆弱化が生じていたことにもよるものではないかと考えられるからである。彼らのUS適用患者の詳細は不明

であるが、一般に急性脳梗塞患者は糖尿病や高血圧などによる動脈硬化が進行している。その様な病的血管に対する安全性を考慮することも極めて重要であることを本実験結果は示している。本実験結果を加えることによって始めてTRUMBI trialの失敗の原因全貌が明らかとなった。このような条件を踏まえて中周波のUSのヒト適用条件を検討することは必須である。

D-4. 臨床成績の蓄積結果に関する考察

1) TC-CFIの検出率

経頭蓋超音波治療を行う際、その標的部位を確定するのに、TC-CFI画像データの表示に従って行うことが出来れば最も堅かである。しかし、その検出率は上述C-4にまとめた様に、本開発システムを必要とする高齢者においては高くない。一般に検出率は術者の腕と共に超音波診断装置の性能によるところが大きい。今回国立循環器病センター内科脳血管部門では最新のpure wave crystalプローブを用いたTC-CFIの検出率も報告している。それによれば、頭蓋内主要動脈の検出率は10~20%増加し、特に高齢者においては70%検出率に達している。装置の性能が従来法に勝った結果である。この事例が示すように超音波投影、特に経頭蓋超音波画像撮影の一層の向上に期待するところ極めて大きいものがある。

しかしながら、現状では技術改善が行われているとはいえ、TC-CFIの検出率は100%ではない。上述のBVSシステムを活用することを考えざるを得ない。

2) rt-PA静注療法の臨床成績に関する考察

図15、図16に、国立循環器病センター内科脳血管部門で施行されたrt-PA静注療法の臨床成績80例の結果を示した。血流再開通時間は測定されていなかったが、NIHSSの24時間以内の低減は著しく、ICA/MI主幹部閉塞を除き、3週間後の神経学的改善には

目覚しいものがあった。また、3ヶ月後のmRSが0、1の割合が47%と高値で、これも後述する欧米の成績を超える極めて良好な成績であった。

超音波併用血栓溶解療法としてrt-PA静注法に併用される経頭蓋超音波照射が本プロジェクトを始め従来内外で研究検討されてきた。今日臨床成績を挙げているのは経頭蓋超音波ドプラ法(TCD)を併用する方法でAlexandrovらによるCLOT BUST trialではrt-PA単独使用63例、TCD併用63例の急性脳梗塞患者について、次の結果を報告している。rt-PA単独投与群(10%ボラス、残量点滴静注0.9mg/kg)でのrt-PA投与2時間後の持続完全再開通率は13%であった。その3ヵ月後のmRS0及び1の割合は29%となった。一方、TCD併用群でのrt-PA投与2時間後の完全再開通率は38%に上昇し、3ヶ月後のmRS0及び1の割合は42%となった。すなわちrt-PA投与2時間後の持続完全再開通率は有意に上昇($P=0.002$)したが、その3ヵ月後の神経学的改善は上昇するものの有意ではなかった($P=0.2$)。

上述のTCD併用例における3ヶ月後のmRSに比べ、国立循環器病センター峰松らのrt-PA静注(単独投与)の成績は47%をはるかに越えるものであった。しかもrt-PA濃度は0.6mg/kgと欧米の投与濃度の三分の二での成績である。元々TCDとrt-PAの併用に関しては、極めて精密なin vitro実験を行った時のみ有効性が認められる程、その併用効果は微弱であった。それでも臨床では上述の如くその有効性が示されていた。国立循環器病センターでは再開通時間や再開通率は測定されていないため、その比較は出来なかったが、上述の如く3ヶ月後の成績はTCD併用法におけるCLOT BUST trialを凌駕する成績であった。このようなrt-PA単独投与法に、我々の開発したTCT-LoFUTを併用した場合の有効性は次の様なになると予

想される。我々のUS条件を家兎股動脈閉塞モデルに適用した場合、その再開通率は2/12から8/9に増加しており、その結果から、TCT-LoFUTを併用した場合には80~90%に達する再開通率が期待されている。

以上、TCT-LoFUT併用脳血栓溶解療法に先立って行われた、rt-PA単独投与による臨床成績は開発システムとの併用療法の場合の飛躍的進歩を期待させるに十分なものであった。

