

201114003A

厚生労働科学研究費補助金  
医療技術実用化総合研究事業

低侵襲的低周波超音波脳血栓溶解法の効果増高  
に関する臨床応用基盤研究

平成23年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 古幡 博

平成24（2012）年 5月

厚生労働科学研究費補助金  
医療技術実用化総合研究事業

低侵襲的低周波超音波脳血栓溶解法の効果増高  
に関する臨床応用基盤研究

平成23年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 古幡 博

平成24（2012）年 5月

## はじめに

本研究報告書は、平成 20 年 11 月よりスタートした「先端医療開発特区」すなわちスーパー特区を推進する目的で、平成 21 年 11 月に採択された厚生労働省科学研究費補助金による研究課題「低侵襲的低周波超音波脳血栓溶解法の効果増高に関する臨床応用基盤研究」の 23 年度（最終年度）の報告書である。われわれのスーパー特区課題は「急性脳梗塞早期系統的治療」のための分野横断的診断治療統合化低侵襲システムの開発」（略称、急性脳梗塞治療特区）で、内外に高率に発症する脳血管障害の中でも虚血性脳卒中に対する低侵襲治療法を開発し、これをもってその社会復帰率向上を目指すものである。

本厚生労働省科学研究費補助金によって、最終年度である本年度は、その臨床実現に向かって努力した。昨年度まで開発してきた、世界を凌駕する超音波画像誘導方式の経頭蓋的超音波標的脳血栓溶解技術を敷衍する、いわば次世代型の技術開発を行った。「次世代型」とはこれまでの研究成果を踏まえ、臨床現場により密着した装置であることを意味している。すなわち、脳梗塞発症患者が疼痛などのために頭部を大きく動かしたり、激しい体動を引き起こしても、これに対し Navigation 機能などを使わずに常に標的部位に超音波を照射し続けられる装置にし、血栓溶解剤の適応患者誰にも彼にも適応できるようにするものである。急性脳梗塞といういつでもどこでも発症し得る極めて重篤な疾病に対し、CT 画像による診断のできる医療機関であれば日本国内いたるところでこの装置が普及し得ると考えられる。この次世代的目的にむかって課題となるいくつかの技術的障壁を乗り越え、最終年度は臨床試験に向けた技術的見通しを得ることができた。とりわけその臨床試験の際に不可欠となる比較臨床データ、すなわち現行の血栓溶解剤静注療法のもつ再開通状態に関する臨床成績を蓄積することができた。これらの臨床データは、（独立）国立循環器病研究センターと東京慈恵会医科大学において集積され分析中頃された。

上述のスーパー特区の所期の目的達成に本研究成果は大きく貢献するものである。本研究を終了するにあたり研究者一同この成果が一刻も早く本邦死因の第一位を占める脳卒中患者の救済に役立つことを願ってやまない。

平成 24 年 3 月末  
研究代表者 古幡 博  
(東京慈恵会医科大学 医用エンジニアリング研究室 教授)

# 目 次

## I. 総括研究報告

- 低侵襲的低周波超音波脳血栓溶解法の効果増高に関する臨床応用基盤研究 ---- 1  
古幡 博

## II. 分担研究報告

1. 血栓溶解用超音波音場強度分布の測定 ----- 43  
金本 光一, 古幡 博, 齋藤 理
2. 中周波超音波併用血栓溶解療法における雑音変調法を用いた ----- 53  
定在波抑制効果の比較研究  
古幡 博, 川島 裕幸, 齋藤 理, 清水 純
3. 経頭蓋超音波照射法による頭蓋内多重反射の影響 ----- 63  
齋藤 理, 古幡 博
4. 中周波数超音波血栓溶解法の効果増高—in vitro 実験による定量評価— -- 71  
古幡 博, 王 作軍, 澤口 能一, 野村 卓史, 持尾 聰一郎, 幸 敏志
5. バブルリポソーム併用超音波血栓溶解療法の研究 ----- 81  
丸山 一雄
6. 低侵襲的低周波超音波脳血栓溶解法の臨床導入に向けた体制構築 ----- 85  
古賀 政利, 鈴木理恵子, 遠藤 薫, 山本 晴子, 峰松 一夫
7. TCCS/MRAによるrt-PA施行虚血性脳卒中の閉塞血管早期再開通率の検討 - 93  
鈴木 理恵子, 古賀 政利, 遠藤 薫, 山本 晴子, 峰松 一夫
8. 経頭蓋カロードプラ法における探触子頭部固定具の開発 ----- 97  
遠藤 薫, 古賀 政利, 鈴木 理恵子, 山本 晴子, 峰松 一夫

9. 経頭蓋超音波併用脳血栓溶解法の再開通時間評価に関する研究 -----	109
持尾 聰一郎, 小川 武希, 三村 秀毅, 羽野 寛, 鈴木 正章, 福田 隆浩	
10. 救急医療における経頭蓋超音波併用療法の有効性 —急性脳梗塞治療迅速化に関する遠隔画像診断治療補助システム利用と 救急医療— -----	117
小川 武希, 村山 雄一, 高尾 洋之	
III. 研究成果の刊行に関する一覧表 -----	123
IV. 研究成果の刊行物・印刷 -----	125

# I . 総括研究報告書

## 低侵襲的低周波超音波脳血栓溶解法の効果増高に関する臨床応用基盤研究

研究代表者 古幡 博 東京慈恵会医科大学 総合医科学研究センター  
医用エンジニアリング（ME）研究室 教授

### 研究要旨

急性脳梗塞（Acute Ischemic Stroke: AIS）発症患者の第一治療選択は血栓溶解剤 rt-PA 剤の静注療法である。この治療法には適用時間の限界（発症後 4.5 時間）適用量依存出血率増高傾向、再開通時間依存的な三ヶ月後の神経予後の不良等の問題を含んでいる。その為、血栓溶解を加速する経頭蓋的超音波照射併用法の研究開発に大きな期待が寄せられている。本研究では、その最終年度として臨床現場で幅広く使い得る貼付型ソフト超音波振動子を新たに導入し、経頭蓋的超音波脳血栓溶解法としての次世代普及型の技術開発を行った。また、これを臨床現場に導入する為に、その新治療法の対照データとなる rt-PA 静注療法における再開通状態を国立循環器病研究センターおよび東京慈恵会医科大学において蓄積・分析した。

本研究の最終年度として、次の方法を用い上述の全体目標に対する研究を遂行した。まず、新開発の貼付型ソフト超音波振動子（Pastable Soft Ultrasonic Transducer: PSUST）の発射する超音波ビームが標的となる中大脳動脈（Middle Cerebral Artery: MCA）領域に超音波や MRI の画像誘導なしに照射し得るようなビーム状態になりえるかどうかを検討した。無誘導下でも標的性を維持する為に PSUST に対する駆動電圧を雑音変調方式とし、またそれによるビーム形状の 3 次元分布を AISS およびシュリーレン装置で確認した。さらに、長時間にわたる PSUST の照射が頭蓋内に発生させうる定在波の回避の可能性を安全性の観点から同様の実験系で検討した。新規に導入した雑音変調方式は、超音波周波数帯の広域化を必要とする技術であるので、広域周波数に対する血栓溶解効率の特性を牛フィブリン塊による溶解実験で確認した。ここで用いた光学的溶解率高精度測定法は昨年度に完成したものである。これらの実験の結果、次の研究成果を上げる事が出来た。1) PSUST を雑音変調駆動する新方式では、ビームがほぼ均一で、音圧の低い cold spot や、音圧の高い hot spot を生じない事。2) PSUST による連続波照射による頭蓋内多重反射に起因する定在波は雑音変調方式を採用する事で著しく軽減し得る事。3) PSUST の定在波の評価は、多重反射回数に依らず頭蓋内反射率が分かれば 1 回反射の実験で同定し得る事。4) 雑音変調型駆動方式が広帯域であるが、牛フィブリン塊に対する併用実験の結果では、血栓溶解効果は超音波周波数に依存しない事（周波数 400kHz ~ 2MHz）。5) したがって PSUST 臨床適用する場合には、頭蓋骨に対する超音波透過率の高い中周波数を用いるほうが有効である事。これらの成果から、AIS 患者の側頭部に口径の大きな PSUST（試作では 30 x 30mm）の振動子を用いれば、無誘導下でも標的 MCA に超音波を経頭蓋的に照射する事が出来、血栓溶解効果促進の効果を充分期待出来る事を明らかにした。

