

結果であった。

なお、被験群および対照群の梗塞の大きさの比較を行った結果、有意な差は認められなかった。

以上のことから、本モデル作製法は今回の実験手法において塞栓部のバラツキおよび梗塞の程度に差は認められたものの全例に梗塞が認められ、病態モデルに対する経頭蓋超音波脳血栓溶解療法(TCT-LoFUT)の出血の誘発に対する安全性試験の目的は、達成できたものと考えられる。

A. 目的

経頭蓋超音波脳血栓溶解療法は、中大脳動脈主幹部閉塞による急性期脳梗塞を対象として、tPA等の血栓溶解剤との併用により、その溶解性が高まるということで治療法として期待されている。しかしながら、海外において同様の経頭蓋US併用脳血栓溶解療法の臨床試験で、頭蓋内出血の増加が観察され、本溶解療法においてもその危険性が危惧される。古幡ら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について小動物等を用いて検討を行い安全性の高い新たな経頭蓋超音波脳血栓溶解法(TCT-LoFUT)の開発を進めてきた。これまで本治療法の安全性については健常の霊長類(カニクイザル)を用いての検証を終了している。

そこで今回、本治療法の急性期脳梗塞病態における出血の可能性に対する安全性を確認する目的で、カニクイザルを用いて本治療法の適応領域である右側中大脳動脈主幹部(r-M1)の自家血塞栓脳梗塞モデルの作製とその塞栓物として使用する自家血塞栓の作製について検討・実施した。

B. 研究方法

1) 塞栓物の作製

塞栓物は、臨床病態を反映させるために自家血凝血塊を用いた。自家血凝血塊は血管内に注入した際、自己溶出による再開通を防ぐ目的で、溶出性の低い、強固な凝血塊の作成・検討を行った。

実際には、カニクイザルをケタミン20mg/kgおよびキシラジン2mg/kgの混液筋肉内注射による前麻酔下に正中尾動脈より動脈血を3mL採取し、血液そのもの、フィブ

リン液加血液、トロンビン液加血液およびフィブリン液加血液+トロンビン液加血液の混液の4条件の血液を調整・準備し、それぞれ所定のチューブ内に封入した。

なお、フィブリンおよびトロンビン液の濃度は、それぞれ40mg/mL、100IU/mLにとし、血液4に対し1の割合でそれぞれ2mLのシリンジにて混液調整した。また、フィブリン液加血液+トロンビン液加血液の混液は、フィブリン液加血液シリンジとトロンビン液加血液シリンジを専用固定器にセットして同スピードでチューブ内に注入し、封入した。各調整血液を封入したチューブは、37°Cの温度保温装置内で静置させた。そして、静置して3時間後に各凝血塊の程度を直径、均一性、壊れ易さおよび血液溶出について検討を行った。

2) 脳梗塞モデルの作製

モデルの作製には、8~11才齢の雄性カニクイザル10頭(体重 6.7 ± 0.5 kg)を用い、被験群(tPA+TCT-LoFUT併用)5例、対照群(tPA単独)5例の2群構成で行った。

モデル作製のための処置として、カニクイザルをケタミン20mg/kg+キシラジン2mg/kgの混液の筋肉内投与による前麻酔後、咽喉に8%キシロカインスプレーを噴霧し、気管挿管の際の刺激に対する反射を消失させた後、5Frのカフ付き気管チューブを挿管し、気道を確保した。次いで、予め三方活栓と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腓側皮静脈、左側後肢伏在静脈および、腹側正中尾動脈に留置した。確保した静脈および動脈は、それぞれプロポフォル(4mg/kg/hr)+臭化ベクロニウム(0.05mg/kg/hr)による持続麻酔用、PET撮像

の際のRI標識化合物投与用および、血圧・心拍数モニターと血ガス測定のための採血用に使用した。また、左大腿動脈に5Frシースを挿入・留置し、血中放射能濃度モニターのための動脈血持続採血用および、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、PET装置(ECAT ACCEL)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で呼吸維持・管理を行った。血圧・心拍数の測定は、大腿動脈または腹側正中尾動脈に留置されたカテーテルの他端に圧トランスデューサー(日本光電社製:ライフキッドDX360)に接続し、血圧測定用アンプ(日本光電社製:AP-601G)および心拍数カウンター(日本光電社製:AT-601G)を用いて行った。また、体温確認、管理の目的で直腸温の測定を体温ヘッドアンプ(日本光電社製:AW-601 H)に体温プローブ接続して行った。

脳梗塞モデルの作製は、脳血管撮影装置撮像下に4Frの脳血管撮影用カテーテルを左大腿動脈に留置した5Frシースより導入、右内頸動脈(r-ICA)遠位部にカテーテル先端を誘導・留置した。次いで、予め24時間前に作成した直径約1mm、長さ3~5cmの長軸凝血塊に整形しカテーテルに充填した後、適量の造影剤にて遠位部内頸動脈を介してr-M1に注入した。注入は、血管造影においてr-M1の閉塞が確認されるまで適宜注入した。

塞栓状態の確認は、血液凝血塊の注入前、注入直後の2回のPET(ポジトロン断層撮影)撮像によって行った。

PET撮像は、ECAT ACCELを用い、迅速脳血流-脳酸素代謝連続測定法(DARG法)によって行った。(Kudomi et al. JCBFM.2005)。具体的には、放射能吸収補正用の15分間のトランスミッションスキャン、脳血液量(CBV)画像を得るための $C^{15}O$ 吸入後の4分間エミッション撮像、および $^{15}O_2$ および $^{15}O-H_2O$ 投与による脳血流(CBF)、脳酸素代謝($CMRO_2$)、脳酸素摂取率(OEF)画像を得るための6分間のPETエミッション撮像

の3つの画像収集を行った。PETエミッション撮像中は動脈入力時間放射能曲線(TAC)を得るため、予め左大腿動脈に留置しておいた5Fr径のシースを介して、PET撮像中の動脈血液を持続的に吸引し放射能検出器により放射エネルギーを測定した。また、全血と血漿の放射線量をWell カウンターで測定した。

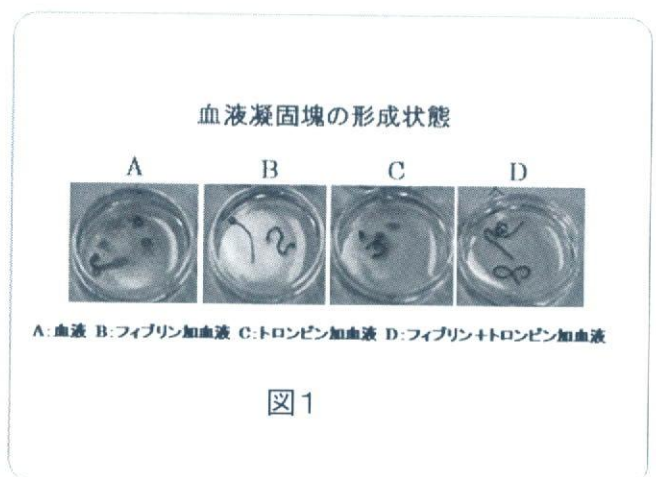
また、各個体の梗塞の程度は3T-MRI装置を用い、塞栓後24時間目のT2強調画像を指標に評価した。

(倫理面への配慮)

動物実験に関しては実験に供する動物の数を最小限にとどめると共に、外科的手術や生体材料採取などに際して実験動物に苦痛を与えないなど、国立循環器病センター動物実験指針を遵守し研究を行った。

C. 研究結果

1)塞栓物の作製自家血を用いた塞栓物の検討を血液そのもの、フィブリン加血液、トロンビン液加血液およびフィブリン液加血液とトロンビン液加血液の混液の4条件における各血液凝血塊の状態を比較した。その結果、血液単独では凝血塊形成は可能であるが溶出性が高く脆い状態であった。また、フィブリン加およびトロンビン加においても溶出、細く不均一、脆く柔らかい等の傾向が認められた。一方、フィブリン+トロンビン加血液では凝血塊の状態は、チューブ径に依存した太さであり、均一性も高く強固であった(図1)。よって、梗塞モデル作製には+トロンビン加血液による凝血塊を用いることとした。



凝血塊の形状としては、M1部の閉塞を確実に行うことを考えて、直径約1mm、長さ30～50mmに設定した。

2) 急性脳梗塞モデルの作製

モデル作製を対照群(tPA単独)5例、被験群(tPA+TCT-LoFUT併用)5例の計10頭に対し行った。モデル作製前における各群のMRA画像から算出したMCA-proximalの血管径(mean±S.D)は、それぞれ $1.1 \pm 0.23\text{mm}$ 、 $1.1 \pm 0.17\text{mm}$ であった。また、モデル作製時、血管造影でMCA領域が消失するまでの血液凝血塊の注入本数は、対照群では5例中3例で2本、5例中1例で各1本および5例中1例で5本を必要とした。被験群では、5例中2例で1本、5例中2例で3本および5例中1例で4本を必要とした。

