

(i) FMN

Tang 等は、この方式を定在波の除去に使用した。この方式では、キャリア周波数の辺りで周波数をランダムに変化させることによって、正弦波にランダムな位相シフトを誘導する。

(ii) PSRF

10 マイクロ秒ごとに周波数をランダムに選択し、10 マイクロ秒間は選択された一定の周波数を保つという新しいランダム変調方式も使用する。周波数成分をキャリア周波数の周辺に留めながら、ランダムな周波数によって定在波を抑制するために 10 マイクロ秒毎に異なる一定周波数を振動子に入力する。

(iii) RSBIC

この方法は順位相のキャリア信号と逆位相のキャリア信号を雑音スイッチによってランダムに選択する。言い換えれば、周波数帯域が 50kHz から 200kHz である雑音によって生成されたゼロクロス信号でスイッチング回路を駆動させて逆位相キャリア信号が選択される。キャリア成分をある程度残しながら、逆位相の信号をランダムに重ね合わせることによって、定在波は減衰する。

正弦波と上記の 3 つのランダム変調方式によって得られる定在波をシュリーレン法で比較した。

B-3. 定在波抑制効果の定量化

定在波抑制効果を定量化するために、シュリーレン像に基づく SWR を導入する。最初に、シュリーレン像上で、定在波を幾つか含むような興味ある領域(ROI)を決める。ROI は長方形の領域であり、長方形の一边は定在波の明線に平行であるようにとる。次に、ROI の輝度をフリーソフト ImageJ を用いて決定する。ここで、輝度は定在波の明線に平行な方向に沿って平均される。SWR は輝度から次式のように計算される。

$$SWR = \frac{(P_{極大} - P_{極小})_{平均}}{P_{平均}} \quad (18)$$

ここで $p_{極大}$ 、 $p_{極小}$ 、 $p_{平均}$ はそれぞれ、定在波の進行方向に沿った輝度の極大値、極小値、平均値である。SWR はシュリーレン像上の場所に依存する。1 枚のシュリーレン像で 3 つの異なる ROI を選び、どの駆動方式に対しても同じ領域を使用する。なお、輝度と駆動信号の入力電圧との間には線形関係があることが実験的に示されている。

C. 研究成果

C-1. 超音波振動子の周波数特性

本研究で使用された振動子の周波数特性は、広い周波数帯域 (100kHz から 10MHz まで) を有する hidroホンを備えた音響強度測定装置(AIMS: Onda corporation, Sunnyvale, CA, USA)によって測定された。hidroホンによって得られた駆動信号のスペクトルと受信信号のスペクトルを図 2 に示す。スペクトルを比較することによって、振動子の周波数帯域は図 2(b)に示されているように 250kHz から 750kHz の幅を持っていることが明らかとされた。このような結果から、振動子の周波数の応答範囲より広い帯域幅を持つ駆動信号を印加しても、上記の周波数幅内 (250kHz から 750kHz) で定在波が生成されることが示された。

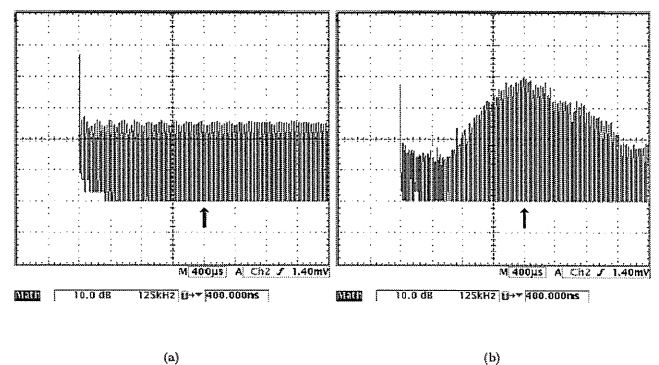


図 2 本研究で用いられた振動子の周波数特性 (a) 駆動波の周波数スペクトル 青矢印は 500kHz を示

す (b) 受信波の周波数スペクトル 青矢印は 500kHz を示す

C-2. 異なる4つの駆動方法間の定在波抑制の比較

図3, 4, 5, 6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。図1に示されているように、駆動信号はモニター1から得られ、受信信号はモニター2から得られ、シュリーレン像はCCDカメラで撮られた。SWRを計算するためのROIには、図7中の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じにした。

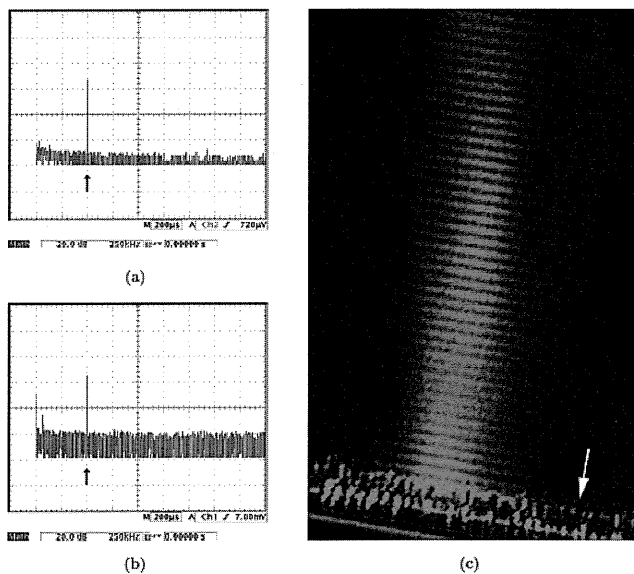


図3 500kHz 正弦波駆動の場合の駆動信号スペクトルと受信信号スペクトルとシュリーレン像 駆動電圧は 18Vpp (a) 駆動波のスペクトル、これは 500kHz 成分のみを持つ (青矢印は 500kHz のキャリア周波数を示す) (b)受信波のスペクトル、これは 500kHz 成分のみを持ち、(a)と同様のパターンである (b)シュリーレン像 反射板 (白矢印) は像の下部に位置している

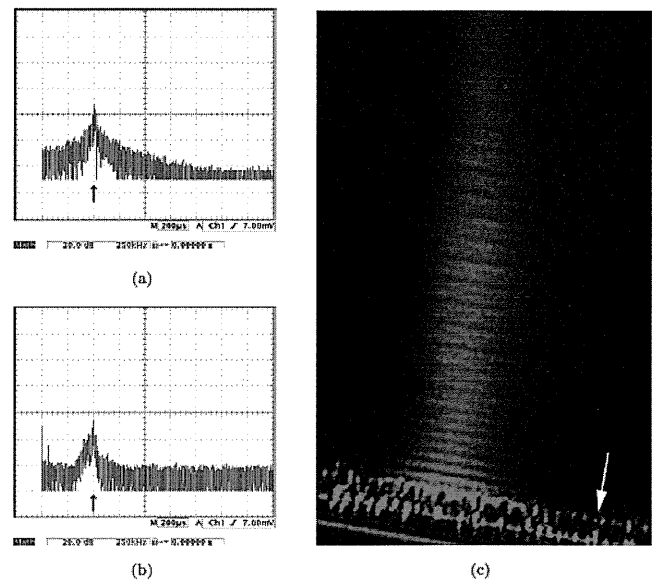


図4 FMN 駆動の場合の駆動信号スペクトルと受信信号スペクトルとシュリーレン像 駆動電圧は 18Vpp (a) 駆動波のスペクトル 青矢印は 500kHz の周波数を示す 500kHz にピークを持つ山が現れている (b) 受信波のスペクトル この幅は駆動波よりも狭い その理由は、図2に示されているように、この振動子はキャリア周波数 500kHz の周りで高い周波数応答を持つからである (c) シュリーレン像 反射板は白矢印で示されている

