

齢に伴って動脈硬化が進行した脳における超音波照射に対する安全限界を、病理組織学的評価を持って明らかにすることである。特に、タンパク質分子が正しいフォールディングをして機能を獲得するのを助ける分子シャペロンである熱ショックタンパク質 (heat shock protein: hsp)の動態を、経頭蓋超音波照射脳において免疫組織化学的に検索し、細胞レベルでの低周波数超音波照射による中枢神経系へ与える影響を評価した。

B. 研究方法

SHRSP(雄、20-25 週齢)および Wistar rat (WR、雄、20-25 週齢)を対象とした。超音波条件は、正常対照群を Group 0 群 (SHRSP 26 頭、W 5 頭)とし、周波数 500kHz、強度 $0.5\text{W}/\text{cm}^2$ 、continuous wave (CW)、照射時間 60 分を Group 1 群 (SHRSP 31 頭、W 10 頭)、周波数 500kHz、強度 $0.72\text{W}/\text{cm}^2$ 、CW、照射時間 60 分を Group 2 群 (SHRSP 37 頭)、周波数 500kHz、強度 $1.0\text{W}/\text{cm}^2$ 、CW、照射時間 60 分を Group 3 群 (SHRSP 32 頭)、周波数 500kHz、強度 $1.5\text{W}/\text{cm}^2$ 、CW、照射時間 60 分を Group 4 群 (SHRSP 33 頭、W 12 頭)、周波数 297kHz、強度 $0.7\text{W}/\text{cm}^2$ (MI=0.3)、バースト波 (5% duty cycle, 100Hz PRF) 90 分を Group 5 群 (SHRSP 30 頭)、周波数 268kHz、強度 $34-42\text{W}/\text{cm}^2$ (MI=2.0)、バースト波 (10% duty cycle, 100Hz PRF) 60 分を Group 6 群 (SHRSP 16 頭、W 16 頭)とした (Table 1)。CW 照射群では、2 分間超音波照射と 30 秒間の休止を 4 回繰り返した後 5 分間の休止を 1クールとし、4クール行った。バースト波では TRUMBI trial における超音波条件を模擬し、直径 3mm の円形ピストン型プローブ 4 個をダイヤモンド状に側頭部表面に配し、患部に向け 2 個ずつの組み合わせで、順次 4 セット照射する方式で、1組の 2 個のプローブからは、周波数約 300kHz、Burst Wave が

発射され、pulse duration 0.5ms、pulse repetition frequency 100Hz、duty cycle 5%で、患部側の MCA を焦点として発射された。これが順次 4 組から発射され、主要領域では pulse duration が 2ms になり、duty cycle は 20%になる。エーテル麻酔下、ラット右側頭蓋に照射 24 時間後に麻酔下経心的 4%パラフォルムアルデヒド (PFA) 灌流固定を行い、脳を摘出した。4%PFA にて後固定し、パラフィン包埋後、 $3\mu\text{m}$ 厚の組織切片において組織学的検索を行った。脳梗塞および脳出血の部位および性状を観察し、各超音波条件群の比較を行う。また、一次抗体 (4°C 、12 時間)として、 α B-crystallin (X1000, clone: 1B6.1-3G4, Stressgen, BC, Canada), hsp27 (X500, clone: G3.1, Stressgen, BC, Canada), hsp32 (X500, Stressgen, BC, Canada), hsp40 (X1000, Stressgen, BC, Canada), hsp60 (X1000, clone: LK-1, Stressgen, BC, Canada), hsp70 (X1000, clone: C92F3A-5, Stressgen, BC, Canada), hsp90 (X1000, clone: 16F1, Stressgen, BC, Canada)に対する抗体および抗 cox-2 抗体 (X1000, Alexis Biochemicals, CA, USA)、抗 Glut1 抗体 (X1000, Chemicon International Inc, CA, USA) を用い、二次抗体 (室温、1 時間)には biotinylated anti-mouse IgG antibody (X500, vector lab. CA, USA), biotinylated anti-rabbit IgG antibody (X500, vector lab. CA, USA), biotinylated anti-rat IgG antibody (X500, vector lab. CA, USA) を使用し、ABC 法 (X500, 室温、1 時間、ABC elite: vector lab. CA, USA)による免疫組織化学染色を行い、病変を観察・比較検討した。抗原賦活法として、0.01M クエン酸バッファーにおけるオートクレーブ処理 (121°C 、10 分)を行った。陰性コントロールとして、一次抗体を 5%ウシ血清アルブミン、0.01%Tween20、0.01M リン酸バッファー (pH7.4)に置き換え、免疫組織化学染色を行った。

C. 研究結果

SHRSP ラットの脳梗塞発症率は週齢 20 (n=28) 71.4%、週齢 21 (n=25) 76.0%、週齢 22 (n=26) 69.2%、週齢 23 (n=24) 66.7%、週齢 24 (n=45) 64.4%、週齢 25 (n=44) 61.4%、脳出血発症率は週齢 20 (n=28) 53.6%、週齢 21 (n=25) 76.0%、週齢 22 (n=26) 65.2%、週齢 23 (n=24) 58.3%、週齢 24 (n=45) 55.6%、週齢 25 (n=44) 54.5%と週齢による有意差はなかった。

梗塞の発症頻度は右大脳半球で 56.2%、左大脳半球で 61.0%、出血に関しても右大脳半球で 44.6%、左大脳半球で 51.0%と有意差はなかった。各群において出血の頻度を比較すると、SHRSP Group 1 群にて右大脳半球の 81.8%で、左大脳半球の 57.6%と比較し高かった。同群では、梗塞発症率が右大脳半球 84.8%と左大脳半球 72.7%であり、他の群のそれらは右大脳半球 55.8% (29-100%)と左大脳半球 61.2% (43-85%)に比べ高かった。

皮質壊死(Fig. 2)が SHRSP group 4 群の 33 例中 2 例 (6.1%)、SHRSP group 6 群の 16 例中 7 例 (43.8%)に存在した。いずれも右大脳半球皮質表層に浮腫・染色性低下・出血・好中球浸潤を組織学的に認めた。免疫組織化学的には、皮質壊死と正常組織との境界領域に、hsp70 (Fig. 3)および hsp40 陽性の神経細胞、星状膠細胞、ミクログリアが存在した。皮質壊死のない症例にも hsp70 陽性細胞は存在し、その局在は、右大脳半球皮質浅層の神経細胞、星状膠細胞、ミクログリアに認められた。各群において hsp70 陽性細胞症例数と陽性細胞数を比較すると、SHRSP group 0 群では 26 例中 0 例(0%)と細胞数 0、SHRSP group 1 群では 25 例中 0 例(0%)と細胞数 0、SHRSP group 2 群 22 例中 1 例(4.5%)と細胞数 2.0 ± 0.0 、SHRSP group 3 群では 25 例中 2 例(8.0%)と細胞数

8.0 ± 8.5 、SHRSP group 4 群では 21 例中 3 例 (14.3%)と細胞数 152.3 ± 63.4 、SHRSP group 5 群では 46 例中 6 例(13.0%)と細胞数 37.2 ± 42.3 、SHRSP group 6 群では 19 例中 10 例(52.6%)と細胞数 87.7 ± 88.1 であった。各群において、頭蓋内音響強度 I_{spta} の高い群ほど hsp70 陽性細胞症例数と hsp70 陽性細胞数は増加する傾向が見られた。SHRSP の 489.6kHz CW 照射群である Group 1-4 において、hsp70 陽性細胞症例率(y)と頭蓋内音響強度 $I_{spta}(x)$ の相関は、 $y=352.86x-6.46$ (correlation coefficients, 1.00 $p=0.0049$ by t test)の一次関数式にほぼ一致し、hsp70 陽性細胞の出現する頭蓋内音響強度 I_{spta} の閾値は、 $0.018W/cm^2$ と推測される。hsp70 陽性細胞数(y)と頭蓋内音響強度 $I_{spta}(x)$ の相関は、 $y=e(144.84x-3.68)$ (correlation coefficients, 0.99 $p=0.0095$ by t test)の指数関数式にほぼ一致した。

