

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強く勧められる治療法として広く行われているのが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26年度は、ラットを用いた超音波照射安全性評価、ヒト頭蓋骨超音波透過率測定、変調による超音波透過率変動の抑制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、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。)

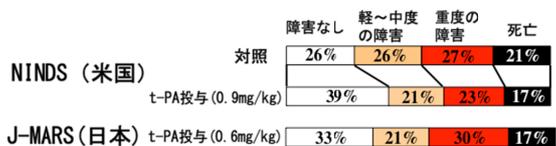


図1 rt-PA療法の臨床効果

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時間半に延長された。また、2014年には、rt-PA投与と血管内治療による血栓除去を組み合わせた治療法が、rt-PA単独治療に比べて有意な予後改善効果を示すことが、オランダのグループから発表された。その発表に続き、現在までこの組み合わせ治療が、rt-PA単独治療に比べて優れていることが4つの臨床試験で報告された。この組み合わせ治療が、血管内治療が実施できる医療機関では日本の標準治療となる日も近い。現在、脳卒中の救急の現場では、よりよき予後に向かって積極的に治療を成してゆく機運が大いなる高まりを見せている。このような今年背景の下、超音波照射によってrt-PAの血栓溶解を積極的に促進する本治療法の開発に対する期待は益々高まっていると言える。

超音波血栓溶解促進療法において最も重要なことは、有効で安全な超音波照射である。この超音波照射 + rt-PA静注併用療法で血栓溶解が促進される主要なメカニズムは、経頭蓋的超音波照射によってrt-PA分子のフィブリン網目への浸透が促進されることである。当然、その浸透促進作用は超音波強度が大きければその作用は強くなるが、強い超音波照射による生体への障害が懸念されることとなる。

これまでに、超音波血栓溶解促進療法の臨床試験は数件実施されたが、未だ認可

に到った例は無い。それらのうちで代表的な臨床試験の2つを表1にまとめ、有効性と安全性について述べてみたい。

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

CLOTBUST試験では、血流再開率の有意な増加が観察されたが、臨床のエンドポイントである、3ヶ月後の臨床症状では有意な改善が得られなかった。この理由としては、用いた超音波の周波数(2MHz)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いため、血栓の患部に実際に届く超音波強度が低すぎたためと推測されている。

一方、TRUMBI試験の場合には、非常に大きな割合の症候性脳出血が起こって、臨床試験は途中で中断する事態となった。この出血の理由としては、照射した低周波数(300kHz)の超音波に起因するキャピ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推察されている。この2つ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

このような背景の下に本研究では、頭蓋骨透過性の高い中周波数超音波を用いて溶解促進効果が大きく(有効性が高い)、定在波抑制技術によって脳出血発症リスクを下げる(安全性が高い)ことができる超音波照射+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。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。

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。

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。

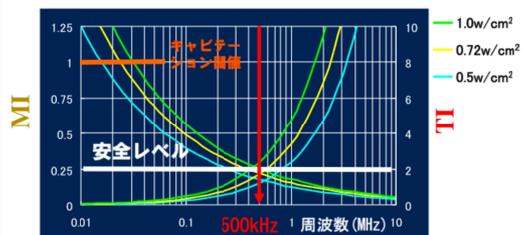


図2 超音波周波数と機械作用、発熱作用との関係

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、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。

本研究においては照射する超音波に変調を加えることで、超音波振動の規則性に基づく定在波発生を抑制しようという戦略である。この戦略は本研究グループの世界に誇るオリジナリティーである。また、本研究中に超音波のその干渉作用により、頭蓋骨透過率が患者毎に大きく変動する可能性について検討を行い、その変動を小さくして(平準化して)、より有効で安全な超音波血栓溶解促進療法の構築を目指す。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」が常識と考えられてきた。一方、我々はモデル計算してみると周波数、皮膚の厚さの微妙な違いによって頭蓋骨透過率は大きく変動することが予想された。もし頭蓋骨透過率の変動が従来考えられてきた以上に大きなものであるならば、超音波血栓溶解促進療法において、その有効性と安全性に対する重要な因子が従来では見逃されてきたこととなる。この変動を平準化する技術としても変調超音波は有効と考えられる。