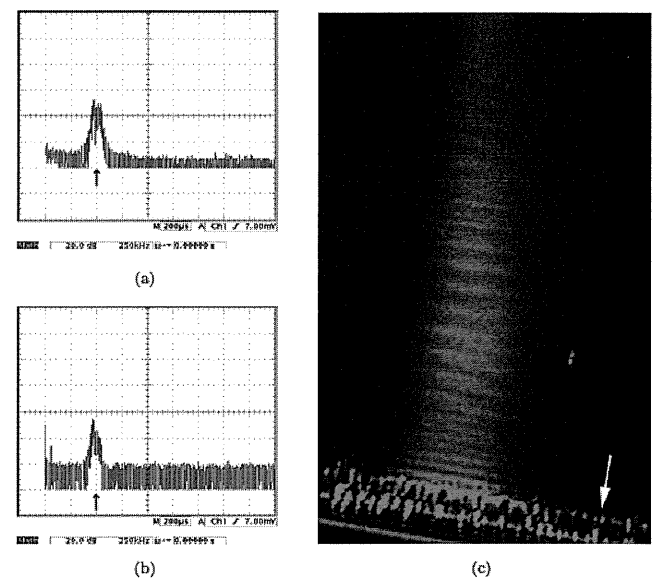


図5 PSRF 駆動の場合の駆動信号スペクトルと受信信号スペクトルとシュリーレン像 駆動電圧は 18Vpp で偏差は $\pm 50\text{kHz}$ (a) 駆動波の周波数スペクトル、450kHz から 550kHz の成分を持つ 青矢印

は500kHzの周波数を示す (b) 受信波のスペクトル、これは近似的に駆動波と同じ形をしている (c) シュリーレン像 反射板は白矢印で示されている

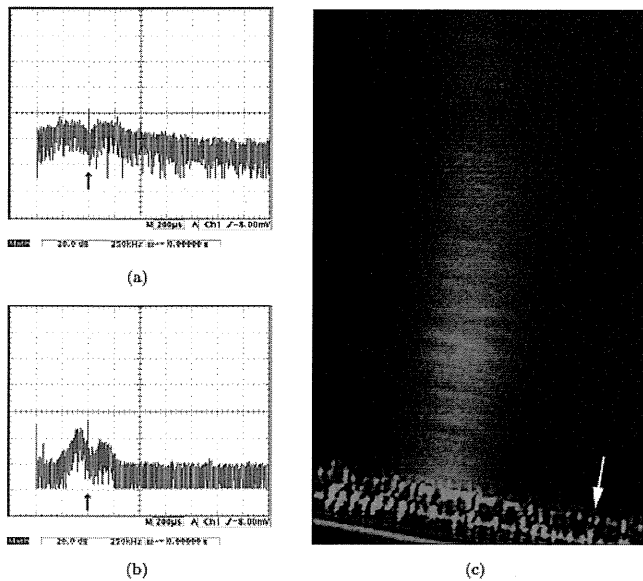


図 6 RSBIC 駆動の場合の駆動信号スペクトルと受信信号スペクトルとシュリーレン像 駆動電圧は24Vpp ランダムなスイッチングの周波数幅は50kHz から 200kHz に調整されている (a) 駆動信号のスペクトル 青矢印で示されているように500kHz にデルタ関数状のピークが現れている (b) 受信波のスペクトル 振動子の周波数特性のためにパターンは(a)から少し歪んでいる (c)シュリーレン像 反射板は白矢印で示されている

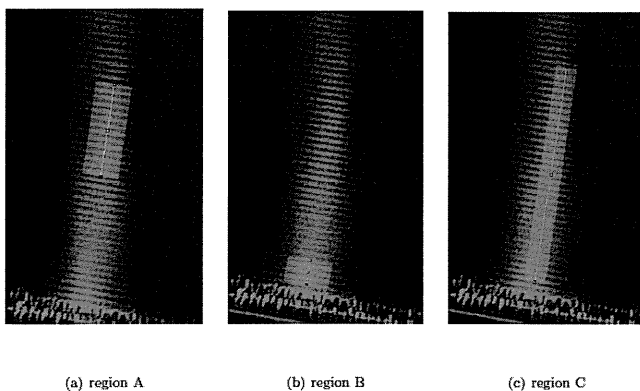


図 7 本研究で考えられた三つの異なる ROI それぞれの ROI で SWR が計算された 4つの駆動方法で得られたシュリーレン像に対して、これらの ROI を計算に使用した

正弦波の場合、明線と暗線の縞模様がシュリーレン像 (図 3 (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。

FMN の場合、縞模様は不明瞭となり (図 4 (c)を見よ)、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。

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 5 (c)を見よ)。SWR は領域 A、B、C のそれぞれに対して、11%、13%、10%である。

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ため、より高い電圧 (24Vpp) 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。

表 1 に SWR をまとめた。表 2 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。

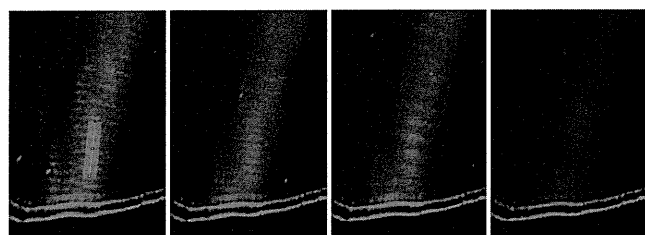
表 1 SWR のまとめ

	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

C-3. 頭蓋骨による定在波の比較

図 8 に、上記の 4つの駆動方式で得られた

4つのシュリーレン像の定在波パターンを示す。SWRは正弦波の場合の図(a)に示されているROIで計算された。このROIは他の駆動方式の場合(b)、(c)、(d)に対しても共通にした。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8(a)、8(b)、8(c)、8(d)に示されているように、他のランダムな変調駆動方式は正弦波よりもはっきりと低いSWR値を示している。しかし、図8(b)、8(c)、8(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4、5、6に比べて小さい。このようなランダム変調方式によるSWR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現象上は増大しないからかもしれない。



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

図8 四つの異なる駆動方法によって得られたシュリーレン像 (a)正弦波 (b) FMN (c) PSRF (d) RSBIC 駆動電圧はそれぞれ 24Vpp、24Vpp、24Vpp、30Vpp 像の下部は頭蓋骨である

D. 考察

D-1. ランダム変調法の技術的実現可能性 ビーム内のROIの位置に依存するSWR

遠距離場(大きさ $30 \times 30 \text{mm}^2$ の振動子で最大周波数 750kHz においては、振動子表面から 11.25cm 離れたところ)でさえも定在波は

不均一に現れる。そのため、同じ超音波ビームに対してもROIの選択に依存してSWRの値が僅かに異なる。それゆえ、正弦波の音響場を基盤にして、ひとつのビーム内に3つの異なるROIを選んだ。各々の駆動方法に対して同じROIを使用してSWRを計算した。定在波分布中に不均一性が現れる理由は、音響場の3次元分布を通過する光の経路に沿って屈折率が積分されることによってシュリーレン法の2次元像が得られるからである。反射板近傍で進行波と反射波が重ね合わさるため、図7のROI BのSWRが定在波抑制効果を示す典型的な値であると考えられた。それから、ROI Aは定在波に関する腹と節の輝度に強いコントラストがあるものとして選ばれた。ROI Aを選択した結果、表2に示されているように抑制効果が明らかに実証された。SWRの最小値はどのROIにおいてもRSBICのランダム変調で得られた。

Tang等(2010)の結果との比較

Tang等はFMNが著しく定在波を抑制することを報告した。彼らのプラスチック箱内の実験では、量R(これは我々のSWRに対応する)が250kHzの正弦波の場合に0.354であり、ランダム変調(FMN)の場合に0.063であった。彼らは定在波が5.6倍減少したと報告した。FMNの場合に、我々のスペクトルはTang等とは異なる。本研究の実験結果では、表2にまとめられているように、rSWRの値は、ROI Aで4.4、ROI Bで1.5、ROI Cで3.1であった。彼らと我々のデータ集合間に差があることのひとつの説明は、彼らのスペクトルには倍音を含む高周波数成分があり、高周波数成分が定在波抑制に有効に働いたということである。一方、我々の雑音スペクトルの最大周波数成分はキャリア周波数500kHzの1.5倍であった。定在波抑制の違いを説明するさらなる理由は、彼らの報告に基づく限り十分に決定できない。

