

それは、超音波ビームの均一化指標 (UI) である。振動子によって形成される超音波音場の均一性を評価する指標で、この UI の定義式と説明を以下に示す。

2 次元 (x, y) 平面における音響強度分布を  $f(x, y)$  [W/cm<sup>2</sup>] とすると 2 次元ユニフォーミティ・インデックス UI<sub>2D</sub> は次式で定義する。

$$UI_{2D} = \frac{\int \sqrt{\left(\frac{\partial f}{\partial x}\right)^2 + \left(\frac{\partial f}{\partial y}\right)^2} dx dy}{\int f(x, y) dx dy} \quad [m^{-1}]$$

ここで積分範囲は音響強度分布が零でない範囲に亘って取る。分子における微分項によって、変化の激しさを捉えようとしている。分母は全音圧である。全音圧で割ることによって、音響強度が全体的に定数倍  $f \rightarrow \alpha f$  になっても ( $\alpha$  は定数)、UI<sub>2D</sub> は不変になっている。この性質により、振動子の駆動電圧に依らずに均一性を評価することができる。また、UI<sub>2D</sub> は (x, y) 平面を回転させても不変となっている。すなわち変換

$$\begin{aligned} x' &= \cos \theta x + \sin \theta y \\ y' &= -\sin \theta x + \cos \theta y \end{aligned}$$

によって不変に保たれる。また、鏡映変換や平行移動のもとでも不変となっており、合わせてユークリッド変換不変性を持つ。

定義より UI<sub>2D</sub> の値が小さいほうがビームの均一性が高いこととなる。

1 次元のユニフォーミティ・インデックス UI<sub>1D</sub> は、2 次元の場合の y 依存性を落として、次式によって定義する。

$$UI_{1D} = \frac{\int \left| \frac{\partial f}{\partial x} \right| dx}{\int f(x) dx} \quad [m^{-1}]$$

1 次元の場合も音響強度が全体的に定数倍になっても指標の値は不変に留まる。1 次元の場合、次のようにして分子の意味が明確になる。分子の積分をおこなうとき、次のように区間を分ける。簡単の為、始点を極小点とする。

$$\int_{\text{始点}}^{\text{終点}} = \int_{\text{極小点 1}}^{\text{極大点 1}} + \int_{\text{極大点 1}}^{\text{極小点 2}} + \int_{\text{極小点 2}}^{\text{極大点 2}} + \dots$$

極小値から極大値に向かうときには、 $df/dx \geq 0$  であり、極大値から極小値に向かうときには  $df/dx \leq 0$  であるから、絶対値記号を外せて、分子を I とおくと

$$I = \int_{\text{極小点 1}}^{\text{極大点 1}} \frac{df}{dx} dx - \int_{\text{極大点 1}}^{\text{極小点 2}} \frac{df}{dx} dx + \int_{\text{極小点 2}}^{\text{極大点 2}} \frac{df}{dx} dx - \dots$$

となり、積分を実行すると、

$$I = (f(\text{極大点 1}) - f(\text{極小点 1})) + (f(\text{極大点 1}) - f(\text{極小点 2})) + (f(\text{極大点 2}) - f(\text{極小点 2})) + \dots$$

となる。これは、隣接する極大値と極小値の差を加えたものである。

$$I = \sum_{\text{隣接する組}} |( \text{極大値} ) - ( \text{極小値} )| \\ I = 2 \times ( ( \text{極大値の総和} ) - ( \text{極小値の総和} ) )$$

ともなる。

本実験で使用した骨片を図 7 に示す。この骨片はヒト頭蓋骨の側頭部に相当している。厚さは骨の場所によって異なり、薄い所で 0.62mm、厚い所では 3.3mm 程度となっている。



図 7 使用した骨片

図8に実験系を示す。信号生成器 (AFG3102; Tektronix, OR, USA) から 500kHz、1.5Vppの正弦波を発生させ、増幅器 (HSA4101; NF Co, 横浜, 日本) で10倍に増幅した後、水槽中の振動子に印加した。なお、印加波形はオシロスコープ (TDS3012; Tektronix, OR, USA) を用いて観測した。本実験で用いた振動子は上田日本無線社製の直径24mmのポーラス円形振動子であった。超音波の焦点位置は、振動子面から約45mmである。本実験ではこの焦点位置に骨片を配置した。その理由は、この位置でビームが滑らかでビーム幅が狭いからである。骨を透過した超音波をハイドロフォン (ONDA HNC-0400) で測定した。ハイドロフォンの位置はコンピューターで制御されており、縦・横・高さの3方向に移動できるようになっている。ハイドロフォンの先端の位置は骨片から数mm離れた。

