

チューブ内圧は圧力計で確認し、以上の状態を15分間維持して脱気の完了とした。

B-3-4. 比較群

溶解促進率の算出にあたり、次の2群を設定した。

①rt-PA溶液

上記フィブリン塊の上に5.8mlのrt-PA溶液（③記載の方法で脱気済）を注入した群。その濃度は1800IU/ml（約1.35mg/ml）を選定した。

②超音波（US）照射群

上記rt-PA溶液と同じ濃度のセルにUS照射を行った群。

なお、両群共に処置後30分時の血栓厚について比較した。溶解促進率は下の式のように定義した。

$$\text{溶解率} = \left(\frac{\text{US併用時の溶解量}}{\text{rt-PA単独適用時の溶解量}} - 1 \right) \times 100$$

上記の式より得られる溶解促進率を、4種類の周波数ごとに求めた。30分後の値で比較した。

B-4. 血栓標的型バブルリポソームの製造方法の検討

1. RGD-バブルリポソームの調製

脂質組成をDSPC: DSPE-PEG-Mal: cholesterol = 12.5: 5.1: 3 (mg) とし、クロロホルム4 mLに溶解させ、ジイソプロピルエーテル4 mLとPBS 4 mLを加え、バス型ソニケーターで攪拌した。その後、エバポレーターを用いて逆相蒸発法によりリポソームを調製した。これを凍結融解し、エクストルージョン法により粒子径を100-200 nmとした。ここに、1 mg のCGGGRGDFを添加し室温で2時間反応させた。

DSPC: 1,2-distearoyl-sn-glycero-phosphatidyl choline

DSPE-PEG-Mal: 1,2-distearoyl-sn-glycero-3-phosphatidylethanolamine-methoxypolyethylene glycol maleimide

RGD (CGGGRGDF) : cysteine-glycine-glycine-glycine-arginine-glycine-aspartic acid-phenylalanine

RGDリポソームを1 mg/mLとなるようにPBSで希釈し、このリポソーム懸濁液2mLを5 mLバイアル瓶に入れた。C₃F₈ガス7.5mLで置換・加圧し、バス型ソニケーターで5分間超音波照射することでRGD-バブルリポソームとした。

2. C₃F₈ガス封入量の測定

RGD-バブルリポソームの入ったバイアル瓶を開封し、常圧とした後に、ガスタイトシリンジを用いてバブルリポソームを採取した。このRGD-バブルリポソーム500 μLを測定用のバイアル瓶に移し、ガスクロマトグラフによりC₃F₈ガス封入量を測定した。

3. 粒子径の測定

RGD-バブルリポソームの入ったバイアル瓶を開封し、常圧とした後に、PBSで100倍希釈した。このRGD-バブルリポソーム懸濁液の粒子径を動的光散乱法により測定した。

4. RGD-バブルリポソームによる超音波造影効果

PBS が5mL入ったゴムチューブを脱気した水中に入れ、超音波診断装置(9MHz)を用いて観察した。

5. 血小板結合活性

ADPで血小板の活性化を行い、血小板の活性化を血小板活性化マーカーであるCD62P抗体を用いて確認および選定を行った。選定した活性化血小板に蛍光色素を内封したRGD-バブルリポソームが結合するかをフローサイトメトリーで検討した。また、試験管内に血栓を形成させ、RGD-バブルリポソームと一定時間接触させた後、洗浄して超音波造影によって結合性を検討した。

B-5. 経頭蓋カラードプラ法における探触子頭部固定具の開発

経頭蓋超音波検査においても、また本研究の主題である超音波併用血栓溶解療法においても超音波プローブを長時間持続保持することは、必須の操作技術の一つである。特にrt-PA静注療法においては、少なくとも60分間の持続保持が必要となるが、それに人出を用いず、適用可能な適切な固定具は存在してい

ない。従来から慈恵医科大学や国立循環器病研究センターでは、そのための固定具の開発を行ってきた。超音波併用溶解療法としては本報告書にもあるように固定具不要の貼り付け型ソフト超音波振動子の新たな開発が行われたが、超音波検査を行う能力は同治療装置にはないので、治療部位反対側からのモニターを行うという意味での頭部固定具は必須のものと考えられる。このモニター用の超音波プローブ長時間保持用具として、国立循環器病研究センターでは次の様な開発を本年度は行った。国立循環器病研究センター脳内科の要望に応える固定具をアンリミット・ジャパン側が作成し、実際に試用しながら改善を試みた。

(倫理面への配慮)

患者への使用またはサンプル採取は一切行っておらず、必要ないと考えられた。

B-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の検討

急性脳梗塞患者の超急性期治療には、迅速な院内体制が求められる。また同時にそれが科学的に最も合理的であり患者救済の道に繋がる様なクリニカルパスを用意しておかねばならない。本研究では、その為の体制づくりや、適切なクリニカルパスに結びつく様な研究プロトコルを構築すべく検討を行う。ここでは国立循環器病研究センターでの取組の方法について述べる。

1) 臨床研究実施の為の比較臨床成績の蓄積

国立循環器病研究センターで超音波血栓溶解技術の臨床治験をスムーズに行えるように、TCDおよびTCCS検査の普及に努める。

超急性期のアルテプラゼ (rt-PA) による血栓溶解療法を行う場合には、可能な限り治療前に閉塞血管の評価を行う。

頭頸部主幹動脈に閉塞を認める場合には血栓溶解療法の治療効果判定のために治療後早期に再開通の有無を評価する。

2) 急性脳梗塞患者治療の為の院内体制の構築

治験推進で必須となる脳血管内科および脳神経内科、看護師、放射線科、臨床検査技師、治験推進部による院内連携体制を構築する。

(倫理面への配慮)

TCCSは日常診療の範囲で行う検査である。患

者から採取された試料を用いない研究であり、被験者からインフォームド・コンセントを受けることを必ずしも要しない。

B-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

国立循環器病研究センター脳血管内科においては、急性脳梗塞患者に対し、rt-PA静注療法を施した例等を対象に、経頭蓋超音波ドップラー断層法 (TCCS)、及びMRI検査によって、再開通状態を評価した。これは現在開発中の経頭蓋超音波脳血栓溶解法適用時の有効性・安全性評価の比較対象となるヒストリカルデータとしての臨床データを蓄積しておくための作業である。

対象は平成17年10月から平成24年1月までの当院tPA静注療法施行例のうち、投与前にMRAで血管病変を評価し、TCCSを施行した214例。使用超音波装置は日立メディコ社製のPREIRUSとGE社製のLOGIQ E9とした。検討項目は患者背景、診断名、責任血管 (頭部MRA, 頭部エコー)、TCCSの結果 (閉塞血管診断の可否、再開通モニターの可否など)、MRAでの再開通の評価結果とした。TCCSの再開通の評価にはCOGIFscoreを用い1grade以上の改善がみられる場合に再開通ありとした。MRAの再開通の評価にはModified Mori gradeを使用し、Grade2以上の場合に再開通ありとした。なお、rt-PA静注療法後に経皮経管的脳血栓回収用機器 (Merciリトリーバルシステム、PENUMBRA SYSTEM) を使用した症例は解析から除外した。

(倫理面への配慮)

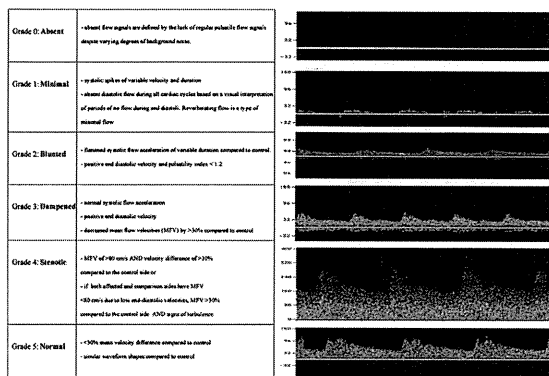
ヒストリカルデータの収集に関する研究は、国立循環器病研究センターの倫理委員会で承認を受けた。

B-8. 急性脳梗塞患者のrt-PA静注療法における再開通時間の検討と追加治療に関する検討

東京慈恵会医科大学救急医学及び神経内科において超急性期から医療を行った急性脳梗塞患者について、その再開通状態の評価と非再開通時における追加薬物療法を施行した臨床成績を蓄積した。これは経頭蓋超音波照射併用脳血栓溶解療法の臨床比較対象として蓄積されたものである。

本研究のプロトコルは昨年度と同様の方法を用いて、引き続き臨床データの蓄積を行った。具体的な方法について下記に示す。

rt-PA静注療法の適応基準を満たす急性期虚血性脳卒中患者にTC-CFIを用いて閉塞血管を特定し、rt-PA投与開始120分後まで15分毎に残存血流のリアルタイムモニタリングを行い、脳循環を評価した。残存血流はThrombolysis in Brain Ischemia(TIBI)分類²⁾に基づき判定した(図B8-1)。評価としては、側頭骨windowの有無、モニタリングできた場合は再開通時間及びNIHSSの推移、MRAを治療前後で撮影している場合はMRAとの対比、を検討した。特に本年度はrt-PA静注療法後に施行した薬物療法とこの効果についても検討した。その際、微小栓子検出をモニターし、治療効果についても評価を行った。



図B8-1. TIBI分類

(倫理面への配慮)

本研究は本学の倫理委員会にて承認されており、患者へのインフォームド・コンセントを徹底し、同意を得られたものについて行うこととした。

B-9. 救急医療における経頭蓋超音波併用療法の有効性の検討

経頭蓋超音波脳血栓溶解法は、救急医療において極めて重要な救命救急課題となっている。その迅速かつ円滑な治療を実現するために来院後の超急性期治療技術の一つとして、本研究開発による経頭蓋超音波脳血栓溶解療法は極めて重要な救急医療へ適用可能な医療技術である。一方CTによる急性脳梗塞評価を迅速且つ適切に行い、その画像医学的な診断を適切に行うためには治療開始までの間の救急車内および救急車到着病院、更には専門医による判断、適切な治療開始を行う病院の選定等に供する情報を、一患者に対して総合的に扱うIT化された救命システムが重要な時代になりつつある。既に急性脳梗塞治療に供し得る新たなITシステムとして遠隔医療診断治療補助システムの開発を、東京慈恵会医科大学においては推進中である。そのIT化、遠隔医療診断治療補助システムを、今般脳卒中領域を対象として集中的に開発し検討した。

