

奨励金No.1559

革新的血圧評価法の確立へ向けた超音波造影剤の開発

吉田 憲司

千葉大学 フロンティア医工学センター 准教授



Development of ultrasound contrast agents for innovative blood pressure evaluation

Kenji Yoshida,

Center for Frontier Medical Engineering, Associate professor

圧力評価用の超音波造影剤を開発することを目標に、造影剤を覆うリン脂質膜の種類が造影剤の耐圧特性に及ぼす影響を検討した。その結果、リン脂質のアシル鎖の長さや荷電性の有無により耐圧特性が変化したことから、圧力に対する造影剤の応答感度をリン脂質種の選択により調整できる可能性が示唆された。また、圧力評価の基盤技術となるバースト波支援動的造影超音波法を提案し、造影エコーの特徴を高時間分解能で解析できることを実証した。当該手法を確立できたことから、今後の造影剤開発が飛躍的に加速されることが期待される。

To develop an ultrasound contrast agent for pressure evaluation, we investigated the effect of phospholipid shell covering the contrast agent on the pressure resistance of the contrast agent. As a result, the pressure resistance changed depending on the length of the acyl chain of the phospholipid and the presence or absence of a charge, suggesting the possibility that the response sensitivity of the contrast agent to pressure can be adjusted by selecting the kind of phospholipid. We also proposed a burst-wave-aided contrast-enhanced active Doppler ultrasonography method as an essential technology for pressure evaluation and demonstrated that the characteristics of echo from individual contrast agents can be analyzed with high temporal resolution. This method is expected to accelerate the development of contrast agents in the future dramatically.

1. 研究内容

1.1. 目的

本研究の目的は、低侵襲な血圧イメージング法を造影超音波により実現することを目指し、血圧評価に適した超音波造影剤を開発することである。標準的な造影剤は分子膜で覆われており、膜の働きにより内部気体の周囲液体への溶解が抑制され、血中での寿命が向上する。一方で、分子膜には造影剤の膨張収縮運動を抑制し、エコー信号の強度を抑制するという負の側面もある。造影剤の動力学と音響散乱理論から、造影エコーの特徴が周囲液体の静圧に対して依存することは良く知られている。圧力が高い（低い）場合、造影剤の半径が

小さく（大きく）なり、エコー強度は弱く（強く）、エコー信号の中心周波数は高く（低く）なる。この特性を利用することで血圧を推定することができる。一部の研究では、門脈圧亢進症の評価に利用する試みも行われている。しかし、臨床で使用されている造影剤はあくまで脈管を高感度に可視化するために設計された造影剤であり、圧力評価に最適化されたものではない。血圧レベルの圧力変動に対して感度良くエコー信号の特徴が変化する造影剤を開発できれば、注射という低侵襲な手技のみで血圧イメージングを実現できる。

本研究では、エコーの特徴に深く関わる分子膜の座屈現象が生じる圧力を調べるため、造影剤の

基本的な特性（耐圧特性）を分子膜の種類ごとに調べた。次に、圧力評価のための高感度造影超音波法の開発を行った。圧力評価、さらにはその発展である圧力イメージングを行うためには、個々の造影剤のエコー信号を高精度に解析する必要がある。しかし、現状の造影超音波法では性能不足のため高精度な解析が困難である。この問題を解決するため、生体組織中においても造影エコーを高感度に検出する手法を開発し、エコー強度および周波数を詳細に解析できることを実証した。

1.2. 実施内容と結果

1.2.1 リン脂質種と耐圧性の関係

造影剤の耐圧性を検討する理由について説明する。造影剤懸濁液を加圧（減圧）する場合、造影剤が収縮（膨張）し、その変位が大きい場合には分子膜の座屈（破断）が生じる。この際に生じる造影剤サイズの変化はエコー強度の変化として現れる。また、膜の状態の変化は表面張力の違いとなり、エコー信号の周波数の変化として現れると期待される。一方で、加圧により造影剤サイズが減少すると、ラプラス圧の増加、内部気体の溶解という過程を経て、最終的には造影剤の消失に至る。座屈が生じる圧力閾値を大きく超えてしまうと造影剤が消失してしまうが、その圧力閾値を血圧の上限値程度に設定することで圧力変化に高感度に反応してエコー信号が変化すると考えられる。そこで、分子膜の座屈現象が起こる圧力閾値が造

