

図 13 T/D 複合プローブにおける超音波診断画像

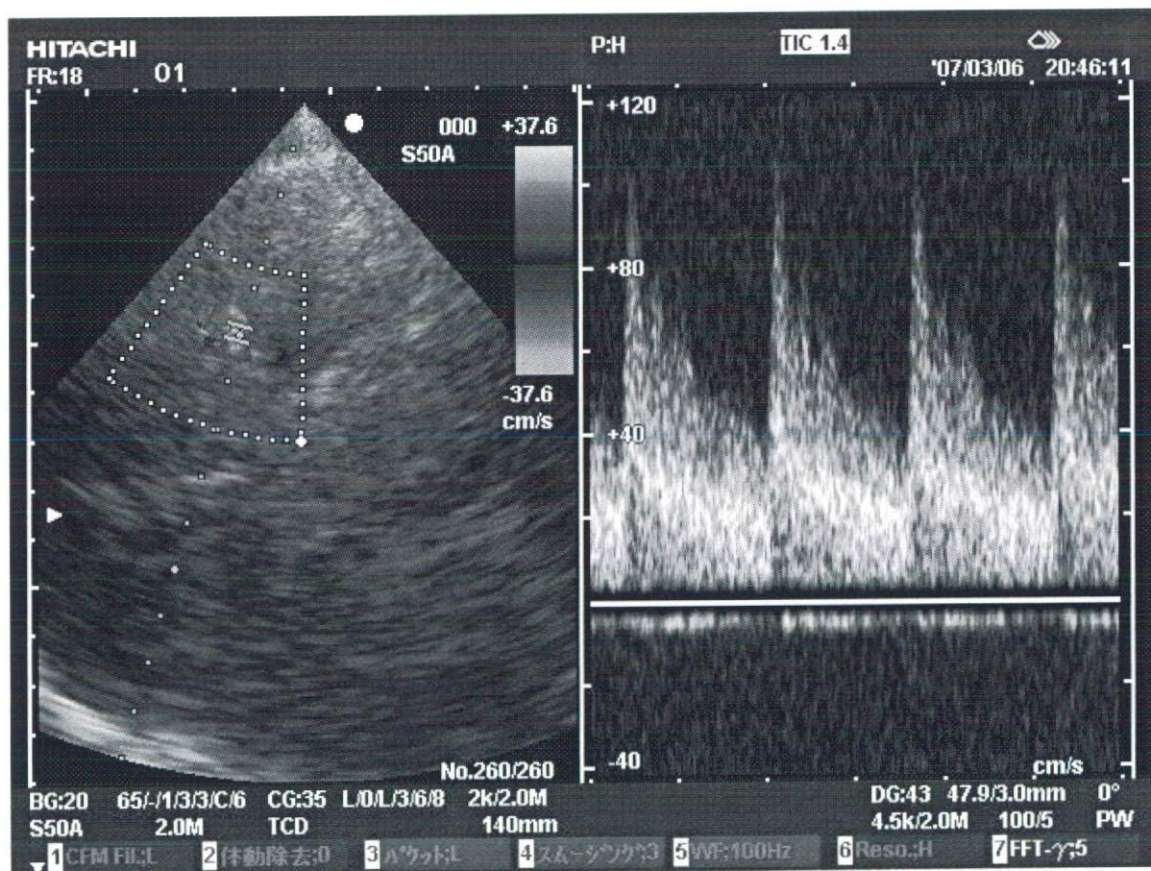


図 14 市販 EUB-S50A プローブにおける超音波診断画像

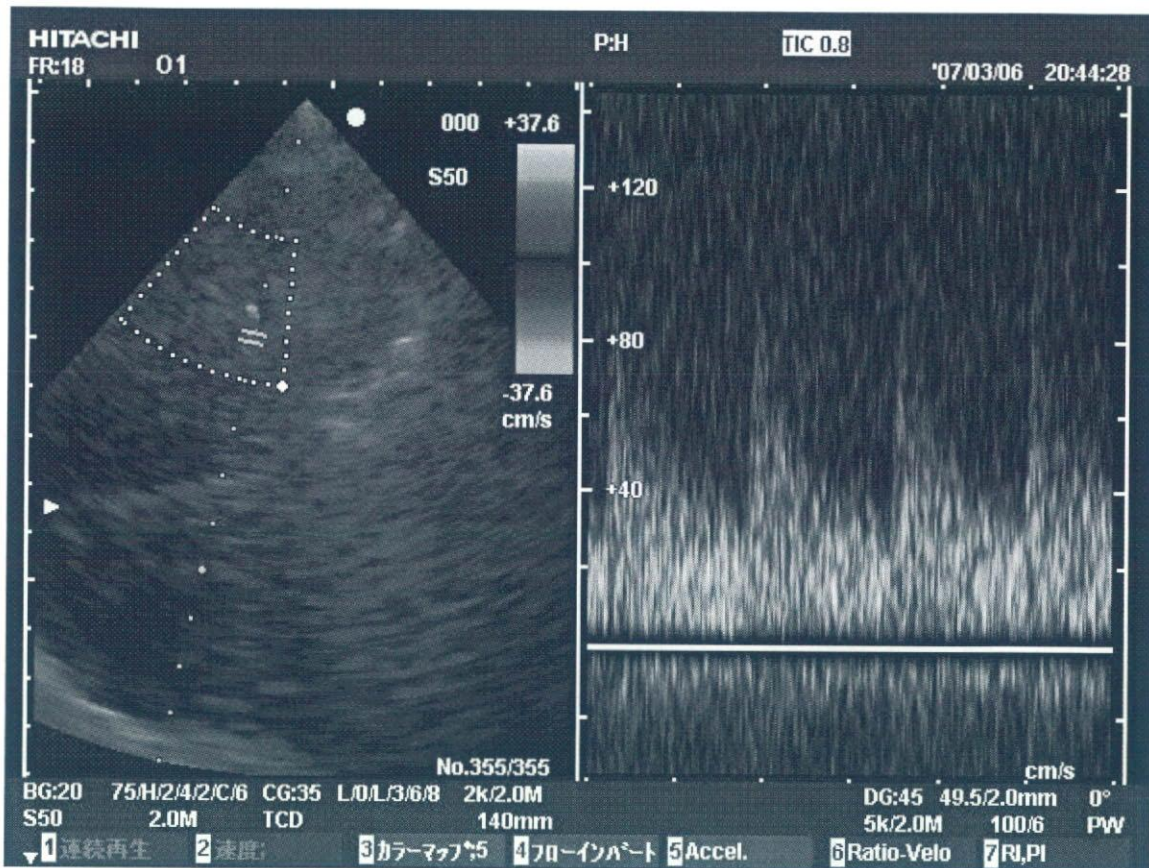


図 15 市販 EUB-S50 プローブにおける超音波診断画像

次に、T用振動子放射効率向上のため、第二次、第三次複合プローブには、第一次複合プローブと同形状で素材の異なる振動子を用いた。図 16 に第一次及び第二次複合プローブそれぞれの T 用振動子のインピーダンスカーブを示す。グラフは縦軸のインピーダンスを対数表示している。振動子の素子材質の変更により、500 kHz でのインピーダンスは 3.4 k Ω から 2.9 k Ω へ低下した。また、T ビームの送受波効率について第一次と第二次の複合プローブでの入力電圧と出力超音波強度との関係の比較を行った結果を図 17 に示す。素子材質の変更に伴うインピーダンスの低下、分離層の薄層化により超音波パワーへの変換効率が上昇し、電圧利用効率が向上した。

このときの入力電力から超音波出力への変換効率は 1.1% から 4.3% と上昇した。また、測定結果が印加電圧の 2 乗に比例するカーブにほぼ一致する結果となり、所期の動作をしていることがわかる。