その第一に、特徴は、携帯端末にて、医療画像、医療情報が「だれでも、いつでも、どこでも」簡単に見ることが出来るシステムであることである。そのシステムを、以下では遠隔画像診断治療補助システムと称する。初期研究として、脳神経外科に来院した緊急脳卒中患者(急性期脳梗塞、くも膜下出血、脳出血など)で、早期に診断・治療が必要とした患者を対象とした。また、遠隔画像診断・治療補助システムとして、アプリケーションを導入するために、携帯端末(i-Phone4)を20台導入し、脳神経外科医や放射線科医・放射線技師に携帯させ迅速に診断・および治療に至ったかの評価を行った。

対象患者は、2010年8月から2011年7月の1年間に73症例でこのシステムが運用された。

(倫理面への配慮)

東京慈恵会医科大学における「ITあり方委員会」において承認・了承された研究である。

C. 研究成果

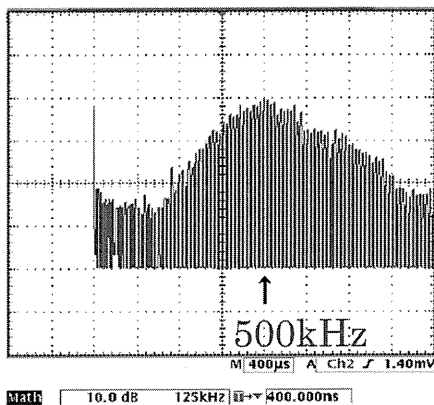
本年度の研究成果を総括すると次の様にまとめられる。すなわちC-1～C-4の前臨床的基本的成果、またC-5から開発装置の治験に対する対照データの蓄積、そしてC-9の救急医療における患者救済率向上に係る病院前の遠隔医療システムへの展開となる。

C-1. 試作PSUSTの音場分布

試作PSUSTは図B1-1に示したように、極めて薄い、厚さ数mmの振動子で、その正方形の一辺は30mmである。即ちヒト側頭骨を介し、そのエコーウィンドウの約1/2～2/3をカバーする形の大口径の単一振動子である。

C-1-1. 貼付型ソフト振動子の周波数特性

PSUSTの周波数特性を図C1-1に示した。



図C1-1. 貼付型超音波振動子PSUSTの周波数応答特性（横軸：周波数，縦軸：音圧）

これはPSUSTにパルス音場を加えた場合に発射される超音波音場をハイドロホンで測定し、その周波数スペクトル分析をした結果である。駆動波形としてのパルス波は $0.2\mu s$ のパルス幅で、繰返し周波数は50kHzとしたときの結果である。このようなパルス波は周波数スペクトラムが広帯域となるので、このようなパルス波形で駆動することは、結果的に広帯域に渡る連続的な周波数分布を持つ駆動波形となっており、周波数毎の超音波振動子における伝達特性を示すものとなる。従って発射された超音波自体を周波数分析すれば、周波数毎の伝達特性、即ちこの場合駆動電圧 v_s 発生超音波強度の関係が特定されることとなる。

この図から明らかのように、試作した

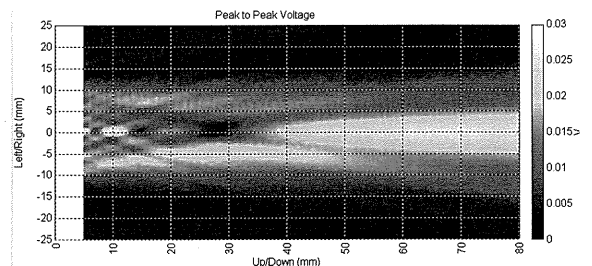
PSUSTは、周波数約250kHz～750kHzに当る広帯域特性を有している事が明らかである。従って雑音変調の様な広帯域成分を持つ駆動信号に対しても対応可能で、この振動子の持つ固有の周波数特性内で電気-音響変換が行われる事になる。このような広帯域特性を有する超音波振動子でなければ、雑音変調の様な広帯域雑音による駆動電圧波形に対する十分な応答特性が得られない。実験結果は、すべてこのトランスデューサーの持つ特性の範囲以内で検討されるものである。

C-1-2. 各種変調型駆動方式による音場分布とその均一化指標（UI）

上述の振動子に「B.研究方法」で述べた4つの駆動波形をそれぞれ加え、その音場分布をAIMSで測定した後に、XZ面におけるUI値を測定した。正方形の振動子が形成する音場分布は点対象である。ここでは対角線上の音場分布XZ面の結果を基に、UI値を計算した。以下にその結果を示す。

1) 単一周波数波形駆動の場合（SIN）

単一周波数500kHzで駆動した場合のPSUSTによる音場分布（XZ面）を図C1-2に示した。



$$U=337 \times 10^{-5} \text{ [mm}^{-2}\text{]}$$

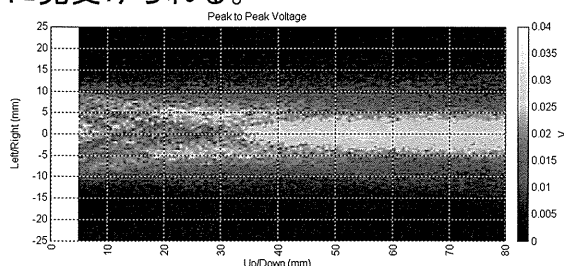
図C1-2.SIN変調の場合の音場分布XZ面

この音響強度分布を基に計算したUI値を同図に記載した。図C1-2の中で黒い色調が濃い程、音圧は低く、白色に近い程、音圧は高い。同図の中では、音圧の低いコールドスポットがビーム中心軸上25～30mm近傍に幅数mmで存在する事が明らかである。仮にその中にMCAが捕捉されたならば、血栓溶解効果は超音波を照射しても増高しないことになる。このようなコールドスポットは、他にも散在し

ており、その回避が課題である。

2) PSRMの場合

この場合の測定結果を図C1-3に示す。図から明らかなようにコールドスポットを示す黒色部分も少なく、ホットスポットを示す白色部分も低下し、ビームの均一化が増したように見受けられる。

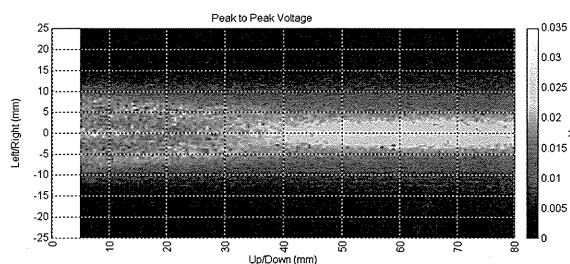


$$U=279 \times 10^{-5} \text{ [mm}^{-2}\text{]}$$

図C1-3.PSRM変調の場合超音波ビームXZ面の強度分布

3) RSBICの場合

図C1-4にRSBIC変調方式の場合のビーム音場例を示す。XZ面での切断面の分布で、コールドスポットもホットスポットもPSRMに比べ更に減少し、その3次元均一化が達成されていることが明らかである。



$$U=193 \times 10^{-5} \text{ [mm}^{-2}\text{]}$$

図C1-4.PSBIC変調の場合超音波ビームXZ面の強度分布

C-1-3.PSUSTビームの均一化を達成

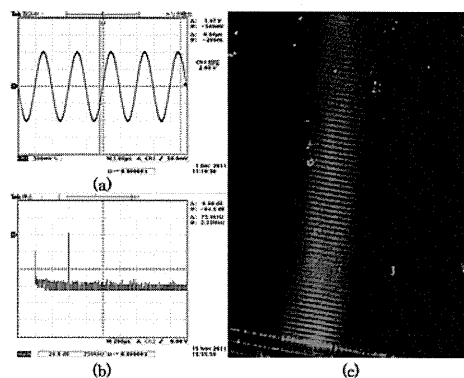
図C1-4から明らかなように、RSBICでUI値は最低値となった。SINの場合に比べると、約57%に低下し、概略1/2に均一化が達成されている。これによりホットスポット内の音圧がある程度減少し、コールドスポット内の音圧がある程度上昇し、それによって均一化が達成されている。ビーム径約30mm内の領域では、空間的にはどこでもMCAを捕捉可能

である。臨床の現場で使用する場合に、MCAを探索する手技的な問題も低下し、容易に標的領域にビームを発射し急性脳梗塞患者の血栓溶解効率を高める事が可能であると考えられた。

以上、貼付型の超音波振動子PSUSTは、その駆動電圧波形を適切なランダム変調方式とすることによって、その3次元的ビームの均一化をはかる事が出来た。それ故、臨床現場ではrt-PA静注療法と同時にこのPSUSTを外耳孔上部に貼付するだけで、所期の目的を極めて容易に達成できると期待される。

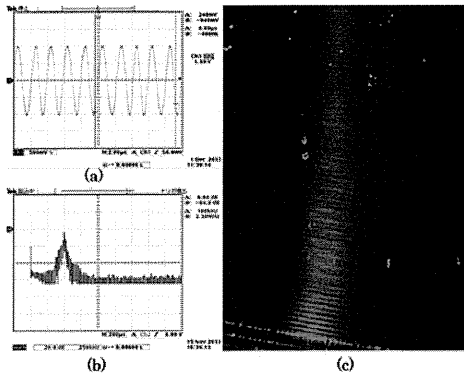
C-1-4.定在波回避に成功

図C1-5,6,7,8に、4つの異なる駆動方法で得られた駆動信号、受信スペクトル、シュリーレン像を示す。各図は、左上段の波形が(a)駆動信号、左下段のFFT波形が(b)受信信号、右が(c)シュリーレン画像である。SWRを計算するためのROIには、図C1-9の3つの異なる領域A、B、Cを使用した。この3つの領域は、どの駆動方法に対しても同一領域とした。



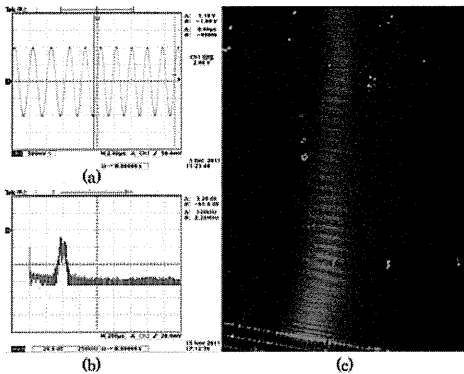
図C1-5.正弦波 (a)駆動波形、(b)受信スペクトル、(c)シュリーレン像

正弦波の場合、明線と暗線の縞模様がシュリーレン像(図C1-5(c))において明瞭であり、定在波の出現が示されている。明線(腹)の間隔は1.5mmである。SWRは領域A,B,Cに対して、それぞれ48%、36%、37%である。



