

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成25年 6月 7日現在

機関番号：34417

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2010～2012

課題番号：22591375

研究課題名（和文） マイクロバブルジェネレータカテーテルを用いた高密度炭酸ガスマイクロバブル血管造影

研究課題名（英文） X-ray angiography by intravascular generation of a large quantity of carbon dioxide microbubbles

研究代表者

狩谷 秀治（KARIYA SHUJI）

関西医科大学・医学部・講師

研究者番号：40368220

研究成果の概要（和文）：血管内で生理食塩水と炭酸ガスをミキシングしマイクロバブルを大量に発生させたマイクロバブル化炭酸ガス造影を考案した。大量のマイクロバブルを血管内で発生させると血管のエックス線透過性が亢進し陰性造影剤となりうる。また血管内のマイクロバブルの挙動は生理食塩水と血液に依存するため気液二相流が生じにくい。この研究の目的はマイクロバブル化炭酸ガスがエックス線診断用造影剤として血管を描出することの証明である。

研究成果の概要（英文）：We devised a method of CO₂ microbubble contrast enhancement, whereby physiological saline and CO₂ gas are mixed within blood vessels to generate a large quantity of microbubbles. The generation of a large quantity of microbubbles within blood vessels promotes radiolucency and can function as a negative contrast medium. As the microbubbles do not aggregate together, and their rate of ascent is also extremely slow, this enables a large amount of microbubbles to be generated within a given volume of liquid, and there is also less chance of generating a gas-liquid two-phase flow. The objective of this study was to demonstrate that CO₂ microbubble contrast enhancement depicts blood vessels when used for X-ray diagnosis.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	700,000	210,000	910,000
2011年度	1,400,000	420,000	1,820,000
2012年度	1,200,000	360,000	1,560,000
年度			
年度			
総計	3,300,000	990,000	4,290,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・放射線科学

キーワード：マイクロバブル

1. 研究開始当初の背景

本研究者らは無害、安価で体内へ投与できる唯一の気体である炭酸ガスの有用性を報告してきた。その一つにX線診断用陰性造影剤としての使用法がある。しかし血管内投与では気液二相と塞栓効果が生じる欠点を避けることができず体内でのガスの挙動制御に苦慮した。そこで生理食塩水を基剤とし炭

酸ガスをマイクロバブル化し、液体として挙動させることを考案した。これを実現するため炭酸ガスマイクロバブルを血管内に投与する方法を開発し、これを発展させマイクロバブルの特性を利用した診断、治療への応用を進めている。

気体がマイクロバブル化されるとマイナスイオンを有し固有の物理科学特性へ変化し

バブル同士が合一せず浮上もきわめて遅く均一に拡散する。その結果一定の体積内に大量のマイクロバブルを発生させることができる。本研究者は2006年に炭酸ガスマイクロバブルのX線診断用造影剤としての可能性を確認するため水槽内で炭酸ガスを加圧溶解した液体に衝撃を与え大量のマイクロバブルを発生させ、これがデジタルサブトラクションX線撮影で描出できることを確認した。その後血管内注入用のマイクロバブル化炭酸ガスジェネレーターを製作し生理食塩水を基剤とした炭酸ガスマイクロバブルをX線診断用造影剤、超短時間型血管塞栓材、ドラッグデリバリーマイクロナノバブルの3つの用途に分け研究を進めてきた。本研究は3つのうちX線診断用造影剤としての実用化に向けた研究である。

2. 研究の目的

血管内で生理食塩水と炭酸ガスをミキシングしマイクロバブルを大量に発生させたマイクロバブル化炭酸ガス造影を考案した。大量のマイクロバブルを血管内で発生させると血管のエックス線透過性が亢進し陰性造影剤となりうる。また血管内のマイクロバブルの挙動は生理食塩水と血液に依存するため気液二相流が生じにくい。この研究の目的はマイクロバブル化炭酸ガスがエックス線診断用造影剤として血管を描出することの証明である。