MRA画像から得られた血液凝血塊注入後の塞栓部位は、被験群ではr-M1 proximal～M1部 3例、r-ICA terminal～M1部 1例、r-M2,l-M1,ACA部 1例であった。また、対照群ではr-M1 proximal～M1 3例、r-ICA terminal～M1部2例であった。(図2)。

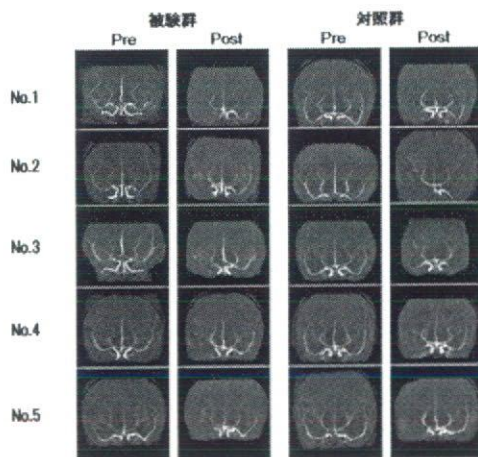


図2:モデル作製後のMRA画像

これら閉塞による虚血の程度をDARG法による閉塞直後のPET画像より確認を行った結果、程度の差はあるものの閉塞部の右側MCA領域で虚血の程度を反映するといわれているCBFおよび CMRO_2 の明らかな低下が確認された(図3)。

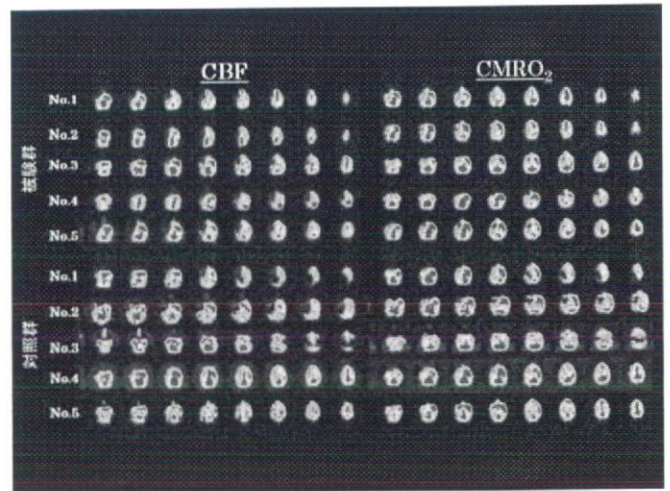


図3:モデル作製直後のPET画像

梗塞発現は、24時間後のT2強調MRI撮像において全例観察され、そのMRI画像で得られた梗塞層のサイズは、塞栓直後のPET定量画像で得られた体積と全例ほぼ同程度の結果であった。

また、被験群および対照群における梗塞の大きさの比較においても有意な差は認められなかった。(図4)

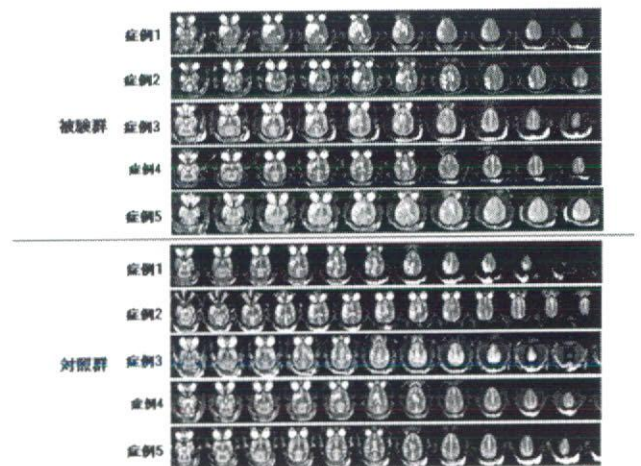


図4:モデル作製24時間後のMRI-T2強調画像

モデル作製前および作製直後の心拍数、血圧(収縮期、拡張期)、直腸温変化は、心拍数で作製直後に増加が認められたが、他の血圧および直腸温においては大きな変化は認められなかった(図5)。

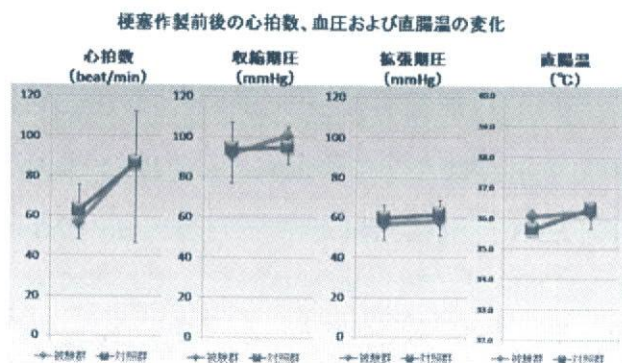


図5:モデル作製前後の心拍数、血圧、直腸温の変化

また、被験群と対照群との比較においても有意な差は認められなかった。さらに、tPA+TCT-LoFUT併用およびtPA単独処置前後の実験経過中における動物の心拍数、収縮期血圧、拡張期血圧、直腸温について、群を要因とする反復測定分散分析を行ったところ時間経過に対する群の作用(反復測定と群の交互作用)は心拍数のみ統計学的有意差を認めた(心拍数 $F_{21,126}=1.7$, $p=0.03$)が、その他の項目は有意差を認めなかった(拡張期血圧 $F_{21,126}=0.2$, $p=1.0$ 、拡張期血圧 $F_{21,126}=0.36$, $p=1.0$ 、直腸温： $F_{21,126}=0.81$, $p=0.7$)。よって、実験中の生理学的状態に大きな群間差はないと考えられた(図6)。

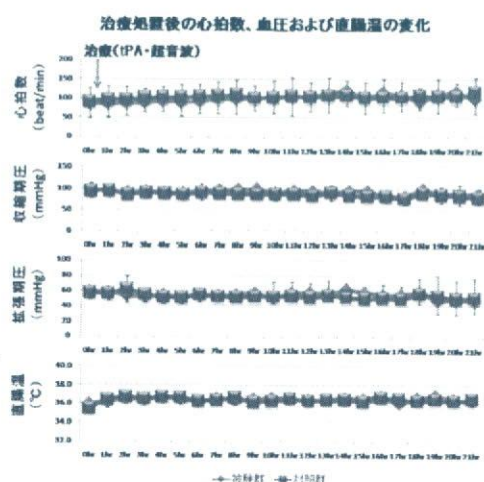


図6:治療前後の心拍数、血圧、直腸温の変化

D. 考察

脳梗塞モデル作製の際、血管塞栓法としてプラスチックやシリコン粒子を用いた方法が知られているが、塞栓物の材質状、血栓溶解療法などの試験には適さない方法である。血栓溶解療法の検討においては、臨床に近似した塞栓の種類を選択、検討する必要があると考えられ、自家血凝血塊を用いた塞栓法は一つの有用な方法と思われる。しかしながら、自家血そのものを用いた凝血塊は塞栓した際、血管内で溶解し、治療前に再開通することが考えられる。

今回、我々は自家血凝血塊の自己溶解による再開通を防ぐ目的で、溶解性の低い凝血塊の作製について検討を行い、フィブリン+トロンビン加血液が検討した条件の中で最も再開通性の低い凝血塊と考えられ、今回のモデル作製の塞栓物として使用した。凝血塊の形状は、直径約1mm、長さ30~50mmの長軸形を用いた。直径の設定は、MRA画像から今回使用したカニクイザルのMCA水平部の血管径を測定したところ 1.1 ± 0.2 mmであり、M1領域を完全閉塞する径としては妥当なものであると考えられた。

モデル作製時の結果として、治療前の再開通はほとんど認められなかったことから血栓溶解療法などの基礎研究に有用と考えられる。

急性脳梗塞モデルの作製方法としては、従来の脳主幹動脈閉塞性動物モデルの作製法は血管圧迫法、血管内塞栓子法の2法に大別される。前者は開頭手術または眼窩摘出術など侵襲的な方法により目的となる主幹動脈をクリップ、結紮などにより閉塞させるもので、中大脳動脈水平部を閉塞する手法が代表的である。中大脳動脈閉塞モデルは中・大型動物の代表的な虚血モデルとして従来から知られるが、多くは障害部位が脳基底核に限られ、臨床で脳機能障害の原因部位として最も問題になる脳皮質の障害を来すことが少ない。実際、これらモデル動物の行動評価で永続的な麻痺の発現が極めて少ないことも知られている。

一方、血管塞栓法として、プラスチック、シリコン、凝血塊などを血管内に閉塞するモデ

ルも知られるが、目標とする脳主幹動脈に的確に注入し確認するための手法や虚血を評価する手法に欠けていたため、脳虚血部位の分布、病態にバラつきがあり定量的な実験が困難であった。