一方、この技術を臨床適用するにあたり、現行の rt-PA 静注療法を施行した臨床成績を上記 2 施設で分析した。適用患者に対し、経頭蓋的に診断用のカラー Doppler 装置を適用し、15 分間隔で再開通状態を監視した。その結果、現行法の再開通時間は 30 分 ~ 60 分に集中していることが明らかとなった。三ヶ月後の神経予後の状態は再開通時間が短ければ短い程良好である傾向を示した。これに対し、上述の PSUST を用いた新技術を適用した場合の成績は、恐らく著しい再開通時間の短縮をもたらし、三ヶ月後の

神経学的予後の転帰良好となる事が期待された。

以上、本年度は、次世代普及型の経頭蓋超音波脳血栓溶解法に供するPSUSTとの有効性とその安全性を技術的に評価し、また、血栓溶解効率の広帯域化した新PSUST方式を適用しても十分確保出来る事を実験的に確認した。また、その臨床適用の為の対象データ確保にも成功した。これらによって、本研究プロジェクトの所期の目的を概ね達成した。

研究分担者		研究協力者	
峰松一夫	国立循環器病研究センター 副院長	鈴木理恵子	国立循環器病研究センター 脳血管内科 医師
山本晴子	国立循環器病研究センター 先進医療・治験推進部 部長	遠藤 薫	国立循環器病研究センター 脳血管内科 医師
古賀政利	国立循環器病研究センター 脳卒中集中治療科 医師	王 作軍	東京慈恵会医科大学 ME研究室 研究員
小川武希	東京慈恵会医科大学 救急医学講座 教授	澤口 能一	東京慈恵会医科大学 ME研究室 研究員
持尾聰一郎	東京慈恵会医科大学 神経内科学講座 教授	齋藤 理	東京慈恵会医科大学 ME研究室 研究員
羽野 寛	東京慈恵会医科大学 病理学講座 教授	清水 純	東京慈恵会医科大学 ME研究室 研究員
金本光一	東京慈恵会医科大学 ME研究室 准教授	野村 卓史	東京慈恵会医科大学 ME研究室 研究員
鈴木正章	東京慈恵会医科大学 病理学講座 准教授		
福田隆浩	東京慈恵会医科大学 神経病理学研究室 講師		
三村秀毅	東京慈恵会医科大学 神経内科学講座 助教		
丸山一雄	帝京大学 薬学部 教授		
幸 敏志	田辺三菱製薬株式会社 研究本部 薬理研究所薬理1A グループマネジャー		
川島裕幸	株式会社カネカメディックス 開発本部 製品開発グループリーダー		



## A. 研究目的

本邦死因を臓器別に分類すると、脳卒中がその第一位を占める。その脳卒中の6割強が脳梗塞である。脳梗塞は発症早期の治療によって救済可能な疾病とされるが、現状では発見が遅く、急性脳梗塞発症状態での治療は殆ど困難である。しかし、発症4.5時間以内であれば、血栓溶解剤rt-PA静注療法を施行する事によってその救命率は高くなる。とは言え、rt-PA適用患者は脳梗塞(AIS)患者の数%に留まっている。現行のrt-PA静注療法の成績は、死亡率1~2%、症候性出血5~6%、三ヶ月後の神経学的予後(RMS 0~1)は施設依存的ではあるが20~30%程度である。このrt-PA静注療法における適用時間の限界および出血率の高さ、再開通率の低さは、AISの第一選択的治療法に対し多くの臨床医が不満を抱いている所である。rt-PA静注療法の改善策として、適用時間の長い新血栓溶解剤の登場や、血栓溶解剤の薬理効果を高める物理的な超音波の併用が次世代の超急性期血栓溶解療法として期待されている。

本研究は、このrt-PA静注療法に対する改善策として、経頭蓋的に中周波数500kHzを用いた場合の溶解率向上、再開通時間の短縮効果を臨床現場に導入し、AIS患者の救済率向上に貢献することを目的としている。既に臨床現場では診断用超音波2MHzパルスドップラー法を併用した場合の再開通率の改善、さらには神経予後の改善の報告がなされている。その一つは、経頭蓋調音派ドップラー(TCD)法を血流監視用にMCAに照射し続けていると再開通率が上昇(論文では約18%から約30%に上昇)したものである。加えて、これに超音波造影剤を併用すると、完全再開通率がさらに上昇すると報告されている。また、経頭蓋カラー・ドップラー断層装置を用いてMCA塞栓部に標的照射すると、再開通は40分程度で60%に達すると報告され、その神経予後も著しい改善が見られたとしている。すなわち、このような診断用の超音波数MHzでの臨床的有効性は示されているが、多くのin vitro実験やin vivo動物実験ではより低い中周波数(100kHz~1MHz)帯で溶解率の上昇が見られたとする報告が数多く存在している。そのため、診断用超音波ではなく、従来臨床

には使用されていなかった周波数帯での血栓溶解効果の増高に多くの臨床家は期待し、その新技術開発を待ち望んでいた。

しかしながら、中周波数300kHzを用いた臨床試験(TRUMBI治験 Phase II)では、著しい頭蓋内出血の上昇(93%に及ぶ)を招来し、その中には死亡例(1例)も発生した事で治験中止となった。その為、多くの研究者および臨床家は中周波数を血栓溶解に用いる事を危険視するに至ったが、我々のグループを初め、諸外国の研究者から次のような因果関係が指摘されている。音響学的な安全性評価が不十分であった事、また、AIS患者に多く見られる脳動脈血管の脆弱化(高血圧、年齢、糖尿病などによる)の背景因子に対する医学生物学的な分析が不十分であった事である。このような問題に対し、我々は既にその原因を明らかにし、これを回避し得る超音波条件が存在する事を示した。すなわち周波数500kHz連続波、インターミット照射を適用すれば、音響学的な意味での安全性は確保されると共に、背景因子となる病的欠陥に対しても安全である事を実験的に明らかにしてきた。それゆえ、中周波数500kHzを中心にした新たな経頭蓋超音波脳血栓溶解法の開発を行い、まずは診断用超音波による画像誘導での塞栓部標的照射法を技術的に完成した。さらに、その普及型として、無誘導下の経頭蓋的脳血栓溶解法の開発を進めてきた。この無誘導下経頭蓋超音波脳血栓溶解法こそは、AIS患者の側頭部に柔らかな超音波振動子を貼り付ける方式として昨年から本研究プロジェクトの中で新規提案してきたもので、この新プローブを貼付型ソフト超音波振動子(PSUST)と称し、その臨床実現に向けて前臨床試験を積み上げてきた。

