

## C. 結果

### (1) ヒト全血血栓のスペクトル測定

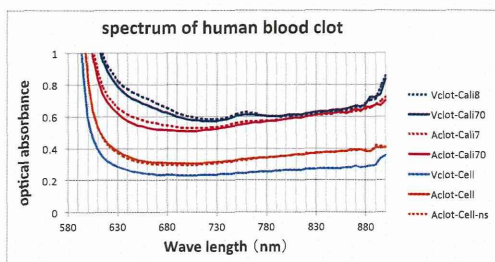


図5 酸素飽和度の全血血栓のスペクトルへの影響

保存バッグから保存血液を約40ml培養瓶に出し、その日にすぐ使うものが酸素飽和度が本来の静脈血液と近く、これから作製した血栓をVClotと表記し、翌日以後に使うものは接触により酸素を含有するので動脈血液と見なし、作った血栓をAClotと表記した。密封性の良いキャリブレーションセルで作ったVClotは760nm所にピークがあるが、血栓溶解セルの中に作ったVClot及びAClot各種はこのピークが消えた。血栓を生食で洗った後も、830nm周辺の変化がほとんどなかった。故に、830nmを測定波長として選んだ。

### (2) ヒト血栓厚さ検量線

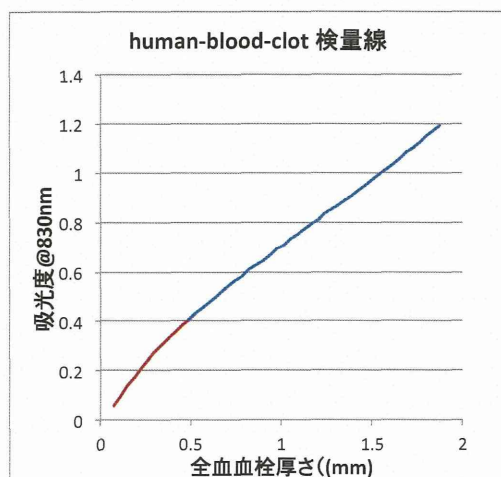


図6 キャリブレーション@830nm

全血血栓の830nmでの吸光度全体としては規定的な単調増加関数であり、その吸光度は0.4まで（赤色で表示）放物線状に上昇し、その後、ほぼ直線的に上昇する特徴がある。

### (3) 超音波強度と全血血栓溶解促進能の関係（1時間溶解実験）

まず、超音波照射を行わない、rt-PA処理のみのコントロールの結果を図7Aに示す。図中の赤線はrt-PA処理前、青線はt-PA処理後のそれぞれ血栓厚さを示す。実線と点線は、4方向の測定値を示している。緑線は、rt-PA処理前後の厚さの差、つまりrt-PA溶解の深度を示す。黒線は溶解深度の平均値である。以下の議論は主に黒線に挙動に注目して行う。

図7Aのコントロールでは、黒線は水平であり、溶解深度がどの測定ポイントにおいても同一であることを確認した。

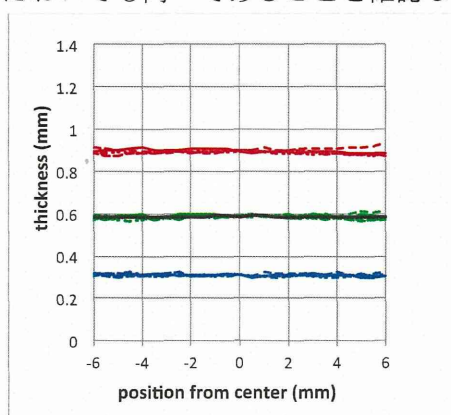


図7A 超音波なし

次に中心位置での強度が8W/cm<sup>2</sup>の大変強力な超音波照射を行うと図7Bに示す様に、黒線が凹の形となり、超音波強度が強い箇所で血栓溶解深度が浅いという奇妙な結果となった。

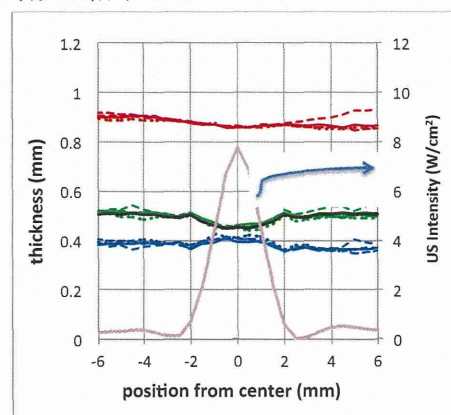


図7B ~8W/cm<sup>2</sup>強い超音波照射の場合

次に、超音波強度を $5\text{W}/\text{cm}^2$  (図7C)、 $1.7\text{W}/\text{cm}^2$  (図7D)と弱くしてゆくと、黒線は凸状になり、超音波照射による血栓溶解促進が観察されるようになった。また、図7Cでは、黒線は全体としては凸状ではあるが、中央部分の超音波強度が強い箇所の黒線は水平であり、図7D以下のすべての場合で、照射超音波強度とよく対応した、滑らかな凸型になっていることと対照的である。これらのことから $3\text{W}/\text{cm}^2$ 以上の大変強力な超音波照射領域では、溶解した血栓の再吸着などの副次的な現象が起きていて、本研究での血栓溶解促進作用の測定には適さないことがわかった。なおこのような、強力超音波照射での奇妙な現象は、血漿血栓の倍には起こらずに、 $5\text{W}/\text{cm}^2$ の超音波強度領域まで、「照射超音波強度が大きいほど、血栓溶解促進作用は大きい」挙動が観察された。