E. 結論

本邦死因第3位、要介護老人の4割を占める脳血管障害(特に脳梗塞)に対する低侵襲超音波による新治療法として、頭部CT、MRIを融合する頭部超音波画像法(Brain Virtual Sonography : BVS)の誘導下に、急性脳梗塞患者の超急性期治療法としての経頭蓋低周波超音波脳血栓溶解法(二次元標的、画像誘導下)を開発した。開発システムの有効性と安全性に関する前臨床試験を終了した。また、事前の臨床研究を施工し、本開発システムの臨床応用時の対象データを蓄積した。具体的に次の成果をあげた。1)開発したBVSシステムを健常ボランティアに実際に適用し、経頭蓋カラー・ドプラ断層像に対応するMRI断面像との比較を、中大脳動脈描出精度を中心に検討し、臨床応用可能なことを確認した。2)BVSガイド下に行い得る経頭蓋低周波超音波脳血栓溶解装置(TCT-LoFUT)を技術的に完成したので、前臨床試験最終課題となる霊長類を用いた急性脳梗塞カニクイザル実験を10頭行い、その安全性(特に出血状態)を画像診断学的及び病理組織学的に評価し、現行の血栓溶解剤(rt-PA)静注療法のリスクをこれに併用する本開発超音波血栓溶解療法が増高させないことを確認した。3)また、TCT-LoFUTの医学生物学的安全限界を急性脳梗塞患者の多くに見られる背景因子、すなわち、脳動

脈硬化亢進状態に対する低周波超音波の安全性を、脳卒中易発症高血圧自然発症ラット(SHR/SP)モデルで検証し、音響強度閾値が従来の設定値より下げるべきことを示した。4)開発したBVS誘導TCT-LoFUTの臨床適用時の対照として、2年前に国内承認された血栓溶解剤(rt-PA)の臨床成績を国立循環器病センター内科脳血管部門で蓄積し、分析した。急性脳梗塞患者の内、6%に相当する80名の超急性期適用の結果、著しいNIHSSの軽減、3ヶ月後の極めて著しい神経学的改善を示す転帰をもたらした。以上、開発システムは製造メーカー(株)日立メディコが製品化を計り、倫理委員会の承認の下に治験を開始するのに十分な前臨床研究を完遂することが出来た。

F. 研究発表

1. 論文発表研究発表

1) 国内

2) 海外 3編

①In vitro evaluation of dual mode ultrasonic thrombolysis method for transcranial application with an occlusive thrombosis model: Z.Wang, M A. Moehring, A H.Voie, and H.Furuhata: *Ultrasound in Med. & Biol.*, 2008; Vol.34, No.1.96-102

②Effective and Safe Conditions of Low-Frequency Transcranial Ultrasonic Thrombolysis for Acute Ischemic Stroke -Neurologic and Histologic Evaluation in a Rat Middle Cerebral Artery Stroke Model- ; T Saguchi, H Onoue, M Urashima, T Ishibashi, T Abe, H Furuhata; *Stroke* 2008; 39: 1007 -1011.

③Accelerating effects of ultrasonic thrombolysis with bubble liposomes: T Zenitani, Ryo Suzuki, K Maruyama, H Furuhata; *The Japan Society of Ultrasonics in Medicine* 2008; Vol.35, 5-10

G. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得

特許8件(出願中含む)