α B-crystallin, hsp27, hsp32, hsp60, hsp90 に対する抗体および抗 cox-2 抗体、抗 Glut1 抗体による免疫組織化学的検索では、各群において差を認めなかった。

Wistar ラット群では、いずれの超音波条件でも、組織学的変化を認めなかった。

D. 考察

SHRSP は週齢 25 週以上であれば、ほぼ全例が脳梗塞あるいは脳出血などの脳血管障害を発症し、寿命がほぼ 40 週齢と短命なラット種である⁷⁻⁹。今回対象とした SHRSP20 週齢群、21 週齢群、22 週齢群、23 週齢群、24 週齢群、25 週齢群の間に、脳梗塞発症率の有意な差は認められず、また、梗塞および出血の発症頻度は右大脳半球と左大脳半球で有意差はなかった。20-25 週齢においては、週齢の差による脳血管障害の発生率の差を考慮する必要がないことを示している。

超音波条件を変えた各群において出血の頻度を比較すると、SHRSP group 1 群にて右

大脳半球に有意に出血が多かった理由の詳細は不明であるが、この群は他の群と比較し梗塞発症率が高く、また、梗塞が存在すれば梗塞内出血の合併が多いことが影響している可能性がある。

強度が 0.5～数 W/cm^2 の低周波数超音波照射により酵素的血栓融解を亢進させることが知られている。また、超音波は、rtPA の効果を最大 20%増加させ、再開通率を 30%から 90%に増加させる。ラット塞栓モデルでは、rtPA のみの治療法に比べ $0.6W/cm^2$ の低周波数超音波併用により梗塞範囲を減少させることが報告されている⁶。補助的付加治療法として低周波数超音波照射が近年注目されている所以である。一方、副作用に関しては、強度が $1W/cm^2$ までの超音波照射では、脳内出血や細胞障害、血管脳関門障害などの副作用は無いと考えられていたが¹⁰、その後、経頭蓋低周波 (20kHz、持続波、20 分、強度 $0.5-2.6W/cm^2$) 照射により Wistar ラット脳に浮腫を、経頭蓋低周波 (20kHz、持続波、20 分、強度 $1.1-2.6W/cm^2$) 照射により Wistar ラット脳に脳実質壊死を引き起こすことが報告された¹¹。今回の我々の結果では、皮質壊死が SHRSP group 4 群と group 6 群の超音波照射部位直下の大脳皮質に存在した。一方、Wistar ラット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。SHRSP ラットでは、高血圧による血管障害性中枢神経病変が存在することから、超音波照射による影響を受けやすいことが示唆される。ここで注目すべきは、皮質壊死が出現した群は周波数 268kHz、強度 $34-42W/cm^2$ (MI=2.0)、バースト波 (10% duty cycle, 100Hz PRF) 60 分を SHRSP group 6 群と周波数 500kHz、強度 $1.5W/cm^2$ 、CW、照射時間 60 分を SHRSP group 4 であり、mechanical index の低い、group 1, group 2, group 3, group 5 群には出現していない点である。これは、同じ低周波

でも、条件の異なる超音波照射により、効果・副作用の程度が異なることを示している。そこで我々は、超音波の中枢神経系への影響をより詳細に判定するために分子シャペロンである hsp に注目をした。hsp の中で、分子量 70～80kD のグループを総称して hsp70 と呼ぶ。細胞の細胞質と核に存在するこれら分子シャペロンは、hsp40 と協同で、虚血、炎症などの細胞 stress 下での変性蛋白の凝集を防ぐと共にサイトカインの生合成などにも関係している。また、蛋白質合成や、細胞内各オルガネラへの蛋白質輸送、エンドサイトーシス、アポトーシス抑制においても重要な役割を持っている¹²。通常、hsp70 は中枢神経系には免疫組織化学的に同定はされないが、今回、低周波数超音波照射 24 時間後の検索において、照射部位直下の大脳皮質に hsp70 陽性細胞が存在する症例が存在した。皮質壊死の存在する症例では、皮質壊死と実質との境界部分に多数の hsp70 陽性細胞が存在し、一般組織学的検索では明らかかな異常を認めていない症例においても、大脳皮質浅層に hsp70 陽性細胞が存在した。これは、低周波数超音波により、中枢神経系の細胞に何かしらのストレスが加わっていることを示している。これまでの報告では、細胞壊死やアポトーシスを低周波数超音波の影響の指標としていたが^{10, 11}、hsp70 の検索により、壊死やアポトーシスに至る前段階での細胞への影響の有無を知ることが出来る。今回の結果では、hsp70 陽性細胞が、SHRSP group 2 群 4.5%、SHRSP group 3 群 8.3%、SHRSP group 4 群 12.5%、SHRSP group 5 群 18.5%、SHRSP group 6 群 68.8% の SHRSP 症例に存在した。SHRSP group 2 群、SHRSP group 3 群では、大脳皮質浅層に少数の hsp70 陽性細胞が存在し、SHRSP group 4 群、SHRSP group 5 群そして SHRSP group 6 群の順に、hsp70 陽性細胞数が増加し、広範囲に分布した。これらのことから、低

周波数超音波において、その強度と hsp70 陽性細胞出現との間に相関があることが示された。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。

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

F. 研究発表

1. 論文発表

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-meta-iodobenzylguanidine 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

G. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

4. BVS による新たな可能性

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

超音波脳血栓溶解装置の要素技術の研究

分担研究者 窪田 純 (株)日立メディコ技術研究所 主管技師

研究要旨:

脳血管障害における急性脳梗塞に対する経頭蓋超音波標的血栓溶解療法と、脳出血に帰結する脳動脈瘤に対する経頭蓋超音波塞栓療法を、頭部診断画像(CT や MRI 等)のナビゲーションの下に実現する診断・治療統合化システム(Brain Attack Total Treatment system: BATT システム)への適用を目的として以下の開発を行った。平成14年度から16年度に掛けて実施の厚労科研にて残されていた課題の内、最大の老齢者の脆弱血管での安全性の確認については別報に譲るが、骨が厚くなる老齢女性への適用率向上を試みた。初年度はその内、夫々試験により単独での動作を確認した。

平成18年度には、前年度に、複数基準点による高精度化基本システムを構成し基礎ファントム実験迄を終了した、CT や MRI 等の各種頭部画像と治療用超音波照射との元となる経頭蓋超音波像との統合を計る Brain Virtual Sonography (BVS)技術についてシステム化した。BVS では、位置の計測方法は磁界の分布を磁気センサで検出し、センサの位置を特定する原理。直交3方向の磁気センサを被験者頭部とプローブとに各1個装着し、実空間座標と磁氣的に得られた空間中の基準点からの移動座標とを対比し基準点で校正することによりプローブと被験者頭部との相対的位置関係を計算し、表示画面上に超音波プローブを含む撮像断面のMR画像を切り出し表示する。BVS を健常例及び血管障害者の頭部画像を用いた臨床試験を行い、精度を確認した。更に、治療超音波制御システムとして、治療操作卓表示画面に BVS 治療モードを取り込み、UI を開発した。別に開発のプローブ固定具、及び初期位置合わせ用アタッチメントと組合せ、BVS 精度試験を行い、精度 3-5mm を確認した。

A. 研究目的

我々は、血栓溶解剤 tPA¹投与と並行して超音波を照射し、血栓溶解時間を格段に早めるシステムとして、経頭蓋超音波脳血栓溶解装置を開発している。

急性脳卒中患者は、発症後直ぐに救急搬送手段により SCU²等の脳卒中患者救急受入病院に入院し、最初にバイタルデー

タを記録し、CT 又は MR を撮り出血／梗塞の判別を行う。梗塞患者のうち、発症 3 時間以内の治療開始等、適応となる患者に、tPA による血栓溶解治療を開始する。