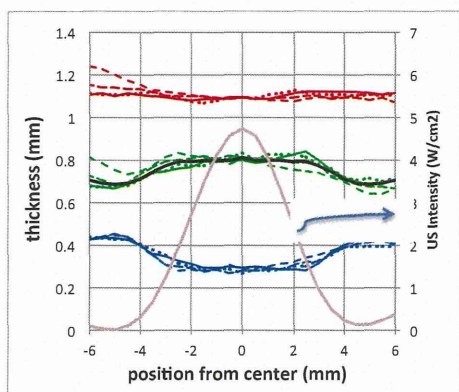


図7C  $\sim 5\text{W}/\text{cm}^2$ の超音波 (照射中心での増強率=18.3%)

図7Dと図7Eにはそれぞれ、中心の照射強度が $1.7\text{W}/\text{cm}^2$ と $1.1\text{W}/\text{cm}^2$ で、これらの強度範囲内では血漿と同様に「照射超音波強度が大きいほど、血栓溶解促進作用は大きい」挙動が観察された。

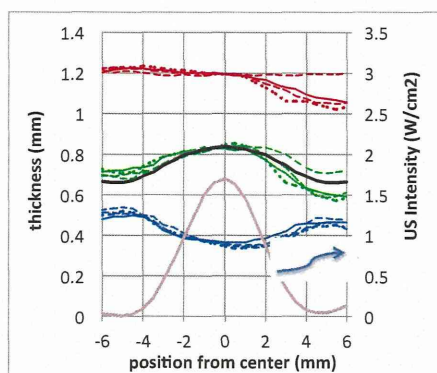


図7D  $\sim 1.7\text{W}/\text{cm}^2$ の超音波  
増強率 $\sim 26.4\%$ 、 $\sim 5\text{W}/\text{cm}^2$ より高かった

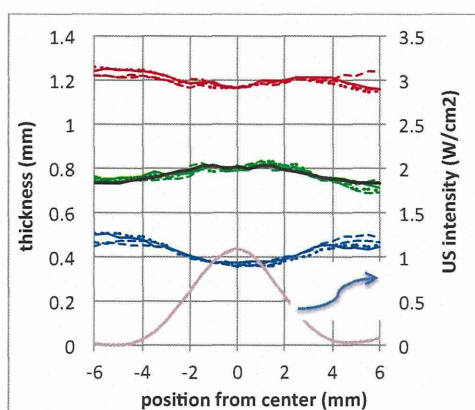


図7E  $\sim 1.1\text{W}/\text{cm}^2$ の超音波  
増強率 $\sim 9.6\%$ 、かなり落ちた。

#### (4) 超音波DutyCycleのヒト全血血栓溶解増強効果への影響

超音波の熱発生副作用を抑えようとして、そのDuty Cycleを低くするアプローチがよくなされてきたが、Duty Cycleの超音波血栓溶解促進能への影響は未だ論争中である。本研究は超音波の熱作用を決める要因のその時間平均強度を一定 ( $0.76\text{W}/\text{cm}^2$ ) にして、Duty Cycleの影響を検討した。

図8Aは Duty Cycleが100%の連続波での測定結果であるが、約37.8%の促進効果が見られた。この結果は図7と大分違うが、これは血液ロットの影響と考えられる。図7で使った血液のロットはBJ4948だったが、それは使用期限が切れたので、これ以下の実験は

新しい血液ロットBJ5091を使った。

図8A～Dに示したように、Duty Cycleを100%から10%に低くにするにつれて、その血栓溶解促進作用が約38%から14%へ減っていくことを示した。

時間平均強度が同じなので、Duty Cycleが低いほどピーク強度が高くなり、組織等への機械破壊作用指数 (MI) も高くなり、出血などのリスクも高くなるはずであるが、かえってその血栓溶解促進作用が弱くなることはDuty Cycleの低いバースト波などは超音波血栓溶解療法に向いていない可能性を示唆した。臨床試験TRUMBIはDuty Cycle 5%のバースト超音波を使ったことがその失敗（沢山の頭蓋内出血が発生）の重要原因の一つであることを改めて示した。

