

一般社団法人日本超音波医学会平成 25 年度超音波分子診断治療研究会抄録

代表：近藤 隆（富山大学大学院医学薬学研究部放射線基礎医学講座）

第 1 回

日時：平成 25 年 8 月 2 日（金）

場所：北海道大学医情報科学研究科（札幌市）

平成 25 年度第 2 回基礎技術研究会と共催の為、「超音波医学」41 巻 3 号に掲載されていますので、ご参照下さい。

第 2 回

日時：平成 25 年 11 月 30 日（土）

場所：帝京大学（板橋キャンパス）（東京都板橋区）

共催：第 12 回超音波治療研究会（JSTU 2013）

1) 集束超音波治療における多媒質中での焦点位置制御手法の開発

沢田恭兵, 松木航介, 鳴海竜太, 東 隆, 竹内秀樹,
佐々木明, 高木 周, 松本洋一郎（東京大学工学部）

1. 研究の背景と目的

悪性腫瘍の治療法として HIFU（High-Intensity-Focused Ultrasound: 強力集束超音波）による治療が期待されている。HIFU 治療では強力超音波を体外から治療部位で焦点を結ぶように照射し、腫瘍の温度を上げ、壊死させる。外科手術に比べて患者への負担が少ない治療法として HIFU 治療は大きく期待されている。しかし生体組織は音速や密度が場所によって異なる多媒質であるため、超音波のビームは歪んでしまい、意図した位置から焦点がずれるリスクがある。そこで本研究では HIFU の適用が期待されている乳がんの治療を目標とし、位相制御法を用いた焦点位置制御の開発を行う。

2. 方法

256 個の素子を持つトランスデューサーを用いて、それぞれの素子に印加する電圧の位相を適切に制御し、意図した位置に超音波の焦点が結ぶようにする。ここで用いる位相の制御量は時間反転法を用いて決定する。時間反転法では仮想の音源をシミュレーション上に置き、その音源から音波を発生させ、トランスデューサーの各素子で受信した波形の位相の遅延量から位相制御量を算出する。この手法の妥当性を実験と計算の両方で検証する。図 1 に本研究の実験系を示す。乳房モデルを通過した後の超音波の音圧をマイクロフォンで計測する。

3. 結果・考察

図 2 に先行研究によって得られた音圧分布の計算結果を示す。図 2 (a) では幾何学的焦点に超音波が集束しているが図 2 (b) では乳房があることで超音波は大きく歪んでいる。図 2 (c) では位相制御をすることで幾何学的焦点に超音波を集束させることに成功した。これによって位相制御法の有効性が確かめられた。今後は図 1 の実験系に乳房も模擬したファントムなどを導入して実際に焦点を制御できるかを検証する。

2) 画像差分型シュリーレン法を用いた臨床用超音波治療装置の音場可視化の試み

工藤信樹¹, 佐野隆友², 祖父尼淳², 森安典典², (¹北海道大学大学院情報科学研究科, ²東京医科大学消化器内科)

【目的】強力集束超音波治療装置において、適切な強度の超音波が出力されていることを確認するのは治療の安全を確保する上で

重要である。しかし、高強度の超音波の計測は一般に難しく、訓練された技術者が専用の機器を用いて行う必要がある。我々は、音場を可視化する簡便な手法、画像差分型シュリーレン法を開発し、その有用性について検討を行ってきた。今回、臨床用超音波治療装置の音場可視化を行った結果について述べる。

【方法】画像差分型シュリーレン法は、超音波照射有と無の 2 条件でシャドウグラフを撮影し、その差分を求めることにより超音波の瞬時音場を撮影する手法である。手法については、他に詳しい。可視化の対象とした治療装置は、FEP-BY02 (China Medical Technologies 社) である。超音波出力はワット [W] で表示され、今回の実験では 100 W から 1800 W の範囲で音場を取得した。

【結果・考察】図 1 に超音波出力 600 W において可視化した音場と、同出力で超音波通過部分の一部を遮蔽して可視化した音場を示す。600 W の条件では焦点に集束する瞬時音場が可視化されている。非線形性の強い超音波の波面が白線として描出されている。また、一部遮蔽をした条件では、音場が大きく変形する様子が観察された。故障により超音波発生源の一部が故障した場合、焦点一点での音圧変化ではなく、音圧分布の変化として捉えられる可能性があることは、本可視化法の利点と考えられる。