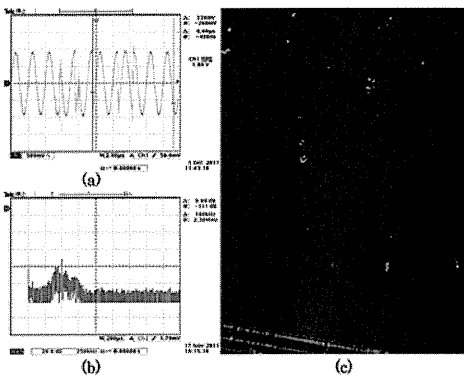
図C1-6.FMN (a)駆動波形、(b)受信スペクトル、(c)シュリーレン像

FMNの場合、縞模様は不明瞭となり（図C1-6(c)）、したがって、定在波が抑制されている。SWRは領域A、B、Cのそれぞれに対して、11%、24%、12%である。



図C1-7.PSRF (a)駆動波形、(b)受信スペクトル、(c)シュリーレン像

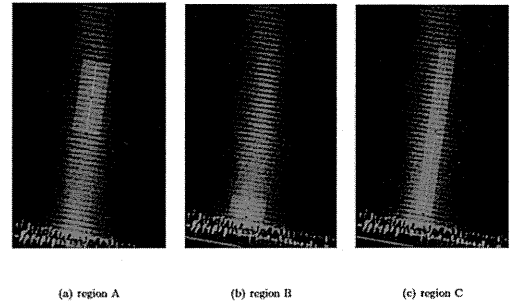
PSRFの場合、定在波の抑制はシュリーレン像中で明らかである（図C1-7(c)）。SWRは領域A、B、Cのそれぞれに対して、11%、13%、10%である。



図C1-8.RSBIC (a)駆動波形、(b)受信スペクトル、(c)シュリーレン像

RSBICの場合には、正弦波駆動の場合に比

べて電力の消費が大きいいため、より高い電圧（24V_{pp}）で振動子を駆動した。超音波の明るさはほぼ一様であり、定在波が抑制されていることが明白である。SWRは領域A、B、Cのそれぞれに対して、5%、4%、6%である。



図C1-9.SWR領域

	SWR (A)	SWR (B)	SWR (C)	rSWR (A)	rSWR (B)	rSWR (C)
SIN	48%	36%	37%	1.0	1.0	1.0
FMN	11%	24%	12%	4.4	1.5	3.1
PSRF	11%	13%	10%	4.4	2.8	3.7
RSBIC	5%	4%	6%	9.6	9	6.2

表C1-1.SWRまとめ

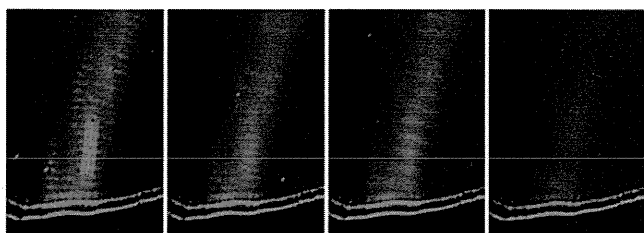
表C1-1にSWRをまとめた。表C1-1には、SWRに加えて、正弦波の場合のSWRに対するSWRの比率(rSWR)を計算して載せている。どのROIにおいても、RSBICの駆動方式でSWRが最小である。RSBICは正弦波駆動のSWRに比べて、約10%にSWRを抑制しうる。ROI(b)とROI(c)においてFMNとPSRFを比較すると分かるように、SWRの順序はROIによって異なることがある。比較研究の際、超音波ビームの経路上でどのようなROIを選択するかは、SWRを評価する上で看過できない重要因子である。この点を踏まえ、全体を見回した時、雑音変調方式を導入する事によって定在波の回避を実現する事に成功している。これは、頭蓋内における超音波の反射がもたらす定在波の抑制を可能とし、ホットスポット等の危険領域の消失に繋がるといういわばPSUSTが備えるべき安全上の課題について有用な結果を導いているものである。この音響学的成果は経頭蓋超音波脳血栓溶解法に対する安全問題を根本的に解決するものである。

C-2. ヒト頭蓋骨による有効性と安全性の音響学的検証を達成

上述の音響学的成果は、反射板等を用いた結果である。それらの結果の有効性を更にヒト頭蓋骨を用いて検証した。その研究成果は次の通りである。

C-2-1. ヒト頭蓋骨における定在波抑制効果を確認

4つの雑音変調方式で得られたヒト頭蓋骨内面における定在波のシュリーレン像を図C2-1に示した。



(a) SIN SWR=25% (b) FMN SWR=11% (c) PSRF SWR=13% (d) RSBIC SWR=5%

図C2-1.4つの異なる駆動方法によって得られたシュリーレン像の比較

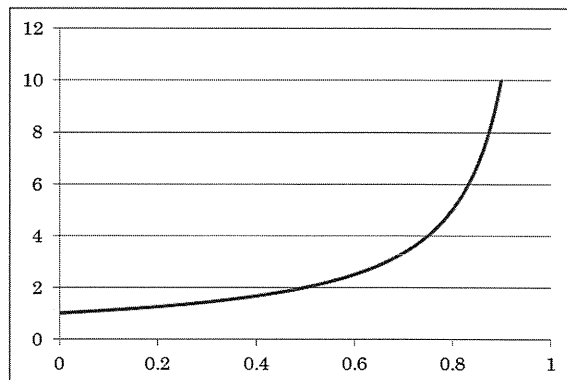
(a)正弦波、(b)FMN、(c)PSRF、(d)RSBIC、駆動電圧はそれぞれ24Vpp、24Vpp、24Vpp、30Vpp、画像下部は頭蓋骨である

図から明らかな如く、正弦波の場合のSWRは25%であり、平坦な反射板によるSWRよりもかなり低くなっている。この減少の理由として、頭蓋骨の内壁が曲率を持っており、反射した波が歪められたためと考えられる。図C2-1(a)、(b)、(c)、(d)に示すSWRは、雑音変調方式の場合には正弦波よりはっきりと低いSWR値を示している。しかし、図C2-1(b)、C2-1(c)、C2-1(d)に示されているように、3つのランダム変調方式によるSWRの減少度は図C1-6、C1-7、に比べて小さい。このようなランダム変調方式によるSWRが反射板の実験の値より減少度が小さい理由は、ランダムに変調された場合の進行波は、ある種の歪んだ波形を持ち、これにヒト頭蓋骨の曲面による空間的歪みを追加しても定在波の空間的歪みが、シュリーレン法による現象上は増大しないからかもしれないと考えられる。即ち、

頭蓋骨のスライス幅が短ければ現象論的には、各変調方式による抑制効果が次第に反射板の結果に近づくことに予想される。留意すべきことは、頭蓋内に於いて定在波を間違えなく抑制するには上述の反射板での結果を踏まえた雑音変調方式を採用する事が不可欠な安全確保上の要素となる。我々が臨床用の装置を開発する際は、この雑音変調方式の採用が本ヒト頭蓋骨を用いた結果からも、再確認されたと言える。

C-2-2. ヒト頭蓋内多重反射の影響

ヒト頭蓋骨内に投入された超音波は頭蓋骨内で多重反射を惹起し、空間的に投入音圧よりも高い音圧が定在波の発生に伴って、招来する。この上昇率は、図C2-2に示されるように、頭蓋内での超音波反射率によって変化し、最終的にはその音圧上昇は、 $(1/(1-R))$ で表される。従って頭蓋内での反射率を0.6,0.7,0.8の3段階に変えた場合の結果を表C2-1に示した。



図C2-2.反射率と腹における振幅 (横軸:反射率R、縦軸:増幅度)

	R=0.6	R=0.7	R=0.8
腹	2.5	3.333	5
節	0.625	0.588	0.556
振幅の平均	1.658	2.171	3.215
腹と節の比	4	5.7	9
SWR	1.13	1.26	1.38

表C2-1.ヒト頭蓋骨内での多重反射による定在波腹部分の音圧上昇

ヒト頭蓋骨内面での反射率については、必ずしも明確に測定された報告は乏しいが、この表に示した音圧上昇率からも分かるように、音圧の上昇率は概ね2.5倍～5倍の範囲内に留まるものと予測される。この事を踏まえ、正弦波駆動による多重反射を考慮すれば、頭蓋

内の音圧上昇が5倍程度になる事を最大安全限界としておく事が求められよう。しかし雑音変調波駆動であれば、その定在波発生率は低く、反射率0.8であっても5倍の音圧上昇を招来することは無く、抑制されることになろう。上述の反射板における定在波による実験のSWRが正弦波の場合、48%で、例えばRSB ICの場合5%であった事を踏まえれば、SWRは約1/10に抑制されている。SWRの抑制率がそのまま定在波における抑制率ではないが、音圧の上昇率は相当程度抑制されるものと期待される。相対的な意味では頭蓋内での反射率の低下と類似の効果を生む結果となる。例えば投入電圧によって形成される音圧自体が雑音変調では抑制されるので、SINの場合と比較するとその音圧上昇は投入音圧よりも低い値になり得る可能性も含んでいる。したがって雑音変調の様な駆動方式を採用すれば定在波の抑制率が反射率の低減と類似の結果を招き、ホットスポットの減少なども含め安全性がさらに上昇するものと期待される。この様に頭蓋内での多重反射が存在しても本研究では雑音変調方式を採用することで、そのSWRは1回反射のSWRよりも低く、かつそのSWRの抑制は、多重反射による音圧上昇を十分に抑制し得る事を示した。

ヒト頭蓋骨を用いた上述の成果は、反射板を用いた場合の理想的な成果をやや抑制するものとなった。この様な理想からの低減効果は充分予想される事であったが、実際の臨床における定在波抑制効果、多重反射による音圧上昇に対する抑制率等を、その成果から予測し得るものとなった。即ち定在波による音圧上昇も多重反射による音圧上昇も、いずれも雑音変調方式によって相当に抑制され、実臨床におけるPSUSTを用いる新経頭蓋超音波脳血栓溶解法の安全性が充分担保され得る事を示す事が出来た。

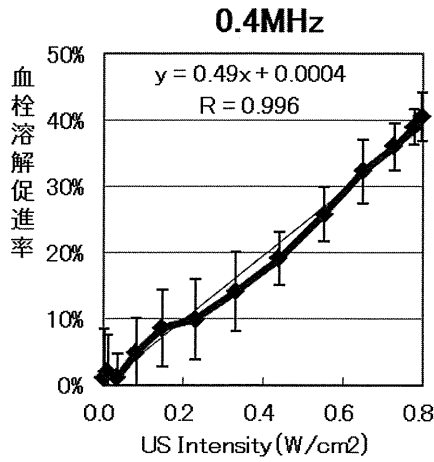
C-3. 超音波併用血栓溶解効果の周波数依存特性

上述したPSUSTを用いる雑音変調方式は、定在波除去、ビーム均一化等、経頭蓋超音波法としては極めて有効且つ安全な現実的手法になりうる事を示した。しかし同雑音変調法