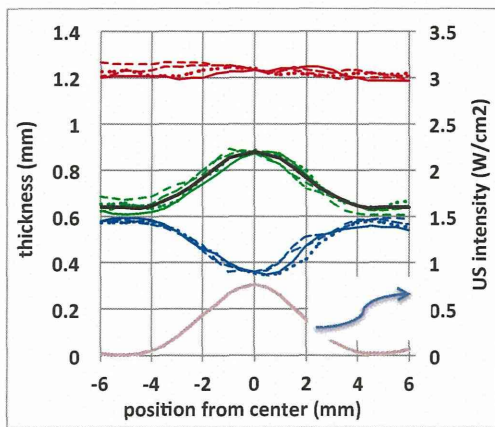


図8A Duty100% 増強率37.8%

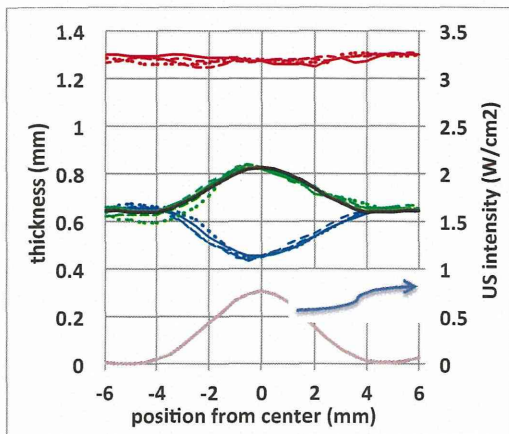


図8B Duty50% 増強率28.5%

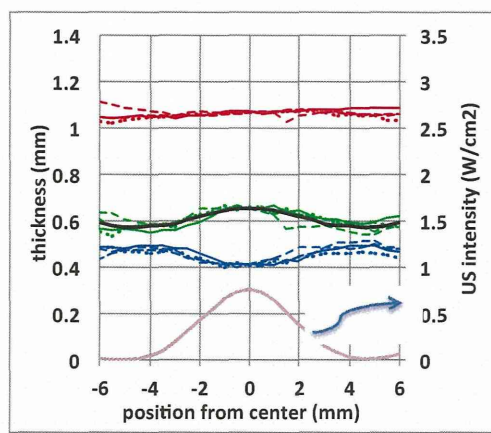


図8C Duty25% 増強率14.3%

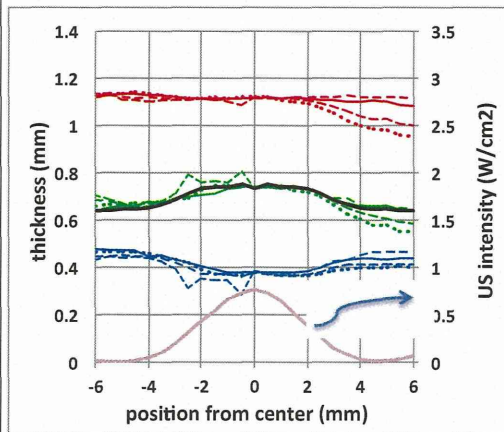


図8D Duty10% 増強率14.0%

### (5) 連続波超音波各強度の比較 (30分間照射実験)

連続波超音波は最小の機械破壊リスクと最大の血栓溶解促進能が持ち合せるというメリットが示唆されたので、新しい血栓ロットを用いてもっと短い時間帯（30分間）での連続波超音波の各強度の比較実験を細かく行った。

結果は図9に示したように、0.4W/cm<sup>2</sup>未満の各強度は1割以下の増強率を示したが、0.4~0.5W/cm<sup>2</sup>の間増強率が急に上昇し、約2.5割に達した後、又緩やかに上昇し、約2W/cm<sup>2</sup>付近にピーク値になり、3W/cm<sup>2</sup>以上になるとかえって落ちてしまった。

