



Title	超音波造影剤ガラクトース・パルミチン酸混合物を用いた、家兔脳内血流の描出-基礎的検討-
Author(s)	石藏, 礼一; 安藤, 久美子; 長見, ゆき 他
Citation	日本医学放射線学会雑誌. 2004, 64(4), p. 204-209
Version Type	VoR
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/16377">https://hdl.handle.net/11094/16377</a>
rights	
Note	

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

# 超音波造影剤ガラクトース・パルミチン酸混合物を用いた、 家兔脳内血流の描出—基礎的検討—

石藏 礼一<sup>1)</sup> 安藤久美子<sup>1)</sup> 長見 ゆき<sup>1)</sup> 高田 恵広<sup>1)</sup>  
森川 努<sup>1)</sup> 中尾 宣夫<sup>1)</sup> 尾崎 功<sup>2)</sup> 福三田宗丈<sup>3)</sup>

1) 兵庫医科大学放射線医学教室 2) 同脳神経外科教室  
3) 日立メディカル株式会社

## Visualization of Brain Perfusion by Contrast-enhanced Ultrasonography: Preliminary study in rabbits

Reiichi Ishikura<sup>1)</sup>, Kumiko Ando<sup>1)</sup>,  
Yuki Nagami<sup>1)</sup>, Yoshihiro Takada<sup>1)</sup>,  
Tsutomu Morikawa<sup>1)</sup>, Norio Nakao<sup>1)</sup>,  
Isao Ozaki<sup>2)</sup> and Munetake Fukumita<sup>3)</sup>

**Purpose:** We evaluated the usefulness of an agent for contrast-enhanced ultrasonography (galactose parmitine acid: Levovist®) in visualizing brain perfusion in rabbits.

**Materials and Methods:** Six rabbits were involved in this study. A hole in the skull bone was made under anesthesia and used as an acoustic window. An ischemic model (3 of 6 rabbits) was made by surgically occluding the M1 portion of the middle cerebral artery. Power Doppler images (PDI) and B-mode Harmonic images (HI) before and after intravenous injections of the contrast medium (150 mg/body) were obtained using the HDI5000 (ATL) equipped with a linear-type 5-12 Mhz probe.

**Results:** Smaller arteries were clearly visualized by contrast-enhanced PDI. However, enhancement of brain parenchyma was not clear on PDI. Enhancement of brain parenchyma was observed clearly on contrast-enhanced HI. Enhancement was strong during the first pass and then diminished quickly. In ischemic models, hypoperfusion in the right cerebral hemisphere (the occluded side) were clearly observed on contrast-enhanced HI.

**Conclusion:** Brain perfusion in rabbits can be observed on contrast-enhanced Harmonic ultrasonographic imaging. It is suggested to be useful for human clinical cases, including hypoxic ischemic brain injury in infants.

Research Code No.: 502.2

**Key words:** brain, perfusion, ultrasonography, harmonic imaging, contrast media

Received Dec. 2, 2003; revision accepted Feb. 17, 2004

- 1) Department of Radiology, Hyogo College of Medicine
- 2) Department of Neurosurgery, Hyogo College of Medicine
- 3) Hitachi Medical Corporation

別刷請求先  
〒663-8501 西宮市武庫川町1-1  
兵庫医科大学放射線科  
石藏 礼一

## 緒 言

頭部超音波検査は大泉門が開存している新生児においてスクリーニング検査として広く用いられている。しかし、B-mode法での脳の形態変化、輝度変化の観察が中心の形態診断が中心であるため新生児虚血性脳症の評価においては感度、敏感度とも低いことが知られている<sup>1), 2)</sup>。パルスドプラによる主幹動脈のResistance Indexの測定、カラードプラ、パワードプラによる血流評価もなされているが、その有用性には限られている。これはドプラ法の評価が主幹動脈レベルの血流評価であり、末梢の脳実質の血流即ちパフュージョンの観察は従来超音波では困難であったためと考えられる<sup>3)</sup>。超音波造影剤Levovist®はマイクロバブルに超音波を照射することで画像のコントラストを得ている造影剤であり、末梢の血流情報、パフュージョンの観察を超音波で可能とする薬剤として注目されており、肝臓では造影ハーモニックイメージによる腫瘍血流評価に用いられている<sup>4), 5)</sup>。しかし、脳領域への超音波造影剤の臨床応用の報告は、成人の腫瘍例における術中超音波でパワードプライメージによる脳血管描出能の向上の報告が見られるのみであり、脳のパフュージョンの観察の検討は少ない<sup>6)-9)</sup>。今回著者は、臨床応用に先立って、超音波造影剤による、パワードプライメージとB-modeハーモニックイメージにおける正常家兔脳の造影パターンを検討し、脳内での造影剤の動態を観察するとともに、脳パフュージョンの描出能について評価を行った。また、虚血モデルを作成し、虚血病変の描出能についても検討を行ったので報告する。