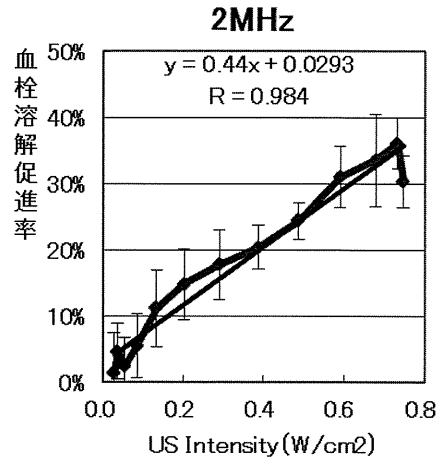
は、超音波周波数帯域の広い事が求められるので、周波数の広域化(400kHz~800kHz)に対し、血栓溶解促進率が均一である事が臨床的には要求されることとなる。その広域周波数帯に対する血栓溶解率を同一超音波強度条件、同一血栓溶解モデルで検証された事例は内外にない。本研究では超音波周波数の広帯域条件下での血栓溶解率を検討するために、同一牛フィブリンモデル、同一溶解率特定法を用い、その周波数依存性について定量的実験を行い、次の研究成果を上げる事が出来た。なお溶解率の特定法としては、方法に述べた光学的高精度溶解率測定法を活用した。これは内外に比肩するもののない高効率測定法であることを付言しておく。

C-3-1. 超音波強度と血栓溶解促進率

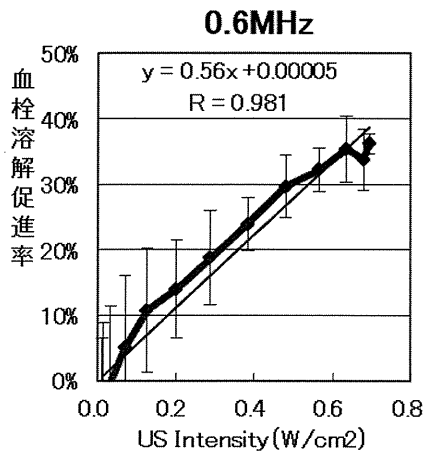
血栓溶解実験において、超音波出力強度(W/cm^2)と溶解促進率(%)の関係を、周波数400kHz、600kHz、1MHz、2MHzの4群において示した(図C3-1a~C3-1d)。その結果、各群とも、図から明らかなように溶解促進率が超音波強度の上昇に従い直線的に増加し、溶解促進率と超音波強度がほぼ比例関係にあることが示された。この時、各群の実験結果に対する回帰直線の相関係数Rは平均0.98前後の高値を示した。また、各周波数の近似直線の傾きについては、傾きが最も大きかったのは600kHz(0.56)であった。最も低かったのは1MHz(0.34)であり、この1MHzの結果は他の周波数と比べ、やや特異的に低値を示した。この低い傾きは600kHzの傾きに比べ、約60%を呈しており、1MHz近傍に特異的な血栓溶解阻害効果のありえる可能性が示唆された。しかしながら、本実験では、牛フィブリン塊1つで1つの結果を出しているため、牛フィブリン塊の製作過程、保存過程の影響を無しとしない。その為、牛フィブリン塊の数を増やした結果をさらに加えて検討することが今後必要である。以上の結果から、上記4周波数における溶解促進率は、超音波強度依存的であり、直線的あるいはそれに近い比例関係にあることが明らかとなった。



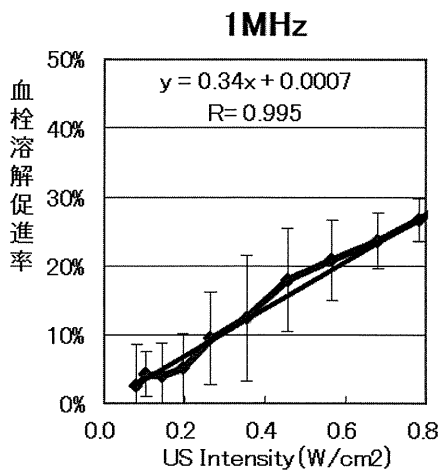
図C3-1a. 超音波強度と溶解促進率 (400kHz)



図C3-1d. 超音波強度と溶解促進率 (2MHz)



図C3-1b. 超音波強度と溶解促進率 (600kHz)

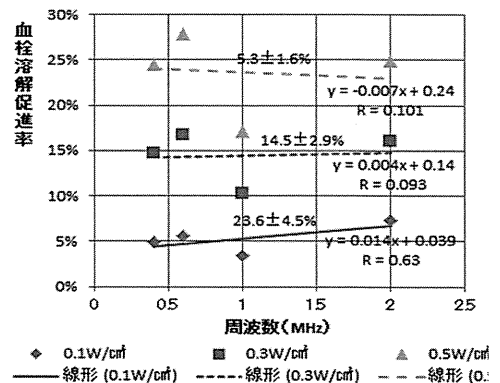


図C3-1c. 超音波強度と溶解促進率 (1MHz)

C-3-2. 溶解促進率と周波数の関係

C-3-1で得られた結果をもとに、図C3-2に溶解促進率と周波数の関係を示した。ここでは超音波強度0.1W/cm²、0.3 W/cm²、0.5 W/cm²の3群について、それぞれの溶解促進率と周波数の関係を比較した。

周波数依存特性は、図から明らかなごとく、各強度において、1MHzでは、やや特異的に低地を示すが、これをあえて除いてみると、溶解促進率には周波数依存性の無い事が示唆される。しかし1MHzの超音波では、C-3-1でも述べた通り、溶解促進率が低く、超音波周波数に対し、特異的に阻害効果の存在し得るような傾向が示された。すなわち、溶解促進率は周波数に依存しない傾向を示すが、1MHz近傍の超音波の場合には、何らかの特異的な阻害傾向の存在する事が本実験から考えられた。



図C3-2. 溶解促進率と周波数の関係

以上の成果は、適用牛フィブリン塊の例数が少ない為、統計学的に優位なことは未だ言えないが、rt-PAによる血栓溶解効果は併用する超音波により、その強度依存的に上昇する事が明らかとなった。一方、この血栓溶解効果には、超音波の周波数に依存しない傾向が認められた。但し、周波数1MHz近傍では、溶解促進率の低下が認められ、詳細な検討を加える必要性のある事が示された。

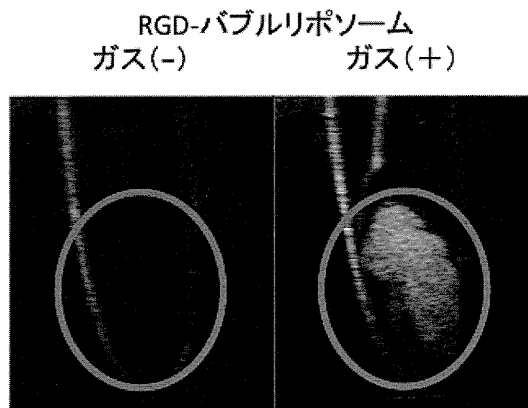
この成果は、雑音変調法を用いる新たな経頭蓋超音波脳血栓溶解法が要求する広帯域超音波(400KHz~800KHz)に対し、音響強度だけが溶解率促進効果増高の基本パラメータとなることを保証するものである事を明確にした。即ち特異な周波数領域で血栓溶解が実質的に促進されるというような事象は生じず、周波数依存のない形で超音波強度のみによって、溶解率促進効果を予測することが可能となった。従って、臨床適用に於いてもPSUSTを駆動する電圧だけで、組織内の血栓溶解率向上効果を予測する事が可能で、臨床試験における実際的な効果増強率を決定し得ることの実現性を保証する成果となった。

C-4. RGD-バブルリポソームの活性化血小板への結合と超音波診断装置による造影を達成

1. RGD-バブルリポソームの粒子径と超音波造影効果

平均粒子径は591.5nmは一ムの粒子径と超であった。

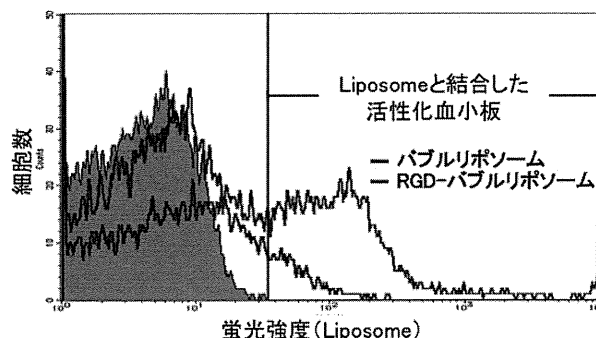
In vitroにおいて、超音波診断装置を用いて測定すると、白色の輝度が上昇し、造影効果のあることが確認された。(図C4-1)



図C4-1.RGD-バブルリポソームの超音波造影効果
チューブ内にRGDバブルリポソームがない場合(ガス-)、超音波画像は描出されないが、RGDバブルリポソームが存在する場合(ガス+)には、超音波造影された。

2. RGD-バブルリポソームの活性化血小板結合能

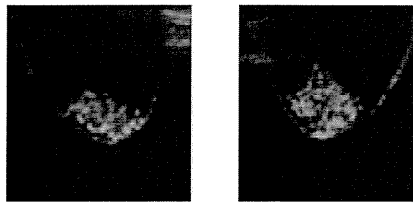
RGD未修飾のバブルリポソームの血小板結合率は7.1%、RGD-バブルリポソームの血小板結合率は33.7%となり、RGD-バブルリポソームが顕著に活性化血小板に結合することが確認された。(図C4-2)



図C4-2.RGD-バブルリポソームの血小板に対する結合性

RGD-バブルリポソームは、図C4-3に示すように血栓に結合し、超音波造影によって確

認することが出来た。白い輝度が、RGD-バブルリポソームが血栓に結合していることを示している。現在、治療用超音波による血栓破壊について検討中である。



図C4-3.RGD-バブルリポソームの試験管内血栓に対する結合性と超音波造影

超音波造影によって試験管内血栓は描出されるが、RGDバブルリポソームを注入することによってその造影輝度が著しく上昇した例

以上、RGDバブルリポソームを調整し、これによって血栓への親和性が高い事を超音波法によって示す事に成功した。この造影効果の高いことは同部位に中周波数超音波を照射することで溶解効率を更に高めることになることと期待される。実際の拍動流及び前血状態での親和性またRGDバブルリポソームの保存性等、臨床に適用するには解決すべき課題があるが、その有効性のまず示唆された事の結果は大きい。

