

(認証)後5年間

17 金銭の支払い及び補償

本治験に起因する健康被害が発生した場合、その解決に要した費用は、治験依頼者が負担する。ただし、当該健康被害が治験実施計画書、GCP省令などから著しく逸脱して実施したことにより生じた場合、また、被験者、治験担当医師、医療機関の故意もしくは重大な過失により生じた場合は、この限りではない。

18 試験実施期間

平成28年4月1日から平成29年6月30日（登録締切__平成29年3月31日）

19 参考文献

1. Hacke W, Donnan G, Fieschi C, et al. Association of outcome with early stroke treatment: pooled analysis of ATLANTIS, ECASS, and NINDS rt-PA stroke trials. *Lancet* 2004;363(9411):768-74.
2. Lees KR, Bluhmki E, von Kummer R, et al. Time to treatment with intravenous alteplase and outcome in stroke: an updated pooled analysis of ECASS, ATLANTIS, NINDS, and EPITHET trials. *Lancet* 2010;375(9727):1695-703.
3. Berkhemer OA, Fransen PS, Beumer D, et al. A randomized trial of intraarterial treatment for acute ischemic stroke. *N Engl J Med* 2015;372(1):11-20.
4. Goyal M, Demchuk AM, Menon BK, et al. Randomized assessment of rapid endovascular treatment of ischemic stroke. *N Engl J Med* 2015;372(11):1019-30.
5. Campbell BC, Mitchell PJ, Kleinig TJ, et al. Endovascular therapy for ischemic stroke with perfusion-imaging selection. *N Engl J Med* 2015;372(11):1009-18.
6. Ishibashi T, Akiyama M, Onoue H, Abe T, Furuhashi H. Can transcranial ultrasonication increase recanalization flow with tissue plasminogen activator? *Stroke* 2002;33(5):1399-404.
7. Saguchi T, Onoue H, Urashima M, Ishibashi T, Abe T, Furuhashi H. 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* 2008;39(3):1007-11.
8. Alexandrov AV, Molina CA, Grotta JC, et al. Ultrasound-enhanced systemic thrombolysis for acute ischemic stroke. *New Engl J Med* 2004;351(21):2170-8.
9. Eggers J, Konig IR, Koch B, Handler G, Seidel G. 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* 2008;39(5):1470-5.
10. Alexandrov AV, Burgin WS, Demchuk AM, El-Mitwalli A, Grotta JC. Speed of intracranial clot lysis with intravenous tissue plasminogen activator therapy: sonographic classification and short-term improvement. *Circulation* 2001;103(24):2897-902.
11. Daffertshofer M, Gass A, Ringleb P, 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* 2005;36(7):1441-6.

12. Mori E, Minematsu K, Nakagawara J, Yamaguchi T, Sasaki M, Hirano T. Effects of 0.6 mg/kg intravenous alteplase on vascular and clinical outcomes in middle cerebral artery occlusion: Japan Alteplase Clinical Trial II (J-ACT II). *Stroke* 2010;41(3):461-5.

13. 鈴木理恵子, 古賀政利, 山本晴子, et al. rt-PA 静注による閉塞血管早期再開通率の検討: 虚血性脳卒中に対する新規超音波血栓溶解装置開発の対照データ. *Neurosonology* 2015;28:1-5.

14. Tissue plasminogen activator for acute ischemic stroke. The National Institute of Neurological Disorders and Stroke rt-PA Stroke Study Group. *N Engl J Med* 1995;333(24):1581-7.

15. Saqqur M, Uchino K, Demchuk AM, et al. Site of arterial occlusion identified by transcranial Doppler predicts the response to intravenous thrombolysis for stroke. *Stroke* 2007;38(3):948-54.

16. Wahlgren N, Ahmed N, Davalos A, et al. Thrombolysis with alteplase for acute ischaemic stroke in the Safe Implementation of Thrombolysis in Stroke-Monitoring Study (SITS-MOST): an observational study. *Lancet* 2007;369(9558):275-82.

17. Yamaguchi T, Mori E, Minematsu K, et al. Alteplase at 0.6 mg/kg for acute ischemic stroke within 3 hours of onset: Japan Alteplase Clinical Trial (J-ACT). *Stroke* 2006;37(7):1810-5.

18. Toyoda K, Koga M, Naganuma M, et al. Routine use of intravenous low-dose recombinant tissue plasminogen activator in Japanese patients: general outcomes and prognostic factors from the SAMURAI register. *Stroke* 2009;40(11):3591-5.

【別紙 1】 治験実施体制

1. 治験依頼者

株式会社カネカ
〒530-8288 大阪市北区中之島2-3-18
中之島フェスティバルタワー

2. 治験調整委員会

□□□□ (◎)
所属
連絡先

××××
所属
連絡先

●●●●
所属
連絡先

◎：治験調整委員会代表

[役割]

主に以下の内容について治験実施医療機関間の調整を行うが、手順の詳細は、別途作成予定の手順書に規定する。

- 治験実施計画書の内容の細目について治験実施医療機関間の調整
- 治験中に生じた治験実施計画書の解釈上の疑義の調整
- 判定委員会の会議における治験責任医師又は分担医師の意見の調整
- 必要に応じて治験実施計画書等の作成及び改訂に関する助言
- 国内・海外安全性情報（不具合情報を含む）の既知・未知、重篤度、因果関係、PMDA 報告対照可否の分類及び必要に応じて PMDA への対応

3. 治験調整委員会事務局

事務局：

[役割]

治験調整委員会の指示のもと、治験調整委員会が実施する業務の支援を行う。

4. 安全性評価委員会

▲▲▲▲

所属

連絡先

■ ■ ■ ■

所属

連絡先

◇◇◇◇

所属

連絡先

[役割]

独立安全性評価委員会は、治験責任医師及び分担医師から独立した組織であり、「独立安全性評価委員会手順書」に従い、客観的に安全性に関する評価を行う。最初の3例が実施され、14日後の評価が行われた後、速やかに委員会を開催し、治験依頼者に治験の継続・中止・中断を提言する。また、定期的に***より報告される有害事象の内容、発現頻度等を評価し、治験依頼者に治験実施計画書の変更、治験の継続・中止・中断を提言する。ただし、症候性頭蓋内出血が**例発現した場合は、一旦症例組み入れを中断した上で、委員会を開催し、治験依頼者に治験の継続・中止を提言する。なお、手順の詳細は、別途予定の手順書に規定する。

5. 画像評価委員

◆◆◆◆

所属

連絡先

[役割]

治療前、治療後 120±30 分、治療後 22-36 時間に撮影された頭部 MRI および MRA における脳梗塞領域、閉塞血管、閉塞血管の再開通、治療後 22-36 時間に撮影された頭部 CT 上の頭蓋内出血の判定を行うものとする。
なお、詳細については、別途作成予定の手順書に規定する。

6. 生物統計／解析アドバイザー

▽▽▽▽

所属

連絡先

[役割]