本研究の対象はそれと同時に血栓溶解療法に最適な手順で超音波を照射することにより、溶解時間を短縮するシステムの開発を行っている。

¹ tissue Plasminogen Activator

² Stroke Care Unit

(18年度)

超音波を併用する t-PA 脳血栓溶解療法では、治療用ビーム(Tビーム)を血栓部位に正確に照射する必要がある。しかし、特に高齢の女性においては十分に TCD 画像が得られない場合がある。この様な患者に対して、治療部位を特定する方法として、BVS システムを構築した。BVS は、事前に取得した MRI や CT などの 3 次元ボリュームデータの中から、超音波照射断面と同一断面の 2 次元画像(リファレンス画像)をリアルタイムに且つ自動的に選択・表示するシステムであり、日立メディコの技術である RVS (Real-time Virtual Sonography)⁶⁾を改良したものである。超音波断面と同一断面のリファレンス画像をリアルタイムに表示することにより、経頭蓋的に超音波画像の見えない患者に対しても Tビームを治療部位に標的させることを狙いとしている。磁気センサを超音波プローブ及び、患者頭部の 2 箇所に取り付けることで、超音波プローブの動きと患者の動きを感知する(BVS)。両者の相対位置を正確に把握することでリファレンス画像と超音波画像の位置合わせを行い、目的部位に確実に超音波ビームを照射することが可能となる。開発した BVS システムの位置合わせ精度の確認を 3 種類の実験にて行った。

(19年度)

BVS システムは、超音波診断装置、治療用超音波照射制御装置と、治療・診断(T/D)複合プローブ、磁場発生器、位置センサなどからなり、事前に取得した MRI や CT などの 3 次元ボリュームデータの中から、超音波照射断面と同一断面の 2 次元画像(リファレンス画像)をリアルタイムに且つ自動的に選択・表示するシステムである。T/D 複合プローブ及び被検者頭部の 2 箇所に位置センサを配置することで、両者の位置情報を同時に得ることにより、プローブと被検者の相対位置関係を把握することが可能となる。このことで、超音波像断面とリファレンス像断面が体動などによる外乱の影響を受けずに同一断面を常に正確に表示し、目的部位に確実に超音波ビ

ームを照射することが可能となる。

本溶解療法では、治療用ビームを血栓部位に正確に照射する必要がある。しかし、特に高齢の女性においては十分に TCD 画像が得られない場合がある。この様な患者に対して、治療部位を特定する方法として、BVS システムを構築した。BVS は、日立メディコが独自に開発した技術である RVS (Real-time Virtual Sonography)¹⁰⁾を改良したものであり、経頭蓋的に超音波画像の見えない患者に対しても Tビームを治療部位に標的させることを狙いとしている。

BVS 位置検出精度試験

前年度までに、BVS で使用する位置センサの精度検証の基礎実験を行った。その結果は、位置センサ単体にてセンサを 200 mm スライドした時の、実際の移動量とセンサの読みとの誤差は最大 3.6 mm であった。

次に生体模擬ファントムで満たしたテグスファントムにて、位置センサをプローブに取り付けた BVS システムの位置精度の確認を行った。US 像・リファレンス像の位置合わせを行った後、プローブをテグスの列と平行に 100 mm 移動させ、両画像に現れるテグス線の画面上でのずれの距離とし、誤差を算出した。誤差の最大値は 3.1 mm、平均誤差 0.8 mm となり標準偏差は 1.0 mm となった。

さらに、被検者による模擬実験は、一人の被検者(50 代男性)にて行った。被験者には特別に作製した位置マーカ(MRI 画面上でハイコントラストとなるゲル状物質を 5 mm 角の立方体のアクリルケースに入れたもの)を貼り、超音波プローブには位置マーカ合わせ用のアタッチメントを使用することで、初期位置合わせ精度の向上を図った。US 像と、MRI によるリファレンス画像による BVS 画面上でのずれの距離とし、リファレンス画面上の血管位置と、US 画面上の血管位置の差の測定を行った。測定部位を変えながら誤差を測定した結果、測定誤差は 2~5 mm となることがわかった。TCT-LoFUT システム UI の開発

TCT-LoFUT システムは、超音波による

画像診断、BVSによる位置合わせ機構、Tビームによる血栓部位標的治療の3つからなる。これら治療計画から実際の治療・治療後の再開通確認を通して術者にとって使いやすいシステムを開発する必要がある。

我々は既にTD複合プローブの開発を行っており、BVSシステムにおいても前記実験より、臨床で使用可能であることが示唆される結果となった。Tビームにおいては、 $\pm 45^\circ$ のビーム偏向、及び、焦点深度の選択が可能である。

B. 研究方法 (17年度)

BVSは、日立メディコが開発し、東北大学の岩崎講師らと穿刺治療のUSによるリアルタイムガイドとしての有用性をRSNA他で発表しCUM LAUD等受賞のRVSを、無意識に頭を動かすことの多い脳卒中患者に適用すべく、頭部移動補償機構を開発し装備したものである。RVSはCT/MRのポリウムデータからUS断層面上のデータを抜き出しUS断層像フォーマットで表示する。そのために前期CT/MR撮像時に、患部の3DポリウムデータをDICOM形式で保存しておく。

保存したポリウムデータを本システムの治療計画部に転送、超音波T/D複合プローブに取付けた磁気センサでプローブの位置を識別し超音波断層像の断面を割り出し、ポリウムデータの相等断面を表示する。USのリアルタイム性の利点に対し、撮像領域の限定という弱点をCT/MRの既取得データのリファレンスとしての活用による克服することができる。

本研究ではこのデータを梗塞血流の見え難い患者に対して活用することにより、その梗塞部位支配血管に向けて治療(T)ビームをターゲティングして照射する。RVSの適用にあたり、現行B(断層)像のみであったRVSの表示データを血流(CFM/CFA)像に拡張する点と、無意識に行動してしまう患者の頭部移動時にRVS像が移動し、極端な場合は画面から外に飛び出してしまう点の改善手法とを開発する必要がある。

た。

前者に対しては、従来TV複合信号のみ取り込んでいたものをRGB全て取り込み処理するよう拡張することで対応可能と、一般的には考えられよう。しかし医療現場での使用に耐えるにはリアルタイム性が重要で、処理部である治療計画部を、その処理速度として実用に耐えられる応答を確保できる構成とすることが可能なことを、確認する必要がある。

一方後者に対しては、移動する患者の体(この場合は頭部)に対して、ターゲティングのための断層面に相対的に追従することが必要十分条件である。RVSにおいて、超音波診断プローブに磁気センサを固定し、断層面の情報(位置及び傾き角)を抽出しその基準点を上記ポリウムデータの相等点と対応・合致させるレジストレーションという手順を経て、当該ポリウムデータからUS断層面に対応するCT/MR断層情報を抽出・表示している。そこで本研究では、リファレンスの磁気センサを用意し、それが頭部の動きに追従するように構成することで、基準点が常に生体の同一点に追従するようにし、これをBVSと呼ぶこととした。頭部に参照センサを固定すると、レジストレーション時の基準点が頭部の動きに追従し、移動する頭部の中に相対座標を構築したことに相当するので、BVSではCT/MRの座標とUSの断層面の座標とを合致させることが出来る。

(18年度)

開発中のBVSシステムの構成を図1に示す。BVSシステムは、超音波診断装置と超音波照射制御装置と治療・診断(T/D)複合プローブ等から成るTCT-LoFUTシステムの、TD複合プローブ及び被検者頭部の計2箇所位置センサを配し、位置情報を同時に得ることにより両者の相対位置関係を把握し、超音波像断面とリファレンス像断面が体動などによる外乱の影響を受けずに、同一断面を正確に表示することが目的である。