今回、我々は高解像度脳血管撮影装置を用いた経内科的手法とPETによる病態の画像診断を用いてM1領域を選択的に閉塞することを目的にモデル作製を試みた。結果として、全例でr-M1領域を主とする閉塞を認めた。また、それ以外にICAおよびACAを含む閉塞も少数例に認められ、閉塞部のバラツキが認められた。今回の試験では、治療法の適応がM1～M2領域の閉塞による急性期脳梗塞を対象にしたものであることからモデル作製もM1～M2領域の閉塞を条件とした。閉塞部のバラツキの原因として、今回用いた凝血塊塞栓の形状が直径約1mmと太く、その塞栓を通すには4Frの比較的太いカテーテルを必要とした。結果的にカテーテル先端をMCAまで誘導出来ず、ICA遠位部から塞栓の注入を行ったことから選択性に欠けていた一つの原因と考えられる。

血管閉塞による虚血状態の確認を、閉塞直後のPET画像より確認した結果、程度の差はあるものの全例で閉塞部のr-MCA領域で虚血の程度を反映するといわれているCBFおよびCMRO₂の明らかな低下が観察された。また、24時間後のT2強調MRI撮像においても全例にr-M1領域を主とする梗塞が観察され、MRI画像で得られた梗塞層のサイズは、塞栓直後のPET定量画像で得られた体積と全例ほぼ同程度の結果であった。

これらの結果から、梗塞病態の作製においては試験の適応動物モデルとしての条件を満たしていると考えられた。

なお、被験群および対照群の梗塞の大きさの比較を行った結果、有意な差は認められなかった。

本モデル作製法は今回の実験手法において塞栓部のバラツキおよび梗塞の程度に差は認められたものの全例に梗塞が認められ、病態モデルに対する経頭蓋超音波脳血栓溶解療法(TCT-LoFUT)の出血の誘発に

対する安全性試験の目的は、達成できたものと考えられる。

E. 結論

今回、自然再開通を防ぐ自己溶解性の低い自家凝血塊の作製と高解像度脳血管撮影装置による経内科的手法およびPETによる画像診断を用いて低侵襲的に、目的とする脳主幹動脈を選択的に閉塞する急性脳主幹動脈塞栓モデルの作製法を行った。結果、塞栓部のバラツキおよび梗塞の程度に差は認められたものの全例に梗塞が認められ、病態モデルに対する経頭蓋超音波脳血栓溶解療法(TCT-LoFUT)の出血の誘発に対する安全性試験の目的は、達成できたものと考えられる。

本法により侵襲性の少ない手法によって、定量的な評価を行うことが可能となり、急性脳虚血に対する新規治療法の開発に大きく貢献するモデルになりうると思う。

F. 健康危険情報(総括研究報告書に記載)

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Kudomi N, Watabe H, Hayashi T, Iida H. Separation of input function for rapid measurement of quantitative CMRO₂ and CBF in a single PET scan with a dual tracer administration method. *Phys Med Biol* 52(7):1893-1908, 2007
2. Shimamura M, Sato N, Sata M, Kurinami H, Takeuchi D, Wakayama K, Hayashi T, Iida H, Morishita R. Delayed Postischemic Treatment With Fluvastatin Improved Cognitive Impairment After Stroke in Rats. *Stroke* 38(12):3251-3258, 2007
3. 佐藤 博司, 稲垣 正司, 林 拓也, 飯田 秀博. 目でみるページ・検査-diffusion MRI-. *CARDIAC PRACTICE*:201-204, 2007
4. 小野寺 博和, 渡部 浩司, 湊 小太郎, 飯田 秀博. 白血球除去カラムの流れ解析プログラム. *MEDICAL IMAGING TECHNOLOGY* 25(4): 277-283, 2007
5. 渡部 浩司, 寺本 昇, 合瀬 恭幸, 銭谷 勉. 小動物イメージング最近の動向. *臨床放射線* 52 (9):1108-1113, 2007

6. 飯田 秀博, 渡部 浩司, 赤松 哲哉, 中澤 真弓, 松原 圭亮, 竹内 朝子, 岩田 倫明, 林 拓也, 横田 千晶, 福島 和人, 福本 真司. SPECTを使った脳機能画像の定量化と標準化. *脳神経外科ジャーナル* 16 (10):742-752, 2007
 7. 林 拓也. ヒトの大脳皮質基底核連絡線維. *Clinical Neuroscience* 25 (1):28-33, 2007
 8. Iida Hi, Eberl S, Kim KM, Tamura Y, Ono Y, Nakazawa M, Sohlberg A, Zeniya T, Hayashi T, Watabe H. Absolute quantitation of myocardial blood flow with 201Tl and dynamic SPECT in canine: optimisation and validation of kinetic modelling. *Eur J Nucl Med Mol Imaging.*, 2008
 9. Saito N, Kudo K, Sasaki T, Uesugi M, Koshino K, Miyamoto M, Suzuki So. Realization of reliable cerebral-blood-flow maps from low-dose CT perfusion images by statistical noise reduction using nonlinear diffusion filtering. *Radiological Physics and Technology* 1 (1):62-74, 2008
 10. 越野 一博. PET検査における体動補正手法 Motion Correction Techniques for PET Studies. *Medical Imaging Technology* 26(1):3-8, 2008
 11. 銭谷 勉, 渡部 浩司, 飯田 秀博. SPECTイメージング. *遺伝子医学MOOK9号「分子イメージング技術」*:75-81, 2008
 12. 飯田 秀博. New Image Processing Technologies for Clinical and Pre-clinical Molecular Imaging. *Med Imag Tech* 26(1), inpress 2008
 13. Sato H, Enm J, Teramoto N, Hayashi T, Yamamoto A, Tsuji, Naito, Iida H. Comparison of Gd-DTPA-induced Signal Enhancements in Rat Brain C6 Glioma among Different Pulse Sequences in 3-Tesla Magnetic Resonance Imaging. *Acta Radiologica*, submit
- ## 2.学会発表
1. Iida H, Kudomi N, Hayashi T, Inomata T, Miyake Y, Ohota Y, Teramoto N, Koshino K, Piao R. Adequacy of dual administration of 15O2 and H215O for rapid and accurate assessment of CBF and CMRO2. *Brain07/BrainPET07*, Osaka, Japan, 2007 20-24 May
 2. Koshino K, Watabe H, Yamamoto A, Sato H, Ose T, Hikake M, Teramoto N, Hayashi T, Iida H. APPLICATION OF HARDWARE-BASED MULTIMODAL REGISTRATION SYSTEM TO FUSION OF PET AND MRI IMAGES. *Brain07/BrainPET07*, Osaka, Japan., 2007 20-24 May
 3. Sohlberg A, Watabe H, Iida H. Optimal Collimator Design for Cardiac SPECT when Resolution Recovery is Applied in Statistical Reconstruction. *Society of Nuclear Medicine 2007*, Washington DC., 2007
 4. Watabe H, Hayashi T, Ohta Y, Teramoto N, Miyake Y, Kurokawa M, Yamamoto A, Ose Y, Ikoma Y, Iida H. DEVELOPMENT OF REFERENCE TISSUE METHOD FOR MULTIPLE INJECTIONS OF [C-11]RACLOPRIDE. *Brain and BrainPET'07*, Osaka., 2007
 5. 飯田 秀博. 分子イメージングの現状と展望. 第47回日本生体医工学会大会, 神戸国際会議場, 2008 5月8日
 6. Miyake Y, Watabe H, Ohota Y, Teramoto N, Kuge Y, Ishida Y, Saji H, Iida H. BIODISTRIBUTION OF [11C]MDDI IN Normal and TUMOR-BEARING RATS. *2008 SNM Annual Meeting*, New Orleans, USA, 2008 14-18 Jun
 7. Hayashi T, Ko Ji Hyum, Strafella A, Pike B, Dagher A. A role of dorsolateral prefrontal cortex in durg-cue induced neural response - Acombined fMRI/rTMS study. *13th Annual Meeting of Human Brain Mapping*, Chicago, USA, 2007 10-14 Jun
 8. 飯田 秀博. 核医学機器の将来展望 (画像集積と処理). *核医学会近畿地方会ミニレクチャー*, 西宮市, 2007 30 Jun
 9. 銭谷 勉, 渡部 浩司, 猪股 亨, 青井 利行, キム キョンミン, 寺本 昇, 合瀬 恭幸, Sohlberg Antti, 久保 敦子, 林 拓也, 工藤 博幸, 増野 博幸, 山本 誠一, 中澤 真弓, 山道 芳彦, 飯田 秀博. ピンホール SPECTを用いた小動物イメージング. *ジョイントセミナー*, 国立循環器病センター研究所新館講堂, 2007 10 July
 10. 佐藤 博司, 林 拓也, 川畑 義彦, 中島 巖, 圓見 純一郎, 山本 明秀, 飯田 秀