統計学の専門家として、治験計画、実施、データの取扱い、解析、評価に関して統計学的見地から助言を行う。

7. 開発業務委託機関

本治験では、以下の開発業務委託期間（以下、CRO とする）に業務を委託する。各 CRO は、当該契約書に規定された責務を負うものとする。

7.1 モニタリング

[役割]

モニタリング業務を行う。

7.2 データマネジメント

[役割]

データマネジメント業務を行う。

7.3 統計・解析

濱崎俊光

国立循環器病研究センター 先進医療・治験推進部 DM/統計室

[役割]

統計解析業務を行う。

7.4 監査

[役割]

監査業務を行う。

8. その他

[役割]

Confidential

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

rt-PA 静注による閉塞血管早期再開通率の検討：虚血性脳卒中に対する新規超音波血栓溶解装置開発の対照データ

研究協力者	鈴木理恵子	国立循環器病研究センター脳血管内科医師
研究分担者	古賀 政利	国立循環器病研究センター脳卒中集中治療科医長
研究協力者	大山 賢	国立循環器病研究センター脳血管内科医師
研究協力者	徳永 敬介	国立循環器病研究センター脳血管内科医師
研究協力者	松木 孝之	国立循環器病研究センター脳血管内科医師
研究分担者	山本 晴子	国立循環器病センター先進医療・治験推進部部长
分担研修者	豊田 一則	国立循環器病研究センター脳血管内科部長
研究分担者	峰松 一夫	国立循環器病研究センター副院長

研究要旨 われわれは、低侵襲的低周波超音波装置による急性期血栓溶解療法を開発している。装置開発の際に参照するデータの収集を目的として、急性期虚血性脳卒中に対するrt-PA静注療法時の早期再開通率（rt-PA静注後2時間、24時間以内）、発症後36時間以内の症候性頭蓋内出血発生率と3ヵ月後転帰を調べた。いずれも、低周波超音波照射は行っていない。対象は384例で、閉塞血管は内頸動脈（ICA）63例（16%）、前大脳動脈（ACA）5例（1%）、中大脳動脈（MCA）水平部（M1）120例（31%）、島部（M2）61例（16%）、後大脳動脈（PCA）14例（4%）、その他121例（32%）であった。MRAと脳血管造影検査（DSA）とを併用した評価では、M1閉塞の再開通率は2時間以内39.5%、24時間以内58.6%であった。M2閉塞で各々69.2%、90.0%、ICA閉塞で各々23.1%、45.5%、MCA閉塞患者全体で各々46.4%、66.7%、ICA、ACA、MCA、PCA閉塞患者全体で各々37.2%、57.4%であった。ICA、ACA、MCA、PCA閉塞患者のうち8例（3.4%）に症候性頭蓋内出血が出現し、3ヶ月後の転帰良好 [modified Rankin Scale (mRS) 0-1] は33.8%、日常生活自立 (mRS 0-2) は43.6%であった。

A. 研究目的

わが国では、東京慈恵会医科大学、国立循環器病研究センター、株式会社カネカが共同で、500kHz 前後の変調超音波の安全性と有効性を確認する前臨床研究を実施中であり、さらに本技術を搭載した新規超音波血栓溶解装置の開発および臨床導入を計画している。

今回、開発の際に参照するデータの収集を目的として、急性期虚血性脳卒中に対する rt-PA 静注療法例において、超音波照射を併用しない場合の早期再開通率、症候性頭蓋内出血率と 3 カ月後転帰を調べた。

B. 研究方法

本研究計画は、国立循環器病研究センター倫理委員会の承認を受けた。

対象は 2005 年 10 月から 2013 年 4 月までに当院でrt-PA静注療法を施行した384例である。前向きに収集したデータベースを用い

て、後ろ向きに検討した。検討項目は、患者背景、脳梗塞病型、MRAもしくは脳血管造影検査(digital subtraction angiography; DSA)による血管閉塞部位を、内頸動脈 (internal carotid artery; ICA)、中大脳動脈 (middle cerebral artery; MCA)、前大脳動脈 (anterior cerebral artery; ACA)、後大脳動脈 (posterior cerebral artery; PCA)、椎骨脳底動脈 (vertebro-basilar artery; VB)系、閉塞血管なし、評価不能に分類した。主幹動脈 (ICA, MCA, ACA, PCA)に閉塞があり、発症 2 時間以内にMRAもしくはDSAで再開通の評価を行った症例のrt-PA投与2時間以内、24時間以内の再開通の有無を調べた。2時間以内に再開通の評価は行ったが、24時間以内には評価しなかった症例は、2時間以内の再開通の有無で24時間以内の再開通の有無に代用した。

発症 36 時間以内の National Institutes of Health Stroke Scale (NIHSS) スコア 4 以上の増悪を伴う頭蓋内出血を症候性頭蓋内出血

と定義した。転帰は3ヵ月後の modified Rankin Scale(mRS)スコアで評価し、mRS 0-1 を転帰良好、mRS 0-2 を日常生活自立とした。また、安全性指標の1つとして3ヵ月後死亡 (mRS 6) を評価した。なお、rt-PA投与後24時間以内に別の部位に脳梗塞を再発した症例は24時間以内の再開通の評価から除外した。また、rt-PA静注療法後に閉塞血管に対して経皮経管的脳血栓回収用機器(Merci リトリーバー、PENUMBRA システム)を使用した症例は、24時間以内の再開通の評価と症候性頭蓋内出血、3ヶ月後の転帰の評価から除外した。

再開通の評価はMRAでは modified Mori gradeを用い(Mori E, et al. Stroke 2010), DSAでは Thrombolysis in Cerebral Infarction 分類(TICI)grade を用いた(Tomsick S, et al. Am J Neuroradiol 2008)。MRAとDSAとを併用した評価は、Yoshimuraら(Yoshimura S, et al. J stroke Cerebrovasc Dis 2014)の報告を参考に、grade 0: MRAでmodified Mori grade 0, DSAでTICI 0, grade 1: MRAでmodified Mori grade 1, DSAでTICI 1, grade 2: MRAでmodified Mori grade 2, DSAでTICI 2A, grade 3: MRAでmodified Mori grade 3, DSAでTICI 2B, 3という分類を使用した。modified Mori grade 2以上、もしくは、TICI 2A以上、MRAとDSAを併用した評価ではgrade 2以上を再開通ありとした。

主幹動脈閉塞患者の閉塞血管部位(ICA, M1, M2)とMRA, DSAの併用による再開通率、症候性頭蓋内出血、転帰の関係についてカイ2乗検定を用いて検討した。

C. 研究結果

384例中、男性は243例(63.2%)、年齢は74±13歳であった。臨床病型は、心原性脳塞栓症248例(64.6%)、アテローム血栓性脳梗塞48例(12.5%)、ラクナ梗塞4例(1.0%)であった。危険因子として、高血圧259例(67.5%)、心房細動204例(53.1%)、脂質異常症136例(35.4%)、糖尿病を78例(20.3%)に認めた。治療前の閉塞血管は、ICA63例(16.4%)、MCA水平部(M1)120例(31.3%)、島部(M2)61例(15.9%)、ACA5例(1.3%)、PCA14例(3.6%)、VB系12例(3.1%)、閉塞血管なし78例(20.3%)、評価不能27例(7.0%)、その他4例(1.0%)であった。血管内治療が施行されたのは37例で、閉塞血管はICA15例、M114例、M22例、椎骨動脈