本年度は、PSUSTのもつ音響学的ビーム形状とそれによる音響学的安全性を担保する定在波回避法について実験的に明らかにする事を第一の目的とした。その際、PSUSTによる音響学的安全性を担保する為には、PSUSTの駆動電圧波形として、雑音変調方式を採用しなければならない事を明らかにした。この雑音変調方式は発射される超音波が持つ周波数が500kHzの単一周波数だけではなく、500kHzを中心とした広帯域周波数成分を持

つものとなる。それゆえ第二の目的は、血栓溶解率について従前の500kHzだけでなく、周囲周波数に対する溶解率の周波数依存性を実験的に検証する事とした。そして、超音波による血栓溶解効率をさらに高める手段として血栓標的性のあるバブルリポソーム（BL）を導入する事を想定し、その製法等について具体的検討を加える事を第三の目的とした。このような基礎的かつ前臨床的試験に加え、第四の目的として、対照データとなる現行rt-PA静注療法における再開通状態に関する臨床成績の蓄積および分析を行う事とした。さらにAIS患者の救急医学的観点からの迅速処置に供する情報通信ネットワークとして高精彩の画像転送を可能とする携帯電話システムによる専門医・開業医の連携システムの実現をはかる、遠隔医療技術の実現可能性についても検討した。これによって実際のAIS患者を早期に治療する手法を決定し得るような携帯電話ネットワークを中心とする遠隔医療の可能性について、技術的、システムの的に検討する事を第5の目的とした。

これらの5つの目的を達成し、AIS患者の超急性期治療に対する中周波数超音波を中心とする経頭蓋超音波脳血栓溶解療法の臨床実現を達成するための基盤研究を行った。

## B. 研究方法

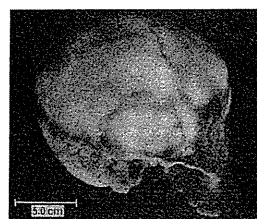
上述の目的を達成する為に、次のような実験方法と計画を実行した。

### B-1. PSUSTの試作とその音場分布の測定

#### 1) 試作PSUST

PSUSTの実現可能性を検討するために、実際にその振動子を試作した。試作PSUSTは、30×30mm正方形の振動子とした。また、同振動子を2つ並べた2チャンネルの振動子も試作した。そのサイズ決定の根拠はヒト側頭骨の超音波骨窓（echo window）の日本人の大きさが上下33mm前後55mm程度である事実に基づくものである。、そのecho windowにはまるようなPSUSTを製作し、これを用いて音響学的検討を行うこととした。また、2チャンネルを製作した理由は、両者を同時に発射し、空間的な標的性を高める事を検討する事を考慮した為である。また更に頭蓋内の

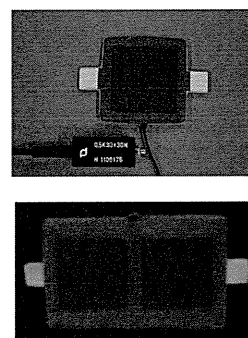
反射状況を観察する為に、一方から送信し他方で受信する伝達特性の観察法を活用する為である。図B1-1には、既報の超音波echo windowを示す光学的な写真を示した。



図B1-1.ヒト頭蓋骨におけるecho window（骨の薄い部分）を示す光学的写真

頭蓋内に光源を置き、その透過光量を頭蓋外から撮影した例で、外耳孔上部の上部に薄く明るい部位が存在する。この例は日本人の例であるが、白色人種の場合では頭蓋骨が長頭形であるので、echo windowは前後に長く、しばしばそれを三分割して呼称することもある。写真の場合では、echo windowが中央部の一箇所に纏まって見える（蝶形骨りん部中央）。この部位をMCA照射の起点とし、PSUSTの大きさを基本設計した。

PSUSTの製作に際しては、柔軟性のある程度犠牲にしつつも薄さを充分確保する為に材質PZTをダイシングした1-3コンポジットPZTを使用した。実際に試作したPSUSTの例を図B1-2に示す。

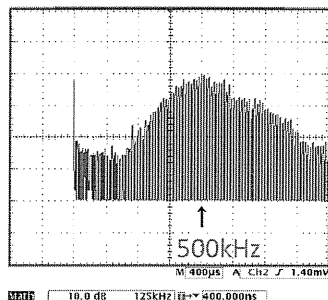


図B1-2.試作PSUSTの例

上段は30×30mm正方形で下段は同振動子を2連にしたもので30×60mmとなっている。両者ともその厚さは背面の固定用発泡スチロールを含め、約6mm程度である。

このPSUSTの音響学的周波数特性は、次に述べるAIMSを用いて測定することによって

図B1-3に示すものとなった。その特性の特徴は、周波数500kHzを中心に、その前後250kHzに及ぶ広帯域特性を有する点である。

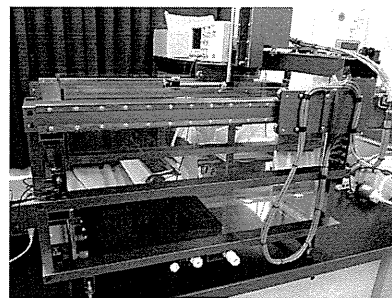


図B1-3.PSUST30 × 30mmの電気音響変換特性を持つ周波数特性

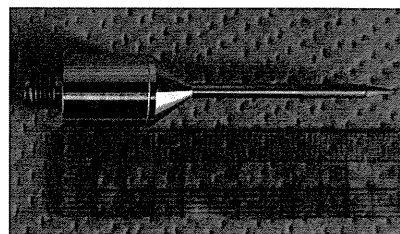
この周波数特性は、振動子に対する印加電圧を細いパルス波（200ns、繰返し周波数50 kHz）を加えた場合のPSUSTの音場分布を、AIMSを用い、マイクロフォンで測定し、それをFFT処理した結果である。

## 2) 超音波音響強度測定装置

AIMSの実験風景とそこで用いたマイクロフォンを図B1-4と図B1-5に示す。音響強度測定装置AIMSは、水槽内に超音波振動子を固定し、そこから発射される音場分布を、マイクロフォンを用いて三次元的に測定する事が出来るものである。マイクロフォンの移動をモーターで自動駆動し必要な分解能に応じて連続的にマイクロフォンを移動させる事が出来る。振動子からのビーム進行方向をz軸、それに垂直な面、すなわち振動子と平行面をx y面とし、ここでは超音波の波長を踏まえ1~5mm間隔で必要に応じて三次元的な音場分布を測定した。同AIMSの装置に取り付けたマイクロフォンの実物写真を図B1-5に示した。このマイクロフォンは口径0.5mmの振動子で音圧を感受する事が出来るもので、その周波数感度は200 kHz~10MHzに及んでいる。



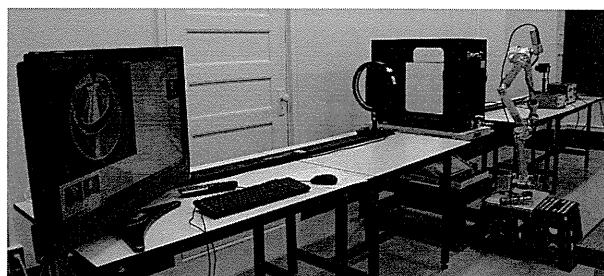
図B1-4.音響強度測定装置AIMSの全体像：パソコン制御でマイクロフォンの位置をx y z任意の方向に移動させてその音圧を測定する事が出来る。



図B1-5.音圧測定に使用したマイクロフォンの写真

## 3) シュリーレン装置

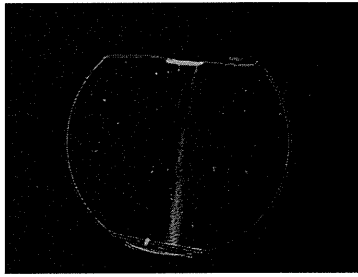
超音波振動子から発射される音場分布をリアルタイムに可視化する方法として、本研究では図B1-6に示すシュリーレン装置を用いた。シュリーレン装置は光の行路中の光伝播速度が音圧の変化によって加速・減速する事を利用し、その歪みの程度を光学的にCCDで記録する事が出来るようにしたものである。