この結果は強度0.5~2W/cm<sup>2</sup>の連続波超音波は血栓溶解促進に最も適切であることを示した。

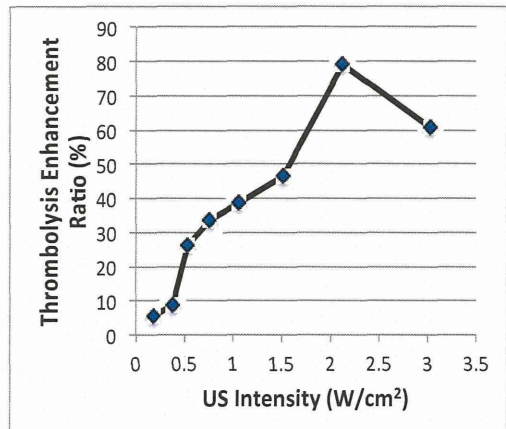


図9 連続波超音波各強度比較実験

また、超音波血栓溶解促進能の評価手段として、血栓周辺部の検出結果と中央部を比較した結果を図9に示す。

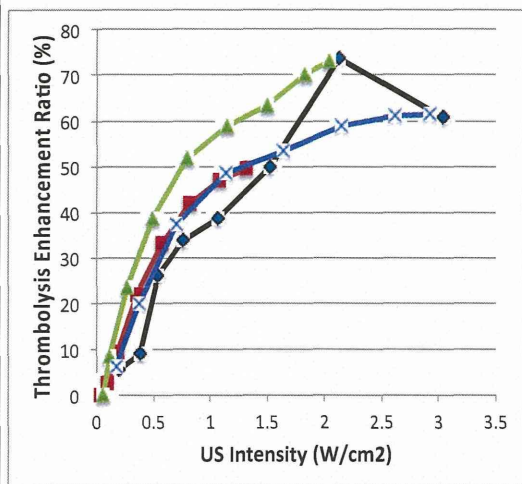


図10. 血栓溶解増強率中央部測定値と周辺部測定値の比較

図10に示したように、血栓周辺部の血栓溶解増強率は同強度の中央部の測定値はよく一致していることを示した。この結果は、一つの血栓だけでもその周辺部の沢山の測定結果を利用すれば、一定強度以下の各強度の超音波とそれぞれの血栓溶解促進能との対応関係を十分に分析できることを示した。

#### D. 考察

本研究はヒト全血血栓に対しての高精度、高効率な超音波血栓溶解増強能測定法を確立し、その特徴も検討した。

図5に示したように、血漿と違って、全血は赤血球（ヘモグロビン）があり、光波長600nm以下では、大きすぎる光吸収があり、測定が難しい。800nm周辺では十分な光が透過でき、測定が可能と考えられる。酸素飽和度の低い血液では760nmの処に小さな吸収ピークがあるが、このピークは酸素飽和度が高くなると消失するので、ヘモグロビン及び血栓の定量測定に向いていない。我々は830nm付近には酸素飽和度に左右されにくく、適度な吸収もあることを見付、830nmを血栓厚さの定量指標として採用した。

楔型の血栓を用いて、830nmでの血栓厚さと吸光度の関係（検量線）を検討した。全体としては规律的な単調増加関数であるが、その吸光度は0.4まで（赤色で表示）放物線状に上昇し、その後、ほぼ直線的に上昇する特徴がある。

830nmの検出光を利用して、500kHzの中周波数超音波の全血血栓溶解増強作用の特徴を検討した。ヒト血漿血栓と違って、2W/cm<sup>2</sup>位までの超音波の血栓溶解促進能は強度又は音響強度に依存して上昇するが、3W/cm<sup>2</sup>位以上になると、促進作用がかえてだんだん少なくなり、さらに強度が高くなれば、その作用は完全に血栓溶解阻害作用に逆転した。（図7B）

時間平均強度を一定にして、超音波のDuty Cycleだけを変換して、その影響を調べたが、連続波の促進能が一番大きいことが分かった。時間平均強度を一定にしたら、熱作用が一定になり、Duty Cycleを低くすれば瞬間強度、音圧が高くなり、機械指数（MI）が高くなり、血管及び組織への破壊作用のリスクも高くなるが、血栓溶解促進能も減っていくことはDuty Cycleの小さいパルス波（PW）より連続波（CW）が最も適切な治療手段と示唆した。

血栓溶解増強能の血栓中央部での測定値と周辺部での測定値を比較したが、後者は前者とよく一致していることを示した。この事実から、一つの血栓だけを用いての測定も相当な程度で超音波強度とその促進能の関係を分析できる。

#### E. 結論

ヒト血漿及びの超音波血栓溶解促進能の高精度、高効率in vitro定量評価方法を確立した。全血血栓に対して超音波の血栓溶解促進能が一定の強度（凡そ $2\text{W}/\text{cm}^2$ 位）までは強度依存的に促進能が上昇するが、それ以上になると、促進能がかえて減っていく。時間平均強度が同じの超音波として、リスクの指標の機械指数が最も低い連続波がかえて最も高い促進能があり、超音波血栓溶解治療に最も適切ということを示唆した。

#### F. 研究発表

##### 1. 論文発表

なし

##### 2. 学会発表

- 1) 王 作軍、広瀬秀夫、斉藤 理、三村秀毅、井口保之、小川武希、横山昌幸「正弦波及び変調波超音波血栓溶解促進作用の比較」第17回 日本栓子検出と治療学会2014年10月5日
- 2) 王 作軍、広瀬秀夫、斉藤 理、小川武希、小松鉄平、三村秀毅、井口保之、横山昌幸「超音波血栓溶解促進能の新規 in vitro 測定法」Stroke2015 (第40回日本脳卒中学会総会、第44回脳卒中の外科学会学術集会、第31回スバズム・シンポジウム) 2015年3月27日

#### 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

超音波血栓溶解補助医療機器の製品化

研究分担者 株式会社カネカ 川島裕幸

研究要旨

塞栓性脳梗塞の治療にあたり、発症から4.5時間以内の非出血性梗塞であれば、rt-PA投与治療が施行される。しかし、rt-PA治療による予後良好例率は30%程度にとどまる。一方、rt-PA投与による予後良好率は、診断用超音波を併用することで向上することがアレキサンドロフらによって報告された。本研究は、2018年度に超音波の血流再開の改善効果を誰もが簡便に享受しうる補助医療機器の製品化を目指す。