(vertebral artery; VA)1例、脳底動脈(basilar artery; BA)5例であった。

rt-PA投与前にMRAにより閉塞血管を評価した症例は352例(全体の91.7%)で、発症からMRAまでの時間は103±40分であった。そのうち、主幹動脈(ICA, MCA, ACA, PCA)閉塞を認めた263例(MRA評価全体の74.7%)を対象として検討したところ、rt-PA投与後、2時間以内にMRAで再開通の有無を確認した症例は71例で、rt-PA投与からフォローアップのMRAまでの時間は68±21分であった。rt-PA投与後、2時間以内にDSAで再開通の有無を確認した症例は31例で、rt-PAからDSAの穿刺までの時間は82±30分であった。16例が2時間以内にMRA, DSAともに施行されており、発症2時間以内にMRAもしくは、DSAで再開通の有無が確認できた症例は合計86例(主幹動脈閉塞の32.7%)であった。

24時間以内の評価は、血管内治療を施行した31例と脳梗塞を再発したM2閉塞の1例を除外した54例(主幹動脈閉塞の20.5%)で行った。54例中rt-PA投与後24時間以内にMRAの評価を行った症例は7例で、rt-PAからMRAまでの時間の中央値は21時間57分、DSAで評価を行った症例は3例で、rt-PA投与からDSA穿刺までの時間の中央値24時間58分であった。24時間以内のMRAの評価の47例、MRAとDSAを併用した評価の44例は、2時間以内の再開通の有無で24時間以内の再開通の有無を代用した。

MRA, MRAとDSAの併用による2時間以内の再開通をTable 1に示す。MRAを用いた評価では、ICA閉塞の再開通率は25.0%、M1閉塞44.7%、M2閉塞69.2%、ACA閉塞0%、PCA閉塞0%、MCA(M1+M2)閉塞51.0%、主幹動脈(ICA, ACA, MCA, PCA)閉塞42.3%であった。MRAとDSAを併用した評価では、それぞれ、23.1%、39.5%、69.2%、0%、0%、46.4%、37.2%であった。閉塞部位毎に再開通率を比較すると、MRAとDSAを併用した評価では、ICAの再開通率に比べて、M1の再開通率は有意差なく($p=0.160$)、M2の再開通率が高かった($p=0.005$)。

24時間以内の再開通をTable 2 に示す。MRAを用いた評価では、ICA閉塞の再開通率は36.4%、M1閉塞55.2%、M2閉塞90.0%、ACA閉塞0%、PCA閉塞0%、MCA(M1+M2)閉塞64.1%、主幹動脈(ICA、ACA、MCA、PCA)閉塞53.7%であった。MRAとDSAを併用した評価では、それぞれ、45.5%、58.6%、90.0%、0%、0%、66.7%、57.4%であった。閉塞部位毎に再開通率を比較すると、MRAとDSAを併用した評価では、ICAの再開通率に比べ、M1の再開通率は有意差なく($p=0.455$)、M2の再開通率が高かった($p=0.031$)。

症候性頭蓋内出血は血管内治療を施行された37例を除外した347例で検討した(Fig.1)。全体では8例(2.3%)であり、ICA閉塞で2例、M1閉塞で3例、M2閉塞で3例認めた。ICA閉塞の4.2%(2例/48例)、M1閉塞の2.8%(3例/106例)、M2閉塞の5.1%(3例/59例)、ICA、ACA、MCA、PCA閉塞患者の3.4%(8例/232例)、ACA、MCA、PCA閉塞患者の3.3%(6例/184例)であった。ICA、M1、M2の閉塞血管別では、症候性頭蓋内出血の発生率に有意差は認めなかった(ICAと比較した、M1、M2の発生率は各々 $p=0.647$ 、 $p=1.000$)。

3ヵ月後のmRSを、血管内治療を施行された37例と、転帰を確認できなかった10例を除外した337例で検討した。転帰良好(mRS 0-1)は全体の38.6%(130例/337例)、ICA、ACA、MCA、PCA閉塞患者の33.8%(76例/225例)、ACA、MCA、PCA閉塞患者の38.3%(69例/180例)、日常生活自立(mRS 0-2)は全体の50.1%(169例/337例)、ICA、ACA、MCA、PCA閉塞患者の43.6%(98例/225例)、ACA、MCA、PCA閉塞患者の48.9%(88例/180例)であった(Fig.2)。閉塞血管別では、転帰良好(mRS 0-1)はICA 15.6%(7例/45例)、M1 34.0%(35例/103例)、M2 40.7%(24例/59例)、閉塞血管なし 53.3%(40例/75例)であり、ICA閉塞はそれ以外に比較して転帰良好が少なかった($p<0.001$)、日常生活自立(mRS 0-2)はICA 22.2%(10例/45例)、M1 44.7%(46例/103例)、M2 49.2%(29例/59例)、閉塞血管なし 69.3%(52例/75例)であり、ICA閉塞はそれ以外に比較して日常生活自立が少なかった($p<0.001$)。

Table 1 Recanalization rates within 2 hours after the initiation of rt-PA

MRA (modified Mori grade)	Patients(%)				
	0	1	2	3	Total
ICA	9(56.3)	3(19.8)	3(18.8)	1(6.3)	16
M1	20(52.6)	1(2.6)	12(31.6)	5(13.2)	38
M2	4(30.8)	0(0)	5(38.5)	4(30.8)	13
ACA	1(100.0)	0(0)	0(0)	0(0)	1
PCA	2(66.7)	1(33.3)	0(0)	0(0)	3
Total	36	5	20	10	71

MRA,DSA (modified Mori grade, TICCI)

MRA,DSA (modified Mori grade, TICCI)	Patients(%)				
	0	1	2	3	Total
ICA	17(65.4)	3(11.5)	5(19.2)	1(3.8)	26
M1	24(55.8)	2(4.7)	10(23.3)	7(16.3)	43
M2	4(30.8)	0(0)	5(38.5)	4(30.8)	13
ACA	1(100.0)	0(0)	0(0)	0(0)	1
PCA	2(66.7)	1(33.3)	0(0)	0(0)	3
Total	48	6	20	12	86

Table 2 Recanalization rates within 24 hours after the initiation of rt-PA

MRA (modified Mori grade)	Patients(%)				
	0	1	2	3	Total
ICA	3(27.3)	4(36.4)	2(18.2)	2(18.2)	11
M1	13(44.8)	0(0)	9(31.0)	7(24.1)	29
M2	1(10.0)	0(0)	5(50.0)	4(40.0)	10
ACA	1(100.0)	0(0)	0(0)	0(0)	1
PCA	2(66.7)	1(33.3)	0(0)	0(0)	3
Total	20	5	16	13	54