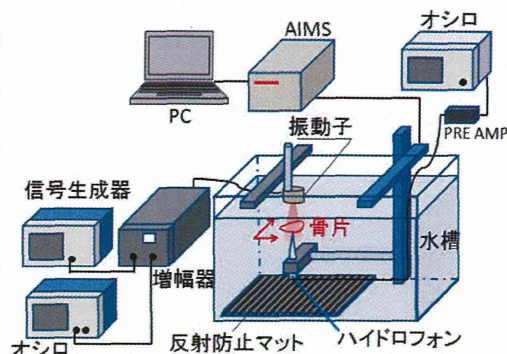


図8 音響強度測定装置 (AIMS)

図9に振動子と骨片とハイドロフォンの位置を示した。ハイドロフォンの原点を振動子の中心軸上に取り、ビーム軸に垂直な面上を±5mm四方にわたって、0.2mm間隔で走査し、2次元音場分布を測定した。骨片の位置を移動させて、測定をおこなうことを20回繰り返した。

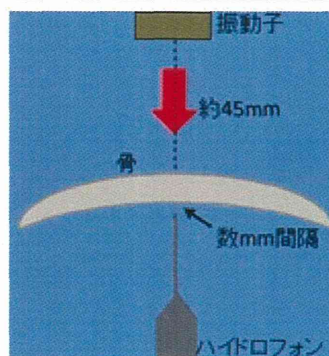


図9 振動子と骨片とハイドロフォン

### (1-b) 頭蓋骨透過率の計算による推定

超音波透過率の実測に先立ち、理論から計算で透過率の推定を行った。これは、どのような実測を行うべきであるかという実験方針を導くことと、理論と実測がどの程度一致するかを検証するためである。

計算のモデルとしては、 $n$ 層モデルを用いた。このモデルは、平面波が  $n$  層を透過する簡潔なモデルである。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。

モデルは図10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。

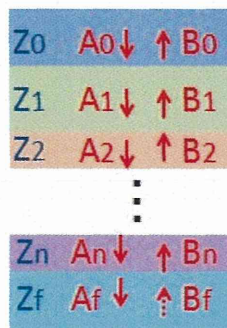


図10 層を伝播する平面波

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



$A_0$  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

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

と定義し各層内に対して行列  $D_m$  を

$$D_m = \begin{pmatrix} e^{-ik_m d_m} & 0 \\ 0 & e^{-ik_m d_m} \end{pmatrix}, \quad (m = 0, \dots, n),$$

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、

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

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

エネルギー透過率  $\tau$  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。

超音波透過率は、ヒト頭蓋骨を測定する前に、骨ファントム板での測定を行った。これは、骨の各種物性を模した板で、均一で平坦であるので、モデル計算との対比が容易である。

実験装置の概略を図 1 1 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。

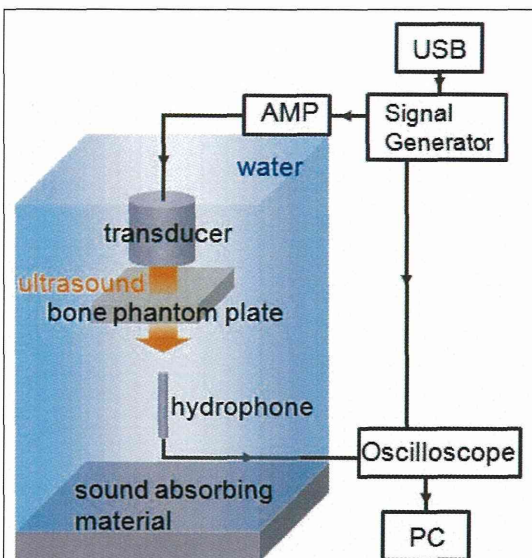


図 1 1 実験系

本実験に用いた振動子を図 1 2 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 1 2 実験に用いた振動子

