

それに対しここでは、実験精度を向上させた事で、超音波強度と溶解性にほぼ直線的な比例関係があることを見出した。また、超音波周波数と血栓溶解効果の関係について検証し、血栓溶解は周波数に依存しない事を示した。以下にこれらの成果について詳しく述べる。

B-1-1. 超音波強度と血栓溶解促進率の関係

A-1 で述べた通り、本実験により、我々はどの周波数においても超音波強度と溶解促進率がおおむね直線的な比例関係にある事を明らかにした。前年度の我々の報告では両者の関係について非線形な比例関係を示したが、その報告の中でも述べた通り、当時の実験系は実験精度の面で課題を残しており、溶解曲線の非線形性は実験誤差によりもたらされた可能性が否定できなかった。そこで、本研究では、上述のように血栓作成用セルの材質および形状を改善したことで吸光度 S/N 比を大幅に改善する事に成功した。今回得られた、超音波強度と溶解促進率の直線的比例関係を示す実験結果は、その高性能なセル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考えられる。

以上のように、本研究により超音波強度と血栓溶解促進率の比例的関係が示されたが、血栓溶解促進率に関するさらなる検証として、今後、超音波の分子作用としての粒子速度 (V) と血栓溶解促進率の関係についても明らかにする必要がある。超音波により血栓が溶解する現象に関しては、超音波強度よりも粒子速度の方がより直接的な要素であると言えるからである。A-1 で述べたように、600kHz の条件では相関係数 R は 0.981 と高かったものの、グラフは僅かながら二次曲線的な折れ線を描き、完全な直線的比例関係は認められなかった。このグラフに対し、粒子速度と溶解促進率の関係を示したグラフでは、さらなる直線関係が現れると期待される。直線性に関するデータを得ることは、臨床適用の際の超音波条件をより高精度に決定する上で欠かせぬ事項である。

B-1-2. 超音波周波数と血栓溶解効果の関係

A-2 において、我々は3つの異なる超音波強度 (0.1・0.3・0.5W/cm²) について、周波数を 400kHz、600kHz、1MHz、2MHz にした時のそれぞれの溶解促進率を示した。

ここで注目すべき事は、各群とも周波数ごとの溶解促進率に大きな変化が無かった事である。この結果は、溶解促進率が周波数に依存しない事を示唆するものであり、以前の我々の報告 (2007, Ultrasound Med Biol) や Behrens 等の報告 (2001, Ultrasound Med Biol) で示された実験結果に反するものである。今回のような結果をもたらした主要な要因として、我々は、後述する通り、キャビテーションによる影響を防ぐ工夫を施した事、すなわち実験精度を向上させた事をここでも挙げる。今回の、溶解促進率が周波数に依存しない事を示す実験結果は、500kHz 前後の中周波数帯域が、診断用 MHz 帯と比較して同等の血栓溶解効果を持っている事を示すものである。後に述べるように、この成果は、最適な溶解効率の有効性と医学生物学的な安全性等を担保する周波数条件を見出す上で欠かせぬ重要な知

見である。

B-2-1. 実験方法の改善

本成績において、周波数依存特性が著明に見られなかった事は、従来の *in vivo* 動物実験における中周波数超音波の血栓溶解効果の優位性を否定するものである。このような、周波数依存性の無い超音波による溶解促進率の上昇は、その実験方法に起因する事が少なからずあったものと考えられる。ここでまず、溶解促進率に影響する要素に rt-PA 濃度が含まれない事について述べておく。

前年度、我々は、臨床適用規準をベースに、rt-PA 濃度 0.2~0.9mg/kg の範囲で実験を行った。それに対し本年度では、測定時の S/N 比向上を優先する考えから、1.35mg/kg(1800IU) にあえて濃度を引き上げて実験を行っている。その理由は、昨年度報告した通り、超音波併用による rt-PA 血栓溶解効果の促進効果は、rt-PA 濃度に依存しないからである。したがって、今回の、溶解促進率に関する測定結果は rt-PA 濃度とは関係が無いと言える。

但し、本年度の実験においては、血栓溶解法に関する実験方法に従前の方法と異なる点がある。以下、この点について少しく述べる。

本実験で改善した事は、血栓作成時に用いる血漿の脱気方法である。超音波照射実験を行う際に血栓の脱気が不十分であると、超音波により血栓内に気泡が瞬間的に発生・消失を繰り返す可能性が高い。そのとき生ずる局所のキャビテーションは微小ながら強力な周囲組織に対する破壊効果を招く為、フィブリンネットの断裂や周囲の rt-PA 溶液循環に影響を与えると考えられる。すなわち、フィブリンネットに対する溶解効率を向上させる結果となり、最小化されたフィブリンに対し rt-PA 溶液がその効果を発揮しやすくし、結果的に溶解率上昇を招くと考えられる。それゆえ、脱気が不十分であると、それを核にしてキャビテーションの増殖が起こり、溶解効率は益々増強されると考えられる。その事が従来の中周波数における溶解率増高の一因ではなかったかと考えている。なぜなら、同じ音圧であっても、周波数が低ければ低いほど、細胞引き裂き聴力は増し、Mechanical Index 値は増加し、結果的にキャビテーションを発生し易いという傾向が超音波本来の性質にあるからである。この、周波数が低い程キャビテーションを発生し易いという特性が、脱気不十分な溶液の中では相乗的に作用すると考えられ、それが従来の基礎研究成果に大きく関与していたのではないかと考えられる。本実験では、この点を回避する為に、出来る限り脱気を徹底して行うようにした。その事が、結果的に、周波数依存性の無い溶解効果特性というものに示されたと考えられる。

C. 結論

本年度は、昨年度に引き続き、超音波併用による血栓溶解効果促進に関する基礎的データを積み上げ、その臨床応用に対する基本的超音波条件の選択に関する次のような結論を得た。