A. 研究目的

急性脳梗塞の治療にあたり、発症から4.5時間以内であり、MRI、CTなどで出血がない梗塞性脳卒中を確認した場合、血栓溶解目的にrt-PAの静脈投与は第一治療選択となっている。しかしながら、rt-PA治療の予後成績であるmRS0-1の割合は、残念ながら30%程度にとどまっている。また、予後状態は血流再開までに要する時間が大きく影響することから、再開通率を向上させることは重要で、血管に損傷を与えずに短時間で血流再開を実現することは、患者の予後にとり極めて高い要求事項となる。さらに、予後の改善率向上は、患者のみならず、患者周辺の介護の担い手、そして医療経済の面からも求められていることから、搬送スタッフを含めた現場医療スタッフらは、1分でも早い血流再開を得るため、早期治療開始を実現すべく、体制整備、緊急対応スキルの向上に取り組んでいる。

rt-PA投与が薬事承認を受ける以前の医療現場では、早期血流再開、ならびに再開通率の向上させる方法として、医師判断により塞栓部血栓にマイクロカテーテルなどを用いてウロキナーゼ等の血栓溶解薬を直接血栓塞栓部位に投与する方法の他、脳血管拡張用バルーンを塞栓部位に進めた後、血栓を破砕する方法が取られていた。2010年には、血栓を掻き出し回収するデバイスの『Merci』が承認取得され使用されている他、2012年に血管内で血栓を粉碎しながら吸引除去する『Penumbra』が承認を受け臨床使用が開

始された。

これら血管内治療機器の活用は、ホルルで開催された学会での臨床研究結果報告にて、インターベンションによる再開通率の改善は認められたものの、出血の増長傾向や、最終目的である予後改善においては未だ改善に有効な結果が得られていない旨、報告がなされた。しかしながら、2014年新たに承認されたステント様メッシュの血栓回収用血管内治療デバイス『ソリティア』『Trevor』は治療成績の改善に有望視されていたが、再開通のみならず予後改善が実証された旨、臨床研究結果として報告された。

以上から、血管内治療による血栓摘出術も有力な治療選択肢として加わり、rt-PA投与後、もしくは投与不可判断症例のために血流再開不可であった場合は、血流再開に血管内治療のコンバイン治療が拡大している。しかしながら、脳血管内治療は実施可能な医師、施設が未だ限られているうえ、治療開始までの時間を要することから、全国で発生しうる脳卒中患者の一次救急は、依然rt-PAの静脈投与治療が第一選択となっている。

rt-PAより血栓溶解効果を改善が高い新薬開発も進められているが、未だ上市には至っていない。その中2004年、V. Alexandrov（米）らは、New England J. Med. にrt-PAの血栓溶解治療の際、診断用超音波を併用照射することでrt-PAの血栓溶解効果を高め、rt-PA投与開始から15分以降の観察時間で血流再開通率の向上を得ること、ならびに予後が改

善したことを報告した。

一方、2005年、Daffertshofer (独)らが、超音波の効果を高めるべく頭蓋骨を透過しやすく、また確実に照射できることを目的に、rt-PA投与中ならびに投与終了後30分の総計90分間に300kHzの超音波を照射する臨床研究を実施した。しかしながらDaffertshoferの臨床トライアルは、26例を計画するも14例時点において5例 (35.7%) の患者に症候性出血を発症、さらには死亡例も経験したことから、臨床研究は途中で中止した旨報告している。この報告は、超音波を照射することのみに主眼を置いたため、診断装置の通常照射強度の0.72 W/cm<sup>2</sup>を大きく上回る14~28 W/cm<sup>2</sup>といった強い超音波が照射された結果、キャビテーションが発生し、脳実質、血管に傷害を発生させたことを古幡博が、最新医学 第63巻 第7号:91-102, 2008. で考察している。

2008年J. Eggers. らがStrokeに診断用超音波を経頭蓋骨照射併用することで、投与開始から15分以降60分までの血流再開率が改善することを報告している。特筆すべきは、24時間後の血流再開率は超音波の照射有無による差異は見いだせなかったものの、診断用超音波照射群の予後が著しく改善していることである。V. Alexandrov (米) の報告と併せEggers. が再び超音波照射併用によるrt-PAの早期血栓溶解が、予後改善の有用であることを報告した。超音波照射が普及しない背景として、目的血管検出の難しさ、見出した目的血管に超音波を持続照射の難しさの2つの課題があり、一般治療への適用に至っていない。

そこで本研究は、梗塞性脳卒中患者の側頭部に超音波振動子を高度な技術を要せず貼付装着することで簡便に超音波を中大脳動脈起始部周辺血管に照射し、rt-PAの血栓溶解を促進させ、患者予後を改善する補助医療機器の開発を目指す。

