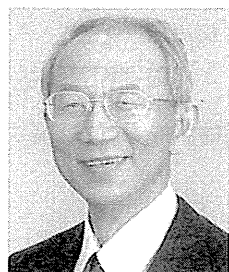


## 次世代超音波血栓溶解療法への展望

—現状から近未来へ

Prospect of sonothrombolysis for the next generation of ultrasonic therapy from the present time to the near future



古幡 博

Hiroshi FURUHATA

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

◎脳梗塞や心筋梗塞の超急性期血栓溶解療法として、超音波を併用する新治療技術が台頭している。本稿ではそのメカニズムの概略を説明し、超音波を併用することによって著しい再開通率の向上、再開通時間短縮の可能性のあることをまず紹介する。この効果は診断用の超音波(MHz帯)でも有効で、脳梗塞に対するTCDやTCCSなどによる臨床成績も発表され、さらにはマイクロバブル(MB)を併用することによる溶解加速をも臨床成績で報告されている。しかし、診断用超音波よりも低い周波数帯による超音波の血栓溶解加速はさらに有効である。そのためには安全性に関する基礎的データの蓄積が求められている。そして、その中周波数帯の超音波を用いれば標的性・臨床的な簡便性が得られ、まさに救急現場における次世代血栓溶解療法として超音波治療のあらたな道が開かれるものと期待されている。本稿ではそのような次世代型の超音波血栓溶解療法の可能性を含む近未来的新超音波治療法について述べる。



血栓溶解, 超音波治療, 安全性, マイクロバブル(MB), 経頭蓋超音波照射

わが国の死因の第2位を占める心臓疾患および第3位を占める脳血管障害のうち、5割以上を占めるのは心筋梗塞や脳梗塞の虚血性疾患である。いずれも救急的救済を要する病態変化の急激なものである。そのため、direct PTCAのようなintervention技術が心筋梗塞では広く使われている。しかし、脳血管系の場合は血管走行が複雑で、蛇行が激しいため、いまだにintervention技術は限定的であり、発症3時間以内の急性期では血栓溶解剤rt-PA(recombinant tissue plasminogen activator)の静注療法が治療の第一選択とされている。とりわけ脳細胞では虚血に対する耐性が心筋細胞よりも低いため、根治的なangioplasty手法ではないが、救急現場ではt-PA静注療法が適用されている。もちろん心筋梗塞の場合でも、アメリカのような広大な地で、PTCAのできる専門病院まで

距離がある場合は、t-PA静注療法が応急的に使用される確率は低くない。そして、いずれの梗塞も細胞死を回避するために、再開通が早ければ早いほど予後が良好であることは周知であろう。

この時間勝負という意味で、血栓溶解剤投与とともに、超音波照射を併用することで、その薬効を高め、再開通までの時間短縮、再開通率の向上、さらには副作用のある血栓溶解剤の用量低減化を狙う薬物併用超音波治療法の代表例のひとつが超音波血栓溶解法である。本稿では血栓への薬物浸透を高める超音波治療の現況と、脳血栓に対する近未来的新治療法の展望を述べる。

### 超音波血栓溶解法のメカニズム

血栓溶解剤の効果増強に超音波が有効であることを示したのは、立花らや古幡らによる*in vivo*実

験が最初であった<sup>1)</sup>。立花らはラット下肢末梢塞栓モデルを作成し、これにウロキナーゼを静注しながら同下肢を超音波洗浄機に浸すことで、再開通率の向上の生じることを示した。一方、著者らは彼らとはまったく独立にイヌ両側股動脈に対し同末梢からバルーンカテーテル(PTCA 用)を挿入し、擦過による内皮損傷を与え、抜去後2時間血流途絶して塞栓を形成させた。これを用い、TPA 静注下に一側にのみ超音波(200KHz 連続波)を照射する実験を行った。その結果は、再開通時間が t-PA 投与で超音波非照射群では 60~70 分であったものが、超音波併用群では 15 分程度に短縮するというものであった<sup>2,3)</sup>(図 1)。さらに、イヌ心筋梗塞モデルにおいても、同様の超音波条件で血流再開通の早まることを示した<sup>4)</sup>。日本におけるこのような成果に刺激され、欧米でも超音波併用法の有効性を探る研究が勃興し、数多くの論文が発表されてきた。