3. 研究の方法

(1) ファントム実験

マイクロバブルの生成は炭酸ガスを加えた生理食塩水のキャビテーションにより生成された。キャビテーションに最大外径6mmのejector-typeマイクロバブルgenerator (Aurajet type 1-051, Aura Tec Co., Fukuoka, Japan) が使用された。このジェネレーターを50cm長のSUS304のステンレス製の2重管の先端に装着しマイクロバブルジェネレーターデバイスが制作された。この2重管の外管は12ゲージ、内管は27ゲージとした。マイクロバブルジェネレーターデバイスのジェネレーター部分が血管内に配置され、外管から生理食塩水を、内管から炭酸ガスが供給され、血管内でマイクロバブルが生成された。生理食塩水の供給にはポンプが使用され、炭酸ガスはボンベから調整器を介して供給された。生理食塩水、炭酸ガスともにジェネレーターへの供給は注入圧でコントロールされた。

ファントム実験

生理食塩水を循環した腹部大動脈ファントム (A-S-N-00, ELASTRAT, Geneva,

Switzerland) にマイクロバブルジェネレーターデバイスが挿入され、腹部大動脈内にジェネレーターが配置された。ジェネレーターへ炭酸ガスと生理食塩水が送り込まれ、腹部大動脈内にマイクロバブルが生成された。腹部大動脈内がミルキーバブルとなり大量のマイクロバブル化炭酸ガスが発生する炭酸ガス注入圧と生理食塩水注入圧の値が求められた。またファントム血管外にて求めた注入圧で造影デバイスに炭酸ガスと生理食塩水を供給しジェネレーターから1秒間に吐出された生理食塩水が計量された。

(2) 動物実験

頸部、胸骨正中切開がなされ、右腕頭動脈が露出された。直視下にて20Frシースイントロデューサーが右腕頭動脈から挿入された。

(3) 血管造影

血管撮影装置にAllura Xper FD20 (Philips Medical Systems, Best, The Netherlands) が使用された。撮影はDSAで行い、管電圧、管電流は撮影装置のオートシーケンス (EPX: Netherlands default Abdomen 6fps, Philips Medical Systems)

に設定された。照射野は17inch、フレーム数は6f/secに設定された。撮影時に人工呼吸器は停止された。腹部大動脈から外腸骨動脈の正面像、側面像の血管造影が3頭のswineに施行された。各血管造影にマイクロバブル化炭酸ガス造影、通常炭酸ガス造影、ヨード造影の3種類が施行された。3種類の造影を1セッションとし、各種造影を同じ条件で得るために、同一セッション中に管球から血管の距離、血管からフラットパネルの距離、照射野は変更されなかった。

(4) マイクロバブル化炭酸ガス造影の方法
20F-シースイントロデューサーからマイクロバブルジェネレーターデバイスが挿入され、透視下にてジェネレーターが腹部大動脈に留置された。生理食塩水のみジェネレーターに供給され、撮影が開始された。サブトラクション画像が得られたらすぐにジェネレーターへ炭酸ガスが5秒間供給された。生理食塩水、炭酸ガスはファントム実験で求めた注入圧で供給された。

(5) ヨード造影、通常炭酸ガス造影の注入方法

20F-シースイントロデューサーから挿入され先端が腹部大動脈に留置された5F-pig tailが造影に使用された。ヨード造影ではインジェクターが使用され10ml/secでiopamidol 300mgI/ml (Iopamiron®300, Bayer HealthCare) が10ml注入された。炭酸ガス造影では20mlシリンジ内に20ml充填した炭