## 対象および方法

対象は成家兔6匹(正常モデル3匹、虚血モデル3匹、雄3匹雌3匹、体重は2.5~2.7kg、平均2.6kg)。麻酔はセラクター0.1ml/kgとケタラール1ml/kg筋注した後、ネンブタール0.5ml/kgを静注。術中ネンブタールを0.1~0.5ml/kgを適宜追加した。上記静脈性全身麻酔下に、頭蓋骨正中部に約3×4cmの骨欠損部を作成し、同部を音響窓とした。静脈ルートとして外頸静脈にアンギオカット21Gの留置針

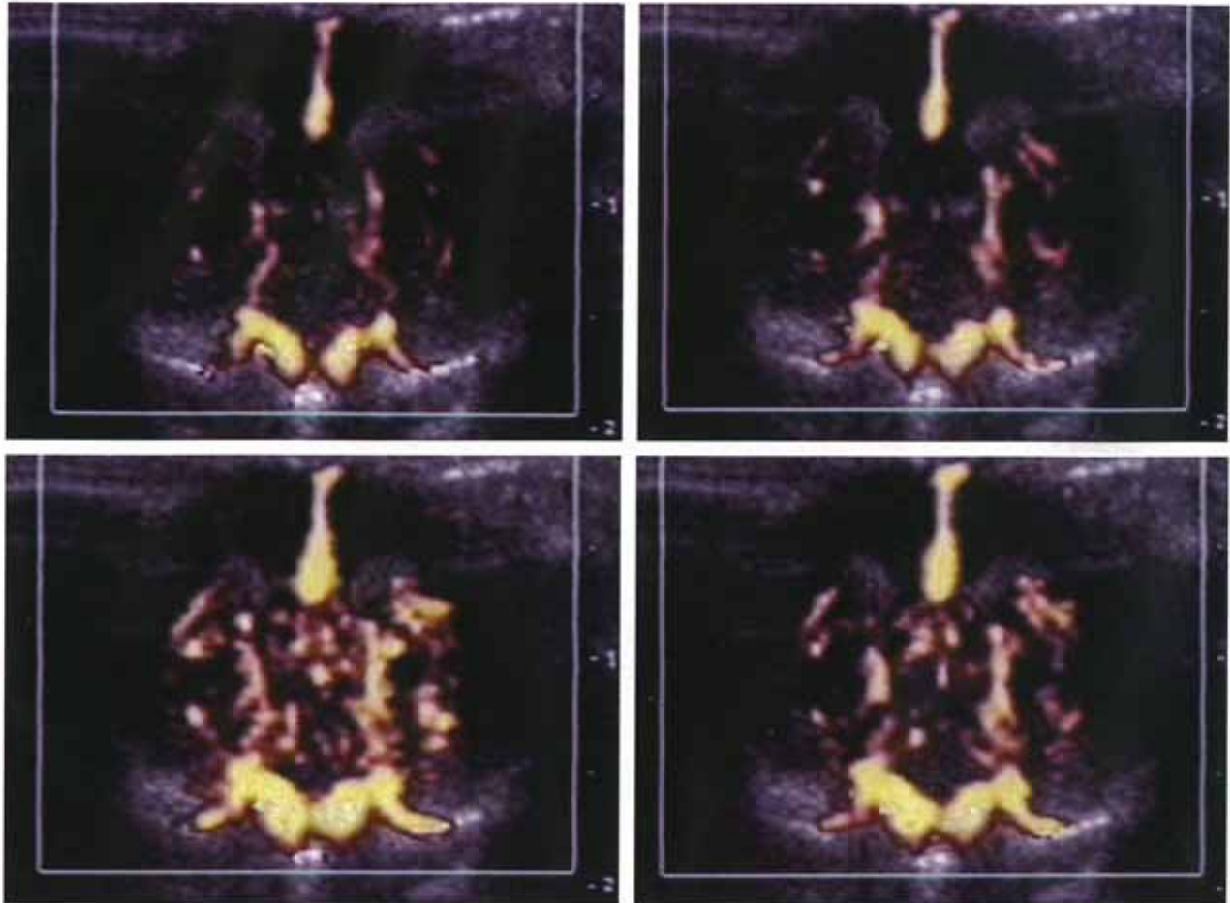


Fig. 1 Contrast-enhanced (Levovist® 0.5 ml/body) power-Doppler images (PDI) of the normal rabbit brain (Power-Harmonic, MI value 1.1, focus point 1.5 cm, without triggering, CPRF 1000 MHz, Wall filter Middle). A: Pre-contrast, B: 0.5 seconds, C: 2 seconds, D: 4 seconds after injection. Using contrast medium, enhancement of the small peripheral vessels was observed on PDI. Enhancement of the brain parenchyma, however, was not clear.