影剤消失の圧力閾値と一致すると想定し、造影剤消失率の圧力依存性（耐圧特性）を検討した。分子膜としてはリン脂質を用い、リン脂質の疎水基のアシル鎖長や親水基の荷電性が造影剤としての耐圧特性に及ぼす影響について調べた。使用したリン脂質を表1に整理した。アシル鎖長の検討については、鎖長 16, 18, 20, 22 のフォスファチジルコリン (PC) を用いた。また、親水基の荷電性の検討については、荷電性が無いフォスファチジルコリン (PC)、荷電性を有するフォスファチジルグリセロール (PG) とフォスファチジルセリン (PS) を用いた。表1に示したリン脂質と DSPE-PEG2000 の混合リン脂質を膜とする造影剤を作成した。

耐圧性評価のための加圧機構は、シリンジポンプと注射針を用いた簡易機構を用いた。シリンジポンプに内径が既知の注射針を接続し、一定流量（速度）でシリンジの押し子を押し出し、内部を加圧した。定常流、非粘性、不圧縮、シリンジ筒が注射針よりも十分に太いという仮定の下、中心軸上の点 A のゲージ圧 P_A をベルヌーイの定理と連続の式から導出した次式により求めた（図1参照）。

$$P_A = \frac{\rho V^2}{2\pi^2} \left\{ \frac{1}{R_{\text{needle}}^4} - \frac{1}{R_{\text{syringe}}^4} \right\} \approx \frac{\rho}{2} \left(\frac{V}{\pi R_{\text{needle}}^2} \right)^2 \quad (1)$$

ρ は水の密度、 V は流量、 R_{needle} および R_{syringe} はそれぞれ注射針、シリンジ筒の半径である。実験

表1 実験に使用したリン脂質

Synonyms	Molecular Formula	Molecular weight [g/mol]	Transition temperature [°C]
PC (16:0/16:0)	$C_{40}H_{80}NO_8P$	734.039	41
PC (18:0/18:0)	$C_{44}H_{88}NO_8P$	790.145	55
PC (20:0/20:0)	$C_{48}H_{96}NO_8P$	846.252	66
PC (22:0/22:0)	$C_{52}H_{104}NO_8P$	902.358	75
PG (18:0/18:0)	$C_{42}H_{82}O_{10}PNa$	801.058	55
PS (18:0/18:0)*	$C_{42}H_{81}NO_{10}PNa$	814.057	68

*Purity of PS (18:0/18:0) was 87.2–88.4%, 10% of PC (20:0/20:0) and 1.6–2.8% of other components were included.

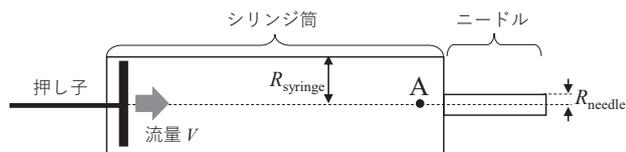


図1 シリンジを用いた加圧機構の模式図

では、内径0.175 mmの注射針を使用し、流量を変化させることで圧力を調整した。また、加圧前後の懸濁液中の造影剤の数密度 (N_{before} , N_{after}) を実測し、それらから消失率 L_N を次式により評価した。

$$L_{\text{ND}} = -\frac{N_{\text{after}} - N_{\text{before}}}{N_{\text{before}}} \quad (2)$$

図2に造影剤の消失率とゲージ圧の関係を示す。アシル鎖長が長い場合に造影剤が消失する圧力閾値が高いことがわかる。また、荷電性を有するPGは圧力閾値がPCと同程度であったが、PSについては明らかにPCやPGよりも圧力閾値が高くなった。荷電性の影響を見極めることは難しいが、リン脂質種を選択により座屈が生じる圧力を制御できる可能性が示唆された。今回の実験では、造影剤が消失する圧力閾値（ゲージ圧）が数kPa程度と標準的な収縮期血圧よりやや低い圧力であった。造影剤の消失にはリン脂質の他にも内部気体の特性も関わってくるため、今後は内部気体の種類も考慮して造影剤の最適化を行う予定である。