そして今日、そのメカニズムとしては図 2 のようなものが考えられている。すなわち、超音波のもつ 5 つの作用(バブル発生、キャビテーション、発熱、振動、流動)のなかで、微小振動と流動がおもな作用であることが認められている。分子レベルでみたときの粒子速度とその微小流動が t-PA の血栓表面に触れさせる確率を高め、血栓内への浸透を補助し、また、血栓の分解産物(FDP)を血栓外へ流出させる作用が中心である。

注目すべきことは、HIFU などのように、数 kW/cm<sup>2</sup> という強力超音波を連続波あるいはバースト波によって焦点化することでもたらされるキャビテーションによるバブル発生、また強力な発熱作用による細胞破壊や壊死・凝固などの作用をまったく用いていない点である。また、マイクロバブル(MB)併用によって局所的な HIFU 効果を惹起する数 W/cm<sup>2</sup>~数十 W/cm<sup>2</sup> の mild HIFU(MIFU と略)よりもさらに弱い強度でも有効な作用(low intensity focused ultrasound: LIFU, または low intensity low frequency defocused ultrasound: L<sup>2</sup>DFU)を活用する点である。

### 診断用超音波で血栓溶解は加速するか

上述のように弱い強度の超音波でも有効である

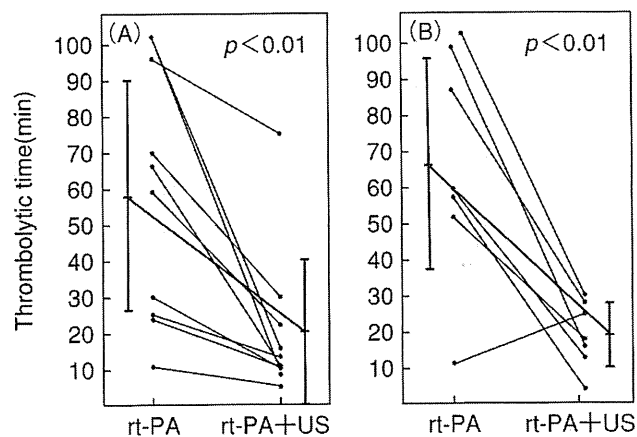


図 1 超音波照射は血流再開通時間を1/4に短縮させる(イヌ股動脈塞栓実験)

A: 経皮的照射例<sup>3)</sup>, B: 直接照射例<sup>2)</sup>。

というのであれば、診断用の超音波でも有効なのではないかと考えられる。事実、脳梗塞患者で t-PA 治療中に、その再開通状態を実時間監視する目的で、transcranial doppler(TCD; 2 MHz, パルス法, ドプラ法, 断層画像なし<sup>5)</sup>)でモニターしていると、モニターされている患者の再開通率のほうが高いことを Alexandrov が発見した<sup>6)</sup>。そして国際治験として t-PA 静注療法と、同法に TCD を適用する方法とを比較した結果を、『N. Engl. J. Med.』に発表した。同治験は CLOTBUST と名づけられており、その結果は 2 時間後の再開通が約 30% のものが、併用法では 39% に上昇し、3 カ月後の神経症状[mRS, 0 または 1 (ほとんど通常的生活レベル)]は約 11% 上昇するというものであった(図 3-A)。この再開通率の向上はカラードプラ療法でも確認されている。Eggers らは、再開通は 20 分、あるいは 40 分で急上昇し、その急速な再開通が神経予後の評価(mRS, 0 または 1)23% を超え、著しい改善を認めたことを報告している<sup>7)</sup>(図 3-B)。ただし、出血率が 15.7% あり、この値は t-PA 静注法の 5~6% の 3 倍相当の副作用増加を意味している。このリスクの予防法に関してはいまだ明らかになっていない。