MRA,DSA (modified Mori grade, TICCI)

MRA,DSA (modified Mori grade, TICCI)	Patients(%)				
	0	1	2	3	Total
ICA	2(18.2)	4(36.4)	3(27.3)	2(18.2)	11
M1	12(41.1)	0(0)	8(27.6)	9(31.0)	29
M2	1(10.0)	0(0)	5(50.0)	4(40.0)	10
ACA	1(100.0)	0(0)	0(0)	0(0)	1
PCA	2(66.7)	1(33.3)	0(0)	0(0)	3
Total	18	5	16	15	54

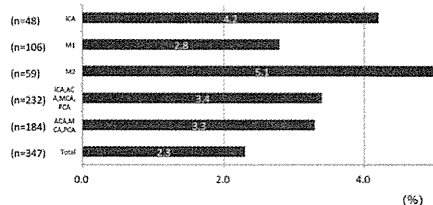


Fig.1 Symptomatic intracerebral hemorrhage within the initial 36 hours a deterioration in NIHSS score ≥ 4 from baseline

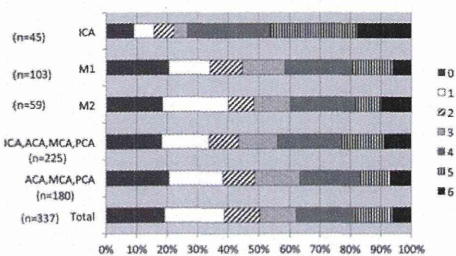


Fig.2 Modified Rankin Scale at 3 months by different sites of occlusion

死亡(mRS 6)は、全体の 6.2%(21 例/337 例)、ICA, ACA, MCA, PCA 閉塞患者の 8.9%(20 例/225 例)、ACA, MCA, PCA 閉塞患者の 6.7%(12 例/180 例)であった。閉塞血管別では、ICA 17.8%(8 例/45 例)、M1 5.8%(6 例/103 例)、M2 10.2%(6 例/59 例)であり、ICA閉塞はそれ以外に比較して死亡が多かった(p<0.001)。

D. 考察

新規超音波血栓溶解装置の臨床開発時に参照するデータの収集を行った。

現在までのrt-PA静注療法後の再開通の評価は、アルテプラゼ投与量は 0.6mg/kg, 0.9mg/kg の 2 種類での報告があり、また再開通の評価は経頭蓋超音波ドプラ法(transcranial Doppler ultrasonography; TCD), CTA, MRA, DSAといった多様な手段が使用され、評価のタイミングもさまざまであった(Saqqur M, et al. Stroke 2007, Bhatia R, et al. Stroke 2010, Lee KY, et al. Stroke 2007, Kimura K, et al. Eur Neurol 2009, Kimura K et al. J Neurol Sci 2008, 青木ら. 臨神経2010)。今回われわれは、0.6mg/kg のrt-PA静注療法を施行された患者を対象に、MRA, DSAの所見のみを用いて検討を行った。TCDや経頭蓋カラードプラ法(transcranial color-coded sonography; TCCS)を除外した理由は、日本人ではTCDやTCCSに必要な側頭骨窓が良好な症例が少なく、血流が流れていても頭蓋内血管が描出されない可能性が高いためである(Suzuki R, et al. Cerebrovasc Dis 2012)。本研究は、低侵襲的低周波超音波装置による急性期血栓溶解療法開発のための参照データの収集が目的であり、本装置の治療対象となると予測されるICA, MCA, ACA, PCA閉塞もしくは

MCA, ACA, PCA閉塞をまとめた検討を追加した。

現在までに報告されているrt-PA投与後の閉塞血管の再開通率について結果を示す。

Bhatiaら(Bhatia R, et al. Stroke 2010)は、CTAでICA, M1, M2 閉塞が示された 388 例を対象に、rt-PA(0.9mg/kg)静注療法開始後 120 分までに施行したTCD、もしくは、血管内治療目的で施行したDSAで再開通の評価を行った。再開通をTCDで thrombolysis in brain ischemia(TIMBI)3-5, DSAでthrombolysis in myocardial ischemia(TIMI)2-3 と定義したとき、ICA終末部の再開通率は 4.4%(1 例 /24 例)であり、M1 は 32.3%(21 例 /65 例)、M2 は 30.8%(4 例 /13 例)、BA は 4.0%(1 例 /25 例)であった。Leeら(Lee KY, et al. Stroke 2007)は、アルテプラゼ(0.9mg/kg)投与後、中央値 120 分(60-365 分)に DSA を行い、TICI 2 以上を再開通ありとして評価している。入院時にCTAで主幹動脈閉塞を認めた 31 例のうち、ICAもしくは、M1 閉塞の再開通は 12.5%(2 例 /16 例)、M2 以遠閉塞 27.3%(3 例 /11 例)、BA閉塞 50.0%(2 例 /4 例)であった。われわれの研究とこれらの報告を比べると、アルテプラゼ0.9mg/kgを使用している点、CTAを用いて入院時の閉塞血管の評価をしている点、一部TCDで再開通率の評価をしている点が異なっていた。アルテプラゼの投与量が違うため、再開通率を今回の結果と直接比較することは困難であるが、近位側脳主幹動脈の再開通率が低い点は今回の結果と同様であった。

MRAを用いてMCA(M1, 41 例;M2, 17 例)閉塞患者のアルテプラゼ(0.6mg/kg)投与後の再開通を前向きに観察した Japan Alteplase Clinical Trial II(J- ACT II)(Mori E, et al. Stroke 2010)の報告では、MCA閉塞患者の 6 時間後の再開通率は 51.7% であり、24 時間後の再開通率は 69.0% であった。Kimuraら(Kimura K, et al. Eur Neurol 2009)は、ICA, MCA閉塞のある 64 例の患者にアルテプラゼ(0.6mg/kg)投与後MRA を用いて再開通の評価を行い、42 例の MCA閉塞(M1, 30 例;M2, 12 例)のうち、1 時間後の早期再開通は 52.3%(完全再開通 19.0%, 部分再開通 33.3%)、

24 時間後では 80.9%(各々 47.6%, 33.3%), ICA 閉塞の 22 例では1 時間後 31.8%(各々 4.5%, 27.3%), 24 時間後 51.9%(各々 14.3%, 47.6%)に再開通を認め、ICAで再開通率が低いことを示している。J-ACT II, Kimuraらの報告とわれわれの研究を比較すると、われわれの研究では画像の評価にMRAに加えてDSAも用いている点、少数ではあるがACAやPCAの閉塞症例に関して検討している点が異なっている。今回の研究に、ACAやPCA閉塞患者も含めたのは、CTのみでrt-PA静注療法を施行する施設も多く、閉塞血管の評価なしに新規超音波血栓溶解装置を使用することも想定したためである。今回の検討では、ACAやPCA閉塞患者は、24 時間以内にMRAやDSAを施行する症例が少なく、合計で 4 例が検討できたのみであり、4 例とも 24 時間後まで再開通は認めないという結果であった。ACA, PCA閉塞の検討に関しては、症例数が少なかったため、更なる症例の蓄積と検討が必要であろう。また、われわれの研究では、rt-PA投与後 2 回目の再開通評価は、24 時間後には全例では行われておらず、24 時間後に再開通を評価しなかった症例は、2 時間後の再開通の有無で 24 時間後の再開通の有無を代用している。