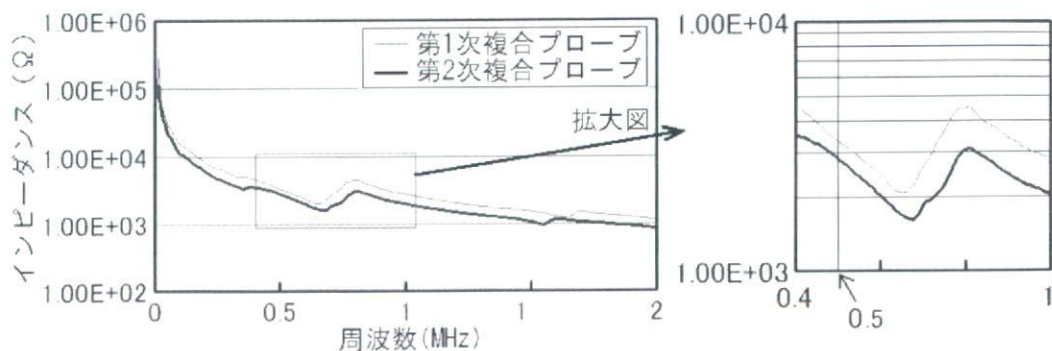


図 16 T 用振動子のインピーダンス特性比較

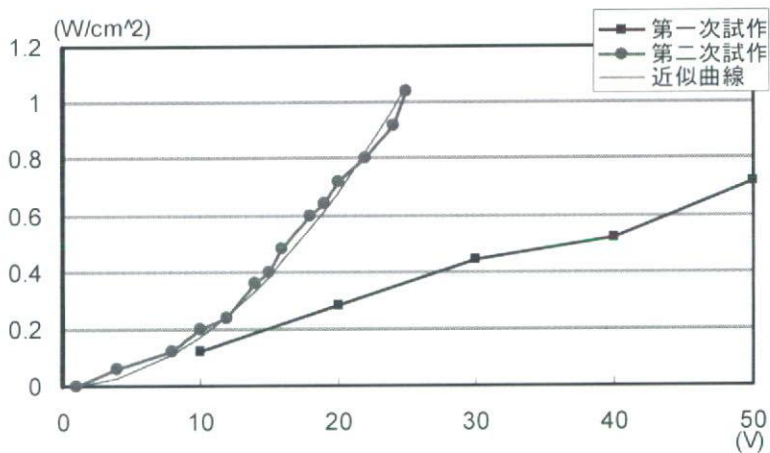


図 17 入力電圧と出力超音波パワーとの関係

次に、治療用超音波強度をと振動子温度を測定した結果を図 18、図 19 に示す。第一次複合プローブでは時間経過と共に定格の出力(0.36 W)から低下している。この際、プローブが発熱し、温度上昇が見込まれていることから、今回はプローブのヘッド部の周囲に内径 1.8 mm のチューブを 4 回巻き付け、ローラーポンプを用い氷水で冷やした水を循環させる水冷機構を用いた。第一次試作プローブにおいてはプローブの放射面の表面で最大 63℃の温度上昇を示した。温度の上昇と共に TAP 測定値が低下していることから、振動子の温度上昇による出力効率の低下の影響を受けて超音波出力の低下を招いていると考えられる。

第二次複合プローブでは超音波出力の低下は見られなかった。第二次試作においては水冷機構を搭載すれば超音波強度 0.36 W にて最大 33℃までの温度に抑えることが可能であった。超音波パワーへの変換効率が上昇し、また、分離層厚みの最適化を図ったことにより、振動子の発熱が 50%程度に抑制されていることがわかる。

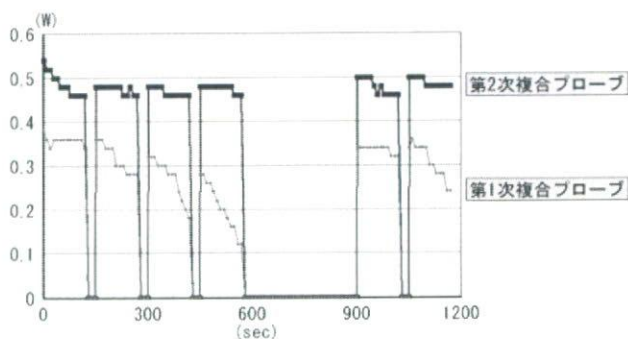


図 18 TAP 測定値の時間的变化

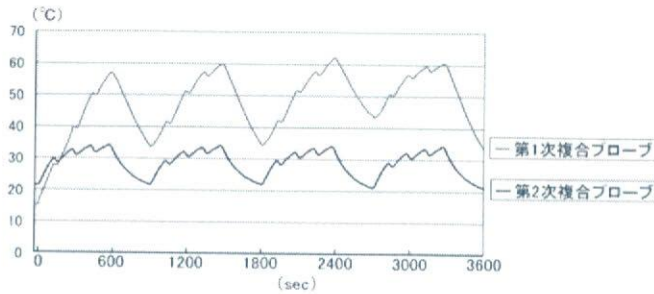


図 19 振動子裏面温度測定値の時間的変化比較

治療用に出力される T ビームのビーム形状を測定するため、第二次複合プローブの T 用ビームの周波数を 500 kHz、焦点距離を 24 mm に設定し、焦点位置でのビームパターンをハイドロホンにて測定した。振動子形状より割り出した理論値、及び、実測値を比較した結果を図 20 に示す。グラフは焦点での音響パワーを実測値・理論値それぞれ 1 で規格化した際の長軸・短軸方向の音場分布を示している。

半値幅は理論値では短軸×長軸は 7.5 mm×4.5 mm に対し、実測値は短軸×長軸は 7.0 mm×4.7 mm となり、理論値と一致した分布を持つ。

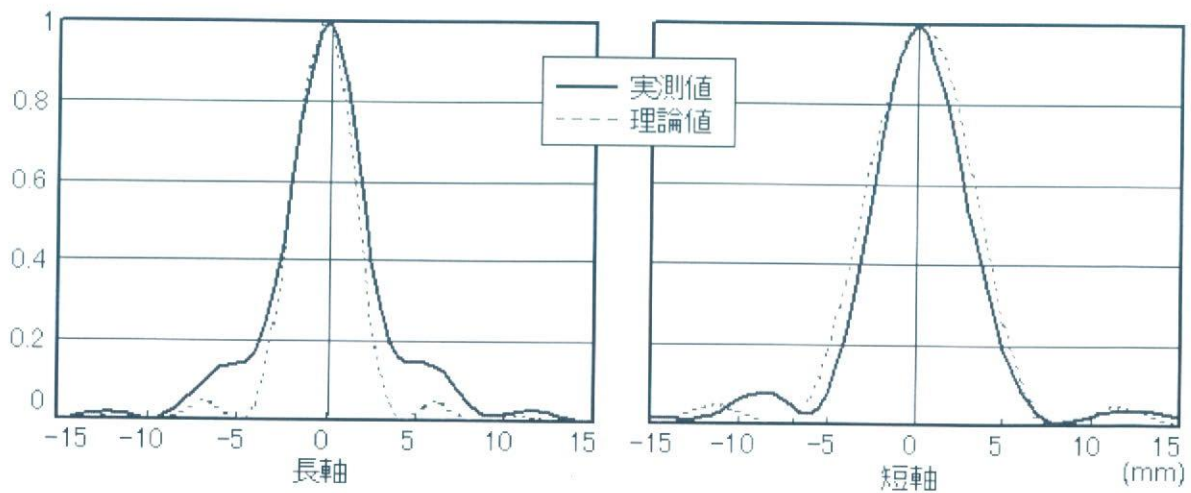


図 20 長軸・短軸方向のビームパターン

図 21 に分離層厚みに対する T ビームの透過エネルギー、及び、D ビームの残響音の大きさをシミュレーションにより求め、それぞれプロットしたグラフを示す。実線は D ビーム残響音の大きさを示し、分離層厚み 0.1 mm 付近で一度残響エネルギーが小さくなり、その後分離層厚みが厚くなるに従い残響エネルギーが高くなる事を示している。一般に残響音が小さくなると照射する D ビームパルスの尾引きが小さくなるため、分解能が上昇する。また、点線が T ビーム透過エネルギーを示し、分離層が薄いほど透過エネルギーが高くなることを示している。

T/D 複合プローブの作成にあたり、D ビーム残響音の大きさが小さく、かつ T ビーム透過エネルギーの大きい分離層の厚みは 0.05 ~ 0.1 mm が最適であることがわかる。試作の複合プローブは両振動子の間に D 用のフレキシブル基板を挿入する必要があることから、作成可能な最適な分離層厚みを決定した。

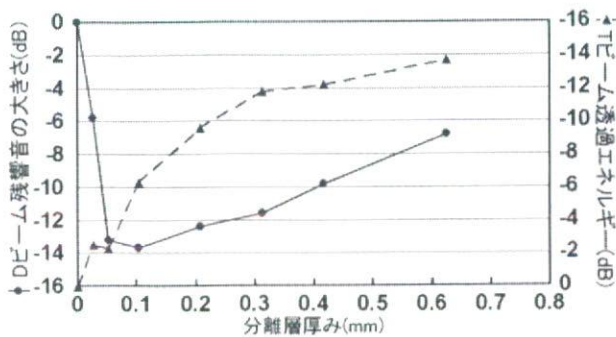


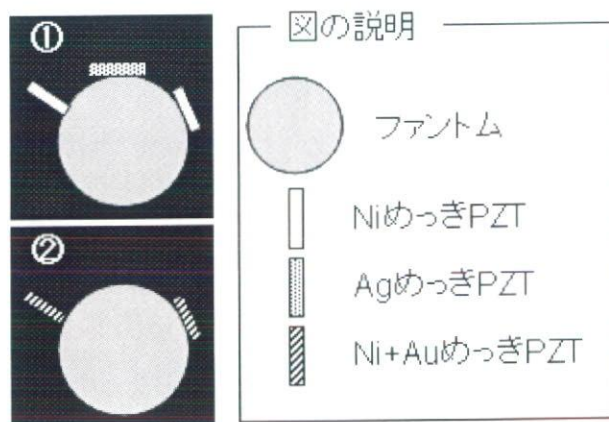
図 21 分離層厚みと、Tビーム透過エネルギー、及び、Dビーム残響音の大きさを示したグラフ