A	B
C	D

を置いた。虚血モデル3匹では経側頭骨アプローチにて中大脳動脈を目視下で確認し一側を焼却。パワードブラ法で処置前に見られた中大脳動脈の描出がされないのもって閉塞を確認した。使用装置はATL社製HDI5000、プローブはL12-5探触子を用いた。造影剤は一回にLevovist® 300mg/mlを0.5ml/body/1回投与した。これは体重50kg成人への投与量8ml/body/1回に相当する。

撮像法はパワードプライメージとしてパワーハーモニック法(MI値1.1, focus点1.5cm, トリガーなし, PRF 700-1000MHz, Wall filter Middle), B-modeハーモニックイメージとしてパルスインバージョン法(MI値0.8, focus点1.0cm)を用いた。正常モデルにおいては、パワーハーモニック法は連続撮影、およびフレームレートをトリガー500msec/frameにて撮像した。パルスインバージョン法はフレームレートをトリガー500-3000msec/frameに変化させて撮像、至適条件を検討した。虚血モデルは、正常モデルの結果を基にパルスインバージョン法でフレームレートをトリガー500msec/frameにて撮像を行った。

Levovist®投与による造影剤投与後のパルスインバージョン法における造影パターンについては造影剤流入から造影

剤が消失するまでのビデオ画像の静止画像をNIHイメージでROIを測定して、time intensity curveを作成した。

検討項目は以下の4点である。

1. パワーハーモニック法におけるLevovist®投与後の正常脳血管の描出能の向上、脳実質造影の有無。
2. パルスインバージョン法におけるLevovist®投与後の脳実質造影の有無と造影パターンの観察。
3. 虚血モデルにおけるLevovist®投与後の虚血部の描出の有無の検討。
4. 造影剤投与による脳損傷の有無：正常モデル、虚血モデルともに実験後脳をホルマリン固定し、異常の有無を病理学的に検討した。

## 結 果

1. パワーハーモニック法(パワードプライメージ)での正常モデル脳血管の描出能(Fig. 1A-D)

パワーハーモニック法にて脳主幹動脈は造影前から全例に描出されていたが、Levovist® 0.5mlを2秒one shotで投与後の連続撮像にて、より末梢の血管、特に穿通枝動脈描