(1) 血栓溶解効果増高評価法としての測定手技を改善し、その制度を一層高めた。ポイントは、牛フィブリン塊を用いる光学的な溶解率測定法に供する試料の脱気を徹底的に行う事を新たに追加し、試料に存在する微小気泡を出来る限り除去した状態で、超音波条件と周波数依存性について明らかにした。この技術的改良が、昨年度とは異なる成績を示す原因とはなかったが、本年度の成績こそは、実用化に向けての正確な指針を示すものとなった。すなわち、(2) 超音波による溶解効果の促進率 (rt-PA 単独投与時の溶解率からの上昇率) は、超音波の強度にほぼ依存し、比例的に上昇することを昨年と同様に明らかとした。ただし、その上昇率は、昨年度 500kHz に比べ、本年度の 4 周波数 (400kHz、600kHz、1MHz、2MHz) においては低値を示し、促進率の上昇は昨年の報告 55% の約 1/3 程度に留まった。

(3) 4 周波数 (400kHz、600kHz、1MHz、2MHz) における溶解率の促進は 1MHz を除けばほぼ均一で、周波数依存の低い傾向を示すものであった。ただし、1MHz ではその促進率は他の周波数における最大上昇率に比べ、約 60% に留まっており、1MHz 近傍における特異的な溶解率抑制という周波数依存特性の存在を示唆するものとなった。(4) 臨床におけるヒト頭蓋骨を介した血栓溶解法を実現する際には、超音波の頭蓋骨における減衰特性を考慮する必要がある。一般に頭蓋骨における減衰特性は周波数の上昇に対して反比例的であり、周波数が低ければ低いほど透過率が良い事になる。それゆえ、上記 (3) に述べたように、中周波数数百 kHz (400kHz、500kHz、600kHz) を採用すれば、頭蓋骨における超音波減衰は少なく、溶解効率は十分有効な音響強度を確保し得る事になる。すなわち、診断用 MHz 帯の溶解効率よりも、頭蓋骨の減衰率の低い分だけ、有利に作用する事となる。(5) 上述のような、本 in vitro 実験成績から、音響強度依存的周波数依存的 (頭蓋骨の減衰を考慮) な経頭蓋超音波脳血栓溶解法の臨床実現とその有効性が一段と明瞭となった。したがって、実用機開発としては、脳組織に対する安全性の確保しやすい高周波特性 (温熱特性のみとなる) と共に、頭蓋骨透過率の良い低周波数超音波との trade-off の領域として、数百 kHz が最適な溶解効率の有効性と医学生物学的な安全性等を担保し得る周波数条件となる。

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、まず、従来からの中周波数領域、とりわけ、500kHz を中心とする周波数帯域の活用が有用である事を示した。また、音響強度依存的な溶解率上昇特性を踏まえて患者の病態に適応した照射強度制御能力を持たせる事が第二の重要機能である事を明瞭にした。この 2 条件を満足する臨床機こそは、経頭蓋的超音波脳血栓溶解装置の臨床実現を達成する基本条件と言う事が出来る。本結論は、最終年度に得られた画期的な提言であり、実用機に向けての本質的な開発要素を決定する事に成功した。これは、直ちに臨床機に活用し得る成果と考えられる。

経頭蓋的超音波血栓溶解法 (TST) に期待される rt-PA 低用量化に関し、in vitro 実験を通じ次の様な結論を得る事が出来た。

1. 超音波による促進率 (但し 500kHz 連続波) は、強度依存的であり、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。
2. 期待する溶解率と音響強度と rt-PA 用量の関係を示すノモグラフを作成する事が出来、

臨床研究推進の為の治療戦略的検討に供し得る。

3. 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 用量としては現行用量（我国では 0.6 mg/kg 、欧米では 0.9 mg/kg ）の $2/3$ の用量、即ち 0.4 mg/kg 、あるいは 0.6 mg/kg に低用量化しても十分な溶解効率の得られる事が示唆される。

但し、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は今後パラメータを変えて検討をする必要がある。

以上の実験的事実に基づく成果は、さらに今後の研究展開について、次の様な指針を与えるものである。

1. rt-PA 低用量化に対する日本と欧米での用量差がどの様な安全上の差異、あるいは有効性の差異に繋がったか詳細な比較検討を加え、TST の適用条件を選定する。
2. rt-PA 投与方法として Alteplase の場合は 10%Bolus、90%点滴静注とされているが、低用量化は点滴静注の時間短縮という形で行い、米国治験 HIPOTRIAS と比較の出来る形にする。
3. TST の超音波条件として臨床研究では音響強度を含む超音波条件の適用範囲を検討出来る様なプロトコルを含めるものとする。