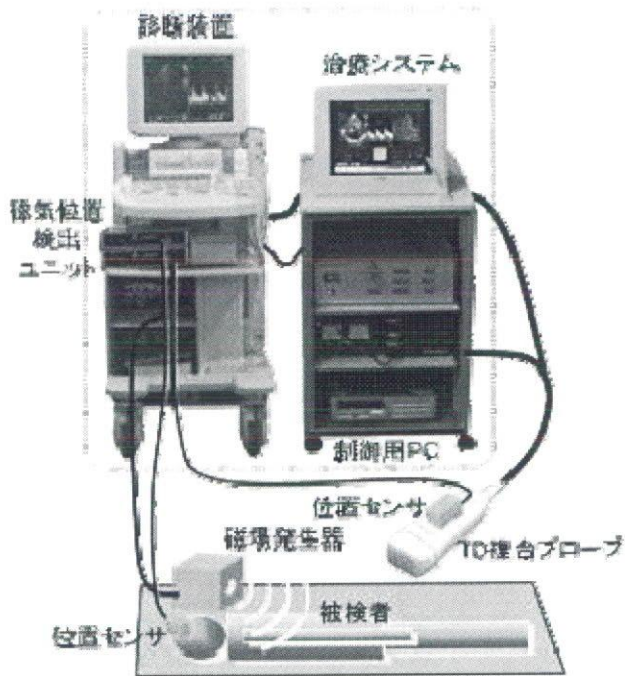


図1 BVSシステム構成

実験1

まず、位置センサの距離精度確認実験を単純な系にて行った。位置センサの内ひとつを机の上に配置し、樹脂製スケールに固定し、スケールを直線状に 200 mm 平行移動した。1センサ時は定規上の位置センサの移動量を測定した。2センサ時はもうひとつのセンサを机の上に固定し、両センサの表示値の差を取ることで2つのセンサの相対位置を算出し、夫々実際の移動量に関する指示値として、BVS システムの位置精度を確認した。

実験2

次に、生体模擬ファントムを用いた BVS 表示位置の精度確認実験を行った。

実験では、D×W×H: 186×186×175 mm のサイズのアクリル製容器内にナイロン繊維製のテグスを縦横に張り、生体模擬材料を満たしたテグスファントムを作成して用いた。

図2にテグスファントムの外観を示す。白色の生体模擬材料の内部にテグスが張ってある。

テグスファントムの CT・US 画像を次に示す。図3で(a)がファントム上部から内部を

撮影した US 画像、また(b)が US 画像と同一の位置における CT 画像のリファレンス画像である。両者とも、生体材料は散乱体の集合が点の集合として表示され、テグスが白く表示される。

別途、アクリル容器の周囲には複数点の CT 用マーカ(Beekley 社製 CT-SPOTS® pellet: $\phi 2.3$ mm の CT 画像上でハイコントラストとなる物質)を貼り付け、CT 撮影を行った。CT 画像は DICOM データとして治療システムの PC 内に取り込んだ。

CT 撮影後、アクリル容器外壁の任意の位置に位置センサのひとつを取り付けた。もうひとつの位置センサを取り付けた超音波プローブにより CT マーカ3個を用いて3点法(ケース外側の任意のマーカ3点で実空間上に、さらに、データ上の上記に対応する3点でポリウムデータ上にそれぞれ平面を設定し、両者の座標を一致させることによりリファレンス画像と US 画像との位置合わせを行う方法)により、超音波断面と、リファレンス断面の初期位置合わせを行った。その後、テグスファントム内のテグスの位置を頼りに超音波プローブを 100 mm 移動させ、CT のリファレンス画像と超音波画像との座標の差から位置精度を確認した。さらに、プローブの向きを 90° 回転させ、同様に 100 mm 移動させて位置精度を確認した。

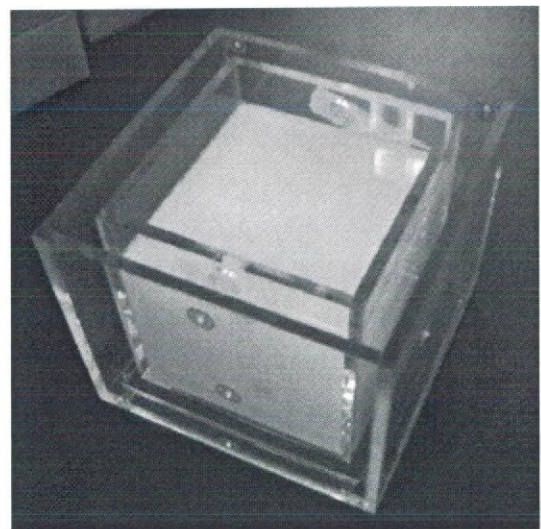
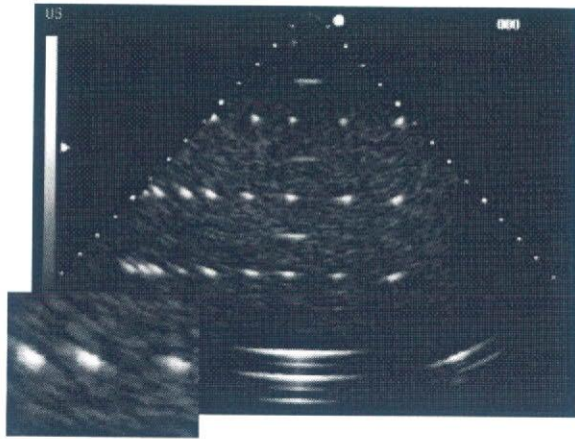


図2 テグスファントム外観



拡大図 (a) US 画像



拡大図 (b) CT 画像

図3 テグスファントム画像

実験3

最後に、被検者による治療計画の模擬実験を行った。位置マーカには MRI 用マーカ(MRI 画像上でハイコントラストとなるゲル状物質を5 mm 角の立方体のアクリルケースに入れたもの)を用いた。図4にマーカ形状を、図5に3箇所 of マーカ貼付位置を示す。

上記アクリル製マーカをサージカルテープにてヒト被検者の頭部3点(右額、左額、左頬骨部)の表皮に固定し、MRI 撮影を行った(0.4T Open 型 MRI 装置: 撮像条件 T1, T2, Flair, MRA)。その後、DICOM 形式にて MRI 画像を治療システムに取り込んだ。

MRI 撮影後、被検者の額中央に位置センサを貼り付け、実験2と同様に位置センサを取り付けた超音波プローブを用いて、

MRI マーカ3点を用いた3点法により初期位置合わせを行った。なお、今回は位置合わせ精度向上のため、図6に示す位置合わせアタッチメントを用いて正確に初期位置合わせを行った。

このアタッチメントは、レジストレーション(初期位置合わせ)の時のみプローブ表面にツメ部分で嵌め合せるように装着し、プロトコルにおいては取り外して使用するよう設計されている。

MRA 画像をリファレンスとして頭蓋内中大脳動脈(Middle Cerebral Artery: MCA)の M1 及び M2 を探し出し、超音波画像との比較を行い、さらに、血流のドプラ波形の取得を試みた。試験の様子を図7に示す。

なお、上記3種の実験において、磁場発生器・磁気センサに影響を及ぼす範囲に磁性体物質を排した実験機・ベッドを開発し、使用した。

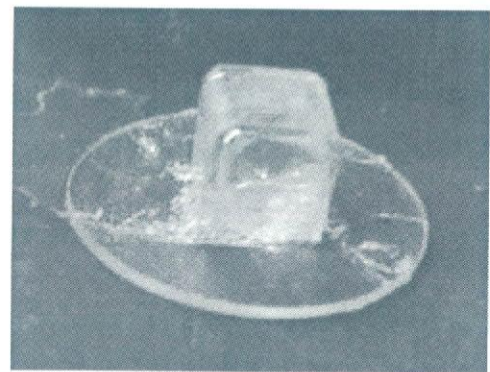


図4 マーカ形状外観



図5 マーカ貼付け位置

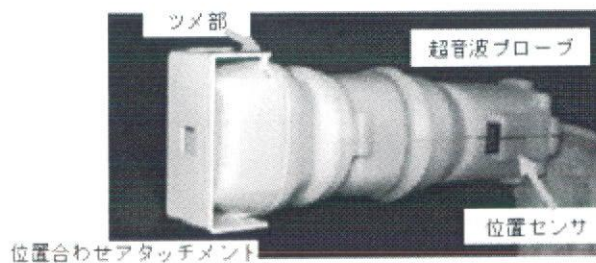


図6 位置合わせアタッチメント



図7 治療計画模擬実験

(19年度)