### マイクロバブル併用法はさらに溶解効率を高める

上述の TCD による US 照射に加え、MB を静注すると、急性脳梗塞患者における t-PA 静注療法の再開通率をいっそう高めるといふ臨床成績を

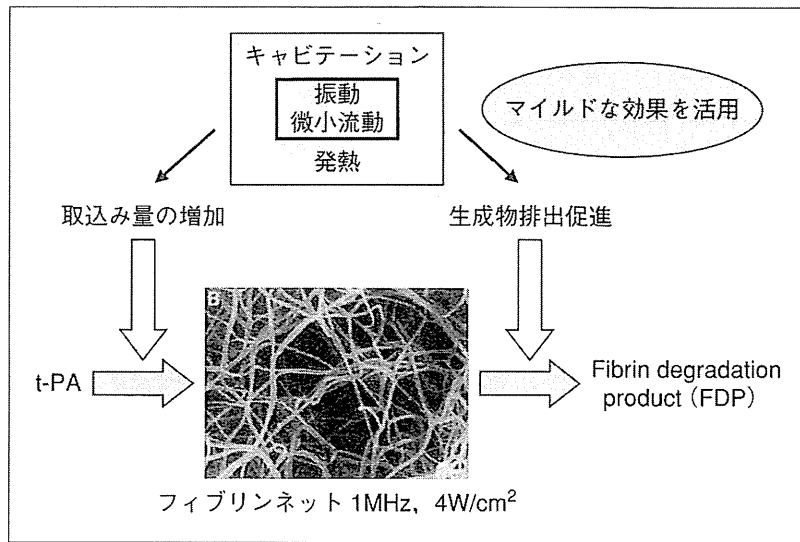


図 2 超音波併用血栓溶解のメカニズム

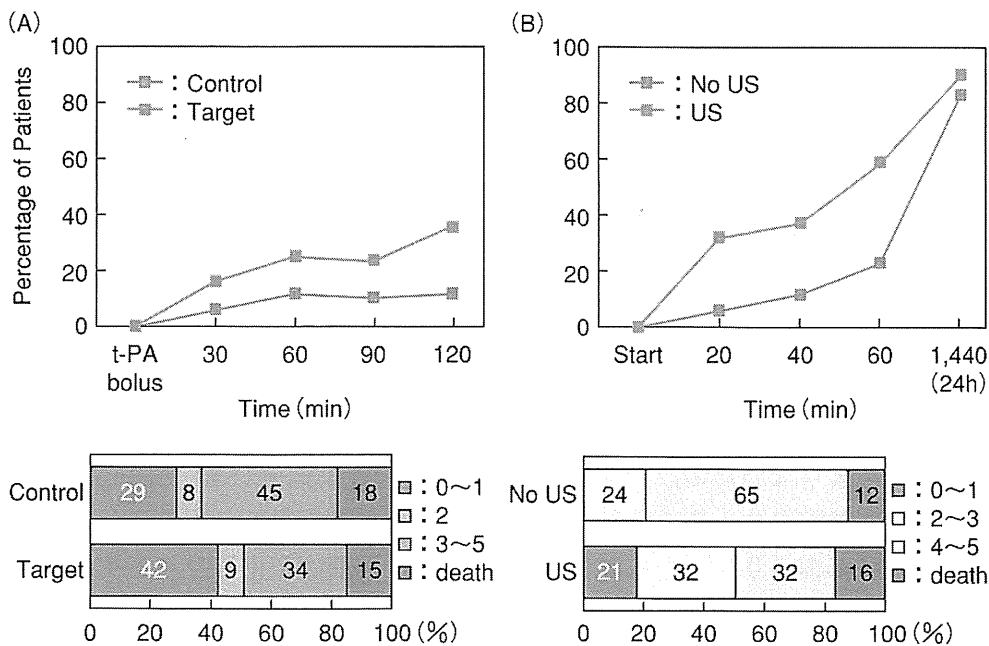


図 3 US診断装置を用いる脳血栓溶解治療  
A: TCD<sup>6)</sup>, B: TC-CFI<sup>7)</sup>.

