

201308012A

別紙 1

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 25 年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 井口 保之

平成 26 (2014) 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 井口 保之 | 1 |
|---|---|

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 井口 保之、小川 武希、横山 昌幸 小松 鉄平、福田 隆浩、齋藤 理 | 6 |
| 2. ヒト血栓の作り方及び超音波血栓溶解促進効果の定量評価研究 井口 保之、小川 武希、三村 秀毅 横山 昌幸、幸 敏志、王 作軍 | 18 |
| 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 丸山 一雄、澤口 能一 | 25 |
| 4. 超音波血栓溶解補助医療機器の製品化 川島 裕幸 | 29 |
| 5. 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 システムの開発新規超音波血栓溶解装置の治験プロトコール大枠の提案 古賀 政利、鈴木理恵子、大山 賢、徳永 敬介 山本 晴子、峰松 一夫 | 38 |
| 6. MRA/DSA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 鈴木理恵子、古賀 政利、山本 晴子、大山 賢、 徳永 敬介、松木 孝之、豊田 一則、峰松 一夫 | 41 |
| 7. 経頭蓋カロードプラ法における探触子頭部固定具の開発 大山 賢、古賀 政利、鈴木 理恵子、山本 晴子、峰松 一夫 | 46 |

| | |
|---------------------|----|
| 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 | 49 |
|-----------------|----|

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 井口 保之 東京慈恵会医科大学 教授

研究要旨 超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静注療法の有効性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、貼付型超音波振動子、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線溶療法を確立する。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・短期間の臨床試験を可能とする。平成25年度は、in vivo試験を行うための超音波振動子の作製、超音波照射条件の最適化に重点を置いて研究を行った。

A. 研究目的

本研究の目的は、貼付型振動子を使用した新規超音波併用rt-PA脳血栓溶解技術開発である。

脳梗塞は、本邦死因の第4位を占める脳血管障害の6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）静注療法である。偽薬とrt-PA静注療法を比較した研究では、図1に示す様に治療後の予後は改善する。（本邦で行われたJ-MARSテストでrt-PA投与量をNINDSテストより少ないにもかかわらず、NINDSテストと同様に転帰良好例の比率が高かった。）



図1 rt-PA療法の臨床効果

血栓溶解を促進しながらrt-PA静注療法実施患者の4-7%に起こりうる脳出血発症率を下げるのが重要である。そのためにrt-PA静注療法の適用は、発症からの経過時間、年齢、重症度などの厳しい制限がある。ひとたび脳出血を併発した場合に、転帰は著しく悪化する。以上よりrt-PA静注療法の有効性のみならず安全性をもさらに高めることが喫緊の課題である。

本邦では、2012年9月よりrt-PA静注療法の治療ウインドウ（発症から投与までに許される時間）が、3時間から4時間半に延長され、rt-PAを用いた超急性期脳梗塞治療を一人でも多くの国民に享受できる基盤が整い、医療側の機運は高まりつつある。

新たに超音波照射+rt-PA静注併用療法で血栓溶解が促進されるメカニズムは、以下の通りである。まず脳血管閉塞部位に経頭蓋的超音波照射を実施するとrt-PA分子のフィブリン網目への浸透が促進される。その結果、rt-PA静注療法単独では溶解しえない比較的大きな血栓をより迅速に溶解しうると期待されている。

超音波照射+rt-PA静注併用療法は、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、いずれも臨床応用には到っていない。

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

臨床応用に至らなかった理由としては、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ためと推測されている。

またTRUMBI試験の場合には、低周波数の超音波に起因する①キャビテーション作用と②定在波のために予想以上の組織障害を生じたと考えられている。これら過去の臨床試験から抽出される教訓は次の通りである。

- 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

このような背景をもとに本研究では、中周波数超音波を用いて線溶効果を高め（有効性が高い）、脳出血発症リスクを下げる（安全性が高い）超音波照射＋rt-PA静注併用療法を開発する。さらに新たに貼付型超音波振動子を開発し、高度な手技を要せずに適切な超音波照射を可能とすることで、超音波照射＋rt-PA静注併用療法のさらなる普及を目指す。一方、臨床サイドでは、臨床試験の際に必須となる超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静注療法の経過観察には閉塞血管の血流再開通現象を経時的に観察することが重要である。評価に使用する経頭蓋カラードプラ法での観察を容易にする頭部固定具の開発を推進する。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。

本研究の特長を表2にまとめる

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験プロトコル作製 |
| (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く

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る。そのため高強度超音波によって生じる発熱が組織を障害するリスクが高まる。

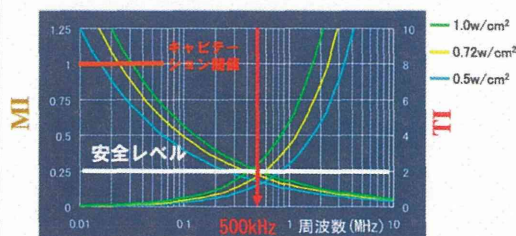


図2 超音波周波数と機械作用、発熱作用との関係

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) の関係を示す。MIとTIをどのレベルで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超音波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みえる波動である。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) 貼付型超音波振動子

本研究が対象とする超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、超急性期脳梗塞に対しての経験と技術が豊富な医療スタッフが常

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医療機器開発は、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医療機器に付与することが鍵となる。本研究で開発する貼付型超音波振動子は、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コントロール群との比較である。しかし超急性期脳梗塞治療現場において患者・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同意を得ることは困難なだけでなく治療そのものの遅滞を招きかねない。また臨床試験の対象となるrt-PA静注療法単独対象例は、急性期脳梗塞例の5%、超急性期脳梗塞の15%と少なく、さらに2群に分けての臨床試験実施は、登録症例数の充足、試験期間の設定からも非現実的である。対して、比較群を含まない臨床試験ではこれらの問題点が解消できる。この場合には、コントロール群として過去の臨床データを用いて、本臨床試験の結果と比較をするために、コントロール群として解析に足りうる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。

rt-PAの血栓溶解作用の最も直接的な観察事項は、血流の再開通である。神経症状の改善、転帰等は、血栓溶解以外の様々な要因が複雑に絡みあうために、臨床研究において治療の有効性を統計学的に証明するにはより多くの登録症例数が必要となる。MR angiographyを用いた過去の研究では、早期再開通と転帰の関連

性は高く、再開通現象評価は極めて重要である。本研究においては、MR angiographyと比較しより簡便かつ非侵襲的な経頭蓋カラードブラ(TCCS)を用いて脳血流再開通現象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、同装置のプロブを頭部に容易、かつ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線溶促進