破線：Dビーム残響音の大きさ(dB)、実線：Tビーム透過エネルギー(dB)

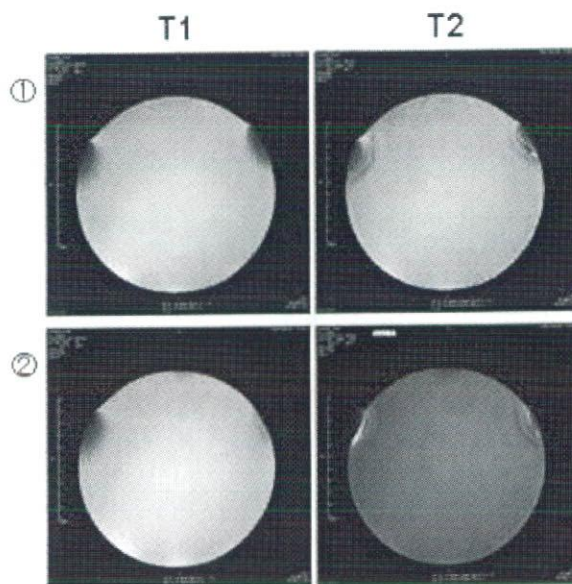
次に、MRI 対応プローブ化に当たっては、構成部品のそれぞれについて MRI 撮影を行った。その結果、MRI 画像に大きく影響を及ぼすのは、T 用振動子、及びバックング材であることがわかった。

さらに、T 用振動子に関して、試作で使用していた Ni メッキ品の他に Ni+Au めっき、Ag めっきの振動子を作製し、MRI 画像による評価を行った。

それぞれ、T1 強調、T2 強調画像にて撮影を行った結果を図 22(a),(b)に示す。図の白い円に見える部分がファントムであり、上段(①)の T1、T2 画像中のファントムの左右に Ni メッキ電極振動子、頂点に Ag メッキ振動子を貼り付けた。また、下段(②)の T1、T2 画像中のファントムの左右に Ni+Au 電極振動子を貼り付けた。Ni めっき品、Ni+Au めっき品ともに MRI 画像に 20~30 mm の範囲で影響を与えているが、Ag めっき品の振動子は MRI 画像に影響を与えないことがわかる。



(a) 振動子設置図



(b) 振動子の種類による MRI 画像の見え方の比較

図 22 T 用振動子電極材質 MRI 比較結果

診断専用プローブに関しては、バックング材の素材を、音響インピーダンスを同じにしたまま非磁性体物質のものに置換することにより、MRI 対応のプローブとなることがわかった。実際に試作した結果、診断専用の超音波プローブに関しては、図5で示した様に MRI 画像の様に大きな欠損を生じていた従来のプローブに対し、図 23 に示す様に MRI 画像に影響を与えない超音波プローブとなった。

T/D 複合プローブについても、バックギング材の変更と共に Ag めっき品の治療用振動子を使用することで非磁性の T/D 複合プローブが作成可能であることがわかった。

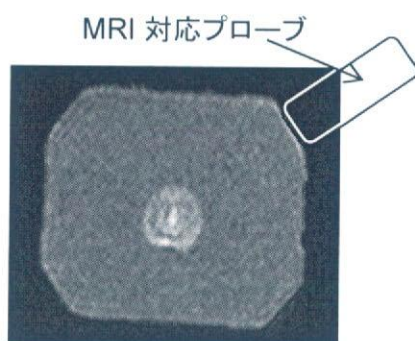


図 23 MRI 対応プローブ付ファントム画像 (MRI 対応プローブと共に撮影; T1 強調画像)

C-2. in vitro 実験によるシステム有効性の確認

i. 再開通実験結果

超音波照射開始からの時間経過と開通率との関係を図 24 に示す。照射 60 分後の溶解率は US+ で 92.3%、US- で 64.1% となった。平均溶解時間は US+ で 21.4 分、US- で 27.2 分となった。時間経過には有意差があり、 $P < 0.0062$ となった。

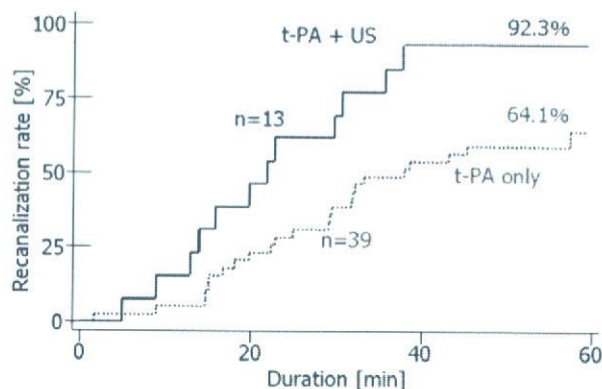


図 24 超音波照射時間—再開通率比較 US+ vs. US-

ii. 減少率実験結果

超音波照射開始からの時間経過と重量との関係を図 25 に示す。照射 60 分後の重量減少率は US+ で 25.4%、US- で 15.1% となった。US+ 群の溶解率は US- 群のものと比較し 1.7 倍高い結果となった。これらの結果は、本システムからの超音波が血栓溶解を加速することを示している。

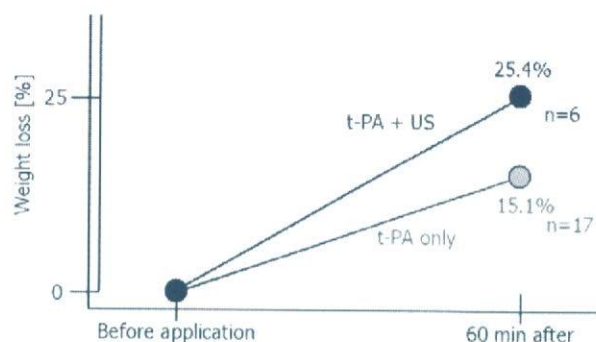
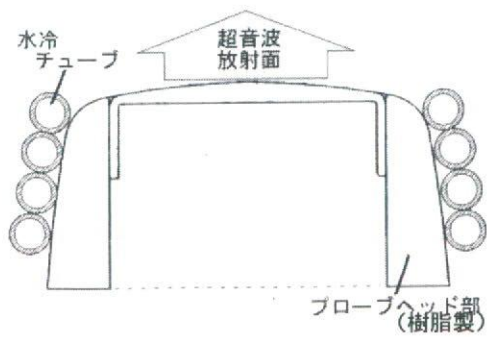


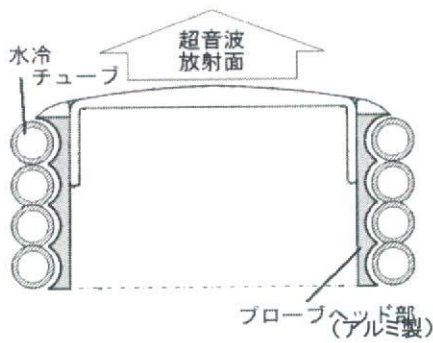
図 25 照射前と 60 分経過後の溶解率比較 US+ vs. US-

C-3. 水冷機構の開発

開発した新規水冷機構及び平成 17 年度以前の水冷機構の概念図を図 26(a)、(b)に、新規水冷機構搭載 T/D 複合プローブの外観を図 27 に示す。水冷ケースの材質をアルミと製とすると共に、ケース外側にチューブの形状に合わせた凹凸を付けたことにより、チューブとケースの接触面積を大きくし、放射効率の増強を狙った。また、水冷チューブを放射面のやや後方に配置することにより、超音波診断時に体表と水冷チューブが干渉してしまう問題点を解決した。



(a) 旧型水冷機構



(b) 新規水冷機構

図 26 水冷型 T/D 複合プローブ概念図

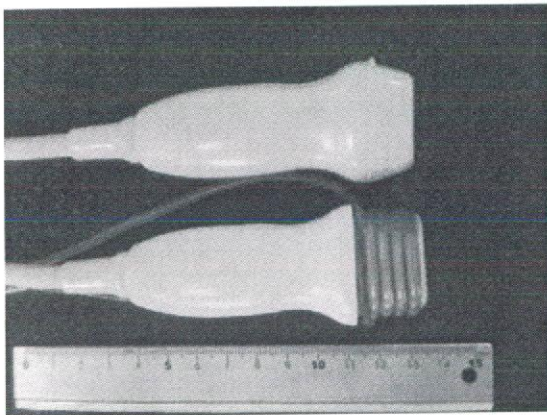


図 27 水冷プローブ外観写真
(上:市販 EUP-S50A プローブ、下:水冷型 T/D 複合プローブ)