BVS 位置検出精度試験

前年度の結果を元に、最終年度は次の実験を行うことで BVS システムの精度の確認を行った。

実験1

BVS システムにて使用する磁場発生器は本体を中心に磁気を四方に放射する設計であるため、例えば、使用するベッドに含まれる磁性体物質の影響を受け、磁気位置検出精度に影響を与える。磁場発生器の別の形体として、磁場を垂直にかけることでベッドの磁性体物質の影響をなくすことが可能な新しい磁場発生器(フラットトランスミッター; Ascension 製)がある。今回は、従来の磁場発生器とフラットトランスミッターの両方を磁性体のベッド上で使用し、両者の検出精度の比較試験を行った。

実験2

センサとプローブ表面との位置が離れていることが誤差を大きくする原因ではないかと考え、センサを直接接触させた場合と、プローブにセンサを搭載した場合の2通りにて誤差を評価した。

測定対象は CT マーカ付きファントム(立方体のアクリルケースの外側に 13 個の CT マーカを貼り付けたもの)であり、CT マーカを貼り付けた状態で CT 撮影を行い、これをリファレンスデータとした。

図8に BVS 専用プローブホルダの形状を、図9に実験環境であるファントム配置を、図10にファントムと CT マーカの位置関係を示す。また、CT 画像におけるファントム、CT マーカ

の撮影結果の一例を図11に示す。拡大図の○枠中央部の点がマーカの画像である。

実験3

詳細は別報告で記載するが、本年度はプローブ固定具の新しい設計として、ポイントセッター(PS: 三鷹光器製)が有用であることがわかった。そこで、PS に含まれる磁性物質が BVS 位置精度に与える影響を確認するため、磁気センサに PS を近づけた際にどの程度磁気位置検出精度に影響を与えるかを検証した。図12に配置図を示すが、磁気センサを非磁性の台の上に固定し、PS 先端部をセンサに近づける(約 10 mm)場合と、遠ざける(約 1 m)場合の2種類にて位置センサの読み取り値を X, Y, Z それぞれの軸にて計測した。



図8 BVS 専用プローブホルダ

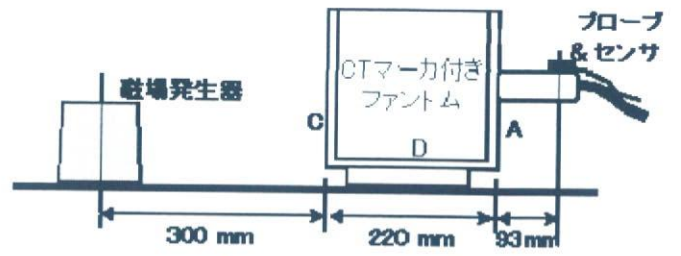


図9 ファントム配置

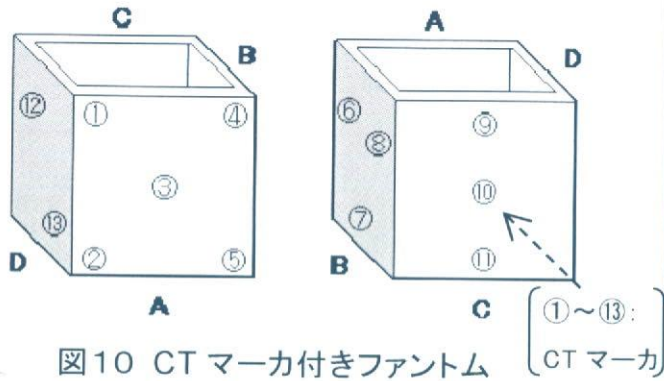


図10 CT マーカ付きファントム

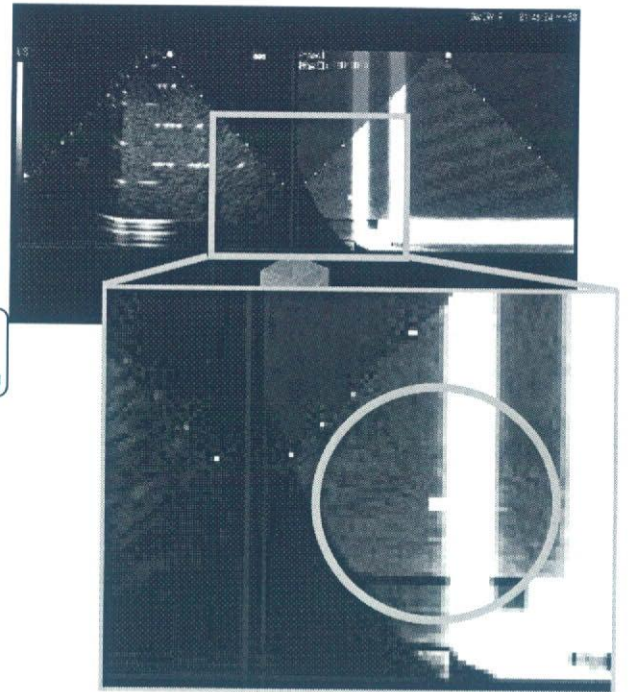


図11 ファントム・マーカ画像

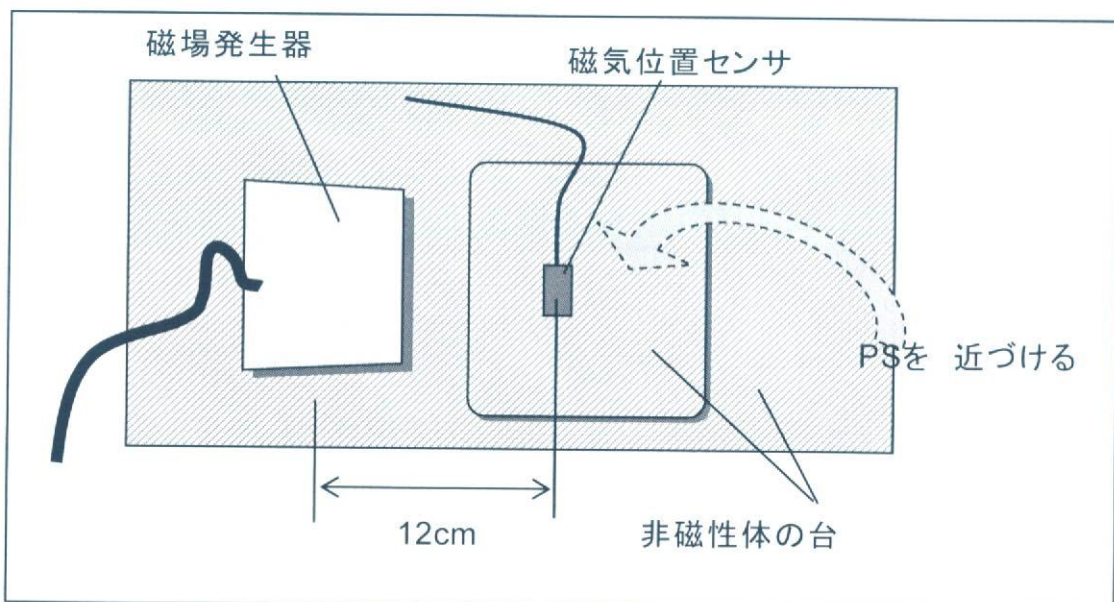


図12 実験配置図

C. 研究結果

(17年度)