図B1-6.シュリーレン装置の全体風景：前長5m弱のシュリーレン装置でレンズ口径25cm（溝尻光学工業株式会社製）。

図はヒト頭蓋骨でも画像の観測が出来るように大口径25cmのレンズを用いるシステムである。

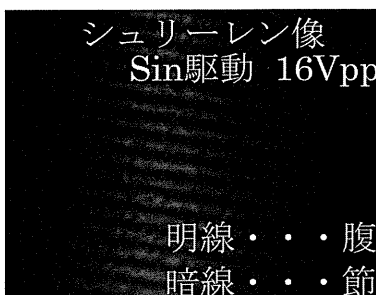
実際に得られるシュリーレン画像の例を図B1-7に示した。同図上部に超音波振動子があり、そこから発射される音場ビーム、は白く、水槽下方に伸びている事が観察される。



図B1-7.測定されたシュリーレン画像の例：  
PSUSTは同図上部に固定されており、形成される音場分布が示されている

#### 4) 定在波指標の設定

ヒト頭蓋骨に超音波を加えた場合には入射部位の反対側の頭蓋骨内面でビームは反射される。超音波ビームは頭蓋骨で減衰されるが、脳組織でもある程度減衰され、また、頭蓋骨反射面における反射率もヒトによってある程度変化する。生体内における超音波の伝搬特性は周波数が低ければ低い程伝播しやすく、周波数が高ければ高いほど吸収され易い。例えば、TCDで用いる2MHzと本研究の中心となる中心周波数500kHzでは、500kHzの方が頭蓋骨での減衰が少なく、2MHzの方が減衰が大きくなる為、頭蓋内には500kHzの周波数成分を持つ超音波の方が投入され易い。従って周波数が低ければ低いほど頭蓋内での多重反射が連続し易い。超音波が入射波と頭蓋骨で反射された後進波（反射波）が空間的に重なると定在波を発生する恐れがある。定在波は、辞書的な意味では、超音波の腹と腹が重なり、節と節が重なって空間的に一定の部位で強力な音圧変化を示す。また、腹の部分と音圧の殆ど掛からない節の部分が存在する。これを説明する図を図B1-8に示す。



図B1-8.定在波発生状況

定在波は超音波波長の1/2周期で発生し、こ

の定在波が強く発生する部位など音圧の高い部分をhot spotと称する。一方、空間的に節の部分で、三次元的なビーム形状が正弦波振動で生じている場合には、空間的に音圧の極めて弱い場所cold spotを発生させる事もある。仮にcold spot内に標的とするMCA塞栓部が存在したならば、超音波を併用する事の効果は全く期待できない事になる。このような定在波の存在は、ヒト頭蓋骨内で連続波またはバースト波を用いた場合には必ず発生する恐れがある。実際、300kHzバースト波を用いたTRUMBI trialにおける頭蓋内出血増高という悲劇的な臨床事例がこの定在波がその原因の一つとされている。また、パルス法においても、反射する頭蓋骨内面近傍においては短い距離ではあるが必ず定在波が発生し、硬膜、くも膜等に対する損傷の原因になるとも限らない。

本実験では、この定在波の程度を定量する為に、定在波指標SWR (Standing Wave Ratio) を定義し、超音波ビームによる頭蓋内での定在波発生状況を定量的に決定した。SWRは上述のシュリーレン装置によって得られる写真を元に、定在波領域における高輝度領域と低輝度領域に着目し次式によって定義した。定義式を次に示す。

$$(SWR) = \frac{B_{\text{極大}} - B_{\text{極小}}}{B_{\text{平均}}}$$

$$\left( \approx \frac{\int \left| \frac{dB}{dx} \right| dx \cdot \int dx}{(\text{極点数}) \cdot \int B(x) dx} \right)$$

輝度の高い定在波の存在する関心領域を固定し (ROI)、その中における定在波の輝度の極大部 (腹の部分) の平均から極小部 (節の部分) の平均を引き、これを平均輝度で割ったものがSWRである。SWRが小さければ小さいほど定在波の発生は抑制された事になる。このSWRの計算は、シュリーレン装置で取り込んだ画像を、画像計測ソフト (imageJ) を用いて行った。計算範囲は関心領域ROIの中に限定して行った。実験はシュリーレン装置の水槽内に反射板 (アクリル板表面に銅板を固定) を沈め、この反射板から生ずる反射波と入射波との関係から定在波を作成し、定量

評価した。

### 5) 定在波抑制の為の雑音変調方式の採用

頭蓋内における定在波の存在は空間的に一定の部位で音圧の上昇を招く。その上昇率は、頭蓋骨内面での反射率に依存するが、入射音圧の数倍～6、7倍に達する怖れがある。TRUMBI trialの場合の状況を想定すると、その平均音響強度は、 $0.7W/cm^2$  (診断装置における安全上の許容最大音響強度にほぼ相当)であったが、そのバースト波の音圧は $14W/cm^2$ に達し、また頭蓋骨の反射率が約60%であったとすれば、音圧上昇は2.5倍になる定在波が生じていた事になる(後述)。すなわち、 $35W/cm^2$ もの音圧が頭蓋内で発生しており、これによって梗塞領域外の正常組織においてさえ出血の招かれる事が理解されよう。このような危険性のはらむ定在波を抑制する手法としては、既に周波数を連続的に変化させるスイープ法が提案されて来た。しかし、スイープ法では、抑制率が10%程度に留まっており、十分な定在波抑制効果は得られていなかった。これに対し、雑音変調法を用いる事によって、定在波の抑制される事がTUNKらによって報告されている。彼らの採用した雑音変調法は周波数変調の周波数を雑音によってランダムに起こさせる方式である。これをFrequency Modulation by Noise (FMN) と称し、その効果はスイープ方式に比べ、相当改善される事が示された。

本研究では、雑音変調方式としてFMNとは別に次の3つの方法を新たに提案した。そして、そのSWRについて、FMN、及び正弦波駆動(SIN)を含めて比較検討した。すなわち、次の5つの変調方式をここでは実験し、そのシュリーレン画像からSWRを計算し、定在波の抑制率の最も高いものを探索した。

#### (1) SIN方式

単一周波数振動波形方式。本研究では500kHzの正弦波駆動波形を使用

#### (2) FMN方式

雑音周波数変調方式。本実験では中心周波数500kHzに対し $\pm 50kHz$ または $150kHz$ で比較した。

#### (3) 雑音位相変調方式 (Phase-difference Modulation by Noise: PMN)

送信周波数を500kHzに固定するがその位相を全くランダムに切り替える方式。位相ずれを $\pm 30^\circ \sim 180^\circ$ の範囲で変化させ、比較検討した。

#### (4) 周期的周波数ランダム選択法(Periodic Selection of Random Frequency: PSRF)

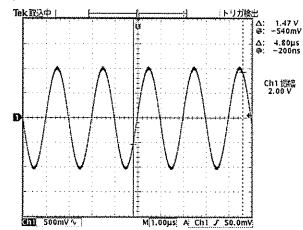
周波数は雑音変調と同じようにランダムに選ばれるが、選ばれた周波数から次の周波数への切換を $10\mu$ 秒という一定周期で切り替える方式。