3) 超音波放射圧を用いた加熱凝固モニタリング手法の開発

清水悠輝¹, 杉山隆介¹, 中村弘文¹, 東 隆¹, 竹内秀樹²,
藤原圭祐², 射谷和徳², 葭仲 潔³, 佐々木明¹, 高木 周¹,
松本洋一郎¹ (¹東京大学工学部, ²日立アロカメディカル株式会社, ³産業技術総合研究所)

【目的】HIFU 治療では治療中の体内の様子を視認できないため、安全で確実な治療を行うためには加熱凝固領域をリアルタイムにモニタリングすることが必要である。特に HIFU 治療を悪性腫瘍に適用するには、照射領域内全域にわたる確実な治療が必須となるので、加熱凝固モニタリングがより重要となる。本研究では、小型で安価な超音波を用いた加熱凝固領域のモニタリング手法の開発を目的とする。

【方法】加熱凝固領域の判別は Localized Motion Imaging (LMI) という手法により行う。LMI では熱変性による生体組織の硬さの変化を利用する。集束超音波を振幅変調させることで焦点付近の組織に周期的な音響放射圧をかけて振動させ、その変位を超音波診断プローブを用いてパルスエコー法で計測する。熱変性前後における振幅の減少率から加熱凝固領域の判別を行う。本研究では生体試料として豚のレバーを使用した。

・二次元加熱凝固領域の評価実験

予め焦点部位を加熱凝固させた組織に対して、凝固を起こさない条件下で一次元のモニタリングを方位方向にスキャンすることで二次元の加熱凝固領域の評価を行った。HIFU 照射時の音響強度は 1.0 kW、照射時間は 10 s, 15 s とした。モニタリングは音響強度 0.5 kW、照射時間 1 s で行った。変調周波数は 67 Hz で一定とした。照射前後で方位方向に焦点位置から -10 mm から +10 mm までの 21 ラインで振幅データを取得し、振幅減少率を算出した。モニタリング時のスキャンによる加熱凝固を防ぐためモニタリング用照射毎に 1 分以上の照射休み時間を設けた。実験系の概要を Fig. 1 に示す。

【結果・考察】HIFUを15秒間照射した後の凝固域の断面写真とLMIによる見積りの結果をFig. 2に示す。両者の形状は概ね一致することが確認された。今後は照射時間ごとの凝固サイズの検出誤差や、対象組織による精度の相違などに関して詳細な検討を進める予定である。

4) 極細カテーテル制御に関する超音波放射力の定量測定

望月 剛, 鶴井信宏, 江田 廉, 榊田晃司 (東京農工大学大学院生物システム応用科学府)

【目的】今やカテーテルは医療の場で必須の道具となっている。もし現用のカテーテルよりも一桁以上細い200 μm 以下の極細カテーテルが開発されたとするならば、その治療応用は飛躍的に拡大されることが期待される。我々は超音波放射力を用いて図1に示すカテーテル誘導法を考案し、直径0.4 mmの極細チューブを2 mmの流路内で誘導できることを示した。本発表ではその超音波放射力とそれによるカテーテルのたわみ量との関係を定量的に測定したので、その結果を報告する。

【方法】端が固定されたチューブに超音波を照射するとこのチューブは超音波放射力によりたわむ。このたわみ量を測定し、“片持ち梁の式”を用いることにより、このときチューブに作用した力が計算できる。しかしこのとき片持ち梁の式が適用できる力の範囲が課題であった。そこで、このたわみ量と力の線形範囲を調べるため、図2に示すように長さの異なるチューブ同士を糸で結び、片方のチューブをX方向に移動しながら両チューブのたわみ量と力の線形範囲の測定系を計測する。そしてその測定結果、両者のたわみ量の比がチューブ長の比の3乗となる範囲では片持ち梁の式が成立することを利用する。

【結果・考察】図2の測定系で、PFA材、外形0.4 mm、内径0.1 mm、長さの異なる2本のチューブを用い、これらのチューブが互いに引き合う力が25 μN 以内であれば、チューブのたわみ量と力の関係が片持ち梁の式に従うことが実験より明らかとなった。前回に同一のチューブに2 MHz 300 kPaの超音波を照射したときに片持ち梁の式を用いて算出した力が23 μN であった。以上のことから、このチューブでは300 kPa以下の音圧下では片持ち梁の式を用いて正確な超音波放射力の推定が可能であることが分かった。