第6章
経頭蓋超音波脳血栓溶解法の
安全性

第6章 経頭蓋超音波脳血栓溶解法の安全性

6-1 ラット急性脳梗塞モデルによる有効性と安全性（既存報告から）

超音波併用血栓溶解療法は歴史的には立花(敏)らが、ラット下肢末梢動脈塞栓モデルについてウロキナーゼを注入しながら超音波洗浄機に同下肢を入れると再開通率が向上することを示したのが最初である。他方、彼らとは全く別に犬の両側股動脈に塞栓モデルを作成し、tPA 静注下に一側にのみ超音波を(200kHz 連続波)曝露し、両側の血流再開通状態を比較した結果超音波による再開通時間の短縮(約 1/4, 17 分程度)と tPA 投与量の減少(約 2/3)となることを古幡らは報告している。これら初期データは言わば現象論的に極めて良好な超音波効果を示し、その後多くの内外の研究者が溶解メカニズムについて定量的な解析実験を試みている。それらの成果から超音波併用効果のメカニズムは次のように考えられている。血栓を形成するフィブリン塊は約数ミクロンの隙間があるメッシュであり、このフィブリンネット内に tPA が浸潤することによってフィブリンを分解し FDP を生成することが溶解効果の基本的なメカニズムである。超音波はこのフィブリン塊への tPA の浸潤を加速すると同時にその FDP を血栓外に引き出し、常に新鮮な tPA を血栓に浸透させ続ける事が溶解加速の超音波効果と考えられている。この流動性を高める効果は超音波としては極めて微弱なエネルギーの効果で、いわゆる強力超音波が持つキャビテーションの発生、温熱作用や化学反応等の効果とは著しく異なるものである。しかも用いている超音波周波数は診断機に用いられる MHz 帯より低い中周波数超音波帯においてその効果が強いことが示されている。これは同じ音圧であっても周波数が低ければ低い程その機械的作用が強くなると言う超音波固有の性質を活用するものである。ちなみに温熱効果は周波数が高ければ高い程生体組織における熱吸収が増し発熱の主要な要因となる。すなわち超音波の機械的振動作用と循環加速が溶解効果の加速に寄与すると考えられている。中周波数 500kHz と診断用超音波周波数 2MHz を用いた場合の溶解効果の比較を同一血栓モデルで行った結果を図 1 に示す。なおこの 2MHz は経頭蓋ドプラ装置(TCD, PMD100)を使用した。図から明らかなごとく tPA 単独投与に比べて顕著な溶解効果加速増高が 500kHz において認められるのに対し 2MHz ではその差は少ないものとなっている。この成績に限らず多くの *in vitro*、*in vivo* 実験において低・中周波数帯の優位性が示されてきている。

特に tPA の低用量化が超音波併用法によってもたらされることを定量的に示した。その *in vitro* 実験の結論は、適切な強度の 500kHz 連続波超音波を併用すれば tPA 投与量を 2/3 に減らしてもその溶解率が tPA 単独投与と等しくなることを示している。即ち、我が国における 0.6ml/kg の投与量を 0.4ml/kg に低減させても超音波併用法であれば従来と同等の溶解率を得ることが出来るという結論である。勿論従来通り 0.6ml/kg の投与下に超音波を併用すれば溶解率は 0.9ml/kg 単独投与と同等の溶解率になるというものである。しかも超音波併用法は出血率の増加を招来しないという実験的事実を次に述べる動物実験は示して

いる。

・脳梗塞モデル動物による併用法の確認

ラット急性脳梗塞モデルとして自家血血栓を中大脳動脈に作成し tPA 静注下に経頭蓋的超音波照射を併用する溶解実験が行われた。その結果、梗塞作成後 3 時間後に治療を開始したにもかかわらず併用群に著しい再開通率の向上、神経スコアの改善、そして出血率が增加しないことを図 2 に示した。即ち超急性期として限界的な発症 3 時間を経過した状態でも併用法は有効でかつ安全であることを示している。この中周波数 500kHz の極めて良好な成績は改めて次の臨床的有効性を示唆するものとなった。第一は、頭蓋骨超音波透過率は周波数が低減する共に上昇するので高齢者における頭蓋骨肥厚化に対しても中周波数は有効であること、第二は中周波数による発熱効果は低いので虚血脳に対する高温化を招来しないこと、第三は用いた超音波が連続波で平均音響強度は診断装置と同等であったことから、脳組織に対する安全性が担保され得る可能性の高いことなどである。

・診断用超音波装置を併用する血栓溶解法の臨床成績

超音波併用法の視点から中周波数帯程には有効性は必ずしも高くはないが、既承認の診断用装置によってもその併用時の有効性の示される事を臨床的観点から報告されている。

Alexandrov らは診断用の TCD で tPA 投与下 (0.9ml/kg) の中大脳動脈を 60 分間監視していると再開通時間が短縮されるという画期的な成績を示すことに成功した。その成績は tPA 単独投与での 2 時間後の再開通率が 13%であったものが TCD を併用していた場合約 38%となり、3 か月後の神経学的改善が併用例では 11%もの mRS01 が増加したというものであった。更に経頭蓋的カラードプラー法 (TCCS または TC-CFI) を用いた場合には再開通時間が tPA 投与後 40 分で 36.8%を超える成績を Eggers らが報告するに至っている。

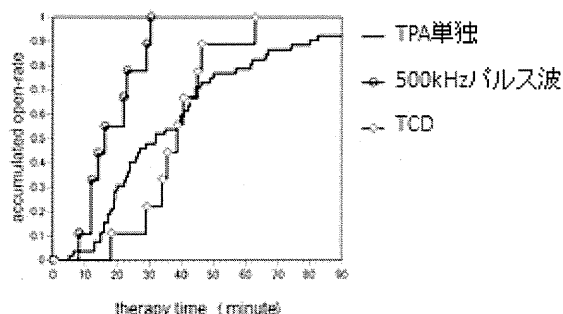
彼らによれば 24 時間後の再開通率は、tPA 単独例とほとんど変わらぬ成績でありながら、3 か月後の mRS01 スコアのものが 0%であった tPA 単独治療群に対し、併用群では mRS01 群が 23%に増加したというものである。即ち、再開通時間の短縮がいかに 3 か月後の予後に大きく影響するか如実に示しており、超音波併用法の臨床的有用性が診断機において既に明確になったと考えられる。ただし、その出血率は TCD 併用の場合皆無であったにもかかわらず、TCCS では 15.7%に及び、tPA 単独治療例での症候性出血率が約 6%弱であるという国際的な標準値の 3 倍近くに達するという問題も同時に提起するものとなっていた。

TCD と TCCS の音響力学的な差異がこの場合少なからず関与しており、その詳細な解明が求められている。これらの臨床成績に加え更に Molina らは、血管造影能力のあるマイクロバブル (MB) SonoVue と TCD を併用すると 2 時間後の完全再開通率が著しく増加し (41%が 54%) 部分再開通率を含めた全体では 70%に達すると報告している。

この MB を用いた再開通率の向上については更に国際的な治験 TUXSON Trial が現在進行中であり、MB による出血率増高を血圧制御によってコントロールできれば更に良好な臨床

