

された。したがって、低周波数超音波において、強度が低ければ、中枢神経系への障害は低いことが予想される。

出血や浮腫、細胞壊死などの副作用により、rtPA の付加的治療法としての低周波数超音波照射療法が危惧されているが、今回の研究により、条件を選択すれば、低周波数超音波照射による副作用の出現をコントロールできることが判明した。今後、副作用無しでrtPA の血栓融解効果を増強させる低周波数超音波照射条件を設定していくことが必要である。

結論

高血圧による血管障害性中枢神経病変が存在する SHRSP ラットでは、超音波照射による影響を受けやすく、hsp70 免疫組織化学的検索が、照射 24 時間後の超音波障害の指標として有用である。

低周波数超音波において、強度が低ければ、中枢神経系への障害は低いことを明らかとした。

引用文献

1. Topcuoglu MA, Saka E, Onal MZ. Hyperoxia potentiated sonothrombolysis as a
2. Stroick M, Alonso A, Fatar M et al. Effects of simultaneous application of ultrasound and microbubbles on intracerebral hemorrhage in an animal model. *Ultrasound Med Biol.* 2006;32:1377-1382
3. Reinhard M, Hetzel A, Kruger S et al. Blood-brain barrier disruption by low-frequency ultrasound. *Stroke.* 2006;37:1546-1548
4. Fatar M, Stroick M, Griebe M et al. Brain temperature during 340-kHz pulsed ultrasound insonation: a safety study for sonothrombolysis. *Stroke.* 2006;37:1883-1887
5. Eggers J. Acute stroke: therapeutic transcranial color duplex sonography. *Front Neurol Neurosci.* 2006;21:162-170
6. Daffertshofer M, Hennerici MG. Sonothrombolysis: experimental evidence.

method of acute ischemic stroke therapy. *Med Hypotheses.* 2006;66:59-65

- Front Neurol Neurosci. 2006;21:140-149
7. Ikeda K, Nara Y, Matumoto C et al. The region responsible for stroke on chromosome 4 in the stroke-prone spontaneously hypertensive rat. *Biochem Biophys Res Commun.* 1996;229:658-662
 8. Yamasaki Y, Yamamoto Y, Senga Y et al. Decreased cerebral metabolism in stroke-prone spontaneously hypertensive rats (SHRSP) with stroke and its possible improvement by Solcoseryl. *Clin Exp Hypertens A.* 1991;13:1051-1057
 9. Yamori Y, Horie R, Akiguchi I et al. Symptomatological classification in the development of stroke in stroke-prone spontaneously hypertensive rats. *Jpn Circ J.* 1982;46:274-283
 10. Daffertshofer M, Fatar M. Therapeutic ultrasound in ischemic stroke treatment: experimental evidence. *Eur J Ultrasound.* 2002;16:121-130
 11. Schneider F, Gerriets T, Walberer M et al. Brain edema and intracerebral necrosis caused by transcranial low-frequency 20-kHz ultrasound: a safety study in rats. *Stroke.* 2006;37:1301-1306
 12. Terada K, Mori M. [Cellular functions of cytosolic Hsp70]. *Tanpakushitsu Kakusan Koso.* 2004;49:841-846
- 関連発表文献
1. Shimada Y, Fukuda T, Aoki K, Yukawa T, Iwamuro S, Ohkawa K, Takada K. A protocol for immunoaffinity separation of the accumulated ubiquitin-protein conjugates solubilized with sodium dodecyl sulfate. *Anal Biochem.* 2008 Mar 4; [Epub ahead of print]
 2. Mori R, Sakai H, Kato M, Hida T, Nakajima M, Fukuda T, Fukunaga M, Abe T. Olfactory neuroblastoma with spinal metastasis: case report No Shinkei Geka. 2007 May;35(5):503-8. Japanese.
 3. Kanai H, Marushima H,

- Kimura N, Iwaki T, Saito M, Maehashi H, Shimizu K, Muto M, Masaki T, Ohkawa K, Yokoyama K, Nakayama M, Harada T, Hano H, Hataba Y, Fukuda T, Nakamura M, Totsuka N, Ishikawa S, Unemura Y, Ishii Y, Yanaga K, Matsuura T. Extracorporeal bioartificial liver using the radial-flow bioreactor in treatment of fatal experimental hepatic encephalopathy. *Artif Organs*. 2007 Feb;31(2):148-51.
4. Fukuda T, Arai T, Nikaido T, Joki T, Ikeuchi S, Kato M, Kawakami M, Abe T. A case of chordoid meningioma with allelic loss of 1p36. *Jikeikai Med. J.* 2006;53(1):37-44
5. Fukumitsu N, Suzuki M, Fukuda T, Kiyono Y, Kajiyama S, Saji H. Reduced 125I-metaiodobenzylguanidine uptake and norepinephrine transporter density in the hearts of mice with MPTP-induced parkinsonism. *Nucl Med Biol.* 2006;33:37-42
6. Sato S, Chiba T, Nishiyama S, Kakiuchi T, Tsukada H, Hatano T, Fukuda T, Yasoshima Y, Kai N, Kobayashi K, Mizuno Y, Tanaka K, and Hattori N. Decline of striatal dopamine release in parkin-deficient mice revealed by in vivo autoradiography. *J Neurosci. Res.* 2006;84(6):1350-7

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

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)
分担研究報告書

低体温による脳保護: 本サル脳塞栓モデル実験の限界点

分担研究者 榛沢 和彦 新潟大学大学院 呼吸循環外科
研究協力者 福田 隆浩 東京慈恵会医科大学総合医科学研究センター
神経科学研究部神経病理学研究室講師
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
三村秀毅 東京慈恵会医科大学総合医科学研究センターME研究室
銭谷 平 東京慈恵会医科大学総合医科学研究センターME研究室
荒井あゆみ 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

研究要旨:

霊長類(カニクイザル)10頭を用いた急性脳梗塞モデル実験について、脳保護の観点から検討した。特に、体温管理の面を中心に実験結果を見直した。その結果、次の時間帯での低体温状態脳保護的に働いた可能性が示唆された。①塞栓形成前の麻酔開始からPET測定後までの時間帯(3~4時間)、②塞栓後治療開始までの間のMRI検査実施(約1時間)前後の時間帯約4時間、この間体温(直腸温)34.5~36°Cの範囲にあった。直腸温に比べ脳は1°C以上低いので、上記の時間帯は低体温状態と判断された。他の時間帯では36.5°C中心に±1°Cの範囲に維持されていた。動物実験や臨床において低体温管理は脳細胞障害の抑制や脳微小血管の保護作用を招来し、結果的に梗塞領域の減少や脳出血頻度の低下に関与する低体温療法として認められている。このことから、本実験における低体温状態を考察すると急性脳梗塞状態は低体温管理下に行われた結果であると考えられた。すなわち、低体温療法を併用した状態での急性脳梗塞モデルにおける安全評価(主に出血評価)実験結果と考えられた。従って、脳保護の観点からは開発した経頭蓋超音波血栓溶解法を適用するに当たっては、適切な低体温管理が施行された場合に適用可能な不具合発生成績を予測するものと結論された。

A. 研究目的

経頭蓋超音波脳血栓溶解療法としてrt-P A静注法と併用する経頭蓋超音波脳血栓溶解療法(Transcranial Targeting Low Frequency Ultrasonic Thrombolysis: TCT-LoFU T)が開発された。その前臨床研究の一環の最終段階の実際として、大型動物としての霊長類(カニクイザル)を用いて、TCT-LoFU

Tの安全性試験が行われた。実験系は自家血血栓のカテーテル式中大脳動脈(MCA)塞栓法モデルを用い、各種画像(MRI、PET、US)確認、あるいは監視下で血栓溶解治療が施行された。安全性評価因子としては主に出血状態に注目し、現臨床実施法のrt-P A静注法群と、これに開発したTCT-LoFU Tを適用するUS併用群の各5頭について実験

し、最終的には塞栓後24時間で脳を摘出し、病理組織学的に評価された。

本研究の目的は此の実験系とその結果について全実験過程を脳保護の観点で見直し、その結果に関する再評価し、その実験的結果の意義について考察を加えることとした。それ故、低体温状態の有無を検索し、その低体温状態が脳神経系にもたらす効果について文献的考察を加えながら検討した。

B. 研究方法

1) 急性脳梗塞カニクイザル実験法

詳細は他の分担研究者の報告に譲るが、筆者が同実験においてカテーテル操作による自家血血栓MCAO作成をX線アンギオガイド下に施行し、その後の治療(rt-PA静注法やTCT-LoFUT適用)の初期段階まで、一緒に実験に立ち会っていたことを付記する。

実験の概要は次の通り。

- ① 対象:カニクイザル10頭 平均体重6.79kg、年齢8~11歳
- ② 塞栓法:自家血トロンビン血栓(詳細は別稿)を内径1mmのチューブ内に作成し、右股動脈から内頸動脈サイフォン部まで挿入したカテーテルを介して、MCAに注入した。この操作はX線アンギオ下で行い、造影剤で評価しながらMCAOを完成させた。
- ③ 画像評価法:実験開始前にMRI検査(MRA中心)及びTC-CFI検査を行って、正常状態での血管走行、MRA部位とUSプローブ設定位置を確認した。MCAO作成直前にPET測定、MCAO形成後に再度PET測定を行うと共に、塞栓完成後は直ちにMRI室近くへ移動し(別の建物)MRI検査(T1, T2, T2*, MRA)を施行した。治療開始前にTCT-LoFUTを装備し、プローブをカニクイザル側頭部に固定(場合によっては手で持って)MCA領域の描出を行った。TCT-L

oFUTによる血流監視は治療中はインターミittent照射法による実時間監視、治療終了後は1時間10~15分間隔で、その後1時間は3時間間隔で測定した。24時間後に再度MRI検査を行った。

- ④ 病理組織学的評価法:塞栓完成後24時間経過をみた後に、灌流固定し脳を摘出し、慈恵医大へ運んだ後、肉眼所見を5mmスライスで評価した。またHE染色で出血評価を行った。
- ⑤ 実験中のバイタル監視法:実験中は体温を直腸温で監視した他、血中O₂, CO₂ガス分圧、血圧、心拍を記録した。本研究で注目する体温は、塞栓後60分間隔で測定し続けた。装置は日本光電社製のAW-601Hを用い、その精度は0.1°Cであった。
- ⑥ 実験実施場所と倫理委員会:霊長類実験は国立循環器病センター研究所先進医工学センター内放射線部で行われ、脳摘出後は東京慈恵会医科大学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)研究室及び神経科学研究部神経病理学研究室で病理組織学的評価を行った。両施設それぞれにおいて実験動物委員会の承認を得、実験動物委員会規定に基づく倫理的措置の下に実験全体が施行された。ただし、塞栓状態から10時間以上生存していたのでここでは死亡例も含めて、検討することとした。

2) 治療開始前の再開通例

rt-PA静注群で3例、TCT-LoFUT併用群で1例、計4例が目的とした治療法を適用する前に再開通してしまった。ただし、治療は開始前に再開通が認められた場合でもrt-PA静注やTCT-LoFUT併用を施行した。低体温に関する梗塞領域の比較検

討には注意する必要があった。

3) 治療施行による再開通例

治療開始時に再開通をしていなかった6例(死亡例を含む)の内、rt-PA静注療法では再開通したものは3例(50%)であった。rt-PA静注群1/2、TCT-LoFUT併用群2/4といずれも50%で再開通し、両群間に差はない様であった。

4) 低体温(直腸温)の経時的変化

図1に全10頭における体温測定結果をまとめて示した。

本実験はサルにケタラルで麻酔導入後にプロポホルで麻酔維持し筋弛緩も得る必要があるため深麻酔となっていた。麻酔下では体温と血圧が低下しやすい。そのためPET撮像中に温風ブランケット使用しても直腸温が34-35度の低体温となっていた。その後急速に直腸温を上げてから脳塞栓作成を行っている。直腸温と脳温には解離が報告されており、さらに急速に加温した場合に脳温が確実に直腸温と同じになっている保証は無く脳温は直腸温よりも低いと考えられる。実際に本実験2頭目のサルで食道温と直腸温では0.5-1.0°Cの差が見られ、食道温の方が低かつ