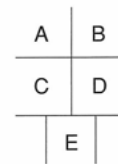
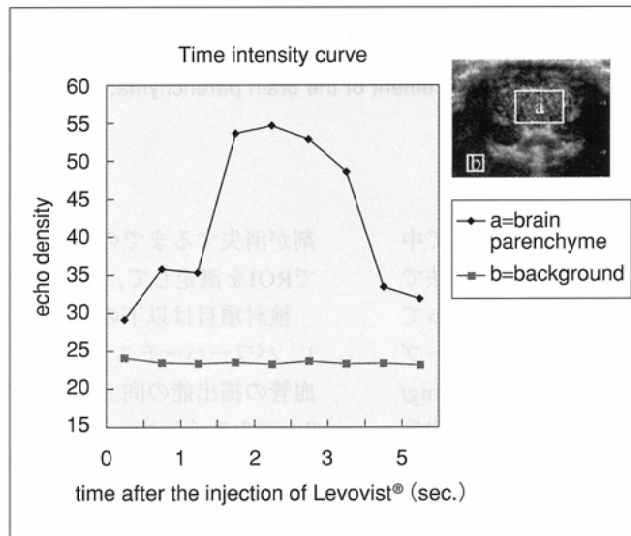
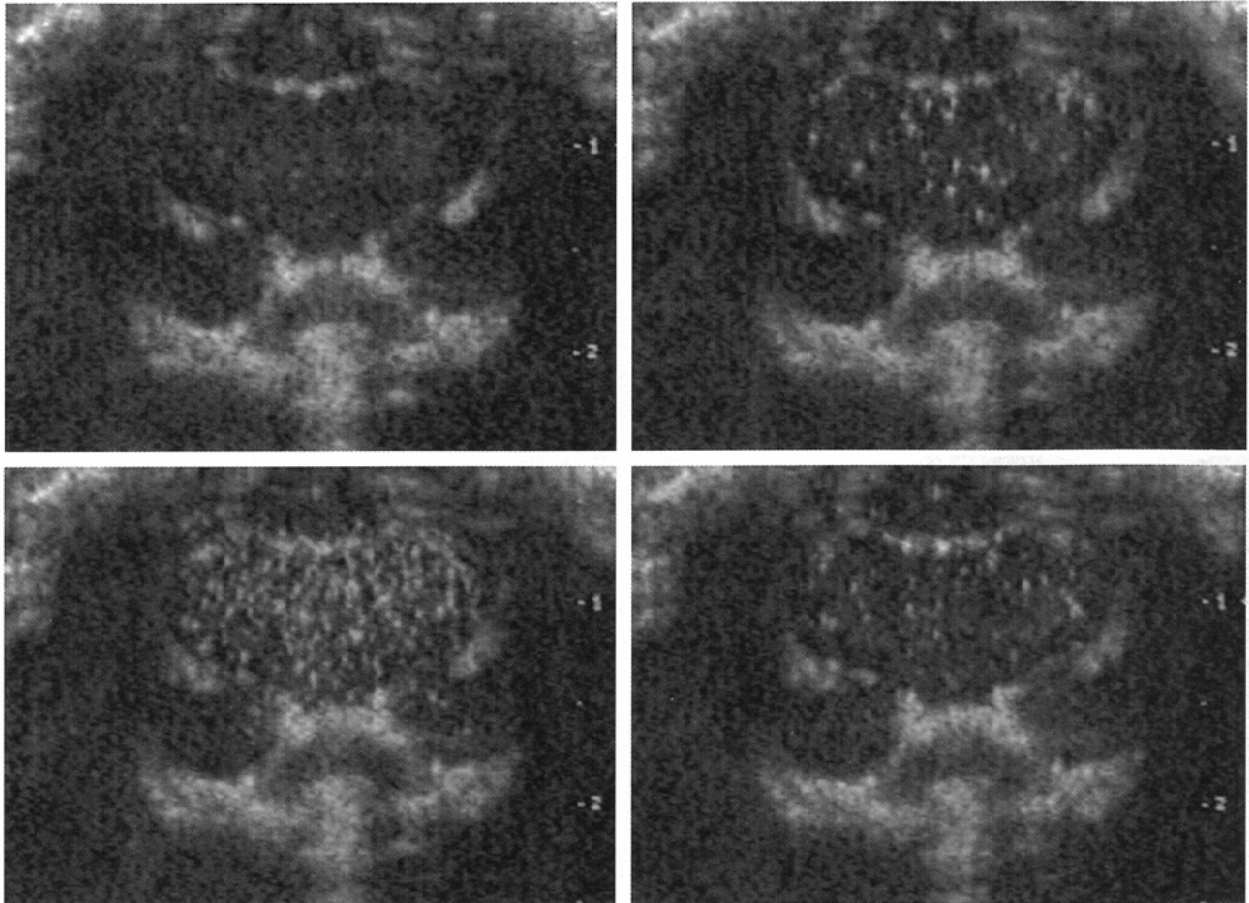


Fig. 2 Contrast-enhanced (Levovist® 0.5 ml/body) B-mode Harmonic images of the normal rabbit brain (pulse-Inversion, MI value 0.8, focus point 1.0 cm, triggering 500 msec/1 frame).

A: Pre-contrast, B: 0.5 second, C: 2 seconds, D: 4 seconds after injection, E: time-intensity curve. PDI clearly visualized strong enhancement of the brain parenchyma in the first pass of the contrast medium. This enhancement diminished in a few seconds, and pooling of the contrast medium in the brain parenchyma was not observed.