エネルギー損失

RSBIC を適用したとき、駆動信号の電圧を他の方式の場合よりも高く、 $24V_{pp}$ とし、どの駆動方式も輝度が同程度になるようにした。RSBIC においては、図 6 (a) に示されているように広範囲の周波数成分が生成されるため、他の方式よりもエネルギー変換効率が低い。しかし、振動子は図 2 に示されているように十分な広さの周波数に応答できず、図 2 に示されているように周波数応答と駆動信号スペクトルが対応していない。図 2 (b) と図 6 (a) の間の周波数スペクトル差は、電力から音響パワーに変換不能であり、その損失は、振動子の温度上昇を誘発する熱とならなければならない。RSBIC を用いて実用化を試みる時、振動子近傍の組織に熱的損傷を与えないようにエネルギー損失を考慮に入れなければならない。

キャリア周波数の喪失と定在波抑制

定在波抑制の問題は、周波数スペクトル解析から、図 3、4、5、6 に示されているように、キャリア振動数成分とランダム周波数パワーとの間の相互関係であるということが明らかとなる。理想的にはランダムスペクトルの最大周波数はキャリア周波数の 2 倍以上大きいことに注意しよう。例えば、RSBIC の場合、もしランダムスイッチングの周波数幅を広く設定すれば、SWR は減少する。しかし、同時に、 $500kHz$ 成分も減少する。キャリア成分とランダムパワー成分との間のトレードオフは、経頭蓋超音波においてキャリアとノイズパワーの最適比率を要求する治療効果に基づいて定められる。本研究の結果は実際の臨床治療技術には依存していないため、安全性の観点から治療効果および定在波による組織損傷のリスクファクターの生物医学的研究によって、成分間のトレードオフの度合いが導かれる。

D-2. ヒト頭蓋骨による定在波生成

ヒト頭蓋骨によって発生した定在波パターンは図 8 に示されているように不明瞭であり、表 2 と図 8 にまとめられているように、SWR の値は平たい反射板に対するものに比べて低い。ヒト頭蓋骨と平らな反射板との違いは、次の二つの理由で起こったと考えられる。第一に、頭蓋骨の内面はたくさんの小さな山と谷のある 3 次元的曲面であるので、形成される定在波パターンはタマネギ構造を持つ。第二は、2 次元の輝度は光線に沿った屈折率の積分を示すというシュリーレン法の原理に基づいている。それゆえ、本研究で使用したシュリーレン法で得られた定在波パターンは、3 次元のタマネギのような定在波構造の 2 次元射影像を表している。その結果、上述の定在波抑制の差はヒト頭蓋骨中の 3 次元定在波が本当に減少していることを示してはいない。ランダム変調方式による定在波の抑制効果が、図 8 に示されているように、ヒト頭蓋骨内で増大すると楽観的に思いこんではいけないことに注意しよう。本研究で扱ったランダム変調方式によって、さまざまな経頭蓋的超音波治療技術、例えば、経頭蓋的 HIFU による腫瘍除去、ドラッグデリバリーシステムにおける BBB 開放、急性脳梗塞における早期再開通、中枢神経系の神経刺激等において、根本的悪影響を避けられる可能性が高い。定在波による脳組織損傷を避けるさまざまな治療装置を実装するために、実際の経頭蓋超音波治療への応用が期待される。

E. 結論

定在波抑制法に関する本研究において、はじめに、多重反射によって現れる SWR の最大値は一回反射の SWR で見積もられることを示した。この理論に基づき、一回反射により生じる定在波抑制効果を、3 種の振動子駆動信号ランダム変調方式、FMN、PSRF、

RSBIC、に対して（これらのうち後ろの二つは新方式）、500kHz条件下で、シュリーレン像を基に比較した。平坦な板およびヒト頭蓋骨内面の反射条件の下、シュリーレン像のSWRの最小値はRSBICによって得られた。

定在波を抑制することによって、経頭蓋超音波血栓溶解法における脳出血を避けることができ、安全性が確保される。

Ammi AY, Mast TD, Huang IH, Abruzzo TA, Coussios CC, Shaw GJ, Holland CK. Characterization of ultrasound propagation through ex vivo human temporal bone. *Ultrasound Med Biol* 2008; 34(10):1578-1589. [PubMed: 18456391]

Aubry JF, Fink M. Transcranial ultrasound-mediated thrombolysis: safety issue. *Proc 7th Int Symp on Therapeutic Ultrasound* 2007 (unpublished observation).

Azuma T, Kawabata K, Umemura S, Ogiwara M, Kubota J, Sasaki A, Furuhashi H. Schlieren observation of therapeutic field in water surrounded by cranium radiated from 500 kHz ultrasonic sector transducer. *Proc IEEE Ultrason Symp* 2004; 2:1001-1004.

Azuma T, Kawabata K, Umemura S, Ogiwara M, Kubota J, Sasaki A, Furuhashi H. Bubble generation by standing wave in water surrounded by cranium with transcranial

ultrasonic beam. *Jpn J Appl Phys* 2005, p. 4625-4630.

Baron C, Aubry JF, Tanter M, Meairs S, Fink M. Simulation of intracranial acoustic fields in clinical trials of sonothrombolysis. *Ultrasound Med Biol*. 2009 Jul; 35(7): 1148-58. Epub 2009 Apr 25. [PubMed: 19394756]

Clement GT, White PJ, King RL, McDannaold N, Hynynen K. A magnetic resonance imaging-compatible, large-scale array for trans-skull ultrasound surgery and therapy. *J Ultrasound in Med* 2005; 24(8):1117-1125. [PubMed: 16040827]

Culp WC, McCowan TC. Ultrasound augmented thrombolysis. *Current Med Imaging Reviews* 2005; 1(1):5-12.

Daffertshofer M, Fatar M. Therapeutic ultrasound in ischemic stroke treatment: experiment evidence. *Eur J Ultrasound* 2002; 16(1-2): 121-130. [PubMed: 12470857]

Daffertshofer M, Gass A, Ringleb P, Sitzer M, Sliwka U, Els T, Sedlaczek O, Koroshetz WJ, Hennerici MG. Transcranial low-frequency ultrasound-mediated thrombolysis in brain ischemia: increased risk of hemorrhage with combined ultrasound and tissue plasminogen activator: results of a phase I

- clinical trial. Stroke 2005; 36(7):1441-1446. [PubMed:15947262]
- Deffieux T, Konofagou EE. Numerical study of a simple transcranial focused ultrasound system applied to blood-brain barrier opening. IEEE Trans Ultrason Ferroelectr Freq Control. 2010 Dec; 57(12): 2637-53. [PubMed: 21156360]
- Fry WJ. Ultrasound in neurology. Neurology. 1956; 6(10): 693-704. [PubMed: 13369651]
- Fry WJ, Fry FJ. Fundamental neurological research and human neurosurgery using intense ultrasound. IRE Trans Med Electron 1960; ME-7: 166-181. [PubMed: 13702332]
- Fry FJ, Goss SA, Patrick JT. Transkull focal lesions in cat brain produced by ultrasound. J Neurosurg 1981; 54(5): 659-663. [PubMed: 7014793]
- Hynynen K, Clement G. Clinical applications of focused ultrasound - The brain. Int J Hyperthermia 2007;23(2):193-202. [PubMed: 17578343]
- Hynynen K, McDannold N, Clement G, Jolesz FA, Zadicario E, Killiany R, Moore T, Rosen D. Preclinical testing of a phased array ultrasound system for MRI-guided noninvasive surgery of the brain - A primate study. Eur J Radiology 2006; 59(2): 149-156.
- Hynynen K, McDannold N, Vykhodtseva N, Jolesz FA. Noninvasive MR imaging-guided focal opening of the blood-brain barrier in rabbits. Radiology 2001; 220(3): 640-646. [PubMed: 11526261]
- Hynynen K, McDannold N, Vykhodsteva N, Raymond S, Weissleder R, Jolesz FA, Sheikov N. Focal disruption of the blood-brain barrier due to 260-kHz ultrasound bursts: a method for molecular imaging and targeted drug delivery. J Neurosurg 2006; 105(3): 445-454. [PubMed: 16961141]
- Kawata H, Naya N, Takemoto Y, Uemura S, Nakajima T, Horii M, Takeda Y, Fujimoto S, Yamashita A, Asada Y, Saito Y. Ultrasound accelerates thrombolysis of acutely induced platelet-rich thrombi similar to those in acute myocardial infarction. Circ J 2007; 71(10): 1643-1648. [PubMed: 17895565]
- McDannold N, Park EJ, Mei CS, Zadicario E, Jolesz F. Evaluation of three-dimensional temperature distributions produced by a low-frequency transcranial focused ultrasound system within ex vivo human skulls. IEEE Trans Ultrason Ferroelectr Freq Control. 2010 Sep; 57(9): 1967-76. [PubMed: 20875986]
- Mikulik R, Alexandrov AV. Acute

stroke: therapeutic transcranial Doppler sonography. *Front Neurol Neurosci* 2006; 21: 150-161. [PubMed: 17290134]