次に、水冷機構の水冷能力について検討を行った。図 28 に新規水冷機構を搭載したプローブと、前年度に開発した水冷機構を搭載したプローブにて、T ビームを照射した際の上昇温度を比較したグラフを示す。超音波照射条件は図 1 に示した治療・診断を交互に行うプロトコルの 1 サイクル目と、2 サイクル目の 1 回目の計 17 分 30 秒である。前年度のものは 12.8°C、本年度のものは 12.9°C の温度上となり、両者とも同様な温度上昇が見られた。

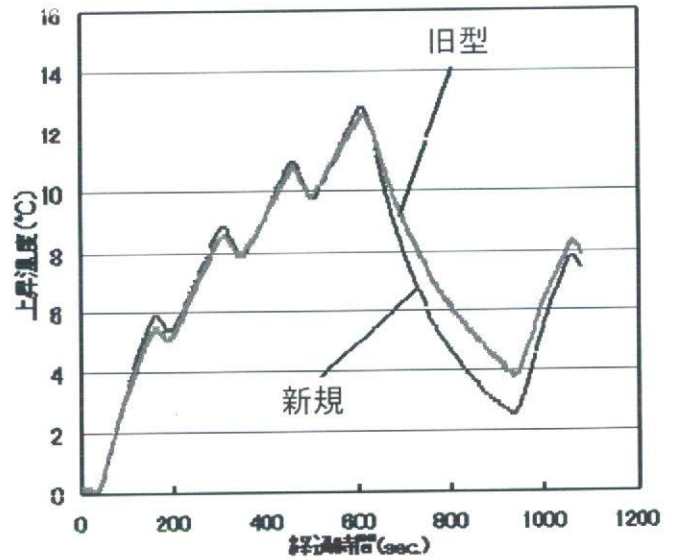


図 28 振動子裏面温度比較結果

新規の冷却機構は、冷却能力は前年度のものと同等のまま、プローブの外径を小さくすることが可能となった。前年度の報告にもある通り、水冷搭載プローブは実用条件にて治療・診断超音波照射した際の温度の最大値は 33℃程度となる。新規に作成した水冷式においても、同様の温度となることが見込まれ、実用可能な冷却機構となった。

ビームの照射角を偏向すると超音波焦点での音響強度がどのように変化するかを調査した結果を図 29 に示す。音響強度は、超音波プローブを水中に入れ、ハイドロホンをプローブ放射面と対向して設置して測定を行った。なお、ビーム偏向時の測定では、プローブ放射面ではなくビームの入射角に対向するようにハイドロホンを設置して測定を行った。

照射角度が増加するに従い、焦点での音響パワーが減少し、偏向角 15～18 度付近でパワーが半分となることがわかった。

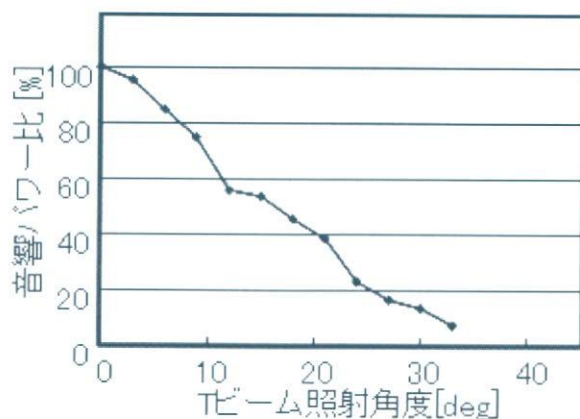


図 29 T ビーム照射角と音響パワーの関係

ビーム偏向角 0 度、焦点の超音波強度 (ISPTA) 0.72 W/cm² の条件における水冷ヘッド使用時の温度上昇は 12.8℃程度である。

現在、臨床で使用する T ビーム音響強度は 0.5 W/cm² が想定されている。この音響強度における発熱は偏向角 0 度においては、8.9℃であると見積もられた。また、ビーム偏向時には、変換効率の低下する分、発熱が増加すると考えられるため、温度上昇は図 30 のグラフのようになる。

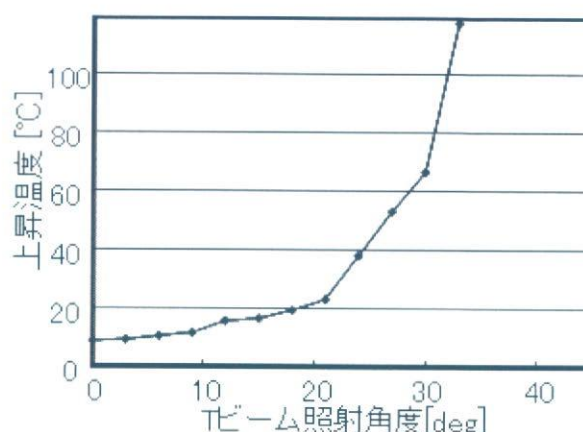


図 30 T ビーム照射角と上昇温度の関係 (0.5 W/cm²)

水冷チューブに冷却水を還流させる場合、プローブの温度は 10℃程度まで冷却されることがわかっている。また、プローブの温度上昇として許容される温度は、一般の診断用超音波プローブでは 42℃となる。つまり、臨床使用時に許容される温度上昇は、32℃となる。以上の結果より、本治療システムにて照射強度を 0.5 W/cm² としてビーム偏向可能な角度は、±24 度となることがわかった。

プローブ固定具の改良

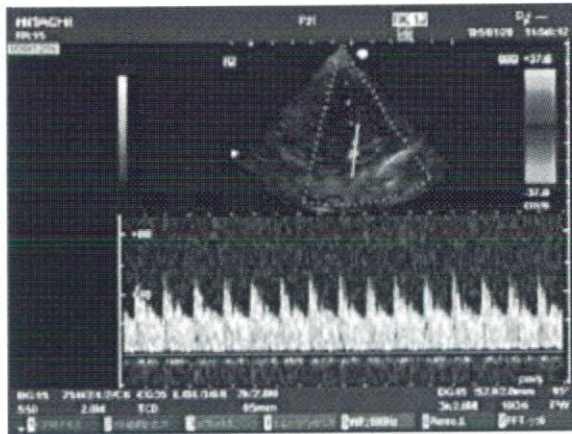
平成 17 年度までに試作した頭部固定具を用い健常被検者を対象に装着・診断画像を取得し、固定具の実用性について検討した。

① 健常成人 3 名を対象に枕型固定具に T/D 複合型積層プローブと同形状となる EUP-S50 プローブを装着して、中大脳動脈を

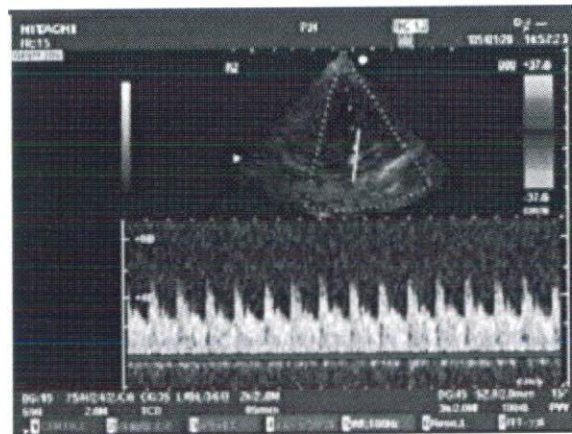
診断装置にて描出しカラードプラ断層像を取得。

② その後5分間の血流監視。

血流測定の結果、3名の被検者とも持続モニタリングが可能であった。測定結果の1例を図31に示す。測定開始時の(a)と69秒後(b)のカラードプラ画像である。何れもドプラ波形が同形状であり、B-mode画像にも変化がなかった。