Molina らが報告している<sup>8)</sup>。使用 MB は sonovue で、ヨーロッパでは臨床適用承認が得られているが、アメリカや日本では承認されていない。彼らの方法は TCD による US 照射中に、15 分間隔で MB を静注するというもので、TCD は再開通血流監視を同時に行うために活用されている。Molina らの成績は、MB を用いると完全再開通率は 41% から 54% に増加したが、部分再開通率を含めれば全体としては MB を用いることによる増加は認められないというものであった。換言すれば部分再開通状態が減るということで、MB を用いれば再

開通状態は良好になると示唆されよう。

しかし、MB と US を併用することが安全な血栓溶解法になりうるかということ、臨床成績は良好であったがかならずしもつねに安全とはいえないリスクを示唆する次のような臨床成績のあることも追記しておかねばならない。

MB として Imarex 社の MB185 を使用した場合、適用した脳梗塞患者に出血死が生じ、同治験 TUCSON trial が一時中断となった。その出血の理由は血圧制御に問題があったからと報告されている。現状では TUCSON trial がヨーロッパ中心に継

続されており、その臨床試験のまとめが待たれている。

## 標的治療への展開

### —血栓集束ビームと血栓標的BL薬剤<sup>9,10)</sup>

血栓溶解剤 t-PA は血栓親和性の高い薬物として、UK などの溶解剤を越えた発展を遂げてきた。しかし、さらに血栓選択性のよい治療法として超音波ビームを血栓に集束的に当てる方法や、前述のバブルリポソーム(BL)の表面に、血栓に集結しやすい RGD をつけた BL をもって BL の集積度を高める技術開発が行われている。ここでは世界的にも注目されている著者らの取組みを紹介する。

#### 1. 診断画像誘導型超音波標的システム

これは超音波断層像に従って塞栓部位に向けて治療用の超音波ビームを発射するシステムで、t-PA の血栓内への浸透と FDP の血栓外への放出を加速する新システムである。とくに急性脳梗塞では虚血に対する脳細胞が脆弱であるため、このシステムの適用意義が高く、その実用化研究が著者らによって推進されてきている。ただし、頭蓋骨を通りやすく、低出力でも引き裂き張力の大きな中周波数帯(100kHz~1 MHz)に関する医学生物学的な安全性データがあまりないため、安全性に関する基礎研究が非常に重視され、その基礎データのしかも脳虚血下での影響、リスクを事前検討することが求められている。

すでに、さまざまな動物モデル(脳塞栓モデルや高血圧ラット、さらには霊長類脳梗塞モデル)による安全性評価がこの周波数帯で行われ、臨床適用への地ならしが進められている。しかし、この断層像(2 MHz)を経頭蓋的に得る確率が高齢者では低く、約 60%程度になり、塞栓部を描出することが困難なことが多い。そのためこの方式の患者への適用確率は t-PA 適応患者の約半分以下となる。さらに、患者の体動などによって頭部へのプローブ固定状態が変われば、そのつど設定し直さなければならない、という臨床現場での使用上の問題を含んでいる。そのような問題の解決策として著者らは張り付け型の振動子をあらたに開発中である<sup>11)</sup>。しかし、張り付け型振動子では標的性