酸ガスが用手にて全量ポーラス注入された。

(6) 判定方法

血管造影施行者と別の3名の放射線科医が協議なくそれぞれ単独で各血管造影像の血管描出の有無の判定、血管と血管周囲のコントラストの評価、血管と血管周囲の境界の明瞭さの評価を行った。血管描出の有無の判定は“有”、“無”で正面像の腹部大動脈、正面像の両側外腸骨動脈、側面像の腹部大動脈、側面像の両側外腸骨動脈に行われた。コントラストの評価、及び境界の明瞭さの評価は正面像の腹部大動脈、正面像の右外腸骨動脈、正面像の左外腸骨動脈、側面像の腹部大動脈に行われた。コントラストの評価は“高い”、“普通”、“低い”の3段階で行われ、それぞれが3点、2点、1点とされ、境界の明瞭さの評価は“明瞭”、“普通”、“不明瞭”の3段階で行われ、それぞれが3点、2点、1点とされた。描出された正面腹部大動脈、正面左右外腸骨動脈、側面腹部大動脈に region of interest (ROI) が設定され平均デジタル値が計測された。またバックグラウンドとして腸管の artifact が及ばない腸骨の位置にも ROI が設定された。腹部大動脈の ROI 設定位置は bifurcation 直上、外腸骨動脈の ROI 設定位置は上殿動脈分岐直上とされた。

3名の放射線科医が付けたコントラストおよび境界の明瞭さの点数の平均が動脈ごとに算出され、Wilcoxon signed-ranks test を用いてマイクロバブル化炭酸ガス造影と通常炭酸ガス造影およびマイクロバブル化炭酸ガス造影とヨード造影が比較された。各動脈とバックグラウンドのデジタル値の差が算出され、Wilcoxon signed-ranks test を用いてマイクロバブル化炭酸ガス造影と通常炭酸ガス造影およびマイクロバブル化炭酸ガス造影とヨード造影が比較された。

4. 研究成果

(1) 結果

ファントム実験で得られた生理食塩水の注入圧は 0.16MPa、炭酸ガスの注入圧は 0.5MPa、生理食塩水の注入量は 8.1ml/sec であった。

3名の放射線科医は3頭の豚で行ったマイクロバブル化炭酸ガス造影、通常炭酸ガス造影、ヨード造影のいずれの動脈もすべて描出ありと判定した。マイクロバブル化炭酸ガス造影におけるコントラストの評価はヨード造影、通常炭酸ガス造影のいずれと比較しても有意に低かった ($p < 0.05$)。マイクロバブル化炭酸ガス造影における境界の明瞭さの評価はヨード造影、通常炭酸ガス造影のいずれと比較しても有意に低かった ($p < 0.05$)。すべての血管におけるマイクロバブル化炭酸

ガス造影のデジタル値はバックグラウンドより高かった。マイクロバブル化炭酸ガス造影の血管とバックグラウンドのデジタル値の差は、ヨード造影、通常炭酸ガス造影のいずれと比較しても有意に小さかった ($p < 0.05$)。マイクロバブル化炭酸ガス投与中の豚の血圧、脈拍に異常な変動は認められなかった。

(2) 考察

現在、陰性造影剤として炭酸ガスは用いられている。しかし液体である血液と気体である炭酸ガスの混合では気液二相流が生じ炭酸ガスが血管内へ均一に行き渡らないという欠点がある。また気液二相流であるスリップフローが生じると炭酸ガスが容易に血流に逆らって移動し造影の対象としない血管へ流入するという欠点もある。このため炭酸ガスが脳動脈に流入し中枢神経症状を引き起こしたことが報告された。そこで我々は、気液二相流を生じさせないため、血管内で生理食塩水と炭酸ガスをミキシングしマイクロバブルを大量に発生させたマイクロバブル化炭酸ガス造影を考案した。バブル径をマイクロサイズにまで小さくしたマイクロバブルはマイナス電位を有するためバブル同士が合一せず、浮上速度も極めて遅い。そのため一定の体積の液体内で大量のマイクロバブルを発生できることが知られている。大量のマイクロバブルが血管内で発生すると血管内のエックス線透過性が亢進しマイクロバブル化炭酸ガスが陰性造影剤となる。またマイクロバブルの血管内での挙動は生理食塩水と血液に依存するため気液二相流が生じにくい。