C-5. 経頭蓋カラードプラ法における探触子頭部固定具を試作開発

過去に頭部固定型およびベッド固定型の双方より開発を行っていたが、ベッド固定型は固定具が大型であり、また、血栓溶解療法を必要とする患者は急性期脳梗塞による意識障害に伴い従命困難、長時間の安静が困難であるため頭部固定型の方針とした。国立循環器病研究センターでは2010年4月に最初の試作機を作成した。探触子は重いため頭頂部より吊り下げ式を採用し、ボールジョイント3か所にて可動性を確保した。本試作機では固定性は比較的良好であったが、画像の良好な描出のためには側頭部に探触子を押し付ける必要があり、仕様の調整が必要と考えられた。また、アームが固く、スムーズに動かす使用が必要と考えられた。2011年3月に試作2号機が完成した。改良点は①スプリングを用いた頭部密着機構、②ダイヤル式ヘッドバンドによるヘルメットの頭部固定、③3関節アームによるワイヤー式のロック機構(特許申請中)、④スナップフィット型のホルダーによる探触子の

アームへの固定であり、自在なコントロールを可能とした。

National Center and
Cardiovascular Center 88

厚生労働省科学研究費補助金基盤技術応用化総合事業
経絡的・低周波経絡波・血栓溶解法の
効果増強に関する臨床応用基礎研究

経頭蓋カラードプラ法における探触子頭部固定具の開発

遠藤 寛¹⁾、古賀政利²⁾、佐藤和明³⁾、鈴木理恵子⁴⁾
山本萌子⁵⁾、豊田一則⁶⁾、古橋 博⁷⁾、峰松一夫⁸⁾

国立循環器病研究センター
1)脳血管内科、2)脳卒中集中治療科、3)皮膚泌尿科・治療科
東京慈恵医科大学
4)総合医学研究センター・医用エンジニアリング研究室

National Center and
Cardiovascular Center 88

背景

経頭蓋カラードプラ法(TCCS)はベッドサイドにて頭蓋内主幹脳動脈の血行動態を評価できる





経頭蓋ドプラ(TCD)と比べて血管の解剖学的位置も視認でき、より簡単に目標血管を固定できる

National Center and
Cardiovascular Center 88

背景

TCCSで用いられるセクタ型探触子はTCD探触子と比べて大きく重い



⇒急性期脳梗塞における閉塞血管の再開通評価のような一定時間のモニタリングにおいても現状では用手的に施行されている

National Center and
Cardiovascular Center 88

目的

- TCCS用セクタ探触子の頭部固定具の新規開発を試みる



National Center and
Cardiovascular Center 88

方法: ベッド固定型か、頭部固定型か?

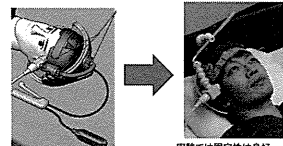
2009年頃までベッド固定型で開発

- 大掛りな装置、可動に圧縮空気が必要
- 患者の頭部の動きに対応できない

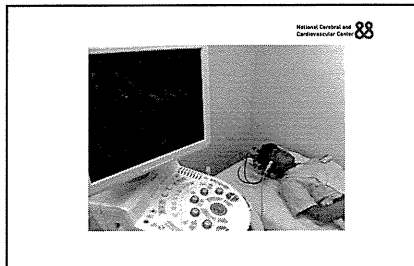
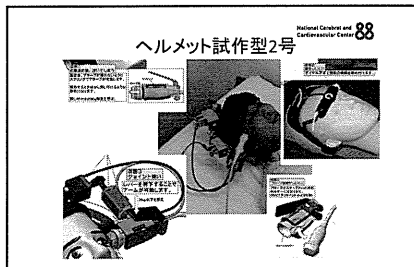
⇒ ヘルメット頭部固定型へ開発を変更
(有)アンリミット・ジャパンと共同開発

National Center and
Cardiovascular Center 88

ヘルメット試作型1号



- 頭頂部より吊り下げ式を採用
- ボールジョイント3ヶ所にて可動性を確保
- 実験では固定性は良好
- 良好な描出のために頭部に押し付ける仕様を検討
- アームをスムーズに動かすための仕様を検討



結論 National Central and Cardiovascular Center 88

- TCCS用セクタ探触子の頭部固定具を開発した
- さらなる改良を行い、臨床に応用していく

C-6. 体制構築の為の現状把握と問題定義

1) 急性脳梗塞患者の臨床データの蓄積体制

国立循環器病研究センターでは、発症3時間以内に来院する虚血性脳卒中では可能な限り頭部MRI/MRAによる血管閉塞部位の評価を行っている。原則として来院時収縮期血圧が180mmHg未満の50歳以上の患者では脳出血の可能性が高くなく、頭部CTを施行せずに頭部MRI/MRAのみで評価すること（CTスキップ）により検査時間の短縮に努めている。

TCCS検査で血栓溶解療法開始時に閉塞血管を評価し、評価可能な場合には同療法終了時に再開通の有無を調べている。また、血栓溶解療法後の追加治療として効果の期待出来る経皮経管的脳血栓回収用機器（MERCIRリトリーバー、Penumbraシステム）が使用できるようになったため、平成22年10月からは内頸動脈、中大脳動脈水平部（M1）、中大脳動脈分枝（M2）、椎骨動脈、脳底動脈閉塞がある場合には血栓溶解終了時点（治療開始から約1時間）で再度MRI/MRAによる評価を行い閉塞血管の再開通の有無を評価している。特にM1閉塞例の再開通に関するデータは今後経頭蓋超音波脳血栓溶解療法の、治験を導入するときのヒストリカルデータとして用いる予定である。

2) 急性脳梗塞医療の現体制

現在、国立循環器病研究センターの脳血管内科に所属する脳血管内科レジデントおよび専門修練医は脳卒中診療を習得するための後期研修を受けており、脳卒中診療の第一線で診察や検査を担当している。各々のレジデントは担当する虚血性脳卒中患者を必ずTCDもしくはTCCS検査で評価し、積極的にTCDやTCCS検査の技術習得に努めている。良好な側頭骨窓がある場合には、中大脳動脈を中心に主幹動脈の閉塞や狭窄の有無を評価している。また、大動脈原性や頸動脈狭窄からのartery to artery塞栓性機序、心臓内の右左シャントからの奇異性脳塞栓症が疑われる場合には微小塞栓（high intensity transient signal/microembolic signal : HITS/MES）のモニターやバルサルバ負荷試験を行っている。3年間（専門修練医は2年間）のレジデント期間中、1年次終了時にはTCDおよびTCCS検査技術を習得出来ている。

また超音波血栓溶解技術の治験に関わる脳血管内科、脳神経内科（医師）・脳卒中集中治療室（医師、看護師）、放射線科（医師、技師）、治験推進部研究開発基盤センター（医師・コーディネーター）が協力して治験を行えるよう、スムーズな情報伝達ができる環境を構築中である。今後も治験開始前からの説明会や会議などで連携の強化に努めていく。

C-7. rt-PA静注療法の経過時間毎におけるTCCS/MRAの再開通率データ収集を達成

国立循環器病研究センターにおいて本研究の対象とした急性脳梗塞患者は214例、平均年齢は73±13歳であった。男性が68%、既往症は高血圧67%、糖尿病21%、脂質代謝異常36%、心房細動57%であった。臨床病型はラクナ梗塞1%、アテローム血栓性脳梗塞11%、心原性脳塞栓67%、その他の脳梗塞が21%であった。治療前MRA上の閉塞血管はICA39例（18%）、ACA2例（1%）、MCA M1 74例（35%）、M2 29例（14%）、PCA5例（2%）、椎骨脳底動脈系5例（2%）、閉塞血管なし36例（17%）であった。M1閉塞病変患者でTCCSで再開通を評価できた19例では、rt-PA投与開始時のCOGIFで完全閉塞を示したものは32%、拡張期血流を伴う血流速度の低下を示したものは63%、血流異常なしの所見は5%に認めた。フ

フォローアップ分類では、再開通の所見を68%に認め、変化なし32%であった。また入院中にM1閉塞全例を14日以内に1回以上MRAで再評価した。評価したタイミングまでに再開通を確認した症例数をその時点までの全評価症例数で割って再開通率を求めると、TCCSによる、血流改善の割合はtPA療法開始から1時間までが33%、2時間までが36%、24時間までが67%、14日までが79%であった(図C7-1)。

検査時間	全検査患者数	再開通数	再開通頻度(%)
1時間	9	3	33
2時間	11	4	36
24時間	18	12	67
14日	19	15	79

図C7-1.TCCS血流改善のタイミング
(M1閉塞例中再開通を評価した19例)

MRAによる再開通のタイミングの評価では、1時間までが27%、2時間までが33%、24時間までが72%、14日までが97%であった(図C7-2)。

検査時間	全検査患者数	再開通数	再開通頻度(%)
1時間	11	3	27
2時間	12	4	33
24時間	29	21	72
14日	65	63	97

図C7-2.MRA血流改善のタイミング
(MRA施行のM1閉塞74例)

TCCSとMRAのデータを合わせると、1時間までが33%、2時間までが42%、24時間までが80%、14日までが94%であった(図C7-3)。

検査時間	全検査患者数	再開通数	再開通頻度(%)
1時間	18	6	33
2時間	19	8	42
24時間	35	28	80
14日	68	64	94

図C7-3.MRA/TCCSによる血流改善のタイミング
(MRA/TCCS施行のM1閉塞74例)

C-8. 経時的TC-CFIモニタリングの再開通しなかった場合の追加治療の判定

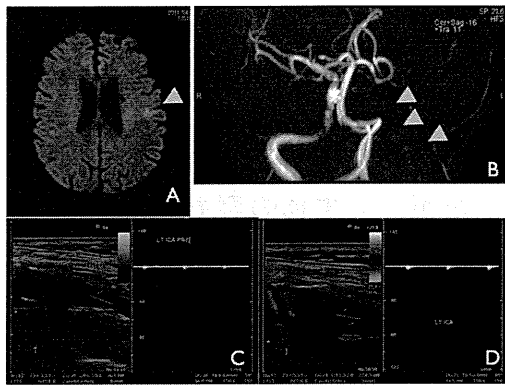
今年度の研究期間で、東京慈恵会医科大学においてrt-PA投与を行ったのは2症例であった。2症例とも治療前にTC-CFIが施行可能であったが、いずれの例も側頭骨ウインドウが不良であった。症例1は以前より左内頸動脈(ICA)高度狭窄があり、来院時に左ICA閉塞となっており、頸動脈エコーにてモニタリングを行った。症例2では左後大脳動脈(PCA)のみが観察されたため、同部位でのモニタリングを行った。