を失うことになる。つまり臨床現場での操作の簡便性を実現することが、一方では標的性の欠落という課題を招いている。

#### 2. 血栓選択的BLの開発

それでは溶解率を高める BL に血栓選択性を高め、これに無指向性の適切な US ビームを照射すれば標的性が維持されることになろう。丸山らが開発した BL に血小板固有のリガンドを付与した BL 開発が、現在あらたに進められている。すでに *in vitro* 実験で RGD つき BL の有効性を確認し、さらに *in vivo* ラット頸動脈血栓モデルでも同 BL の集積率向上を確認している。この標的性と上述の無指向性 US 振動子を併用することで、標的治療への道が開かれるのではないかと期待される。

## 安全性の検討が課題

いままでの経頭蓋超音波血栓溶解療法をはじめとする。超音波血栓溶解療法はその有効性を強力に示唆するものであった。しかし、実際の臨床適応では診断用超音波装置を用いても、Eggers らの報告にみるように、出血率が増すというあらたな問題を招来していることも事実である。さらには 300kHz の中周波数を用いた経頭蓋超音波血栓溶解法の臨床試験(TRUMBI-phase II)では 90%を超す出血率を招き、そのうち 1 例は死亡し、結果的に同試験は中止となった<sup>12)</sup>という報告がある。しかもその症例中には梗塞領域内での出血ではなく、くも膜下出血や梗塞領域外の出血などがあり、t-PA 固有の問題とは考えにくい超音波由来の障害性が指摘されている。

このような事実を踏まえ、中周波数帯超音波の臨床適応ではとくに、①音響学的安全性の検討、また、②医学生物学的安全性の検討を根本的に見直すことが要求されている。この 2 つの課題に対し内外の研究者が挑戦しさまざまに有益な結論を導いている。著者らはいち早くこの問題を解明して基本データを提供しているのも、その一端を紹介しておく。

#### 1. 音響学的安全性の視点から

TRUMBI 試験の失敗は、頭蓋骨内で生じる音場の状態を十分理解していないことによって生じた

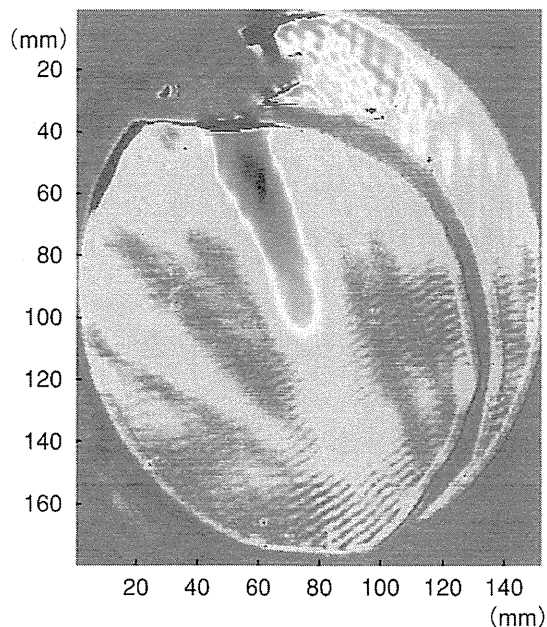


図 4 頭蓋内での多重反射と定在波の発生

と考えられる。中周波数超音波は減衰率が低く、頭蓋骨内で何度も反射を繰り返す。したがって、投入された超音波と反対側の頭蓋骨内面で反射された超音波が重なり合うことも、また思わぬところで(梗塞領域外で)多重反射したりビームが重なり合ったりすると考えられる(図 4)。

この重なりは音圧を増高させ、しかも空間的に同一の場所の局所音圧を高め続けることとなり、局所の高温度化、あるいはキャビテーションを発生させることとなる。その結果、脳細胞や血液脳関門(BBB)の損傷を惹起させ出血を誘発することに結びつく。この超音波ビームのつくりだす頭蓋内音場の状態は梗塞領域などにかかわりなく、どこにでも生じ、とくに頭蓋骨内面近くでは強い定在波が生じ<sup>13,14)</sup>、くも膜下出血などに結びつくものと考えられる。