2. 実用新案登録

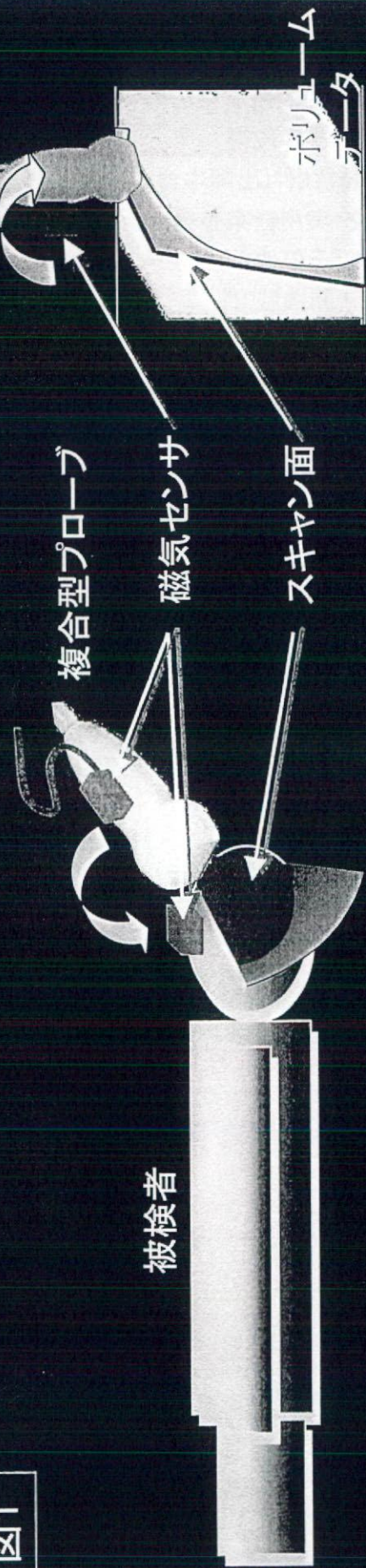
3. その他

新聞掲載3件

BVS (Brain Virtual Sonography)の原理

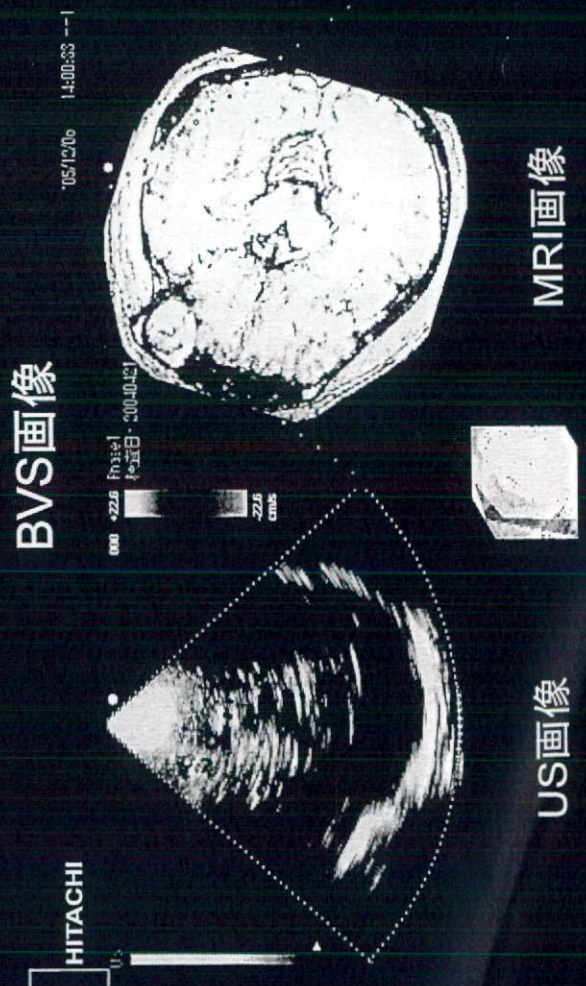
患者とUSプローブのDual-Sensor法