5) 広範囲キャビテーションによる超音波加熱の高効率化(気泡生成用超音波パルスの繰り返し周波数および照射時間に関する検討)

吉澤 晋¹, 佐々木博史¹, 後藤功太¹, 高木 亮², 梅村晋一郎²
(¹東北大学大学院工学研究科, ²東北大学大学院医学研究科)

【目的】マイクロバブル存在下でHIFUを照射すると、HIFUによる加熱効果が増強されることが知られている。HIFU治療の問題点の1つに治療時間の長さがあり、マイクロバブル援用HIFU治療は、これを解決する手法として注目されている。本研究の目的は、強力な超音波の焦点を電子走査することによって広範囲にキャビテーション気泡を発生させ、高効率な超音波加熱を行う超音波照射システムを開発することである。

【方法】HIFUの照射対象はゲルファントムまたは鶏ささみ肉とした。非常に強力かつ短時間の超音波によって対象内の6箇所キャビテーション気泡を生成した後に比較的低強度のHIFUを連続照射するシーケンスを2-16 Hzで繰り返し、約10 sの間HIFU照射を行った。ゲルファントムを対象とした実験では高速度カメラを用いた撮影および超音波イメージングを行い、キャビ

テーション気泡の可視化を行った。ささみ肉を対象とした実験では、超音波イメージングのみを行い、キャビテーション気泡生成の確認を行った。

【結果・考察】ゲルファントムを対象とした実験により、気泡生成用の高強度超音波パルスの繰り返し周波数が8 Hz以上では、その後の低強度超音波において気泡が多数残存していることが確認できた。ささみ肉を対象とした実験においても、超音波イメージング結果から、高強度超音波パルスの繰り返し周波数が高い方が気泡の残存率が高いことが示された。特に、HIFUの全エネルギーの約20%に相当するエネルギーの高強度超音波パルスを16 Hzで約10 s繰り返した結果、ささみ肉の加熱凝固体積は高強度超音波パルスを用いない場合と比較して約4倍に達し、超音波加熱効果が著しく増強されたことが示された。

6) HIFUファントムを用いた音響化学反応の可視化

川畑健一, 丸岡貴司, 浅見玲衣 (日立中研メディカルシステム研究部)

【目的】音響化学反応は、生体中で部位選択的に生じさせることができれば、低侵襲的ながん治療法に結びつく可能性を有している。このような治療法においては、音響化学反応を効率的に生成する超音波照射手法と超音波の化学作用を増感する化合物とが開発要素となる。これらの評価には、音響化学反応の定量が必須である。これまでは専ら溶液系を用いた評価が行われている。実際の治療では収束超音波を用いることが多いため、超音波照射手法の違いによる化学作用生成領域の変化や照射もれなどの評価などが重要である。しかしながら、このような反応領域に関する議論を従来の溶液系での評価をもとに行うことは困難であった。今回、HIFU用に開発した生体模擬ファントムを用いて化学作用が生じる領域が可視化できることが示されたので報告する。

【方法】HIFU用ファントムは、広く用いられている牛血清アルブミン(BSA)をポリアクリルアミドゲルに封入したものをベースとしている。前回報告したように、高分子系の変性促進剤を加えてあり、BSAの変性・凝固温度を45-65°Cの間で調整可能となっている。今回は、変性温度を約50°Cに設定したものをを用いた。37°Cに保温された水槽中でファントムに超音波照射を行った。超音波照射条件は、最大でも温度が42°C以上にならないよう設定した。収束超音波照射を行い、その過程をビデオ撮影し、照射20秒後の変性体積を回転楕円体を仮定して算出した。

【結果・考察】音響化学反応の増感剤であるアドリアマイシン(Adr)をモデル化合物として用いた。Adr濃度を20 μM の場合に、1.1 MHz, 200 W/cm^2 での超音波照射を行い、超音波単独ではまったく変性が生じないのに対し、Adr共存により有意にBSAの変性が生じることがわかった。この変性は、ラジカル消去剤の添加により完全に抑制された。さらに、ファントムの温度上昇は、Adrのありなしで有意に違いが認められなかった。以上よりAdr共存により観察されたBSAの変性は化学的に生じたものであると推察された。さらにAdrの濃度を変化させ変性体積を測定したところ、約50 μM までは濃度上昇により体積が増加し、それ以上の濃度では逆に低下した。同様の傾向が、溶液中での活性酸素生成量測定でも見られた。今回得られた結果より、今回用いたHIFUファントムは、音響化学反応場の可視化用に有用であることがわかった。