Song J, Pulkkinen A, Huang Y, Hynynen K. Investigation of standing-wave formation in a human skull for a clinical prototype of a large-aperture, transcranial MR-guided focused ultrasound (MRgFUS) phased array: an experimental and simulation study. *IEEE Trans Biomed Eng.* 2012 Feb; 59(2): 435-44. Epub 2011 Oct 28. [PubMed: 22049360]

Tang SC, Clement GT. Standing wave suppression for transcranial ultrasound by random-modulation. *IEEE Trans Biomed Eng.* 2010 January; 57(1):203-205. [PubMed: 1969599]

F. 研究発表

1. 論文発表

JUN SHIMIZU, TAKAHIRO FUKUDA, TOSHIAKI ABE, MAKOTO OGIHARA, JUN KUBOTA, AKIRA SASAKI, TAKASHI AZUMA, KAZUAKI SASAKI, KEIKO SHIMIZU, TAKAO OISHI, SHIN-ICHIRO MEMURA, and HIROSHI FURUHATA. : ULTRASOUND SAFETY WITH MIDFREQUENCY TRANSCRANIAL SONOTHROMBOLYSIS: PRELIMINARY STUDY ON ORMAL MACACA MONKEY BRAIN, *Ultrasound in Med. & Biol.*, Vol. -, No. -, pp. 1-11, 2012

2. 学会発表

1. Osamu Saito, Jun Shimizu and Hiroshi Furuhata "Standing wave suppression in a human skull by randomly

modulated ultrasound" 2012年5月18日 17th European Society of Neurosonology and Cerebral Hemodynamics

2. 2012年5月25日 日本超音波医学会 第85回学術会議 「定在波抑制のための雑音位相変調方式について」 齋藤 理、古幡 博

G. 知的財産権の出願・登録状況 (予定含む。)

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

厚生労働省科学研究費補助金(医療技術実用化総合研究事業)
分担研究報告書

経頭蓋超音波照射法による頭蓋内多重反射の影響

研究分担者 古幡 博 東京慈恵会医科大学総合医科学研究センター
医用エンジニアリング研究室 教授
研究協力者 齋藤 理 東京慈恵会医科大学総合医科学研究センター
医用エンジニアリング研究室 研究員

研究要旨

経頭蓋超音波照射治療において、超音波が頭蓋骨内壁で反射を繰り返し、音圧が入射超音波に比べて著しく増大する危険性がある。音圧の高いホットスポットにおいては、細胞の引き裂きや、発熱、出血が引き起こされる。本研究では、まず、多重反射の理論的解析をおこない、音圧の最大増強度が反射率の関数として求まり、多重反射の定在波率 SWR が一回反射の SWR 以下であることが示される。次に、ヒト頭蓋骨による一回反射によって生成される定在波をシュリーレン法により実験的に観測し、輝度分布から SWR を計算し、SWR の上限を得る。本研究は、経頭蓋超音波治療の安全性の確保に役立つ。

A. 研究目的

急性脳梗塞治療法として、頭蓋内に超音波を照射することによって血栓溶解効果を高める方法が研究されている。この治療法には、頭蓋骨内に入射された超音波は頭蓋内壁において反射を繰り返して、超音波が頭蓋内に閉じ込められ、音圧や音響強度が著しく増強されたホットスポットが生じる危険性がある。ホットスポットにおいては、発熱や細胞の引き裂き、出血などが引き起こされる。本研究の目的は、多重反射によるホットスポット出現について理論的および実験的に検討し、経頭蓋超音波治療法の安全性を確保することである。まず、音圧の増大を理論的に評価し、次いでヒト頭蓋骨片との反射実験によって生成される定在波をシュリーレン法で観測した結果を述べる。

B. 研究方法

B-1 多重反射の理論

はじめに、経頭蓋的に超音波を頭蓋内に入射したときの頭蓋骨内壁における多重反射を理論的に評価する。

超音波とは、媒質中の疎密が空間的に伝播していく現象であり、時間 t 、位置 $\vec{x} = (x, y, z)$ における音圧を $f(t, \vec{x})$ とすると次の波動方程式に従う。

$$\left(\Delta - \frac{1}{c^2} \frac{\partial^2}{\partial t^2}\right) f(t, \vec{x}) = 0$$

ここで、 $\Delta \equiv \frac{\partial^2}{\partial x^2} + \frac{\partial^2}{\partial y^2} + \frac{\partial^2}{\partial z^2}$ はラプラス演算子であり、 c は音速である。

本研究においては、超音波の伝播方向を一次元とするモデルを扱い、多重反射を考察する。超音波の伝播方向を $\pm x$ 方向とし、図 1 に示されたように $x=0$ と

$x=L$ の位置に反射板があるとする。反射板は頭蓋骨に相当し、 $x=0$ から $x=L$ までの範囲が頭蓋内に相当する。

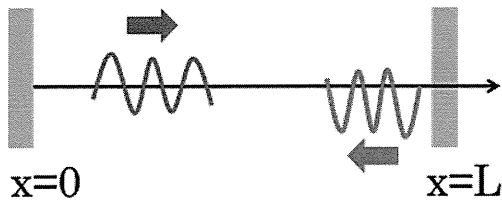


図1 一次元モデルの概念図

一次元の場合には、波動方程式は

$$\left(\frac{\partial^2}{\partial x^2} - \frac{1}{c^2} \frac{\partial^2}{\partial t^2}\right) f(t, x) = 0$$

となる。この一般解は次式で与えられるようなダランベールの解と呼ばれるものである。

$$f(t, x) = G(x - ct) + H(x + ct).$$

ここで、 G と H は任意関数である。これが波動方程式を満たしていることは簡単に確認できる。引数が $(x - ct)$ である右辺第一項は x 軸方向を正の向きに進行する波を表しており、一方、引数が $(x + ct)$ である右辺第二項は x 軸を負の向きに進行する波を表している。

以後、最も基本的な場合として、超音波が単一周波数を持つ場合、すなわち、正弦波である場合を扱うこととする。

x 軸を正の方向に進行する正弦波は、角周波数を ω (これは振動数 f と $\omega = 2\pi f$ の関係がある) として

$$\sin\left(\omega\left(t - \frac{x}{c}\right)\right)$$

と表される。この式は波数 $k (= \omega/c)$ を用いて、 $-\sin(k(x - ct))$ と変形され、ダランベール解のひとつであることがわかる。また、波の速さが c であることより、時間 t 、位置 x における音圧は、 x/c 時間前の原点における音圧になることに着目しても、この式が得られるであろう。

x 方向を正の向きに進行していった波は、 $x=L$ にある反射板によって、反射される。反射波が進行波と同位相か逆位相かは、媒質と反射板の音響インピーダンスに依存する。脳と頭蓋骨の場合には、同位相で反射する。

反射率を R とする ($0 < R < 1$) と、一回反射した波の音圧は

$$R \sin\left(\omega\left(t - \frac{2L - x}{c}\right)\right)$$

となる。 $(2L - x)$ は原点から $x=L$ の反射板に行った後、位置 x に至るまでに辿る距離である。これは、 t と x が同符号で、 x 軸を負の方向に伝播するダランベール解のひとつである。