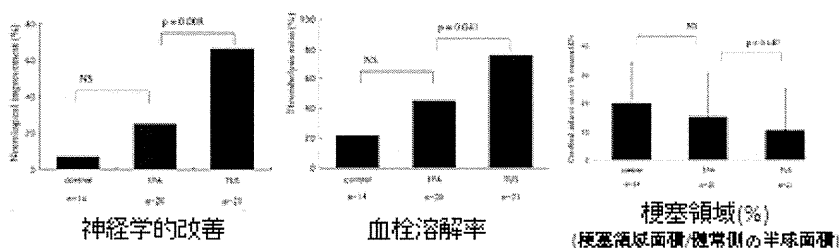
成績が得られるのではないかと期待されている。

図1



血栓溶解加速の併用超音波周波数の違いによる成績
ウシフィリン血栓による塞栓モデルを作成し周波数500kHzと2MHzの
パルス超音波を照射した場合の比較

図2



ラット自家血血栓モデルを用いた経頭蓋超音波併用法適用時の神経学的改善
3時間塞栓後の治療開始による神経学的改善スコア、溶解率梗塞領域の比較結果
併用法における著しい神経学的改善を認めている。しかもその再開通率も高く梗塞領域も小さい

6-2 中周波数による臨床成績の失敗 (TRUMBI TRIAL の成績)

2004年 Daffertshofer は急性脳梗塞患者に対し tPA(0.9ml/kg)を投与するとともに経頭蓋的に 300kHz バースト波を併用した場合の臨床成績 (TRUMBI Trial Phase II) を報告した。ここでバースト波とは連続波と異なり周期的に一定時間超音波を発するが、その後は発射

を停止することを周期的に繰り返す波で、彼らの場合、0.5ms 発射し 9.5ms 中止するというタイプのバースト波を使用した。ただしその一周期の平均は $0.7\text{W}/\text{cm}^2$ とした。その臨床成績は併用群において 14 例中 13 例で出血を招来し 1 例は死亡したのに対し、tPA 単独例には出血例が著しく少ないものになった。且つその再開通率には両群で差がなかった。この出血率 93%の著しい増高の結果を踏まえ治験は中止となった。注目すべきことは出血部位が梗塞領域内ばかりではなく非梗塞領域側やクモ膜下腔に出血を起こすこともあり、tPA 単独では考えられない著しい増加が認められたことである。明らかにその副作用は用いた超音波に由来することと考えられた。その音響学的原因はバースト波が持つ発射超音波強度 ($28\text{W}/\text{cm}^2$) が頭蓋内で多重反射 (13~15 回) して定在波を惹起し、頭蓋内各所に音圧の上昇 (hot spot) を招来した同部位での細胞破壊キャビテーションを生じたことによると理論的実験的に解明されている。

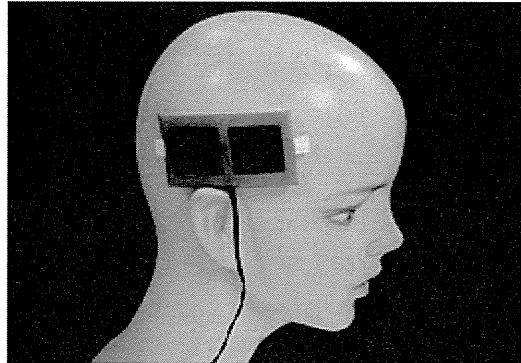
・次世代経頭蓋超音波脳血栓溶解療法による挑戦

TRUMBI Trial の様な臨床試験の失敗を乗り越え中周波数帯の超音波を用いる併用法への期待には患者救済の救急救命的観点からその期待には大きなものがある。即ち、併用法は溶解加速の向上と tPA 容量の低減化と言う 2 つの課題を解決し得る潜在的可能性が極めて高いからである。これを実現する次世代型技術開発に筆者は取り組んできている。

1 つは塞栓部に対する超音波画像ナビゲーション型標的照射法であり、他の 1 つは特殊な超音波検査技量を持たない者でも容易に使える側頭部貼付型広角照射治療法である。前者は超音波技術の集積した診断治療統合化法で塞栓部を経頭蓋的に見出し同部位に向かって治療用の中周波数超音波ビームを発射するものである。ただし、経頭蓋超音波検査技能が必要であり且つ治療ビームの標的技術等高度な人的及び技術的課題を含んでいる。しかも患者の体動などに対する追従性も求められ、完成には技術的課題や検査者の教育など多くの課題を含んでいる。これに対し後者は超音波振動子を患側側頭部に貼付するだけで良いので tPA 適用患者のほぼ全員に対し併用法の効果が期待出来るというものである。ただし標的性や再開通状態の監視等の診断能力を完全に放棄したものとなっている。臨床現場への導入が容易と思われる後者について紹介しておこう。

これは柔らかな振動子を 1 から数枚平面シート状に貼付しこれをヒト側頭部表面に貼付する事を基本とするもので、我々は Pasteable Soft Ultrasonic Transducer (PSUST) と称している (図 3)。この PSUST を用いれば患者の体動には全く影響されず患部領域に超音波を当てようとする言わば次世代型の経頭蓋的装置である。現在のところ PSUST に関し定在波などの副作用回避の技術開発や広角照射の為の振動子形状検討などを含む前臨床試験を積み上げている最中である。近い将来 PSUST First in human としての治験が行われるものと期待が寄せられている。なおこの PSUST を用いる併用法もまた上述の画像ナビゲーション型標的照射法のいずれの研究開発も (独) 国立循環器病研究センターとの共同開発中のものである。

図3



側頭部貼付型ソフト振動子による血栓溶解のモデル像

6-3 サル動物実験による安全性評価の追加評価

研究分担者 福田隆浩 東京慈恵会医科大学神経病理学研究室 講師

研究結果

検索したすべてのサル脳梗塞病変および病変周囲脳組織に、ubiquitin, K48 polyubiquitin, K63 polyubiquitin, p62, LC3の発現を認めなかった。