7) 超音波によるマイクロバブルのマニピュレーションに関する研究

尾崎太一¹, 井上和仁¹, 東 隆¹, 一柳満久², 高木 周¹, 松本洋一郎¹ (¹ 東京大学工学部, ² 上智大学理工学部)

【目的】近年, 超音波と直径数 μm 程度のマイクロバブルを用いた薬剤を効率よく標的細胞のみに作用させる Drug Delivery System (DDS) 技術が盛んに研究されている。これらの先行研究においては, 細胞培養器内や動物実験など, 多数のバブルが多数の細胞と同時に作用する研究が多い。もし個々のバブルを動かして狙った細胞にのみ作用を起こし, また細胞の狙った部位に限局的な作用の制御が可能となれば, マイクロバブル DDS の詳細なメカニズムの検討が可能となる。このために超音波によるマイクロバブルの非接触なマニピュレーション技術の研究を行う。

【方法】超音波音場中のマイクロバブルには, 気泡の体積振動と音圧勾配との積の時間平均で表される第一ビクネス力が働く。この力はバブルの半径が共振半径より小さいと音場の腹の方向に, 大きいと節の方向に働く。この力を利用して, 水中に任意の音圧勾配をつくりマイクロバブルを特定の位置にトラッピングした。さらに音圧分布を変化させることでトラップしているバブルのマニピュレーションを行った。Fig. 1 に示すリング型 (図左), 集束型 (図右) の二種類のトランスデューサを用いた。それぞれの装置で焦点にマイクロバブルを集め, リング型では6分割された素子の位相変化により焦点を動かし, 集束型ではトランスデューサ自体の位置を動かすことでバブルのマニピュレーションを行った。

【結果・考察】リング型は Fig. 2 に示すように同心円状にトラッピングし, 位相制御により狙った軌跡でマイクロバブルをマニピュレートすることに成功した。集束型では焦点にバブルがトラッピングされ, トランスデューサを動かすことでマイクロバブルのマニピュレーションに成功した。Fig. 3 にトランスデューサの軌跡とマイクロバブルの軌跡を示す。今後はトラッピング力やマニピュレーション精度といった定量的な性能評価を行い, 手法としての妥当性を検証する。さらに定量的データを用いて細胞の力学的評価や細胞のマニピュレーションといった, より実用化に近い実験系を模擬し, 手法のデモンストレーションを行う。

8) 生体組織に近い硬さの壁近傍における微小気泡のふるまいの高速度撮影

工藤 光, 工藤信樹 (北海道大学大学院情報科学研究科)

【目的】我々は, 超音波の照射により一時的に細胞膜の透過性を向上させ, 通常は内部に入らない薬剤や遺伝子を細胞内に導入するソノポレーションについて検討している。以前我々は, 細胞培養に用いる足場層として生体組織に近い硬さを持つ柔軟なゲルを使用すると, 超音波の照射条件によってはソノポレーションにより生じる膜損傷率が低下することを報告した。その原因として, 細胞培養用足場層の硬さにより細胞膜張力や, 微小気泡のふるまいが異なる可能性が考えられる。そこで今回は, 柔軟な壁近傍での超音波照射下における微小気泡のふるまいを高速度撮影により確認した結果について報告する。

【方法】生体組織に近い硬さを持つ壁面材料として, ヤング率 1.4 kPa の 5% アクリルアミドゲルを用いた。20 mm 角, 厚さ 1 mm のアクリル板に直径 8 mm の丸穴を開け, 片面をカバーガラスで塞ぎ, 穴内部にゲルが半円筒状に存在するようなサンプルを作成した。これを水槽の底面に設けた観察チャンバの上部に設