超音波照射による線溶促進をさらに加速するために、マイクロバブルを投与する研究・開発が進められている。超音波照射により、マイクロバブルは血栓近傍で振動及び破裂し、rt-PAのフィブリン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 μ m程度のミクロンサイズのエマルジョンである。マイクロバブルのサイズが小さくなればなるほど、塞栓部位へのアクセス、およびフィブリン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。分担研究者(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開発をおこなう。すなわち、バブルリポソーム開発研究は、超音波照射+rt-PA静注併用療法が認可された後にその効果を高める医療技術としての研究であり、基礎研究段階から多面的に評価し、研究成果を蓄積する。

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、福田隆浩村 三秀毅 小松鉄平、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：貼付型超音波振動子 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25年度の実施項目

- | |
|--|
| 1. 超音波の効果と安全性 (1) 超音波駆動条件の最適化と頭蓋骨透過性の測定 (2) in vitro 血栓溶解作用の定量法 |
| 2. バブルリポソーム in vivo での血栓特異性の評価 |
| 3. 貼付型超音波振動子 超音波照射システムの作製 |
| 4. 臨床研究プロトコル (1) 治験プロトコル案作製 (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) 超音波駆動条件の最適化と頭蓋骨透過性の測定

超音波の透過率が、骨と皮膚の厚さ、照射超音波周波数に応じて大きく変動することを理論的および実験的に実証し、その変動を抑制し透過率を平準化する手段として周波数変調を提案し、その有効性を実験的に検証した。また、ヒト頭蓋骨の透過率を実測した。

(2) in vitro血栓溶解作用の定量法

ヒト血漿血栓の超音波溶解促進作用を定量する2D式評価システムを確立し、変調した超音波の促進作用を測定した。

2. バブルリポソーム

in vivoでの血栓特異性の評価

ラットin vivo動脈塞栓モデルで、RGD-バブルリポソームでの超音波造影効果を確認した。

3. 貼付型超音波振動子

超音波照射システムの作製

変調超音波に対応した振動子、貼付ゲル、駆動装置、装着具からなるシステム作製において、本療法に必要な要件を満たす設計・作製に成功した。今後はさらに高性能化を目指す。

4. 臨床研究プロトコル

(1) 治験プロトコル案作製

本研究の超音波血栓溶解促進療法の治験プロトコルの大枠を作製した。

(2) ヒストリカルデータ収集

急性期虚血性脳卒中のrt-PA静注療法施行例の早期開通率、症候性頭蓋内出血率、3ヶ月後転帰のヒストリカルデータの更新とまとめを行った。

(3) 経頭蓋カラードプラ用探触子固定具の開発

固定具を作製し、患者の装着感と装着に要する時間を調査した。

D. 考察

超音波振動子の作製、超音波照射条件の最適化に主眼を置いて行った平成25年度はほぼ計画通りに研究が進行した。次年度はin vivo実験によって本療法の超音波照射安全性検証を遂行する予定である。

E. 結論

(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) 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) Sakamoto Y, Kimura K, Shibazaki K, Inoue T, Uemura J, Aoki J, Sakai K, Iguchi Y. Early ischaemic diffusion lesion reduction in patients treated with intravenous tissue plasminogen activator: infrequent, but significantly associated with recanalization. Int J Stroke. 2013;8 (5):321-6.
- 3) Aoki J, Kimura K, Iguchi Y, Sakai K, Sakamoto Y, Terasawa Y, Shibazaki K, Kobayashi K. Two different days of transcranial Doppler examinations should be performed for detection of right-to-left shunt in acute stroke patients. J Neuroimaging. 2013;23(2):175-9.
- 4) Shimoyama T, Kimura K, Shibazaki K, Yamashita S, Iguchi Y. Maintenance hemodialysis independently increases the risk of early death after acute intracerebral hemorrhage. Cerebrovasc Dis. 2013;36(1):47-54.

2. 学会発表

井口保之. 「神経超音波の基礎-手技のコツ伝授」. 第31回日本神経治療学会. 東京, 2013年11月.

H. 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 | 井口 保之 | 東京慈恵会医科大学 | 神経内科 | 教授 |
| 研究分担者 | 小川 武希 | 東京慈恵会医科大学 | 救急医学 | 教授 |
| 研究分担者 | 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 | 小松 鉄平 | 東京慈恵会医科大学 | 神経内科 | 助教 |
| 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・血栓溶解剤併用法に基づく治療機器を開発する上で、超音波の頭蓋骨透過率の評価が必要である。超音波の透過率は、干渉効果によって、骨の厚さや皮膚の厚さなどに応じて大きく変動し、個体差がある。本研究では、透過率の変動を明らかにするとともに、変動を抑制し透過率を平準化する手段として周波数変調を提案し、その有効性を実験的に検証した。

A. 研究目的

急性脳梗塞の非侵襲的な治療法として超音波血栓溶解促進療法が着目され、その効果は臨床試験によって示唆されている。しかし、DaffertshoferらによるTRUMBI trialにおいては脳出血が多発し、危険性も懸念されている。有効性と安全性の両面を考慮し、塞栓部における超音波強度を血栓溶解に必要な閾値以上で、かつ生体にダメージを与えないレベルとすることが肝要である。そのため、治療機器開発においては、超音波の頭蓋骨透過率を可能な限り正確に見積もり、照射強度を設定することが大切である。

従来、超音波の頭蓋骨透過は、「周波数が大きいほど小さくなり、また骨が厚くなるほど小さくなる」と信じられてきた。一方、超音波が境界面で反射して干渉することで、上記とは異なる透過挙動が起こりえることは一部で報告されているが、超音波による画像診断と超音波血栓溶解療法においては、上記の透過挙動が支配的であると考えられてきた。しかし、超音波の透過率は骨の厚みや皮膚の厚み等により変動しうる。これは、超音波による画像診断と超音波血栓溶解療法においては、上記の超音波が媒質の変位の伝わっていく波動現象であり、反射や干渉等の波動特有の諸性質を示すことからの帰結である。変動が生じる理由は次のように理解される：振動子面から出射された超音波が頭蓋骨を透過する際に、

骨と脳組織との境界で波の一部が反射される。この反射波の一部はさらに骨と皮膚との境界で反射され、再び脳の方に向かう。これらの反射波との干渉により、透過率が変化する。干渉により強め合うか否かは骨の厚みに依存するため、透過率は骨の厚みに応じて変動する。同様に、皮膚の厚みによる変動も生じると推察される。

本研究の第一の目的は個体差による透過率の変動を定量的に明らかにすることによって、従来は考慮されなかった超音波透過変動を解析して、より安全で有効な超音波血栓溶解促進療法の確立を目指す。まず、骨厚や皮膚厚によって超音波の透過率が変動することをn層モデルを用いて予測し、次いで、密度一様な平たい骨ファントム板の透過実験をおこなう。その後、治療対象となる日本人高齢者の頭蓋骨の透過を実測する。