た。このような低体温は脳虚血作成時に脳細胞障害に対して保護効果があると考えられる(1-10)。また脳塞栓作成後も体温低下が認められた。これはMRI撮像のため、MRI撮像中は加温のための温風ブランケットが使用できないことによる。MRIはT1、T2、T2*、MRAを行うため約1時間を要する。MRI撮像中は使用できる器具が限られるため保温が難しいと考えられこの間に体温が低下したものと考えられた。脳虚血後の低体温療法は実際の臨床でも行われており、現時点で唯一効果のある脳保護法でもあるといっても過言ではない。臨床では脳低体温療法の明らかなエビデンスが無いとされるが、その大きな理由はコントロールスタディーができないことによる。低体温療法は重症の脳梗塞患者に行われるため、行わないと脳ヘルニアの危険があるため倫理的にコントロールにできないことが大きいと考えられる。動物実験では低体温で脳細胞障害が少ないことは以前から報告されている。また心臓血管手術時、特に小児の複雑心奇形などで循環停止を行う場合に脳保護のため低体温を使うことは常識であり、その効果を疑うものはいない。また最近では低体温による脳微小血管細胞の保護作用の報告もされており低体温による脳出血頻度が低下する可能性も考えられた(11-13)。以上から本実験では脳虚血作成前からの低体温、脳虚血直後から4時間にわたる低体温が存在し、脳保護を行ったうえでの脳塞栓モデル実験であると言わざるをえない。また麻酔も深麻酔下であるので、麻酔による脳保護もあると考えられる。したがって低体温+深麻酔による脳保護下における脳塞栓モデルの結果であることに注意が必要である。逆を言えば低体温治療(臨床では麻酔を必ず併用する)のもとで行えば脳出血の危険性は

低いという結果である。

文献

- 1) Battin MR, Penrice J, Gunn TR, Gunn AJ. Treatment of term infants with head cooling and mild systemic hypothermia (35.0 degrees C and 34.5 degrees C) after perinatal asphyxia. *Pediatrics* 2003;111(2):245-51
- 2) Ohta H, Terao Y, Shintani Y, Kiyota Y. Therapeutic time window of post-ischemic mild hypothermia and the gene expression associated with the neuroprotection in rat focal cerebral ischemia. *Neurosci Res.* 2007;57(3)424-33
- 3) Safan Z, Karsten S, Nikolaus P, et al. Combination Drug Therapy and Mild Hypothermia After Transient Focal Cerebral Ischemia in Rats. *Stroke* 2003;34:2246-2251
- 4) Schaller B, Graf R Hypothermia and stroke: the pathophysiological background. *Pathophysiology* 2003;10:7-355
- 5) Shibano T, Morimoto Y, Kemmotsu O, et al. Effects of mild and moderate hypothermia on apoptosis in neuronal PC12 cells. *Br J Anaesth* 2004;89:301-5
- 6) Fingas M, Clark DL, Colbourne F. The effects of selective brain hypothermia on intracerebral hemorrhage in rats. *Exp Neurol* 2007;208(2):277-84
- 7) Hamann GF, Burggraf D, Martens HK, et al. Mild to moderate hypothermia

prevents microvascular basal lamina antigen loss in experimental focal cerebral ischemia. *Stroke* 2004;35(3):764-9

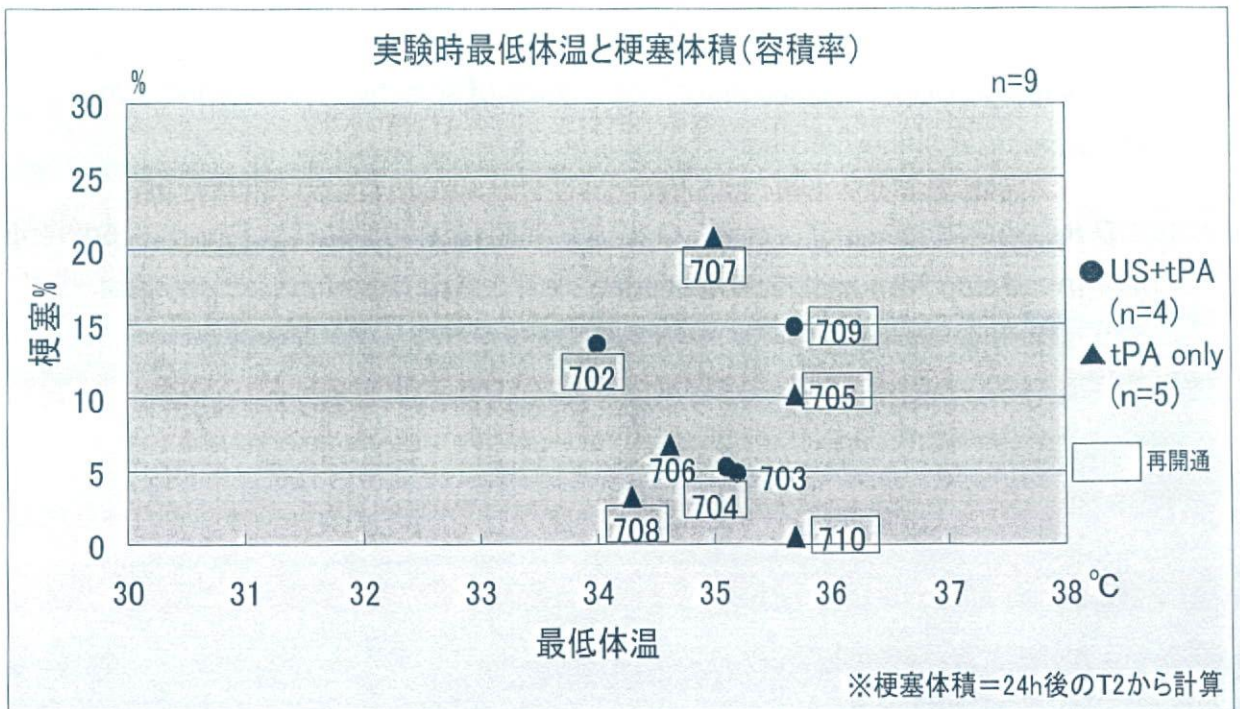
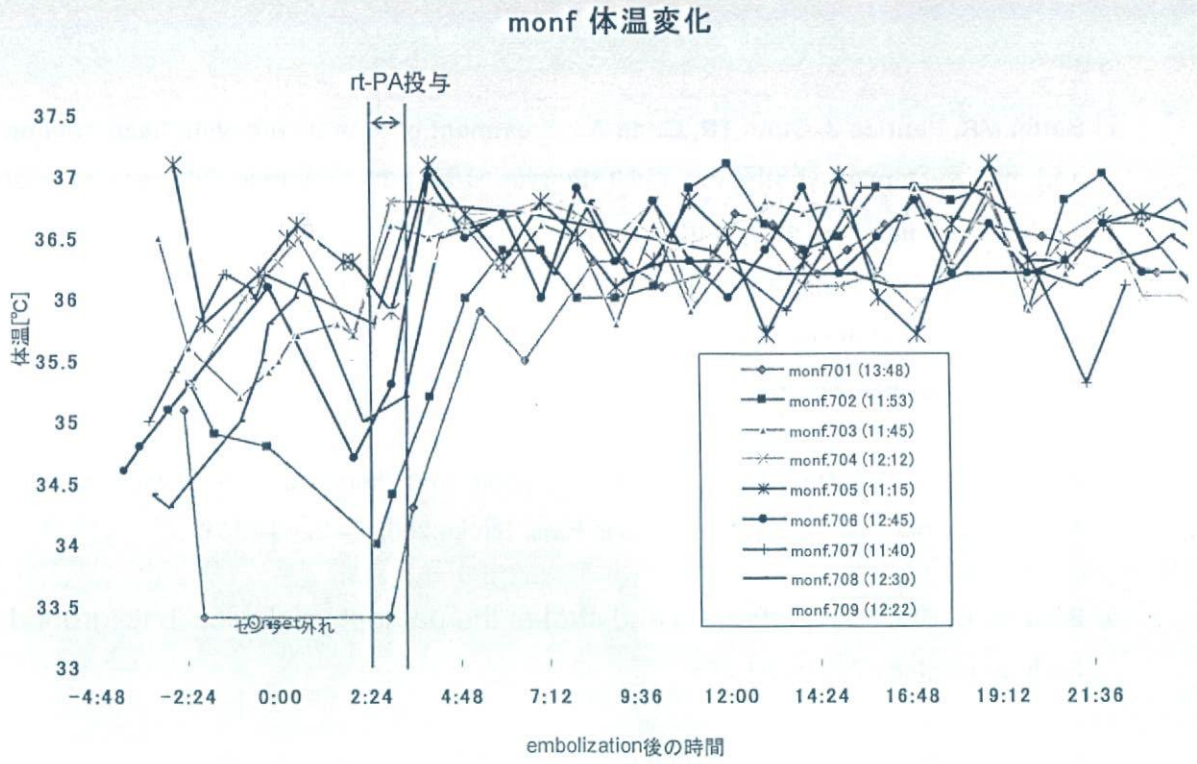
E. 結論