(a) 測定開始時ドプラ波形



(b) 69秒後ドプラ波形

図31 枕型頭部固定具装着時の超音波診断画像

しかし、本固定具は患者頭部にプローブを確実にセットすることが容易ではなかった。そこで、装着を容易にするべく図32の枕型の頭部固定具を採用し、改良を行った。

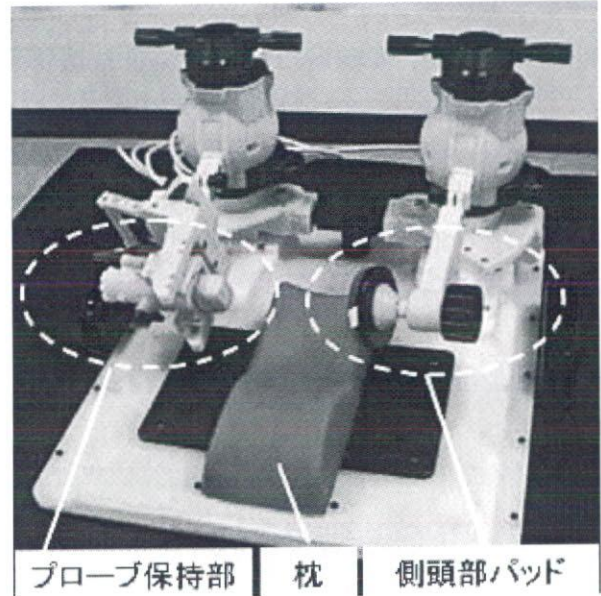


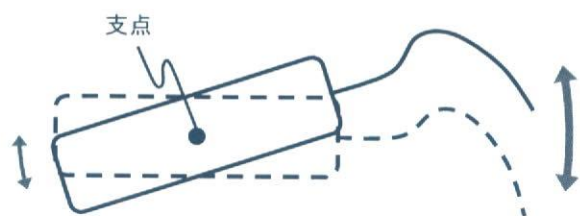
図32 枕型プローブ固定具

プローブ保持部の構造の概略図を図33(a)、(b)に示す。平成17年度までに開発した頭部固定具によるプローブ支持法では、あおり、回転運動するための回転軸の支点がプローブ表面ではなく、表面のやや後ろ側に持つ(図33(a))構造となっている。そのため、プローブ固定具のx、y、z軸調整機構を用いてプローブ表面を音響窓位置に固定した後に、あおり、回転運動による微調整を行うと、プローブ表面と側頭骨の位置関係が変化したり、音響窓から離れてしまったりする例も見られ、その都度、x、y、z軸を調整し直す必要があった。プローブ装着の手技が複雑化し、検査者にとって大きな負担となると共に、装着時間のロスとなっていることがわかった。

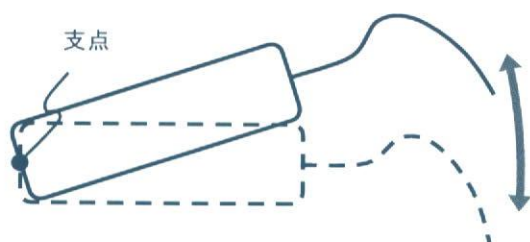
そこで本年度は、図33(b)に示す様に、プローブの回転軸の支点とビーム放射面とを同一の位置とすることにより、装着の簡便性を図った。ビーム放射面を中心とする2種類の扇形のパーツを取り付けることにより、ビーム放射面と、回転・あおり運動の回転軸が同一座標となるようにした。

また、固定具全体の迅速性・剛性の向上による使用感の向上を目指して、x、y、z軸の調整部分にも剛性の向上や、動きの円滑化等の改良を加えると共に、アーム部の上記の3

次元的な動きの固定・解除のスイッチの一体化などの改良を行った。



(a) 支点が放射面の後方



(b) 支点が放射面と同一

図 33 プローブ支持部構造

さらに、新旧固定具を使用して同一被検者 4 名による固定時間を比較した結果を図 34 に示す。装着時間は 4 名平均で 14 分 15 秒から 5 分に短縮され、検査者にとって使いやすい固定具となった。

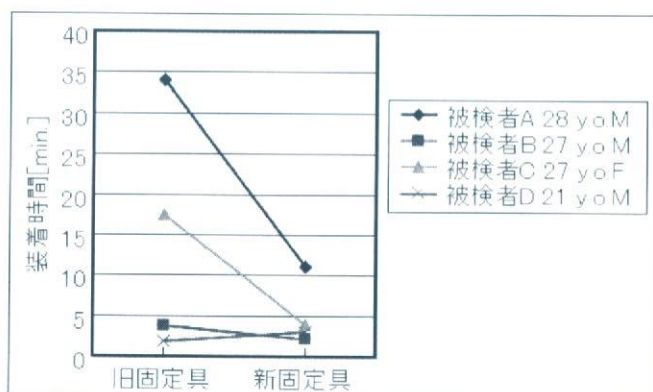


図 34 装着時間比較

PS は、主に、脳外科領域にて脳べらを固定するために開発されたものである。コンプレッサーにて圧縮した空気の圧力を PS 関節部のボールジョイントにかけることにより、関節部のブレーキを解除し、少ない力で 6 軸動作可能にし、空気圧を開放することで関節の固定を可能にしている。PS には、6 軸回転可能な関節が 4 つと、1 軸に回転可能な軸が 2 つ設置された構造となっている(図 35)。固定具の使用イメージを図 11 に示す。

PS を用いた固定具を使用することで、プローブの放射面を被験者の側頭部付近に任意の角度で設定可能であった。使用感等、詳細は別報告に譲る。

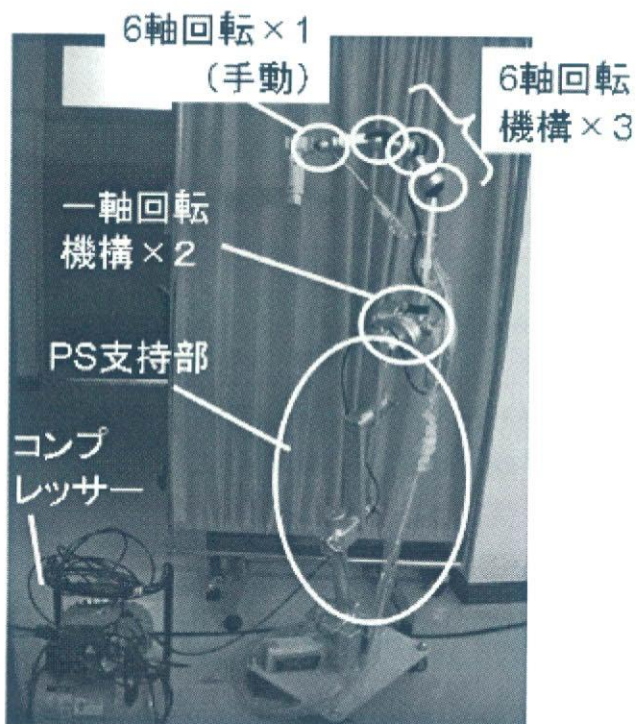


図 35 PS 外観説明図

D. 考察

T/D 複合プローブを EUP-S50A 型とする(第三次複合プローブ)ことにより、T ビーム照射パワーは今までと同等のまま、経頭蓋超音波の感度が向上した。このことにより、今までのプローブでは超音波による血栓位

置の特定が困難であった患者に対しても超音波治療が本プローブのみで実現可能であることが示唆された。

T 用振動子の改良(第二次、三次複合プローブ)により、音響出力変換効率が1.1%から4.3%へ向上した。これに伴い、プローブ温度上昇度が共に水冷機構搭載時で最高 63°Cから最高 33°Cへと緩和された。

しかし、他報告にもあるように、超音波診断のみでの頭蓋内血管の検出率は未だ高いとはいえない。プローブの性能の更なる向上と共に、BVS (Brain Virtual Sonography)システムを併用することで超音波治療の適応拡大を図る必要がある

また、MRI 対応プローブ化においては、診断のみのプローブにおいてはMRI 内部に入れてもMRI 画像に与える影響が極めて少ないプローブが完成した。また、T/D 複合プローブにおいても電極を銀電極に変更することにより、MRI 対応 T/D 複合プローブが作製可能であることが示唆された。

有効性試験の結果より、t-PA を投与し超音波照射開始から 60 分後の再開通率はUS+群では92.3%、US-群では64.1%であり、また、溶解率はUS 照射により15.1%から25.4%へ上昇する結果となった。このことから、低周波(500 kHz)・低出力(ISPTA=0.05 W/cm²)を用いた本開発装置において、血栓溶解剤 t-PA の十分な溶解効果増強を確認した。

冷却機構においては前年度まで完成していたものと比べ、同等の冷却能力を持ちながら、外径を小さくし、操作が容易となる水冷機構を持つプローブが完成した。本体がアルミ製であり、このままではMRI 撮像時に磁性体物質によるノイズが脳実質まで達してしまうためMRI 診断時に問題が発生する可能性がある。このためMRI 対応とならず、今後改良を行う必要がある。

冷却機構を用いたT/D 複合プローブに関して、実用超音波強度(ISPTA=0.5 W/cm²)にて、プローブ温度上昇を見積もった。温度上昇はビーム偏向角が大きくなるにつれて、ビーム変換効率の低下が原因で増大するが、照射強度 0.5 W/cm² では±24 度までビーム偏向を行い、使用可能であることが解った。