透過率が高すぎれば、脳内の音響強度が大きく、細胞がダメージを受ける危険性が高い。一方、透過率が低く、塞栓部の強度が小さければ、血栓溶解促進効果が損なわれてしまう。そのため、変動は小さい方が望ましい。

透過率の変動を小さくし、個体差を無くす手段として、周波数変調が考えられる。そこで、本研究の第二の目的は、周波数を変調することによって透過率の変動を抑え透過率が平準化されるか否かを実験的に検証することである。

B. 研究方法

まずn層モデルを用いて透過率の変動を計算した後、実験的検証を行った。実験の第一段階で、密度が一樣で平たい骨ファントム板を用い、その後、日本人高齢者のヒト頭蓋骨を用いて実測した。

(1) n層モデルによる透過率の変動計算
平面波がn層を透過するモデルを簡潔に記述する。このモデルを用いると透過率の変動が評価でき、実験計画の立案や結果の解釈に役立った。

図1のように層が並んでおり、第0層から平面波が入射した場合、各層の境界において、波の一部は反射し、残りは透過する。この反射と透過の割合は音圧と粒子速度が連続という条件から定まる。



図1 層を伝播する平面波

第m層における入射波の音圧振幅を A_m 、反射波の音圧振幅を B_m とすれば、超音波は $A_m e^{i(\omega t - k_m x)} + B_m e^{i(\omega t + k_m x)}$ と表現される(図1参照)。 A_0 が入射波の振幅で、 A_f が透過波の振幅である。

各境界に対して行列 T_{m+1m} を

$$T_{m+1m} = \begin{pmatrix} \frac{Z_m + Z_{m+1}}{2Z_m} & \frac{Z_m - Z_{m+1}}{2Z_m} \\ \frac{Z_m - Z_{m+1}}{2Z_m} & \frac{Z_m + Z_{m+1}}{2Z_m} \end{pmatrix},$$

$(m = 0, \dots, n),$

と定義し、

各層内に対して行列 D_m を

$$D_m = \begin{pmatrix} e^{-ik_m d_m} & 0 \\ 0 & e^{-ik_m d_m} \end{pmatrix},$$

$(m = 0, \dots, n),$ と定

義すれば、入射波と透過波との間に

$$\begin{pmatrix} A_f \\ 0 \end{pmatrix} = M \begin{pmatrix} A_0 \\ B_0 \end{pmatrix},$$

の関係が成立する。ここで、

$$M = \begin{pmatrix} M_{11} & M_{12} \\ M_{21} & M_{22} \end{pmatrix} \equiv$$

$T_m D_n T_{n-1} D_{n-1} \dots D_2 T_{21} D_1 T_{10}$ である。エ

ネルギー透過率 τ は

$$\tau = \frac{Z_0}{Z_f} \left| \frac{\det(M)}{M_{22}} \right|^2$$

で求められる。

なお、媒質による吸収は運動量を $k \rightarrow k - i\alpha$ のように複素化によって扱った。

(2) 骨ファントム板を用いた透過率の変動測定と周波数変調による平準化の検証

変調方式は、一定時間(例えば 10μ 秒)毎に周波数を切り替えるようなものとした。このとき周波数は予め定めた上限周波数と下限周波数の間の範囲内でランダムに選択されるようにした。この方式は周波数ランダム選択法(Periodic Selection of Random Frequency: PSRF)と名付けられた。波形の一例を図2に示す。

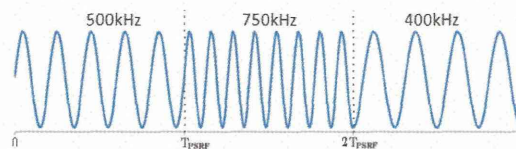


図2 PSRF変調方式の波形の一例

実験装置の概略を図3に示す。ランダムな周波数のデータをUSBメモリーに格納し、そのデータを基に信号生成器Signal Generator (AFG3102; Tektronix, OR, USA)が変調波信号を出力した。信号は増幅器AMP (HSA4101; NF Co, 横浜, 日本)によって増幅された後、振動子transducerに入力された。振動子から出力された超音波は骨ファントム板を透過した後、ニードル型ハイドロホン(ONDA HNC-0400)によって観測された。

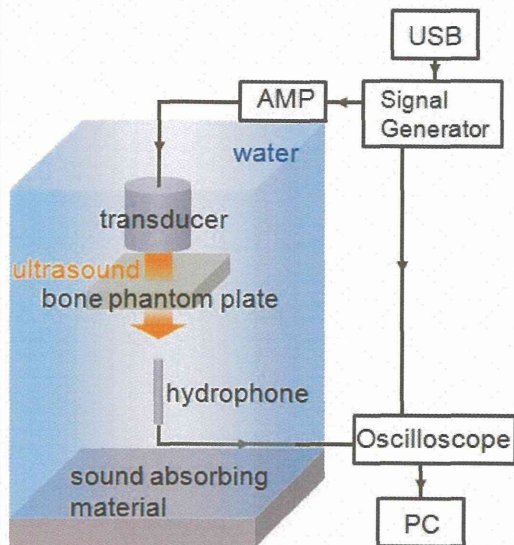


図3 実験系

本実験に用いた振動子を図4に示す。振動子は上田日本無線株式会社製によって作成されたものであり、振動子面は直径24mmの円板で、周波数帯域は357-665kHz (6dBダウン)となっている。



図4 実験に用いた振動子

実験に用いた骨ファントム板を図5に示す。音速は2884m/s、密度は1664 kg/m³、吸収率は4.02 dB/cm/MHzであり、ヒト頭蓋骨を模したパラメーターとなっている。



図5 実験に用いた骨ファントム板

大きさは5cm×7cm、厚さは0.6mmから4.4mmまで0.2mm間隔で計20枚用いた。実測とMRI画像によればヒトの側頭骨の厚みはこの範囲内で十分にカバーできている。

図6にハイドロフオンを示す。このハイドロフオンの先端は0.4mmであり、0.25MHzから10MHzの範囲まで測定可能である。

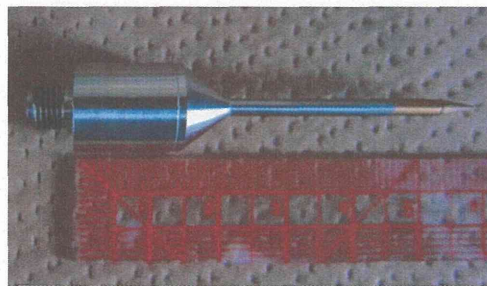


図6 実験に用いたハイドロフオン

図7に実際の実験風景を示す



図7 音場分布測定シーン

骨ファントム板と振動子との距離（これは皮膚厚に相当する）を変えながら透過超音波強度の測定をおこない、500kHz正弦波と変調波駆動とを比較した。

また、骨ファントム板の厚さを変化させながら透過超音波強度を、500kHz正弦波と変調波駆動とで比較した。

(3) ヒト頭蓋骨の透過率測定

治療対象となる日本人高齢者の頭蓋骨の超音波透過率の測定をおこなった。頭蓋骨は慈恵会医科大学解剖学講座に保管されている献体を拝借した。用いた3体の頭蓋骨は次の通りである。