F. 研究発表

1. 論文発表
2. 学会発表

G. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得
2. 実用新案登録
3. その他



文献

- 1) Battin MR, Penrice J, Gunn TR, Gunn AJ. Treatment of term infants with head cooling and mild systemic hypothermia (35.0 degrees C and 34.5 degrees C) after perinatal asphyxia. *Pediatrics* 2003;111(2):245-51
- 2) Ohta H, Terao Y, Shintani Y, Kiyota Y Therapeutic time window of post-ischemic mild hypothermia and the gene expression associated with the neuroprotection in rat focal cerebral ischemia. *Neurosci Res.* 2007;57(3)424-33
- 3) Safan Z, Karsten S, Nikolaus P, et al. Combination Drug Therapy and Mild Hypothermia After Transient Focal Cerebral Ischemia in Rats. *Stroke* 2003;34:2246-2251
- 4) Schaller B, Graf R Hypothermia and stroke: the pathophysiological background. *Pathophysiology* 2003;10:7-355
- 5) Shibano T, Morimoto Y, Kemmotsu O, et al. Effects of mild and moderate hypothermia on apoptosis in neuronal PC12 cells. *Br J Anaesth* 2004;89:301-5
- 6) Fingas M, Clark DL, Colbourne F. The effects of selective brain hypothermia on intracerebral hemorrhage in rats. *Exp Neurol* 2007;208(2):277-84
- 7) Hamann GF, Burggraf D, Martens HK, et al. Mild to moderate hypothermia prevents microvascular basal lamina antigen loss in experimental focal cerebral ischemia. *Stroke* 2004;35(3):764-9

経頭蓋超音波脳血栓溶解療法の研究

分担研究者	峰松 一夫	国立循環器病センター内科脳血管部門
研究協力者	古賀 政利	国立循環器病センター内科脳血管部門
	中島 隆宏	国立循環器病センター内科脳血管部門
	吉村 壮平	国立循環器病センター内科脳血管部門
	向井 智哉	国立循環器病センター内科脳血管部門
	豊田 一則	国立循環器病センター内科脳血管部門

研究要旨：

2005年10月11日、遺伝子組み換え組織型プラスミノゲン・アクティベータ（recombinant tissue-type plasminogen activator, rt-PA）のアルテプラゼの発症3時間以内の脳梗塞への適応拡大が承認された。米国に遅れること約10年である。昨年度までは、適応拡大承認より1年間に国立循環器病センター内科脳血管部門でアルテプラゼ静注療法を実施した40例について、有効性、安全性に関する評価を行った。平成19年度は、その後の1年間に経験した40例を追加し、計80例について詳細な検討を行った。これらは、同期間に急性期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%に相当した。発症から治療開始までは138分（中央値）であった。患者の性別は男61例、年齢は54~94歳（平均値74歳）で、NIHSSスコアは治療開始前13点（中央値）から24時間後の8点、退院時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ヵ月目の転帰良好「modified Rankin scale (mRS) スコア0もしくは1」は35例（47%）であった。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ヵ月後の転帰が不良（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。以上、当センターにおけるアルテプラゼ静注療法の2年間の治療成績は、過去の欧米での臨床試験や市販後登録調査の結果と比較しても良好であった。しかしながら、治療例の半数以上は何らかの後遺障害があり、特に、今回判明した治療に抵抗する要因や、転帰不良の要因をもつ場合にはより治療効果のある新規治療戦略の開発が期待される。世界的には次世代急性期治療への模索が始まっているが、本

