

2012/2024A

厚生労働科学研究費補助金

医療機器開発推進研究事業

急性脳梗塞治療加速のための薬物超音波併用
次世代普及型低侵襲システムの開発

平成24年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 小川 武希

平成25（2013）年 5月

目 次

I. 総括研究報告

急性脳梗塞治療加速のための薬物超音波併用 次世代普及型低侵襲システムの開発 -----	1
小川 武希	

II. 分担研究報告

1. 超音波駆動条件の最適化と頭蓋骨透過性の測定 -----	6
小川 武希、井口 保之、横山 昌幸 金本 光一、福田 隆浩、齋藤 理	
2. 超音波血栓溶解促進を定量的に迅速に測定するシステムの開発 -----	18
小川 武希、井口 保之、三村 秀毅 羽野 寛、横山 昌幸、幸 敏志 王 作軍	
3. ラット急性脳梗塞モデルによるバブルリポソームの 有効性安全性評価 -----	25
丸山 一雄、澤口 能一	
4. 超音波血栓溶解補助医療機器の製品化 -----	30
川島 裕幸	
5. 低侵襲的低周波超音波脳血栓溶解法の臨床導入に向けて： rt-PA静注療法の治療開始可能時間延長に伴う 予測増加症例数に関する検討 -----	39
古賀 政利、鈴木理恵子、大山 賢、徳永 敬介 山本 晴子、峰松 一夫	
6. 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 -----	42
大山 賢、古賀 政利、鈴木理恵子、徳永 敬介 坂本 悠記、山本 晴子、峰松 一夫	
7. 経頭蓋カラードプラ法における 探触子頭部固定具の改良 -----	46
大山 賢、古賀 政利、鈴木理恵子、徳永 敬介 坂本 悠記、山本 晴子、峰松 一夫	

III. 研究成果の刊行に関する一覧表 -----	48
---------------------------	----

IV. 研究成果の刊行物・別刷 -----	51
-----------------------	----

急性脳梗塞治療加速のための薬物超音波併用
次世代普及型低侵襲システムの開発

研究代表者 小川 武希 東京慈恵会医科大学 教授

研究要旨 急性期脳梗塞に対して唯一の強く勧められる治療法として行われているのがrt-PA静注療法である。本研究はこのrt-PA療法の効果と安全性を飛躍的に高めるための超音波照射併用療法を開発する。この開発は、中周波数超音波照射、定在波抑制、ソフトな貼付型超音波振動子、経頭蓋カラードブラ頭部固定具、バブルリポソームの技術を組み合わせることで、より効果が高く安全な血栓溶解療法を確立する。さらに、臨床のヒストリカルデータを精密に収集・解析することで、より少人数での短期間の臨床試験を可能とする。研究初年度の平成24年は各要素技術、解析の基礎部分を構築した。予定通りの成果が得られたものと考えられる。

A. 研究目的

本研究の目的は、貼付型振動子を用いる新規超音波併用rt-PA脳血栓溶解技術開発である。

急性期脳梗塞は、本邦死因の第4位を占める脳血管障害の6~7割を占め、かつ要介護老人の4割を占める。年間約20万人近い急性期脳梗塞発症患者に対し、唯一の強く勧められる(グレードA)治療法として行われているのは組織プラスミノゲンアクチベーター(rt-PA)の静注療法である。この療法によって、図1に示す様に予後は有意に改善する。(アメリカのNINDSテストにより、rt-PA非治療群に対して予後の障害の程度が低くなっている。日本においても、J-MARSテストで投与量をNINDSテストによりも減少させても、NINDSと同様な良好な予後の結果を得ている。)



図1 rt-PA療法の臨床効果

しかし、投与患者の4~7%に起こる脳出血の危険のため、rt-PA療法の適用には発症からの経過時間、年齢などの厳しい制限があり、救急対応の急性期脳梗塞患者の約2~5%にrt-PA静注療法が適用されるにとどまっている。また、その予後改善の程度をもっと高めることが強く望まれている。日本で

は、昨年の2012年9月にrt-PAの治療ウィンドウ(発症から投与までに許される時間)が、従来の3時間から4時間半に延長され、rt-PA療法による急性期脳梗塞治療の効果を日本全国に広める基盤が整い、医療側の機運が非常に高まっているのが現在であると言えよう。

rt-PA静注療法の治療効果と安全性を高める方法として本研究で実施するのは、超音波照射とrt-PAの併用療法である。脳梗塞塞栓部位に経頭蓋的に超音波照射することで、rt-PA分子の血栓のフィブリン網目の浸透を促進し、より迅速な、より広範囲な血栓溶解を実現する。また、超音波照射によってrt-PA分子の活性を高めることになるので、その投与量を減少させることが可能となり、その結果、出血の危険性を減少させてrt-PA治療の安全性を高める可能性もある。

超音波照射+rt-PA静注療法併用療法は、これまでに表1に示す2つの代表的な臨床試験が行われたが、いずれも成功・認可には到っていない。

表1 過去に行われた超音波照射・rt-PA併用療法の臨床試験

1. CLOTBUST 試験(2004年) 2MHzの超音波
・血流再開率の有意な増加は得られたが、3ヶ月後の臨床症状では有意な改善が見られなかった (P=0.20)
2. TRUMBI 試験(2005年) 300kHzの超音波
・症候性出血が36%発生して、試験中止

その不成功の理由として考えられるのは、CLOTBUST試験の場合には、用いた超音波の周波数が高く、高周波数のため頭蓋骨によ

る超音波の減衰が大きいことが挙げられ、TRUMBI試験の場合には、機械的細胞障害作用が大きな低周波数の超音波でのキャビテーション作用と定在波の発生のために予想以上の組織障害を生じたことと考えられている。

以上の過去の臨床試験から抽出される教訓は以下の2つである。

- 1, 照射超音波の周波数選択が重要であること
- 2, 新たに臨床試験を行うためには、定在波問題を克服するための技術開発が必須となること

以上のような背景の中で本研究が開発するのは、中周波数超音波を用いて血栓溶解の効果を高め、脳出血に対する安全性が高い超音波rt-PA血栓溶解促進治療法である。さらに新たに貼付型ソフト超音波振動子(PSUST)を開発することによって、高度な手技を要せず適切な超音波照射を可能とすることで、この療法の広範な普及を実現する。一方、臨床サイドでは、臨床試験の際に必須となる急性期脳梗塞のヒストリカルデータの臨床的蓄積を行なう。特に、rt-PA血栓溶解療法の経過観察には血流再開通を経時的に観察することが重要となるので、経頭蓋カラードプラ法観察を容易にする頭部固定具の開発も推進する。さらに、次世代の技術としてバブルリポソームによる超音波照射効果の増強技術開発も合わせて研究する。

表2 本研究が開発する超音波rt-PA血栓溶解療法の特長

- | |
|--------------------------------|
| (1)効果と安全性に優れた500kHzの中周波数超音波を使用 |
| (2)定在波回避技術を開発 |
| (3)ソフトな貼付型超音波振動子による簡便な装着 |
| (4)豊富な臨床データに基づいた治療プロトコル作製 |
| (5)バブルリポソーム投与による更なる加速効果 |

これらの特長を順番にここで解説する。

(1) 500kHzの中周波数超音波を使用

照射超音波の周波数が低いほど、rt-PA分子の浸透性増加に寄与する機械作用は高くなるが、同時に細胞や組織への障害作用も高まってゆく。一方、周波数が高いほど細胞・組織障害の副作用は小さくなるが、発熱作用による副作用は大きな

る。また、高周波数ほど頭蓋骨や脳組織の透過性が低く、十分な超音波強度を脳梗塞部位に到達させるためには、より大きな超音波強度を加える必要があり、そのため発熱による副作用のリスクもより高まる。