No. 4737…66歳、男性

No. 13…56歳、男性

No. 4759…72歳、男性

それぞれの画像を図8, 9, 10に示す。本実験では図のように頭部がカットされているものを使用した。

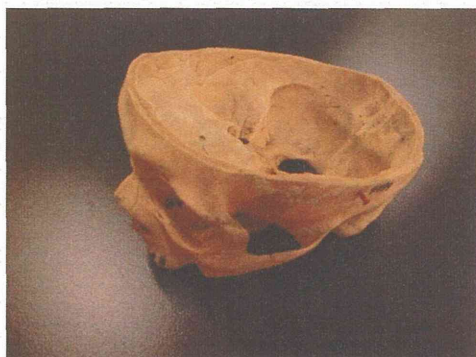


図8 頭蓋骨4737

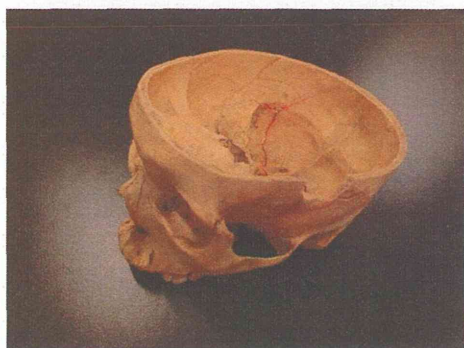


図9 頭蓋骨13

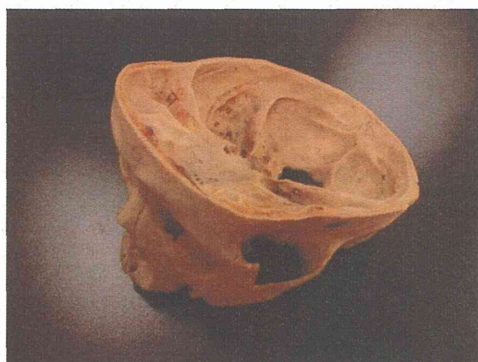


図10 頭蓋骨4759

ヒト頭蓋骨の超音波透過率の測定をおこなうためには頭蓋骨固定具が必要であり、市川工業株式会社に依頼し作成した。頭蓋骨固定具を図11, 12, 13に示す。図13が頭蓋骨を固定する治具であり、頭蓋骨は3点で保持される。頭蓋骨と接する箇所は、柔らかい素材でできており、頭蓋骨に傷がつかないように配慮されている。図14が振動子を保持する部分である。振動子保持部はステージに取りつけられ、X, Y, Zの3方向の平行移動と、2つの角度方向に微調整が可能となっている。

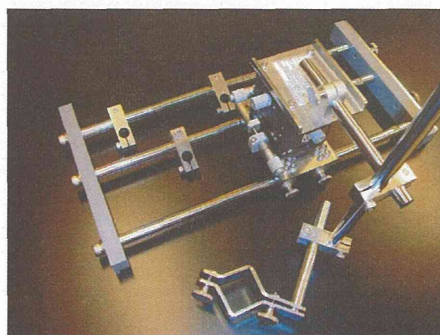


図11 頭蓋骨固定具

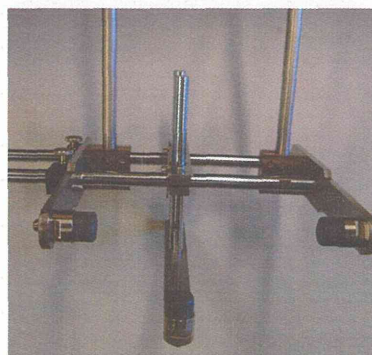


図12 頭蓋骨保持部

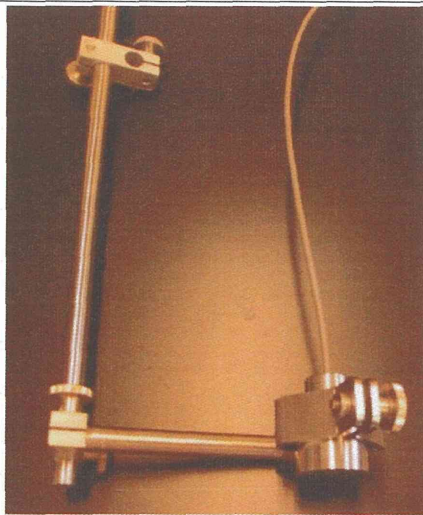


図 13 振動子保持部

頭蓋骨のプラスチックモデルを固定した様子を図 14, 15 に示す。振動子は側頭骨ウィンドウの位置に合わせて配置する。振動子は上田日本無線社製の直径24mmの円形振動子 (357-665kHz) を用いた。

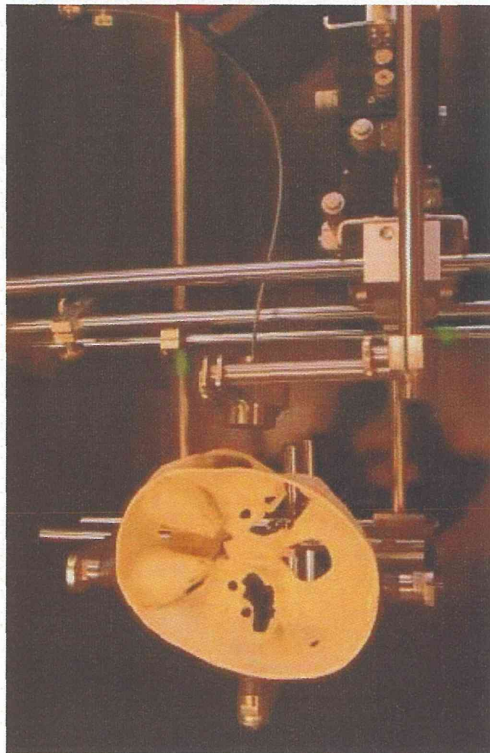


図 14 頭蓋骨のプラスチックモデルを固定した様子

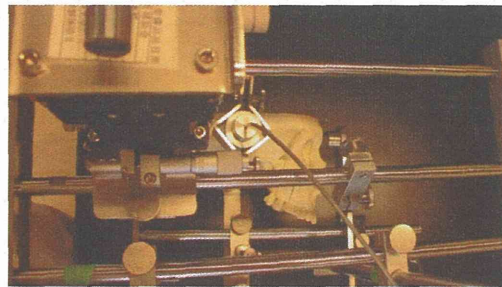


図 15 頭蓋骨のプラスチックモデルを固定した様子 (側頭部)