二回反射以降の総和を求めると次式が得られる。

$$\begin{aligned} f(t, x) = & \sin\left[\omega\left(t - \frac{x}{c}\right)\right] + R \sin\left[\omega\left(t - \frac{2L - x}{c}\right)\right] \\ & + R^2 \sin\left[\omega\left(t - \frac{2L + x}{c}\right)\right] + R^3 \sin\left[\omega\left(t - \frac{4L - x}{c}\right)\right] \\ & + R^4 \sin\left[\omega\left(t - \frac{4L + x}{c}\right)\right] + R^5 \sin\left[\omega\left(t - \frac{6L - x}{c}\right)\right] \\ & + \dots \end{aligned}$$

$$= \sum_{n=0}^{\infty} \left(R^{2n} \sin \left[\omega \left(t - \frac{2nL+x}{c} \right) \right] + R^{2n+1} \sin \left[\omega \left(t - \frac{2(n+1)L-x}{c} \right) \right] \right)$$

ここで、 R^n の項は n 回反射した波を表している。

以後、反射板間の距離 L は、超音波の波長 λ の半整数倍とする（この場合が、最も定在波が明瞭となる）。このとき上式は簡単になり、次のようになる。

$$f(t, x) = \sum_{n=0}^{\infty} R^{2n} \cdot \sin \left(\omega t - \frac{2\pi}{\lambda} x \right) + \sum_{n=0}^{\infty} R^{2n+1} \cdot \sin \left(\omega t + \frac{2\pi}{\lambda} x \right)$$

以後、この式を用いて節の振幅、腹の振幅などを計算する。

・腹における振幅

腹の位置は $x = \frac{\lambda}{2} \times (\text{整数})$ であり（このとき上式の正弦波がすべて同位相になり、強め合う）、そのときの波の振幅は、幾何級数で表され

$$\begin{aligned} (\text{腹における振幅}) &= 1 + R + R^2 + R^3 \\ &+ R^4 + \cdots = \frac{1}{1-R} \end{aligned}$$

となる。この関数を図示すると以下のようになる。 $R=1$ の完全反射の場合には、無限大に発散することになる。

・節における振幅

節の位置は $x = \frac{\lambda}{4} \times (\text{整数}) + \frac{\lambda}{4}$ であり、

振幅は

(節における振幅)

$$\begin{aligned} &= 1 - R + R^2 - R^3 + R^4 \\ &- \cdots = \frac{1}{1+R} \end{aligned}$$

となる。

・一般の位置の振幅

次に腹、節に限らず、一般の位置 x における振幅を求める。変形していくと

$$\begin{aligned} f(t, x) &= (1 + R^2 + R^4 + \cdots) \left\{ \sin \omega t \cdot \cos \left(\frac{2\pi}{\lambda} x \right) - \cos \omega t \cdot \sin \left(\frac{2\pi}{\lambda} x \right) \right\} \\ &+ (R + R^3 + R^5 + \cdots) \left\{ \sin \omega t \cdot \cos \left(\frac{2\pi}{\lambda} x \right) + \cos \omega t \cdot \sin \left(\frac{2\pi}{\lambda} x \right) \right\} \\ &= (1 + R + R^2 + R^3 + \cdots) \sin \omega t \cdot \cos \left(\frac{2\pi}{\lambda} x \right) \\ &- (1 - R + R^2 - R^3 + \cdots) \cos \omega t \cdot \sin \left(\frac{2\pi}{\lambda} x \right) \\ &= \frac{1}{1-R} \sin \omega t \cdot \cos \left(\frac{2\pi}{\lambda} x \right) - \frac{1}{1+R} \cos \omega t \cdot \sin \left(\frac{2\pi}{\lambda} x \right) \\ &= \sqrt{\left(\frac{\cos \left(\frac{2\pi}{\lambda} x \right)}{1-R} \right)^2 + \left(\frac{\sin \left(\frac{2\pi}{\lambda} x \right)}{1+R} \right)^2} \cos(\omega t + \theta) \end{aligned}$$

となる。（この式から、各位置 x において波は各振動数 ω で単振動をしていることが分かる。）求める振幅は

$$(x \text{ における振幅}) = \sqrt{\left(\frac{\cos\left(\frac{2\pi}{\lambda}x\right)}{1-R}\right)^2 + \left(\frac{\sin\left(\frac{2\pi}{\lambda}x\right)}{1+R}\right)^2}$$

である。振幅を図示すると以下のようになる。

振幅の式を変形すると、

$$(\text{振幅}) = \frac{1}{1-R} \sqrt{1 - \frac{4R}{(1+R)^2} \sin^2\left(\frac{2\pi}{\lambda}x\right)}$$

となる。

・ 振幅の平均値

振幅の平均値は下式のようになる。

$$\begin{aligned} (\text{振幅の平均値}) &= \frac{\int_0^{\frac{\lambda}{4}} \frac{1}{1-R} \sqrt{1 - \frac{4R}{(1+R)^2} \sin^2\left(\frac{2\pi}{\lambda}x\right)} dx}{\frac{\lambda}{4}} \\ &= \frac{2}{\pi} \cdot \frac{1}{1-R} \int_0^{\frac{\pi}{2}} \sqrt{1 - \frac{4R}{(1+R)^2} \sin^2 \theta} d\theta \quad \left(\theta = \frac{2\pi}{\lambda}x\right) \\ &= \frac{2}{\pi} \cdot \frac{1}{1-R} \cdot E\left(\frac{2\sqrt{R}}{1+R}\right) \cdots \cdots (5) \end{aligned}$$

となる。ここで表れた積分は第二種完全楕円積分と呼ばれ、

$$E(k) = \int_0^{\frac{\pi}{2}} \sqrt{1 - k^2 \sin^2 \theta} d\theta$$

で定義される。第二種完全楕円積分の値は例えば、『岩波数学公式 3 特殊函数 (森口、一松、宇田川)』の数表に記載されている。

・ 腹と節の比

腹と節の比を求めると、

$$\left(\frac{\text{腹}}{\text{節}}\right) = \frac{1+R}{1-R}$$

となる。

・ SWR

SWR とは standing wave ratio の略語であり、次の式で定義される

$$(\text{SWR}) = \frac{(\text{音圧の平均極大値}) - (\text{音圧の平均極小値})}{(\text{音圧の平均})}$$

SWR の値が小さいほど、波の強弱の差が小さく、定在波が抑制されていることになる。

SWR を求めると

$$(\text{SWR}) = \pi \cdot \frac{R}{1+R} \cdot E\left(\frac{2\sqrt{R}}{1+R}\right)$$

となる。

・ 一回のみの反射

次に比較のために一回のみの反射を考える。これは、1 の係数の項と R の係数の項のみを残すことに相当する。結果を羅列すると、

$$(\text{腹における振幅}) = 1 + R$$

$$(\text{節における振幅}) = 1 - R$$

$$(\text{振幅の平均}) = \frac{2}{\pi} \cdot (1+R) \cdot E\left(\frac{2\sqrt{R}}{1+R}\right)$$

$$\left(\frac{\text{腹}}{\text{節}}\right) = \frac{1+R}{1-R}$$

$$(\text{SWR}) = \pi \cdot \frac{R}{1+R} \cdot \frac{1}{E\left(\frac{2\sqrt{R}}{1+R}\right)}$$

となる。以上の結果を表にまとめる。

表1 一回反射と多重反射

	一回のみの反射	多重反射
腹	$1 + R$	$\frac{1}{1 - R}$
節	$1 - R$	$\frac{1}{1 + R}$
振幅の平均	$\frac{2}{\pi} \cdot (1 + R) \cdot E \left(\frac{2\sqrt{R}}{1 + R} \right)$	$\frac{2}{\pi} \cdot \frac{1}{1 - R} \cdot E \left(\frac{2\sqrt{R}}{1 + R} \right)$
腹と節の比	$\frac{1 + R}{1 - R}$	$\frac{1 + R}{1 - R}$
SWR	$\pi \cdot \frac{R}{1 + R} \cdot \frac{1}{E \left(\frac{2\sqrt{R}}{1 + R} \right)}$	$\pi \cdot \frac{R}{1 + R} \cdot \frac{1}{E \left(\frac{2\sqrt{R}}{1 + R} \right)}$