図1



2つの位置センサで被験者とプローブの動きを感知し、超音波像と同一断面のリファレンス像をCT/MRIの再構成三次元画像からリアルタイムに表示

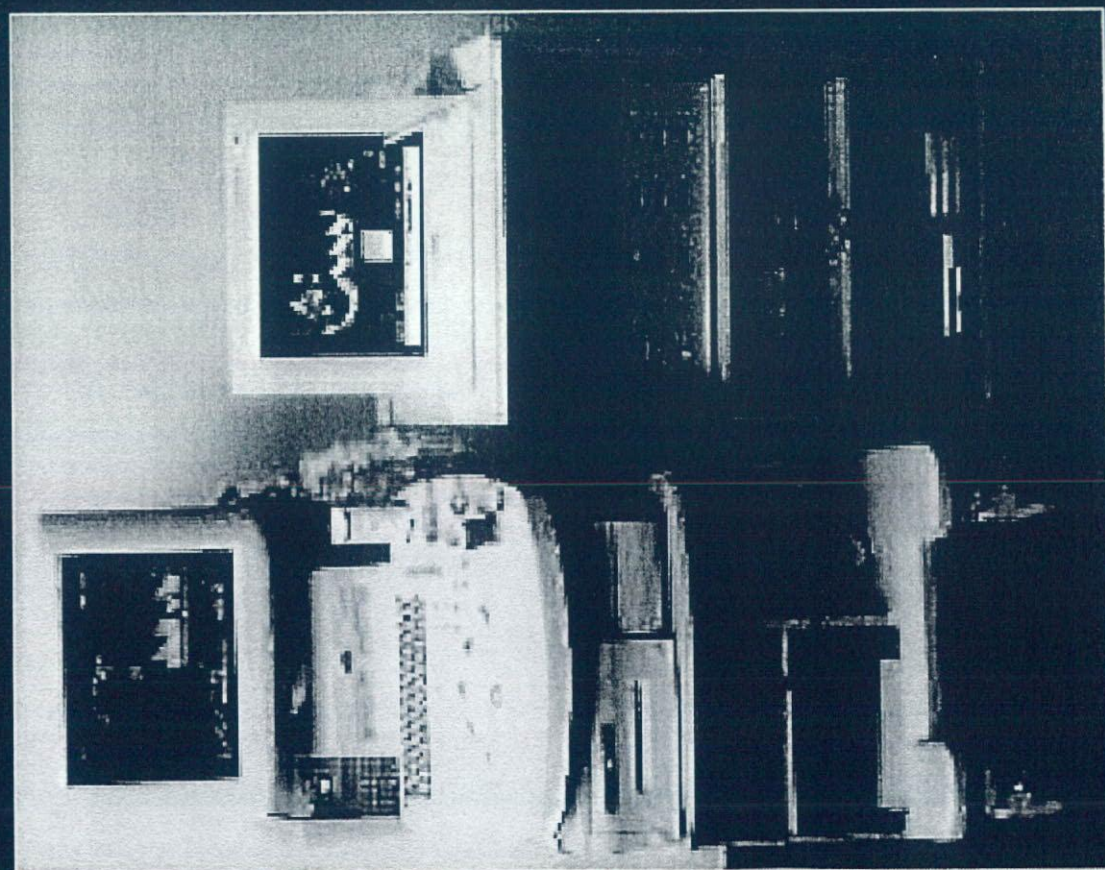
図2



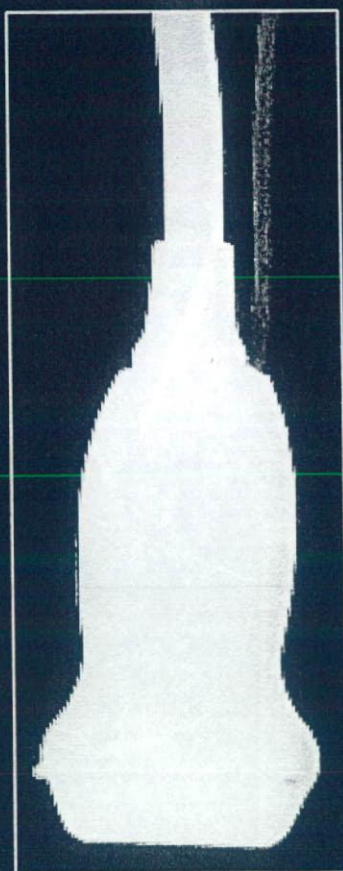