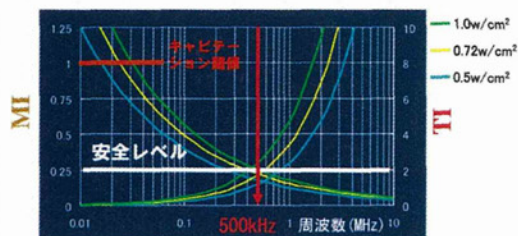


図2 超音波周波数と機械作用、発熱作用との関係

図2に超音波周波数と機械作用(Mechanical Index: MI)及発熱作用(Thermal Index: TI)の関係を示した。MIとTIをどのレベルで安全・治療に最適と見なすかは、必ずしも一致した見解はないが、図2の白線のように設定した場合には、500kHzが最も安全に超音波照射できる周波数となる。本研究においては他の周波数と比較した場合の特性に注意を払いつつ、500kHzを用いた超音波照射を行うことに本研究の独自性と優れた点がある。

(2) 定在波回避技術を開発

定在波とは、反射した超音波が干渉することで、波形が進行せず一定の場所で振動しているように見える波動である。この定在波の強度が高まった部位で組織障害が発生する懸念がある。前述したTRUMBI試験での予想を遙かに上まわる高頻度の脳出血の原因が定在波であると臨床試験で確定することは不可能であるが、その強い疑いがある限り、新たな臨床試験実施には、定在波抑制技術が必須のこととなるのは疑いないところである。

(3) ソフトな貼付型超音波振動子

本研究が対象とする急性期脳梗塞は救急搬送で病院に到着する患者が主たる対象となるので、急性期脳梗塞に対しての経験と技術が豊富は医療スタッフが常に対

処できるとは限らない。よって、より簡便にかつ確実に有効な超音波照射を実施できるデバイス開発は、この医療技術をより広範囲に普及させるためには最重要と言える。特に、患者の体動に対する適応性を超音波デバイスに付与することが鍵となる。本研究で開発する貼付型ソフト超音波振動子 (PSUST) は、高度な超音波操作手技を要さず、rt-PA静注と同時に側頭部表面に貼付するだけで、血栓溶解加速が実現するという、極めて簡便かつ有効な医療機器となる。

(4) 豊富な臨床データに基づいた治療プロトコル作製

臨床試験において有効性を実証する最も望ましい方法はランダムスクリーニングによるcontrol群との比較である。しかし、この方法には医療倫理問題がつきまとう。急性期脳梗塞治療においては、患者あるいは家族に、短時間でランダムスクリーニングの複雑な仕組みを理解して承認いただくことは難しい。また、急性期脳梗塞臨床試験に適合する患者の数は救急設備の整った大病院でも決して多くなく、2群に分けての臨床試験の実施にはとても長い時間が必要となる。対して、比較群を含まない臨床試験では以上述べた難点が相当に解消される。しかし、コントロール群として過去の臨床データを用いてそれとの比較をすることになるために、精密なヒストリカルデータ収集が重要となる。本研究では、臨床試験実施予定の国立循環器病研究センターにおいて、このデータ収集を行うと共に、それを用いた臨床試験のプロトコルを作製する。

また、急性期脳梗塞治療のエンドポイントは神経症状の予後改善である。しかし、神経症状の予後には、血栓溶解以外の様々な要因が複雑に絡みあうために、有意差を得るには多くの患者数が必要となる。これに対し、rt-PAの血栓溶解作用の最も直接的な臨床観察事項は、血流の再開通である。いつ、どの程度血流が再開されたかが正確に評価できれば、エンドポイントである神経症状の予後改善が実証される前に、より少ない患者数で超音

波照射による血栓溶解促進を証明可能であり、新しい医療技術の早期の認可に寄与することができる。本研究においては、経頭蓋カラードブラ (TCCS) によって脳血流再開通を経時的に観察することで、目的とするデータ収集を行う。しかし、従来のTCCS装置では脳血流が観測可能な位置と角度に長時間固定することは不可能であった。今回、同装置のプローブを頭部に容易に確実に固定する用具を開発することで、目的とする経時的脳血流観察を実現する。

(5) バブルリポソーム投与によるさらなる血栓溶解促進

超音波照射によるrt-PA血栓溶解促進をさらに高めるべく、マイクロバブルを投与する研究・開発がなされている。マイクロバブルは血栓近傍で超音波照射によって振動及び破裂によってrt-PAの血栓網目構造への浸透を亢進させる。従来この目的に用いられるマイクロバブルは、超音波造影剤である直径3 μm 程度のミクロンサイズのエマルジョンである。当然、このサイズが小さくなればなるほど、血栓部位へのアクセス、および血栓網目構造内へ侵入が容易となる。しかしながら、従来、超音波に応答するパーフルオロプロパンを、ミクロン以下のサイズの粒子に封入する技術は存在しなかった。本研究の分担研究者である丸山一雄は、封入するキャリアーをリポソームとすることで、パーフルオロプロパンを封入したナノサイズのナノバブルを得ることに成功した。本研究では、超音波照射、rt-PA投与、ナノバブル投与の3つの併用技術を次世代の脳梗塞血栓溶解医療技術として研究する。すなわち、本研究で開発する超音波照射とrt-PA投与の二元の併用技術が認可された後に、さらにその効果を高める医療技術としての研究である。現時点ではバブルリポソーム開発研究は、将来に超音波rt-PA併用療法とバブルリポソーム併用を見据えて研究段階からの多面的評価を重ねる。

B. 研究方法

本研究は大きく4つのグループに分け、表3に示すようにそれぞれの役割を分担している。

表3 研究組織の構成

1. 東京慈恵会医科大学：超音波の効果と安全性
井口保之、小川武希、横山昌幸、福田隆浩、三村秀毅、幸 敏志（田辺三菱製薬（株））
2. 帝京大学：バブルリポソーム
丸山一雄
3. (株)カネカ：ソフト超音波振動子
川島裕幸
4. 国立循環器病センター：臨床研究プロトコル
峰松一夫、山本晴子、古賀政利

各グループの今年度の実施項目を以下の表4にまとめる。各々の項目の研究法は分担研究報告書に記す。

表4 平成24年度の実施項目

1. 超音波の効果と安全性
(1)超音波変調による定在波の抑制
(2)超音波頭蓋骨透過率測定
(3)in vitro血栓溶解作用の定量法
2. バブルリポソーム
(1)バブルリポソームの作製
(2)in vitro, in vivoでの血栓特異性の評価
3. ソフト超音波振動子
(1)ソフト振動子の作製
(2)頭蓋骨の透過性評価
4. 臨床研究プロトコル
(1)臨床体系構築
(2)ヒストリカルデータ収集
(3)経頭蓋カラードプラ用探触子固定具の開発

C. 研究結果

ここでは、表4に示した各項目の研究結果をごく短くまとめる。詳細は各分担研究報告書に記す。

1. 超音波の効果と安全性

(1)in vitro血栓溶解作用の定量法
牛血漿（PRP: Platelet-rich plasma）から作製した白色血栓に対して超音波照射のrt-PA血栓溶解作用を in vitroで定量的に測定するシステムを構築した。

(2)超音波変調による定在波の抑制

超音波変調を加えることで定在波の発生を顕著に抑制できることがわかった。

2. バブルリポソーム

(1)バブルリポソームの作製
目的とした血栓に対する特異リガンドを結合したバブルリポソームが作製された。

(2)in vitro, in vivoでの血栓特異性の評価

in vitro, in vivo両方で血栓特異的結合が確認された。

3. ソフト超音波振動子

(1)ソフト振動子の作製

目的とした振動子が作製された

(2)頭蓋骨の透過性評価

骨ファントムを用いて透過性を定量的に評価した。

4. 臨床研究プロトコル

(1)臨床体系構築

発症からの治療ウインドウが3時間から4時間半に延長されたことによる、rt-PA適用患者数解析を行った。

(2)ヒストリカルデータ収集

計画したヒストリカルデータを収集した。

(3)経頭蓋カラードプラ用探触子固定具の開発

試作品を第1号から第3号まで作製した。実用に値するものができたと考える。

D. 考察

各グループの要素技術を構築することに主眼を置いて行った平成24年度は計画通りに研究が進行した。次年度はこれらの技術を組み合わせて結果を得る段階に進行する予定である。