実験に用いた骨ファントム板を図 1 3 に示す。音速は 2884m/s、密度は 1664 kg/m<sup>3</sup>、吸収率は 4.02 dB/cm/MHz であり、ヒト



図 1 3 実験に用いた骨ファントム板

頭蓋骨を模したパラメーターとなっている。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。透過した超音波強度は図5に示したハイドロフォンを用いて測定した。

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。

次に、ヒト頭蓋骨の測定を行った。測定対象としては治療対象となる日本人高齢者の頭蓋骨で慈恵会医科大学解剖学講座に保管されている献体を用いた。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14、15、16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。

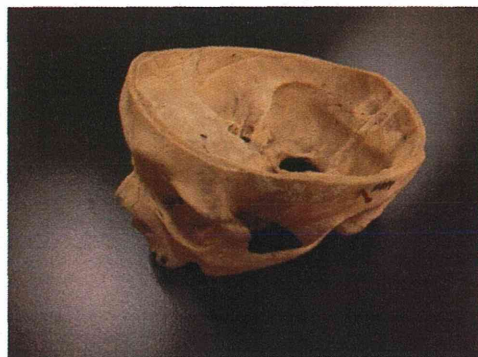


図14 頭蓋骨4737



図15 頭蓋骨13



図16 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17、18、19に示す。図18が頭蓋骨を保持する部分であり、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19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付けられ、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。

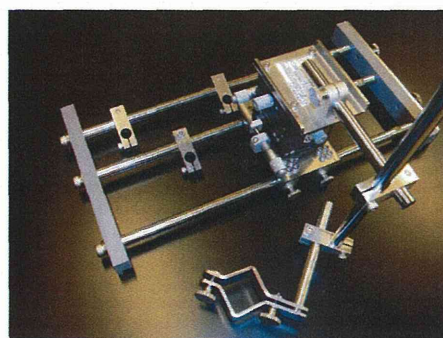


図17 頭蓋骨固定具



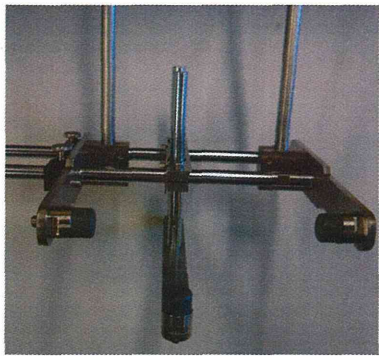


図 1 8 頭蓋骨保持部

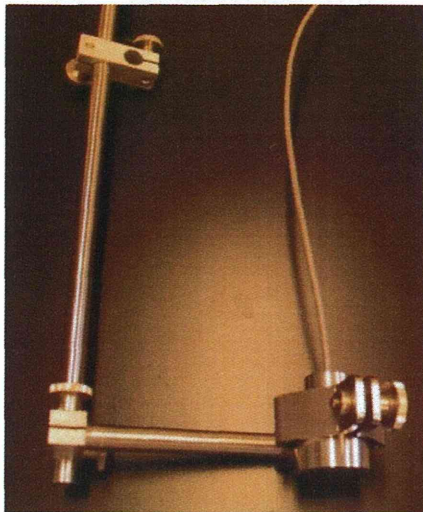


図 1 9 振動子保持部

頭蓋骨のプラスチックモデルを固定した様子を図 2 0, 2 1 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。