一回反射に比べて、多重反射では、腹、節、振幅の平均のそれぞれが増大し、それらの増大率は皆、等しい。したがって、腹と節の比、SWR の値は不変である。

B-2 ヒト頭蓋骨片による定在波

水中において、ヒト頭蓋骨片に超音波を照射させて定在波を生成し、シュリーレン法で観測するという実験をおこなった。実験の概略図を図2に示す。

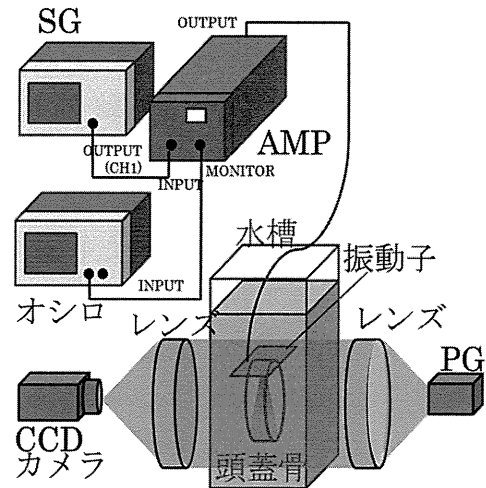
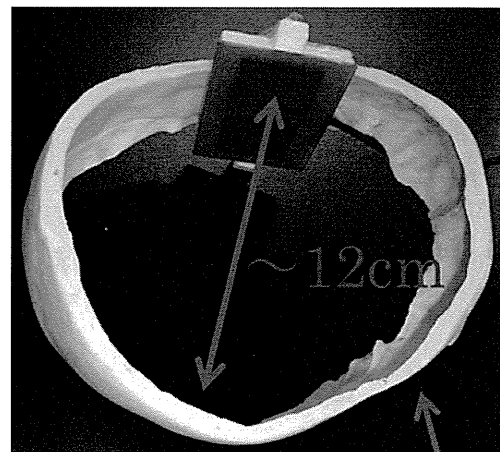


図1 シュリーレン実験系



Skull ring

図2 輪切りの頭蓋骨と振動子

まず、信号発生機 SG (AFG3102; Tektronix, OR, USA) によって、500kHz 正弦波の電気信号を発生させ、信号発生機に電氣的に接続された増幅器 (HSA4101; NF Co, 横浜, 日本) によって、電気信号を増幅して 24Vpp とした後、振動子に印加する。振動子を駆動する電圧はオシロスコープ (TDS3012; Tektronix, OR, USA) を用いて観測される。振動子は約 365kHz から 745kHz の周波数帯域を持っており、およそ 500kHz がピーク周波数

である。この帯域内の周波数の波が振動子に印加されると、振動子は超音波を発生するようになっている。振動子は、1辺が3cmの正方形であり、図3のように、輪切りにされたヒト頭蓋骨（直径：約12cm）の内壁に張り付けられた状態で水槽の中に配置されており、水中で発生した超音波は、振動子と対面する頭蓋骨内壁の方向に向かって進行し、内壁で反射するようになっている。反射した波と進行波とが干渉することにより、定在波が発生する。

定在波のリアルタイム観測には、シュリーレン装置（US-250SL；溝尻光学，東京，日本）を用いた。光源から発射された光を第一のレンズで平行光線にし、定在波と直角な方向から水槽に当たるようにし、平行光線が水中の屈折率分布の影響を受けながら水槽を通過した後、平行光線がレンズで集光され、CCDカメラで観測した。シュリーレン画像においては、腹のところは明線に、節のところは暗線に対応し、明暗の縞模様が観測される。SWR を求めるには、シュリーレン画像上で興味ある領域（Region of interest: ROI）を選択し、その輝度分布から、輝度の平均極大と平均極小と全平均を求めて計算した。輝度の測定にはフリーソフト ImageJ を使用した。

なお、ヒト頭蓋骨は輸入会社（General science corporation, Tokyo, Japan）を通じて、会社（ETS DU DOCTEUR AUZOUX, Paris, France）から購入した。ヒト頭蓋骨を用いる本実験は慈恵会医科大学内の倫理委員会（IRB）に承認され、本実験のすべての手続きは倫理委員会の規則に則っておこなわれた。

C. 研究成果

C-1 多重反射理論解析より得られること

B-1 において、一次元のモデルを用いて正弦波入射の場合の多重反射を解析した。そして、腹の振幅は反射率 R を用いて

$$\frac{1}{1-R}$$

となることを得た。これを図示したものが図4である。 R が大きくなるにつれて腹における振幅が増大することが分かる。

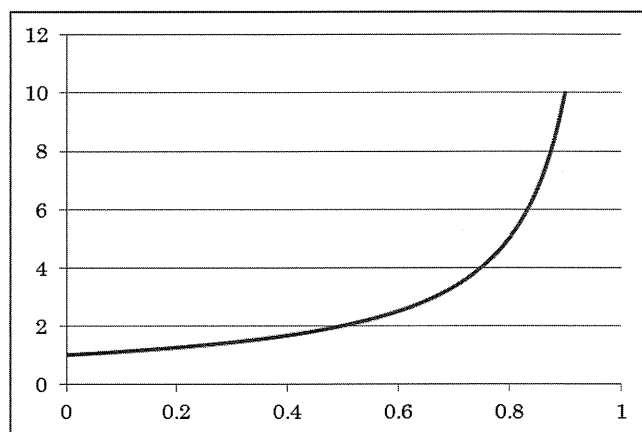


図3 反射率と腹における振幅（横軸が反射率 R 、縦軸は増幅度）

横軸を x に、縦軸を振幅とし、反射率 R を0.6とした場合のグラフを図5に示す。半波長ごとに腹が分布していることが見られる。

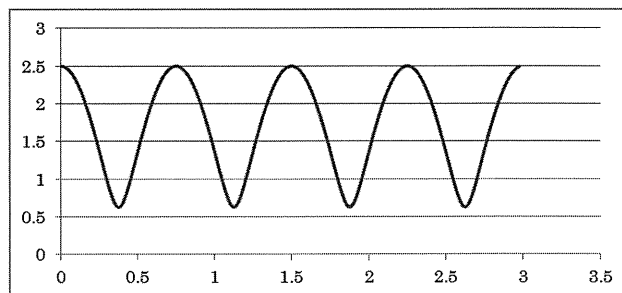


図4 位置 x と振幅の関係（ $\lambda=1.5\text{mm}$ 、横軸の単位は mm 、 $R=0.6$ ）

次の表2に $R=0.6$ 、 $R=0.7$ 、 $R=0.8$ の

場合に、波の各値を計算した結果をまとめる。R が大きくなるにつれて、腹の振幅が増加していくこと、SWR の値が増加していくことが見られる。

表 2 反射率と波の値 (多重反射の場合)

R	0.6	0.7	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

多重反射の SWR と一回反射の SWR は等しくなった。これは、腹、節、任意の位置における振幅が、等しい増大率で増大したためである。SWR は波の強弱の非一様性を測るものであり、SWR が等しいことは、波の強弱の分布の様相が同じであることを意味する (ただし、振幅の大きさそのものは異なっている)。

もし、反射板間の距離 L が波長の半整数倍でなければ、反射波間の位相が合いにくくなり、波に強弱分布がなめされるようになり、SWR の値は小さくなるであろう。したがって、「多重反射の SWR の値は、一回反射の SWR の値と等しいかまたは、小さい」という結論が得られる。
 $(\text{多重反射の SWR}) \leq (\text{一回反射の SWR})$.
 この結論は、変調をかけた場合においても成立するであろう。したがって、一回反射の定在波を抑制すれば、多重反射が起こった場合には、それ以上に、定在波が抑制されていると考えられる。

C-2 ヒト頭蓋骨を用いたシュリーレン実験結果

前項の結果より、一回反射の場合の SWR が最大となる場合であり、多重反射の場合の定在波は、一回反射よりも抑制される傾向があるため、定在波抑制を評価する上では、一回反射のみを評価すれば十分である。