よって、変調超音波技術を用いることで、有効性と安全性に関して従来から重要と考えられてきた問題解決に加えて、

従来見過ごされてきた問題の解決を計る点において、本研究の先進性がある。

(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する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。本研究の開始当初は、柔軟性のあるソフト素材の超音波振動子を目指したが、要求する発信性能が得られなかったために、従来のハードな素材を用い、皮膚接着用のゲルを工夫することで目的の貼付型という要件は満たすことに成功した。

(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。本研究は、同装置のプロブを頭部に容易、かつ確実に固定する用具の開発も実行する。

(5) バブルリポソーム投与によるさらなる血栓溶解促進

超音波照射による血栓溶解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、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の開発のための基礎研究を実行する。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、三秀毅、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26年度の実施項目

- 1, 超音波の効果と安全性
 - (1)MRIによる脳中大動脈塞栓状態の解析
 - (2)超音波頭蓋骨透過率の測定とその超音波透過率変動の超音波変調による平準化
 - (3) in vitro 血栓溶解作用の定量法
- 2, 貼付型超音波振動子
超音波血栓溶解補助医療機器の製品化
- 3, 臨床研究プロトコル
 - (1)治験プロトコル案作製
 - (2)rt-PA治療のヒストリカルデータ解析
 - (3)経頭蓋カラードブラ用探触子固定具の開発
- 4, バブルリポソーム
in vivo での血栓特異性の評価

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)MRIによる脳中大動脈塞栓状態の解析
従来は一つの脳梗塞モデルとされてきたラット中大動脈塞栓法が、完全塞栓と不完全塞栓の場合に分けられることが、9.4T MRI測定により明らかとなった。

(2)超音波頭蓋骨透過率測定とその超音波透過率変動の超音波変調による平準化
前年度に実証した骨ファントムプレートと同様にヒト頭蓋骨の場合にも、超音波透過率に大きな変動があることを明らかにし、その変動が超音波変調により抑制できることを実証した。

(3)in vitro血栓溶解作用の定量法
ヒト全血から作製した血栓での測定法を確立し、0.3 W/cm²照射強度でも明確な血栓溶解促進作用が測定できた。

2, 貼付型超音波振動子

超音波血栓溶解補助医療機器の製品化

(1)全血血栓の超音波溶解加速性評価

0.5 W/cm²超音波照射群において有意な血栓溶解加速効果を確認した。

(2)超音波安全性評価

ラットでの超音波照射安全性評価法を確立し、最大強度2.8 W/cm²照射まで、著名な障害性を観察しなかった。

(3)超音波振動子設計

インピーダンスマッチング法を用いることで、必要な発信性能の振動子を得ることができた。

(4)超音波振動子装着具設計

超音波減衰の少ない装着用ゲルを選定した。

(5)超音波駆動装置設計

安全性と有効性の要求事項を考慮して設計仕様の詳細設計に着手した。

3, 臨床研究プロトコル

(1) 治験プロトコル案作製

治験プロトコル案を作製した。この案に

基づいて新規超音波血栓溶解装置の臨床治験が計画される予定である。

(2)ヒストリカルデータ解析

急性期虚血性脳卒中に対するrt-PA静注療法を施行した384例について、早期再開通率、症候性頭蓋内出血発生率と3ヵ月後転帰を解析した。

(3)経頭蓋カロードプラ用探触子固定具の開発

TCCSに用いる探触子頭部固定具を開発した。この固定具は今後商品化を目指していく方針である。

4, 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。

D. 考察

臨床試験の開始するための技術的・臨床的な基盤を確立することを目指した平成26年度はほぼ計画通りに研究が進行した。今後はこの確立した基盤に沿って臨床試験開始に向かって進んでゆく。

E. 結論

(達成度90%と考える)