頭蓋骨透過後の音響強度分布の測定は次のようにおこなった。まず、振動子の中心を通り、振動子面に垂直な軸(以後、Z軸)に沿って、ハイドロフォンを動かしながら音響強度を測定した(図 16)。

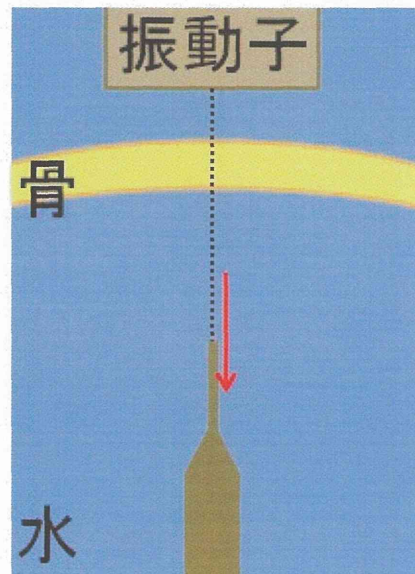


図 16 Z軸方向の音響強度分布測定

3点選び（図17）、それぞれのZの値に対して、ビームに垂直な面上の2次元プロットを取得した（図18）。測定の様子を図19に示す

駆動方式は、400kHz正弦波、500kHz正弦波、600kHz正弦波、PSRF（500±100kHz、10μ秒）とし、これらの比較を行った。

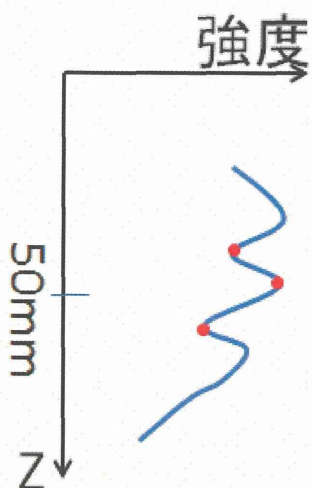


図17 Z=50mm付近の3つの極値

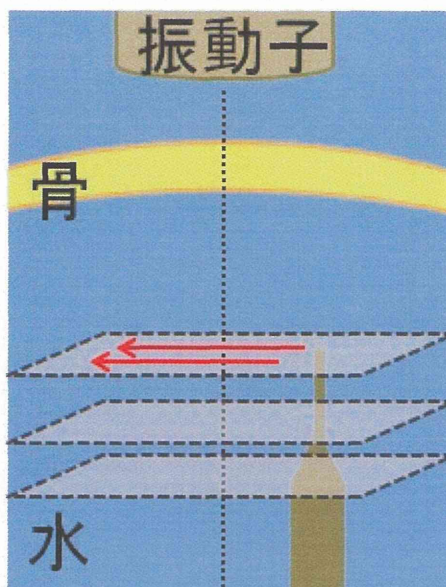


図18 Z=50mm付近の3つのZの値それぞれで2次元プロット

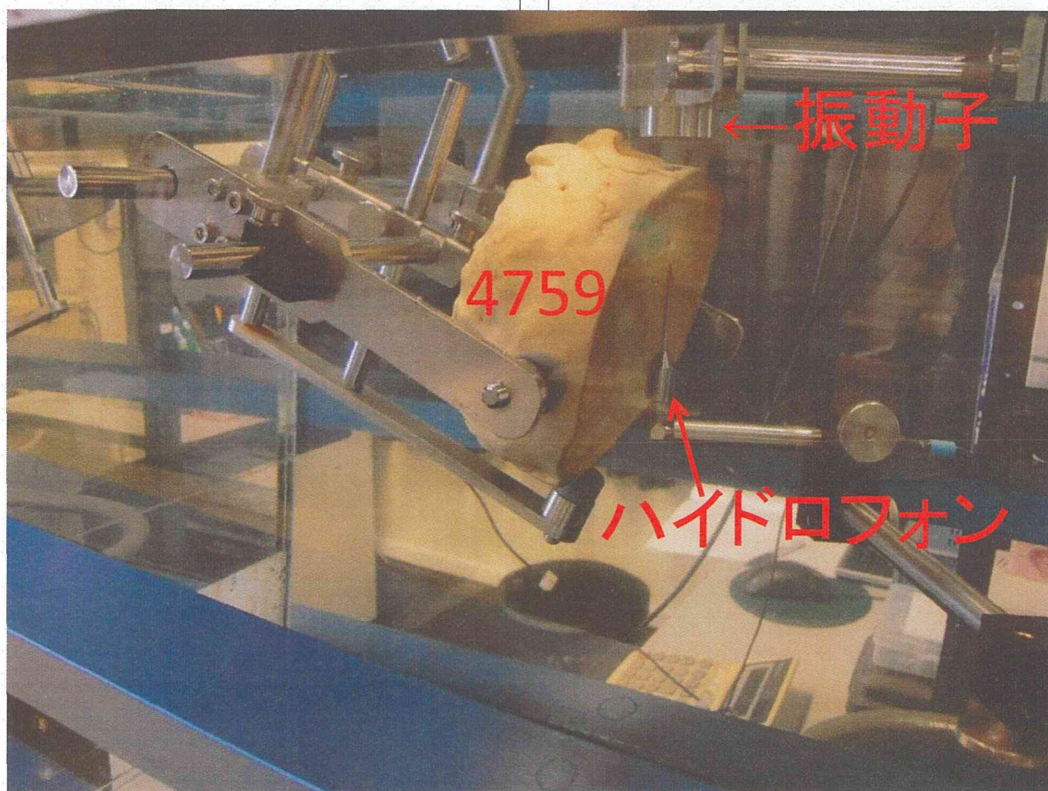


図19 頭蓋骨測定の様子

C. 研究成果

(1) n層モデルによる透過率の変動評価

水中に配置された骨の透過率を計算した結果を図20に示す。パラメーターは周波数を500kHz、水の密度を998kg/m³、水の音速を1483 m/s、骨の密度を1664 kg/m³、骨の音速を2884m/s、骨の吸収率を4.02dB/MHz/cmとした(骨ファントム板の値を使用)。なお、水と軟組織の音響特性はほぼ等しく、水中は脳内や皮膚の良きモデルとみなせる。骨中の超音波の半波長に相当する3mm間隔で透過率のピークがあることが分かる。