磁場発生器①、磁気式位置測定ユニット②、及び、磁気センサ③から成るRVSを構成する、磁気式位置測定システムの外観を図13に示す。

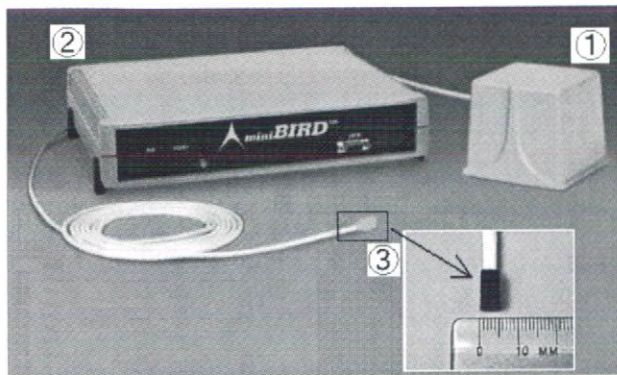


図13 磁気式位置測定システム

磁場発生器1台、位置測定ユニット及び磁気センサ各2個によりBVSを構成した。ここに2台の位置測定ユニットは連携動作するように接続される。詳細は別報参照。

(18年度)

BVSシステムについて18年度の実験結果を以下に示す。

実験1

定規を直線状にスライドした際の、定規の読みと、位置センサの指示値をプロットした結果を図14に示す。

200 mmの移動に対して、センサの読みは1センサ、2センサとも十分に追随している。

そこで、本実験系による誤差を詳細に調査するために、位置センサの実際の移動量との誤差を算出した。結果を図15に示す。

実際の移動量との差は距離が遠くなるほど加速度的に大きくなり、200 mm移動後には誤差は最大 3.6 mm となっていること

がわかる。

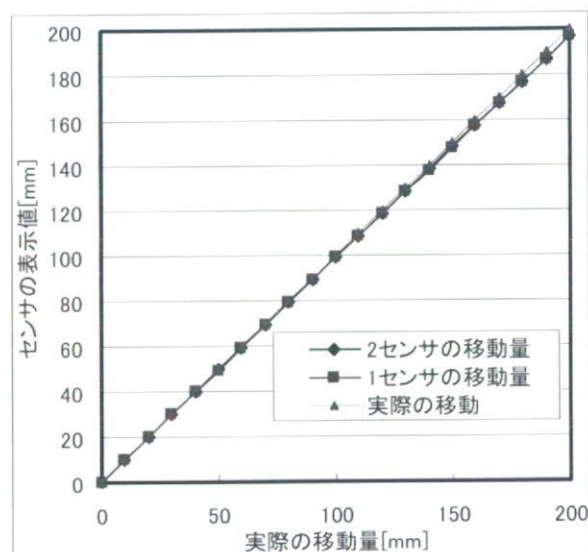


図14 誤差測定実験1結果-1

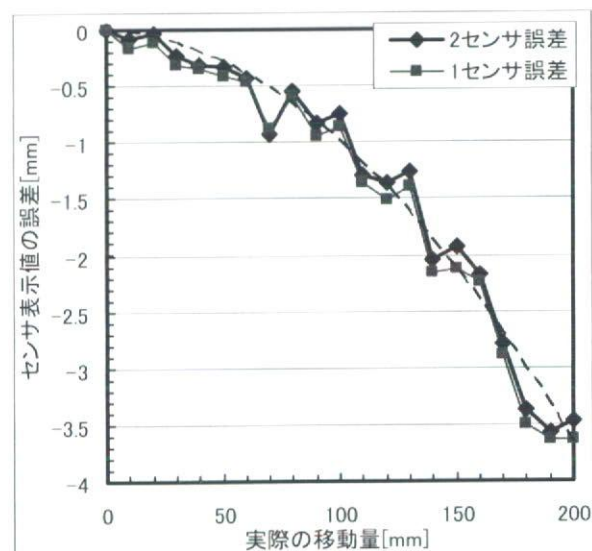


図15 誤差測定実験1結果-2

実験2

図16に、ファントムを用いた位置精度の模擬実験の様子を示す。プローブをテグスの列と平行に移動させ、CT画像上のテグス位置とUS画像上のテグス位置を比較して両者の誤差からBVSシステムの誤差を算出した。実験は複数回行った。

誤差の最大値は 3.1 mm、平均誤差 0.8 mm となり標準偏差は 1.0 mm であった。

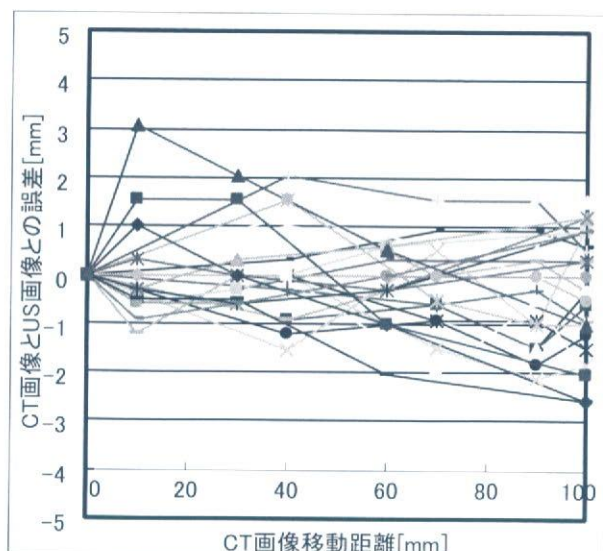


図16 誤差測定実験2結果

実験3

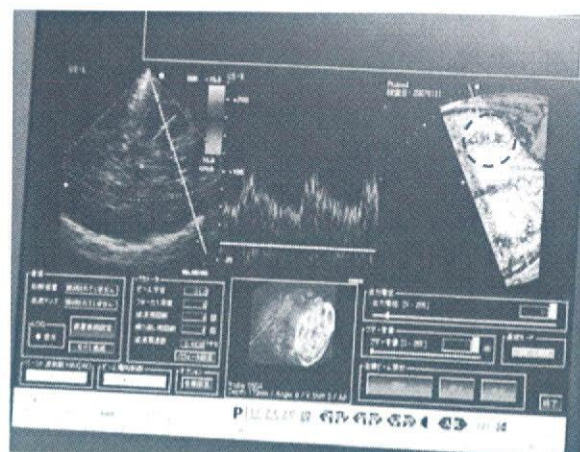
最後に、被検者による模擬実験の結果を示す。一被検者で3点法初期位置合わせから血管描出、ドプラ波形取得まで行った。

US 像と、MRI によるリファレンス画像による BVS 画面を図17に示す。血管描出は全て MCA にて行い、左右の MCA-M1 及び M2 の描出を試みた。ただし、本被検者は、TC-CFI にて右 MCA-M1 の画像は取得できなかったため、実験は (a) 左 MCA-M1、(b) 右 MCA-M2、(c) 左 MCA-M2 の3回行った。BVS 誤差は US 像・リファレンス像の両画像の画面上でのずれの距離とし、リファレンス画像上の血管位置と、US 画面上の血管位置の差とした。

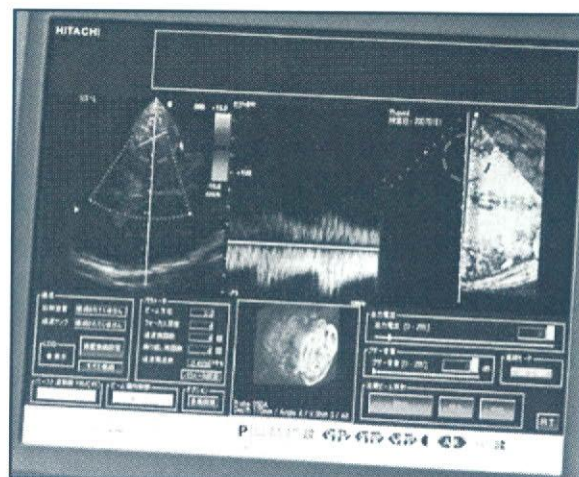
BVS 誤差測定の結果は以下の通りとなった。(a) 左 MCA-M1 は誤差 2~3 mm 程度、(b) 右 MCA-M2 は誤差 5 mm 程度、(c) 左 MCA-M2 は 1~2 mm 程度であった。