しかしマイクロバブル化炭酸ガス造影では造影剤の主たる成分は生理食塩水であるため気体のみの通常炭酸ガス造影に比べエックス線透過性は低下し造影された血管と血管周囲の間のコントラストが低く、血管を描出できない可能性があると考えられた。本研究の結果ではマイクロバブル化炭酸ガス造影は腹部大動脈、外腸骨動脈を描出した。したがってマイクロバブル化炭酸ガスはエックス線診断用造影剤となりうることが明らかにされた。

マイクロバブル化炭酸ガスを造影剤として使用するためにはできるだけ多くのマイクロバブルを密に発生させ、炭酸ガスの void 率の高い生理食塩水を血管内へ注入しエックス線の透過性が亢進しなければならない。このため我々はマイクロバブルの発生にキャビテーション方式のジェネレーターを使用しこれを血管内に配置することにした。血管内に炭酸ガスのマイクロバブルを投与する方法として超音波用造影剤がある。しかし超音波用造影剤は炭酸ガスのボイド率は

極めて低くエックス線診断用造影剤には成りえない。

マイクロバブル化炭酸ガス造影ではバックグラウンドのデジタル値との差は小さく、コントラストは低く、血管の境界は不明瞭であるため、ヨード造影、炭酸ガス造影と比較して造影能は低い。マイクロバブル化炭酸ガスの造影能はヨード造影や通常炭酸ガス造影に及ぶものでないが、デバイスの改良とマイクロバブルの生成条件の検討により炭酸ガスの void 率が高いマイクロバブル化炭酸ガス造影であれば造影能を改善することが期待できる。

血管内で大量のマイクロバブルを発生させた報告はなく、本研究はこの技術を血管造影に応用し評価した。マイクロバブルは収束超音波凝固時の加熱増強効果、微小血管破裂、血栓溶解、薬剤や遺伝子の細胞内導入に利用されている。血管内の特定の場所で大量にマイクロバブルを発生させた本研究の技術はこれらへの利用にも期待できる。

(3) この研究の制限

マイクロバブル化炭酸ガスの生成条件のコントロールは生理食塩水の注入圧と炭酸ガスの注入圧のみである。炭酸ガスの流量計測には圧と微小流量を同時に計測できるものが必要であり我々はこの計測器を備えておらず炭酸ガスの流量を計測できなかった。マイクロバブルの体積を計測する技術は現在ないためジェネレーターから吐出されたマイクロバブルを集めてその体積を計測することはできなかった。本研究ではマイクロバブル化炭酸ガスを用いエックス線撮影装置で血管が描出されるという結論にとどまり、血管の描出とマイクロバブル量の関係を明らかにできなかった。

(4) 結論

エックス線撮影装置による血管造影で血管内に大量の炭酸ガスのマイクロバブルを発生させたマイクロバブル化炭酸ガス造影は血管を描出することが可能である。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計 1 件)

S. Kariya, A. Komemushi, M. Nakatani, R. Yoshida, S. Sawada, N. Tanigawa. CO2 microbubble contrast enhancement in x-ray Angiography. Clinical Radiology 2013; 68:346-51. 10.1016/j.crad.2012.08.011

〔学会発表〕(計 1 件)

狩谷秀治、マイクロバブル化炭酸ガス造影剤

を使用したエックス線血管撮影、第40回日本インターベンショナルラジオロジー学会総会、2011/5/20、青森

〔その他〕

ホームページ等

http://jstore.jst.go.jp/techeyeDetail.html?techeye_id=113

6. 研究組織

(1) 研究代表者

狩谷 秀治 (KARIYA SHUJI)

関西医科大学・医学部・講師

研究者番号：40368220

(2) 研究分担者

谷川 昇 (TANIGAWA NOBORU)

関西医科大学・医学部・教授

研究者番号：90227215