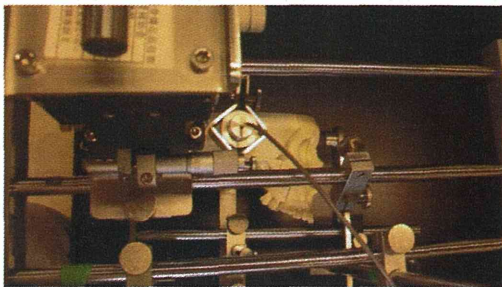


図 2 0 頭蓋骨のプラスチックモデルを固定した様子（側頭部）

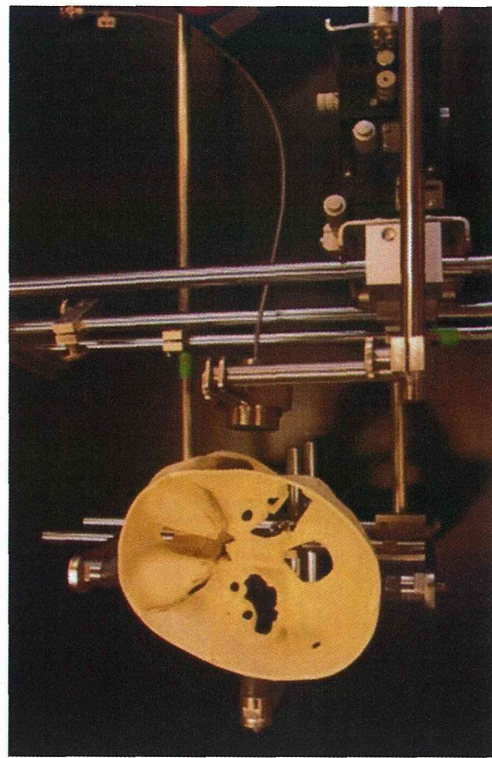


図 2 1 頭蓋骨のプラスチックモデルを固定した様子

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 2 2）。

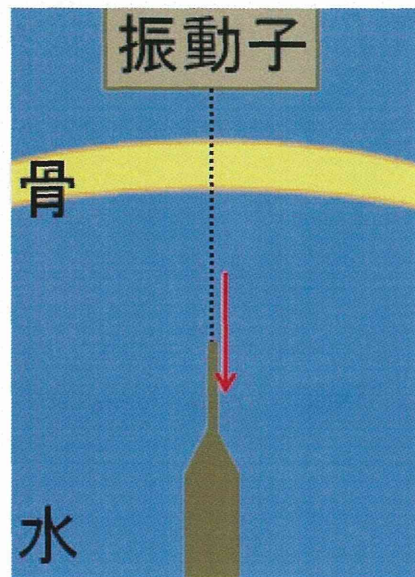


図 2 2 Z 軸方向の音響強度分布測定



3点選び（図23）、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24）。測定の様子を図25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。