考察

ユビキチン化はフォールディング異常な蛋白質や不要になった蛋白質を細胞から除去するユビキチン-プロテアソーム系が、K⁴⁸ リジン残基を介してポリユビキチン化することにより活性化すると考えられている。一方、オートファジーは細胞内の蛋白質を分解し、異常な蛋白質の蓄積を防いだり、過剰に蛋白質合成したときや栄養環境が悪化したときに蛋白質のリサイクルを行うシステムで、K⁶³ リジン残基を介してポリユビキチン化が関与していると考えられている。ラット脳梗塞において、超音波照射後 24 時間後に heat shock protein 70 (HSP70) が病変周囲神経細胞や星状膠細胞に発現していることを以前我々は報告した。HSP70 発現から、梗塞病変および病変周囲脳組織の組織変化にユビキチン化の関与が推測され、今回ポリユビキチン化を免疫組織化学的に検索した。ヒトおよびげっ歯類の脳外傷においては、生化学的検索で、発症後 4 時間より 24 時間で、K⁴⁸ あるいは K⁶³ のリジン残基を介するポリユビキチン化が始まることが知られている。また、中枢神経系の虚血モデルにおいて、オートファジー・リソソーム系が関与していることが知られている。今

回のサル塞栓モデル動物では、梗塞発症 24 時間経過時の組織所見であり、梗塞病変および病変周囲組織に、ユビキチン・プロテアソーム系及びオートファジー・リソソーム系の関与はないことが示唆された。しかし、これは免疫組織化学的に同定できなただけで、梗塞発症 24 時間後に虚血による細胞障害にユビキチン・プロテアソーム系及びオートファジー・リソソーム系が顕著に発現する可能性はあり、今後検索の必要がある。

結論

サル塞栓モデル動物では、梗塞発症24時間経過時の組織所見であり、梗塞病変および病変周囲組織に、ユビキチン・プロテアソーム系及びオートファジー・リソソーム系の関与はない。

6-4 ラット (SHR) による完全梗塞モデルによる出血率評価

研究分担者 王 作軍 東京慈恵会医科大学医用エンジニアリング研究室 研究員
 研究分担者 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
 研究分担者 三村 秀毅 東京慈恵会医科大学神経内科学講座 講師

A-1 死亡率、神経学スコア、及び体重の変化

治療後 24 時間以内の死亡は 1 例だけで、NS 群に認められた。このラットは視床下部梗塞と重篤な脳浮腫率 (28.4%) であった。4 群間に死亡率の差は認められなかった ($p=0.26$)。神経学スコアは、ほぼ全動物で治療前が 4、治療 24 時間後は 3 になった (表 1)。神経学スコア及び体重の変化には 4 群間に有意な差は認められなかった。

表 1. 神経学スコアと体重の変化

Table 1. Neurologic Score and Change in Body Weight

Group	Neurologic Score			Body Weight (gram)			
	Just before treatment	24-hours after treatment	Change	Baseline	Just before treatment	24-hours after treatment	Change
	NS(n=8)	3.9±0.4	3.3±0.4	-0.5±1.4	306.7±12.6	294.9±10.9	266.2±6.5

A-2 ナイロン糸の位置とくも膜下出血

ナイロン糸は全て動物の右前大脳動脈に挿入されていた。くも膜下出血は rt-PA 群に 1 例だけ生じた。くも膜下出血発生率には 4 群間に有意な差は認められなかった ($p=0.45$)。

A-3 脳梗塞と脳浮腫容積

4 群の脳梗塞率は最大 40%で、脳浮腫率は最大 20%であった(図 4)。脳梗塞率と脳浮腫率には 4 群間に有意な差は認められなかった ($p=0.9$ 及び $p=0.45$)。