#### (5) 逆相信号雑音スイッチング方式 (Random Switching of Both Inverse Carrier: RSBIC)

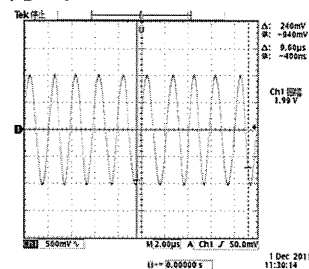
$180^\circ$ 位相の異なる500kHzの単一周波数波形を2種類用意し、両者をランダムに切り替える方式。

これらの駆動電圧波形を図B1-9に示す。

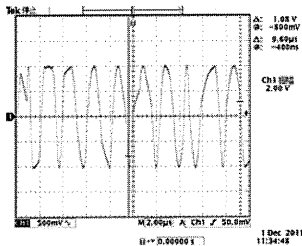
#### (A) SIN方式



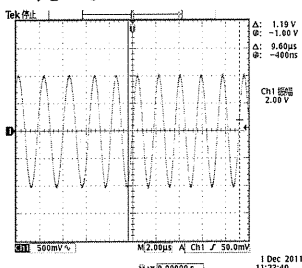
#### (B) FMN方式



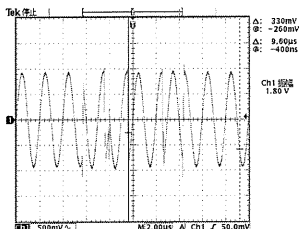
(C) PMN方式



(D) PSRF方式



(E) RSBIC方式



図B1-9.PSUSTに供した振動子駆動電圧波形の例

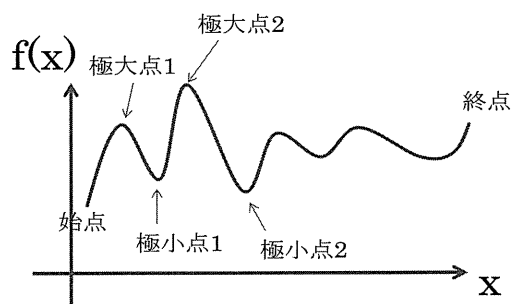
6) ビーム均一指標 (Uniformity Index: UI) の導入

SIN駆動波形をPSUSTに加えた場合のシュリーレン画像から明らかであるが(後述)、空間的に音圧の低い黒色部分と音圧の強い白色部分とが一定の場所に生じている。すなわち、cold spotとhot spotが存在している。仮に、cold spot内に標的MCAの塞栓部が存在した場合には、超音波による血栓溶解効果増強効果は得られない事となる。したがって、出来る限りPSUSTによるビームが、広角で広領域をカバーし、そのビーム強度が均一である方が良い。その様にすれば、標的とするMCAへ適切な超音波を、無誘導状態でも照射し続けられ得るからである。上述の雑音変調方式による超音波ビームは、定在波抑制効果を持つと共に、空間的にビームを均一化する能力も持ち合わせるようになる。その均一化効果の程度を評価するために、本研究では新たに均一指標 (UI) を定義した。このUI指標を用いる

事によって、各種変調方式におけるビームの均一化程度を数値的に定量的に評価できるようにした。UIの定義は次の通りである。

1. 一次元の場合

横軸をx軸(単位はメートル)とし、音圧(もしくは音響強度)がxの関数としてf(x)と表されているとする(図B1-10参照)。



図B1-10 一次元の音圧分布

一次元Uniformity Indexを次式で定義する。

$$U = \frac{(\text{極大値の総和}) - (\text{極小値の総和})}{N^\alpha \int f(x)dx}$$

ここでNは極値の数(極大値の数と極小値の数の和)であり、指数 $\alpha$ は後述するパラメータである。この定義式は次の考えに基づくものである。まず、分子の意味について、次に分母の $\int f(x)dx$ について、最後に $N^\alpha$ の項について説明をする。

均一性を捉える際、微分 $\frac{df}{dx}$ を用いることが考えられるであろう。(fが一定であれば、これはゼロとなり、fが大きく動いていれば、この値が大きくなる)。そして、一回微分の絶対値の積分を取ることを考える。

$$I = \int \left| \frac{df}{dx} \right| dx$$

この積分をおこなうとき、次のように区間を分ける。簡単の為、始点を極小点とする。

$$\int_{\text{始点}}^{\text{終点}} = \int_{\text{極小点1}}^{\text{極大点1}} + \int_{\text{極大点1}}^{\text{極小点2}} + \int_{\text{極小点2}}^{\text{極大点2}} + \dots$$

極小値から極大値に向かうときには、

$\frac{df}{dx} \geq x$ であり、極大値から極小値に向かうときには $\frac{df}{dx} \leq x$ であるから、絶対値記号が外せて、

$$I = \int_{\text{極小点1}}^{\text{極大点1}} \frac{df}{dx} dx - \int_{\text{極大点1}}^{\text{極小点2}} \frac{df}{dx} dx + \int_{\text{極小点2}}^{\text{極大点2}} \frac{df}{dx} dx - \dots$$

となり、積分を実行すると、

$$I = (f(\text{極大点1}) - f(\text{極小点1})) + (f(\text{極大点1}) - f(\text{極小点2})) + (f(\text{極大点2}) - f(\text{極小点2})) + \dots$$

となる。これは、隣接する極大値と極小値の差を加えたものである。

$$I = \sum_{\text{隣接する組}} |(極大値) - (極小値)|$$

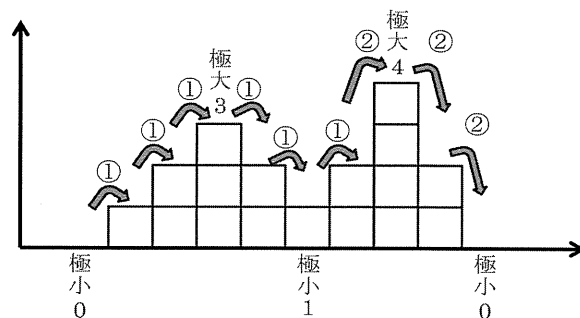
これは、

$$I = 2 \times ((極大値の総和) - (極小値の総和))$$

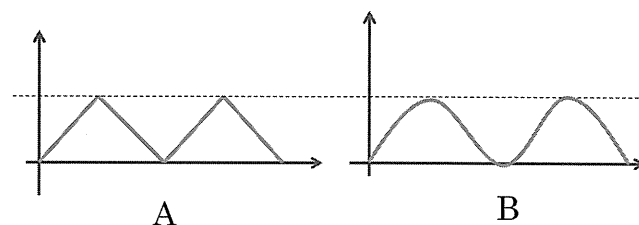
でもあり、Uniformity indexの定義式の分子の2倍に他ならない。一次元に限れば、Uniformity Indexの定義式の分子は一回微分の絶対値の積分であることに相当する。

ここで離散的な場合を扱ってみる。図B1-12のように、音圧とx軸が量子化されているとし、正方形を積み重ねることによって、音圧分布が表現されているものとする。差分を見ていく方法（微分の絶対値の積分に相当）では、左端からスタートして、階段を上ったり下ったりしながら、右端に辿りつくまでに、昇り降りした段数を数える。図B1-11の紫色の数字を足していくと、1+1+1+を+2=12となる。一方で、極大と極小に着目する方法では、極大値が3と4、極小値が0、1、0なので、2の、一方 $-(0+1+0)=12$ となり、先の値と同じになる。連続的な場合に戻って、Uniformity Indexの分子の性質を見ていく。この量は、極大値と