研究班の取り組む「低周波経頭蓋超音波脳血栓溶解法 (Transcranial Targeting Low Frequency Ultrasonic Thrombolysis: TCT-LoFUT)」は、最も期待されるアプローチの一つである。

今後、霊長類長類を用いた最終的な TCT-LoFUT の安全性、有効性の確認ができれば、近年中に臨床研究を計画する見込みである。本療法を臨床導入する場合に必要な情報として、TCT-LoFUT が適応できる脳梗塞患者の実態を調べる必要がある。我々が行った経頭蓋カラードプラ (transcranial color coded sonography: TCCS) を用いた脳血管障害患者の臨床研究結果についても報告する。

A. 研究目的

過去 10 年間にわたり、世界の脳卒中急性期治療の現場は大きく様変わりしてきた。米国では、遺伝子組み換え組織型プラスミノゲン・アクティベータ (recombinant tissue-type plasminogen activator, rt-PA) による発症 3 時間以内の血栓溶解療法の優れた転帰改善効果が、NINDS rt-PA Stroke Study (以下、NINDS 試験) によって 1995 年に報告された¹⁾。本療法は、レベル I のエビデンスに位置づけられ、翌 1996 年には米国で、その後 2003 年までにカナダ、EC 諸国でも承認され、現在では世界 40 カ国以上で承認済みとなっている^{2,3)}。

わが国でも、承認申請を目的とした単一用量 (0.6 mg/kg) のアルテプラゼを用いた多施設共同第Ⅲ相治験 Japan Alteplase Clinical Trial (J-ACT) が 2002~2003 年に実施された^{4,5)}。本試験では、約 1 年間で 103 症例にアルテプラゼが投与された。患者背景は NINDS 試験のそれにほぼ一致した。安全性の主要評価項目である「発症 36 時間以内の症候性頭蓋内

出血」は 5.8% (NINDS 実薬群では 6.4%)、有効性の主要評価項目である「発症 3 ヶ月後の転帰良好例 (mRS スコア 0, 1) の頻度」は 37% (NINDS 実薬群では 39%) であった。いずれも、治験開始前に設定した有効性、安全性の基準値を完全にクリアしていた。

2004 年 5 月に本療法の承認申請が行われ、1 年以上にわたる審査の後、2005 年 10 月 11 日に発症 3 時間以内の脳梗塞への適応拡大が承認された。承認直後に、日本脳卒中学会より「適正治療指針」が公表され⁶⁾、10 月~2007 年 3 月までに全国各都道府県で指針講習会がのべ 171 回実施され、受講者総数は 9,334 名と、国内では空前絶後の事態となった。

本研究の目的は、アルテプラゼ静注療法の市販後 2 年間の当施設における治療成績を詳細に検討し、将来に計画されている経頭蓋超音波脳血栓溶解療法に向けて、解決すべき臨床的課題を明らかにすることである。

また、当施設に入院した脳血管障害症例を対象に、前頭骨窓に関する検討、PureWave crystal transducer を用い

た検討を行い、経頭蓋超音波検査（治療）が適応できる脳血管障害患者の実態を調べた。

日本人では、しばしば良好な側頭骨窓が得られない⁷⁾。側頭骨窓は、経頭蓋ドプラ検査や経頭蓋カラードプラ検査（transcranial color-coded sonography: TCCS）などの経頭蓋超音波検査で一般的に用いられるアプローチであるが、テント上主幹動脈の検査には前頭骨窓を用いる場合がある。しかしながら、日本人におけるその臨床上的有用性は不明であった。今回、当施設に入院した脳血管障害患者を対象に経頭蓋カラードプラ検査（transcranial color-coded sonography: TCCS）で前頭骨窓と側頭骨窓との比較を行った。また、近年開発された超音波探触子の技術である PureWave crystal technology によりどの程度頭蓋内主幹動脈の検出率を向上させるかを検討した。

最後に、TCT-LoFUT 装置に搭載される診断装置 EUB8500（日立メディコ、東京）を用いて実際の臨床現場でその有用性を検討する臨床計画を準備中であり、その概要を紹介する。

B. 研究方法

アルテプラー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

ラーゼ静注療法の実施率を分析した。

次いで、アルテプラーゼ静注療法を実施した 80 例のアルテプラー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 ヶ月後の転帰が mRS スコア 0, 1（3 ヶ月後の転帰良好）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。前頭骨窓を用いた TCCS による脳血管障害患者の評価

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 iE33 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。PureWave crystal transducer を用いた TCCS による頭蓋内脳動脈評価

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対象とした。PureWave crystal transducer である S5-1 探触子の搭載された iE33 (Philips 社製、PWCT 法) により、側頭骨窓から M1 の検出率を調べた。その対照として従来のセラミックスを使用した S3 探触子の搭載された Sonos5500 (Philips 社製、従来法) で、異なる脳血管障害患者の側頭骨からの M1 検出率を調べた。PWCT 法と従来法で M1 の検出率を比較した。また、性別や年齢別の検討を加えた。

(倫理面への配慮) 本研究は特定の患者の治療を前提とせず、ある疾病の治療方法等を検討するため、研究者等が所属する医療機関内の当該疾病を有する患者の診療録等診療情報を収集・集計し、各患者の個人情報をも匿名化した上で、分析加工された結果のみを報告する行為である。これは、疫学研究に関する倫理指針(文部科学省、厚生労働省)、臨床研究に関する倫理指針(厚生労働省)の対象外である。

C. 研究結果

アルテプラーゼ静注療法の治療成績

国立循環器病センター内科脳血管部門における、アルテプラーゼ静注療

法を受けた 80 例が入院した 2 年間の発症 7 日以内の急性期虚血性脳血管障害入院は 820 例で、発症 3 時間以内来院症例は 284 人であった。つまり急性期脳血管障害入院の約 10%、発症 3 時間以内入院の 28% に相当した(図 1)。アルテプラーゼ静注療法が行われなかった脳梗塞のうち軽症、軽症化を理由とするものが 53% と最も多く、次いで小脳広汎梗塞や 3 ヶ月以内の脳梗塞既往などの禁忌事項該当例の順であった。

アルテプラーゼ静注療法を実施した全 80 例の発症から病院到着までの時間(中央値)は 58 分(0~160 分)で、病院到着から治療開始までは 71 分(20~160 分)であった。その結果、発症から治療開始までは 138 分(78~180 分)であった。