E. 結論

初年度の研究はほぼ計画通りに進行した。（達成度90%と考える）

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Miyamatsu N, Kimura K, Okamura T, Iguchi Y, Nakayama H, Toyota A, Watanabe M, Morimoto A, Morinaga M, Yamaguchi T., Effects of public education by television on knowledge of early stroke symptoms among a Japanese population aged 40 to 74 years: a controlled study. *Stroke*, 2012; 43: 545-549.
- 2) Shibazaki K, Kimura K, Fujii S, Sakai K, Iguchi Y., Brain natriuretic peptide levels as a predictor for new atrial fibrillation during hospitalization in patients with acute ischemic stroke. *Am. J. Cardiol.*, 2012;109:1303-1307.
- 3) Shimoyama T, Iguchi Y, Kimura K, Mitsumura H, Sengoku R, Kono Y, Morita M, Mochio S., Stroke patients with cerebral microbleeds on MRI scans have arteriolosclerosis as well as systemic atherosclerosis. *Hypertens. Res.*, 2012; 35: 975-959.
- 4) Kimura K, Aoki J, Sakamoto Y, Kobayashi K, Sakai K, Inoue T, Iguchi Y, Shibazaki K., Administration of edaravone, a free radical scavenger, during t-PA infusion can enhance early recanalization in acute stroke patients--a preliminary study. *J. Neurol. Sci.*, 2012; 313:132-6.
- 5) Shimoyama T, Shibazaki K, Kimura K, Uemura J, Shiromoto T, Watanabe M, Inoue T, Iguchi Y, Mochio S., Admission hyperglycemia causes infarct volume expansion in patients with ICA or MCA occlusion: Association of collateral grade on conventional angiography.

Eur. J. Neurol., 2012; 20: 109-16.

- 6) Iguchi Y, Kimura K, Sone K, Miura H, Endo H, Yamagata S, Koide H, Suzuki K, Kimura T, Sakurai M, Mishima N, Yoshii K, Fujisawa H, Ebisutani S, Stroke incidence and usage rate of thrombolysis in a Japanese urban city: the kurashiki stroke registry. *J. Stroke Cerebrovasc. Dis.*, 2013; 22: 349-57.

2. 学会発表

- 1) Iguchi Y. Neurosonological approach of Cryptogenic stroke. *Asian Pacific Stroke Conference 2012*. Tokyo. 2013年 11月
- 2) 井口保之. 脳卒中診療における脳神経脈管超音波の進歩. 第38回日本脳卒中学会総会. 東京. 2013年3月

G. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

厚生労働科学研究費補助金（医療機器開発推進研究事業）
分担研究報告書

超音波駆動条件の最適化と頭蓋骨透過性の測定

研究代表者	小川 武希	東京慈恵会医科大学	救急医学 教授
研究分担者	井口 保之	東京慈恵会医科大学	神経内科 教授
研究分担者	横山 昌幸	東京慈恵会医科大学	ME研究室 准教授
研究分担者	金本 光一	東京慈恵会医科大学	ME研究室 非常勤講師
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
研究協力者	齋藤 理	東京慈恵会医科大学	ME研究室 研究員

研究要旨 経頭蓋超音波血栓溶解治療においては、頭蓋内の超音波強度分布が血栓部で強く、その他の領域では弱いことが最適な照射条件である。そのためには、音響強度の強弱が半波長ごとに分布する定在波を抑制すること、振動子近傍の不均一場内のホット・コールドスポットを抑制すること、超音波の頭蓋骨透過率を定量的に測定し頭蓋内の血栓溶解に必要な強度を確保することが必要である。本研究は超音波血栓溶解法の安全性と効率性の向上に寄与するものである。

A. 研究目的

急性期脳梗塞治療法として超音波照射により血栓溶解効果を促進する方法は、DaffertshoferらによるTRUMBI trialにおいて多数の脳出血が生じたために危険視された。脳出血の原因として、古幡らは、頭蓋骨内壁で超音波が反射を繰り返し、幾重にも超音波が重なって局所的に超音波強度が強い所が生じ、そこで、脳出血が誘発されたと唱えた。そして、安全な超音波照射の為に定在波抑制の必要性を説き、定在波抑制を実現する方法として、新たな雑音変調駆動方式を提案した。本研究の第一の目的は、雑音変調駆動方式による定在波抑制効果を、シュリーレン装置を用いて超音波を可視化した画像に基づき評価することである。振動子近傍では音圧分布が3次元的に均一なものではなく、空間的に音圧の高い部位や低い部位が存在する。それ故、仮に無造作に超音波振動子を側頭部に貼付した場合、その3次元音場分布内に存在する中大脳動脈（MCA）が、その音圧の低い部位に存在した場合には超音波による血栓溶解効果が期待できない。このような空間的な音圧の低い領域をここでは「コールドスポット」と称することとする。このコールドスポット内にMCAが存在しないように臨床現場でプローブの貼付位置を調整することは困難である。それ故、このコールドスポットの生

じないように超音波の3次元音場分布の均一化を図ることを目的とする。ビームの3次元空間均一化を図る手法には、種々考案されるが、ここでは振動子の駆動電圧を雑音変調することによって均一化の目的を達成するようにした。すなわち、雑音変調によって空間的なコールドスポットの位置を常に移動させ、一定の場所に生じないようにしたと考えるもよい。逆に音圧の高いホットスポットも同様に空間的に消失させることができ、音場ビームを空間的に均一化させる結果となると期待される。

本研究の第二の目的は、この雑音変調方式による貼付型超音波振動子の形成する音場分布を実際に測定し、その均一性の程度を評価することである。その際、評価因子としては新たに均一化指標（Uniformity Index: UI）を定義する。これを以って音場分布を3次元的に評価し、その均一性を数値表示し、臨床現場での手技的簡便性を担保する指標とする。

一方、経頭蓋的超音波治療法においては、超音波が頭蓋骨を透過する際に大きく減衰する。その減衰率には個体差があり、また、同じ人でも側頭骨内の場所によって大きく異なり得る。治療器を開発する上での基礎データとして、頭蓋骨の透過率の定量的な測定が必要である。この測定によって、脳内で血栓溶解促進に必要な超音波強度と頭蓋骨透過率の二つから振動子が出力すべき超音波強度が定

められる。頭蓋骨の透過率に関しては、特に500kHzに関しては、過去に参考となる報告がない。そこで、本研究の第三の目的は、頭蓋骨の透過率の平均値を求めることである。本研究における超音波透過後の強度分布を計測する為の実験系は、水中に配置された骨片である。本実験で得られた透過率は超音波プローブ設計の基礎データとなる。

B. 研究方法

(1) 雑音変調方式による定在波抑制

定在波とは、波形が進行せず一定の場所で振動しているように見える波動のことである。定在波は、ある一方向に向かう進行波と、壁で反射した波とが重なりあうことによって発生する。音圧の時間的変動が大きいところは腹、小さい所は節と呼ばれる。この様子を、図1に示した。定在波を抑制するとは、腹と節を緩和し、時間的な平均音圧分布が空間的に滑らかになるようにすることである。

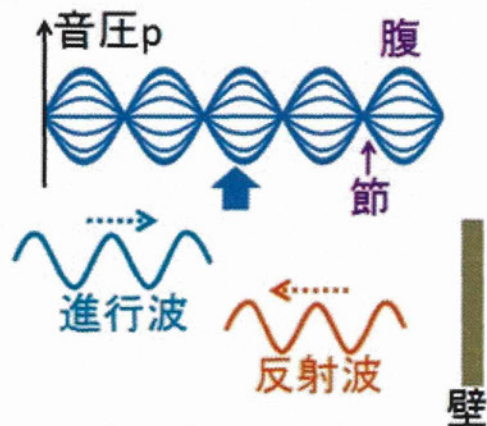


図1 定在波の発生

定在波を抑制するための雑音変調方式として本研究では、以下の方式を従来の正弦波駆動の場合と比較した。

(i) 雑音位相変調(Phase modulation by noise: PMN)