TRUMBI 治験失敗のもうひとつの大きな原因は、バースト波を十分理解しないで使用したことにある。バースト波は短い時間超音波を発射するが、その後は休止するという繰返し照射法である。その平均音圧(1 周期全体の平均値)を弱く設定しても、300KHz の超音波を発射している時間の間で1 周期分のエネルギーを放射することとなり、パルス発射時間が短ければ短いほどその間の強度は高いものとなる。TRUMBI の場合は平均強度  $0.7\text{W}/\text{cm}^2$  であったが、300KHz の超音波の出てい

るときは  $14\text{W}/\text{cm}^2$  で、さらに円形状の振動子の形状では中心で  $28\text{W}/\text{cm}^2$  となっていると考えられる。さらに、その 300KHz の短い発射中の時間は 0.5 m 秒とたしかに短いですが、音速を約 1,500 m/sec と考えると、この発射時間の間、0.75 m、すなわち頭蓋骨内を 75 cm も進むこととなり、すくなくとも 3 回~4 回は頭蓋内で反射していたことになる。  $28\text{W}/\text{cm}^2$  が倍の  $56\text{W}/\text{cm}^2$  あるいは 3 倍の  $84\text{W}/\text{cm}^2$  になる瞬間があり、それも上述のように頭蓋内の同一部位に繰返し発生していたものと考えられる。水中では約  $1\text{W}/\text{cm}^2$  でキャビテーションが発生するので、数十  $\text{W}/\text{cm}^2$  という強い超音波強度ではキャビテーションを局所に発生させ、細胞破壊、BBB 破綻が生じるのもいわば必然であったと考えることができる。

こうした頭蓋内音場を踏まえた安全な波形(パルス、バースト波、連続波)、周波数、強度、そして照射時間を考慮した安全性の探索を行い、最適化を図ることが必須である。

## 2. 医学生物学的安全性の視点から

急性虚血性脳卒中(AIS)患者の脳組織は塞栓されているために十分な酸素補給が行えず、きわめて苦しい酸欠状態にある。そのような状態の脳組織に超音波を照射した場合の安全性については十分に検討されていない。とくに中周波数帯の超音波の作用は未検討である。またさらに、t-PA 自体が BBB に対する毒性を有しており、虚血後の再灌流状態(虚血中の微小血流で末梢側へ流れる場合も含め)では、BBB の破綻による出血を招来しやすくしている。そのような危険な状態下にある BBB に超音波が安全かどうか、出血率を高めないかどうかはかならずしも明らかではなかった。またさらに AIS 患者は、その背景リスクとして高血圧や、脳動脈硬化の亢進状態があげられる。そのようなリスク因子に対し中周波数超音波はどのように影響を与えることになるのか、十分に検討された報告はなかった。

著者らは AIS 状態の高血圧自然発症ラット(SHR)やさらに脳卒中易発症ラット(SHR/SP)の高週齢を用いた病理組織学的・免疫化学的検討を行い、つぎのような結果を得ている。すなわち、強度では  $0.3\text{W}/\text{cm}^2$  以下、波形は連続波、照射はイ

インターミットtent法(2分照射, 30秒休止)であれば, 60分照射しつづけてもAIS患者の脳は安全に保たれる, という条件を見出している。

## 次世代経頭蓋脳血栓溶解法への道標として

上述までの現状と次世代に向けた基礎研究の成果を踏まえると, AIS患者に対する超音波脳血栓溶解法への期待が膨らんでこよう。ここに著者らの研究状況と世界の動向に鑑みた, 次世代治療のひとつのイメージを述べておきたい。