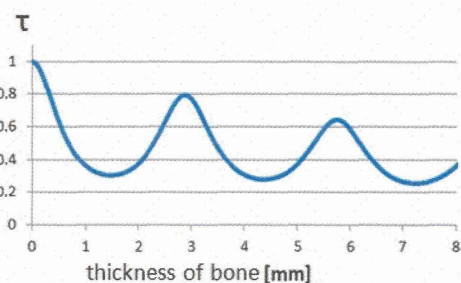


図20 骨ファントム板透過率の厚さ依存性

骨の厚みを変え、透過率を計算した結果を図21に示す。ここでは、骨の吸収は13dB/cm/MHzとした(NCRP推奨の値)。500kHz近傍では透過率が変動しており、薄い方が必ずしも通るわけではないことが分かる。一方、周波数が高い領域では、吸収が大きいため、薄い方が通る。また、高い周波数領域では、透過率の変動が小さくなる。これは吸収効果が大きく、多重反射した波の成分が小さく、干渉効果が小さいためである

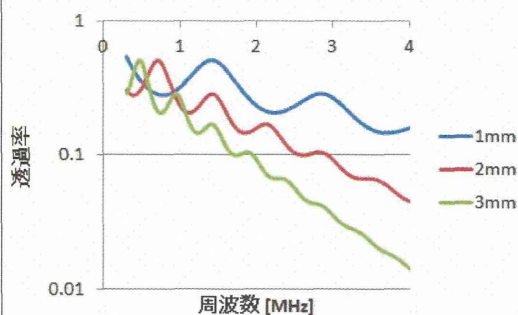


図21 透過率の周波数依存性

振動子と骨ファントム板との距離を変えて透過率を計算した結果を図22に示す。パラメーターは図20と同じである。振動子と骨板との間の水の層の厚さが1.5mm(水中の波長の半分)の間隔で周期的な変動を示している。

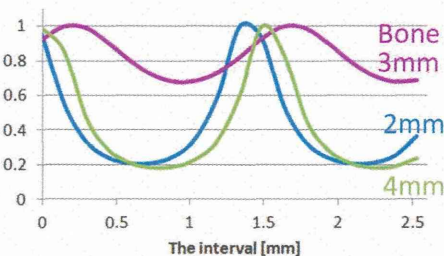


図22 透過率の皮膚厚依存性

(2) 骨ファントム板を用いた透過率の変動測定と周波数変調による平準化の検証

振動子と骨ファントム板との距離(皮膚厚に相当)を変えて透過率をハイドロフォンで測定した実験結果を図23に示す。ハイドロフォンと骨ファントム板との距離は60mmとした。周期が約1.5mm間隔であること、厚さが3mmの板は2mmと4mmに比べて変動が小さめになっていること等、モデルの予測と矛盾しない測定結果となった。

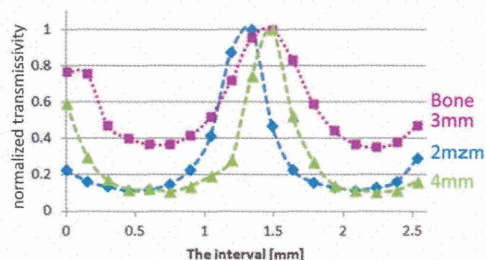


図23 透過率の振動子-骨ファントム板間距離依存性

振動子と骨ファントム板との間隔を変化させて透過率を測定した結果を図24に示す。骨ファントム板の厚さは2.0mmのものをを用いた。500kHz正弦波の場合に、透過率の大きな変動が見られるのに対し、変調波PSRF(500±100kHz, 1μ秒切替)

の場合には、透過率の変動が正弦波に比べて小さく、透過率が平準化されていることが分かる。

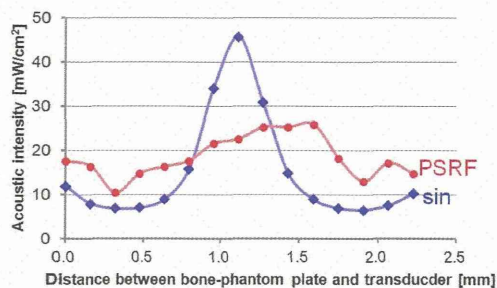


図 2 4 振動子と骨ファントム板との距離を変化させた場合の透過率の比較

骨板の厚さによる透過率の変動を測定した結果を図 2 5 に示す。振動子と骨との距離は12mmとした。500kHz正弦波の場合に、周期が約3mmの変動が見られる。正弦波の場合の最大は26.2mW/cm²、最小は4.4mW/cm²であり、その比は6.0である。PSRF(500±50kHz)の場合には、比は4.1(最大:31.7mW/cm²、最小:7.7mW/cm²)であり、PSRF(500±100kHz)の場合には、比は3.3(最大:29.3mW/cm²、最小:9.0mW/cm²)となった。偏差を大きくするほど、最大最小比が小さくなり、透過率が平準化されることが定量的に示された。

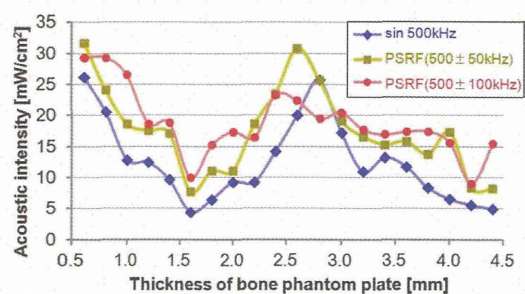


図 2 5 骨板の厚さを変化させた場合の透過率の比較

(3) ヒト頭蓋骨の透過率測定

測定結果の一例(頭蓋骨4737左)を示す。図 2 6 は500kHz正弦波駆動時のZ軸方向の音響強度分布である。50mm付近の極値はZ=48.6mm, 49.6mm, 50.9mmにある。

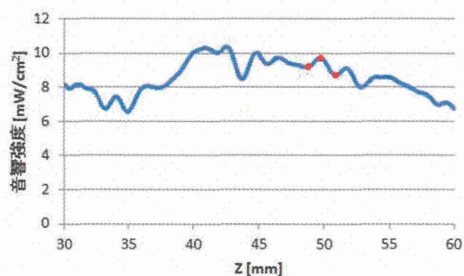


図 2 6 Z軸方向の音響強度分布の測定結果

3つの極値それぞれの位置で、2次元分布を測定した結果が図 2 7, 2 8, 2 9 である。

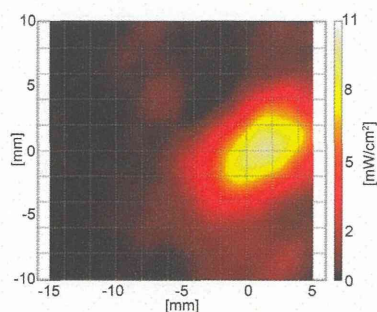


図 2 7 Z=48.6mmにおける2次元プロット

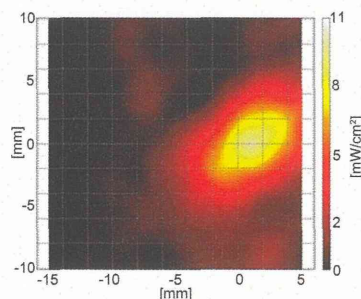


図 2 8 Z=49.6mmにおける2次元プロット

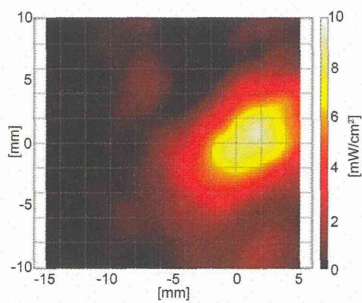


図 29 Z=50.9mmにおける2次元プロット

上の3つの2次元プロットにおいて、座標(0,0)の位置が振動子の中心であり、各図の左方向が頭頂方向、各図の上方向が前頭方向である。3つの図を比較すると、分布に大きな差異は見られない。骨無しの場合には、51.2mW/cm²であり、透過率は約21%となっている。強度の中心は、振動子の中心から2mmほど逸れている。