極小値のみで定まり、極大値と極小値を結ぶ経路には依存しないという性質をもつ。例えば、図B1-12Aのように、極小値と極大値を直線的に結んだ場合と、図B1-12Bのように滑らかに結んだ場合とで、Uniformity Indexの分子の値は同じである。したがって、多少、音圧分布が変わっても値があまり動かないというロバスト性（頑強性）があるとも考えられる。



図B1-11.離散的な場合



図B1-12. Uniformity Indexの定義式の分子の性質を理解するための図

さらに、Uniformity Indexの分子の性質を追求していくと、実はx軸には全く依存していないことが分かる。このことは、積分表現を用いて、次のように考えればよい。

$$\begin{aligned} \int \left| \frac{df}{dx} \right| dx &= \int \left| \frac{df}{dx} \right| |dx| \quad (\text{測度 } dx \text{ は常に正}) \\ &= \int \frac{|df|}{|dx|} |dx| \\ &= \int |df| \quad (x \text{ に依存しない}) \end{aligned}$$

Uniformity Indexの分子には、x座標に変換を施しても（スケール倍、 $\xi$  標 $x^3$ 等）不変であるという性質があるため、分子だけでは識別できない事例がある。その例を図B1-13に示す。

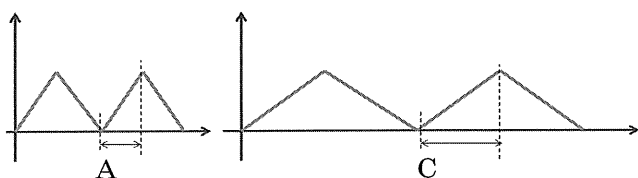


図 B1-13 Uniformity Index の分子だけでは区別できない事例

図B1-13Aは図B1-12Aと同じであり、図B1-13Cは図B1-13Aをx軸方向に引き伸ばした図である。極大値と極小値が同じであるため、Uniformity Indexの分子の値は同じである。しかし、図B1-13Cの方が、傾きが滑らかであるため、より均一であるように感じられる。

図B1-13Aと図B1-13Cを識別するのが、uniformity Indexの定義式の分母に現れる積分項 $\int f(x)dx$ である。これは、x軸と音圧分布 $f(x)$ に囲まれた部分の面積であり、全音圧と呼べるものである。図B1-13Cはx軸方向に引き伸ばされているため、全音圧の値が大きい、そのため、図B1-13CのほうがUniformity Indexの値が小さくなり、より均一性が高いと判断されることとなる。

図B1-14のAとBでは、極大値と極小値は同じだが、面積（全音圧）が異なるので、uniformity Indexは異なる値となる。

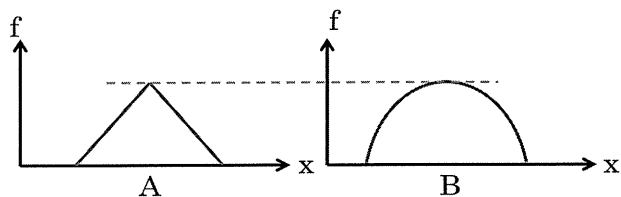


図 B1-14.極大と極小が同じ

均一性について、次の仮想的問題を考えてみる。ある波の分布があるとしたとき、その波の高さが10倍になった場合と、波の数が10倍になった場合とでどちらが、均一性が高いだろうか？これに関しては、波の高さの効果の方が大きいという意見がある。この波の高さ効果と、波の数効果を識別するための項がUniformity Indexの定義式の分母に現れる $N^\alpha$ の項である。この項によって、波の数の効果が抑制される。 $\alpha$ の取りえる範囲は0以上1以下である。 $\alpha = 0$ の場合には、波の高さ効果と数効果が同等である。つまり、波の高さが10倍になると、uniformity Indexの

値が10倍になり、一方で、波の数を10倍にするとUniformity Indexの値も10倍となる。 $\alpha$ が大きくなると、波の数効果が抑制される、波の数を10倍にしてもUniformity Indexの値は10倍にはならず、例えば1.4倍などになる。 $\alpha = 1$ のとき、波の数を増やす効果が完全になくなり、例えば2MHzの波と500kHzの波のUniformity Indexの値が等しくなる。 $\alpha$ の値は、2つの効果の割合を決めるパラメータであり、（今のところ）人の感覚で決まる値である。ここでは中間の $\alpha = \frac{1}{2}$ とする。

図B1-15A、図B1-15B、図B1-15Cに事例を示す。図B1-15Aは最大値6最小値4の正弦波であり、図B1-15Bは図B1-15Aの正弦波の、波の高低差を2倍にしたものであり、図B1-15Cは正弦波の波の数を2倍にしたものである。図B1-15Aのuniformity indexの値を $U_0$ とすると、図B1-15Bの値は $2U_0$ 、図B1-15Cの値は $\sqrt{2}U_0$ となる。

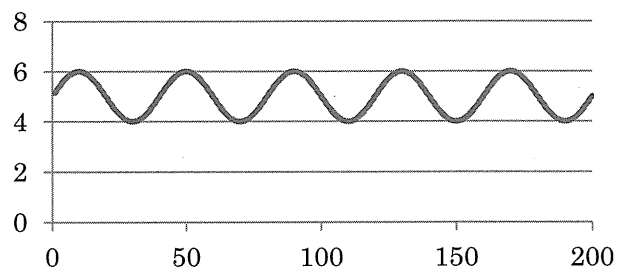


図 B1-15A.最大値6最小値4の正弦波

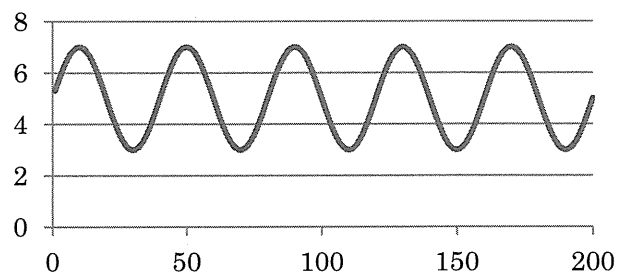
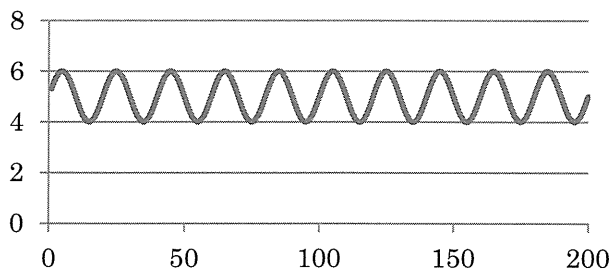


図 B1-15B.図 B1-15A に比べて、波の高低差が2倍になった正弦波

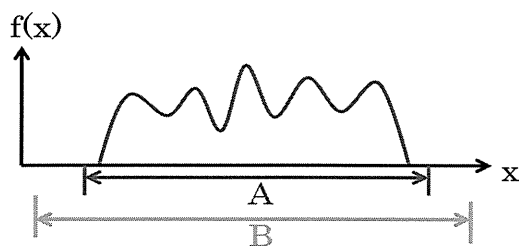




図B1-15C.図B1-15Aに比べて、波の数が2倍になった正弦波

ここで、一次元Uniformity indexの持つ性質を挙げる。

- (i) x 軸方向の平行移動で不変。x 方向の鏡映（左右反転）で不変。ただし、横方向に引き伸ばすというようなスケール変換をすれば値が変わる。
- (ii) f を定数倍しても不変（このため、振動子に印加する電圧に依存しない）
- (iii) 積分範囲を広く取り、f がゼロでないところをすべて含めるようにすれば、積分範囲に依存しない。図B1-16のAの範囲でもBの範囲でも同じになる。