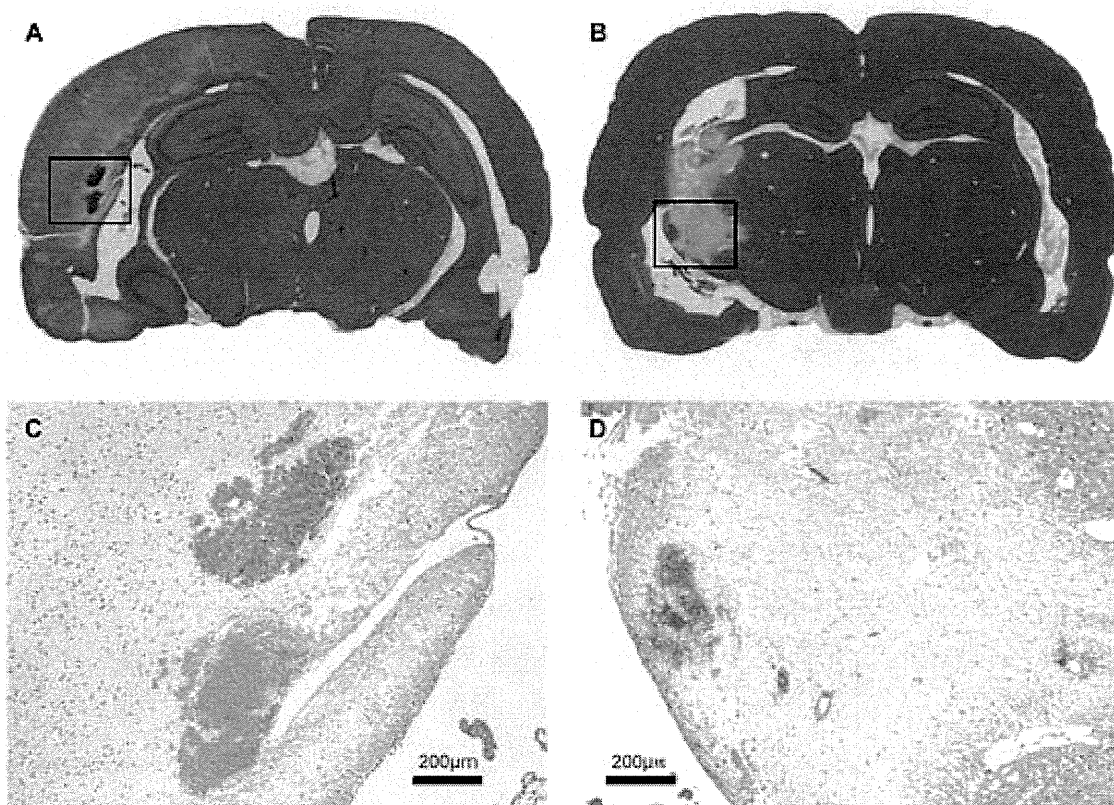


図 4. 40 例の動物のうち 2 例に認められた肉眼的出血の写真。1 例は rt-PA 群 (A)、もう 1 例は NS+US (B) に認めた。

A-4 脳内出血

肉眼的出血は 2 例 (1 例は NS+US 群、1 例は rt-PA 群) に認められ、全て「中間位」にあり、grade 1 (面積は 0.8 mm^2 未満) であった(表 2)。肉眼的出血は 4 群間に有意な差は認められなかった。顕微鏡的出血の結果も表 2 に示しているが、同様に 4 群間に有意な差は認められなかった。

B. 考察

この研究では、神経学スコア、脳梗塞と脳浮腫率、脳出血を含むすべての評価項目において、4 群間に有意な差は認められなかった。特筆すべきは、rt-PA+ LFTUS 治療群が、上述の項目全てで悪化傾向を少しも示さなかったことである。この結果は、LFTUS 併用治療が永久 MCAO の高血圧動物においても安全であることを示唆している。

最近の大型国際臨床研究が示したように、半分以上の AIS 患者は高血圧の既往がある。それゆえ、rt-PA の治療効果を含め、AIS に関する多くの実験研究では SHR の一時的 MCAO モデルを使用されてきた。しかしながら、rt-PA の治療結果として、非再開通も決して少なくない。加えて、TRUMBI 試験では、LFTUS 治療群は再開通率は低く、症候性出血を高率に伴った。それゆえ、この実験では SHR の永久 MCAO モデルを使って LFTUS の安全性を検証した。

本研究は、SHR において、永久 MCAO 発生 3 時間後でも LFTUS を用いた超音波血栓溶解治療が安全だということを示唆した。LFTUS の安全性は、以下のいくつかの要素が関連していると考えられる。第一に、我々が使った LFTUS の機械指数(MI)が低いことである。実際、連続波で空間平均強度 0.3 W/cm^2 、空間最大強度は約 1.2 W/cm^2 になり、MI は 0.28 しかなかった。この様に、MI 値は生物に影響する閾値 (MI=0.5) より低く維持されており、TRUMBI 試験 (MI=1.2) 及び Schneider らの動物実験よりさらに低かった。第二に、我々が使用した LFTUS のビーム開口はわずか 20 mm^2 で、コントロールしやすいものである。一方、TRUMBI 試験で使った超音波のビーム全開口は約 $2,830 \text{ mm}^2$ で、普通の臨床用 TCD の開口 ($\approx 150 \text{ mm}^2$) より約 18 倍も大きかった。尚、Schneider ら及び Reuter らの動物実験中に使用した超音波のビーム開口は約 350 mm^2 で、本研究の約 17.5 倍だった。これらの大きなトランスデューサーは過大な量のエネルギーを頭蓋内に送り、反対側の頭蓋内に危険な定在波も増幅しやすい。第三に、我々の LFTUS の周波数 ($\approx 500 \text{ kHz}$) は他の LFTUS 研究 (例えば TRUMBI 試験の 300 kHz 、Schneider らの 20 kHz) より高いことである。極端に低い周波数は、同じ I_{sp} でも MI を上昇させると同時に伝播距離も長くなり、頭蓋内の多重反射やひどい干渉を起こしやすくする。

C. 結論

我々は、既に正常血圧ラットの MCAO モデルにおいて、我々が使用している LFTUS の安全性と有効性を示した。本研究は、続いて SHR の永久 MCAO モデルにおいてもこの LFTUS の安全性を証明した。一方、重篤な脳出血は一般的に再開通時に発生しやすいことが知られており、今後の課題として、高血圧動物の再開通モデルにおける LFTUS の安全性研究も必要である。

6-5 陳旧性梗塞のあるラット (SHR/SP) 高週齢における経頭蓋的超音波照射の出血率

研究分担者 王 作軍 東京慈恵会医科大学医用エンジニアリング研究室 研究員

AIS 発症リスクの高い、高血圧の脳卒中易発症動物モデルとして、陳旧性脳梗塞 (OCI) を有する高週齢 (20W と 24W) の SHR/SP に対し、[500kHz, CW]超音波照射時 (60 分間のインターミittent照射) の大出血状態について、図 5、図 6、図 7 の結果を得た。図から明らかのように、rt-PA 投与単独でも大出血は高率であった。この場合の出血率を基準に、US 曝露領域の出血率を調べると、統計学的には、個体数として出血率の増高を認めることは無かった。ただし、危険率を 20% 近く見込めば、増加傾向無しとは言えない結果であったが、非曝露領域でも同様に rt-PA 投与時よりも高い出血傾向 (危険率 20% 程度) を示していたため (図 7)、経頭蓋超音波曝露による増高は強く否定された。換言すれば、OCI を有するような、高血圧かつ脳卒中発症率の高いハイリスク状態で、経頭蓋超音波の無害性が実証されたということである。

この結果は、音響強度こそ 0.3, 0.5W/cm² の 2 種類ではあったが、周波数や波形は一条件に固定されているため、今後は同様の実験系で、多種多様な US 条件に対する検討が必要がある。その基本実験系が整えられたといえる。なお、動物用の振動子口径は 5mm としたので、in vitro 用の 10mm のものとは異なり、動物用に製作した場合には、それぞれの音場分布を測定しておく必要がある。