さらに、誤差測定後にリファレンス像を頼りにパルスドプラ波形の取得を試みたが、3回ともリファレンス像の血管部位にてドプラ波形は観測されなかった。

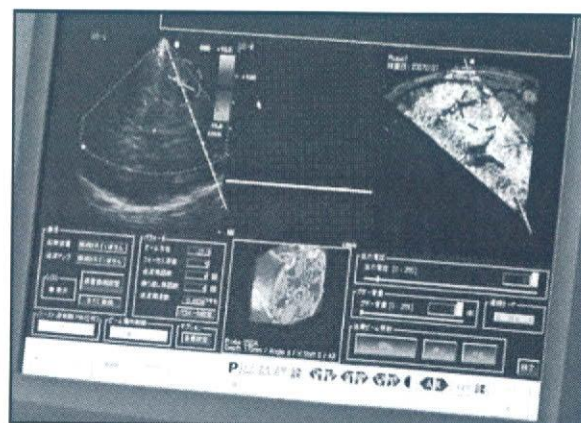
(a)、(b)では、その状態から超音波画像を頼りにプローブ位置・姿勢の微修正を行い取得した波形が取得されている(同図(c)は微修正前の画像である。微修正後にはパルスドプラが取得可能であった)。



(a) 左側 MCA-M1



(b) 右側 MCA-M2



(c) 左側 MCA-M2

図17 治療計画模擬実験結果

(19年度) BVS 位置検出精度試験
実験1

通常病棟で使用されるベッドの上面で、前年度まで使用していた磁場発生器を使用したものと、フラットトランスミッターを使用した際の位置検出エラーの比較を行った結果を次に示す。位置センサ 10 mm ピッチで 200 mm 移動させた際の移動の軌跡をプロットした。

図18には、今までの磁場発生器を使用してセンサ動の軌跡をプロットした結果を示す。軌跡が湾曲するものや、突然別の場所に飛んで表示されている。

フラットトランスミッターを使用した場合には図19に一例を示すように、ベッドの磁性に関係なく、位置センサ読み取り値が、センサ移動にリニアに追従することがわかる。

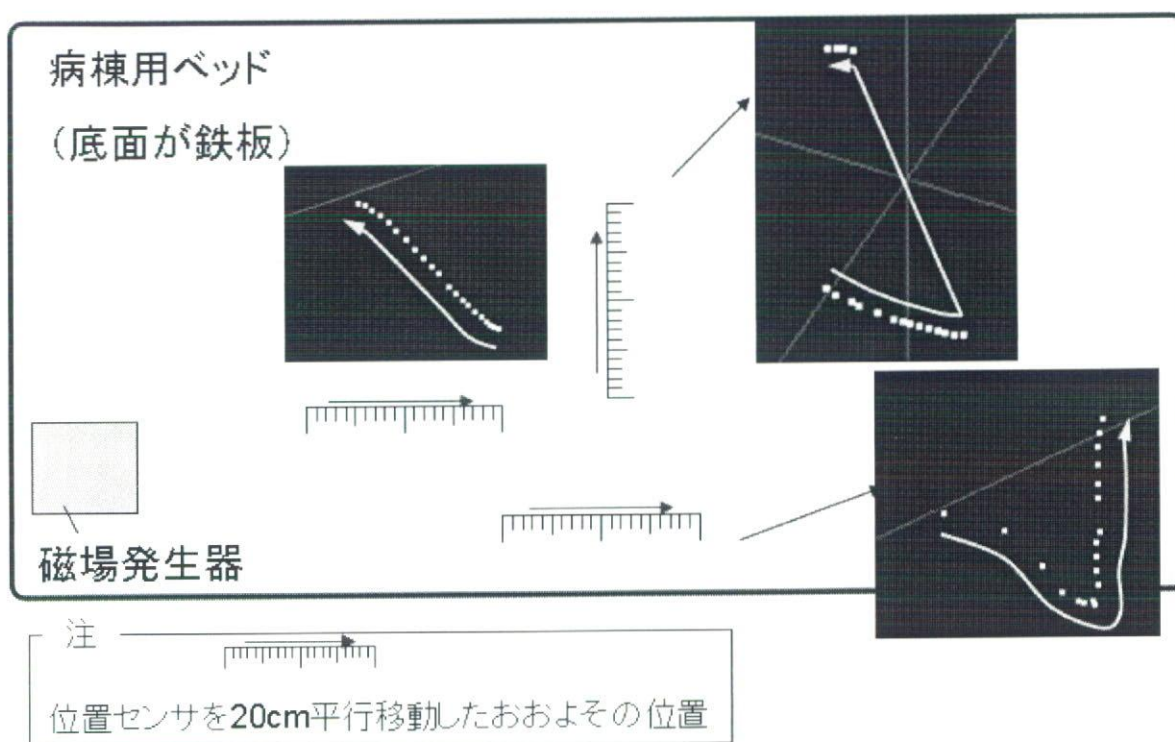


図18 今までの磁場発生器を使用した位置センサの軌道プロット

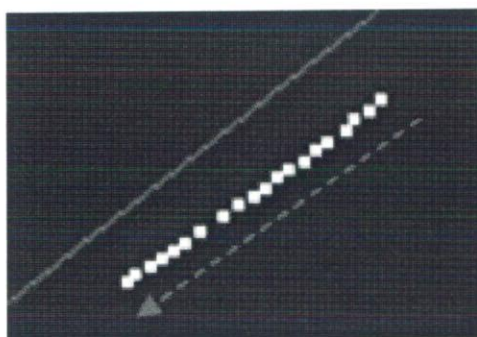


図19 フラットトランスミッターを使用した位置センサの軌道プロット

実験2

プローブ表面と磁気センサ位置が離れていることが初期位置精度に影響を与えるかを確認するため、プローブに位置センサ付けた場合と、位置センサ体での初期位置精度を比較した。

測定条件は、図20に示す通り、3点の基準点を①、⑫、⑮とした。また、誤差を測定する観測点を③、⑥、⑨、⑬の4点に取った。

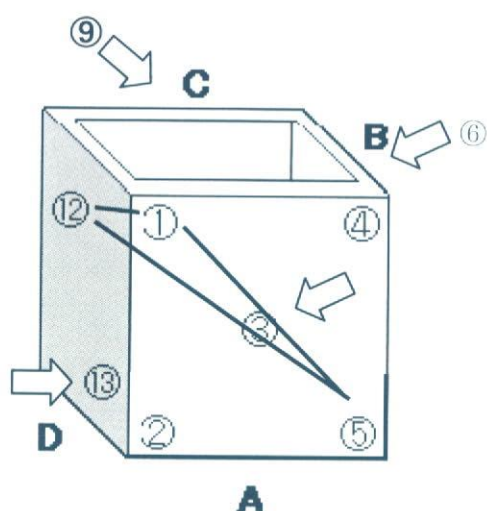


図20 基準点(①, ⑫, ⑮)

表1の結果より、センサプローブに付属している状態では、位置センサ、プローブ表面(超音波放射面)が離れているため、初期位置合わせ時の誤差が大きくなることが判明した。また、基準点3点で作る三角形から離れるほど位置合わせ後に画像が指し示す位置の誤差は大きくなることがわかった。

| | プローブ付属 | センサ単体 |
|---|----------|----------|
| ③ | 2.5 (mm) | 1.1 (mm) |
| ⑥ | 6.6 (mm) | 4.0 (mm) |
| ⑨ | 7.8 (mm) | 4.6 (mm) |
| ⑬ | 4.2 (mm) | 4.1 (mm) |