80 例の患者の年齢は 54~94 (中央値 74) 歳であった。神経学的重症度を表す NIHSS スコアは、治療開始前の 4~28 (中央値 13) 点から 24 時間後の 0~34 (中央値 8) 点、3 週間後の 0~34 点(中央値 3 点)へと改善した(図 2)。mRS スコア 0, 1 の転帰良好例は、3 ヶ月後 35 例(47%)と極めて高率で、3 ヶ月以内の死亡例は 2 例(3%)であった(図 3)。36 時間以内の症候性頭蓋内出血は 4 例(5%)に認められた。

早期神経学的改善では、単変量解析で $p < 0.1$ を示したのは、糖尿病なし($p = 0.055$)、血清尿素窒素低値($p = 0.039$)、血清クレアチニン低値($p = 0.020$)、血清 ALT 高値($p = 0.029$)、脳梗塞病型で心原性($p = 0.023$)、近位

部脳主幹脳動脈閉塞（内頸動脈もしくは中大脳動脈水平部の起始部閉塞）なし（ $p=0.005$ ）であった。年齢、性別と単変量解析で $p<0.1$ の要因を含めて多変量解析すると、糖尿病あり（オッズ比：OR7.45、95%信頼区間：95%CI1.75-39.65、 $p=0.010$ ）、近位部脳主幹動脈閉塞あり（OR5.84、95%CI1.52-26.41、 $p=0.014$ ）が早期神経学的改善のない患者を予測する独立した要因であった（図4）。

3ヵ月後の転帰良好では、単変量解析で $p<0.1$ を示したのは、高血圧なし（ $p=0.002$ ）、拡張期血圧低値（ $p=0.037$ ）、近位部脳主幹脳動脈閉塞なし（ $p=0.004$ ）であった。同様に多変量解析すると、高血圧あり（OR4.39、95%CI1.12-21.61、 $p=0.045$ ）、近位部脳主幹脳動脈閉塞あり（OR7.00、95%CI1.48-52.00、 $p=0.025$ ）、来院時NIHSSスコア高値（1点増加、OR1.13、95%CI1.01-1.29、 $p=0.044$ ）が3ヵ月後の転帰不良（ $mRS\geq 2$ ）を予測する独立した因子であった（図5）。

安全性の基準となる症候性頭蓋内出血は4例のみであり、統計学的に有意な因子は検出出来なかった。

よって、高血圧、糖尿病、近位部脳主幹動脈閉塞がある症例、来院時重症の症例では、アルテプラーゼ静注療法の効果は必ずしも十分でなかった。

前頭骨窓を用いた TCCS による脳血管障害患者の評価

183人をTCCSで評価し、頸動脈エコー検査や頭部MRAで頸動脈や頭蓋内主幹動脈に50%以上狭窄のあった72例

を除外した111人で検討した。年齢は 67 ± 13 歳（平均±標準偏差）で、男性79例であった。疾患の内訳は脳梗塞83人、一過性脳虚血発作12人、脳出血16人であった。

A1、A2、M1、P1、P2の検出率は、前頭骨窓を用いた場合は各々40%、43%、40%、22%、14%であった。男女別では、男性で各々50%、53%、48%、28%、17%で、女性で16%、19%、20%、6%、8%といずれも男性で良好であった（各々 $P<0.0001$ 、 $P<0.0001$ 、 $P=0.0002$ 、 $P=0.0002$ 、 $P=0.133$ ）。年齢別では、60歳以下では54%、46%、56%、29%、21%で、61歳以上では36%、42%、35%、19%、12%であった。A1とM1のみで、60歳以下で有意に検出率が良好であったが、その他では統計学的有意差はなかった。

同一被験者では、側頭骨窓を用いた場合のA1、A2、M1、P1、P2の検出率は各々51%、9%、65%、40%、68%であった。A1、M1、P1、P2の検出率は側頭骨窓で良好であったが（各々 $p<0.05$ 、 $p<0.0001$ 、 $p<0.0001$ 、 $p<0.0001$ ）、A2の検出率は側頭骨窓よりも前頭骨窓で良好であった（ $p<0.0001$ ）。前頭骨窓と側頭骨窓のいずれかから検出できる割合は、各々63%、47%、69%、48%、70%で、側頭骨窓単独よりもA1、A2の検出率が有意に良好で、各々12%と39%は前頭骨窓のみから検出可能であった（図6）。

PureWave crystal transducer を用いた TCCS による頭蓋内脳動脈評価

PWCT法で100人を評価した。年齢は

平均 69±12 歳で、男性 74 人であった。比較対照として、従来法で 120 人を評価した。平均 69±13 歳で、男性 72 人であった。

PWCT 法と従来法による M1 の検出率は各々 71% と 59% と PWCT 法で良好であった ($P < 0.01$) (図 7)。男女別では、男性で各々 67% と 81%、女性で各々 37% と 40% であった。男性では、PWCT 法で有意に良好であったが ($p < 0.01$)、女性では有意差がなかった。年齢別では、60 歳未満で各々 87% と 86%、60 歳以上で各々 51% と 67% であった。60 歳未満では両群とも検出率は良好で、60 歳以上では PCWT 法を用いた場合が従来法よりも有意に検出率が良好であった ($p < 0.001$) (図 8)。

D. EUB8500 (日立メディコ社製) を用いた臨床計画

将来、TCT-LoFUT に統合される予定である超音波診断装置 EUB8500 を用いて、急性期脳梗塞患者を対象に臨床研究を計画している。

脳梗塞急性期には、頭蓋内動脈の閉塞や再開通状況により、病状およびその経過が異なる。頭蓋内脳動脈病変の評価には、血管造影検査や頭部 MRA 検査、CT 血管造影検査が有用であるが、これを短期間に繰り返し行うことは極めて困難である。頭蓋内脳動脈の狭窄や閉塞性病変の検出に有用である TCCS 検査は、非侵襲的にベッドサイドで繰り返し行える他の脳動脈病変評価法にない利点を有している。新たに開発される急性期治療法の効果判定