400kHz, Z=50.6mmの測定結果を図30に示す。骨無しの場合には、56.9mW/cm²であり、約14%が透過している。

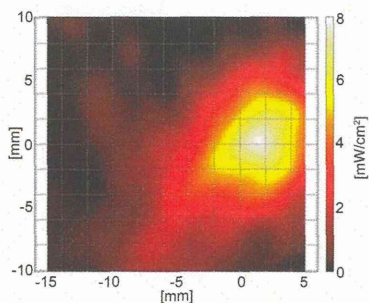


図 30 400kHz, Z=50.6mmの2次元プロット

600kHz, Z=50.0mmの測定結果を図31に示す。骨無しの場合には41.4mW/cm²であり、透過率は約24%となった

周波数の異なる分布を比較すると、低周波数ほど、分布が広いことが見て取れる。また、透過率の値も周波数によって変動している。

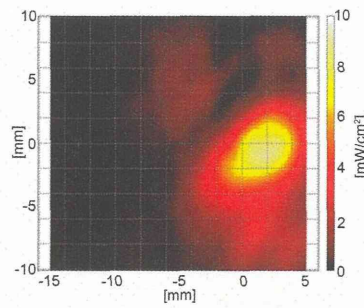


図 31 600kHz, Z=50.0mmにおける2次元プロット

PSRF (500±100kHz, 10μ秒)、Z=50.6mmの結果を図32に示す。骨無しの場合には47.4mW/cm²であり、約15%が透過している。変調時の透過率は、400kHz、500kHz、600kHzの透過率の変動範囲の間にある。

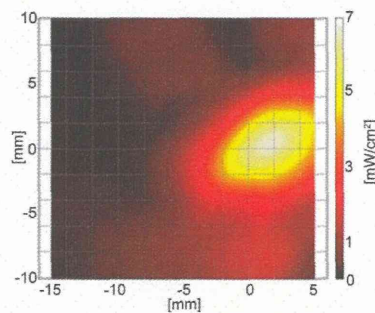


図 32 PSRF (500±100kHz, 10μ秒), Z=50.6mmの2次元プロット

測定結果を表1にまとめた。表側の①②③は、骨上の異なる場所を測定したことを意味する。透過率には個体差があることが分かる。また、周波数によって透過率が異なるが、変調をかけると透過率が平準化されていることも見て取れる。透過率の平均は15%程度となっている。

表 1 透過率のまとめ

| 骨 | 400kHz | 500kHz | 600kHz | PSRF |
|----------|--------|--------|--------|------|
| 4737(左)① | 14% | 21% | 24% | 15% |
| ② | 12% | 14% | 13% | 14% |
| ③ | 14% | 12% | 19% | 14% |
| 13(左)① | 21% | 19% | 21% | 19% |
| ② | 28% | 19% | 33% | 19% |
| ③ | 28% | 19% | 33% | 22% |
| 4759(左)① | 7% | 7% | 6% | 7% |
| ② | 12% | 7% | 5% | 8% |
| ③ | 24% | 8% | 6% | 15% |

D. 考察

ヒト頭蓋骨透過率の測定結果の表1を見ると、周波数が高くなるにつれ透過率が増加する場合も減少する場合もある。このことに関して、n層モデルを用いて計算した結果を図33に示す。骨の厚さが2.0mmであれば、400kHzから600kHzの範囲では周波数とともに透過率が増加するが、一方で、骨の厚さが1.0mmであれば、透過率は減少傾向となる。

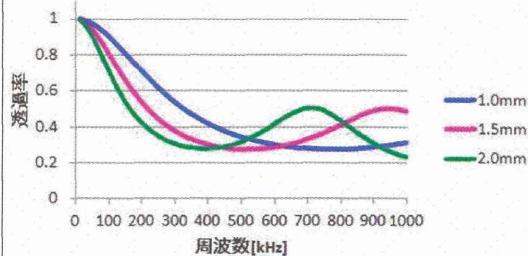


図33 厚さによる周波数依存性の違い

密度一様で平らな骨板を透過する場合、モデルによれば20%以上通ることが期待されるが、実際のヒト頭蓋骨では10%未満のことがある(表1)。この原因としては、骨内部の密度不均一性によって散乱が起こり透過成分が減ること、吸収率の値が計算に使用した値よりも大きい可能性があること等が考えられる。今後、さらなる考察を深めていく必要がある。

頭蓋骨透過後の超音波ビームの分布について考察をしてみたい。波の伝播に関して物理学では次のようなフェルマーの最短経路の原理が知られている。『超音波があるA点から出てB点を通るとする。A点とB点を結ぶ無数の経路の中で、実際に超音波が辿った経路はA点からB点に到達する時間が最小のものとなっている』。例えば、ある音速の速い媒質(砂色)から音速の遅い媒質(水色)に超音波が入射する場合を考える(図34)。この場合、超音波が辿る経路はTのようなものとなる。図34の経路F2では音速の速い砂色媒質よりも音速の遅い水色媒質中を移動する距離が長い、経路Tでは、遅い水色の媒質中を移動する距離が短く

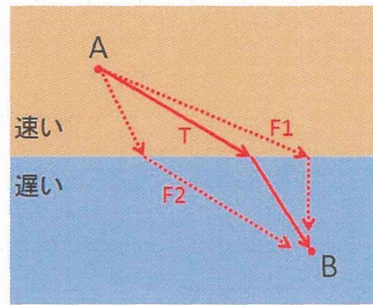


図34 フェルマーの原理

なりB点に速く到達することができる。さらに、A点とB点を直線で結ぶよりも、経路Tのほうが短い時間で到達できることも理解される。そして、屈折が生じた際、どの方向を向くかの判断ができるであろう。この原理からの重要な帰結として、『超音波の経路は音速のみで定まり、密度等にはよらないこと』が理解される。