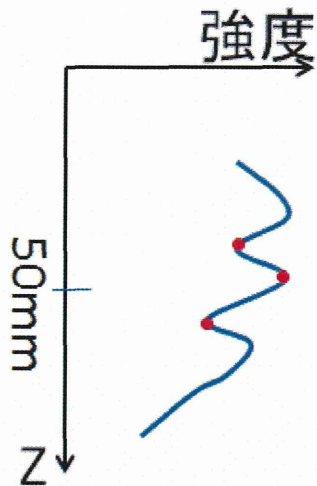


図23 Z=50mm 付近の3つの極値

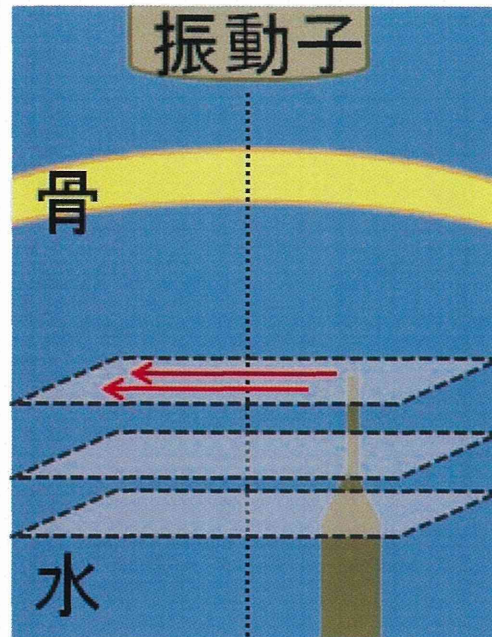


図24 Z=50mm 付近の3つのZの値それぞれで2次元プロット

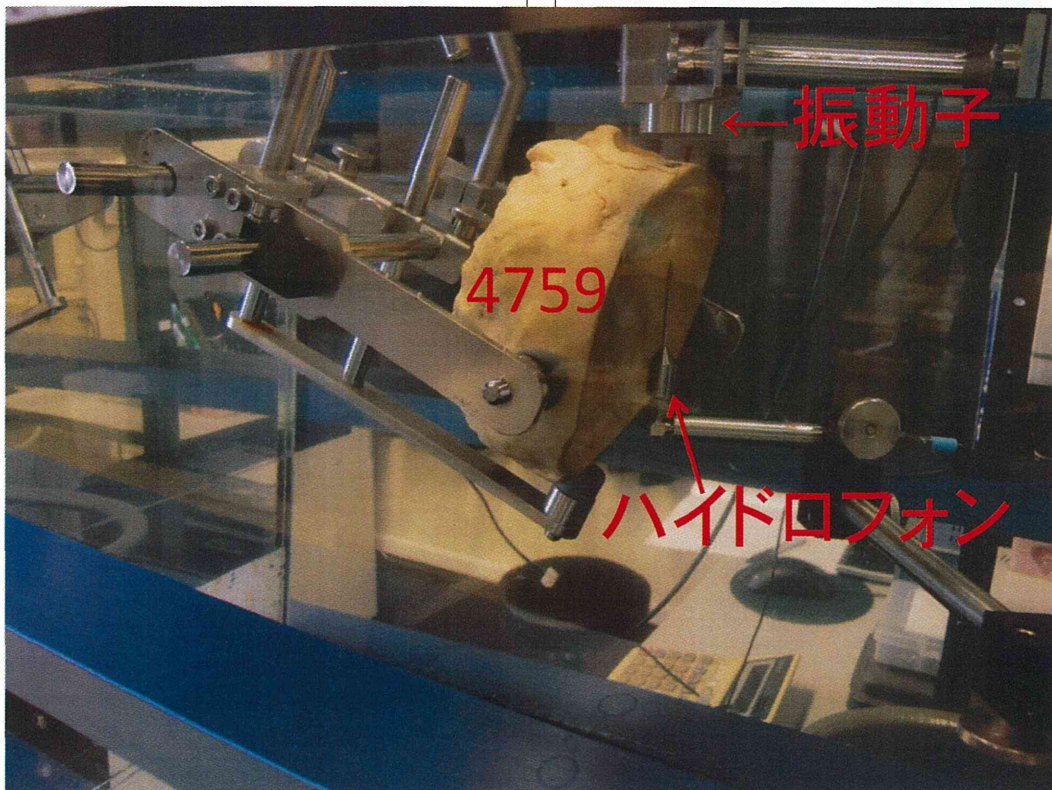


図25 頭蓋骨測定の様子



### ヒト頭蓋骨の測定ポイントの見出し方

完全な平らな骨ファントム板の場合と異なり、頭蓋骨透過実験の場合には、超音波が屈折してプローブを向けた方向に直進しない場合がある。つまり、超音波プローブ中心と hidroフォン中心を結ぶ線（中心軸）から超音波の照射強度中心がずれる場合である。中心軸に対して直角方向の2次元に hidroフォンを走査させて、超音波強度の2次元マップを作成する。図26に一例を示す。図26では、超音波プローブの中心線（グレーの線の交差点）から、hidroフォンによる測定強度の最強の点が5mm以上ずれている。超音波プローブの照射位置を hidroフォンが観測する超音波強度の最も強い位置に移動して、この交差点と最強点のずれを小さくする。この作業を繰り返して、観測される超音波の最強な点が、中心軸から2mm以内に収まるようにする。図27には、超音波プローブの中心線からのずれのほとんどない例である。上記の作業を行う出発点として、臨床におけるカラードップラーでの経験から頭蓋骨のこめかみ部に片側に3点候補点を挙げて、この3点から上記の作業をして、選んだ点を測定ポイントとした。左右両側の測定を行うと一つの頭蓋骨あ

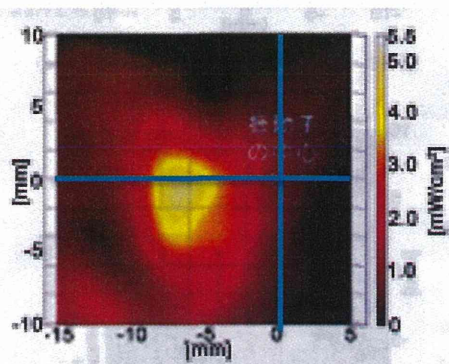


図26 超音波透過率測定の様子  
(屈折による超音波の中心のずれは5mm以上ある)

たり6点の測定点があることになるが、2つの出発点から1つの測定点に収束したり、頭蓋骨切断面の延長上に測定ポイントがある挙動などを取ることもあり、6箇所未満の測定ポイントとなった頭蓋骨もあった。各測定ポイント毎に上下2mmずらした4点を加えて測定した。