頭部固定具に関しては、プローブを保持する部分にボールジョイントアームを用いることとした。これにより、プローブの動作の自由度や固定時の固定度が増加し、より取り扱いやすいプローブ固定具となった。また、患者の頭部を支える枕や、超音波照射側と反対側に設置する側頭部パッドには、前年度作製した枕型固定具作製時のノウハウを継続して持ち続けることで、より安定感のある固定具となった。今回の改良を行ったことで、超音波による頭蓋内診断の比較的容易なボランティアにおいて、プローブの設置時間が半減した。

また、本固定具については、長時間にわたる脳血流モニタリングを行う際に用いることも可能であり、ヘッドバンド型固定具は機動性に優れているため、運動負荷を含めた脳血流の長時間モニタリングを行う際に、枕型固定具は安定性に優れているため、脳血栓溶解治療など、安全性重視の場合に、それぞれ活用可能であると思われる。

E. 結論

T/D 複合プローブの改良として、振動子の形状を変えずに能力向上を図った。この結果、送受波感度が-63 dB から-44 dB へ上昇した。これは製品版セクタプローブとほぼ同等の値である。また、診断画像上でもヒトのTCD 画像を市販プローブと第三次 T/D 複合プローブを比較して市販品と同等の診断能を示した。

T ビーム強度に関して、水冷式によるプローブ冷却機構の搭載により、プローブ温度上昇の観点からは、0.5 W/cm² の超音波強度において±24 度の範囲でビーム偏向が可能であることがわかった。

T/D 複合プローブの部品内に含まれる磁性体物質を特定しMRI 装置中でも使用可能なMRI 対応 T/D 複合プローブが作成可能であるデータを収集した。

本システムでの臨床における出力超音波強度は ISPTA=0.50 W/cm² を想定している。経頭蓋での超音波照射では、頭蓋骨による吸収や散乱により、1/5～1/6 に減衰することがわかっており、血管に照射される超音波強度は 0.10 W/cm² 程度となる。今回の実験

では、照射超音波強度は 0.05 W/cm² であった。このことから、安全性に余裕のある強度でも本システムにより、安全で効果の高い脳梗塞治療が行えることが示唆された。今後、高齢で脆弱化した in vivo 血管モデルでの安全性を確認し、臨床応用に向かう。

また、経頭蓋的に治療用超音波照射を可能にする正確で安全な頭部固定具が完成した。これにより、簡便で固定度の高いプローブのセッティングが容易となり、術者や患者に負担の少ない超音波治療が可能となる。

参考文献

- 1) Behrens S, Daffertshofer M, Spiegel D, Hennerici M.: Low-frequency, low-intensity ultrasound accelerates thrombolysis through the skull: *Ultrasound Med Biol.* 1999 Feb; 25(2): 269-273.
- 2) Spengos K, Behrens S, Daffertshofer M, Dempfle CE, Hennerici M.: Acceleration of thrombolysis with ultrasound through the cranium in a flow model: *Ultrasound Med Biol.* 2000 Jun; 26(5): 889-95.
- 3) Andrei V. Alexandrov: Ultrasound-enhanced thrombolysis for stroke: clinical significance: *European Journal of Ultrasound* 16 (2002) 131-140.
- 4) Ishibashi T, Akiyama M, Onoue H, Abe T, and Furuhashi H: Can transcranial ultrasonication increase recanalization flow with tissue plasminogen activator: *Stroke.* 2002 May; 33(5): 1399-404.
- 5) M. Kimura, S. Iijima, K. Kobayashi and H. Furuhashi: *Biol Pharm Bull.* 17(1) (1994) 126-130.
- 6) A. V. Alexandrov, C. A. Molina, J. C. Grotta, Z. Garami, S. R. Ford, J. Alvarez-Sabin, J. Montaner, M. Saqqur, A. M. Demchuk, L. A. Moye, M. D. Hill and A. W. Wojner: *The N Eng J Med.* 351 (2004) 2170-2178.
- 7) B. Devcic-Kuhar, S. Pfaffenberger, L. Gherardini, M. Groschl, E. Benes, J. Wojta and M. Gottsauner-Wolf: *Acoustical Society of Japan.* 1 (2004) 255-258.
- 8) M. Daffertshofer, A. Gass, P. Ringleb, M. Sitzer, U. Sliwka, T. Els, O. Sedlaczek, W. J. Koroshetz and M. G. Hennerici: *Stroke.* 36 (2005) 1441-1446.
- 9) Ishibashi T, Akiyama M, Onoue H, Abe T,

Furuhashi H: Can transcranial ultrasonication increase recanalization flow with tissue plasminogen activator: *Stroke*

G. 研究発表

1. 論文発表

Ogihara et al., "Verification of Ultrasonic Thrombolysis Effect by in Vitro Experiments" *Japan Journal of Applied Physics, Special Issue: Ultrasonic Electronics* 2006

2. 学会発表

- 1) 荻原他;「経頭蓋超音波脳血栓溶解装置の開発2-頭部用プローブ固定具」第78回日本超音波医学会発表;超音波医学 32(Sup.) p.S269 (2005)
- 2) 荻原他;「in vitro 実験による血栓溶解効果の確認」;第26回超音波エレクトロニクスの基礎と応用に関するシンポジウム

H. 知的財産権の出願・登録状況(予定も含む)

1. 特許取得

特開 2006-305047「超音波治療装置及び超音波診断装置」発明者 荻原 他4名

2. 実用新案登録

登録申請及び予定はなかった。

3. その他

特記事項はなかった。

厚生労働省科学研究補助金(身体機能解析・補助・代替機器開発研究事業)
分担研究報告書

統合化システム全体系の音響生物学的な技術評価

分担研究者 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研究室教授

研究協力者:

飯田 秀博 国立循環器病センター研究所 放射線医学部部長	ニエンジニアリング研究室 日向 真子 東京慈恵会医科大学医用エン ジニアリング研究室
渡部浩司 国立循環器病センター研究所放 射線医学部室長	荒井 あゆみ 東京慈恵会医科大学医用エン ジニアリング研究室
林 拓也 国立循環器病センター研究所放 射線医学部室長	小島 依子 東京慈恵会医科大学医用エン ジニアリング研究室
寺本 昇 国立循環器病センター研究所放 射線医学部	窪田 純 (株)日立メディコ 応用機器開発 室主管技師
榛沢 和彦 新潟大学医学部第二外科助教	荻原 誠 (株)日立メディコ 応用機器開発 室 企画員
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	
三村 秀毅 東京慈恵会医科大学医用エン ジニアリング研究室	
銭谷 平 東京慈恵会医科大学医用エンジ	

研究要旨 開発してきた経頭蓋超音波脳血栓溶解装置(Transcranial targeting low-frequency ultrasonic thrombolysis system(TCT-LoFUT))の音響学的安全性については既に小動物で十分な検討を積み上げてきた。19年度はその集積を元に、最終年度課題として、霊長類を用いた急性脳虚血モデルで装置自体による安全性評価を行い、前臨床試験をしめくくることとした。カニクイザル10頭の中大脳動脈の自家血血栓塞栓モデルを作成し、半数をrt-PA 静注療法に充て、残り半数をrt-PA 静注療法に加え開発した TCT-LoFUT を適用した。虚血時間平均2.5時間を設定し、虚血前、直後、及び治療開始前にUS、Angio、PET、MRI 検査を科学的要求に合致するように行い、塞栓後24時間にも、MRI 及びUS 検査を行った。なお、US は治療後も15分間隔で2時間、3時間間隔で24時間まで経頭蓋的にカラードプラ及びドプラモードで中大脳動脈を中心に関し・評価した。24時間後、灌流固定後脳摘出を施行しHE 染色にて頭蓋内出血状態を神経病理学的に評価した。rt-PA 単独静注療法では5例中3例が、また TCT-LoFUT 併用法では5例中2例が再開通した。また梗塞領域は両群間にバラツキが大きいものの統計学的有意差はなかった。出血状態はT2*強調評価及び肉眼病理所見、さらに顕微鏡的病理所見を総合すると、前例において小出血が僅かに梗塞領域内に認められた。いずれも臨床上症候性出血に相当する出血状態とは考えられないものであった。この出血状態に関し、rt-PA 単独静注療法群とTCT-LoFUT 併用群との間に際を認めなかった。

すなわち、TCT-LoFUT の最大音響出力条件においても、従来のrt-PA 静注療法以上に出血状態を増悪させないことを確認した。ただし、実験中の脳温が、塞栓直前及びMRI 検査中に低下したことによる脳保護的効果、またその直後正常温に急速に戻したことによる脳負荷効果などに関する追検討を行い、実験系としての評価を要するものと考えられる。しかしながら全例で小出血にとどまり、他の病理学的悪影響が認められないこと等を総合し、開発したTCT-LoFUT は、音響学的にも医学生物学的にも、適切な条件下では充分安全であることが示された。以上から低侵襲性、照射ビームの標的性、治療状態の実時間監視能力、そしてその安全性等々の特徴を持つTCT-LoFUT の臨床応用への道が開かれた。