博. 小型高信号雑音化8ch Phased Array Coilの開発. 第35回日本磁気共鳴医学大会, 神戸ポートピアホテル, 2007 27-29 Sep 2007

11. 飯田 秀博, 林 拓也, 渡部 浩司, 三宅 義徳, 寺本 昇, 永沼 雅基, 横田 千晶, 上原 敏志, 森脇 博, 武信 洋平, 成富 博章, 峰松 一夫. 150ガスを用いた迅速PET定量法. 第23回BFIC, 神戸ポートピアホテル, 2007 22 Sep

12. 飯田 秀博. 「脳SPECT核医学における定量評価と標準化の意義」QSPECT&DTARG法研究会にて. QSPECT&DTARG法研究会, 神戸ポートピアホテル, 2007 9月22日

13. 飯田 秀博. QSPECT-DTARG プロジェクト-SPECT核医学における定量評価と標準化の試み. 第19回日本脳循環代謝学会総会, ホテルメトロポリタン盛岡NEW WING, 2007 25-26 Oct

14. 飯田 秀博. SPECTを用いた脳血流・血管反応性の定量評価と標準化 (抄録). 第19回日本脳循環代謝学会総会, 岩手県盛岡市, 2007 25-26 Oct

15. 飯田 秀博, 尾川 浩一. SPECTの定量化と標準化への道筋. 第47回日本核医学会学術総会 シンポジウムⅧ, 仙台国際センター, 2007 4-6 Nov

16. 銭谷 勉, 渡部 浩司, 林 拓也, 合瀬 恭幸, 明神 和紀, 田口 明彦, 寺本 昇, 猪股 亨, 山道 芳弘, 飯田 秀博. ピンホールSPECTと123I-IMPを用いたマウス局所脳血流定量測定. 第47回日本核医学会学術総会, 仙台国際センター, 2007 4-6 Nov

17. 大田 洋一郎, 三宅 義徳, 銭谷 勉, 寺本 昇, 合瀬 恭幸, 黒川 麻希, 渡部 浩司, 飯田 秀博. ニューロメジンの123I標識化. 第47回日本核医学会学術総会, 仙台国際センター, 2007 4-6 Nov

18. 渡部 浩司, 赤松 哲哉, 飯田 秀博. I-123 IMP DTARG法のキャリブレーション画像の最適化. 第47回日本核医学会学術総会, 仙台国際センター, 2007 4-6 Nov

19. 越野 一博, 渡部 浩司, 寺本 昇, 合瀬 恭幸, 山本 明秀, 樋掛 正明, 福田 肇, 大田 洋一郎, 佐藤 博司, 林 拓也, 飯田

秀博. 光学式マルチモダリティ画像位置合わせシステムの動物実験における有効性. 第47回日本核医学会学術総会, 仙台国際センター, 2007 4-6 Nov

20. 岩田 倫明, 越野 一博, 山本 明秀, 佐藤 博司, 渡部 浩司, 湊 小太郎, 飯田 秀博. USBカメラを用いた医用画像の重ね合わせシステムの開発. 第47回日本核医学会学術総会, 仙台国際センター, 2007 4-6 Nov 2007

21. 合瀬 恭幸, 寺本 昇, 渡部 浩司, 樋掛 正明, 久富 信之, 飯田 秀博. ラット大腿動脈シャントによる入力関数収集法を用いた脳血流の定量化への試み. 第47回日本核医学会学術総会, 仙台国際センター, 2007 4-6 Nov

22. 林 拓也. PET研究の実際-神経科学・病態把握から治療開発まで. 理研分子イメージングセミナー, 神戸, 2007 19-Dec

H. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む)

1.特許取得

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・代替機器開発研究事業)
分担 総合研究報告書

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 新潟大学医教育研究院医歯学系 心臓血管外科学 助教

本実験はサルにケター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、食道温の方が低かった。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撮像のためで、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

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・代替機器開発研究事業)
分担 統合研究報告書

可搬型超音波診断装置による経頭蓋的血流撮像の予備的検討
ならびに
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

分担研究者 梅村晋一郎 東北大学工学研究科電気・通信工学専攻

研究要旨

脳梗塞の治療として血栓溶解療法を実施し、患者が社会復帰できる割合を高めるには、発症後約3時間以内に治療を開始するのが効果的であることが、国内外の治験により明らかになっている。血栓溶解療法を適用するにあたっては、X線CTやMRIにより脳内出血の危険性が低いことを確認する必要がある。これらの装置は、重量がかさむため、脳梗塞の発症現場から治療施設まで患者さんを搬送する救急車や救急ヘリコプタに搭載できないが、超音波診断装置であれば搭載できる可能性があり、頭蓋内血流の観察や血中を流れる血栓の検出など、MRIやX線CTによる最終確認の前に得ることが可能であれば有用となる情報を与えることができる。そこで、頭蓋内血流の撮像能力において現状トップレベルの超音波診断装置と、救急車等に搭載可能な可搬型超音波診断装置とを用いて、経頭蓋的に脳内血流を撮像する実験を行った。また、tPAに代表される血栓溶解剤の作用を経頭蓋的超音波照射により加速する本研究開発において、他の生体作用による副作用を抑えながら、目的とする血栓溶解の加速効果を得ることは極めて重要である。そこで、超音波照射により発生する圧壊型キャビテーションにより生ずる化学作用について、それを引き起こすに必要な超音波の強さにめやすを与えるメカニカルインデックスMIを見直した。元々、短パルス超音波により生ずる圧壊型キャビテーションを念頭において考案されたMIを、そのまま、連続波やバースト波の場合に適用すると、圧壊型キャビテーションの作用を過小評価してしまうおそれがあることがわかった。その過小評価の程度を、高感度・広帯域ハイドロフォンとスペクトラムアナライザにより検出したサブハーモニックノイズを基に検討した。15サイクル以上の長さのバースト波の場合、実効的MIは、従来の定義によるMIの3倍程度になり得ることが、判明した。この結果は、前年度の理論的検討とおおまかに合致した。

A. 可搬型超音波診断装置による経頭蓋的血流撮像の予備的検討

a. 研究目的

脳梗塞・脳内出血・くも膜下出血の3疾患を総称する脳卒中は、回復後もしばしば言語障害や麻痺を多く残し、要介護老人増加の原因ともなっている。脳卒中は、がん、心臓病に次いで国内における死因の第3位を

占めており、さらに、その約6割から7割が、脳梗塞による死亡者である。

脳梗塞のもととなる血栓に吸着して、これを効率よく溶かすtPA(組織性プラスミノゲン活性化因子)は、これまで、心筋梗塞の治療用には承認されていたが、本年度、ようやく脳梗塞についても追加承認された。国内の治験では、脳梗塞の発症後約3時間以内にt

PAによる治療を行うと、3ヶ月後にほとんど後遺症なく社会復帰できた割合は37%であった。ほぼ同様の治験結果が得られている米国では、社会復帰できた割合は、この処置をしない場合より約5割高かったと報告されている。

一方、血栓を溶かすtPAは、出血を起こしやすくする。従って、tPAによる脳梗塞治療を効果的に行うためには、X線CTやMRIにより脳内出血の危険性が低いことを確認した上で、発症後約3時間以内に行う必要がある。

もしも、脳梗塞が発症する現場から治療施設まで患者さんを搬送する救急車や救急ヘリコプタの中で、脳内出血の危険性が低いことが確認できれば、発症後約3時間以内にtPAによる治療を行える可能性が増え、社会復帰できる患者さんの割合を増やすことができると考えられる。ところが、強大な磁場を生成する必要があるため重量のかさむMRIを車載可能にすることは論外としても、X線CTですら、車載可能にすることは、現在の進んだ技術をもってしても、時期尚早であると言わざるを得ないのが現実である。

他方、超音波診断装置は、頭蓋内撮像能力がMRIやX線CTに比べると限られているものの、これらに比べて重量が2桁程度小さいという特長がある。さらに、最近では、重量を数kg以下に抑えた可搬型超音波診断装置が作られるようになってきている。このような小型軽量装置であれば、現状でも、きわめて容易に救急車等に搭載可能である。

超音波診断装置は、頭蓋内撮像能力が限られているため、脳出血の危険性が低いことを最終的に鑑別し確認する手段になる可能性は、将来も含めて小さい。しかし、頭蓋内血流の観察や血中を流れる血栓の検出など、MRIやX線CTによる最終確認の前に得ることが可能であれば有用となる情報を

与えることができる。

ところが、現状の可搬型超音波診断装置は、頭蓋内撮像を目的には設計されていないため、そのままでは、救急車や救急ヘリコプタ内における頭蓋内血流の観察に用いるには、性能が不十分である可能性が大きい。そこで、本分担研究では、頭蓋内血流の撮像能力において現状トップレベルの重量100kgクラスの超音波診断装置と、小型軽量の可搬型超音波診断装置との両方を用いて、頭蓋内血流の撮像実験を行うことにより、頭蓋内撮像を目的とした可搬型超音波診断装置を開発する意義と技術的可能性について、予備的検討を行う。

b. 研究方法

頭蓋内血流の撮像能力において現状トップレベルの超音波診断装置として、日立 EUB-8500 をセクタ・プローブ EUP-50A と組み合わせて用いた。可搬型超音波診断装置としては、現在市販されている中で最小・最軽量の SonoSite 180 Plus を小径(半径 15 mm)コンベクス・プローブ C 15 と組み合わせて用いた。超音波周波数はともに2MHzを選んだ。