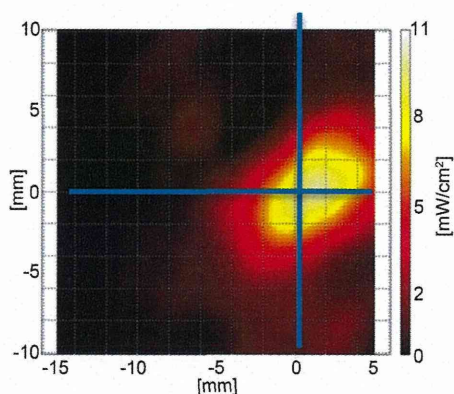


図27 超音波透過率測定の様子  
(屈折による超音波の中心のずれは2mm以内に収まっている)

超音波プローブから hidroフォンまでの距離は50mmに固定した。これは、上記のようにして測定ポイントを決めた後に、50mmから距離を前後してその強度変化を観察したところ、図28に示すようにその変化が小さかったからである。

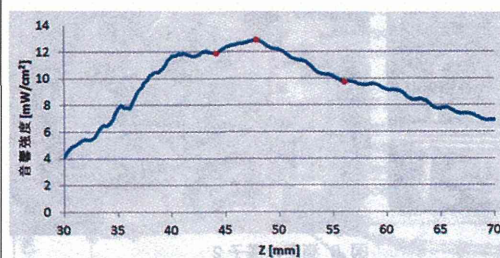


図28 超音波プローブと hidroフォンの距離(z)を変えたときの音響強度変化(500kHzでの照射)

## (2) in vitro血栓溶解作用の定量法

超音波血栓溶解促進療法の実施においては、照射する超音波にはパラメーター（周波数、波形、パルス長さ、繰り返し回数、音圧、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が大きく、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できない。

また、以上に述べた手段はほとんど一つの血栓から一つのデータしか得られないため、超音波強度と溶解促進率の関係解析には多数回の実験が必要で、実験の効率が非常に悪い。

それで、われわれは新しく2D式超音波血栓溶解評価法を考案、開発した。この新方法では、照射前後ごとに一つのシート状血栓から、百個単位（今現在は百個、今後はそれ以上も可能）の関心領域 (Region of Interest, ROI) からの血栓厚さのデータを取得可能で、各ROIの血栓変化と照射強度を対応させることで、超音波照射強度（又は音圧）と血栓溶解促進率の関係を一つの血栓から分析できる。また、血栓の厚さを分光学的に計測するために、機械的介入の懸念がなく、測定精度も高い。よって、従来法に比べて測定の精度と効率の両者ともに大幅に向上させることができる。この新方法を用いて、超音波照射併用によるウシ血栓の溶解促進効果を計測し、超音波強度と周波数との関係を解析した。

## 血栓作製セル

本研究の基本設計は、セルの中にシート状の血栓を作製し、血栓溶解剤を加えて密封した後、水浴中で超音波を照射するものである。そして、超音波照射強度と溶解促進の程度との関係を定量的に解析する。この解析のためには、血栓の各場所 (ROI) が実際に受ける超音波強度を正確に把握しなければならない。密封したセル中の血栓の正確な位置の音響強度分布の直接測定は不可能だが、水浴中でのハイドロホンの測定位置との差をなるべく小さくすべく、薄い素材で作製した (図 29)。新規作製したセルの外形は 80mm (L) × 80mm (D) で、内腔は 50mm (L) × 50mm (D) で、内腔の厚さはスパーサーによって 2、3、4、5、6mm に調整できる。

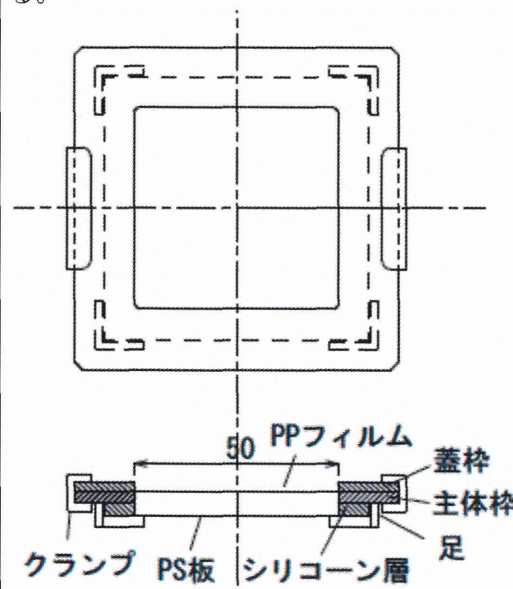


図 29 血栓セル。上図は上面図、下図は中心軸断面図

Acoustic Intensity Measurement System (AIMS Onda corporation, Sunnyvale, CA) を用いて、血栓セルの音場への影響を評価した。ハイドロホン血栓セルの底板の下方2mmにおいて音場分布をスキャンし、血栓セルなしでの測定結果と比較した。