BVSシステム原理とUS像に対応する断面のMRI像

TCT-LoFUTの全景とその超音波プローブ

図3



診断装置・治療制御装置



診断・治療複合プローブ

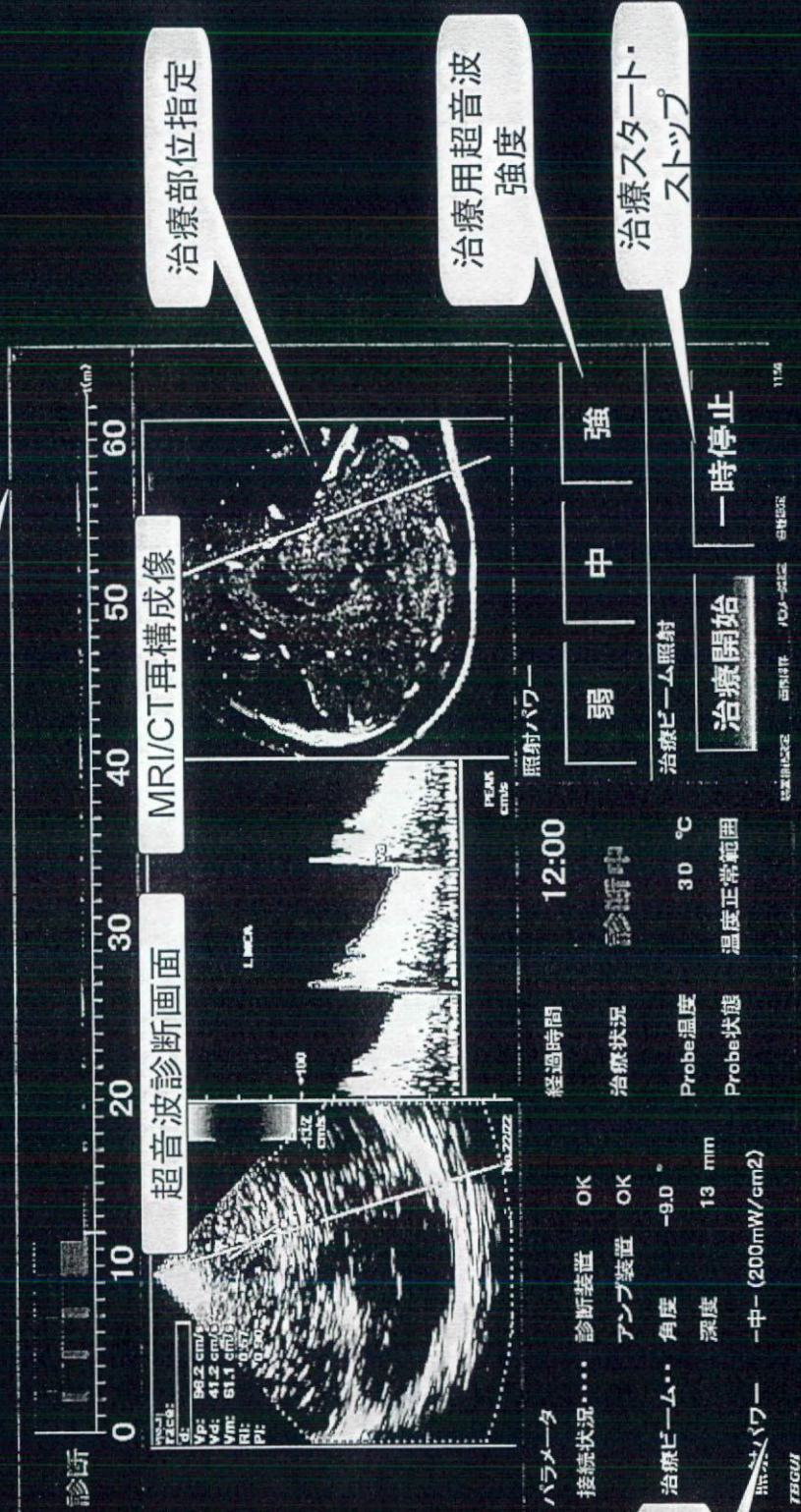
治療システムGUI

(GUI: graphical user interface)