【平成26年度の具体的な目標】

※ 基本実験情報をもとに、PMDAと面談を行い、安全性、有効性の立証方法を確認し、開発を推進する。

- (1) 全血血栓にて溶解を加速する超音波有効条件の確立。
  - (2) 溶解を加速する超音波シーケンスの安全性強度限界の見極め。
  - (3) 頭皮/頭蓋の厚み個人差に影響されにくい変調超音波を供給しうる振動子の開発。
  - (4) 振動子を簡便、確実に貼付する装着具の開発 (ゲル、固定具)
  - (5) 適切な変調を有する超音波駆動信号を供給するポータブルな駆動装置の開発
- である。

## B. 研究方法

PMDAと開発前相談を実施し、安全性は機器の安定作動による安全性を確立と併せ、生体への安全性をラットで評価。有効性は、In-Vitroで全血血栓を用いて超音波照射での溶解加速を検証することで、基本開発要件を満たすことを確認し、以下を推進した。

### 1) 全血血栓の超音波溶解加速性評価

脳梗塞による脳組織へのダメージを最小限にするには、治療開始から出来る限り早い段階で血流を再開させることにある。rt-PA単独投与に比べ、超音波を照射することで有意に血栓の溶解が加速できる超音波強度の知見を得ることを目的としてin vitro試験を実施するが、毎回ヒト血栓での評価は困難なため、ブタ血を用いて評価を推進した。ブタ血実験に先立ち、ヒト血でのrt-PA濃度とブタ血でのrt-PA濃度の溶解効果相関を評価し、ブタ血で超音波の有効性基本条件の検討を実施。

#### 1-1) ヒト血でのrt-PA濃度相関評価

血液凝固液 (1.25M/L CaCl<sub>2</sub>: トロンピン 100 IU/ Ml : 生理食塩液=1:1:18) とヒト血液を96穴丸底マイクロプレートに20μL:100μLで調整し、37°C/1時間静置して血栓を形成した。

キュベットに遠心分離して得た血漿を615  $\mu\text{L}$ と、上記で作製した血栓1つを入れた。Blank サンプルとしてキュベットから血漿を15  $\mu\text{L}$ 採取し、その後rt-PA溶液50  $\mu\text{L}$ を上記キュベットに混注した際、終濃度が2.0  $\mu\text{g}/\text{mL}$ になるように調製し、以下倍希釈を行い最小0.0002  $\mu\text{g}/\text{mL}$ まで調製した。血栓と血漿が入ったキュベットにそれぞれ50  $\mu\text{L}$ 各濃度のrt-PA溶液を添加した。

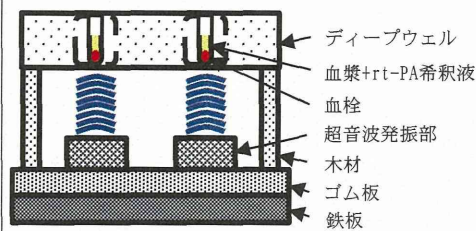
キュベットをシェーカーで攪拌しながら37°Cでインキュベートし、rt-PA添加後30分、60分、90分時に血漿を採取し、先のBlank サンプルと共に各サンプルに35  $\mu\text{L}$ の生理食塩水と50  $\mu\text{L}$ の2.0% SDS溶液をマイクロプレートのウェル内で混注し、吸光度を測定した。90分時のサンプル採取後、血栓を全て溶解し、生理食塩液で4倍に希釈して吸光度を測定し全血栓量を算出した。

#### 1-2) ブタ血でのrt-PA濃度相関評価

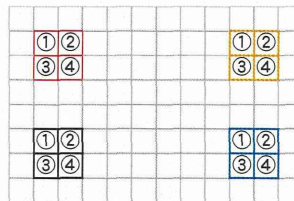
ブタ血でヒト血と同方法でrt-PA濃度を検討した。使用するブタ血は、医療用動物実験を扱う企業から血液を使用する当日に新鮮なブタ静脈血を吸入麻酔下腋窩静脈より採血し、使用直前まで保冷剤にて保冷して使用した。

#### 1-3) 血栓溶解加速評価試験

96穴のディーププレートを用い、ウェル内に血漿および上記方法で作製した血栓を入れ、恒温槽内から超音波を照射し、血栓溶解を行った(図1.)。1回の試験で2群の対象設定と併せ、異なる2種の超音波強度を評価した。対照群はrt-PA投入超音波非照射群と、rt-PA未投入超音波非照射群を設置し、4群間で溶解率を比較した(図2.)。溶解率はrt-PA濃度検討時と同様の方法でrt-PA投与後15分、30分、60分、90分に測定した。超音波照射時の恒温槽も37°Cに設定し、超音波照射はrt-PA投入と同時に開始し60分間照射を行った。照射終了後の30分間は37°Cに設定したインキュベーターにて静置した。