### 血栓作製

図30に示すように、血栓カバー（緑色で表示）のリブは血栓作製セル本体（黒色で表示）のフレーム上にかけて、その下にシリコンスペーサーが配置されている。そのシリコンスペーサーの下面にはポリプロピレン（PP）フィルムが接着している。一方、セル本体の底にはポリスチレン（PS）シートが接着している。このPPシートとPSシート間のスペースに血栓形成用混合液を入れ、予定の時間後、血栓カバーを外して、均一のシート状血栓をセル本体底のPSシート上に作製した。

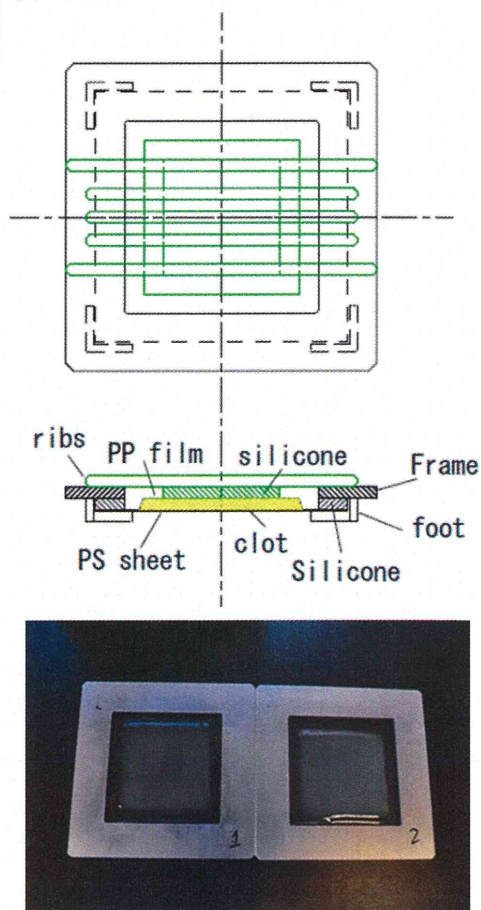


図30 血栓の作製。上図はセル本体（黒色で表示）と血栓カバー（緑色で表示）の組合せを上から見た図、中央図はその垂直断面図、下図は作成した二つの血漿血栓の様子

血栓の大きさは40mm×40mmで、その厚さはシリコンスペーサーの厚さを変えることで約1、2、3mmに調節した。

### 血栓厚さ測定法

血栓の厚さは分光光度計（日本分光株式会社）を改造して得た微小部位吸光度マッピング装置を用いて測定した。

（図31）

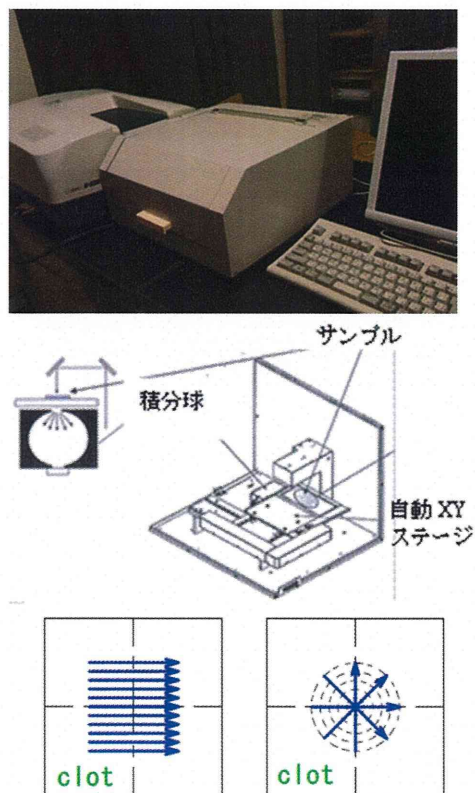


図31 微小部位吸光度マッピング装置

図31に示すように分光光度計から分光した光線を導出し、サンプルと光センサー（積分球）の間に自動XYステージを設けている。血栓セルを自動XYステージに乗せて、コンピュータによるコントロールで、サンプル（セルにある血栓）を移動させ、その各関心領域（ROI）を順次に光線の中心軸と合わせて、吸光度を測定する。