これらの超音波診断装置とプローブを用い、50才代の健常者(男性)の頭部を対象として頭蓋内血流を右側頭部より撮像し、結果を比較した。

c. 研究結果

図1および図2に、日立 EUB-8500 により経頭蓋的に撮像した血流像およびドプラ波形の例を示す。中大脳動脈をはじめ複数の動脈の血流像が比較的容易に得られた。また、ドプラ波形の取得も容易であった。

図3には、SonoSite 180 Plus により経頭蓋的に撮像した血流像およびドプラ波形の例を示した。中大脳動脈と推測される1本の動脈の血流像とドプラ波形を得るのが限界であった。

d. 考察

可搬型超音波診断装置によっても頭蓋内血流像を取得することは可能であったが、トップレベ

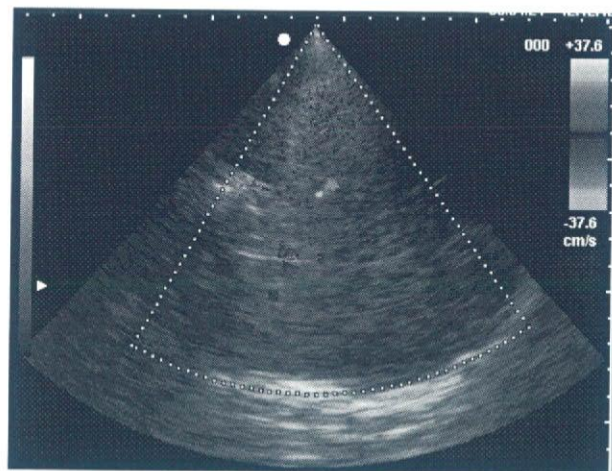


図1. 日立 EUB-8500 により経頭蓋的に撮像した血流像

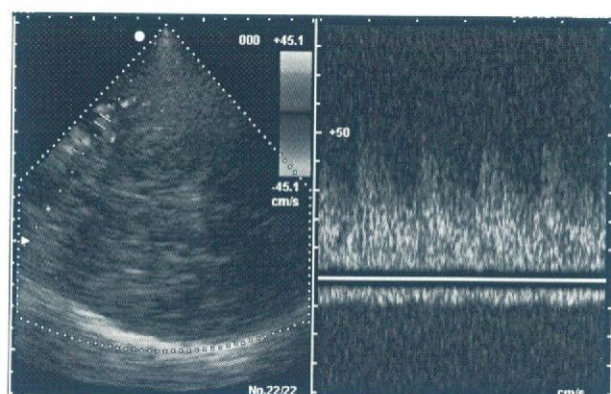


図2. 日立 EUB-8500 により経頭蓋的に取得した血流の2次元像およびドプラ波形

ルの超音波診断装置と比較すると撮像感度が有為に劣っていた。

両者の撮像感度差の原因として、次の2つが考えられる。

1) 可搬型超音波診断装置は小型化のため整相チャンネル数が少ないため。

日立 EUB-8500 の動作最大整相チャンネル数は128と推定されるのに対し、SonoSite 180 Plus のチャンネル数はその半分から3分の1であると推測される。電子フォーカスにおけ

る整相チャンネル数は、送受信口径幅を使用する超音波の半波長で割った程度に選択するのが一般的である。経頭蓋撮像においては、頭蓋骨の音響窓幅が15mm程度と小さく、また、分解能よりも頭蓋骨の透過性を優先させるために2MHz程度の比較的低い

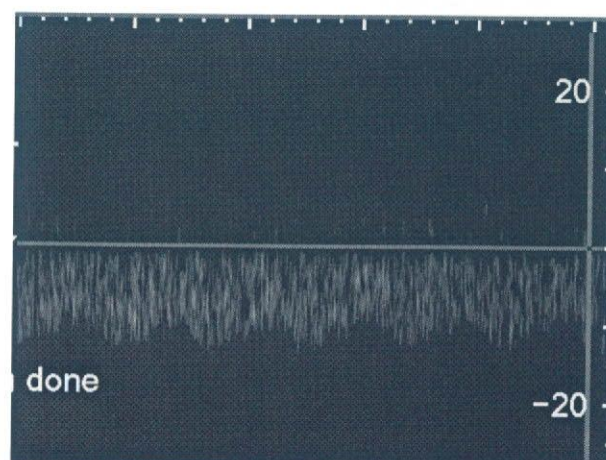


図3. SonoSite 180 Plus により経頭蓋的に取得した血流の2次元像およびドプラ波形

超音波周波数が EUB-8500 であっても、実

際に使用されている整相チャンネル数は、最大チャンネル数の半分程度であると推定される。従って、経頭蓋撮像において実際に動作している整相チャンネル数についての両者の差は、高々1.5倍程度と推定され、頭蓋内血流の撮像能力における両者の差をもたらした主要因ではないものと推察される。

2) 可搬型超音波診断装置は経頭蓋撮像を目的には設計されていないため。

SonoSite 180 Plus が経頭蓋撮像を目的には設計されていないことは、プローブに最も大きく表れており、頭蓋骨のように小さな音響窓を通しても撮像可能なプローブとして用意されているのは、半径 15mm のコンベクス・プローブ C15 のみである。コンベクス・プローブを頭蓋表面に押しあてると、その中央付近については、音響的に良好な接触が得られるが、周辺方向に離れるに従って、接触の状態が徐々に良好ではなくなってしまう。この点が、プローブ面全体にわたって良好な接触の得られるセクタ・プローブとは大きく異なる。頭蓋骨を通過する際の超音波伝播特性から、セクタ・プローブを EUB-8500 と組み合わせて用いた場合でも、その血流撮像に有効にはたらく視野範囲は、 $\pm 45^\circ$ の装置側視野の全体に比べ、やや狭まる傾向がみられることもあったが、コンベクス・プローブを SonoSite 180 Plus と組み合わせて用いた場合には、その傾向が顕著で、血流撮像における有効視野範囲が、頭蓋骨表面に対して垂直な方向 $\pm 30^\circ$ 程度にまで減少しているものと推定される。このため撮像可能な脳内血管が限定される結果となったことが、頭蓋内血流の撮像能力における両者の差をもたらした最大の要因であると推察される。

これらの推察が正しいとすると、例え、可搬型の小型軽量の超音波診断装置であっても、経頭蓋撮像に適したプローブを接続

可能とし、必要なパラメタの最適化を行えば、トップレベルの超音波診断装置に近い経頭蓋撮像性能が得られるものと期待される。このような超音波診断装置を実現し、救急車等に搭載すれば、脳梗塞発症から血栓溶解療法開始までの時間を短縮することができ、患者が社会復帰できる割合を改善できると期待される。

e. まとめ

頭蓋内血流の撮像能力において現状トップレベルの超音波診断装置と、可搬型超音波診断装置とを用いて、経頭蓋的に脳内血流を撮像する実験を行った。両者の頭蓋内血流を撮像する能力には、明らかな差異がみられたが、それをもたらした最大の要因は、小型化の要請による動作整相チャンネル数であるよりはむしろ、プローブなどが経頭蓋撮像に最適化されていないことにあると推察された。従って、経頭蓋撮像に最適化した小型軽量超音波診断装置を開発して、これを救急車等に搭載することにより、脳梗塞発症から血栓溶解療法開始までの時間を短縮できる可能性が示唆された。

B. 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:連続波・バースト波における実効的メカニカルインデックスの検討

a. 研究目的

超音波は、図4にまとめたような生体作用を引き起こす可能性がある。このうちの主に機械作用によって、血栓溶解は加速される。他の生体作用による副作用を抑えながら、目的とする血栓溶解の加速効果を得る必要がある。

