

厚生労働科学研究費補助金（医療機器開発推進研究事業）  
総括研究報告書

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。)

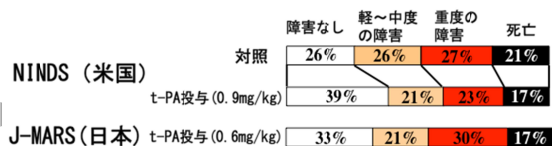


図1 rt-PA療法の臨床効果

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静注療法の治療ウィンドウ(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キャビテーション作用と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ー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。

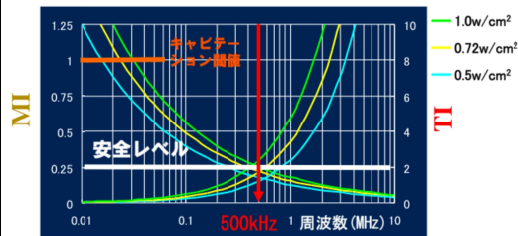


図2 超音波周波数と機械作用、発熱作用との関係

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、同装置のプローブを頭部に容易、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 μm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、血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、超音波に应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 三秀敏  
小松鉄平、幸 敏志(田辺三徳製薬(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