A. 研究目的

急性脳梗塞患者(AIS)に対する低周波数超音波(LFUS)を用い、ドイツで経頭蓋US併用脳血栓溶解療法の臨床試験(TRUMBI Trial Phase-2)が実施された。しかし、その副作用として頭蓋内出血増加が観察され、経頭蓋低周波超音波が脳内出血の誘因となる可能性が示唆された。さらに音響学的条件設定の不備、及び急性脳梗塞患者の背景因子としての脳動脈硬化亢進状態に対する安全性検討不足にあることが、当施設の基礎実験及び脳卒中易発症高血圧自然発生ラットを用いた実験で検証された。我々はこの不具合事象の原因を神経超音

波学的に解明し、安全で有効な超音波条件を小動物等を用いて明らかにするため、この条件を満足するように設計した新たな経頭蓋超音波脳血栓溶解法(TCT-LoFUT)を開発しつつある。その安全性については健常状態の霊長類(カニクイザル)で既に確認済みである。

今回、現在開発中のこのTCT-LoFUT法の前臨床研究として、ヒトに近似した脳形態・血管構築を有する霊長類(カニクイザル)による急性脳梗塞モデルを用い、TCT-LoFUT適用後の脳内出血率評価を行うことを目的とした。

B. 研究方法

1) 対象

カニクイザル(雄、体重 6kg 前後、年齢 9 才前後):t-PA+TCT-LoFUT 群: 5 例

Control(t-PA 単独)群: 5 例

2) 方法

全体の実験プロセスを図 1 に示した。

(1) 麻酔方法

カニクイザルを塩酸ケタミン 20mg/kg+キシラジン 2mg/kg の混液により前麻酔後、咽喉に 8%キシロカインスプレーを噴霧し、刺激に対する反射を消失させ、4~5Fr のカフ付き気管チューブを気管に挿管し、気道を確保した。次いで、25cm エクステンションチューブを取り付けた 22G 留置針外筒を右前肢副臍側皮静脈、左側後肢伏在静脈および、腹側正中尾動脈に留置した。また、左大腿動脈に 5Fr シースを挿入・留置し、脳血管造影ならびに塞栓物(自家血血栓)注入カテーテル挿入用に使用した。血管確保後、動物は Siemens-CTI PET 装置のベッド上に固定し、人工呼吸器(Drager, Inc, Lubeck, Germany)により、酸素 25:窒素 75%の割合で、Stroke volume 15~

20mL/kg/Stroke, Stroke 数 8~15/min の呼吸維持をした。持続麻酔はプロポフォル(4mg/kg/hr)+臭化ベクロニウム(0.05mg/kg/hr)により行った。

麻酔中は直腸温、観血的血圧、心電図、心拍数、呼気二酸化炭素濃度、及び動脈血ガスをモニターした。

(2) 血栓作製

フィブリン溶液、トロンビン溶液の作製にベリプラスト P コンビセットを用い、φ 0.7mm の延長チューブ(トップ エクステンションチュー

ブ)内で作製し、長さ 30mm の注入用血栓を作製した。

(3) 血管造影

予め大腿動脈に挿入・留置しておいたシース(5Fr)を介して 4Fr の血管造影カテーテル(外カテ)を内頸動脈まで誘導した後、造影剤(第一製薬:オムニパーク 300)を用いて塞栓物注入側の脳血管走行像を確認した。次いで、カテーテル先端部 1.2Fr のマイクロカテーテル(内カテ)を外カテ内に通して、中大脳動脈(MCA)遠位部(頭頂枝)に誘導。誘導完了後、血栓注入前および直後に血管造影撮影を行った。

(4) PET および MRI 撮像

PET 撮像は、血栓注入前、注入直後の 2 回実施した。PET 撮像は、迅速脳血流-脳酸素代謝連続測定法(DARG 法)を用いた(Kudomi et al. JCBFM.2005)。PET 撮像に先進医工学センターSiemens-CTI PET 装置を用いた。MRI 撮像は、T1 強調、T2、T2* 強調画像を脳梗塞作製後の t-PA および t-PA+TUS 前と脳梗塞作製後 24 時間後に行った。撮像には、先進医工学センターMRI 装置(磁場強度 3T)を用いた。

(5) 超音波照射

血栓注入後 2 時間半(前後 30 分)経過後より、t-PA(アルテプラゼ)0.6mg/kg, 10% bolus, 90% 静注 60 分点滴を行った。その点滴開始と同時に、TC-CFI にて同定された血栓塞栓部位に対し、経頭蓋超音波装置(TCT-LoFUT)を用いて、超音波照射を標準照射方式((2 分 US+30 秒休止)×4 +5 分休止)×4(合計 60 分)で施行した。超音波条件は連続波、500kHz, 0.5W/cm² とした。

(6) 検体摘出方法

動物は、モデル作製 24 時間後 (MRI 撮像後) 深麻酔下に放血致死させ、下行大動脈を遮断後に灌流用留置針を左心室に留置した。リン酸緩衝液 (pH7.4) 約 3.0L により脳の残存血液を灌流洗浄した後、引き続き 10% 中性緩衝ホルマリン液 約 3.0L により灌流固定を行った。その後、全脳を摘出し、20% 中性緩衝ホルマリン液に浸漬させた。

(7) 神経病理組織学的評価方法

HE 染色による出血性変化、ミクログリアの状態および梗塞面積を病理組織学的に評価した。

C. 結果

C-1 Vital data

各個体 (monf701~710) の直腸温、収縮期・拡張期血圧、SpO₂、PaO₂、PaCO₂ の麻酔後から塞栓 24 時間後までの変化を図 2~7 に示した。

体温低下は麻酔直後および RI 撮像中に認められた (図 2)。体温低下の著しい時間帯においては、加温ジェルで体表を覆うなどして対応したが、個体毎に体温低下の程度に差が見られ、34°C 台まで低下する個体も見られた。

血圧の変化は個体 monf707 において onset12 時間後より著明に低下が見られた。Sp O₂、PaO₂、PaCO₂ に関しては、個体間の明らかな差異は認めなかった (図 3、4)。

C-2 経時的頭部画像

図 8 は各個体の塞栓前、塞栓後、塞栓後 24 時間後の TC-CFI、T1WI、T2WI、T2*WI、MR angiogram、Angiogram、PET 画像、およ

び病理ミクロ、マクロ写真である。TC-CFI は、US 治療中は 15 分間隔で、その後は 3 時間間隔で記録した。

C-2 M1 再開通の有無と病理組織学的出血所見

MRA による塞栓 24 時間後の M1 再開通評価では rt-PA 単独群で再開通有り 3 例、無し 1 例、血流を認めず 1 例、超音波併用群で再開通有り 2 例、無し 2 例、血流を認めず 2 例であった (表 1)。血流を認めない例については、塞栓後 24 時間後において、血圧が保てず、全脳虚血になっているものと考えられた。

C-3 梗塞体積比率の比較

T2WI より算出した両側半球における梗塞部体積比率の比較では、rt-PA 単独群と超音波併用群の間に差異を認めなかった (図 9)。

C-2 前額断における MRI 画像及び病理肉眼的所見

前額断における T2WI における梗塞部位と、前額断における病理肉眼的所見での出血部位が一致しており、その他の部位における明らかな出血は認めなかった。(図 10、11)

C-4 病理組織学的評価

出血が見られた例では血管周囲に限局された出血 (図 12) と、虚血領域脳実質に多発する小出血 (図 13) が認められた。これらは梗塞領域に限局しており、rt-PA 単独群と、超音波併用群の両群で同様に認められた。

mass effect を伴うような出血例は両群とも存在せず、梗塞部位内の微小出血のみを認めた。病理肉眼所見では両群に差異を認めなかったが(図 14)、病理光顕標本での観察では有意差は認めないものの、超音波併用群でその増高を認めた(図 15)。

D. 考察

超音波併用群では微小出血の増高傾向は認めしたが、有意ではなかった。また、出血率は、rt-PA 単独群、超音波併用群ともに臨床の CT 検査で想定される場合よりも高い値を示した。これは出血の有無を検出力の高い T2*WI や病理組織などで検索したためと考えられた。また、今回の実験では mass effect を伴うような出血例は両群とも認めず、梗塞部位内の微小出血のみを認めた。