手段としても期待されている。事実欧米人では、超急性期 t-PA 静注療法時に経頭蓋ドプラ (transcranial Doppler: TCD) で頭蓋内閉塞動脈をモニターした報告がいくつかあり、その有用性が示されている。そこで、比較的超音波骨窓が得られにくい日本人において、TCCS 検査が脳梗塞急性期患者の血管閉塞診断およびその経時的な観察に有用であるかを検討する。

研究の対象は、20 歳以上で、発症 12 時間以内に来院し頭部 MRI、MRA 検査を受けた脳梗塞症例で、中大脳動脈の M1 もしくはその分枝起始部 (M2) 閉塞による発症 12 時間以内の急性期脳梗塞 10 例とする rt-PA 静注療法などの治療の有無は問わない。

方法は、本人もしくは代諾者から文書による承諾を得た上で、まず病前の mRS スコア、血圧、NIHSS スコアを評価する。TCCS の経頭蓋用セクター型探触子を専用の固定具を用いて頭部に固定し、閉塞血管部位を検査する。閉塞状況は閉塞血管の動脈血流波形による Thrombolysis in Brain Ischemia (TIBI) 分類に従う。その後、検査開始から 0 分、30 分、60 分、90 分、120 分の時点で血圧測定、TCCS による脳血流状態と再開通の有無を評価する。もし症例が rt-PA 静注療法を受ける場合には、rt-PA の投与開始時に閉塞血管部位を診断し、同様に 120 分まで脳血流状態を評価する。さらに、神経症候が悪化した場合はその時点で、もしくは発症 24 時間～36 時間の時間帯に血圧、頭部 CT 検査、TCCS 検査、NIHSS

スコアを評価する。臨床上の必要性に応じてMRI/MRA検査を追加する。また、発症より14病日±3日で、血圧、頭部CT検査、(MRI/MRA検査)、TCCS検査、NIHSSスコアを、退院時にmRSスコアを評価する。

本研究により、①日本人で急性期にTCCSを使用した場合、2時間にわたる血管評価(および治療)がどの程度可能か、②TCCSでの所見がMRA所見と一致するか、③TCCSで確認できた血管の早期再開通が症候の改善や転帰良好と関連するか、④治療を目的とした機器や薬剤の効果を評価する方法としてTCCSの有用性と限界は何かなどについて検討が可能であり、⑤探触子固定具の有用性についての基礎データも得ることができる。

E. 考察

アルテプラゼ静注療法の治療成績

適応拡大承認後2年間の当センターにおけるアルテプラゼ治療実施率は、3時間以内受診例の28%、発症7日以内入院の脳梗塞症例の10%で、欧米での平均的実施率(脳梗塞の3~5%)よりかなり高率であった。これは、救急隊とのホットライン体制を承認以前より構築していたこと、治験(J-ACT)参加や局所血栓溶解療法に関する医師主導型臨床試験MELT-Japan参加などにより、超急性期血栓溶解療法に関する十分な経験があったこと、承認時に院内体制の再構築を図ったこと、当センターを中心として適正治療指針(日本脳卒中学会)

が作成されたこと、承認後2度にわたる救急隊員向け講習会を開催したことなどが理由と思われる。

発症から治療開始までの時間は中央値で138分と比較的早かった。しかしながら、病院到着から治療開始までは中央値で71分、最長160分を要した。米国のガイドラインは、病院到着後60分以内の治療開始を目標とすることを勧告しており、最近では45分以内という目標が掲げられている。改善すべき点は少なくないと思われる。

治療成績はかなり良好であった。発症後3ヶ月目での転帰良好例(mRSスコア0~1)が47%に達したことは、NINDSやJ-ACTのデータ(発症後3ヶ月での転帰良好例が37~39%)と比べ、勝るとも劣らないものである。一方で、高血圧や糖尿病のある症例、内頸動脈や中大脳動脈起始部閉塞症例、来院時重症症例に対する本療法の効果は必ずしも満足できるものではなかった。糖尿病や高血圧症を基礎疾患としたアテローム硬化などによる血管閉塞は、本療法に対して抵抗性なのかもしれない。近位部脳主幹動脈閉塞患者では血栓の総体積が大きく、また側副血行が不十分なことが多いこと等が原因と考えられた。0.6 mg/kgという世界標準用量の2/3の用量の妥当性や、何らかの追加治療の必要性を検討すべきかもしれない。

本薬の適応拡大承認にあたって、幾つかの条件が課せられた。そのうちの一つに、「効能追加の承認日から2.5年間(登録期間は2年間、調査期間に

は3ヶ月後の機能予後調査を含む)、3,000例以上の使用成績調査(全例調査)」がある。平成17年10月11日～19年7月10日までの21ヶ月間の国内推定使用例数は約7,000例と報告されている。近日中に3,000例以上の使用成績調査がまとまるであろう。また、本療法による血管再開通率を検討する市販後臨床試験J-ACT IIもまもなく終了する。本薬のわが国の医療現場における意義は、数年以内にかなり明確になるであろう。

わが国ではrt-PA静注療法の臨床応用が始まり2年程が経過したところであるが、世界的には次世代急性期治療への模索が始まっている。経頭蓋超音波照射の併用、マイクロカテーテルを用いたrt-PA局所動注療法、薬剤を用いない機械的血管再開通療法などの試みがこれに該当し、一部では有望な成績も報告され始めている⁸⁾。本研究班が取り組んでいる経頭蓋超音波脳血栓溶解装置は、最も期待されるアプローチの一つである。

前頭骨窓を用いたTCCSによる脳血管障害患者の評価

超音波診断および治療を目的とした照射には良好な骨窓が必要である。今回の検討では、脳血管障害患者での一般的なアプローチである側頭骨窓を用いた頭蓋内脳動脈の検出率は7割に満たなかった。補助的なアプローチとして前頭骨窓による頭蓋内動脈の検出率を検討した。側頭骨窓に比べて全体的に検出率が低かったが、前頭骨窓のみから頭蓋内動脈を検出できる

症例がいることがわかった。特に、前大脳動脈の検出においては前頭骨窓と側頭骨窓を組み合わせることで有意にその検出率が改善し、同領域の脳梗塞では、前頭骨窓が有用なアプローチと考えられた。今後は、前頭骨窓からの狭窄性頭蓋内動脈病変の診断についての検討が必要である。また、同骨窓に合った探触子の固定器具の開発が期待される。