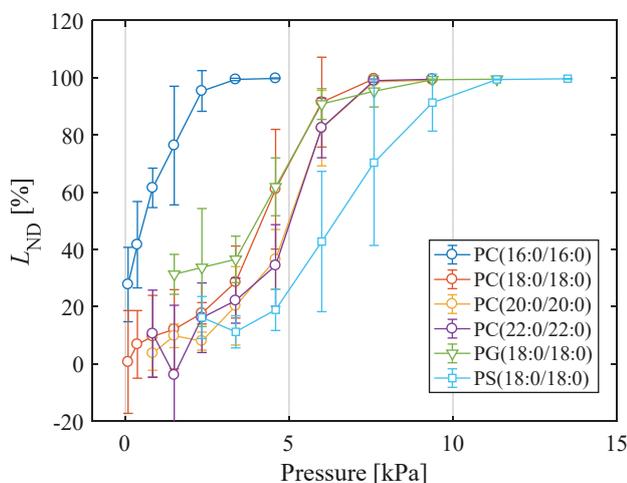


図2 リン脂質種毎の造影剤の消失率と圧力の関係

1.2.2 バースト波支援動的造影超音波法

エコー信号の変化を感度良く評価する方法として、バースト波の音響放射力を利用するバースト波支援動的造影超音波法を開発した。従来の造影超音波法では、血流が遅い場合には組織エコーと造影エコーをフィルタにより弁別することができず、造影エコーのみを解析することが困難であった。提案法では、画像化用のパルス波と造影剤を移動させるためのバースト波を交互に送信する（図3参照）。バースト波により造影剤が音波伝搬方向に移動するため、仮に計測対象が静止流体だとしてもフィルタを用いて組織エコーと弁別することが可能で、高感度に造影剤を検出できる。

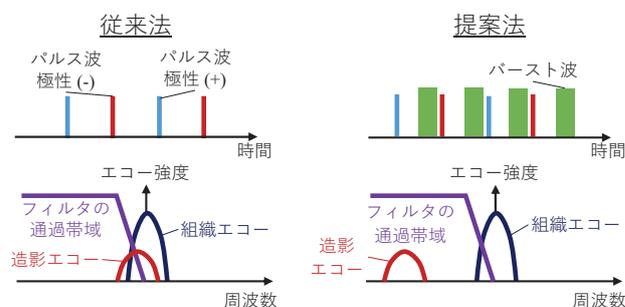


図3 従来法とバースト波支援動的造影超音波法の送信パルスシーケンス（上）と造影エコーのフィルタリングの模式図（下）

図4は、提案法によりファントム内部の造影剤を可視化した結果である。組織エコーを模倣するために、ファントム内には音響散乱体が含まれている。提案法では組織エコーをフィルタにより除去できるため、図4(a), (b)に示すように個々の造影剤のみを視認できる。高感度な造影剤の検出により個々の造影剤の追跡が可能となり、造影エコーの時間変化を高時間分解能で評価できる。図4(c)は、図4(a)中の造影剤Aの消失過程でのエコー信号の変化を、図4(d)はそのエコー信号に含まれる周波数成分の変化をフレーム毎（4.4 ms毎）に表示した結果である。図4(e), (f)はエコー信号の強度とピーク周波数の変化を評価した結果である。同図においてエコー強度が低下し、