われわれの結果のうち M1 と M2 を合わせたMRAでの 24 時間後の再開通率 64.1%(25 例 /39 例)を、本邦から報告されている J-ACT II(Mori E, et al. Stroke 2010)の再開通率である 69.0%(40 例/58 例)や Kimuraら(Kimura K, et al. Eur Neurol 2009)の再開通率 80.9%(34 例/42 例)と比較すると、24 時間後の再開通率がやや低かった。これらの国内報告と今回の結果とを合わせると、M1, M2 閉塞患者の 24 時間後の再開通率は 71.2% と計算された。

症候性頭蓋内出血は欧州の市販後調査である SITS- MOST の 1.7%(Wahlgren N et al. Lancet 2007), 本邦の市販後調査であるJ-MARS研究の3.5%(Nakagawara J, et al. Stroke 2010)と同様の結果であった。3 カ月後の転帰良好も、SITS-MOSTの 38.9%, J-MARS の 33.1%, SAMURAI rt-PA 登録研究の 33.2% と同様であった。

われわれの研究にはいくつかの問題点がある。1 つ目は後ろ向き観察研究であること、2 つ目はMRAやDSAの検査のタイミングにバラツキがあり、症例によって検査の施行時間に差があった。また、24 時間後の再開通の評価と症候性頭蓋内出血、3 カ月後の転帰の評価において、rt-PA静注療法後に閉塞血管に対して経皮経管的脳血栓回収用機器を使用した症例は除外した。このため症例選択にバイアスが生じ、rt-PA静注療法がもたらす再開通率や転帰が過大評価された可能性がある。

E. 結論

急性期脳梗塞に対するrt-PA静注療法時に、MRA, DSAによる血管閉塞や再開通など頭蓋内血管の経時的観察を行い、超音波血栓溶解療法を併用しない場合の閉塞血管再開通頻度を評価した。これらのデータを新規超音波血栓溶解装置開発の際の歴史対照として役立てたい。

F. 研究発表

1. 論文発表

1, 鈴木理恵子, 古賀政利, 山本晴子, 大山賢, 徳永敬介, 松木孝之, 長束一行, 豊田一則, 峰松一夫. rt-PA静注療法による閉塞血管早期再開通率の検討: 虚血性脳卒中に対する新規超音波血栓溶解装置開発の対照データ. Neurosonology 28 (1): 1-5, 2015

2. 学会発表

なし

G. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

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

経頭蓋カラードプラ法における探触子頭部固定具の開発

研究協力者	大山 賢	国立循環器病研究センター	脳血管内科	医師
研究分担者	古賀 政利	国立循環器病研究センター	脳卒中集中治療科	医長
研究協力者	鈴木理恵子	国立循環器病研究センター	脳血管内科	医師
研究分担者	山本 晴子	国立循環器病研究センター	先進医療・治験推進部	部長
研究分担者	峰松 一夫	国立循環器病研究センター		副院長

研究要旨 経頭蓋カラードプラ法に用いる探触子頭部固定具はその固定の難しさから市販されておらず、有限会社アンリミット・ジャパンと共同で開発した。頭部を固定するヘルメット型を採用し、いくつかの試作を経て、現在商品化を目指している。今後は臨床応用に向けて、前向きに研究を行い、最終的には商品化を目指していく方針である。

A. 研究目的

経頭蓋ドプラー法(TCD)の探触子頭部固定具は市販されているが、経頭蓋カラードプラ法(TCCS)の探触子固定具は市販されていない。この探触子はより大型で重く固定が難しい。今回、有限会社アンリミット・ジャパンと共同でTCCSに用いる探触子頭部固定具を開発した。

B. 研究方法

アンリミット・ジャパン側が開発した頭部固定具を、実際に患者に使用し、有用性について評価した。

対象は平成25年7月から平成27年3月までの当院に入院した患者を対象とした。昨年去年に引き続いてTCCSで側頭骨窓から脳血管の観察が可能な患者で、固定具を使用し頭蓋内血流が安定して観察可能な、脳梗塞の原因となる微小栓子シグナル(microembolic signal: MES)の検出が可能か、血管同定までの時間と頭部装着感等をTCDの頭部固定具と比較し、それぞれについて検討した。

(倫理面への配慮)

本研究は、侵襲性が極めて低い検査であるが、事前に倫理委員会への承認を得ており、被験者のインフォームド・コンセントを受けた上で検査を行った。

C. 研究結果

TCCS用探触子頭部固定具と、TCD用探触子頭部固定具の血管を同定するまでの時間を20例の患者で比較した。TCCS用探触子では4分13秒±15分47秒(平均値±SD)、TCD用探触子では10分12秒±11分31秒(p=0.0009)であり、症例を増やしても、TCCS用探触子頭部固定具は有意に血管同定までの時間が短かった。また、TCD用探触子頭部固定具では体動で位置がずれる事が多く、再固定にも時間がかかったが、TCCS用探触子頭部固定具は体動によるずれが少なく、再固定も容易であった。頭部の装着感に関しては、TCD用探触子頭部固定具では長時間の装着で不快感を訴える患者が数例いたが、TCCS用探触子頭部固定具では、不快感の訴えは無かった。

D. 考察

前回の報告では、我々がアンリミット・ジャパンと共同で開発したTCCS用探触子固定具が、TCD用探触子固定具と比較し短時間での固定が可能であったことを少数例で確認したが、今回更に症例数を増やし、TCCS用探触子頭部固定具が血管同定までの時間が有意に短いことが確認できた。また、TCCS用探触子固定具の方が、血管の位置がずれた場合に再固定が容易であり、頭部装着感も優れており、TCCS用探触子が使用可能な超音波装置の普及率を考慮すると、今後TCDの代替の検査と考える。

また、経食道心エコーの代替の検査として、TCCS用頭部固定具による右左シャントの検査が検査者1人で可能なことや、MRAや脳血管造影検査で血管閉塞が診断された急性期脳卒中患者に対し、閉塞血管の再開通の評価ができる可能性もあり、TCCS用探触子頭部固定具の更なる有用性が確立可能と考える。