ヒト頭蓋骨による反射によって生成された定在波のシュリーレン画像を図 6 に示す。定在波を示す明暗の縞模様が確認される。明線の間隔は約 1.5mm であり、これは 500kHz の超音波の水中の波長は 3mm の半分である。図中の ROI を用いて SWR を計算した結果、23% となった。これにより、頭蓋骨反射による SWR の上限が得られた。

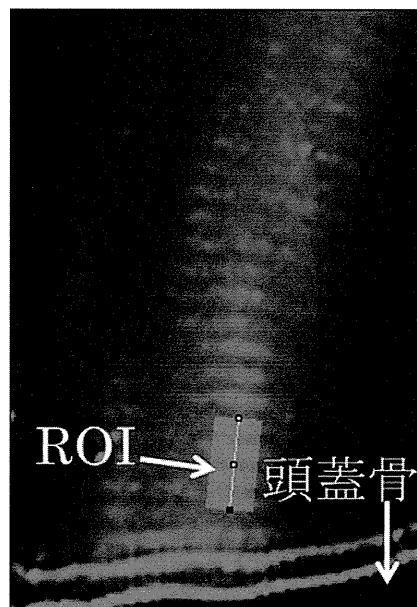


図 5 ヒト頭蓋骨反射による定在波のシュリーレン画像。駆動電圧は 24Vpp, 500kHz 正弦波。図の下部に頭蓋骨がある。図中の四角で示された ROI で SWR の値を計算した。定在波を示す明暗の縞模様が確認される。

D. 考察

多重反射の理論的結果は周波数に依存せず、2MHz 以上の高周波数でも 500kHz の中周波数領域でも同様に成り立つ普遍的な結果である。

多重反射を理論的に解析する際、正弦波の場合についてのみ論じたが、周波数変調または位相変調をかけた場合にはどうなるであろうか？一般に、変調をかければ、各位置において、複数の波の位相が合って強め合うことも、その反対に弱め合うことも起こりにくくなると考えられる。そのため、音場分布は平坦に近づき、SWR の値は小さなものとなるであろう。

一次元のモデルを考えたが、これを二次元、三次元に拡張した場合には、拡散や集束等、一次元モデルでは現れない効果があるであろう。これらを扱った解析をおこなうには、波動方程式を数値的に解く方法が現実的であろう。

E. 結論

多重反射の SWR は一回反射の SWR 以下であるため、一回反射についての SWR を評価すれば十分である。

ヒト頭蓋骨の反射率には、個人差があるがおよそ 0.6 ぐらいである。このとき、腹の位置の振幅は最大で入射波の 2.5 倍になることが判明した。増大率の上限が求められたことは経頭蓋超音波照射治療法を安全におこなう上で重要な進展である。

F. 研究発表

1. 論文発表
なし
2. 学会発表
なし

G. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む）

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

厚生労働省科学研究費補助金(医療技術実用化総合研究事業)
分担研究報告書

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—

研究分担者	古幡 博	東京慈恵会医科大学総合医科学研究センター 医用エンジニアリング研究室 教授
研究協力者	王 作軍	東京慈恵会医科大学総合医科学研究センター 医用エンジニアリング研究室 研究員
	澤口 能一	東京慈恵会医科大学総合医科学研究センター 医用エンジニアリング研究室 研究員
	野村 卓史	東京慈恵会医科大学総合医科学研究センター 医用エンジニアリング研究室 研究員
研究分担者	持尾 聰一郎	東京慈恵会医科大学内科学講座 神経内科学 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

研究要旨

従来より、我々は経頭蓋超音波脳血栓溶解法（Transcranial Sonothrombolysis：TST）として、中周波数 500kHz 連続波を中心にした有効性の追求と動物実験による安全性の確認を行なっており、昨年度には、同周波数において rt-PA 用量を従来の 2/3 に低減化できる可能性を示した。しかし、超音波による血栓溶解促進効果を最大化するという観点からは、この中周波数帯域を含め、周波数と溶解促進効果について未だ比較・検証されていなかった。そこで、臨床機開発における根本的な超音波条件の最適化という目的の達成の為、本年度では、超音波周波数と血栓溶解促進効果の関係について検証した結果を報告する。本研究では、400kHz、600kHz、1MHz、2MHz の 4 周波数に関して、それぞれ①超音波強度と血栓溶解率の関係について検証し、さらに②周波数と溶解促進率の関係について、超音波強度 $0.1\text{W}/\text{cm}^2$ 、 $0.3\text{W}/\text{cm}^2$ 、 $0.5\text{W}/\text{cm}^2$ の 3 条件について得られた結果を比較検証した。その結果、①溶解率は超音波強度依存性の直線的な比例関係にある事を明らかにすると共に、②溶解促進率は、一部の例外を除き、超音波周波数に依存しない特性を示した。また、この特性は、検証した全ての超音波強度において確認された。本研究で認められた周波数と溶解促進率の関係は、前年度の我々の報告を含めた従来知見とは異なる見解を示す。しかし、本研究の成績は、新たに設計された高精度な実験手法によりもたらされたものであり、より信頼性の高い成果であると言える。

以上、本基礎研究は、臨床機開発における根本的な超音波条件として、500kHz を中心とする中周波数帯域の有用性を示した。また、音響強度依存性の溶解率上昇特性を踏まえた、患者の病態に応じた照射強度制御能力を臨床機に持たせる事の重要性を明瞭にした。これらの成果は、実用化に向けての本質的な開発要素を決定する画期的な知見であると共に、直ちに臨床機に活用し得る成果と考えられる。

A. 研究目的

急性脳梗塞 (Acute Ischemic Stroke: AIS) 患者の超急性期 (発症 4.5 時間以内) 治療法として、血栓溶解剤 rt-PA (recombinant tissue type-Plasminogen Activator) の静注療法が広く使われている。しかし、4.5 時間以内に治療開始にすることの時間的制約が大きいこと、また適応できてもその再開通率は 30~40% (施設によるが) であること、その副作用としての症候性出血が 5~6% であること、3 ヶ月後の死亡例が 1~2% であること等、臨床現場においては大きな問題を抱えている。その解決策として、欧米では適応時間を 5 時間に延長する事が認められつつある。また、用量についても欧米では 0.9mg/kg であるものを我国では 0.6mg/kg と低減しており、それでも欧米並みの再開通率を得ている。さらに、用量減少の研究は米国 SPOTRIAS でも検討され、治験が開始されている。同治験では rt-PA 治療中の MCA 血流を TCD (Transcranial Doppler) 法で監視し、血流再開通が十分に得られたならば、rt-PA の点滴静注を中止することで全体使用量を低減化させようとするものである (ただし、抗凝固薬 Argatroban との併用)。未だ結果は報告されていないが、副作用軽減に向けた一つの取組である。

さらに、血栓溶解効果を加速増高させる経頭蓋超音波併用血栓溶解療法 (Transcranial Sonothrombolysis: TST) が注目されている。超音波を併用する血栓溶解加速は我国での in vivo 実験、in vitro 実験に端を発し、診断用の超音波 (数 MHz 帯) でも有効であることが欧米の臨床でも明らかになっている。

事実、Alexandrov は TCD 照射をし続けることで AIS 患者における治療開始 2 時間後の再開通率が 29% から 39% 程度に上昇し、その 3 ヶ月後の神経学的改善には統計学的有意差はないものの、11% 上昇したことを New England J. に CLOTBUST study として報告している。また、経頭蓋カラードプラ断層法 (TCCS、あるいは TC-CFI) を適用した場合には、治療開始後 20 分~40 分の間に 60% の再開通率を認め、3 ヶ月後の神経学的改善は 23% に有意に上昇したことを Eggers らは Stroke に報告している。いずれも診断用の数