【図1：血栓溶解試験 模式図】



	rt-PA	超音波照射	超音波強度
赤	○	○	強度1
黒	○	×	
黄	×	×	
青	×	○	強度2

【図2：96穴ディーププレート試験群配置図】

## 2) 超音波安全性評価

自己血栓によるラット脳梗塞モデルにアルテプラゼ(rt-PA)投与下において超音波照射による神経症状及び脳梗塞巣体積を評価し、安全照射条件限界を見極める。

### 2-1) モデル作製方法

#### ① 血栓の作製

ラット(Slc:Wistar、雄、8週齢)から約2 mL採血し、採血直後の血液に日本薬局方トロンビン150単位及びヒトフィブリノゲン末40 mgを最終濃度がそれぞれ5 IU/mL及び2 mg/mLになるように血液と混和。混和後、直ちにポリエチレンチューブに充填し、37°Cに設定したインキュベーター内に24時間静置した。使用直前に血栓を25 mmに切断して使用した。

#### ② 血栓による脳梗塞モデルの作製

ラット自己血栓モデルはZ. G. Zhangら<sup>1)</sup>及びE. Buschら<sup>2)</sup>の方法に準じて作製した。小動物実験用簡易吸入麻酔装置を用いて1.5~2.0%イソフルラン吸入麻酔下で、ラット(Slc:Wistar、雄、8週齢)を仰臥位に固定し、頸部正中切開



にて外頸動脈を露出し、糸で結紮する。血栓を充填したテフロンチューブを右外頸動脈から右内頸動脈を介して中大脳動脈の起始部まで挿入し、血栓を注入した。血栓注入後、チューブを抜去し、頸部を縫合した。

## 2-2) 超音波照射

① 設置方法、ラットを麻酔下にて伏臥位に固定し、頭頂部を剃毛後、ジェルを塗布し振動子（φ20 mm×H33 mm）を密着させ固定した。

### ② 薬剤の投与方法

インフュージョンポンプを用い、翼付き注射針を装着したディスプレイ注射筒でrt-PA又は生理食塩液を、伏臥位に固定したラットの尾静脈内に投与。rt-PAはグルトパ®注600万を添付の溶解液で溶解し600,000 IU/mL（10 mg/mL）に調製した。生理食塩液をそのまま用いた。血栓注入1.5時間後から薬剤投与を行った。投与方法は、ヒト臨床と同等に総量の10%（1 mL/kg）を1分間かけて急速投与し、その後残りを1時間かけて持続投与（9 mL/kg/h）した。

### ③ 超音波照射条件

周波数は400-600 kHz変調にて、強度は振動子出力を照射無し、1.4、2.8 W/cm<sup>2</sup>として連続照射した。超音波の照射は、血栓注入後1.5時間から60分間実施。

ラット患部に照射した超音波照射強度は、超音波透過率がおよそ50%のため、以下の表1のとおりである。

発振器の 音響強度	1.4 W/cm <sup>2</sup>	2.8 W/cm <sup>2</sup>
ラット患部 音響強度	0.7 W/cm <sup>2</sup>	1.4 W/cm <sup>2</sup>

【表1】

## 2-3) 測定及び評価方法評価項目

脳梗塞抑制作用 : 脳梗塞巣体積  
神経症状改善作用 : 神経症状スコア

## ① 脳梗塞巣体積の算出

脳梗塞領域は、血栓注入後24時間の神経症状評価後に、ソムノペンチル®を70mg/kgを腹腔内投与して深麻酔をかけ、腹部大静脈より脱血屠殺した。全脳を取り出し、脳底部の血栓の残存の有無を観察。ついで、梗塞中心部の前後に連続した2 mm厚の冠状切片を作製し、冠状切片非梗塞領域の赤色と比べ白色である領域を梗塞と定義して画像解析ソフトにより解析した。各脳切片における脳梗塞巣は柱形であると仮定し、ブロックの合計を脳梗塞体積として算出した。

## ② 神経症状の評価

血栓注入後24時間に神経症状を評価する。神経症状は、意識レベル、四肢緊張度合、歩行、握力及び痛覚スコアを合算したものをスコアとした。なお、神経症状スコアはW. E. Hoffmanらの方法を参照して評価した。（資料未添付）

## 3) 超音波振動子設計

頭蓋内で局所的に音響強度が高まるホットスポットや定在波を抑制、ならびに頭蓋骨や皮膚の厚みの個人差による透過率のばらつき低減を目的とし、400~600 kHzの周波数範囲でランダムに周波数を選択する周波数変調を採用した。しかし一般製品では、400~600kHzの広帯域をカバーする振動子が存在せず、必要領域を出力する振動子開発を着手した。

## 4) 超音波振動子装着具設計

装着具の設計装着具は、救急現場において簡便に振動子装着位置を特定でき、さらに簡便な手順で装着可能であることが求められる。基本デザインを現場医師、スタッフらと検討作業を進め、簡便な装着性を有するか確認を行い、設計に反映した。位置決めと安定性の両立をさせる設計の目的をつけ、具体的に量産を行うための製造プロセスを構築し、製造方法を含めたデザインの手直しを進めた。ゲル加工を含め、製造プロセスを検討した。ゲル選定にあたっては、透過率が重要であり、AIMS音響強度測定システ