E. 結論

TCCS用探触子頭部固定具を開発した。今後は前向きに臨床応用を重ね、商品化を進めていく予定である。

F. 健康危険情報 なし

G. 研究発表 なし

H. 知的財産権の出願・登録状況 なし

血栓選択的RGDバブルリポソームの開発 凍結乾燥製剤化に関する実験

研究分担者 丸山 一雄 帝京大学 教授

研究要旨 我々は、独自にバブルリポソームの膜表面に血栓（活性化血小板）特異的結合能を有する環状化RGDペプチドを修飾したRGD-バブルリポソーム（RGD-BL）を開発した。RGD-バブルリポソームは活性化血小板結合能を有し、超音波診断装置下で血栓造影能を有することが示された。そこで、RGD-バブルリポソームの実用化を考慮して、その凍結乾燥製剤化について検討した。RGD-バブルリポソームは凍結乾燥前後において、粒子径、パーフルオロプロパン含量、HUVEC細胞に対する結合性に大きな差異が認められず、長期保存可能な凍結乾燥製剤化を確立した。

A. 研究目的

虚血性疾患の治療では、表1に示す様にt-PA、超音波、マイクロバブルの三者併用時に血流再開通率が最高値を示した臨床研究がある。三者併用による再開通率の向上のメカニズムは、血栓を形成しているフィブリンの網目構造が超音波の振動作用と超音波によるバブルの振動作用によって開口し、t-PAの血栓浸潤を促進させるためである。その際、バブルを血栓に集積させることが出来れば、より効率的に血栓溶解を促進できると推察される。

・脳梗塞治療における血流再開通率	
t-PA単独	23.9%
t-PA + TCD(経頭蓋超音波ドプラ)	40.8%
t-PA + TCD + マイクロバブル	54.5%

Reference・・・Molina CA et al. stroke, 2006.

表1 超音波、マイクロバブル併用による血栓溶解促進効果

バブルリポソームはパーフルオロプロパンを内封した超音波造影効果を有する小胞であり、超音波出力や周波数をコントロールすることにより、超音波診断のみならず、薬物・遺伝子デリバリー、発熱による温熱療法にも応用可能なツールである。さらにバブルリポソームには様々なターゲティング分子を容易に修飾可能であるため、標的組織・部位特異的な診断・治療が可能になると期待される。

このように様々な機能を有するバブルリポソームは疾病の診断から治療まで包括的に行うことのできる優れたツールになり得る。前年度までに、血栓（活性化血小板）に高発現するGPIIb/IIIa分子と高親和性を持つ環状化RGDペプチドを付与した環状化RGD-バブルリポソームを調製し（図1）、血栓集積能、血栓溶解能を評価した。その結果、RGD-バブルリポソームは超音波診断装置下で血栓造影能を有することが示されたが、調製後の安定性に欠くことが問題となった。そこで、RGD-バブルリポソームの実用化を考えると、調製してから使用までの保存安定が重要であり、凍結乾燥製剤化が必須条件であると考え、本研究を遂行した。

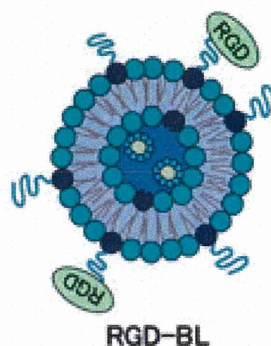


図1 RGD-バブルリポソームの模式図

B. 研究方法

(1) BLの調製

脂質組成をDSPC: DSPE-PEG(2k)-OMe:

DSPE-PEG (3k)-Mal:cholesterol= 64: 1: 5: 30 (モル比) とし、総脂質量100 μ molをクロロホルム4 mLに溶解させ、ジイソプロピルエーテル4 mLとPBS 4 mLを加え、バス型ソニケーターでエマルジョン化を行った。その後、エバポレーターを用いて逆相蒸発法によりリポソームを調製した。これを凍結融解を3回繰り返した後、エクストルージョン法により粒子径を100-200 nmに調整した。

調製したリポソームを二等分し、一方には12.5 mmolのRGDペプチド (CGGc (RGD fK)) 溶液を加え、もう一方には12.5 mmolのコントロールペプチド (CGGc (DGR fK)) 溶液を加え、静かに攪拌しながら4℃で一晩反応させた。各種リポソームを1 mg/mLとなるようにPBSで希釈し、このリポソーム懸濁液2 mLを5 mLバイアル瓶に入れた。C₃F₈ガス7.5 mLで置換・加圧し、バス型ソニケーターで5分間超音波照射することでバブルリポソームとした。

(2) パーフルオロプロパン (C₃F₈) ガス封入量の測定

バブルリポソーム (BL) の入ったバイアル瓶を開封し、常圧とした後に、ガスタイトシリンジを用いてBLを採取した。このバブルリポソーム500 μ Lを測定用のバイアル瓶に移し、ガスクロマトグラフ (SHIMADZU GCMS-QP2010 +HS-20) によりC₃F₈ガス封入量を測定した。

(3) 粒子径の測定

BLの入ったバイアル瓶をバイアルオープナーで静かに開封し、常圧とした後に、PBSで100倍希釈した。このBL懸濁液の粒子径を動的光散乱法により測定した。

(4) RGD-バブルリポソームの凍結乾燥製剤化と復水処理

RGD-バブルリポソーム懸濁液を9%スクロースで希釈して1 mg/mLとし、2mLをバイアル瓶に入れた。その後、バイアル瓶内の気相部分をパーフルオロプロパン

7.5mLで置換し、キャップした。さらにパーフルオロプロパン10 mLで加圧し、バス型ソニケーターを用いて超音波照射した。その後、バイアル瓶のキャップを開け、液体窒素を用いて凍結した。このバイアル瓶を凍結乾燥器 (EYLA FDU-1100, DR C-1100) にセットし、凍結乾燥した後に、パーフルオロプロパンで常圧にし、さらに7.5mLのパーフルオロプロパンで加圧した。調製した凍結乾燥RGD修飾バブルリポソームを室温にて長期保存した。

使用直前に超純水2 mLを加え攪拌することで復水した。

(5) HUVEC細胞との結合実験

DiO標識RGD-バブルリポソームの凍結乾燥製剤を腹水処理後、HUVEC細胞との結合性を、4℃、15分間接触させてフローサイトメトリーで評価した。

C. 研究結果

(1) RGD-バブルリポソームの凍結乾燥製剤化と復水処理

RGD-バブルリポソームの凍結乾燥製剤化を9%スクロースの溶媒のもとで行った結果、図2に示すようなケーキ状の凍結乾燥製剤が調製できた。9%スクロース以外の溶媒のものとは、凍結乾燥製剤化は困難であった。超純水を添加し、かるく振盪するだけで、凍結乾燥前の状態に戻ったので、パーフルオロプロパンガスの再封入を、造



図2 RGD-バブルリポソームの凍結乾燥製剤の形態と凍結乾燥前と復水処理後の形態の比較

影装置で確認したところ、図3のように、凍結乾燥前と同様の輝度を持つ超音波像を得ることができた。



図3 復水処理後の凍結乾燥RGD-バブルリポソームの超音波造影能

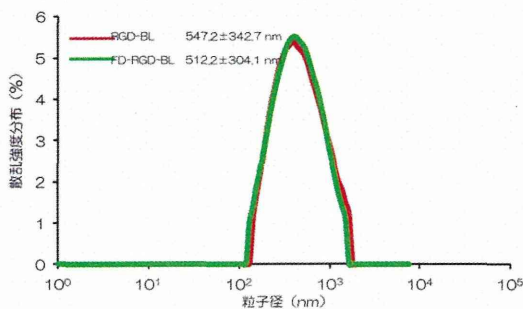


図4 凍結乾燥製剤化前後における粒子径の変化

図4に示すように、凍結乾燥前後における粒子径(=520nm)に大きな差異は無かった。したがって、RGD-バブルリポソームは9%スクロースの存在下で凍結乾燥ができ、長期間の保存が可能となった。