### 1. 頭部貼付型US振動子<sup>15)</sup>

救急救命的現場を想定すると, 医師, 看護師, 技師などへの負担の少ない治療法が求められる。これは, 初期治療開始時には15分間隔で神経症状評価をしなければならない現状を考え合わせれば必須の要件である。この現場の要求を満足させるには患者体動に影響されにくい形, すなわち患者の体動とともに動くことのできる患者頭部への貼付型振動子が有効と考えられる。すでにその着想の一部が公表されているのも<sup>11)</sup>, その技術的実現性が見通しが得られつつあるからである。すくなくとも柔軟性素材であるPVDF(ポリフッ化ビニルデン)を用い, 周波数を診断用USの下限近くに設定できれば, 実用化の道は開かれる(図5)。

ただし, 技術的可能性は安全性の確保と有効性向上に担保されねばならないので, その検討が今後の課題となろう。現在の形では血流再開通状態を監視する能力がないこと, また血栓塞栓部に対する標的性のないことが大きな問題となる可能性を含んでいる。

### 2. 標的照射可能な方式

虚血下の脳細胞に不要な超音波を照射することは極力避けねばならない。血栓標的性については, USビーム集束性と併用薬剤の血栓選択性をもって実現しようとする基礎検討内容を前述した。後者の血栓選択的なRGD-BLとt-PA結合法の課題は近々実現されるものとして, 丸山らの研究に期待するところ大なるものがある。問題はその製造であり, リポソームメーカー自体が国内にないからである。アメリカからの輸入になるかもしれないが, その実現性には期待が寄せられる。

前者のUSビーム集束性に関してはHIFUを用

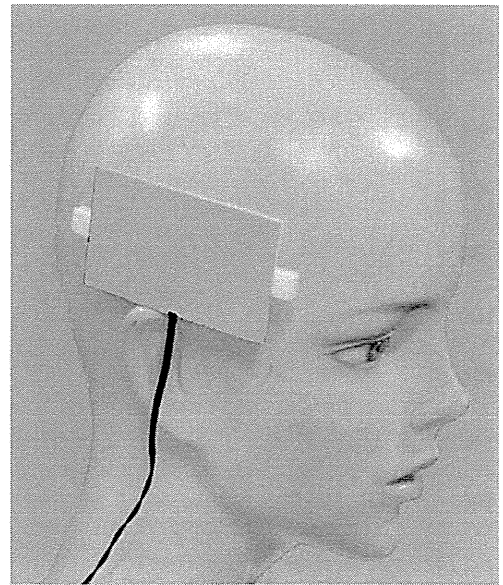


図5 PVFによる貼付型振動子の例

い, かつ頭蓋骨の形状や厚さを考慮することで標的性は維持される。すなわち, XCT像をもとに頭蓋骨の情報を得, それを踏まえた超音波ビームが発射できれば, 血栓標的が実現可能ではないかと考えられる。それゆえ, XCT補正を念頭においたHIFUやMIFUの研究が欧米で進展しているのも事実で, おおいに期待される。

### 3. 高度な安全性確保

脳は霊長類を霊長類たらしめるもっとも重要な臓器であるがゆえに, その一部損傷が大きな医学的・社会的問題となることは当然であろう。したがって, 超音波伝搬経路内の脳組織の安全性確保はきわめて重大な課題である。虚血脳を守るはずの治療が副作用で脳に障害を惹起するなどということは論外である。

この観点から, 次世代治療技術は病的脳に対する安全確保と, しかるべき安全性に関する基礎データを有するものでなければならない。脳は, 循環と代謝という生化学的活動, 脳生理学的な神経伝達, さらに高次脳機能・精神活動へと連動する大組織である。その根底をなすライフライン救済が重要であることは当然であるが, その救済的治療技術が生命という, 複雑精緻な代謝, 神経活動, 精神活動などに悪影響を与えることがあってはならない。

その意味で, 超音波脳血栓溶解法は脳について多くの安全性情報を得ることによって他の各種超

音波脳治療法に関する礎を築くという研究課題をも含んでいる。この方面の Regulatory Science としての基礎データをいまこそ蓄積すべき段階ではないかと考えられる。