ム並びにハイドロホン（Onda社製）を用いて振動面から70mmの断面の音響強度を基準として処方を選定した。振動子にゲル装着の際は、ゲルを気泡を混入しないように超音波振動子に真空密着させて音響強度を測定した。

### 5) 超音波駆動装置設計

超音波要求仕様を確定させ、臨床で使用する駆動装置の設計を開始する。

## C. 研究結果

### 1) 全血血栓の超音波溶解加速性評価

#### 1-1) ヒト血での rt-PA 濃度 相関評価

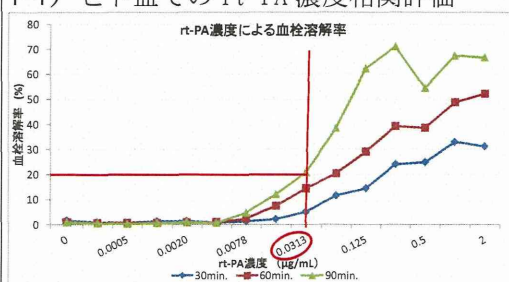


図3. rt-PA 濃度と血栓溶解率（ヒト血）

rt-PA による溶解率が高い濃度は超音波による溶解加速効果の判定が困難なため、0.0313  $\mu\text{g} / \text{mL}$  をヒト血使用の in vitro 試験での濃度とした。

#### 1-2) ブタ血での rt-PA 濃度 相関評価

ブタ血で、ヒト血モデル 0.0313  $\mu\text{g} / \text{mL}$  とほぼ同等の溶解率を示した 3.0  $\mu\text{g} / \text{mL}$  を in vitro 試験での濃度とした。また、ヒト臨床濃度の 1.0  $\mu\text{g} / \text{mL}$  であり、ブタ実験濃度は 12.5  $\mu\text{g} / \text{mL}$  とした。

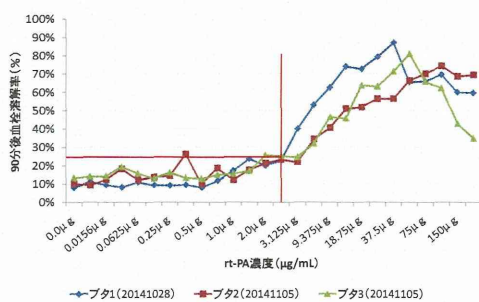


図4. rt-PA 濃度と血栓溶解率（ブタ血）

### 1-3) 血栓溶解加速評価試験

① 0.3、0.7、1.0  $\text{W} / \text{cm}^2$  の強度で照射し、溶解率を比較した。

(rt-PA濃度ヒト0.0313  $\mu\text{g} / \text{mL}$ 相当)

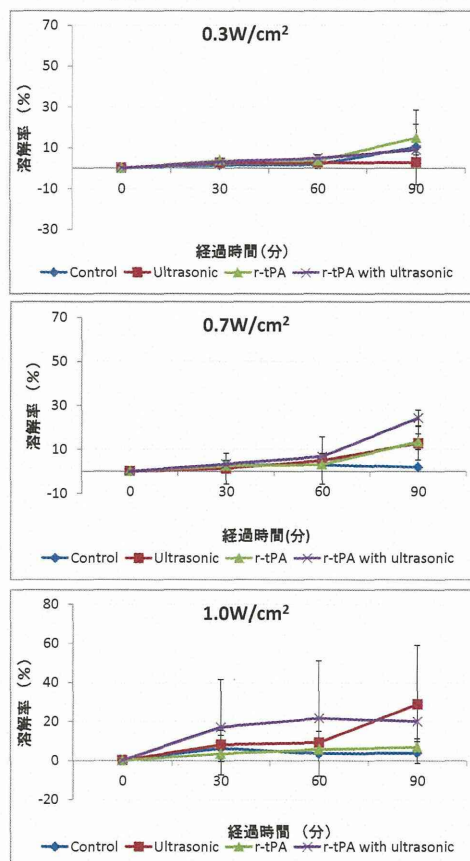


図5. 超音波強度と溶解率

1.0wにおいて加速性を認めたが、測定値のバラつきが大きく有意差は見いだせなかった。1振動子の超音波振動子で4ウェル（血栓）に同時照射していたが、バラつき解消のため1振動子につき1ウェル（血栓）のみの照射とし、ウェルごとの照射むらを抑制した。

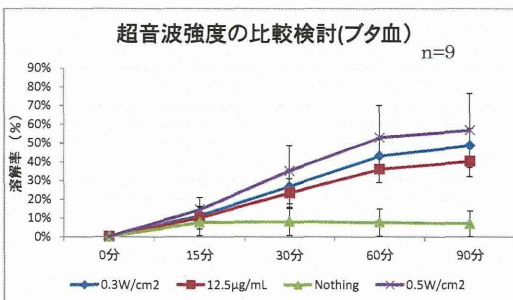


図6. 超音波強度による溶解率の比較（ブタ血）