(2) 凍結乾燥RGD-バブルリポソーム製剤のパーフルオロプロパン保持量

復水した凍結乾燥RGD-バブルリポソーム500 μ Lをガスクロマトグラフィ用バイアル瓶に入れ、ゴム栓・アルミキャップで密封した後、超音波洗浄槽を用いて1分間超音波照射し、バブルを完全に崩壊させ、ガスクロマトグラフによりパーフルオロプロパンガス封入量を測定した。

復水処理しても、図5に示すように、7 μ L/mg lipidの封入量が得られ、ほぼ凍結乾燥前に戻ることが認められた。

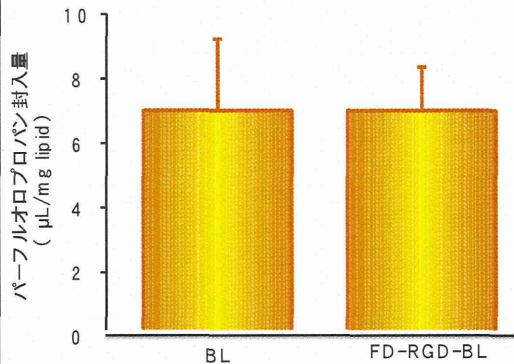


図5 凍結乾燥前と後における封入パーフルオロプロパン量の比較

(3) 凍結乾燥RGD-バブルリポソーム製剤のHUVEC細胞との結合性実験

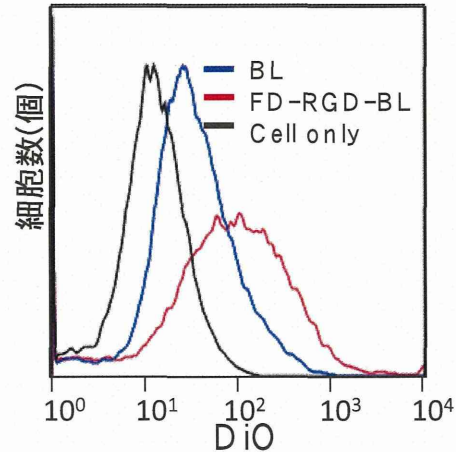


図6 HUVEC細胞との結合性実験

DiO標識RGD-バブルリポソームの凍結乾燥製剤を腹水処理後、HUVEC細胞との結合性を評価したところ、図6.に示すように凍結乾燥前と同様な結合性が見られ、凍結乾燥による影響は見られなかった。

D. 考察

9%スクロースの溶媒下で調製されたRGD-バブルリポソームの凍結乾燥製剤化において、9%スクロースは膜保護作用を有し、腹水処理をしても元の状態に戻すことができた。このような凍結乾燥操作は、リポソーム製剤でも多用されている方法で、他にトレハロースもRGD-バブルリポソームの凍結乾燥製剤化に用いることができると考えられる。凍結乾燥状態のバブルリポソームの形態について興味あるが、電顕等で調べる必要があり、本研究では遂行出来なかった。SONAZOIDも凍結乾燥製剤と供給されているが、RGD-バブルリポソームと同様の凍結乾燥形態をしていると考えられる。凍結乾燥製剤化によって、長期間の保存が可能となり、また、純水の添加と振盪だけで凍結乾燥前の状態に完全に戻ることから、実用化に一步前進したと言える。

E. 結論

RGD-バブルリポソームは凍結乾燥前後において、粒子径、パーフルオロプロパン含量、HUVEC細胞に対する結合性に大きな差異が認められず、長期保存可能な凍結乾燥製剤化を確立できた。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Kohsuke Hagiwara, Toshihiko Nishioka, Ryo Suzuki, Kazuo Maruyama, Yasuhiro Nishida, Kiyoshi Iida, Huai Luo, Robert J. Siegel. Thrombus targeted perfluorocarbon containing liposomal bubbles for enhancement of ultrasonic thrombolysis - in vitro and in vivo study - J. Thrombosis and Haemostasis. 11, 1565-1573, 2013
- 2) Nobuhito Hamano, Yoichi Negishi, Kyohei Takatori, Yoko Endo-Takahashi,

Ryo Suzuki, Kazuo Maruyama, Takuro Niidome, Yukihiro Aramaki.

Combination of Bubble liposomes and high-intensity focused ultrasound (HIFU) enhanced antitumor effect by tumor ablation.

Biological & Pharmaceutical Bulletin 37 (1), 174-177, 2014.

- 3) Ren Koda, Jun Koido, Naoto Hosaka, Shinya Onogi, Takashi Mochizuki, Kohji Masuda, Ryo Suzuki, Kazuo Maruyama.

Evaluation of active control of Bubble liposomes in a bifurcated flow under various ultrasound conditions.

Advanced Biomedical Engineering 3, 21-28, 2014

2. 学会発表

- 1) 小田雄介, 鈴木亮, 小俣大樹, 根岸洋一, 川上茂, 樋口ゆり子, 橋田充, 丸山一雄

日本薬学会第134年会、2014, 3, 27
凍結乾燥バブルリポソームの開発と特性評価

- 2) 丸山一雄

第17回日本栓子検出と治療学会、2014, 10, 04

バブルリポソームによる超音波セラノスティクス

- 3) Daiki Omata, Ryo Suzuki, Yusuke Oda, Johan Unga, Mutsumi Seki, Hitoshi Uruga, Yoichi Negishi, Kazuo Maruyama

Focused Ultrasound 2014 Int. Symposium 2014, 10, 13

Brain Targeted Gene Delivery by Combining Bubble Liposomes and Ultrasound

研究成果の刊行に関する一覧表

書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ
	なし						

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Tanaka K, Koga M, Sato K, Suzuki R, Minematsu K, Toyoda K.	Three-dimensional analysis of the left atrial appendage for detecting paroxysmal atrial fibrillation in acute ischemic stroke.	Int. J. Stroke	9	1045-1051	2014
田中 弘二, 古賀 政利, 大山 賢, 徳永 敬介, 佐藤 和明, 鈴木 理恵子, 峰松 一夫, 豊田 一則	リアルタイム3次元経食道心臓超音波検査を用いた急性期虚血性脳血管障害における左心耳の3次元評価.	脳卒中	36	260-265	2014
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.	Ultrasonics	59	94-101	2015
鈴木理恵子, 古賀政利, 山本晴子, 大山賢, 徳永敬介, 松木孝之, 長束一行, 豊田一則, 峰松一夫.	rt-PA静注による閉塞血管早期再開通率の検討: 虚血性脳卒中に対する新規超音波血栓溶解装置開発の対照データ.	Neurosonology	28	1-5,	2015
Kohsuke Hagisawa, Toshihiko Nishioka, Ryo Suzuki, Kazuo Maruyama, Yasuhiro Nishida, Kiyoshi Iida, Huai Luo, Robert J. Siegel	Thrombus targeted perfluorocarbon containing liposomal bubbles for enhancement of ultrasonic thrombolysis - in vitro and in vivo study -	J. Thrombosis and Haemostasis	11	1565-1573	2013