図B1-16.一次元音圧分布における積分範囲

次に2次元への一般化を考える。一次元のuniformity indexの定義式の分子を積分表現で表すと、2次元への一般化には困惑するであろう。そこで、極大値と極小値の概念を用いた一般化を試みた。「ある点 $\vec{c}$ において $f(\vec{c})$ が極大値を取る」とは、 $\vec{c}$ の十分近傍の点 $\vec{r}$ に対して、 $f(\vec{r}) \leq f(\vec{c})$ が成立することであるとしよう（ここで等号が含まれていることに注意）。広義の極大値の定義と考えて欲しい。極小値も不等号の向きを反対にして定義される。2次元の場合には、極大を取るところが必ずしも、点ではなく、線上に極大値が分布している場合があることである。極大値の数は、極大値を取る  $(x,y)$  の集合のうちで、非連結な

成分の個数としよう。この約束のもとで、2次元のuniformity Index は次式によって、明瞭に定義される。

$$U = \frac{(\text{極大値の総和}) - (\text{極小値の総和})}{N^\alpha \iint f(x,y) dx dy}$$

2次元の場合においても、一次元の場合と同様に次の性質を持つ。

- (i) 平行移動、鏡映、回転（所謂ユークリッド変換）のもとで不変。ただし、スケールを変えれば変わる。
- (ii) f を定数倍しても不変。
- (iii) f がゼロでないところをすべて含む領域で囲めば、囲む領域に依存しない。

最後に次元について触れる。上記の一次元Uniformity Indexは $[m^{-1}]$ の次元を持ち、2次元Uniformity Index は $[m^{-2}]$ の次元を持つ。そのため、スケール不変ではない。しかし、一次元の場合には $\int dx$ を、二次元の場合には $\iint dx dy$ を分子に掛けることによって、無次元量にすることができる。無次元になるようにUniformity indexを定義しても良いであろう。

このUIの計算は、AIMSによって得られる三次元的音響ビーム画像、すなわち空間的音圧分布図を元に、xz面でのUIを二次元的に計算し数値化した。xz面のみを採用した理由は、概ね正方形の超音波振動子が形成する音場分布は点対象であり、振動子の対角線上のxz面に特異点が存在するからである。ビームの均一化に関するこのような新たな指標を導入した理由は、この指標がAIS患者に対する経頭蓋的超音波脳血栓溶解療法の有効性を左右する極めて重要な指標になり得るからである。加えて、UI値が低ければ低い程均一化が増し、無誘導下でもMCA照射確率の均一性が担保されると推定出来るからでもある。

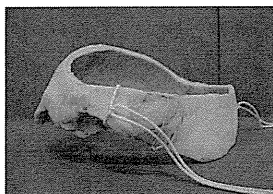
## B-2. ヒト頭蓋骨によるPSUSTの有効性・安全性評価法

### 1) ヒト頭蓋骨のスライス標本の作製

上述の試作PSUSTを用いて有効性としてのUI値、安全性として留意すべきSWRについて、ヒト頭蓋骨を用いた場合の測定を行った。上記雑音変調方式に加え、頭蓋内における定在波の発生率、ビーム均一性の予測、また、頭蓋内反射を想定した場合の最終的な音圧上昇率を計算した。用いた頭蓋骨の例を図B2-1、B2-2に示す。

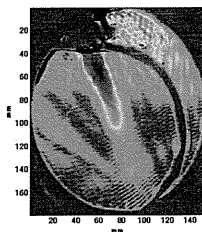


図B2-1.ヒト頭蓋骨の切断スライス面



図B2-2.スライスされた頭蓋骨の写真

この頭蓋骨をシュリーレン装置の水槽内に沈めた場合のシュリーレン画像を図B2-3に示す。



B2-3.頭蓋骨のシュリーレン画像

超音波ビームが頭蓋内で多重反射する例である。

シュリーレン画像から明らかな様に頭蓋内では多重反射を起こし局所的な定在波の存在が極めて明瞭に示されている。

本研究ではこの頭蓋骨を用い、上述の雑音変調駆動方式をPSUSTに適応した場合のシュリーレン画像を撮影記録した。そして頭蓋骨内面近傍でのROIを決定し、同領域におけるSWRを計算した。これによって上述の反射

板によるSWRとヒト頭蓋骨によるSWRの比較を行い、頭蓋骨内面の曲率を踏まえた場合の、より実際に近いSWRを計算した。

尚、このヒト頭蓋骨はフランスより輸入したもので、同頭蓋骨の使用についてはCT画像計測を行う際に倫理委員会の承認を得ているものである。

### 2) 頭蓋骨内面での超音波反射率と多重反射した場合のSWRの予測

ヒト頭蓋骨の反射率は定在波の発生とその強度を左右する重要な値である。文献的に知られている頭蓋骨反射係数を整理すると共に、その反射率を活用した場合の定在波の発生による音圧上昇率を計算した。頭蓋骨内での定在波が最も強くなった状態は、進行波と後進波（反射波）の位相が完全に合った場合で、この時が最大となる。この最大SWR状態について、多重反射した場合の最終的な音圧上昇率は次の式で示される。

$$(\text{音圧上昇率}) = 1 / (1 - R)$$

R=頭蓋骨内面での反射率

この最終近似値がどのような特性を示すか数値計算した。

なお、多重反射による音圧上昇率は、PSUSTに印加する電圧波形が連続波、パルス波の場合に必ず適応されねばならないものである。しかし雑音変調の場合には、上記上昇率の計算式導出の根本条件となる、送信波と反射波の位相自体が重なり合う確率を含めるものであるため、計算式導出の基本条件を満たさない事となる。その結果、多重反射による音圧上昇は相当に抑制されるものと予想される。この雑音変調時の多重反射による音圧上昇抑制効果については、様々な条件下で実験を行い、安全性に関する限界予測を行わねばならないことになる。ただし、本研究に於いては最大安全限界としての上述の音圧上昇率を一つの目安として用い、実用化の設計指標とした。

### B-3. 超音波併用血栓溶解効果の周波数依存特性の実験法

超音波による血栓溶解加速の程度は、一昨年及び昨年度にかけて開発した光学的血栓溶解率高精度測定法を用いた。以下に、同法の原理と測定手技、使用超音波音場、血栓例として使用した牛フィブリン塊作成については既に昨年度までの報告書に詳述してあるので、ここでは簡略にその実験法の概要を述べる。

#### B-3-1. 光学的血栓溶解率高精度測定法

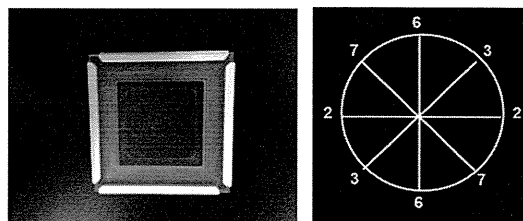
既に血栓の透過光量と血栓の厚さに関する校正曲線については報告済みである。厚さ3mmまでの間は殆ど直線的比例関係にある。実験では後述する牛フィブリン塊をシート状に作成し、その厚さを透過光量から測定することとした。本法の基本原理は、次の通りである。円形ピストン音場が形成する音場分布は、空間的に軸対称の3次元分布を形成する。この分布は遠距離音場に於いては、ビーム進行方向に直行する面内で同心円状の強度分布を形成する。この音場分布内に同心円状の血栓（例えばコイン状の牛フィブリン塊）をビーム中心軸に合わせて置けば、血栓に加えらるる音響強度は同心円状に一定の音圧が加えられることになる。従って、このコイン状血栓と周囲t-PA溶液を遠距離音場内に静置すれば、同心円に沿って一定の音圧条件の下でt-PA濃度一定の条件で溶解効果を測定する事が出来よう。換言すれば同心円状の多数の点での溶解率は、全て同一音響強度、同一t-PA濃度の条件での溶解率を測定することになる。つまり、1回の照射で同心円上に多数のデータを一度に測定可能となる。例えば8方向の中心軸から同一距離の点を測定すれば、一度に一定音響強度、一定rt-PA濃度に対する8点のデータが、1回の照射で測定できることになる。この原理を活用し、血栓の厚さを光学的に測定し、その血栓の厚さの減少率を以って、溶解率とする方法が今般の高精度血栓溶解測定法の基本原理となる。