送信周波数を500kHzに固定するがその位相を全くランダムに振る方式。時間tにおけるシグナルs(t)は、振幅をA、周波数をf、位相角度をφ(t)とすると

$$s(t) = A \sin[2\pi ft + \phi(t)]$$

と表される。

この式においてφ(t)が時間的にランダムに変動する。この位相角度の振り幅を±150°程度まで変化させて比較検討した。

(ii) 周波数ランダム選択法(Periodic selection of random frequency: PSRF) 一定時間(例えば10マイクロ秒)毎に周波数を切り替える方式。周波数は予め定めた上限周波数と下限周波数の間の値がランダムに選択される。

(iii) 逆相信号雑音スイッチング方式(Random switching of both inverse carrier: RSBIC)

180°位相の異なる500kHzの単一周波数波形を2種類用意し、両者をランダムに切り替える方式。位相反転のタイミングは雑音のゼロクロスタイミングとする。

以下に上述の3種の雑音変調方式の波形の一例を示す。

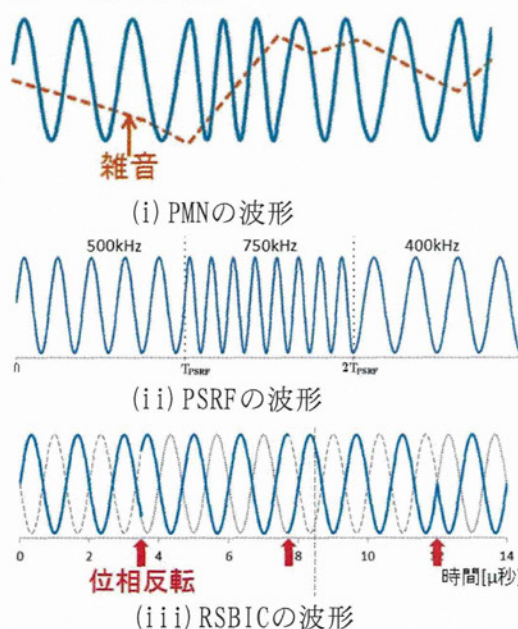


図2 雑音変調方式の波形

(2) シュリーレン法

実験装置の概略図を図3に示す。信号生成器(AFG3102; Tektronix, OR, USA)は500kHz正弦波に限らず、PMNを発生させることができる。波は増幅器(HSA4101; NF Co, 横浜, 日本)によって増大され、振動子に入力された。駆動波はオシロスコープ(TDS3012; Tektronix, OR, USA)

を用いて観測された。振動子は水槽の中に配置され、鉛直下方に超音波が出力された。

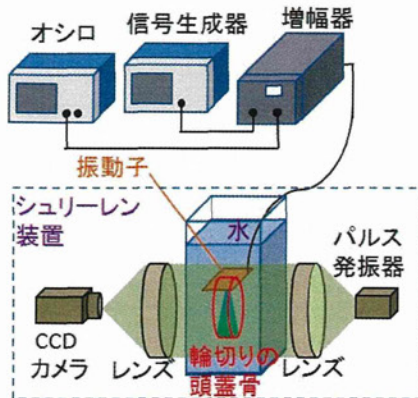


図 3 実験系の概略図

水槽の中には、輪切りにされた頭蓋骨が固定された。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。頭蓋骨は右と左の両方の側頭骨ウィンドウを含むように、4~6cm幅でカットした。頭蓋骨の側頭部の外側に向けて照射された超音波は頭蓋骨を透過して、頭蓋内に入り、その後、頭蓋骨内壁で反射した波と、進行波とが重なりあって、定在波が発生するようにした。なお、水と脳内の音速はほぼ等しく(~1500m/s)、(したがって波長もほぼ等しく500kHzで約3mm)、水中は脳内の良きモデルとみなせる。

超音波を可視化するには、シュリーレン装置(US-250SL; 溝尻光学, 東京, 日本)を用いた。図4の下部に示されているように、装置はパルス発振器、2枚のレンズ、水槽、CCDカメラから構成されている。パルス発振器から発射された光は、1枚目のレンズ、水槽、2枚目のレンズを順に通過し、CCDカメラで検出される。シュリーレン装置は水中に生じた密度差を検出する。定在波が発生したとき、シュリーレン画像上で、腹は明る

い領域として、節は暗い領域として観測される。

(3) 定在波抑制効果評価

定在波抑制効果を定量化するために、シュリーレン画像の輝度に基づく Standing Wave Ratio (SWR) を導入した。最初に、シュリーレン画像上で、定在波を幾つか含むような興味領域 (ROI) を決めた。ROIは長方形の領域とし、長方形の一辺は定在波の明線に平行であるようにとった。次にROIの輝度をフリーソフト ImageJを用いて決定した。輝度は定在波の明線に平行な方向に沿って平均した。SWRは輝度から次式により計算した。

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

この定義より、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。

(4) 音場分布測定法

本実験では、AIMSを用いて3次元的な音場分布を測定した。試作した貼付型振動子(中心周波数500kHz、1-3コンポジットPZT)を図4に示す。

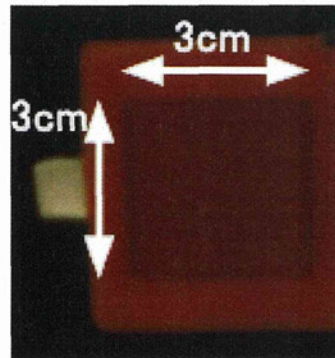


図4 試作した貼付型超音波振動子
30×30mm、厚さ6mm

使用したハイドロホンを図5に示す。ハイドロホンの先端部には、口径0.5mmの振動子が装着されており、その周波数感度は0.25MHzから10MHzである。このハイドロホンを空間的に走査し、音場分布を測定した。3次元の座標(X, Y, Z)の原点を振動子面の中心に取り、Z軸を振動

子の中心軸に沿って、ビームの進行方向に取り、XYは振動子面と平行な面とした。Zの値を変えながら、XY平面の音場分布を1mm間隔で測定した。



図5 AIMSで使用したハイドロホン
型名ONDA HNC-0400

図6に実際の実験風景を示す。



図6 AIMSによる音場分布測定シーン

500kHzの正弦波駆動の場合と雑音変調方式RSBIC駆動の場合の音場分布を比較した。

(5) 超音波ビームの均一化指標 (UI)

振動子によって形成される超音波音場の均一性を評価するために新たに考案した指標UIの定義式と説明を以下に示す。2次元(x,y)平面における音響強度分布を $f(x,y)[W/cm^2]$ とすると2次元ユニフォーミティ・インデックスUI2Dは次式で定義する。

$$UI_{2D} = \frac{\int \sqrt{\left(\frac{\partial f}{\partial x}\right)^2 + \left(\frac{\partial f}{\partial y}\right)^2} dx dy}{\int f(x,y) dx dy} [m^{-1}]$$

ここで積分範囲は音響強度分布が零でな

い範囲に亘って取る。分子における微分項によって、変化の激しさを捉えようとしている。分母は全音圧である。全音圧で割ることによって、音響強度が全体的に定数倍 $f \rightarrow \alpha f$ になっても(α は定数)、UI2Dは不変になっている。この性質により、振動子の駆動電圧に依らずに均一性を評価することができる。また、UI2Dは(x,y)平面を回転させても不変となっている。すなわち変換

$$x' = \cos \theta x + \sin \theta y$$

$$y' = -\sin \theta x + \cos \theta y$$

によって不変に保たれる。また、鏡映変換や平行移動のもとでも不変となっており、合わせてユークリッド変換不変性を持つ。

定義よりUI2Dの値が小さいほうがビームの均一性が高いこととなる。

1次元のユニフォーミティ・インデックスUI1Dは、2次元の場合のy依存性を落として、次式によって定義する。

$$UI_{1D} = \frac{\int \left| \frac{\partial f}{\partial x} \right| dx}{\int f(x) dx} [m^{-1}]$$