置し, 倒立型顕微鏡で観察した。観察チャンバ内は 5 mg/ml のレボピスト (超音波造影剤) 溶液で満たし, 観察視野はゲル壁面と気泡が同一視野に入るように調節した。観察チャンバに集束型超音波振動子から中心周波数 1 MHz, 最大負圧 1.3 MPa, 3 波のパルス超音波を照射し, ゲル壁面近傍での微小気泡のふるまいをイメージコンバータ式高速度カメラ (UltranaC, ナックイメージテクノロジー) で撮影した。撮影速度は 400 万コマ毎秒とし, 連続 24 コマの画像を取得した。壁面の硬さが気泡のふるまいに与える影響を比較するため, アクリルアミドゲルの代わりにアクリル樹脂を用いた実験も行った。

【結果・考察】硬いアクリル樹脂壁面の近傍では, 気泡は壁面にほぼ付着した状態で膨張・収縮を繰り返したのに対し, 柔軟なゲル壁面の近傍では, 気泡は膨張・収縮を繰り返しながら壁面から離れていく様子が高い頻度で確認された。柔らかい足場層上に培養した細胞の膜損傷率が低下した原因は, 超音波照射と共に気泡が細胞から離れていくために, 膨張・収縮の影響が細胞に及びにくくなるためと考えられる。今後は, 気泡のふるまいの違いを定量的に評価すると共に, 細胞近傍における気泡のふるまいの高速度撮影を行っていく予定である。

9) 高速度顕微観察システムを用いた微小気泡と細胞の相互作用観察

内田和輝, 工藤信樹 (北海道大学大学院情報科学研究科)

【目的】我々はパルス超音波と微小気泡を用いたソノポレーションに関する研究を行っている。本手法では, 細胞に微小気泡が付着した状態で超音波を照射すると付着部位に膜損傷が生じることを利用し, 通常は細胞膜を透過しない薬剤や遺伝子の細胞内への導入を実現している。導入効率の向上には導入機序の解明が必要であるが, 超音波照射下における気泡の高速なふるまいと細胞膜に生じる損傷を関連付けて調べた検討は少なく, 膜損傷の発生機序には不明な点が多い。そこで本研究では, 高速度顕微観察システムと気泡捕捉用の光ピンセットを組み合わせることで気泡のふるまいと細胞の相互作用を観察できるシステムを開発し, 相互作用の観察を通じてシステムの有用性について検討した。

【方法】本研究では, 倒立型顕微鏡 (IX70, オリパス) に高速度カメラ (UltranaC, ナックイメージテクノロジー) と光ピンセットの光学系を組み合わせ, 観察システムを構成した。観察倍率 40 倍で最大 2,000 万コマ毎秒の撮影速度で 24 コマの画像を取得できる。光ピンセットの光ビームは, 対物レンズ直下に置いたダイクロイックミラーを介して顕微鏡光路内に導入した。捕捉用光ビームの光源には, 最大出力 1,100 mW, 波長 1,064 nm のレーザを用い, 空間光変調器 (X10468-03, 浜松ホトニクス) に表示したホログラムによりドーナツ型の光強度分布を持つベッセルビームを作成し, 周囲の液体より屈折率が小さい気泡を安定に捕捉した。観察チャンバは, 顕微鏡ステージ上に置いた水槽に穴を開け, その上面にヒト前立腺がん細胞を播種したカバーガラスを下向きに, 下面に通常のカバーガラスを貼りつけることで作製した。細胞近傍の所望の位置に光ピンセットで捕捉した気泡を置き, 中心周波数 1 MHz, 波数 3 波, 最大負圧 1.3 MPa のパルス超音波を 1 回照射し, 気泡と細胞の相互作用を高速度観察した。

【結果・考察】400 万コマ毎秒の撮影速度で撮影を行った結果, 気泡の収縮に応じた細胞膜の変形や断裂と思われる現象が観察された。また光ピンセットで気泡を制御することにより, 高確率で細胞と気泡の相互作用の観察が可能になった。これにより, 細胞

や気泡の大きさと位置を変化させて作用の違いを調べることが可能になると考えられる。以上の結果から、我々が開発した観察システムはソノポレーションの発生機序と最適条件の解明に有用と考えられる。今後は細胞膜損傷を蛍光染料を用いて可視化し、気泡のふるまいと膜損傷の関連を調べる予定である。

10) アニオン性脂質含有バブルリポソームの開発

根岸洋一¹、菊池太希¹、高橋葉子¹、小栗由紀子¹、杉本勝俊³、森安史典³、鈴木 亮²、丸山一雄²、新楨幸彦¹ (¹東京薬科大学薬学部、²帝京大学薬学部、³東京医科大学医学部)