以下に、各症例の詳細について記す(図C8-1と図C8-2参照)。

【症例1】72歳男性。陳旧性心筋梗塞、高血圧の既往あり。頸動脈エコー検査にて左ICAにNASCET70%程度の狭窄を認め、当院血管外科に紹介。半年後のエコーで狭窄率は不変であった為、更に半年後のエコーfollowの予定となっていた。某日、ソファに座ってテレビを見ていたところ、急に呼びかけに反応なくなり、当院救急へ搬送。来院時、軽度の右片麻痺と構音障害を認め、NIHSS4点。頭部MRIでは左下部中心前・後回に拡散強調像で高信号を認め、MRAでは左ICAが閉塞していた。NIHSSは低かったが、MRIのFLAIRとSWIで左MCAの広範なmisery perfusionが示唆され、発症2時間50分でrt-PA投与を開始した。頸動脈エコーで左ICA閉塞が確認されていたため、側頭骨ウインドウは不良であったが、経時的に左ICAの血流をモニタリングした。

rt-PA投与終了後のNIHSSは1点まで改善していたが、エコーでは左ICAは閉塞したままであり、閉塞に対し緊急での血管内治療の適応を検討するため血管撮影を施行。左ICAの閉塞により、左MCAと前大脳動脈(ACA)の血流は前交通動脈や外頸動脈、椎骨動脈系を介して灌流されていたが、ACA-MCA分水嶺領域では描出が不良であった。しかし、梗塞巣は小さく、症状も改善していたため急性期の血管内治療は行わなかった。

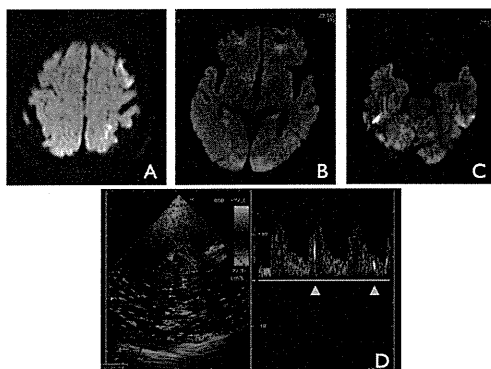
最終的にはNIHSSは0点まで改善し出血性合併症は認めなかったが、経過中に無症候に梗塞巣が増加し、脳血流シンチグラフィで左大脳半球の血流低下と予備能低下が確認され、待機的にバイパス術を施行する予定となった。



図C8-1.症例1の画像所見

【症例2】68歳男性. 左内頸動脈狭窄, 腹部大動脈瘤, 腹部腫瘍を指摘され, 外科的治療を目的に当院紹介受診. 術前検査で陳旧性心筋梗塞の所見を認め, 入院し冠動脈造影を施行. 検査中に全失語, 左共同偏視, 右上肢不全麻痺が出現し (NIHSS 13点), 頭部MRIにて, 左前頭頭頂葉, 両側後頭葉, 両側小脳に散在性の梗塞を認めた. 血栓溶解療法の適応と考えられ, 発症2時間でt-PAを投与した. 投与60分後には全失語と右上肢麻痺が著明に改善した. 経頭蓋カラードプラ (TC-CFI) モニタリングではウインドウ不良で左PCAのみが観察され, 投与75分後に多数の微小栓子シグナル (MES) を認めた. 左手指の皮膚所見よりコレステロール塞栓症 (CCE) と診断し, 第6病日よりプロスタグランジン製剤を投与したが, 第10病日に両足にblue toe, 骨盤部MRIで両側骨盤筋, 脊柱起立筋などに多発性塞栓を認めた. 第12病日のTC-CFIにてMESが観察され, 頭部MRIにて両側後頭葉の梗塞が拡大していた. ステロイド投与を追加し, MESは徐々に認められなくなり, 遷延していた発熱や炎症反応も軽快した.

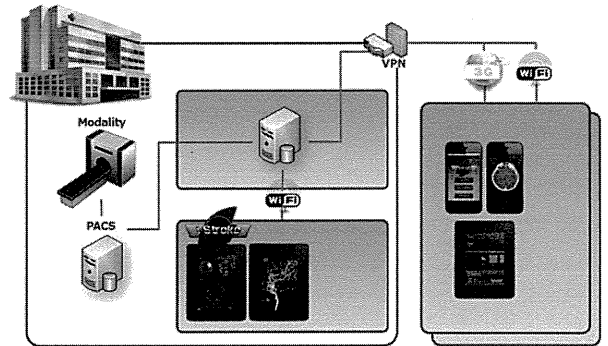
本例ではCCEに伴うMESをrt-PA投与中のモニタリングで捉えることが可能で, その後のCCEの病勢と治療効果の判定にMES検索が有用であった.



図C8-2.症例2の画像所見

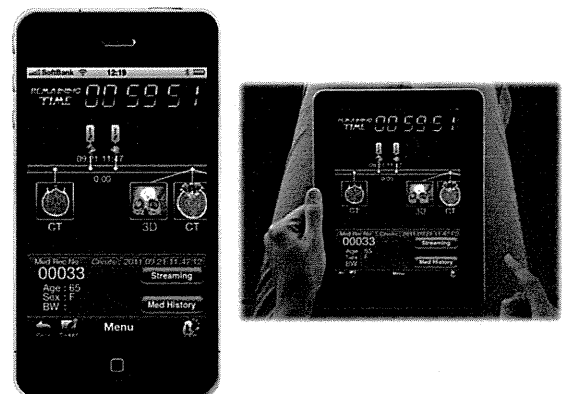
C-9. 遠隔画像診断補助システムの開発とその評価

1) IT化遠隔画像診断治療補助システム概要
このシステムの概略図は, 図C9-1に示す通りである.



図C9-1.遠隔画像診断治療補助システムの構成図

サーバを院内に設置することとVirtual Private Network (バーチャル プライベートネットワーク、VPN) を採用することで, セキュリティを確保した. また, 医療画像に関しては, 院内でみる画像と同等のクオリティを実現した. そして, 時間経過がわかるようにタイムライン表示形式を採用した (図C9-2).



図C9-2. 実際の遠隔画像診断治療補助システム (タイムライン方式による画面表示)

このシステムに於いて第一に留意した点は, 患者の個人情報機密保持をどの様に確保するか, という事であった. 本システムでは, 場合によっては誰もが自由に適切なパスワードで個人情報を入手可能となるので, このIT化システムに於いては, 特に慈恵医科大学内

に専用のサーバーを置き（図C9-1参照）、このコンピューターシステムによってパスワード管理や情報管理、検索範囲等を制限する事で、成功した。

第二の留意点は、画質の確保をどの様にするか、という点である。既に携帯電話が登場し、テレビカメラ画像転送が出来るようになった時代から画質に問題のないことは、慈恵医大救急医学部や、国内各地の救急医療機関が検証してきた。ここではiPhone4を用いて、画質の良好性を再確認した。

第三に留意した点は、救急患者の救命救済が主題であるので、その経時的な病態変化が極めて重要な課題であるため、刻々と追尾し得ることとした。新たな画像診断的所見が追加される度に画像の更新と、発症からの追跡の可能性が重要となる。本システムではこの点に力点を置き、タイムライン表示形式を採用した。これによって専門医は病態変化の状況を把握したり、その最新の病歴を把握する事ができたり、退院後の治療方針を決定する事ができる。しかもその院内に専門医がいなくとも適切な指示をそのスタッフに指示する事も可能となる。

以上3つの留意点を技術的に完成し、その実際の適用成績を次に述べる。

2) 成果

2010年8月から2011年7月の1年間に73症例でこのシステムが運用された。

この内、64人の患者は東京の中心大都市圏から救急車で搬送され（おおよそ1km～20kmの搬送距離）、9人の患者は歩いて直接来院された。

具体的な脳卒中疾患の内訳は表C9-1の通りである。脳神経外科にて、初期導入されたので、外科的疾患が多く、脳梗塞症例は、4症例と少ない結果ではあるが、治療適応がある患者の紹介が多く、うち3症例は血栓除去を行っている。

2010年8月～2011年7月	症例
くも膜下出血	18
10症例:コイル塞栓術, 5例:開頭手術, 3例:経過観察	
脳内出血	16
3例:手術, 13例:点滴加療	
脳梗塞	4
(3例:血栓除去術, 1例:点滴加療)	
その他	35
合計	73

表C9-1. 遠隔画像診断治療補助システムの1年間の成績

本システムを適用した73例中、急性脳梗塞患者は4例で、極めて少なかった。しかも経頭蓋超音波脳血栓溶解用が適用となる症例は、4例中1例に留まる。3例は血栓除去術という血管内治療技術を適用しなければならなかった症例であった。開発したIT化遠隔画像診断治療補助システムの偉力を認識するには充分であったが、超急性期における血栓溶解療法、即ち、rt-PA静注療法の例は少なかったため、この点については、開発したIT化医療システムの今後のデータ蓄積に期待するところである。

D. 考察

上記の成果を要約すると次のようになる。患者の体動や苦痛意識障害などで頭部が動いてしまう臨床現場に適用する貼付型のソフト超音波振動子を開発した。このPSUSTを用いる新脳血栓溶解法に関し、雑音変調方式を用いることによって次の安全性と有効性が音響学的に担保されることを示した。すなわち、

- ①定在波極在による頭蓋内音場の空間的音圧上昇領域（ホットスポット）の回避
- ②照射ビーム均一化を図ることによるホットスポットやコールドスポットの低減化
- ③多重反射によるヒト頭蓋骨内の音圧上昇が少なくとも5倍以下であること

を理論的実験的に明瞭にした。特に②は非誘導下においても直径30mm口径のビームを均一照射することで空間的に塞栓部に対する標的照射、すなわちナビゲーション法等を不要とする操作簡便な照射法を実現するものとなった。この雑音変調方式は超音波振動子に対しその周波数特性の広い(350kHz～800kHz)帯域を要求するものであるが、in vitro実験によって超音波による溶解効果には周波数依存性の無いことを示した。それゆえ、実臨床の治療においては、雑音変調駆動電圧の平均電圧強度の制御だけで溶解率増高効果を設定し得ることを明瞭にした。又、溶解率増強をさらに加速する血栓選択型のバブルリポソーム併用法を考案し、活性血小板標的性の高いRGDバブルリポソーム開発に成功し、その実用性に関して動物実験によって検証した。尚、