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Nobuhito Hamano, Yoichi Negishi, Kyohei Takatori, Yoko Endo-Takahashi, Ryo Suzuki, Kazuo Maruyama, Takuro Niidome, Yukihiko Aramaki	Combination of Bubble liposomes and high-intensity focused ultrasound (HIFU) enhanced antitumor effect by tumor ablation.	Biological & Pharmaceutical Bulletin	37	174-177	2014
Ren Koda, Jun Koido, Naoto Hosaka, Shinya Onogi, Takashi Mochizuki, Kohji Masuda, Ryo Suzuki, Kazuo Maruyama	Evaluation of active control of Bubble liposomes in a bifurcated flow under various ultrasound conditions.	Advanced Biomedical Engineering	3	21-28	2014

Three-dimensional analysis of the left atrial appendage for detecting paroxysmal atrial fibrillation in acute ischemic stroke

Koji Tanaka¹, Masatoshi Koga^{2*}, Kazuaki Sato¹, Rieko Suzuki¹, Kazuo Minematsu¹, and Kazunori Toyoda¹

Background Atrial fibrillation impairs left atrial appendage function and the thrombus formation in the left atrial appendage is a major cause of cardioembolic stroke.

Aims To evaluate the association between the volume of the left atrial appendage measured by real-time three-dimensional transesophageal echocardiography and presence of paroxysmal atrial fibrillation in patients with cerebral infarction or transient ischemic attack.

Methods Real-time three-dimensional transesophageal echocardiography was performed to measure left atrial appendage end-diastolic and end-systolic volumes to calculate left atrial appendage ejection fraction. Patients with normal sinus rhythm at the time of real-time three-dimensional transesophageal echocardiography were divided into groups with and without paroxysmal atrial fibrillation. Volumetric data were corrected with the body surface area.

Results Of 146 patients registered, 102 (29 women, 72.2 ± 10.7 years) were normal sinus rhythm at the examination. In 23 patients with paroxysmal atrial fibrillation, left atrial appendage end-diastolic volume (4.78 ± 3.00 ml/m² vs. 3.14 ± 2.04 ml/m², *P* = 0.003) and end-systolic volume (3.10 ± 2.47 ml/m² vs. 1.39 ± 1.56 ml/m², *P* < 0.001) were larger and left atrial appendage ejection fraction (37.3 ± 19.1% vs. 57.1 ± 17.5%, *P* < 0.001) was lower than in the other 79 patients without paroxysmal atrial fibrillation. The optimal cutoff for left atrial appendage peak flow velocity to predict paroxysmal atrial fibrillation was 39.0 cm/s (sensitivity, 54.6%; specificity, 89.7%; c-statistic, 0.762). The cutoffs for left atrial appendage end-diastolic volume, end-systolic volume, and ejection fraction were 4.52 ml/m² (sensitivity, 47.8%; specificity, 82.3%; c-statistic, 0.694), 1.26 ml/m² (sensitivity, 91.3%; specificity, 60.3%; c-statistic, 0.806), and 47.9% (sensitivity, 78.3%; specificity, 74.7%; c-statistic, 0.774), respectively. In multivariate analysis, all these parameters were independently associated with paroxysmal atrial fibrillation after adjusting for sex, age, diabetes mellitus, and previous stroke.

Conclusions Left atrial appendage volumetric analysis by real-time three-dimensional transesophageal echocardiography is a promising method for detecting paroxysmal atrial fibrillation in acute cerebral infarction or transient ischemic attack.

Correspondence: Masatoshi Koga*, Division of Stroke Care Unit, National Cerebral and Cardiovascular Center, 5-7-1 Fujishirodai, Suita, Osaka 565-8565, Japan.
E-mail: koga@ncvc.go.jp

¹Department of Cerebrovascular Medicine, National Cerebral and Cardiovascular Center, Osaka, Japan

²Division of Stroke Care Unit, National Cerebral and Cardiovascular Center, Osaka, Japan

Received: 17 October 2013; Accepted: 2 February 2014; Published online 13 March 2014

Conflict of interest: None declared.

Funding: This study was supported by a Grant-in-Aid for Scientific Research from the Japan Society for the Promotion of Science (JSPS KAKENHI grant number 24591084).

DOI: 10.1111/jvs.12268

Key words: atrial fibrillation, ejection fraction, ischemic stroke, left atrial appendage, real-time three-dimensional transesophageal echocardiography, volume measurement

Introduction

Atrial fibrillation (AF) is the most common arrhythmia and is a major risk factor of ischemic stroke (1). Paroxysmal AF (PAF) has a similar risk of embolism compared with chronic AF (2). Therefore, the identification of hidden AF in acute cerebral infarction or transient ischemic attack (TIA) patients with normal sinus rhythm (NSR) on admission is important for preventing further brain ischemia. In previous reports, left atrial volume index/late diastolic peak tissue Doppler velocity on transthoracic echocardiography (3), or plasma brain natriuretic peptide levels on admission (4) were useful for ruling out or predicting PAF in patients with NSR on admission.

The left atrial appendage (LAA) is an important site of thrombus formation in patients with AF. Two-dimensional (2D) transesophageal echocardiography (TEE) has been widely used for characterizing LAA structure and function. Enlargement of the 2D area of LAA and decreased LAA flow velocity were reported to be associated with AF, spontaneous echo contrast, and thrombus formation (5–7). Moreover, in patients with PAF, LAA flow velocity was significantly decreased even if their electrocardiogram (ECG) showed NSR at the time of TEE (8).

Three-dimensional TEE (3D-TEE) has advantages for volumetric analysis because it allows rotation of heart structures and slicing the images in any plane to enable accurate visualization of the cardiac chambers. Recently, real-time (RT) 3D-TEE was developed to allow real-time acquisition and display of cardiac structures with high quality images (9) that correlate well with cardiac CT (10).

In previous reports on RT 3D-TEE, the volume of LAA was larger (11) and ejection fraction (EF) of LAA was lower in patient with AF (12). However, there is little information on volumetric analysis of the LAA and the utility of volume and function parameters derived from TEE in stroke patients. This study aimed to elucidate the association between volume of the LAA measured by RT 3D-TEE and the presence of PAF in patients with acute cerebral infarction or TIA.

Methods

Study subjects

We retrospectively analyzed data from prospectively collected consecutive acute stroke patients who were admitted to our facility and underwent RT 3D-TEE. Participants referred for RT 3D-TEE were diagnosed with acute cerebral infarction or TIA on admission.