## おわりに

本稿では、経頭蓋超音波脳血栓溶解法の次世代の展開の可能性を述べた。超音波治療技術としては脳神経系への DDS 制御や遺伝子治療<sup>16)</sup>などの展開がさまざま考えられ、ここでは割愛したが、すでに著者もその成果の一部を報告している。近い将来、神経保護、神経蘇生、再生、機能補助、さらには精神活動制御にも超音波が活用されるのではないかと想像するのは、愚かな夢物語であろうか。脳の不老化、脳死の回避などに関する基礎的研究と手を組んだ超音波新治療技術に、若い方々の参加を願わずにはいられない。

## 文献

- 1) 立花俊郎, 古賀悦子: ウロキナーゼのブースターとしての超音波応用. *血液と脈管*, **12**: 450-453, 1981.
- 2) Kudo, S.: Thrombolysis with ultrasound effect. *Tokyo Jikeikai Medical Journal*, **101**: 1005-1012, 1989.
- 3) 浜野研司: 経皮的超音波照射併用による血栓溶解療法の有用性に関する研究. *東京慈恵会医科大学雑誌*, **106**: 533-542, 1991.
- 4) 関口博仁: 超音波照射併用による新しい血栓溶解療法. *東京慈恵会医科大学雑誌*, **109**: 863-871, 1994.
- 5) Aaslid, R. et al.: Noninvasive transcranial Doppler ultrasound recording of flow velocity in basal cere-

- bral arteries. *J. Neurosurg.*, **57**: 769-774, 1982.
- 6) Alexandrov, A. V. et al.: Ultrasound-enhanced systemic thrombolysis for acute ischemic stroke. *N. Engl. J. Med.*, **351**: 2170-2178, 2004.
- 7) Eggers, J. et al.: Sonothrombolysis with transcranial color-coded sonography and recombinant tissue-type plasminogen activator in acute middle cerebral artery main stem occlusion: Results from a randomized study. *Stroke*, **39**: 1470-1475, 2008.
- 8) Carlos, A. et al.: Microbubble administration accelerates clot lysis during continuous 2-MHz ultrasound monitoring in stroke patients treated with intravenous tissue plasminogen activator. *Stroke*, **34**: 425-429, 2006.
- 9) 古幡 博: 医用画像ハンドブック. オーム社, 2010, pp.1158-1168.
- 10) 古幡 博: 超音波による血栓溶解. *最新医学*, **63**: 92-104, 2008.
- 11) 佐口隆之・他: 超音波による血栓溶解. *日本内科学会雑誌*, **98**: 1320-1324, 2009.
- 12) Daffertshofer, M. et al.: Transcranial low-frequency ultrasound-mediated thrombolysis in brain ischemia: increased risk of hemorrhage with combined ultrasound and tissue plasminogen activator: results of a phase II clinical trial. *Stroke*, **36**: 1441-1446, 2005.
- 13) Baron, C. et al.: Simulation of intracranial acoustic fields in clinical trials of sonothrombolysis. *Ultrasound Med. Biol.*, **35**: 1148-1158, 2009.
- 14) Azuma, T. et al.: Bubble generation by standing wave in water surrounded by cranium with transcranial ultrasonic beam. *Jpn. J. Appl. Phys.*, **44**: 4625-4630, 2005.
- 15) Saguchi, T. et al.: Effective and safe conditions of low-frequency transcranial ultrasonic thrombolysis for acute ischemic stroke: neurologic and histologic evaluation in a rat middle cerebral artery stroke model. *Stroke*, **39**: 1007-1011, 2008.
- 16) Manome, Y. et al.: Application of therapeutic insonation to malignant glioma cells and facilitation by echo-contrast microbubbles of levovist. *Anticancer Res.*, **29**: 235-242, 2009.

\* \* \*