標的型の塞栓部探索技術は本開発装置による治療効果判定の為の標的血管における血流状態監視には不可欠な技術で、超音波治療ビーム入射側あるいは反対側より、標的とする中大脳動脈を長時間（60分以上）連続監視し得る技術として今後とも留意すべきものである。この監視用の頭部超音波プローブ保持具の改良を加え、国立循環器病研究センターでは実用性の高い装置開発に成功した。

本研究による臨床試験に先立ち、現行の超音波脳血栓溶解法（rt-PA静注療法）の臨床実態について、経頭蓋超音波ドプラ断層法（TCCSまたはTC-CFI）を用い標的血管探索条件さらにはシャント診断についての臨床データを蓄積した。さらに、IT化技術を活用した遠隔医療画像診断治療補助システムを検討し、超急性期治療開始前の病院救急車診療所等の連携を深める携帯電話活用法の可能性を示し、実際にI-STROKEシステムを以って同携帯電話活用型のIT化遠隔医療画像診断治療システムの有効性を検証した。

以上の成果を踏まえ、臨床現場での実現化に関し次のように考察する。

D-1. 単一PSUSTを用いる雑音変調型新脳血栓溶解法の実用化検討

本年度の研究に於いては、急性脳梗塞治療の第一選択となる血栓溶解剤静注療法の加速化を狙う、次世代型の貼付型超音波振動子を開発した。これを用いて、経頭蓋的に超音波を広角照射し、標的となるMCA主幹部での血栓溶解加速を実現し得る音響力学的な解析成果を上げた。特に超音波ビームの均一化をはかる事を、雑音変調方式を用いることによって実現し得る事を実験的に示した。雑音変調方式の中でもとりわけ逆相信号波形をランダムに選択する方式が、もっとも優良である事を示した。これを臨床の現場に導入する事によって、脳梗塞発症患者の多くに適用出来るものと期待される。

D-1-1. ビーム均一化の臨床的意義

分担研究報告書でも述べたように、PSUSTを用いた雑音変調法は、ビーム均一化を音響学的に説明し、非誘導下に於いても標的血管に必要な治療用超音波ビームを照射し得る大口徑ビームとして完成した。雑音変調がもたらすビーム内におけるホットスポット、コー

ルドスポットの軽減がこれを実現するものである。この点を定量的に示す為に新たな指標として均一化指標UIを導入し、これを用いてRSBIC法が最もUI値の高い変調方式である事を示した。このホットスポット、コールドスポットを軽減するという雑音手法の他にも、均一化を実現する手法として次の方法も考えられる。

①不均一媒体活用方式：不均一媒体によって伝搬速度の擾乱、多重散乱によるビーム方向のランダム化、音響インピーダンスの不均一化によるビーム方向のランダム化等々、中間媒質としての不均一材料をプローブ表面と頭皮との間に設ける方式である。

②流動的不均一化方式：①と同様に振動子表面と頭皮の間に経時的に変化する音響インピーダンスの異なる物質を流し（例えばマイクロスフェア等）ビーム伝搬経路内の音場を①と同様のランダム化を形成し、頭蓋内に投入された段階では雑音変調方式と類似のビームランダム化が発生するようにしておく方式。

③機械的振動によるランダム化方式：PSUSTの様なソフト振動子自体を機械的に振動させ、形成される音場自体が時間的空間的に均一でなく、ランダム化を伝播ビームの発射時点から生じさせる方法。

このようなランダム変調化の技術は臨床現場における操作の簡便性を中心とする実用性と冷却能力等を含むコスト等によって検討されなければならない。これらの方式については、未だ十分な比較検討がされていないので、現時点でその実用化に関する評価は困難である。

D-1-2. 頭蓋骨および周囲組織はビーム均一化に貢献するか

上述の均一化方式①の一例として、ヒト頭蓋骨とその周辺組織を超音波伝播経路内におかれた不均一媒体と考える事が出来る。本研究では、頭蓋骨がもたらすビーム均一化への貢献度（効果）については、検討していない。この点は必ず実験的、或いはコンピュータシミュレーションによって評価しておかねばならない課題である。雑音変調法を活用するとしても、その効果を一層増高させるものと考えられるが、この増高傾向を実験的に検証しておくことは、必須の課題と考えられる。実用化を考える場合には、ビーム均一化を加速するその方式については是非とも事前に検討する必要がある。その際には高齢者におけるヒト頭蓋骨を用いることも重要で、加齢に伴う

骨厚の増大、骨内組織の変化等を考慮しなければならないからである。

D-1-3.超音波ビーム広角化への改良

雑音変調型PSUSTによって形成される空間的音場分布は、焦点近傍の口径を広げ、そこでも入口部とほぼ同等以上の広角化が実現されている。更なる広角化を実現する手法としては、次の方式が考えられる。

①音響レンズ法：プローブ表面にビームを拡大し得るような音響インピーダンスの異なる材質を置き、また場合によってはその形状を光のレンズの様に變化させ、ビームの広角化を狙うもの

②振動子曲率の活用方式：振動子の形状自体に凸面上の曲率を持たせ、ビームの伝播方法を広げるもの

③振動子複数化方式：単一振動子ではなく、複数の振動子を短冊状に並べたり、同心円状に振動子を配したりしてビームの広角化を狙うもの

④機械的にビームの方向を變化させ、その広角化を図るもの

などが考えられる。これらの方式は、超音波診断法に於いて種々検討された長い歴史がある。その中から適切なものを我々が扱う中周波数帯に活用し、広角化を図ることも考えられる。これらについては未検討であるので、実験的に、或いはシミュレーションによって予測検討する事が必要となろう。この様な広角化技術は、駆動回路を複雑にし、コスト高になる怖れがある。臨床現場での頻回利用と、医療効果を踏まえた保険点数や、病院経営等を踏まえてビジネス化の試算を充分にしなければならないものとする。

D-1-4.PSUSTのディスプレイ化

分担報告書に述べられているように、PSUSTが持つ音響学的安全性とは別に、超音波発生に伴うPSUST自体の熱的損失が考えられ、現状ではその冷却化方式の採用が必須のようである。冷却化の方式には、冷却用のジェリー、ペルチエ効果による電氣的冷却化、水冷又は空冷による循環冷却化等の方式が考えられる。冷却方式が複雑になればなるほど装置の信頼性が一般には悪くなり、構成要素の少ない状態が信頼性確保のためには要求される。この観点から見ると、冷却化には冷却ジェリーの様なものが最も適する方式と考えられる。この冷却化ジェリーの中でも、その冷却能力が数時間に及ぶものもあれば数日に及ぶものもある。実際に急性脳梗塞患者の治

療を行う頻度を考えると、脳卒中を専門とする様な医療機関に於いても年間数100例であり、rt-PA適用例は1日1例あれば極めて多い状態と考えるのが現状である。その意味では冷却能力を1週間とか1ヶ月持続させるのは余り意味がなく、またその能力が消失したことを確認するという作業も必要となり、むしろ冷却能力は1時間～2時間程度で消失しても良いので、着実に冷却を行え得るジェリー活用型の冷却方式が有効と考えられる。この点についての検討は本研究に於いても充分に行われておらずコスト面を含めた実用化検討が必要になると考えられる。換言すれば、数時間の冷却能を持つ冷却溶剤を持ち、振動子としては低コスト化を図り、ディスプレイ化する事が最も臨床現場における安全性確保に適する方式になるものと予想される。PSUST部分とこれを包む冷却材部分をディスプレイ化し、駆動用の電気回路系は何度でも使用可能なシステムとしておく事が現実的な治療装置としてイメージされる。またディスプレイ化という意味は、実際の臨床現場における衛生上の要求にも応えるものとする。PSUSTを貼付する側頭部は通常毛髪に覆われており、実際にはそこにたっぷりのエコーゼリーを塗り込んだ上にPSUSTを貼付したり（バンド固定したり）、場合によっては毛髪部分を剃毛し、直接頭皮上にPSUSTを貼付することになるものと考えている。剃毛操作などは頭皮に微小出血などの傷を負わせることになるので、1度使用したPSUSTを次の患者に使うことは衛生上問題となる。血液をどのように清潔に処理できるかが課題で、PSUSTをガス滅菌や他の殺菌操作に耐えるように製作する事の方がコスト高にならないとも限らない。今のところ我々は冷却ジェリーを用いたディスプレイ化を図る事が最も低コスト化に結びつくものと考えている。

D-2. PSUSTを用いる雑音変調型脳血栓溶解法の音響学的安全性の確保

中周波数超音波を用いる脳血栓溶解法は、DaffertshoferらによるTRUNBI trial Phase IIの実験結果から、臨床的には危険な中周波数帯と目されてきた。この中周波数超音波が安全であることは、その後、佐口・王らによって実験的に示され、その結論によれば超音波条件の設定次第で安全にも危険にもなりうる事が明らかとなった。そして、TRUNBI

trialの超音波条件は、試算によれば余りに音響学的に危険であることが理論的、実験的に示された。ただし、佐口、王らによって提唱されている超音波照射条件に於いても、適切な照射法を採用しない限り、定在波の発生という根本的危険因子の存在することは明らかであった。本研究では、PSUSTを用いた単一振動子によるインターミット照射法（これらは佐口、王らの実験成績と同一の照射法）において、定在波の発生を回避し得る方法を提案した。この定在波回避の手法は、上述の雑音変調型駆動方式であり、この変調法を用いれば、定在波の発生を抑制し得ることはTunkらによって既に報告されている。そのTunkらの雑音変調駆動方式は、雑音周波数変調法FMNである。これは、Sweep変調による周波数変調よりはるかに定在波発生を抑制するものであったが、これとは別に我々は3つの新たな雑音変調法を提案し、そのいずれもがFMN変調方式より定在波抑制率が高い事を実験的に示すことに成功した。即ち、上述の雑音変調方式の中で、RSBICが最も定在波抑制効果が高く、臨床的な意味での安全性確保の目標を充分達成し得ると評価された。

このRSBICを初めとする雑音変調方が、定在波抑制効果の充分ある事を示したが、その他にも頭蓋内多重反射による音圧上昇の抑制効果のあることも示し、いわばTRUNBICtrialが臨床的に失敗した音響学的問題を全て解決し得る事を示した。

一方この雑音変調方式の基本技術要素として、超音波振動子自体が500KHz単独の狭帯域電気-音響変換効率ではなく、周波数350KHz～800KHzに及ぶ高帯域変換特性を持たなければならない事が課題であった。PSUSTは、1-3コンポジット構成であると同時にポリマーをそのダイシングした素子の間に充填しており、これによって広帯域化に成功した。雑音変調方式はこの広帯域電気音響変換特性を達成する事が必須の条件であったが、これを薄型のソフト振動子によって実現する事が出来た点も第二の特徴である。