サルに特注バルーンを用いて 2 時間、中大脳動脈を閉塞させ、その 3 時間後の MRI によってその梗塞を確認した報告がある (Huanmin Gao, Journal of Stroke and Cerebrovascular Diseases, Vol 15, No5, pp202-208, 2006)。その特注バルーンによる MCA 塞栓中の尾状核の血流モニタリングでは、尾状核血流が 40~60%まで減少し、モデル完成後、バルーン縮小 3 時間後の T2WI 像で梗塞巣が確認でき、MRA で再開通していることが確認されたと報告されている。今回、我々は血流の評価に M1 部の TC-CFI を施行し、MCA 閉塞領域の評価に angio、MRA、TC-CFI を、梗塞領域の評価に 24 時間後 MRI を施行して、その評価を行った。

今回使用した rt-PA アルテプラゼ グル

トパ注の日本における市販後 24 ヶ月における副作用報告では全副作用報告 1278 例中、頭蓋内出血を認めたものが 958 例で、これは全体の 75%になる。またそのうち症候性出血が 276 例と頭蓋内出血を認めた症例の 29%を占める。臨床において既に使用されている rt-PA の副作用として報告された 4 分の 3 で出血を認めている。

今回の実験において病理学的検索で全症例に微小出血が認められたのは、rt-PA の作用の結果であると考えられた。

E. 結論

霊長類急性脳梗塞モデルにおける rt-PA に併用した連続波 500kHz、0.5W/cm²、intermittent 照射 60 分による経頭蓋超音波脳血栓溶解法は明らかな出血の誘因と考えられなかった。また、出血例では梗塞巣内微小出血に留まり症候性出血に相当する出血塊は認めなかった。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

論文発表

なし

学会発表

なし

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

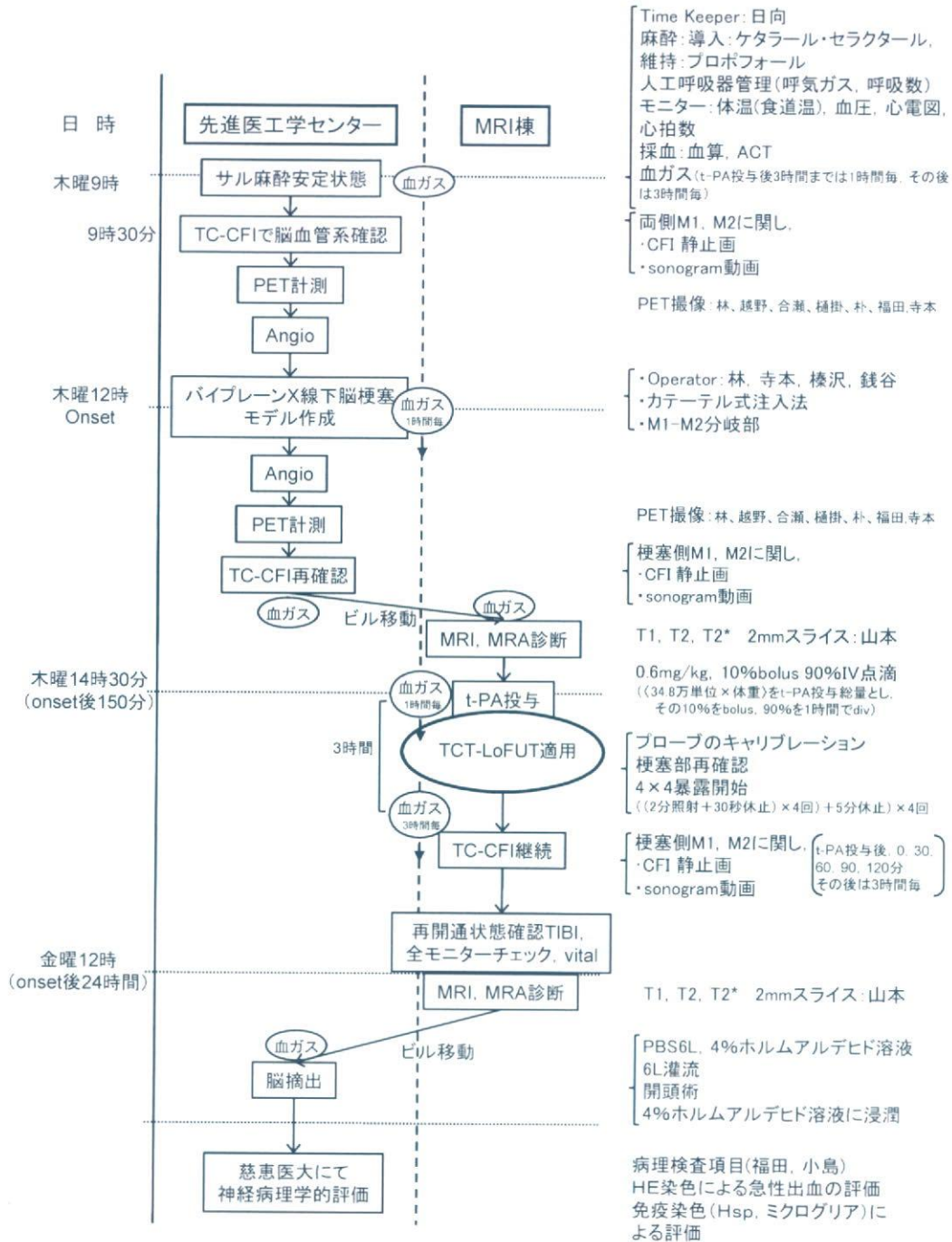


図1 急性脳梗塞モデル実験プロセス

表1 rt-PA単独群とUS併用群のM1再開通の有無と病理組織学的出血所見

個体NO.	治療法	MRA M1 再開通評価 塞栓24時間後	病理肉眼的出血	病理光顕的出血
705	rt-PA 単独	再開通有	点状出血	血管周囲の小出血
706	rt-PA 単独	再開通無	点状出血	血管周囲の小出血
707	rt-PA 単独	血流認めず	出血無	出血認めず
708	rt-PA 単独	再開通有	点状出血	血管周囲の小出血
710	rt-PA 単独	再開通有	出血無	出血認めず
701	US併用	再開通無	点状出血	血管周囲の小出血
702	US併用	再開通有	点状出血	血管周囲の小出血
703	US併用	再開通無	出血無	血管周囲の小出血
704	US併用	再開通有	出血無	血管周囲の小出血
709	US併用	血流認めず	点状出血	血管周囲の小出血

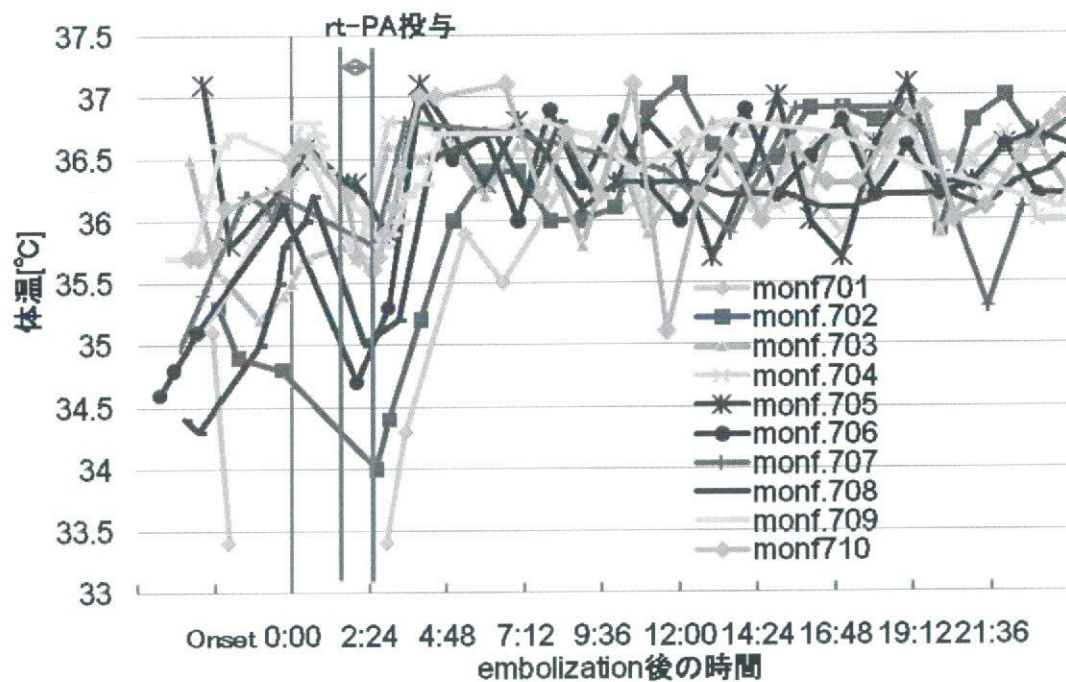


図2 モデル作製時から24時間の直腸温変化