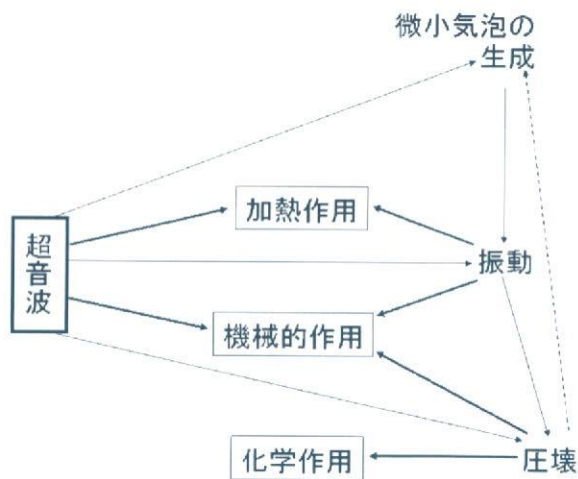


図4. 超音波の生体作用

図中の加熱作用に関して、超音波の強さを表す指標が、Thermal Index (TI) であり、化学作用に関して、超音波の強さを表す指標が、Mechanical Index (MI) である。MI の概念は、診断用に広く用いられる短いパルス状の超音波を想定して考案されたものである。従って、連続波やバースト波を用いる治療用超音波による作用に関して、従来の MI を、そのまま指標として用いるのは必ずしも正しくない。本分担報告では、この点を検討する。

b. 短パルスにおける MI

MI は、微小気泡の関与する圧壊型キャビテーションという極めて非線性の強い現象により生ずる作用について、それを引き起こすに必要な超音波の強さにめやすを与えるものであるから、その導出には、一般性の欠如や多少の誤差には目をつぶる大胆な近似が必要である。

まず、超音波波形としては、連続波ドプラなどに用いられる連続波を考慮から除外し、パルス波の短い診断用パルス波のみを考慮の対象とする。従って、rectified diffusion による微小気泡の成長は考慮しない。そのような短いパルス波のなかでも、図5に示すような負圧の半サイクルから始まるパルス

波を考え、その最初の1サイクルの間にかかる圧壊型の過渡的キャビテーションを扱う。初期半径 R_0 から超音波負圧により気泡が最大半径 R_1 まで膨張する間は、等温過程を、最大半径 R_1 から気泡が最小半径 R_2 まで急速に収縮する間は、断熱過程を、仮定する。これらの過程において、液体の圧縮性と粘性 および 気泡壁の表

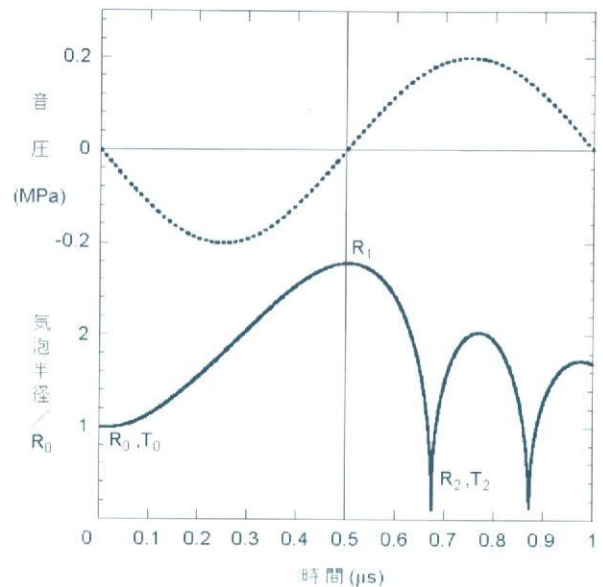


図5. MI を算出するためのモデル

面張力の影響は無視する。これらの近似により、最小半径 R_2 における最高到達温度 T_2 を、等温過程における膨張比 R_1/R_0 の関数として表わすことができる。

気泡半径が R_1 から R_2 まで断熱的に収縮する間に、液体全体に対し大気圧 p_0 のする仕事は、気泡表面において液体が気泡に対してする仕事に等しいから、

$$\begin{aligned}
 & \int_{R_2}^{R_1} p_0 4\pi R^2 dR = - \int_{R_1}^{R_2} p_1 (R_1/R)^{3\gamma} 4\pi R^2 dR \\
 & \qquad \qquad \qquad (1)
 \end{aligned}$$

ここで、 γ は気泡内の気体の比熱比、 p_1 は気泡半径 R_1 のときの気泡内圧である。積分を実行すると、

$$\begin{aligned}
 & p_0 [(R_1/R_2)^{3\gamma} - 1] \\
 & \qquad \qquad \qquad = p_1 [(R_1/R_2)^{3\gamma} - (R_1/R_2)^3] / (\gamma - 1) \quad (2)
 \end{aligned}$$

$R_2 \ll R_1$ のとき、

$$p_0/p_1 \doteq (R_1/R_2)^{3(\gamma-1)} / (\gamma-1) \quad (3)$$

従って、この間の温度変化は、

$$T_2/T_1 = (R_1/R_2)^{3(\gamma-1)} \doteq (\gamma-1) p_0/p_1 \quad (4)$$

ここで、 T_1 は気泡半径が R_1 のときの気泡内温度である。

一方、気泡半径 R_0 から R_1 までは、等温的に膨張すると近似すると、

$$p_0/p_1 = (R_1/R_0)^3 \quad (5)$$

$$T_1 = T_0 \quad (6)$$

ここで、 T_0 は室温である。(5)式と(6)式を(4)式に代入すると、

$$T_2/T_0 \doteq (\gamma-1) (R_1/R_0)^3 \quad (7)$$

という、気泡の膨張比から最高到達温度を与える便利な関係式が得られる。

これは、気泡を弓に例えると理解しやすい。弓をゆっくりと引き、すばやく解き放すときに放たれる矢のエネルギーが、解き放す寸前の変位量できまるのと同じように、最高到達温度 T_2 が、断熱的収縮の始まる寸前の気泡体積の膨張比 $(R_1/R_0)^3$ で与えられるわけである。(7)式に、空気の比熱比 $\gamma=1.403$ 、室温 $T_0 \doteq 300^\circ \text{K}$ を代入すると、径の膨張比 $R_1/R_0 \doteq 3.5$ 、体積膨張比 $(R_1/R_0)^3 \doteq 41$ のとき、収縮時の気泡の温度が、最高 $T_2 \doteq 5000^\circ \text{K}$ に到達するものと予想される。この関係式は多くのファクターを無視した近似により得られたものである。このうち、収縮過程を断熱的であるとした近似および液体の圧縮性と粘性の影響を無視した近似は、 T_2 を著しく過大評価する方向の誤差を与え、気泡壁の表面張力の影響を無視した近似および1回の負圧半サイクルのみの効果を評価する近似は、 T_2 を過小評価する方向の誤差を与えるものと考えられる。従って、(7)式に、数値を代入して得られる最高到達温度 T_2 の値そのものの信憑性に過大な期待はおくことはできないが、圧壊型キャビ

テーションの作用を見積もるとき、断熱的収縮の始まる直前における気泡の膨張比が、最も重要なファクターであるという結論は有用である。

音圧変化を一定とするとき、気泡膨張比 R_1/R_0 は、初期気泡径 R_0 に依存し、負圧半サイクルの最後に最大気泡径 R_1 に到達する大きさの気泡が、最大の気泡膨張比を与える。超音波の安全性の指標を得るには、この条件の、生体作用を及ぼす可能性が最も高い気泡について、一定の気泡膨張比を与えるに必要な音圧振幅を求めておく意味がある。Apfel と Holland は、気泡の膨張を負圧半サイクルの音圧変化の関数として解析的に与える式を、いくつかの近似と仮定において導出し、これを用いて、一定の気泡膨張比を得るに必要な最低限の音圧振幅を数値計算し、超音波周波数の関数として求めた。求められた音圧振幅は、高周波ほど大きくなり、周波数の平方根にほぼ比例した。メカニカルインデックス (MI) は、この報告をもとに考案されたもので、

$$MI = p_{-} / \sqrt{f} \quad (8)$$

と定義されている。ここで、 p_{-} は、MPa を単位とする最大負圧の絶対値、 f は、MHz を単位とする超音波周波数である。

ここでは、彼らの導出した解析的近似式を用いるかわりに、気泡の膨張収縮運動を解析する目的で広く用いられている Rayleigh-Plesset 方程式

$$\rho [R(d^2R/dt^2) + (3/2)(dR/dt)^2] = (p_0 + 2\sigma/R)[(R_0/R)^{3\kappa} - 1] - 4\mu(dR/dt)/R - p_A(t) \quad (9)$$

を数値的に解くことにより、上記の関係を検証する。ここで、 $p_A(t)$ は音圧、 σ は気泡壁の表面張力、 μ は液体の粘性係数である。 κ は気体のポリトロブ係数であり、等温変化のとき $\kappa=1$ 、断熱変化のとき $\kappa=\gamma$ である。液体の圧縮性の影響は、ここでも無視されている。

まず、超音波周波数 $f=1 \text{ MHz}$ において一定の p_{-} により得られる気泡膨張比 R_1/R_0 の最大

値を、初期半径 R_0 を変化させて求める。次に、各超音波周波数 f において、同じ膨張比 R_1/R_0 を与えるに必要な最小の p_- を、初期半径 R_0 を変化させながら求める。図6には、液体が水の場合について、このようにして求めた p_- を超音波周波数 f の関数としてプロットし、比較のために $MI=0.1$ と $MI=0.2$ に対応する曲線もプロットした。一定の気泡膨張比を得るに必要な最小の p_- は、Apfel らの結果と同様、 $f^{1/2}$ にほぼ比例する結果が得られ、 MI の根拠とされる傾向を確認することができた。