しかしながら超音波による血栓溶解効率に関する基礎データは、そのような広帯域領域に対して、どのような特性を持つか、未だ明瞭にされた実験成績は存在していない。後述す

るように我々はその広帯域に渡る血栓溶解効率の特性がどのようなものであるか、in vitro実験によって明らかにした。ただし、開発したPSUSTを用いた血栓溶解効率増高効果についてin vitro実験in vivo実験を通して未だ我々もその特性について未検討である。音響学的に安全なこのPSUSTを用いた有効性評価を改めて実施する事が必要である。

D-3. 中周波数超音波血栓溶解法の効果増高特性—溶解効率増高に周波数依存性が低い—

上述のPSUSTを用いる新血栓溶解療法においては、その使用する超音波が雑音変調駆動方式によって形成される超音波ビームを有するため、その周波数特性は約300KHz～800KHzに及ぶ広帯域のものとなっている。従来この中周波数帯における血栓溶解効率増高効果に対し、相互に比較できる実験報告は極めて乏しい。その理由は、実験方法が異なり、使用する血栓の種類が異なり、超音波の強度が異なり、超音波の波形が異なり、rt-PA濃度が異なり、溶解率の評価法が異なる等、様々な差異が各研究者による実験間に存在していたからである。それというのも超音波振動子自体が固有の振動周波数を持つ為、実験ごとに超音波プローブを交換せねばならず、音場分布が3次元的に異なることなどが主な音響学的原因であった。これを打破するために我々は光学的高精度血栓溶解測定装置を開発し、これを用いて音響的条件を整え、周波数、或いは強度に関し、多数のデータを1回の実験で獲得し得る方法を実現した。その結果、超音波による血栓溶解効率の向上はその強度に依存し、その周波数に余り依存しない事を示すことに成功した。

上述のPSUSTを用いた場合には、広帯域の周波数超音波を血栓に照射する事になるので、血栓溶解効率に周波数依存の無いことは雑音変調方式を用いても単に強度依存的に溶解効率の上昇の得られる事を明らかにすることとなった。臨床現場での実使用条件を考えると、雑音変調用の駆動電圧を制御するだけで溶解効率の増高程度を容易に予測する事ができるということになる。

ただし本年度の段階では、血栓として用いた牛フィブリン塊一つについて得られたもの

で、その数を増やした実験を加え、周波数依存性に関する統計学的評価を高める必要があることは言うまでもない。この点についての *in vitro* 実験の追加は必須である。

他方、上述したように雑音変調方式による溶解効率の増高効果についても、実際の PSUST を用いて（あるいは同等の周波数特性を持つ小型 PSUST を用いて）*in vitro* 実験によって溶解効率の増高程度を検証しておく必要がある。言うまでもなく、*in vivo* 実験による検証も不可欠な前臨床試験の要求になるであろう。

血栓溶解効率に周波数依存性の乏しい事は、次の様な仮説を立て得るものとなる。実験は周波数 400KHz、600KHz、1MHz、2MHz で行い、この4周波数の間に溶解効率の増高差異の少ない事を示した。即ち一定の音響強度であれば周波数依存性の無いということは、加える超音波の粒子速度にのみ依存するという仮説が立てられる。超音波による水中での粒子速度は、「音圧の振幅」に比例し、「密度」と「音速」の積に反比例する。本実験での rt-PA 溶液中の、血栓に対する rt-PA のフィブリン塊への浸潤程度が、この粒子速度にのみ依存するという考え方である。rt-PA 濃度、フィブリン濃度が一定であれば、一定値を示すので、その様な仮説が成り立ち易いと考えられる。この仮説の成否については、今後の研究課題となろう。

D-4. RGD-バブルリポソームの調製法を確立

RGD-バブルリポソームの調製法を確立することが出来た。RGD-バブルリポソームは活性化血小板に結合し、造影効果も認められた。これによって、通常診断用超音波装置で血栓を可視化するための、血栓をターゲティングする分子標的性バブルリポソーム製剤を開発することが出来た。

活性化血小板を標的とする RGD-マイクロバブルの開発は、既にメアーズらによって成功している。IIb-IIIa 抗体をマイクロバブルの表面を修飾し、血栓への心和性を高め、これによる溶解効率向上を狙うもので、既にラット血栓モデルにおいてその超音波画像表示の可能性を報告している。それ故、マイクロバブルの破壊を行える診断用 flash echo 等を用いれば超音波診断装置によっても標的性の高い血栓溶解効果の得られる可能性が既に示さ

れている。

これに対し、本研究に於けるバブルリポソームは、その粒子径がサブミクロンサイズで、マイクロバブルよりも一桁小さなバブル経であるので、血栓を形成するフィブリンネット内に浸潤し易いというメリットを持っている。それ故、その破壊力或いは rt-PA の浸潤能力をより一層高める可能性が含まれている。なお、画像化という意味ではマイクロバブルサイズ（数 μm ）でなければ可視化出来ないことはよく知られているところである。本研究に於いて、可視化が可能であったのは、バブルリポソームの粒子径がサブミクロンサイズのものばかりではなく、ミクロンサイズのバブルも含んでいた結果で、ここで扱っているバブルリポソームの粒子径がサブミクロンからミクロンサイズまで幅広い事の利点でもある。この画像化血栓をナビゲーションとして中周波数超音波を曝露し、さらに高効率の血栓溶解効果が達成されると期待される。具体的には、RGD-バブルリポソームを用いて通常診断用超音波装置で血栓を可視化しつつ、低周波超音波照射を組み合わせ、診断と同時に行なう非侵襲的血栓破碎治療が可能と考えられ、次へのステップに重要な知見を得ることが出来た。

RGD-バブルリポソームを用いれば、脳梗塞ばかりでなく、冠動脈血栓についても血栓の描出と破碎が可能と考えられる。また、非侵襲的診断・治療の構築のためには、診断用超音波の描出能改善と治療用超音波の一体化が必要であると考えられる。すでに我々のグループでは積層型の診断用超音波ナビゲーション型の中周波数治療用ビーム発射システムに成功しており、その活用の可能性が期待される。

D-5. 経頭蓋カラードプラ法における探触子頭部固定具の開発

過去に頭部固定型およびベッド固定型の双方より開発を行っていたが、ベッド固定型は固定具が大型であり、また、血栓溶解療法を必要とする患者は急性期脳梗塞による意識障害に伴い従命困難、長時間の安静が困難であるため頭部固定型の方針とした。2010年4月に最初の試作機を作成した。探触子は重いため頭頂部より吊り下げ式を採用し、ボールジョイント3か所にて可動性を確保した。本試作機では固定性は比較的良好であったが、画像の良好な描出のためには側頭部に探触子を押し

し付ける必要があり、仕様の調整が必要と考えられた。また、アームが固く、スムーズに動かす使用が必要と考えられた。2011年3月に試作2号機が完成した。改良点は①スプリングを用いた頭部密着機構、②ダイヤル式ヘッドバンドによるヘルメットの頭部固定、③3関節アームによるワイヤー式のロック機構(特許申請中)、④スナップフィット型のホルダーによる探触子のアームへの固定であり、自在なコントロールを可能とした。一般に超音波診断装置は、長時間一定の場所に固定することを前提としていない。患者の安全と診断の有効性を考え、ALARAの原則(AS Low AS Reasonably Achievable)に従って、検査を行う事が基本的使用上の要求だからである。長時間血流監視用に外科手術やTCDによる栓子検出などは例外的で、本研究に於いても脳血流を長時間連続モニターすることは、例外的な使用法である。従って一般に超音波プローブは、健者が手で保持するようにデザインされており、長時間これを固定する持具は存在しないのが現状である。本研究による新たな保持具は、長時間監視を脳血流について行い得るもので、脳循環が生理的現象や高次脳機能による変化などで時々刻々変化をする様相を追跡するような、新たな脳循環生理学的研究にも供し得るものと期待される。言うまでもなく一般に脳血栓溶解療法において、血流再開通状態を連続監視する方法は存在していない。カラードプラー断層法を用いて、標的血管を探索し、同血管の循環動態を長時間監視し得る本固定具は、現行rt-PA静注療法のrt-PA容量の再開通と共に停止する、というような点、容量低減化にも活用する事ができる、画期的な持具になると考える。

D-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

国立循環器病研究センターにおいてTCDやTCCS検査はレジデントの習得すべき検査技術の一つである。この検査は、超音波血栓溶解技術の臨床治験に必須であり、この体制は治験導入に役立つであろう。治験の対象患者が発症3時間以内の脳梗塞例で、短時間の中で様々な情報や検査データの取得が必要となり、職種間の緊密な連携が必須となる。今後もヒ

ストリカルデータの収集および多職種間の連携構築を進めていく。

D-7. 現行rt-PA静注療法による臨床データの蓄積

PSUSTを用いる新たな脳血栓溶解法の比較対象群とするために、現行のrt-PA静注療法に関する臨床データを蓄積した。新血栓溶解療法は、中周波数超音波による血流再開通時間の短縮と再開通率の向上こそが第一の臨床的特徴であるので、これと比較するために現行rt-PA静注療法における再開通時間再開通率に関する経時的データを蓄積する必要がある。一般的にrt-PA静注療法を施行した場合には何時再開通したか、具体的な再開通の瞬間を知る方法はない。あえて行うとすればMRI監視下、或いは超音波による実時間監視下で、標的血管の再開通状態を監視する以外にないからである。我々は経頭蓋カラードプラーを用い、15分間隔で血流再開通状態を監視した。ただし、この経頭蓋カラードプラーは、長時間連続的に監視したのではなく、15分間隔あるいは20分間隔で行った。その間、患者の神経学的所見と必要な検査を行わねばならず、連続的にプローブを固定したままでそれらの検査を行う事が出来なかったからである。と同時に診断用の超音波とは言え、診断用の超音波を長時間照射した場合には、その安全性を保証する事が場合によっては疑問視されないとも限らないからである。このような制約の中で、血流再開通状態を国立循環器病研究センターと東京慈恵会医科大学に於いて、急性脳梗塞患者の内、rt-PA静注療法適用患者についての臨床成績を蓄積したものである。この様な現行rt-PA静注療法施行時の再開通状態を実際に監視した報告は極めて少なく、カラードプラー断層法によって監視のみ実行した報告は、本研究報告以外にない。

D-7-1. 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

現在国立循環器病研究センターで計画中である超音波血栓溶解療法の対象データ収集を行った。再開通を認めた患者では、発症24時間以内に再開通する頻度が高かった。Eggersらが報告したrt-PA投与のみ群(対照群)のTCCSによる中大脳動脈閉塞症例に対する再