出能の向上が見られた。造影剤投与直後の初回循環 (first pass) での造影効果が最大であり、後期相では造影効果は減弱、静脈の重なりが見られた。

脳実質内の増強効果については、初回循環において点状の増強効果をわずかに認めるのみであった。

2. パルスインバージョン法(ハーモニックイメージ) (Fig. 2A-E)

Levovist® 0.5ml を 2 秒 one shot で投与後パルスインバージョン法 500msec/frame の撮像にて、造影後早期(初回循環)に脳内多発点状の増強効果が見られた。この増強効果は造

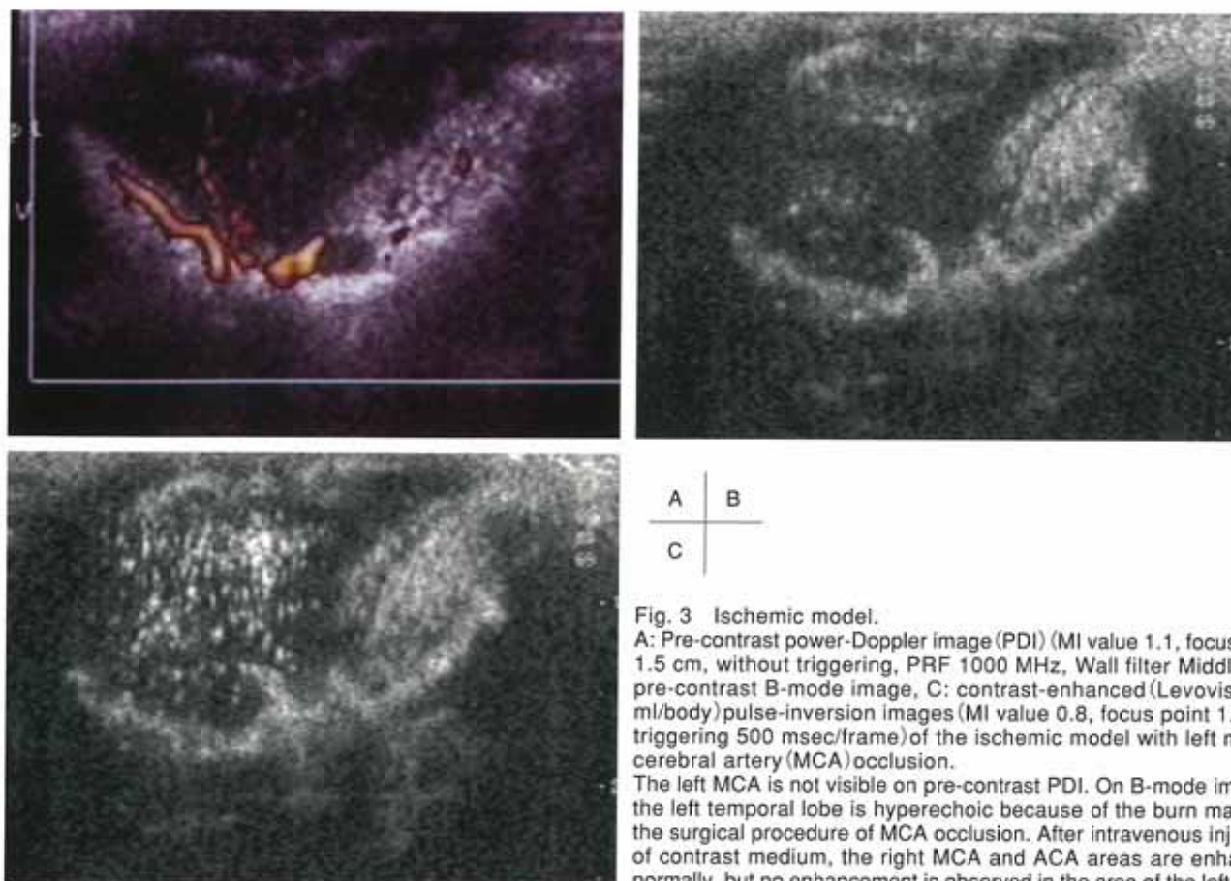


Fig. 3 Ischemic model.

A: Pre-contrast power-Doppler image (PDI) (MI value 1.1, focus point 1.5 cm, without triggering, PRF 1000 MHz, Wall filter Middle), B: pre-contrast B-mode image, C: contrast-enhanced (Levovist® 0.5 ml/body) pulse-inversion images (MI value 0.8, focus point 1.0 cm, triggering 500 msec/frame) of the ischemic model with left middle cerebral artery (MCA) occlusion.

The left MCA is not visible on pre-contrast PDI. On B-mode imaging the left temporal lobe is hyperechoic because of the burn made by the surgical procedure of MCA occlusion. After intravenous injection of contrast medium, the right MCA and ACA areas are enhanced normally, but no enhancement is observed in the area of the left MCA.