治療用インターミット照射法

{(+30秒診断) × 4回 + 5分診断} × 5回 = 60分

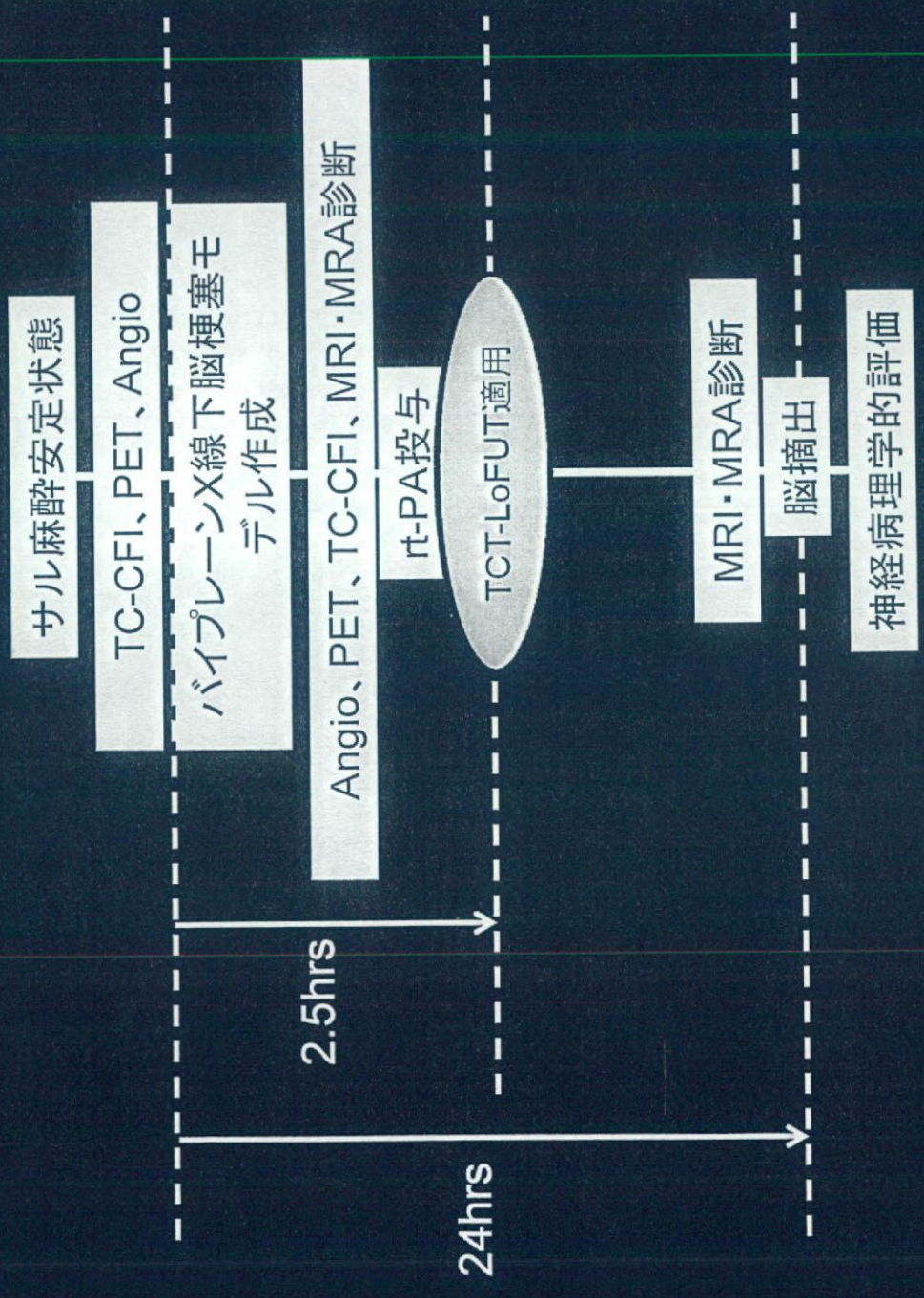
治療進捗表示



BVS用のTCT-LoFUT画像表示部

図5

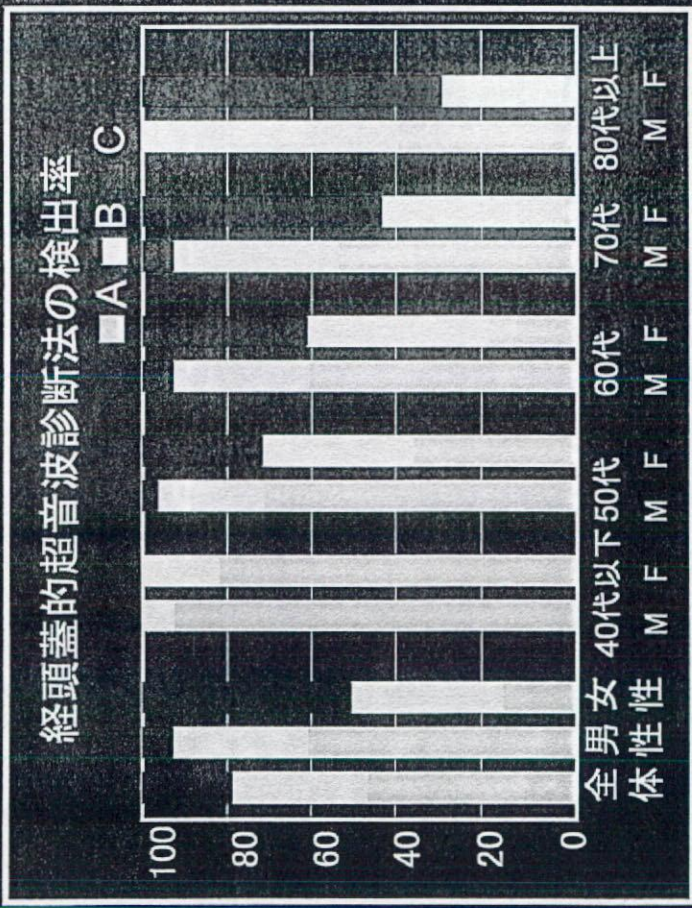
実験全体の流れ



急性脳梗塞カニクイザル実験の流れ

BVS (Brain Virtual Sonography)の原理