図 5 陳旧性梗塞内出血状態 (個体数)

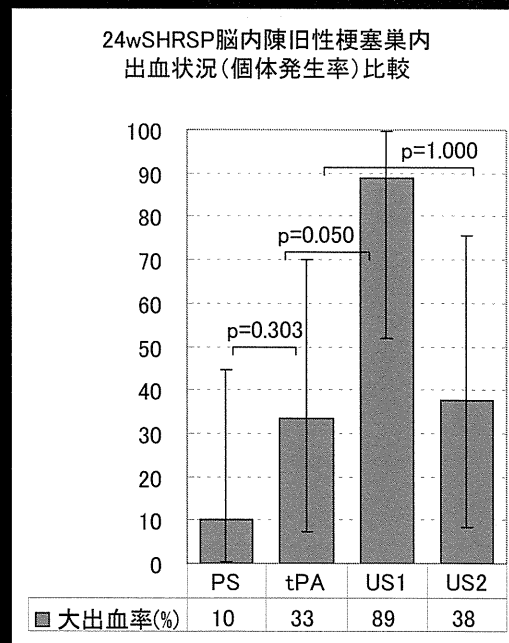
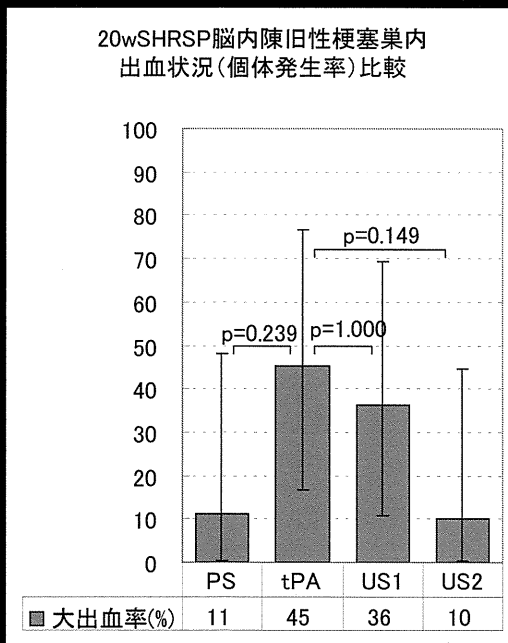
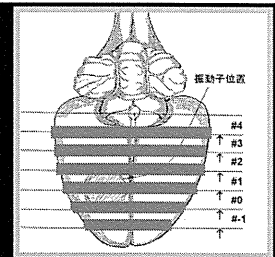
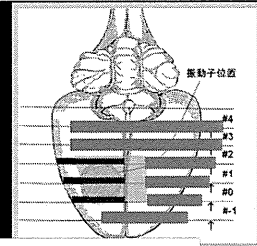


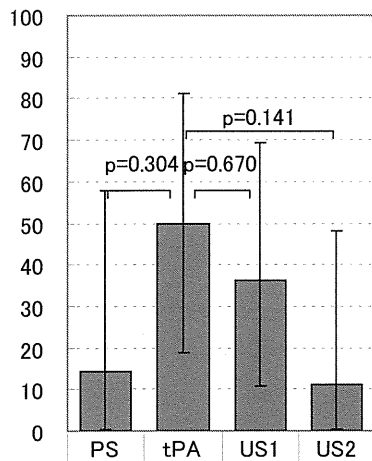
図 6

US 曝露切片内の陳旧性梗塞内出血状態

(個体数)

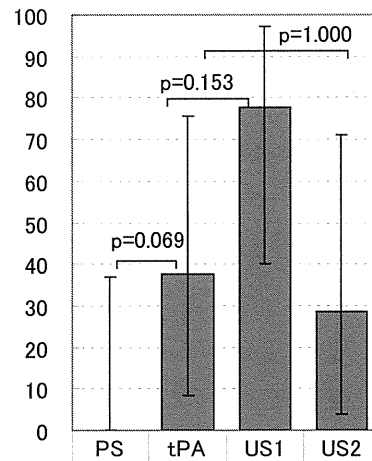


20wSHRSP非暴露区域陳旧性梗塞巢内出血状況(個体発生率)比較



■ 大出血率(%)

24wSHRSP非暴露区域陳旧性梗塞巢内出血状況(個体発生率)比較



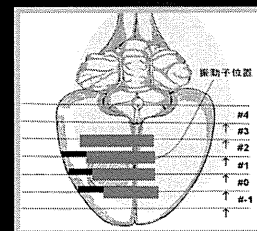
■ 大出血率(%)

図 7

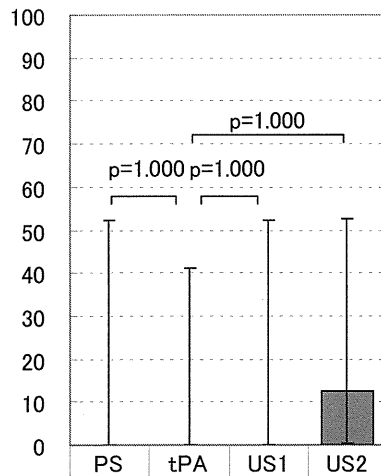
非 US 曝露切片内の陳旧性梗塞内

出血状態 (個体数)

20w に比べ、24w での大出血率は増高している

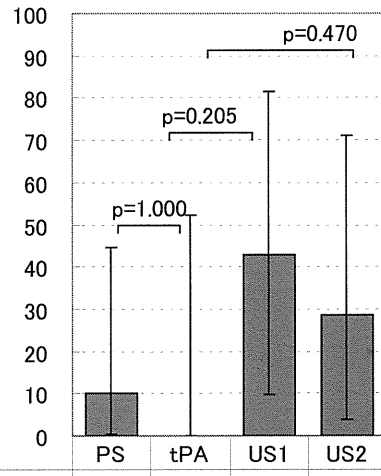


20wSHRSP暴露区域陳旧性梗塞巢内出血状況(個体発生率)比較



■ 大出血率(%)