造影剤投与直後の初回循環での造影効果が最大であり、その後速やかに消失した。

one shot投与では、造影効果は500–2000msec/frameとdelay timeを増やすにつれて初回循環での増強効果も増大したが、3000msec/frame以上では増強効果の増大は得られなかった。また2000msec/frame以上では、初回循環画像がframeのみしかとらえられず、タイミングによっては最大増強効果のある画像が得られないことがあった。以上から造影剤one shot注入での家兔における最適のフレームレートは500–1000msec/frameと判断した。

次にLevovist® 0.5mlを約20secかけて持続注入しながら、500, 1000, 2000msec/frameとフレームレートを変えて撮像した。500, 1000, 2000msec/frameではフレームレートを上げるほど、造影剤投与中の脳内の造影効果は増大したが、造影剤注入終了後は速やかに造影効果は失われた。

### 3. 虚血モデルにおける虚血部の描出の有無の検討(Fig. 3A–C)

虚血作成直後に撮像したB-modeでは虚血側の中大脳動脈領域は焼却部が高信号を呈した以外、正常信号を示した。造影剤投与後パルスインバージョン法(500msec/frame)にて、虚血側脳内中大脳動脈領域に増強効果は見られず、虚血部の同定が可能であった。

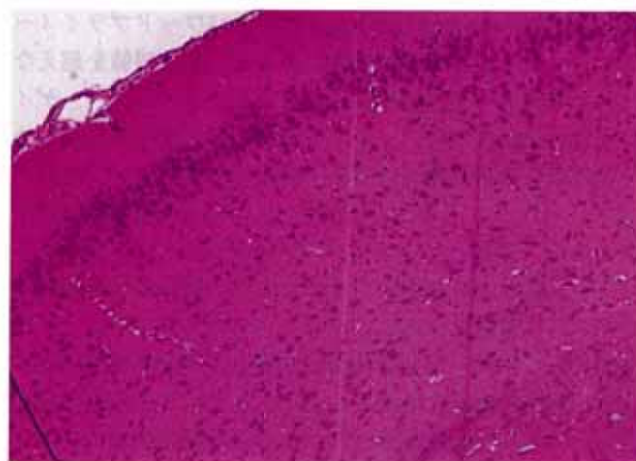


Fig. 4 HE staining of normal rabbit brain obtained after contrast enhancement study. There were no pathological findings, including air-embolism, in normal rabbit brain.

### 4. 脳組織所見(Fig. 4)

今回、全例で開頭にて骨欠損部を作成していたため、脳組織は実験直後に得た。正常モデル、虚血モデルともにHE染色において、脳内に造影剤の影響によると思われる異常所見は認められなかった。虚血の脳実質および中大脳動脈には焼却による変化を認めた。

## 考 察

超音波造影剤Levovist®は99.9%ガラクトースと0.1%パルミチン酸の混合物である。注射用水を添加することで、平均径1.3 $\mu\text{m}$ のマイクロバブルが発生する。これに超音波を照射することで、組織間の音響インピーダンスの差の増大効果、または気泡から放射される高調波成分(ハーモニック)を利用して画像のコントラストを得ている。

Levovist®の体内での動態はCT, MRIの造影剤に用いられる水溶性造影剤と異なるとされている。Levovist®はその気泡の大きさから、肝臓では血洞レベルでトラップされ、その先には到達しないことが知られている<sup>4)</sup>。またLevovist®はシェルをもたない脆弱なマイクロバブルであり、音圧によって壊されたマイクロバブルは流出路には入らないと考えられる<sup>10)</sup>。一方CT, MRIの水溶性造影剤は脳では正常な脳血管閉門は通過しないが、肝臓においては血管外間質へも漏出する。また腎から排泄されない限り、体循環によって体内に存在し続ける<sup>4), 10)</sup>。

今回の検討では、まずLevovist®を用いた脳実質の血流の観察に至る超音波撮像法を検討し、次にLevovist®による脳実質の造影パターンを観察した。

一般に肝臓領域ではLevovist®造影後にはパワードプラーイメージ、ハーモニックイメージを得ていることが多い。今回の検討にて、パワードプラーイメージ(パワーハーモニック法)では脳末梢血管の描出能の向上は見られたが、脳実質内の増強効果は点状に見られるのみであった。一方、ハーモニックイメージ(パルスインバージョン法)においては脳実質内の増強効果が明瞭に描出された。パワードプラーイメージはフィルター、ゲインの設定があり、ある閾値を超えなければ高輝度に表現されない。しかし、フィルター、ゲインの設定は煩雑であり、また造影剤の流入量をあらかじめ予測できない限り適切な条件の設定はむずかしい。今回パワードプラーイメージはフィルター、ゲインの設定が適切でなかった。即ち、フィルターの設定が高すぎ、さらにゲイン設定が低すぎたために、十分な脳内の増強効果を観察できなかった可能性はある。一方、ハーモニックイメージは階調が高く流入した造影剤量に比例して輝度を表現できるため、詳細な設定を必要としない。また、より空間分解能が高いことが、脳実質のパフュージョン観察にはハーモニックイメージが適すと考える。そのため、今回の検討においては、ハーモニックイメージング法を用いることとした。ハーモニックイメージングにおいてone shot投与では、脳内の増強効果は初回循環で最も強く、速やかに消失した。また、持続注入においても造影剤注入終了後速やかに造影効果は失われた。これらのことから、Levovist®は脳実質内に停滞せず、速やかに血流によって通過していくと考えられた。