1次元の場合も音響強度が全体的に定数倍になっても指標の値は不変に留まる。1次元の場合、次のようにして分子の意味が明確になる。分子の積分をおこなうとき、次のように区間を分ける。簡単の為、始点を極小点とする。

$$\int_{\text{始点}}^{\text{終点}}$$

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

$$+ \int_{\text{極小点2}}^{\text{極大点2}} + \dots$$

極小値から極大値に向かうときには、 $df/dx \geq 0$ であり、極大値から極小値に向かうときには $df/dx \leq 0$ であるから、絶対値記号が外せて、分子をIとおくと

I

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

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

となり、積分を実行すると、

I

$$= (f(\text{極大点1}) - f(\text{極小点1}))$$

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

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

となる。これは、隣接する極大値と極小値の差を加えたものである。

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

これが分子の意味である。これは、また、

I=2

$$\times ((極大値の総和)$$

$$- (極小値の総和))$$

ともなる。

(6) 骨片透過超音波の測定

本実験で使用した骨片を図7に示す。この骨片はヒト頭蓋骨の側頭部に相当している。厚さは骨の場所によって異なり、薄い所で0.62mm、厚い所では3.3mm程度となっている。



図7 使用した骨片

図8に実験系を示す。信号生成器 (AFG3102; Tektronix, OR, USA) から 500kHz、1.5Vppの正弦波を発生させ、増幅器 (HSA4101; NF Co, 横浜, 日本) で10倍に増幅した後、水槽中の振動子に印加した。なお、印加波形はオシロスコープ (TDS3012; Tektronix, OR, USA) を用いて観測した。本実験で用いた振動子は上田日本無線社製の直径24mmのポラス円形振動子であった。超音波の焦点位置は、振動子面から約45mmである。本実験ではこの焦点位置に骨片を配置した。その理由は、この位置でビームが滑らかでビーム幅が狭いからである。骨を透過した超音波をハイドロフォン (ONDA HNC-0400) で測定した。ハイドロフォンの位置はコンピューターで制御されており、縦・横・高さの3方向に移動できるようになっている。ハイドロフォンの先端の位置は骨片から数mm離れた。

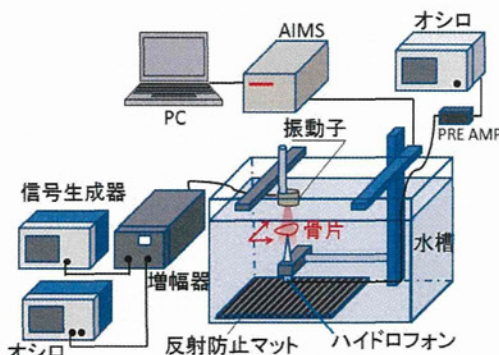


図8 音響強度測定装置 (AIMS)

図9に振動子と骨片とハイドロフォンの位置を示した。ハイドロフォンの原点を振動子の中心軸上に取り、ビーム軸に垂直な面上を±5mm四方にわたって、0.2mm間隔で走査し、2次元音場分布を測定した。骨片の位置を移動させて、測定をおこなうことを20回繰り返した。



図9 振動子と骨片とハイドロフォン

(7) 透過率の算出方法

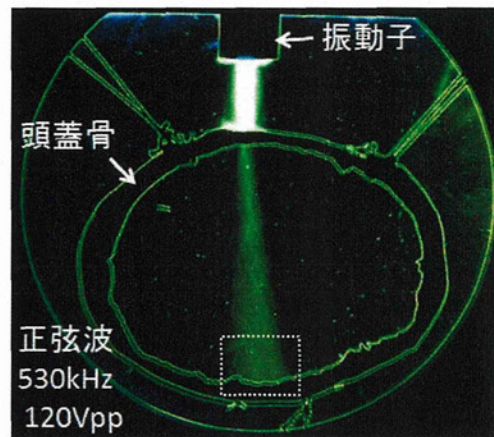
音響強度の2次元分布を基に透過率を算出するには次のようにした。各2次元分布の中で音響強度のピーク位置を探し、その位置を中心とした半径1mmの円内の平均音響強度を求め、その値を骨片無しの場合に同様に計算した値で割った。半径2mmの場合の算出もおこなった。また、ピーク位置ではなく、ハイドロフォンの原点(振動子の中心軸上)の周りの半径1mmおよび2mmの平均音響強度の算出もおこなった。

C. 研究成果

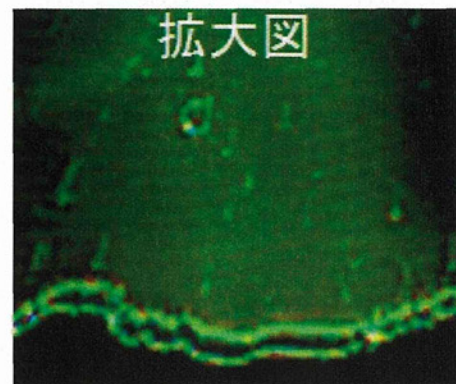
(1) 経頭蓋超音波照射のシュリーレン観測

シュリーレン画像の一例を図10に示す。図10には、上方に配置された振動子から発せられた超音波が、輪切りにされた頭蓋骨の側頭部を通過している様子が示されている。この画像から頭蓋骨透過前と後の輝度に大きな差があり、頭蓋骨を透過すると超音波が著しく減衰することが分かる。(周波数が530kHzより高ければもっと減衰が大きいことが知られている)また、頭蓋骨を透過するとビーム幅が狭くなっていることが分かる。これは、側頭骨の厚さの違いにより、ビームが通り易いところが狭いためと考えられる。さらに、頭蓋骨の透過前後でビームの進行方向が変わり、屈折が起きていることが見られる。これは頭蓋骨の凹凸によると考えられる。(この場合では、ビームは脳の中心方向に向かい、中大脳動脈に向かうため都合が良い。) 図10(ii)には(i)

において四角で囲った領域を拡大して示している。この図から、明暗の縞模様が出ており、定在波が発生していることが確認される。縞模様が直線的でなく、ゆるやかにカーブしているのは、頭蓋骨の内壁が平面でなく、曲率を持ち、凹凸もあるためである。(平坦な反射板で超音波を反射させた実験では縞模様は直線的になっている)



(i) 全体図



(ii) 上図において点線で囲まれた領域を拡大

図10 シュリーレン画像の一例 超音波が可視化される。振動子は上田日本無線社製の直径16mmの円形。振動子のピークは455kHz、-6dBダウンの帯域は395-570kHz。

複数の頭蓋骨を比較してみると個体差が大きく超音波が通り易いものと通りにくいものとで差があるようである。

(2) 雑音変調による定在波抑制

PMNによって定在波を抑制した結果

の一例を図11に示す。図11では判別しにくい位相角度の幅を増していくと、輝度は減少するが、定在波は抑制される。角度偏差を変えていった場合のSWRの変化を図12に示した。角度偏差を大きくしていくと±80度前後でSWRが大きく減少することが判明した。

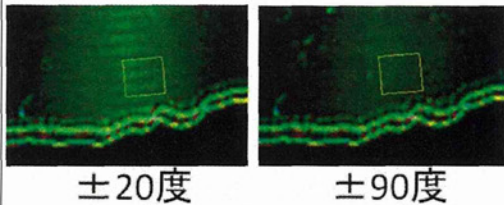


図11 PMNによる定在波抑制 左図は位相角度を±20度とした場合。右図は±90度とした場合。振動子は上田日本無線社製の24×24mmの正方形。振動子のピークは535kHz、-6dBダウンの帯域は337-655kHz。印加電圧は55Vpp、周波数は500kHzとした。