MI の平方を考えると、 p_-^2/f となり、波形が一定な場合、負圧半サイクル間の音響エネルギーに比例する。図5中 $R=R_1$ において微小気泡に蓄えられるポテンシャルエネルギーすなわち引いた弓に蓄えられるエネルギーは、最大で負圧

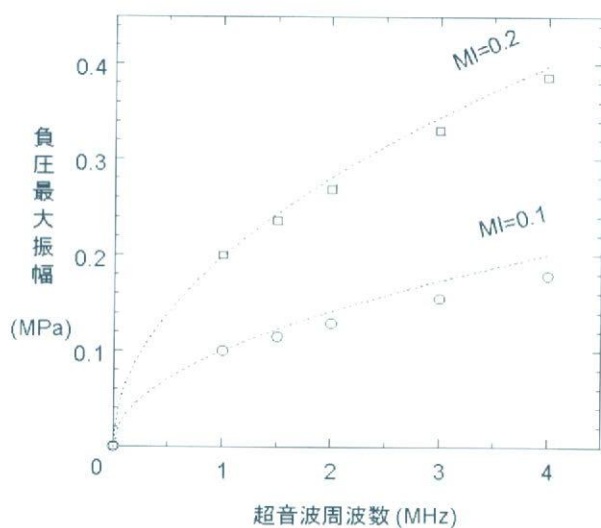


図6. 等 MI 曲線

半サイクル間の音響エネルギーに等しく、また、そのほとんどすべてが、図5中 $R=R_2$ における熱エネルギーに変換されると近似しているわけであるから、(8)式で定義される MI 一定の条件が、断熱圧縮により生ずる温度一定の条件と一致するくのは、以上のように考えれば当然である。

c. パースト波・連続波における MI

短パルスにおける従来の MI 導出の考え方のもとに、パースト波・連続波における MI の導

出を考える。短パルスにおける MI 導出においては、微小気泡が最大半径に到達した後は、微小気泡のポテンシャルエネルギーが解放されることによって、音圧によらず、断熱的に圧壊すると近似している。この近似は踏襲する。

パースト波・連続波においては、従来の MI のように負圧半サイクル間のエネルギーだけが、微小気泡のポテンシャルエネルギーとして蓄えられるのではなく、何サイクル分か、最大で微小気泡の振動の Q 値に相当するサイクル分の音響エネルギーが蓄えられるはずである。その微小気泡のポテンシャルエネルギーは、微小気泡の極大半径と単調増大の関係にあるから、数値計算によって、その極大半径を追っていけば、超音波サイクル数の増加に伴う実効的な MI の増加が計算されるはずである。

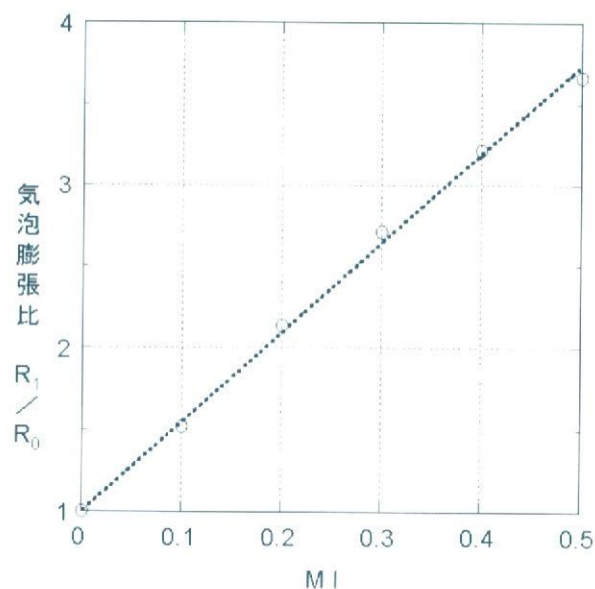


図7. MI と気泡膨張比

図7では、まず、短パルスにおける従来の MI と気泡膨張比 R_1/R_0 との関係を、数値計算により求めてみた。このプロットより実験式

$$MI \approx (R_1/R_0 - 1) \times 0.19 \quad (1)$$

が得られた。

次に、音圧ピーク 0.1 MPa の場合について、従来の MI を算出する際の1周期を越えて10周期計算した結果を図8および図9に示す。図

5では、縦軸に最高到達温度に比例すると近似される気泡体積膨張比をとる、図9では、それを実験式(10)を用いて実効的メカニカル・インデックスに変換した値を縦軸にとった。

この例では、気泡体積膨張比は10サイクル弱まで徐々に増加し、MIに換算すると3倍近く

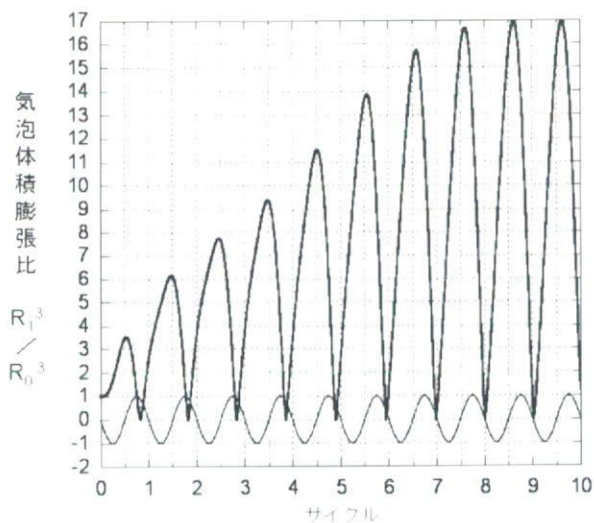


図8. バースト波における気泡体積膨張比

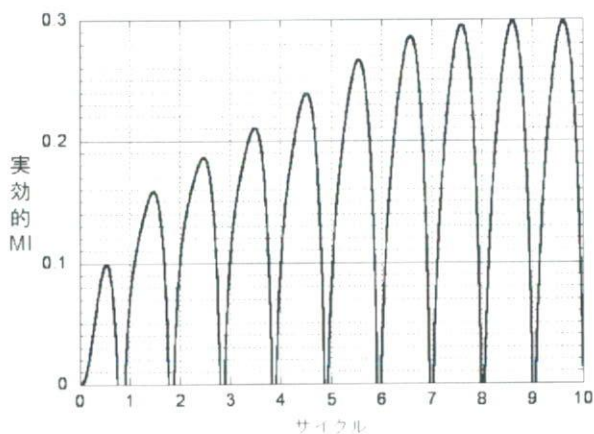


図9. バースト波における実効的MI

まで増加した。ただし、何サイクルまで増加するのは、微小気泡の共振のQ値に依存して一定ではなく、個々の例について、評価する必要があると考えられる。

d. 実験方法

バースト波によりキャビテーションを引き起こすのに必要な超音波音圧のバースト長依存性を実験的に求め、これをMIのバースト長依存

性に関連付ける。常温において空気を飽和まで溶存した脱イオン水中にバースト状の超音波を照射し、圧壊型キャビテーションの発生を、それに特徴的なサブハーモニックノイズにより検出する。

サブハーモニックノイズを検出するには超音波照射により発生した音響ノイズを周波数分析する必要がある。しかし、周波数分析には、周波数精度の逆数に対応する長い波連長が必要なので、短いバースト長のバースト波を照射している最中に発生する継続時間の短い音響ノイズでは、サブハーモニックノイズを周波数分離して検出することは困難である。

そこで、参考文献[1]に記載されている背景照射法を用いた。すなわち、キャビテーションを発生するには不十分であるが、一旦生じたキャビテーションを維持するには十分な音圧の背景波を、バースト波に続けて、サブハーモニックノイズを周波数分離して検出するのに十分な時間照射し、その時間の音響ノイズを周波数分析する方法である。図10には、実験において照射した超音波のエンベロープを概念的に示した。

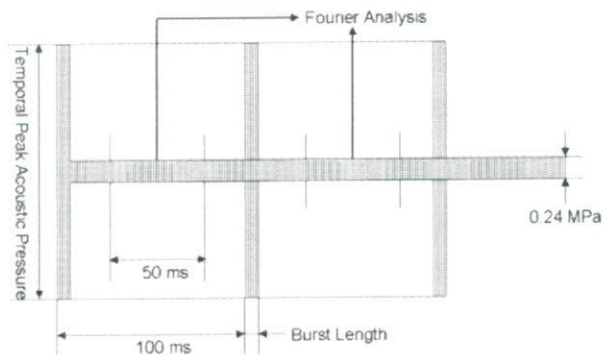


図10. サブハーモニックノイズ検出のために照射する超音波のエンベロープ

また、図11には、その超音波照射実験のセットアップを示した。超音波周波数0.8 MHz、直径40 mm、Fナンバー1の集束超音波トランスデューサを用い、空気飽和状態にある脱イオン水の中に浸したステンレス棒の端面へ向けて集束超音波を照射した。発生する音響ノイズは、感度直径0.4 mmのリップスティック型ハイド