神経系毛細血管の内皮細胞はtight junctionという結合をもち、脳血管閉門を形成している。脳血管閉門はCT, MRIの造影剤を含み、ほとんどの物質を通さないことが知られ

ている。Levovist®が脳血管閉門を通過するかについては実証されていない。しかし、tight junctionの結合の隙間がÅの単位であるのに対して、Levovist®のマイクロバブルが平均径1.3 $\mu\text{m}$ の大きさをもつことから、造影剤は脳血管閉門を越えることなく、血管外に漏出せずに脳内を通過していくものと考えられる。

CT, MRIで用いられている水溶性造影剤も正常な脳血管閉門を通過しないことが知られており、初回循環を用いたパフュージョン・イメージングが、脳血流量、血流速、通過時間の定性、定量評価に用いられている。今回の結果から、Levovist®も同様に初回循環を観察することによって、その脳パフュージョンの評価に応用可能と考えられる<sup>8), 9)</sup>。

今回の検討においてone shot投与での最大造影効果は500-2000msec/frameの範囲では撮像間隔を増やすのに伴い増大したが、2000msec/frame以上では視覚的に有意な増強効果の増大は得られず、また強い増強効果が一画面のみしか得られない場合があった。

肝においては、クッパー細胞に貪食された造影剤が類洞に蓄積するため、マイクロバブルが自壊しない範囲であれば撮像間隔を広げるだけ造影剤の蓄積効果を上げることができる<sup>11)</sup>。しかし、脳にはクッパー細胞に相当する造影剤を貪食する細胞はなく、また類洞に類似する構造は存在しない。このため、造影剤の蓄積効果は得られず、通過するのみと考えられる。

このため、500-2000msec/frameの範囲では撮像間隔を広げることで造影剤の流入効果が増大し、増強効果の増大が得られたが、2000msec/frame以上では初回循環の造影剤が撮像と撮像の間に通過してしまったものと思われる。兔の体内循環速度とヒトのそれは異なるため今回の結果をそのままヒトに用いることはできないが、Levovist®を用いてヒトの脳血流を観察する場合には適切な撮像間隔の設定が必要となると考える。

CT, MRIと比べて、Levovist®をパフュージョン・イメージングに用いる利点としては、通過する造影剤による輝度変化をreal timeに観察できる点が挙げられる。一般にCT, MRIは画像計算処理を必要とするため造影剤を注入しながらreal timeに造影効果を観察することは困難である。また実質の増強効果は視覚的には判定がむずかしく、time intensity curveの作成など後処理を要する。超音波にて、造影剤を注入しながらreal timeに脳血流のパフュージョンを観察できる点は、CT, MRIにない利点である<sup>9), 12)</sup>。

一方、欠点としては、可視範囲が限られること、一回に一つのスライスの観察しか行えないこと、定量的評価の問題が挙げられる。観察スライス数を増やし、定量的評価を可能とするためには、血管内に長くどどまり、一回の超音波照射では容易に破壊されない安定したタイプの造影剤の臨床応用が待たれる<sup>13)</sup>。

今回、虚血モデルにおいては、血管閉塞側の脳増強効果低下が虚血作成直後からハーモニックイメージにて確認できた。

超音波造影剤による末梢血流の評価は、従来のB-mode法での脳の形態変化、輝度変化の観察、パワードプライメージによる主幹動脈の評価に加えて、末梢の新生児低酸素性虚血性脳症における超音波による診断能を向上させるものとして期待される<sup>2), 14)</sup>。

ただし、新生児低酸素性虚血性脳症においては慢性期には罹患部を栄養する血管が退縮し、血流が減少するが、急性期には低酸素状態を代償しようと、むしろ増加する時期があるとされている<sup>15)</sup>。よって、Levovist®による血管内の初回循環による脳血流評価は、慢性期には有用と予想されるが、急性期にはその有用性に疑問もあり今後検討を要すると考える。