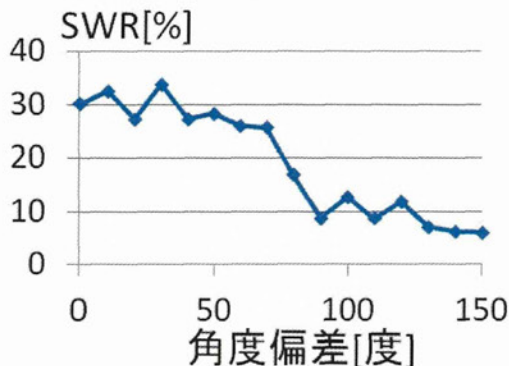
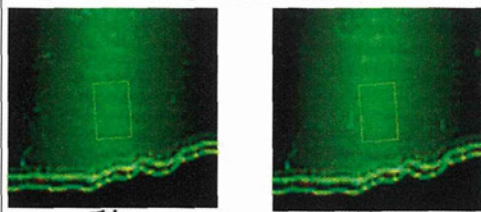


図12 PMNの場合のSWR SWRを算出するときのROIは図6中に黄色の枠で示した。

次にPSRFの結果の一例を図13に示す。PSRFは角度偏差の大きい(±120度)PMNに比べ、超音波強度の減衰が小さい。図13中のROIに対してSWRを算出した結果、左の場合には8.2%、右の場合には8.1%となった。変調をかけない正弦波の場合には30%であるため、定在波が抑制されていることが示された。



10μ秒, 20μ秒,
500±50kHz 500±100kHz

図13 PSRFによる定在波抑制 左図は周波数の範囲を500±50kHzとし、周波数の切替を10μ秒毎におこなった場合。右図は周波数の範囲を500±100kHzとし、周波数の切替を20μ秒でおこなった場合。用いた頭蓋骨、振動子は図10のものと同じ。

RSBICによる定在波抑制の結果を図14に示す。縞模様の明暗差がほとんどなくなり、著しく定在波が抑制されている。図中のROIに対してSWRを求めると6.8%となった。

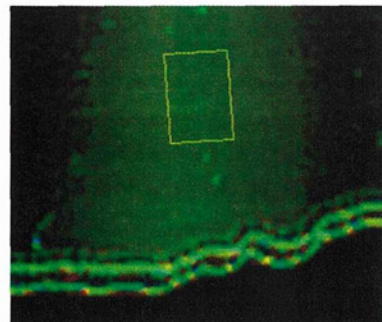


図14 RSBICによる定在波抑制 用いた頭蓋骨と振動子は図11、図13と同じ。印加電圧は80Vpp。雑音の帯域は50-200kHzとした。

(3) 近距離ホットスポット抑制

図15に正弦波駆動と雑音変調RSBIC駆動の場合の音響強度を測定した結果を示す。図15の左側の列は正弦波の場合であり、上から順に振動子面からの距離が10, 25, 40, 60mmとなっている。振動子面からの距離が近いときには、多数のホット・コールドスポットが存在するが、振動子面から離れるにつれて、ホット・コールドスポットの数が減少していき、60mmのところでは、ピークが中心にある

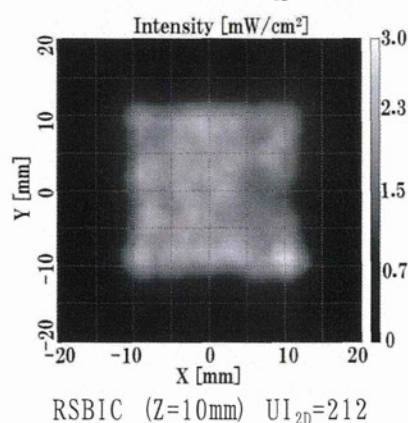
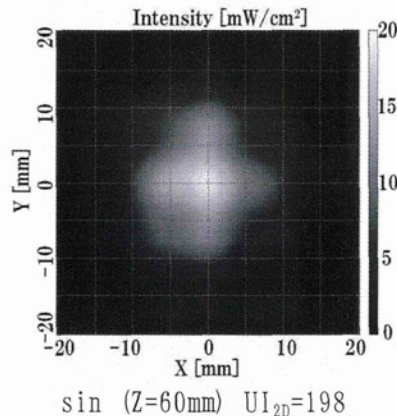
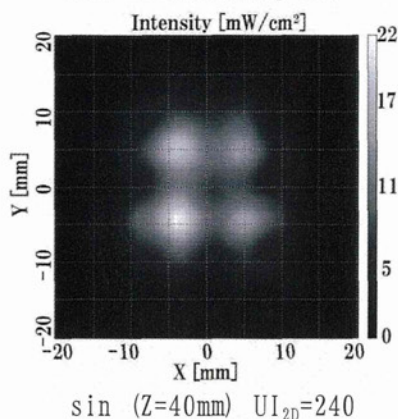
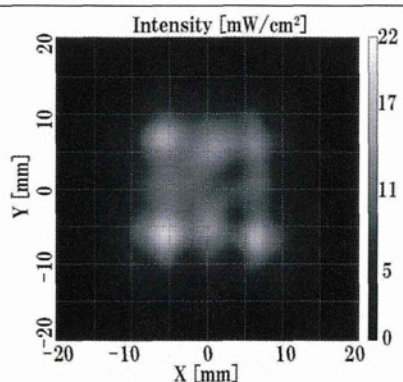
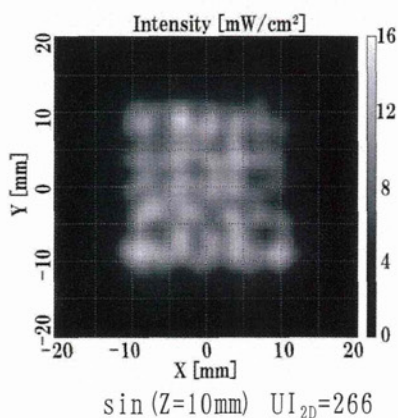
のみである。なお、 $30 \times 30 \text{mm}$ の振動子を 500kHz で駆動した場合、近距離場は 80mm 程度までとなる。これ以後は滑らかな分布となる。 40mm の位置で中心の強度が弱くなっている。超音波血栓溶解療法におけるターゲット位置は頭蓋骨から $45 \sim 55 \text{mm}$ の場所であり、 40mm 近傍のコールドスポットは懸念材料となる。

($30 \times 30 \text{mm}$ よりもやや大きな径を持つ振動子を用いれば、コールドスポットはより振動子面から離れる傾向にある。)

図15の右側の列には雑音変調駆動の場合の2次元音響強度分布を示した。各Zごとに正弦波駆動の場合と比較すると、ホット・コールドスポットが緩和され、音響強度分布が均一化されていることが見て取れる。振動子面に近いほうが均一性が高まっているように見える。

$Z=40 \text{mm}$ における中心付近を見るとコールドスポットが改善されていることが明瞭になっており、ビーム分布は望ましい傾向となった。ただし、超音波強度は正弦波の場合に比べ小さくなっている。

2次元ユニフォーミティ・インデックスを計算した結果を図16に示す。横軸は振動子面からの距離である。正弦波に比べて、雑音変調RSBICでは、ユニフォーミティ・インデックスが小さくなっており、ビームの均一性が増していることが分かる。特に振動子面に近い方(40mm 以下)で差が大きい。なお、遠距離場では正弦波駆動と雑音変調駆動のビーム形状には差が見られなくなる。