ある媒質(音速 c_1)から音速の異なる媒質(音速 c_2)に入射するとき、入射角を θ_1 、屈折角を θ_2 とすると、

$$\frac{\sin\theta_1}{\sin\theta_2} = \frac{c_1}{c_2}$$

という関係が成り立つ(図35)。これはスネルの法則と呼ばれる。

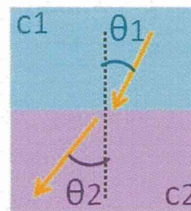


図35 スネルの法則

このスネルの法則を利用して、頭蓋骨を透過時にビームの進行方向がどの程度、変化するかを見積もることができる。図36のように骨の厚さが変化しており、入射面と出射面のなす角度が α とする。このとき、進行方向の変化する角度は約 $\alpha/2$ となる(骨と軟組織の音速比を2:1とし、 α は小さいとした)。 α が8度であれば、進行方向変化は4度程度となる。骨の厚み違いや曲率により、ビームの進行方向が数十度を

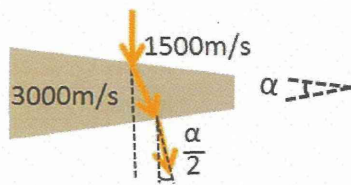


図 3 6 骨透過時の屈折

超える大角度になることはないであろう。実際、測定結果（図 2 8 等）を見ると $Z=50\text{mm}$ 付近において、およそ中心位置が $2\sim 3\text{mm}$ ずれており、屈折の角度は 2 から 3 度程度である。

フェルマーの原理やスネルの法則から屈折は音速のみで定まり、特に周波数にはよらない。したがって、変調をかけて周波数が変化しても、超音波の進行方向は変わらないこととなる。実際、図 3 2 と図 2 9 を見比べてみると、強度中心位置は、正弦波の場合とほぼ一致している。この事実から得られる、治療機器を設計する上で役立つ知見は、『正弦波で当てれば変調をかけてもなお当たる』ということであろう。

塞栓部に超音波ビームが当たることは極めて重要である。屈折により 2mm ずれることも考慮すると、やはりビーム幅の広さが重要であろう。（ただし、ビーム幅は 10mm 程度であり、屈折による 2mm 移動は相対的に小さく、屈折により照射部が大きく変更されるわけではない）。ビーム幅を広げる案として、前々年に、音響レンズを用いることが検討されたことがあった。しかし、振動子近傍での強度が強くなり近距離領域のホットスポット問題が悪化すると理由で棄却された。ビーム幅を広げるために、もしも、振動子を大きくすれば、焦点位置が振動子面から遠ざかり、塞栓部がコールドスポットに入り、血栓溶解効果が失われてしまうだろう。ビーム幅を広げる一案として、周波数を低くすることが検討に値する。測定結果の図 2 8, 3 0, 3 1 を見比べると、周波数が低いほどビーム幅が広いことが

分かる。周波数を 100kHz 下げる効果は、屈折による 2mm 移動を補って余りある。周波数を下げる他の利点として、骨による吸収が減ること（したがって透過率向上、発熱抑制）、振動子を大きくできること（焦点位置と塞栓部との関係）が挙げられる。しかし、周波数を下げれば、キャビテーションによる機械的作用の危険性が増す。『キャビテーションには閾値があり、閾値を超えると有害作用が生じるが、閾値を越えない範囲であれば強度によらず有害作用は生じない』という事実を考慮すれば、キャビテーションの閾値未満で可能な限り周波数を低くすることもひとつの検討手段と思われる。このようなことも踏まえて、キャビテーションに関するリスク評価が今後の研究課題のひとつとなるであろう

E. 結論

経頭蓋超音波透過率に関して骨ファントム板を用いた実験をおこない、ヒト頭蓋骨の実測をおこなった。そして、透過率が変動することと、周波数変調による平準化が可能なが定量的に示された。また、透過率が 15% 程度との知見が得られ、この値は今後の治療機器開発を設計する上でのひとつの指標となるであろう。

今後、頭蓋骨の測定箇所を臨床で使用するポイントに絞ってさらなるデータ取得を続け、多数の頭蓋骨の測定が計画されている。

経頭蓋超音波治療において、変調駆動は、はじめ定在波抑制のために導入されたが、その他に、コールド・ホットスポット解消効果、透過率平準化効果があることが判明した。変調駆動方式を積極的に利用した治療機器は、海外を含めてこれまでになく、本研究の成果は前例のない斬新な治療機器に結実するであろう。

F. 研究発表

1. 論文発表

1) Osamu Saito, Zuojun Wang, Hidetaka Mitsumura, Takeki Ogawa,

Yasuyuki Iguchi, Masayuki Yokoyama:
Substantial fluctuation of
acoustic intensity transmittance
through a bone-phantom plate and
its equalization by modulation of
ultrasound frequency:

Ultrasound in Medicine and Biology
submitted

2. 学会発表

1) 齋藤 理、井口 保之、小川 武
希、横山 昌幸、「超音波のヒト頭蓋
骨片透過における直進性検証」(ポス
ター)、130回 成医会総会 東京慈恵
会医科大学、2013年10月

2) 齋藤 理、王 作軍、三村 秀毅、
井口 保之、小川 武希、横山 昌
幸、「超音波のヒト頭蓋骨片透過にお
ける直進性検証」(口頭発表)第16回
日本栓子検出と治療学会2013年10月

3) Osamu Saito, Zuojun Wang,
Hidetaka Mitsumura, Takeki Ogawa,
Yasuyuki Iguchi, Masayuki
Yokoyama:
Equalization of transcranial
ultrasound Transmissivity bt
random modulation
(poster)
19 th meeting of European Society
of Neurosonology and Cerebral
Hemodynamics
2014 June

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

ヒト血栓の作り方及び超音波血栓溶解促進効果の定量評価研究

研究代表者 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 小川 武希 東京慈恵会医科大学 救急医学 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 横山 昌幸 東京慈恵会医科大学 ME研究部 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研究部 研究員

研究要旨 超音波血栓溶解促進療法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く、現状の評価方法は精度と効率が不十分で、最適な超音波条件は判明していない。われわれはすでに牛血漿血栓を用いて、測定精度が高い効率的な2D式超音波血栓溶解評価システムを開発した。本研究は臨床により近いヒト血漿を用いて、均一なヒト血漿血栓の作製を検討した。続いて、ヒト血漿血栓の吸光及び濁度特徴を分析し、血栓溶解の本質（フィブリンの分解）を最も反映する検出光波長を見出し、2D定量法を確立した。さらに、この技術を利用して、超音波周波数と変調波がヒト血漿血栓溶解促進作用に及ぼす影響を解析した。

A. 研究背景と目的

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、500万人が身体に障害が残る。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である。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、その治療効果はいまだに十分とは言えない。例えば、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%位に留まっている。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している。

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、強度、波形、パルス長さ、duty cycle、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、付着した水分の除去など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しにくい。