表1 初期位置合わせ結果

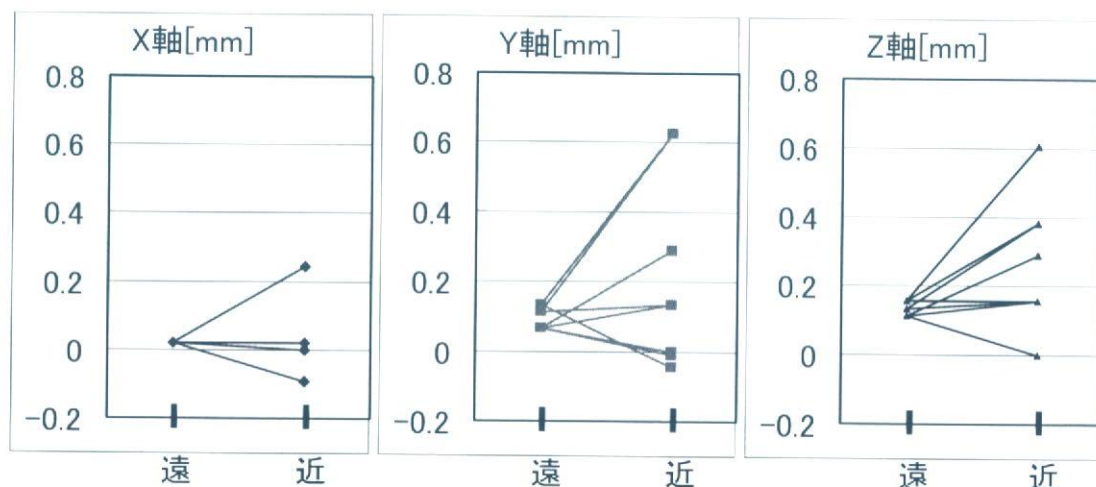


図21 PSによる位置検出誤差測定結果

実験3

PSを動かし、位置センサとの距離を変化させ、近づけたり遠ざけたりする動作を繰り返し測定した。PS先端部を位置センサ近づけた際の実験結果の一例を図21に示す。センサ出力の読み取り値はばらつきがあるが、ひとつの軸に対して最大0.6 mmの変化を示した。

$$\text{誤差} = \sqrt{x^2 + y^2 + z^2}$$

また、検出誤差は上記の式で算出されることから、最大0.9 mmであると算出された。

PS先端部を近づけると位置検出に誤差が出るのはPS内の磁性体が原因である。部品の素材により、影響の程度が異なり、本製品では、先端部の回転制御用のノブ、及び、回転球体内のバネが磁性体物質で構成されているためであり、これが磁気センサ影響を与える大きな要因となっていることがわかった。

D. 考察

(17年度)

BVSの精度確認が出来ている。使用方法によって精度を確保できる見通しがたった。別報告で示すように、T/D複合プローブや頭部固定具の確認試験、更に、治療計画・T/D連携制御をスムーズに行うためのGUIのプログラムにBVSの機能を取り込むことにより、治療システムとして有用な装置となりえることが示唆された。

(18年度)

BVSシステムの精度確認に関する3種類の実験を行い、2種類のファントム実験においてはUS画像とリファレンス画像との誤差が3 mm程度、被検者を用いた実験計画模擬実験においても最大誤差5 mm程

度となるシステムとなった。

脳梗塞治療においては患者への安全性を高めるため、Tビームはあまり収束させることは考えておらず、焦点におけるビーム幅は10 mm程度と考えている。上記の結果と照らし合わせると、5 mm程度の誤差であれば標的とする治療部位に治療用ビームが照射されることが示唆される。

しかし、リファレンス画像のみから脳血流を探索可能とはならず、経頭蓋超音波診断の不可能な患者に対して治療の正確性を高めるうえでは更なる精度が要求される。

(19年度)

BVSシステムの精度堅守に使用する磁場発生器には、従来型のものと、フラットトランスミッター型のものが考えられた。従来型のもは、設置面積が小さい点では有利であるが、磁場発生器－位置センサの間に磁性体物質がなくても、例えば設置面に磁性体物質が含まれると、磁気位置検出精度に大きな影響を与える。フラットトランスミッターは上面に向かい磁場を発生させるため、設置面の材質を選ばない。このため、使用するベッドの材質によらずBVSの位置検出が可能であることを確認した。また、フラットトランスミッターの上に磁性体物質を持ち込んだ際も、位置センサの近辺(5 cm程度)に配置しなければ検出精度に影響を与えることがないことがわかった。

尚、精度の確保できる組込みシステムとしての総合評価は今後の臨床試験における課題である。

E. 結論

(17年度)

患者が無意識に頭を動かした時に、CT/MR のボリュームデータに追従する超音波断層の位置センシング手法である BVS を開発した。

今後、更なる改善を積み上げ、MCA 等血流の連続モニタから組合せ装置としての動作確認を行う。

(18年度)

BVS システムの精度確認に関する実験を行い、被検者を用いた実験計画模擬実験においても最大誤差 5 mm 程度と誤差の小さいシステムとなった。

しかし、リファレンス画像のみから脳血流を探索可能とはならなかった。T ビームは D ビームより格段に広いビーム幅を持っているが、目標照射部位と T ビーム位置との誤差評価が今後の課題である。

(19年度)

BVS システムの位置検出精度の確認実験では、フラットトランスミッターは使用するベッドの材質によらないという点で本開発品での BVS システムに於いては有用な手段であることがわかった。また、プローブ固定を精度よく行うための PS の構成部品には磁性体物質が含まれているが、非磁性の物質に置換することで解決可能である。治療システムを行うための UI に関して、臨床医の意見を取り入れながら改良を行い、BVS の使用・不使用を問わず臨床使用に則した使い勝手の良いシステムとなった。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

[I] 論文発表:

発表論文なし。

[II]学会発表: 本研究の構想、内容、及び試験結果につき以下の発表を行った。

1. 荻原誠、荒井修他5名;「経頭蓋超音波脳血栓溶解治療における Brain Virtual Sonography の可能性」;第25回日本脳神経超音波学会 (2005/4月)
2. J. Kubota, M. Ogihara, et al; "Control of transcranial ultrasonic beam targeting to cerebral infarction with brain virtual sonography"; 6th International Symposium on Therapeutic Ultrasound (2006/8月)
3. M. Ogihara, O. Arai, J. Kubota, et al; "Possibility Of Real-time Virtual Sonography System For The Brain Thrombolysis Therapy With Ultrasound"; 2006 IEEE International Ultrasonics Symposium (2006/10月)
4. 荻原誠, 荒井修, 窪田純他3名、「経頭蓋超音波脳血栓溶解治療における Real-time Virtual Sonography の誤差評価」, 第9回日本栓子検出と治療学会 (2006/11月)
5. 三竹毅、荒井修;「Real-time Virtual Sonography の開発」;日立メディコ HP(MEDIX Vol.40, p.31-35)
6. 荻原誠、荒井修、窪田純他3名;「Brain Virtual Sonography の経頭蓋超音波脳血栓溶解治療への適応」;日本超音波医学会第80回学術集会:日本超音波医学会 (2007/5月)
7. M. Ogihara, O. Arai, J. Kubota, et al; "Accuracy Improvement of Brain Virtual Sonography System for Clinical Use "; 7th International Symposium on Therapeutic Ultrasound (2007/6月)
8. 三村秀毅、井上聖啓、窪田純他3名;

「Brain Virtual Sonography を用いた MRI 誘導下超音波脳血栓溶解療法—健常ボランティアでの精度検証—」; 第 27 回日本脳神経超音波学会 (2007/7 月)

9. 三村秀毅、井上聖啓、窪田純他 3 名;
「超音波併用脳血栓溶解療法における Brain Virtual Sonography の有用性」; 第 33 回日本脳卒中学会総会 (2008/3 月)

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