これと事前に測定した検量線と照合することにより、各領域の血栓の厚さを求める。なお、図31の下図に示すように、XYステージは格子状スキャンまたは放射状スキャンが可能であり、各々権量線セルとサンプルセルのスキャンに対応している。

#### 検量線作成

検量線用セル(図32)の上下2層の透明PSシート間に楔状の空間が設けてあり、そこに血栓形成用混合液を入れて、血栓セル内の血栓と同様な条件(温度、湿度及び時間)にて楔状の血栓を作成した。血栓の有る場合と無い場合(蒸留水充填)検量線用セルを、上記血栓厚さ測定装置に乗せて横方向にスキャンし、血栓と蒸留水の測定値の差分をとり、各厚さの対応する血栓吸光度を求めた。

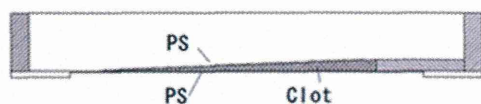


図32 検量線セルの垂直断面図

#### 超音波照射

超音波照射台に固定したプローブと血栓セルステージの位置関係と距離はXY及びZステージ(中央精機)で任意に調整可能、且つプローブの先端を血栓の中心軸上にしっかりと固定できるようにデザインした(図33)。また、同時に超音波暴露血栓、非暴露血栓を同時に検討できるようにした。超音波照射は、37℃の水槽内にプローブ先端を水面より2mm程度沈め照射を行った。その際、超音波の反射を防ぐため、水槽底面には15mmの専用超音波吸音材を敷いた。

使用した超音波振動子の音場分布及び血栓セルの音場への影響をAcoustic Intensity Measurement System (AIMS Onda Corporation, Sunnyvale, CA)を用いて測定した。

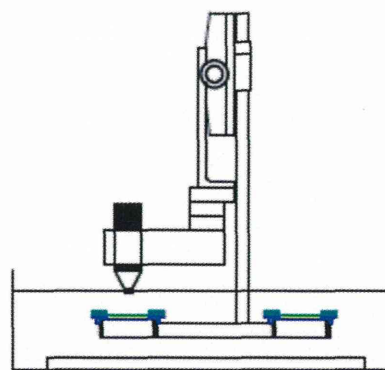


図33 超音波照射装置

#### 血栓の作製法

凍結乾燥ウシ血漿(sigma)を超純水で溶解したウシ血漿に対し、200 mM CaCl<sub>2</sub>を10%加えた(最終濃度:20 mM)溶液1.6mLを、上記血栓セル内で37℃ 30分間放置することで、40mm×40mm、厚さ約1.2mmのシート状血栓を作製した。血漿は血栓セル本体の上面PPフィルム(40mm×40mm×25μm(厚さ))と底面PSフィルムからなる厚さ1.5mmの空間に図34のように加えられた。予定の時間後、PPフィルムを外して、シート状血栓がセル本体のPSフィルム上に作製される。

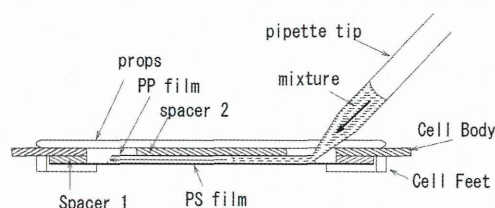


図34 血栓作製法 セル本体とそれにかけてPPフィルム間に血漿混合液をピペットで注入

ヒト血漿からの血栓作製の場合には、37℃解凍した後、①はシリンジフィルター(Millex® Syringe Filter Units, PES, 0.45μm, 33mm)で、②はガラス微繊維フィルター(GF/D: 2.7μm, 47mm)でろ過した。凍結したヒト血漿は Lot①BJ2592と Lot②BJ3299をコージンバイオ株式会社から購入した。