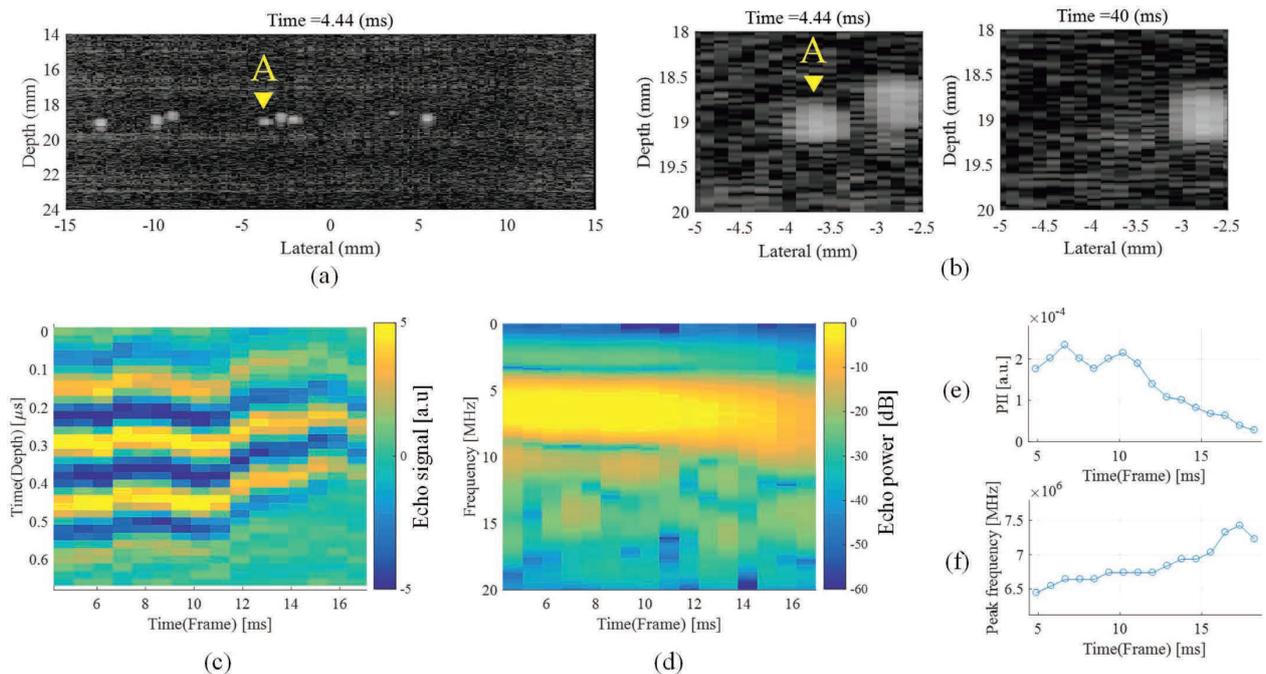


図4 バースト波支援動的造影超音波法による造影エコーの解析の一例。(a) ファントム内部を走行する流路中の造影剤の可視化、(b) 造影剤 A の時間経過に対する状態変化、(c) 造影剤 A からのエコー信号の時間変化、(d) 造影剤 A からのエコー信号の周波数スペクトルの時間変化、(e) (c) から評価したエコー強度の時間変化、(f) (d) から評価したピーク周波数の変化。

ピーク周波数が上昇するという傾向が確認できるが、この特徴は造影剤消失時における造影剤サイズの変化に対応するものであると推測される。

1.3. まとめ

リン脂質膜の種類が超音波造影剤の耐圧性におよぼす影響を検証した。その結果、リン脂質の種類により分子膜の座屈が生じる圧力閾値が制御できる可能性があることが示唆され、この知見は今後の血圧測定用超音波造影剤を開発する上で重要な基礎データになると考えられる。また、造影エコーの特徴を高時間分解能で評価できるバースト波支援動的造影超音波法を開発した。造影エコーの特徴を詳細に評価できるバースト波支援動的造影超音波法は、圧力と造影エコーの関係性を関係付ける手法として有用であり、かつ将来的な血圧イメージングを実現するために必須の方法になると考えている。基礎実験、検証実験において提案法を積極的に活用していくことで、今後の飛躍的

な研究推進が期待される。

2. 発表（研究成果の発表）

2.1. 査読付き学術論文

Kenji Yoshida, Masaaki Omura, Kazuki Tamura, Tadashi Yamaguchi, Detection of Individual Microbubbles by Burst-Wave-Aided Contrast-Enhanced Active Doppler Ultrasonography, IEEE Trans. Ultrason. Ferroelectr. Freq. Control., 71, 3, 2024, 380-393.

2.2. 学会発表

吉田憲司、大村眞朗、平田慎之介、山口匡、バースト波支援動的造影超音波法による単一マイクロバブルの可視化、日本音響学会第150回(2023年秋季)研究発表会、名古屋、2023年9月28日

吉田憲司、大村眞朗、平田慎之介、山口匡、リンパ機能評価のためのバースト波支援動的造影

超音波法の開発、日本超音波医学会第50回関西
地方会学術集会、神戸、2023年10月21日
吉田憲司、大村真朗、平田慎之介、山口匡、動
的造影超音波法への特異値分解フィルタの適用、
アコースティックイメージング研究会、千葉、
2023年12月6日