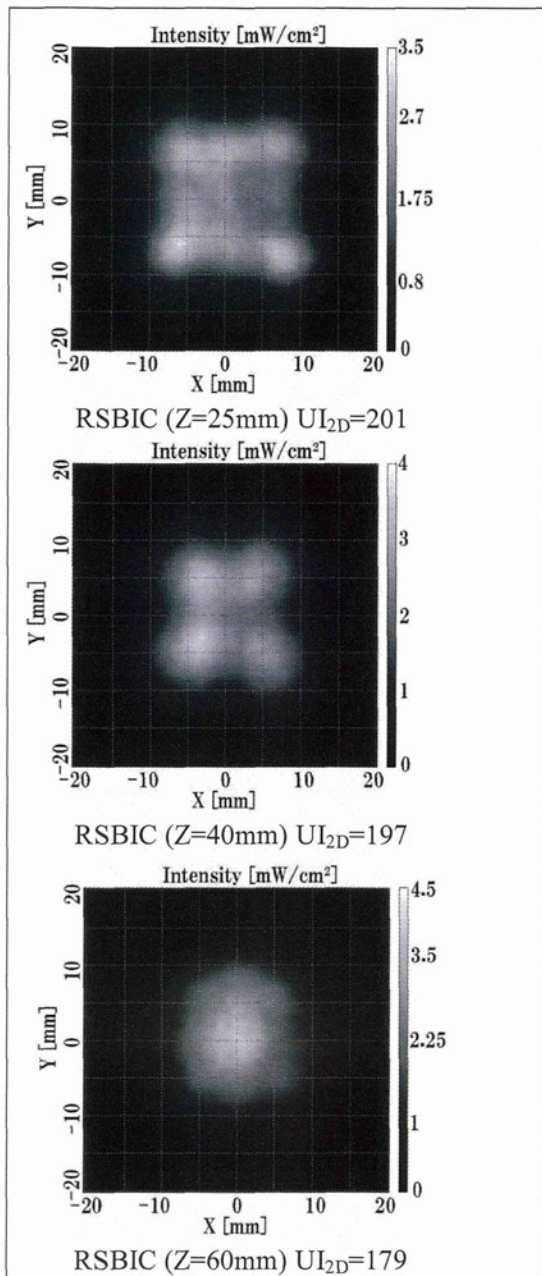


図15 2次元音場分布 500kHz正弦波とRSBIC(キャリア500kHz、雑音帯域50-200kHz)の比較 振動子面からの距離が10、25、40、60mm。2次元ユニフォーミティ・インデックスの値を各図ごとに示した。

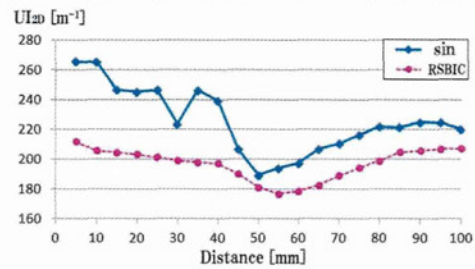


図16 振動子面からの距離と2次元ユニフォーミティ・インデックスの関係

Z = 80 mm付近が焦点が位置しており、その辺りでは超音波が収束しているためユニフォーミティ・インデックスが大きくなっている。

次に1次元ユニフォーミティ・インデックスを計算した結果を図17に示す。算出は、図15の各図において左下から右上に向かう対角線上でおこなった。正弦波駆動と比べて、雑音変調RSBIC駆動では、1次元ユニフォーミティ・インデックスが小さくなる傾向が出た。

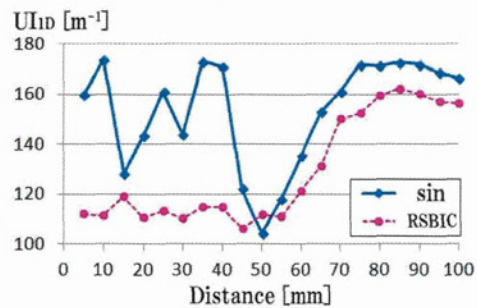


図17 振動子面からの距離と1次元ユニフォーミティ・インデックスの関係

(4) 骨片透過後の音場分布

骨無しの場合にビームの進行方向に垂直な2次元平面上の音場分布を図18に示す。ほぼ円対称的に強度が分布している。ピーク位置周りの半径1mm円内の平均音響強度は29.75mW/cm²、半径2mm円内では28.04mW/cm²となった。

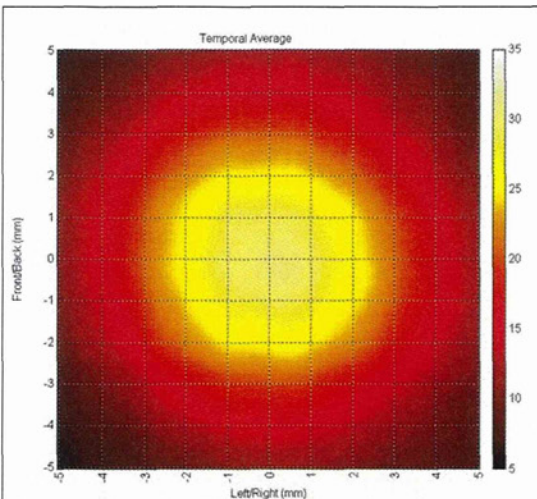


図 18 骨無しの場合の 2 次元音場分布 500kHz 15Vpp、振動子面からの距離は50mm。縦と横の単位はmm。ステップ間隔は縦・横共に0.2mm。カラーバーの単位はmW/cm²

骨を透過した後の 2 次元分布の一例を図 19 に示す。骨を透過しやすい場所と透過しにくい場所があることが見て取れる。座標(-1,0)近傍は通り易く(～8mW/cm²程度)、(2,-1)近傍は通りにくい(～2mW/cm²)と判断できる。骨上のミリメートル差で透過率が大きく異なっている。

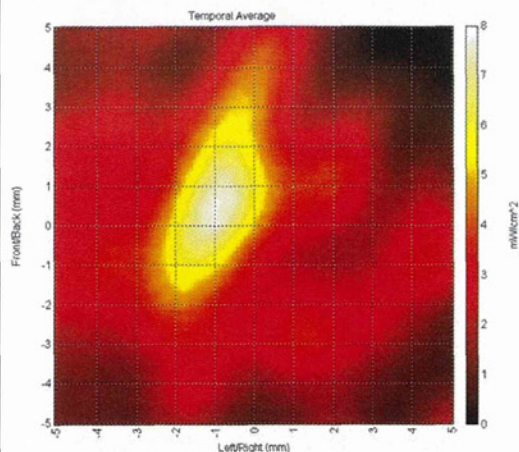


図 19 骨を透過後の超音波の 2 次元音場分布 1 縦と横の単位はmm。ステップ間隔は縦・横共に0.2mm。カラーバーの単位はmW/cm²

ピーク位置は(-1.0, 0.0)であり、ピーク位置周りの半径1mmの円内の平均音響強度は6.64mW/cm²、半径2mmの円内は5.08mW/cm²となった。一方、原点周りの半径1mm円内の平均音響強度は4.99mW/cm²、半径2mm円内は4.64mW/cm²となった。

骨片の他の場所を測定した結果を図 III 6 に示す。この領域内には 3 か所、(-3.5, 1) 近傍、(-1, -1) 近傍、(2, -2) 近傍に透過しやすい所がある。領域内最大のピーク位置は(1.8, -1.8)であり、その周りの半径1mmの円内の平均音響強度は8.14mW/cm²、半径2mmでは6.15mW/cm²となった。一方、原点の周りの半径1mm円内の平均音響強度は6.78mW/cm²、半径2mm円内では6.23mW/cm²となった。

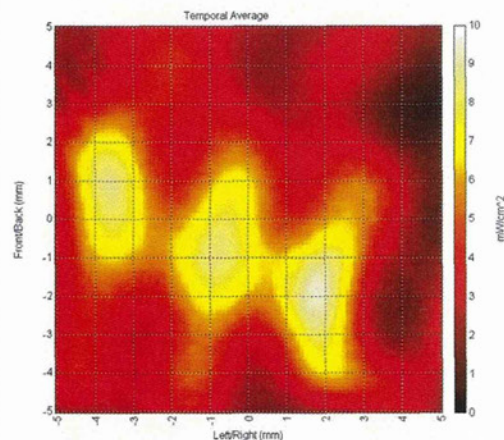


図 20 骨を透過後の超音波の 2 次元音場分布 2 縦と横の単位はmm。ステップ間隔は縦・横共に0.2mm。カラーバーの単位はmW/cm²

(5) 透過率の算出

骨上の 20 か所に対して得られた平均音響強度を骨無しの場合の平均音響強度で割って算出した透過率を図 III 7 に示す。

(なお、ピークの位置が中心を大きく外れて半径2mmの円が測定領域の外にはみ出る場合は除いた。)