ロフォン (Onda 社製 HGL-0400) によって検出し、付属のプリアンプ (同 AH2010-025) にて増幅の後、スペクトルアナライザー (Agilent Technologies 社製 4395A) に入力して周波数分析した。

集束超音波トランスデューサの超音波出力は、電子天秤を用いて測定した輻射圧によって校正した。主ビーム内の root mean square value を計算して表記した。

図 1 2 には、圧壊型キャビテーションが発生したときに検出される音響ノイズの典型的なスペクトルである。照射された周波数 0.8 MHz の基本波スペクトル、周波数 1.6 MHz の第 2 高調波スペクトルに加えて、周波数 0.4 MHz、1.33 MHz、1.2 MHz の分調波スペクトルが観察される。実験結果をまとめるにあたり、この分調波スペクトルを圧壊型キャビテーション発生時の証拠とした。

e. 結果と考察

バースト長を段階的に変え、それぞれのバースト長において分調波スペクトルが観察されるの

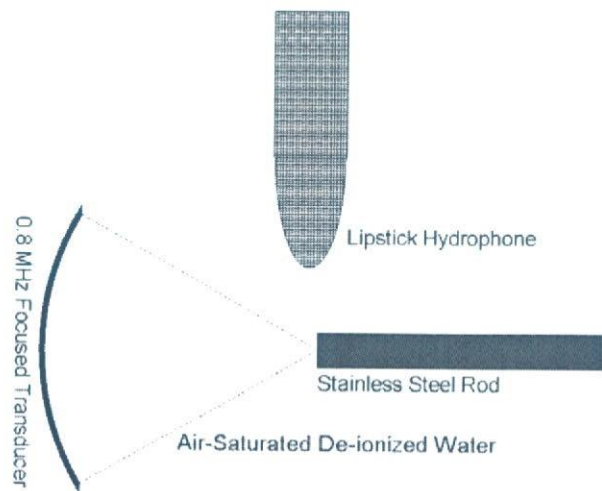


図 1 1. サブハーモニックノイズ検出のための超音波照射セットアップ

に必要な最小のバースト波音圧を求め、図 6 にプロットした。その最小音圧はバースト長 15 サイクル以上では一定となったが、バースト長 10 サイクル以下では徐々に上昇し、バースト長 5 サイクルではバースト長 15 サイクル以上

の 2 倍近くまで、バースト長 3 サイクルではバースト長 15 サイクル以上の 3 倍近くまで上昇した。

この傾向は、数値計算を用いた理論予測の結果と大まかに一致し、実効的なメカニカルインデックスは、バースト長に依存し、一定ではないことを示唆するものと考えられる。すなわち、バースト長が 10 サイクル以上ではバースト長が

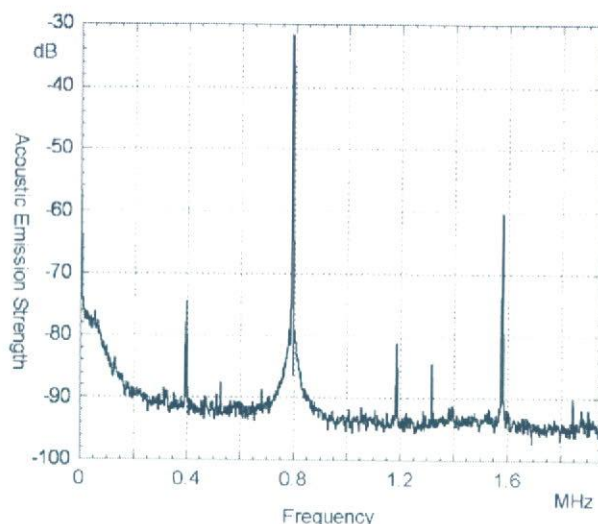


図 1 2. 圧壊型キャビテーション発生時に検出される音響ノイズの典型的なスペクトル

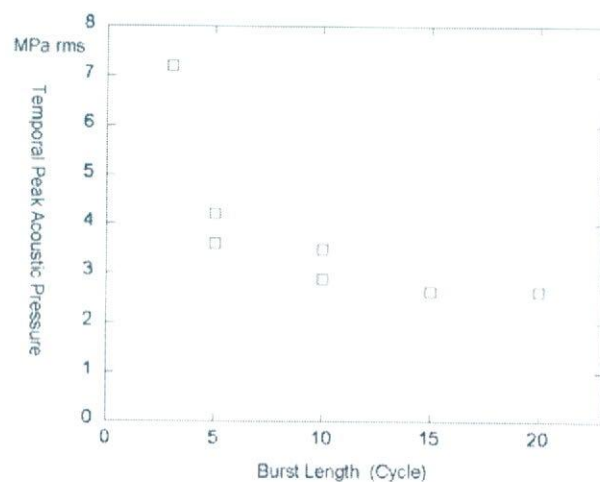


図 1 3. 圧壊型キャビテーション発生に必要な音圧のバースト長依存性

が短い場合に比べてメカニカルインデックスが 2 - 3 倍程度大きくなり得ることが示されていると考えられる。

今後の課題としては、送信波形を tuning する

ことにより、短いバースト長の領域においてバースト長をより高い精度で制御することが挙げられる。また、超音波照射する標的として、今回は反射率が高いステンレス棒を用いたが、生じたキャビテーション気泡が流されることを防ぐだけでよいのであれば、音響的に透明な薄いフィルムでも充分なはずである。この点も検討課題である。

f. 参考文献

[1] S. Yoshizawa, T. Ikeda, A. Ito, R. Ota, S. Takagi, and Y. Matsumoto, "High Intensity Focused Ultrasound Lithotripsy with Cavitating Microbubbles", *Medical & Biological Engineering & Computing*, Special Issue: Preparation & Clinical Use of Microbubbles. in press.

C. 知的財産権の出願・登録状況

- (ア) 特許取得：なし
- (イ) 実用新案登録：なし
- (ウ) 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・代替機器開発研究事業)
分担 総合研究報告書

脳卒中易発性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

分担研究者 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)
研究協力者 小島 依子 東京慈恵会医科大学 総合医科学研究センター
ME 研究室 研究員
日向 真子 東京慈恵会医科大学 総合医科学研究センター
ME 研究室 研究員

研究要旨:

今回、高血圧に伴う脳血管障害疾患のよい病態モデルである脳卒中易発性高血圧ラット (Stroke-Prone Spontaneously Hypertensive Rat, SHRSP)における低周波数超音波照射の安全限界を、病理組織学的に明らかにした。対象とした SHRSP および Wistar rat に種々の条件の低周波数超音波を照射し組織学的に検索した。皮質壊死が SHRSP の周波数 500kHz、強度 1.5 W/cm² 群と周波数 268kHz、強度 34-42W/cm² 群の超音波照射部位直下の大脳皮質に存在。一方、Wistar rat には組織学的変化を認めず、低周波数超音波照射による SHRSP ラットの易傷害性が明らかとなった。Heat shock protein 70 (hsp70)陽性細胞が、SHRSP の周波数 500kHz、強度 0.72 W/cm² 群 4.5%、周波数 500kHz、強度 1.0 W/cm² 群 8.0%、周波数 500kHz、強度 1.5 W/cm² 群 14.3%、周波数 297kHz、強度 0.7 W/cm² 群 13.0%、周波数 268kHz、強度 34-42 W/cm² 群 52.6%の症例に存在。強度が低ければ、中枢神経系組織への低周波数超音波の影響は低いことが示唆された。

A. 研究目的

急性虚血性脳血管障害の治療の最終目標は閉塞血管の再開通である。組換え組織プラスミノゲンアクチベーター(rtPA)は有用であるが、効果は緩やかで再開通は不完全であり、副作用としての出血がある^{1 2 3 4}。また、使用できる症例は、発症から3時間以内という制限があり、自ずと適応症例数が少なくなる。それ故、rtPA の使用制限を改善させ、副作用の発症を押さえる補助的付加治療が必要とされている。超音波療法は、全身性の出血危険度が低く、照射部位に効果特異的であることから、補助的付加治療法として近年注目されている。しかし、高周波超音波

(2Mhz)では血栓融解効果は不十分であり、低周波数超音波(1Mhz 未満)の経頭蓋照射では、頭蓋内出血や局所温度上昇、直接的組織障害などの問題が指摘されている^{5 6}。

これら低周波数超音波を用いた t-PA 併用脳血栓溶解法の医学生物学的危険因子の一つとして、脳梗塞症例が一般には中高年で、その脳血管系が動脈硬化等により脆弱化している可能性が考えられる。今回対象とする、脳卒中易発性高血圧ラット (Stroke-Prone Spontaneously Hypertensive Rat, SHRSP)は、高血圧に伴う脳血管障害疾患のよい病態モデルとして使用されている。本研究の目的は、そのような病的原因や加