実験ではその際、本法に求められる必要条件は次の通りである。

- ①超音波ビームの中心軸がシート状フィブリン塊の中心を通るようにビームとシート状フィブリン塊が設定されている事
- ②超音波ビームが中心軸に対し軸対称である事
- ③実験は対照例と治療例との、それぞれ1個ずつのフィブリン塊を用意し、両者の時間差が

無いよう測定する方式とする事

以上の3点である。つまり、原理的にはビームの軸対称性を活用し、8方向の半径上の音場強度分布は全て等しいという条件を使っている（図B3-1参照）。



シート状血栓 マッピング測定方向  
US強度毎に8点のデータを作成可能

図B3-1. 中心から等距離の音場は等しい  
光学的血栓厚測定法の原理  
(同一強度で8点の値を一度に測定)

実験は8方向の半径上の点の透過光量を0.5mmステップで測定するが、中心から等距離の値、8個の値は全て、同じ強度の時の値で、逆に言えば同一強度に対する8個の値を一度に得ることができることになる。そして、半径上の音響強度の分布に従い、その最大値と最小値の間の強度変化に対する血栓厚変化を得ることが可能となる。強いて言えば、シート状血栓の半径6mmの内、0.5mm間隔で13点の測定ができるので、強度変化13レベルについて同時測定できることになる。

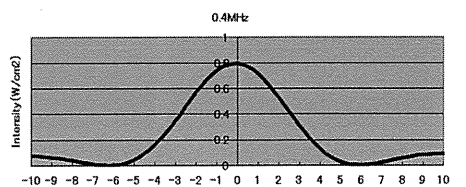
#### B-3-2. 各周波数における超音波ビームの音場分布

上述の高精度高効率な血栓溶解測定法を活用し、本年度はその血栓溶解率に関する周波数依存性に関するin vitro実験を行った。既に多くの研究者らによって、2周波数間の比較や濃度の差による比較など報告されてきている。我々も昨年度までの報告の中で500KHz連続波照射による血栓溶解率の向上特性をこの新開発装置を用いて測定し、超音波溶解率上昇効果については定量的な成績を収める事が出来た。本年度はこの周波数の範囲を拡げ、次の4周波数についての溶解率特性に関する実験を行った。

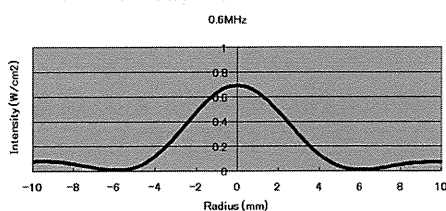
- ①400KHz連続波
- ②600KHz連続波
- ③1MHz連続波
- ③2MHz連続波

これらの周波数毎に上記光学的血栓溶解法を適用し、溶解率を測定した。その際次に述

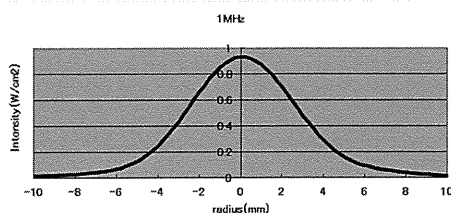
べるように超音波振動子の外観は、口径10mmとし、4種類とも共通の形状を有するものとした（500kHzの場合も同様）。ただし、その超音波振動子が形成する音場は異なり、周波数毎に牛フィブリン塊を静置した距離での音場分布は図B3-2に示す点を活用した。なおこの音場分布は、AIMSを用いて測定したものである。



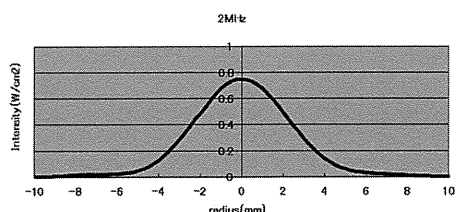
(a)  $f=400\text{kHz}$ ,  $d=17\text{mm}$



(b)  $f=600\text{kHz}$ ,  $d=23\text{mm}$



(c)  $f=1\text{MHz}$ ,  $d=35\text{mm}$



(d)  $f=2\text{MHz}$ ,  $d=50\text{mm}$

図B3-2.各振動子毎の超音波音場分布  
( $f$ : 周波数,  $d$ : 振動子面からの距離)

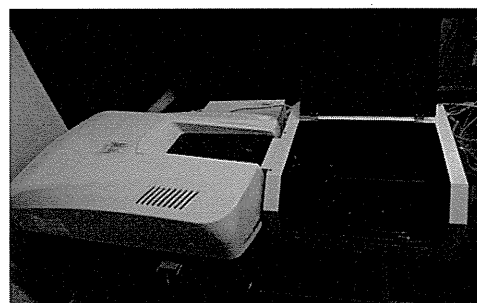
図から明らかなように遠距離音場の始まる部位は周波数が高い程遠くなり、例えば2MHzの場合には振動子表面から50mmにおける軸対称分布を活用した測定を行った。

### B-3-3.牛フィブリン塊の作成

実験では牛フィブリンを用い、シート状血栓を作成した。この牛フィブリン塊の製作方法は昨年とほぼ同様であるが本年度は特に脱気条件に留意した新たな工夫を加えてあるので、この改善点を中心に以下に述べる。

まずウシ血漿を超純水10mlで溶解し、溶解後瓶内を陰圧にし、15分間放置して脱気（詳しくは後述）。このウシ血漿330 $\mu\text{l}$ と、同様にして脱気した200mMの $\text{CaCl}_2$  37 $\mu\text{l}$ を混合し、湿潤させた容器に洗浄したセルをセットし、 $\text{CaCl}_2$ 混合ウシ血漿を170 $\mu\text{l}$ 注いだ。その後、37 $^\circ\text{C}$ に設定した恒温水槽内に30分間静置して凝固させた。その際、セル自体の透過光量を事前に測定し、光量を左右する様な汚れの無いことを確認した。

血栓完成後、その厚さを光学測定装置（図B3-3）で測定し、そこでも気泡の混入など光量の透過性を乱すものがないことを確認した。ただし測定は、上述の8点間全てについて行った。



図B3-3. 高精度光学的血栓厚測定装置

#### <血栓溶解実験用セル材質>

血栓溶解実験に用いるセルは0.025mm厚のPP（ポリプロピレン）製シートを用いて、正方形のシート状血栓が作成できるように製作した。昨年度までは、1.5mm厚の亚克力板によるセルからコイン状血栓を作成していたが、本年度よりPPに変更している。PPシートは亚克力板より超音波の透過性が良く、この素材変更により吸光度測定時のS/N比を大幅に改善する事に成功している。

#### <脱気方法>

作成した血栓において、キャビテーション（後述）の影響を抑えると共に、超音波の透過性を高める目的から、次の方法を用いてあらかじめ脱気を行った。脱気する溶液をガラスチューブに入れ、真空ポンプ（DTC-60;アズワン,大阪市）を接続し、チューブ内圧を10kPa以下に保つと共に、チューブ底面を振動装置に押し当てて攪拌した。