今回の対象家兔には、全体で通常成人に投与する量の数倍の投与が行われたが、正常モデルおよび虚血モデルともに造影剤によると思われる異常が見られなかった。ただし、今回の対象はいずれも健常な成兔であった。新生児への応用に際しては、動脈管開存など左右短絡の存在のある場合など、注意深いモニタリングが必要と考える。

超音波検査は低侵襲である一方、新生児低酸素性虚血性

脳症においてその感度、特異度の低さが指摘されている。現在、新生児の頭部超音波検査はNICUの小児科医のみにより施行されている場合が多いが、放射線科医がこの分野に積極的に関与していくことは、パワードプライメージ、超音波造影剤といった新しい知見を新生児例に応用し、超音波の診断能を向上できることにつながると考える。

## 結 語

超音波造影剤ガラクトース・パルミチン酸混合物(Levovist®)により、パワーハーモニック、パルスインバージョンにて、家兔脳実質の初回循環での増強が見られ、脳実質内の増強効果が観察された。脳実質内へのpoolingは見られなかった。虚血モデルにおいては主幹動脈作成直後から環流低下領域に増強効果の欠損が観察できた。real timeで脳血流を観察できる方法として、ヒトへの応用が期待される。

本研究は文部科学省科学研究費(13670973)の援助を受けた。

## 文 献

- 1) Fischer A, Maertens P: Neonatal neurosonography: Techniques and normal anatomy. (In) Tegeler CH ed: Neurosonology, 289-304, 1995, Mosby, St. Louis
- 2) Volpe JJ: Hypoxic-Ishchemic Encephalopathy. (In) Volpe JJ. Neurology of the newborn. 4th Edition. 217-394, 2001, Saunders, Philadelphia
- 3) 石蔵礼一, 安藤久美子, 富永了, 他: 超音波パワードプラー法による新生児脳血管描出能の検討. 小児放射線学会誌 14: 114-119, 1998
- 4) 工藤正俊: 肝腫瘍の造影ハーモニックイメージング. 2001, 医学書院, 東京
- 5) Tani T, Tanabe K, Ono M, et al: Quantitative assessment of harmonic power Doppler myocardial perfusion imaging with intravenous Levovist® in patients with myocardial infarction: comparison with myocardial viability evaluated by thallium-201 single-photon emission computed tomography and coronary flowreserve. Eur J Echocardiogr 3: 287-97, 2002
- 6) Klotzsch C, Bozzato A, Lammers G, et al: Contrast-enhanced three-dimensional transcranial color-coded sonography of intracranial stenoses. AJNR Am J Neuroradiol 23: 208-12, 2002
- 7) Turner CL, Kirkpatrick PJ: Detection of intracranial aneurysms with unenhanced and echo contrast enhanced transcranial power Doppler. J Neurol Neurosurg Psychiatry 68: 489-95, 2000
- 8) 鎌田英世, 中岡 勤, 松浦 浩: ガラクトース製剤の懸濁液(Levovist, Schering AG)を用いた経頭蓋超音波検査によるPerfusion imageについて. 神経超音波医学 15: 1-4, 2002
- 9) Itoh T, Matsumoto M, Uchimoto R, et al: Perfusion imaging of the brain by B-mode ultrasonography. An experimental study in rabbits. Stroke 26: 2353-6, 1995
- 10) 渡辺好章: ハーモニックイメージングと造影剤. 日本超音波医学会編: 新超音波医学 1 医用超音波の基礎. 104-108, 2000, 医学書院, 東京
- 11) 森安史典: 造影超音波検査. 日本超音波医学会編: 新超音波医学 2 消化器. 274-281, 2000, 医学書院, 東京
- 12) Li PC, Yeh CK, Wang SW: Time-intensity-based volumetric flow measurements: an in vitro study. Ultrasound Med Biol 28: 349-58, 2002
- 13) Bauer A, Blomley M, Leen E, et al: Liver-specific imaging with SHU 563A: diagnostic potential of a new class of ultrasound contrast media. Eur Radiol 9 Suppl 3: S349-52, 1999
- 14) Ishikura R, Ando K, Tominaga S, et al: Power-Doppler imaging of infantile intracranial arteries. Rivista di Neuroradiologia 12(supple 2): 135-138, 1999
- 15) Bada HS, Hajjar W, Chua C, et al: Noninvasive diagnosis of neonatal asphyxia and intraventricular hemorrhage by Doppler ultrasound. J Pediatr 95: 775-9, 1979