24wSHRSP暴露区域陳旧性梗塞巢内出血状況(個体発生率)比較



■ 大出血率(%)

6-6 ヒト頭蓋内における多重反射の影響

研究分担者 齋藤 理 東京慈恵会医科大学医用エンジニアリング研究室 研究員

研究分担者 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

研究分担者 清水 純 東京慈恵会医科大学医用エンジニアリング研究室 研究員

A. 研究成果

A-1 多重反射理論解析より得られること

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 8 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。

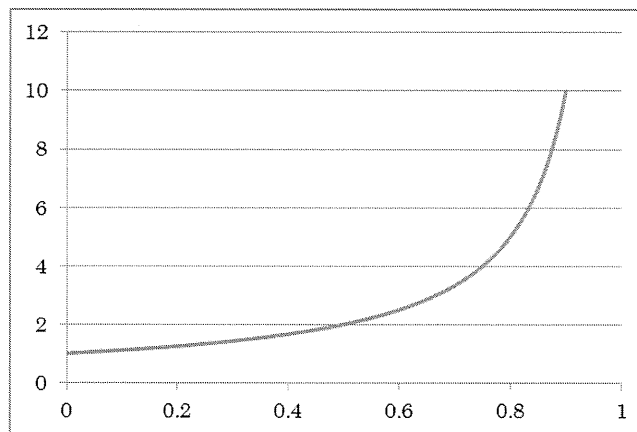


図 8 反射率と腹における振幅 (横軸が反射率 R、縦軸は増幅度)

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 9 に示す。半波長ごとに腹が分布していることが見られる。

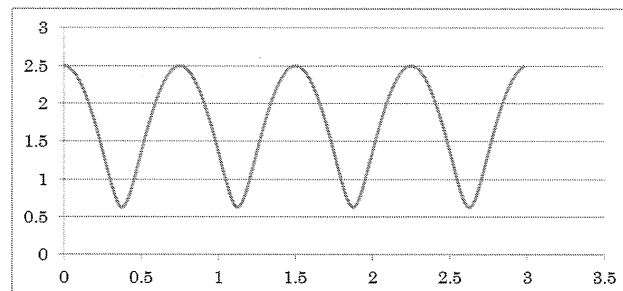


図 9 位置 x と振幅の関係 ($\lambda=1.5\text{mm}$ 、横軸の単位は mm、 $R=0.6$)

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。

A-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 10 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。

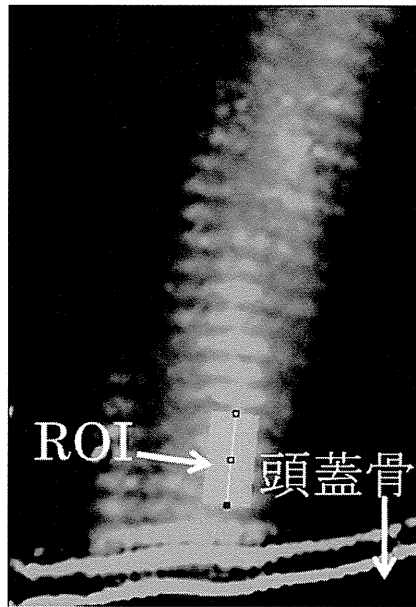


図 10 ヒト頭蓋骨反射による定在波のシュリーレン画像

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。

B. 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。

C. 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。

第7章
経頭蓋超音波脳血栓溶解法の
実用化技術

第7章 経頭蓋超音波脳血栓溶解法の実用化技術

7-1 超音波誘導型経頭蓋超音波脳血栓標的照射法 (TCT LoFUT) の臨床的課題

研究分担者 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

研究分担者 窪田 純 株式会社日立メディコ応用機器開発室 主管技師

・非磁性 T/D 複合プローブの改良

MRI 診断装置により撮影した 3 種類の電極を持った振動子の画像を図 1 に示す。

それぞれ、T1 強調、T2 強調画像にて撮影を行った。図の白い円に見える部分がファントムであり、上段 (①) の T1、T2 画像中のファントムの左右に Ni メッキ電極振動子、頂点に Ag メッキ振動子を貼り付けた。また、下段 (②) の T1、T2 画像中のファントムの左右に Ni+Au 電極振動子を貼り付けた。Ni めっき品、Ni+Au めっき品ともに MRI 画像に 20~30 mm の範囲で影響を与えているが、Ag めっき品の振動子は MRI 画像に影響を与えないことがわかる。

以上の結果より、Ag めっき品の治療用振動子を使用することで非磁性複合プローブが作成可能であることがわかった。

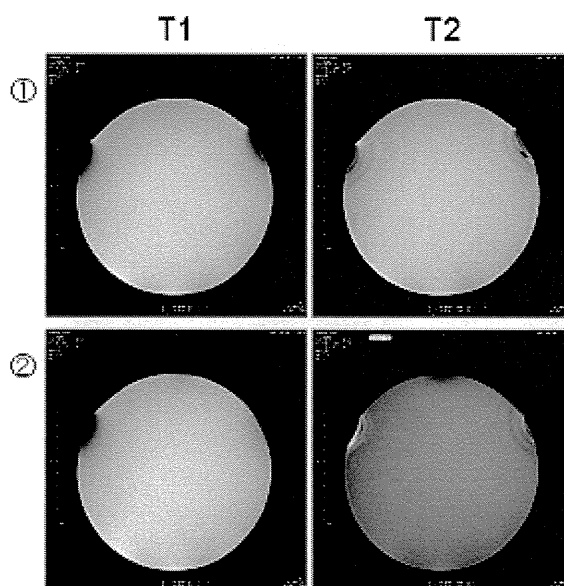


図 1 振動子の種類による MRI 画像の見え方の比較