MHz 帯の超音波によって招来した好成绩であるが、さらに in vitro/in vivo 実験では診断用超音波による成績以上の溶解効率が期待されてきた。しかしながら、300kHz TST による臨床成績は 93% に及ぶ頭蓋内出血を招来し、SAH や死亡例を含む結果となって、その治験 (TRUNBI trial phase-II) は中止となった。この事は、超音波による rt-PA 効果増強には適切な超音波条件を選定しなければならない事を示す、一種の警鐘となった。

我々は TST の超音波条件として、500kHz、連続波、インターミット照射を提唱し、in vitro/in vivo 実験を通じて、その有効性と安全性に関する基礎データを積み上げた。またその実用化に向けて新技術開発を行い、22 年度上半期までは診断・治療統合化システムとして、診断画像誘導型標的脳血栓溶解法の開発に取り組んできた。しかし、AIS 患者に対する診断用画像検出率が日本人高齢者では 60% と低いこと、その画像抽出には熟練した超音波検査技能者が必要なこと、そのため実際の AIS 患者の多くても 10% 程度にしか適用できないことなどの理由で、製品化のビジネスモデルが成立し難い状況となった。しかし、治療用の超音波条件など技術的、また医学生物学の問題は存在していないので、救急現場にマッチした新技術開発を行い、第 2 の実用化案を検討してきた。この第 2 次実用化案においても、TST として使用する rt-PA 用量低減化の問題はそのまま残され、低用量化の指標を in vitro 実験で把握しておくことは必須の課題となっている。

我々の昨年度の研究では、500kHz 連続波の超音波による溶解促進率は、強度依存적であり、臨床適用上の安全限界範囲 (0.3 W/cm^2 以下) では強度に比例して上昇するという事を明らかにした。また、臨床研究推進のための治療戦略的検討に供し得る、期待する溶解促進率と音響強度と rt-PA 用量の関係を示すノモグラフを作成した。そして、音響強度 0.3 W/cm^2 では、それによる溶解促進率が 55% となり、rt-PA 用量としては、我国での現行用量は 0.6 mg/kg 、欧米では 0.9 mg/kg であるが、その 3 分の 2 の用量、即ち 0.4 mg/kg (我国)、あるいは 0.6 mg/kg (欧米) に低用量化しても十分な溶解効率の得られることが示唆された。

ただし、上記の結論は 500kHz 連続波という一条件に対する結論であり、他の超音波条件の比較検討を行い、さらに有用な最適値の存在し得る可能性について、パラメータを変更し検討する必要があった。

本年度は、これまで使用して来た光学的血栓溶解率高精度測定法を引き続き用いて、複数の周波数における血栓溶解効果の差異を定量的に示すことを目的とした。これにより、臨床的に rt-PA と超音波照射の最適な併用条件を示すことができることが期待される。周波数 400kHz、600kHz、1MHz、2MHz の 4 条件に関してそれぞれ血栓溶解促進率を測定した。また、照射実験は各周波数ごとに溶解促進率について超音波強度との関係を連続的に得た。そして、各条件で得られた溶解促進率データについて、超音波出力別に周波数と溶解促進率の関係をプロットし、周波数の変化が溶解促進率に及ぼす影響について検証した。

B. 研究方法

超音波による血栓溶解加速の程度は、昨年度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の基本を述べる。

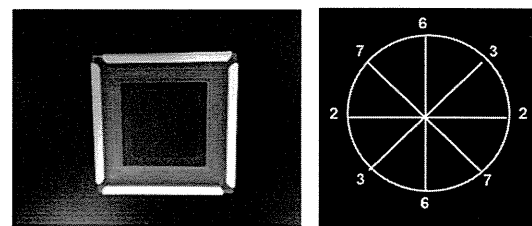
B-1. 光学的血栓溶解率高精度測定法

既に血栓の通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、その厚さを通過光量から測定することとした。その際、本法の基本は、

- 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 B1-1 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 B1-1. 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-2. 超音波ビームの音場分布

従来から様々な in vitro/in vivo 実験を通じて血栓溶解の有効性と安全性の確認されている超音波として、

周波数：400kHz、600kHz、
1MHz、2MHz
波 形：連続波

その振動子としては図 B2-1 のような形状で、

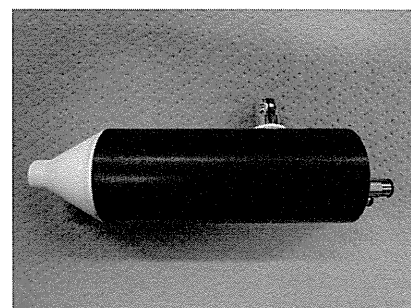


図 B2-1. 使用した超音波振動子
10Φ (先端 10mm、振動子 30mm)

周波数：400kHz、600kHz、1MHz、2MHz の 4 種類を使用

先端直径：10mm
 材 質：ABS
 振 動 子：PZT (30mm)
 冷 却 法：空冷式
 最大出力：4W/cm²

の物を用いた。振動子による音場分布を AIMS により測定した例を図 B2-2 に示した。

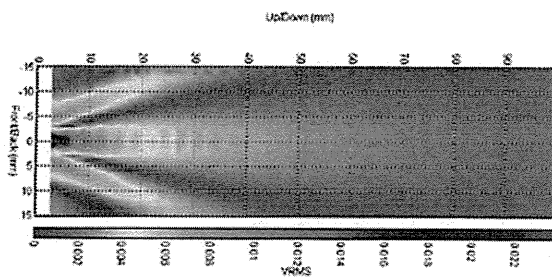
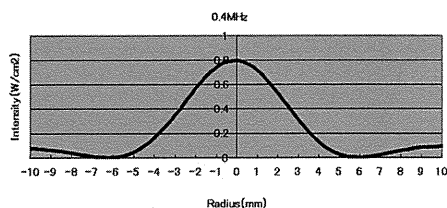
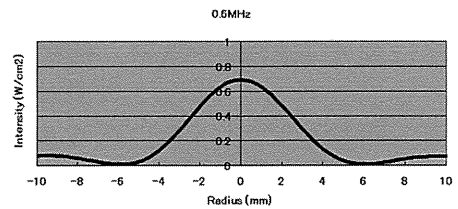


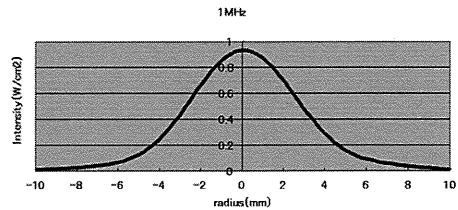
図 B2-2 より、音場分布が軸対称製を持っていることが確認できる。実験は、黒線で示される遠距離音場部分で行う事とした。遠距離音場は発振部から $D^2/4\lambda$ (D :直径、 λ :波長)より遠方の音場領域である。したがって、遠距離音場までの距離は超音波の周波数により異なる (400kHz: $\lambda \div 3.7\text{mm}$ 、600kHz: $\lambda = 2.5\text{mm}$ 、1MHz: $\lambda \div 1.5\text{mm}$ 、2MHz: $\lambda \div 0.75\text{mm}$ となる)。遠距離音場における超音波強度分布はビーム中心線に向かって山なりの曲線を描くが、この曲線の滑らかさは、発振面からの距離により決定する。但し、最も滑らかになる距離は周波数によって異なる為、プローブと血栓までの距離は周波数ごとに最適になるよう調節した。その結果、各周波数で得られた超音波強度分布を図 B2-3 に示す。



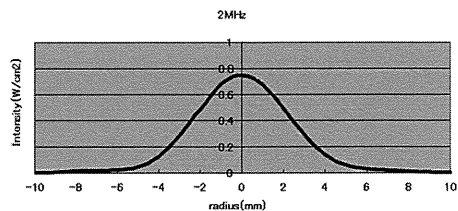
(a)f=400kHz、d=17mm



(b)f=600kHz、d=23mm



(c)f=1MHz、d=35mm



(d)f=2MHz、d=50mm

図 B2-3.超音波音場分布

(f: 周波数、d: 振動子面からの距離)

B-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。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 μ l と、同様にして脱気した 200mM の CaCl_2 37 μ l を混合し、湿潤させた容器に洗浄したセルをセットし、 CaCl_2 混合ウシ血漿を 170 μ 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 B3-1) 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。