PureWave crystal transducerを用いたTCCSによる頭蓋内脳動脈評価

単結晶を素材とするPWCT法は、セラミックスなどの多結晶化合物を素材とする従来法に比べカラードプラやパルス・連続波ドプラの検出感度を向上させる。今回の検討で、男性、高齢の脳血管障害患者においてPWCT法を用いることで頭蓋内脳動脈の検出率が改善することがわかった。今後は、このような探触子の素材を改良することにより超音波診断および治療の可能性を高めると考えられた。

F. 結論

わが国におけるアルテプラゼ静注療法承認後2年間の時点での国立循環器病センターでの治療実施例80例の治療成績は極めて良好であった。しかし、治療抵抗性を示す症例に対して、有効な新規治療薬(機器)の開発が待たれる。本研究班の取り組む「経頭蓋超音波脳血栓溶解装置」は、最も期待されるアプローチの一つである。本装置を開発していく参考に、脳血管障害患者における経頭蓋超音波装置を用

いた臨床研究を行った。その結果、補助的な前頭骨窓の使用や、超音波探触子の素材改善により脳血管障害患者での経頭蓋超音波による頭蓋内脳動脈検出率が向上することがわかった。

文献

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. Adams H, Adams R, del Zoppo G, et al: Guidelines for the early management of patients with ischemic stroke. 2005 guidelines update. A scientific statement from the Stroke Council of the American Heart Association/American Stroke Association. *Stroke* 2005;36:916-923.
 3. Hacke W, Kaste M, Bogousslavsky J, et al: European Stroke Initiative Recommendations for Stroke Management-update 2003. *Cerebrovasc Dis* 2003; 16:311-337.
 4. 峰松一夫、山口武典、端 和夫、他：発症 3 時間以内の虚血性脳血管障害に対する GMK-527 (アルテプラゼ) 静注療法臨床試験の結果. *脳卒中* 2004; 26:603-606.
 5. Yamaguchi T, Mori E, Minematsu K, et al: Alteplase at 0.6 mg/kg for acute ischemic stroke within 3 hours of onset: Japan Alteplase Clinical Trial. *Stroke* 2006;37:1810-1815
 6. 日本脳卒中学会医療向上・社会保険委員会 rt-PA (アルテプラゼ) 静注療法指針部会: rt-PA (アルテプラゼ) 静注療法適正治療指針 2005 年 10 月. *脳卒中* 2005;27:327-354.
 7. Itoh T, Matsumoto M, Handa N, M, et al. Rate of successful recording of blood flow signals in the middle cerebral artery using transcranial doppler sonography. *Stroke*. 1993;24:1192-1195
 8. 峰松一夫: 臨床医学の展望 2007—診断および治療上の進歩—: 神経病学—血管系を中心に— *日医新報* No. 4322:53-58, 2007
- G. 健康危険情報
問題となる健康危険情報はなかった。
- H. 研究発表
1. 論文発表
 - Yamaguchi T, Mori E, Minematsu K, et al: Alteplase at 0.6 mg/kg for acute ischemic stroke within 3 hours of onset: Japan Alteplase Clinical Trial. *Stroke* 2006;37:1810-1815
 - Minematsu K: Recent advance in acute stroke management. International Congress Series, 1290:25-29, 2006
 - 佐藤祥一郎、高田達郎、豊田一則、峰松一夫: CT ではなく、MRI で硬膜下血腫を診断しアルテプラゼ静注療法を断念した 1 例. *脳卒*

- 中 2006;28:408-410
- ・ 高田達郎、永野恵子、成富博章、峰松一夫：中大脳動脈塞栓症に対する局所線溶療法における経時的 NIHSS および JSS 評価の意義。脳卒中 2006;28:367-372
 - ・ 中島隆宏、豊田一則、…、峰松一夫：発症 3 時間以内の来院患者への救急対応の現状：脳梗塞アルテプラゼ静注療法に備えて。脳卒中 2006;28: 658-660
2. 学会発表
- ・ Minematsu K： Alteplase therapy for acute ischemic stroke in Japan: One-year experience after the marketing. 3rd Japanese-Korean Joint Stroke Conference, Jeju, Korea, Nov. 25-26, 2006
 - ・ Minematsu K： Thrombolytic therapy in acute ischemic stroke in Japan. Tiantan International Stroke Conference 2006, Beijing International Convention Center, Beijing, China, June 16-18, 2006
 - ・ Nakashima T, Toyoda K, Koga M, Matsuoka H, Nagatsuka K, Takada T, Sato S, Kawano H, Yoshimura S, Naritomi H, Minematsu K. Efficacy and Limitations of Intravenous Low-Dose Alteplase Therapy at 0.6 mg/kg for Hyperacute Ischemic Stroke. 33rd International Stroke Conference, New Orleans, Louisiana, U. S. A, Feb 20-22, 2008
 - ・ Yoshimura S, Koga M, Toyoda K, Hyun BH, Nagatsuka K, Naritomi H, Minematsu K. Frontal Bone Window Improves Success Rate of Transcranial Color-Coded Ultrasonography in Visualizing Anterior Cerebral Artery in Japanese Stroke Patients. 33rd International Stroke Conference, New Orleans, Louisiana, U. S. A, Feb 20-22, 2008
 - ・ 吉村壮平、古賀政利、豊田一則、玄富翰、長束一行、成富博章、峰松一夫。前頭骨窓を介した経頭蓋カラードプラ法による頭蓋内動脈観察。第 10 回日本栓子検出と治療学会(エンボラス学会)、東京、2007 年 11 月 17-18 日
 - ・ 古賀政利、豊田一則、中島隆宏、玄富翰、長束一行、成富博章、峰松一夫。t-PA 静注療法時の頸動脈エコーによる治療効果および安全性の予測。第 33 回日本脳卒中学会総会、京都、2008 年 3 月 20-22 日
 - ・ 吉村壮平、古賀政利、豊田一則、向井智哉、玄富翰、長束一行、成富博章、峰松一夫。前頭骨窓を介した経頭蓋カラードプラ検査による前大脳動脈の検出率の向上。第 33 回日本脳卒中学会総会、京都、2008 年 3 月 20-22 日
 - ・ 向井智哉、古賀政利、吉村壮平、豊田一則、梅寄有砂、中島隆宏、玄富翰、長束一行、成富博章、峰松一夫。PureWave crystal