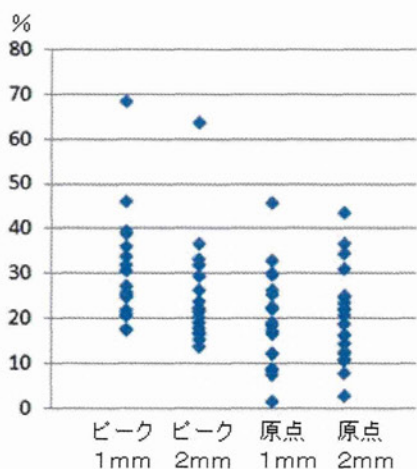


図 2.1 透過率の散布図

骨片の超音波透過率の平均値、標準偏差を求めた結果を表1に示した。

表 1 透過率の平均値、標準偏差

	平均値	標準偏差
ピーク1mm	30.7%	12.0%
ピーク2mm	25.4%	12.0%
原点1mm	19.6%	10.6%
原点2mm	20.5%	10.3%

D. 考察

超音波を経頭蓋的に照射すると、頭蓋内で強度が著しく減少し、変調をかけるとさらに減少してしまう。脳内で血栓溶解に必要な強度を照射するためには、強い超音波（ $\sim 4\text{W}/\text{cm}^2$ ）を振動子から照射しなければならない。振動子の発熱を抑えながらこの強度を出すことは困難かもしれない。治療器として使用できる振動子の製作が今後の大きな課題となるであろう。

本研究で導入した（2次元、1次元）ユニフォーミティ・インデックスは視覚的に捉えた均一性のイメージを適切に数値化しており、本指標が定量的評価に使用できると考えられる。

頭蓋骨の場所ごとに通り易い所とそうでないところが不規則に分布しており、骨を数ミリメートル移動させると透過率が大きく異なる（優に2倍以上異なる）。

骨上で通り易い所とそうでないところの間隔がビーム幅に比べて小さいため、骨を透過後のビーム幅は狭くなる。骨から距離が離れるにつれて、広がりがどの程度大きくなるかを今後測定したいと考えている。

また、頭蓋骨の近傍で測定した結果、不均一であったが、頭蓋骨から離れば滑らかになる可能性がある。今後、測定したいと考えている。

E. 結論

経頭蓋超音波照射で懸念される脳内の定在波をシュリーレン法で可視化し、雑音変調による定在波抑制を検証した。3種の変調方式のいずれでも抑制効果が確認された。

雑音変調駆動により、ビーム形状が均一性が増し、血栓溶解を促進できないコールドスポットが緩和されることが示された。雑音変調は定在波抑制効果に加えて、ビーム均一性を向上させる効果も持つ。

また、本研究で新たに導入したユニフォーミティ・インデックスは今後、均一性を測る指標として利用することができるであろう。

振動子を500kHzの正弦波駆動し、骨片を透過する超音波を計測した結果、振動子の中心軸周り半径1mmの円内における超音波の透過率は $19.6 \pm 10.6\%$ となった。

今後、日本人の頭蓋骨の透過率の測定データを集め、治療器の開発に利用していく所存である。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Hiroshi Furuhata, Osamu Saito: Comparative study of standing wave reduction methods using random modulation for transcranial ultrasonication: *Ultrasound in Medicine and Biology* in press

2. 学会発表

- 1) 齋藤 理、古幡 博、「超音波振動子のランダム変調駆動による定在波抑制」、第15回日本栓子検出と治療学会大阪、2012年10月
- 2) 齋藤 理、古幡 博、「ランダム変調駆動による超音波ビーム均一化の評価」第15回 日本栓子検出と治療学会2012年10月

G. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

厚生労働科学研究費補助金（医療機器開発推進研究事業）
分担研究報告書

超音波血栓溶解促進を定量的に迅速に測定するシステムの開発

研究代表者	小川 武希	東京慈恵会医科大学	救急医学	教授
研究分担者	井口 保之	東京慈恵会医科大学	神経内科学	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	助教
研究分担者	羽野 寛	東京慈恵会医科大学	人体病理学	教授
研究分担者	横山 昌幸	東京慈恵会医科大学	ME研究室	准教授
研究分担者	幸 敏志	田辺三菱製薬株式会社	マネジャー	
研究協力者	王 作軍	東京慈恵会医科大学	ME研究室	研究員

研究要旨 超音波血栓溶解促進作用の急性期脳梗塞への早期臨床応用が期待されている。ただし、超音波照射条件にはパラメーターが多いため、現状の評価方法精度ではまだ不十分で、最適な超音波条件はわかっていない。そこで、われわれは測定精度が高く、かつ効率的な2D式超音波血栓溶解評価システムを新たに設計・開発する。この新方法を用いて、動物及び人の血栓溶解促進作用を測定して、血栓溶解促進作用と照射超音波のパラメーターとの関係を解析した。

A. 研究目的

WHOの統計データによると、世界で毎年およそ1500万人が新規に脳卒中に罹り、その中、500万人が死亡、500万人が身体障害者になる。脳卒中のおよそ67-87%が虚血型で、病因はほとんど血栓に由来する。血栓で閉塞した重要血管の再開通の可否及び再開通までの経過時間が急性期脳梗塞患者の予後のカギを握る。急性期脳梗塞患者に対して、現在まで、FDA、欧州、及び日本で許可されている唯一の血栓溶解治療薬はrecombinant tissue plasminogen activator (rt-PA)であるが、その治療効果はまだ不十分といえる。たとえば、再開通率は内頸動脈閉塞に対してわずか10%で、大脳中動脈閉塞の場合でも30%位に留まる。しかも、rt-PAの投与によって脳内出血のリスクは有意に増大する。

このrt-PAの血栓溶解治療効果を高める医療として期待されているのが、超音波照射を併用することによるrt-PA血栓溶解促進技術である。In vitro、in vivo動物実験で、超音波照射が血栓溶解を促進させることが実証されていて、一部臨床試験においても脳血管再開通率の向上が観察されている。ただし、照射する超音波にはパラメーター（周波数、波形、パルス長さ、繰り返し回数、音圧、ビーム太さなど）が多くて、現時点

でも血栓溶解促進に最適な超音波条件は判明していない。

現在、超音波血栓溶解促進作用の評価法として血栓重量法、アイソトープ法、FDP法、顕微測量法などがあり、各々利点もあるが、問題点もある。例えば、最も常用されている重量法では、重量を測定する前後に血栓を移動する際の機械的介入が大きく、人為的誤差が大きい。しかも血栓重量の変化率は血栓の形、大きさ、表面積などに依存し、違う形の血栓同士の比較は難しい。さらに、血栓表面の各部分が受ける超音波照射強度は通常異なるから、超音波強度と溶解促進率の間の正確な関係は把握できない。

また、以上に述べた手段はほとんど一つの血栓から一つのデータしか得られないため、超音波強度と溶解促進率の関係解析には多数回の実験が必要で、実験の効率が非常に悪い。

それで、われわれは新しく2D式超音波血栓溶解評価法を考案、開発した。この新方法では、照射前後ごとに一つのシート状血栓から、百個単位（今現在は百個、今後はそれ以上も可能）の関心領域（Region of Interest, ROI）からの血栓厚さのデータを取得可能で、各ROIの血栓変化と照射強度を対応させることで、超音波照射強度（又は音圧）と血栓溶解促進率の関係を一つの血栓から分析できる。また、血栓の厚さを分光学的に計測