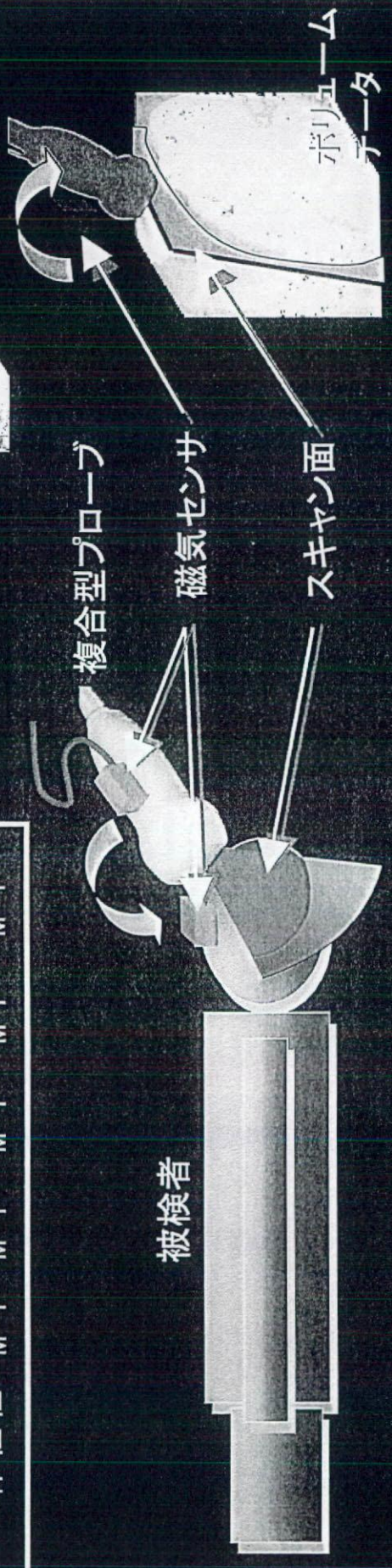
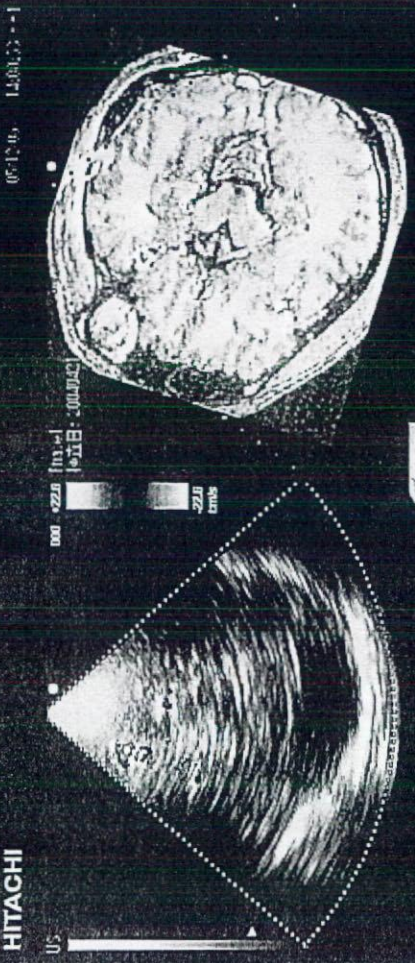
患者とUSプローブのDual-Sensor法



BVS画像

US画像

MRI画像



2つの位置センサで被検者とプローブの動きを感知し、超音波像と同一断面のリファレンス像をCT/MRIの再構成三次元画像からリアルタイムに表示