【目的】 これまでに我々は、生体適合性、血中安定性に優れたポリエチレングリコール修飾リポソームに診断用超音波造影ガスを封入したバブルリポソームを作製し、超音波照射との併用により、核酸分子の細胞内送達が可能であることを明らかにしてきた。また、カチオン性脂質をリポソームの構成脂質として用いることにより、アニオン性を帯びた核酸の表面搭載可能な新規バブルリポソームの開発に成功している。このバブルリポソームは、表面搭載により、静脈内投与後の核酸とバブルリポソームの体内挙動を一致させることが可能となり、さらに核酸の安定性・滞留性を向上させることで、効率的な細胞内送達が可能となることを示してきた。しかし、治療用分子として用いられるものの中には、カチオン性分子も多数存在し、それらを効率良く送達できるキャリアの開発が望まれる。そこで本研究では、アニオン性脂質を構成脂質とした新規バブルリポソームの開発を試みたので報告する。

【方法】 構成脂質とした DPPC および DSPE-PEG2000 に、アニオン性脂質の含有量を変えることで、種々の組成比のリポソームを調製した。その後、高圧条件化で超音波造影ガス（パーフルオロプロパン）を封入することで各種アニオン性脂質含有バブルリポソームを調製し、ガス保持能、超音波造影能などについての物性評価を行った。さらに種々のカチオン性分子との相互作用について、フローサイトメトリーにて検討を行った。

【結果・考察】 本研究の結果、アニオン性脂質を含有した安定的なバブルリポソームの調製が可能であることが示された。*in vivo*での造影能を評価したところ、投与 10 分後においても安定な造影能を維持していることが判明した。さらにアニオン性脂質のモル比が 50% 以上の場合において、バブルリポソームへのカチオン性分子の表面搭載が可能であることが示唆された。以上のことから、アニオン性脂質含有バブルリポソームは、超音波照射を併用することで、カチオン性分子の組織・細胞内送達ツールとして利用が可能となることが期待される。今後は、この新規バブルリポソームを用いて、全身循環を介した種々の治療用分子の送達を試みることで、その有用性を評価する予定である。

※ 本抄録中における図表・画像をご覧になりたい方は日本超音波医学会へお問い合わせください。

第 3 回

日時：平成 25 年 12 月 20 日（金）

場所：滋賀医科大学看護第四講義室（看護学科棟）（大津市）

共催：日本ソノケミストリー学会主催第 6 回超音波、マイクロバブルの相互作用に関するシンポジウム－基礎から応用への橋渡し－

1) ウルトラファインバブルによるソノケミカル反応の促進効果

寺坂宏一（慶應大学理工学部）

超音波キャビテーションにより生成させた OH ラジカルを利用

して、廃水中に含まれる有害有機物の酸化分解処理が期待されている。一方、1 μm 以下の不可視な微細気泡として注目されているウルトラファインバブル（UFB）は、その圧壊の際にラジカルを発生すると報告されている。そこで廃水中への UFB 添加により有害有機物のソノケミカル分解を促進できれば、より高効率な廃水処理プロセスが実現できる。そこで本研究では、UFB を含む水（UFB 水）または UFB を含まない水（UFB フリー水）に超音波照射した際に発生するラジカル量を KI 法によって測定し比較を行った。さらに有機物分解効果をモデル有機物の分解により評価した。

2) 超音波による層状微粒子分散プロセスの速度論解析

堀江孝史（神戸大学大学院工学研究科）

近年、超音波照射による粒子分散・破砕効果を利用したナノ材料の生産が注目を集めている。2 次元的に広がりをもつナノ材料としてナノシートやナノファイバーが研究されており、中でも、リン酸ジルコニウム（以降 ZrP）ファイバーは、高分子内に取り込むことによって高い機械的強度、熱的安定性、透明性などの特徴をもつナノコンポジット材料への応用が可能である。ZrP などの層状化合物に対して超音波を作用させると、嵩高いイオンやアルコールが層間にインターカレーションされ、さらに、超音波の衝撃波、マイクロジェットなどの物理的作用によってナノサイズの粒子が発生するといわれている。しかし、超音波による分散メカニズムを明らかとした研究例は少なく、大量生産を目指した装置設計へ展開するための知見が得られていないのが現状である。本研究では、ZrP 微粒子懸濁液に超音波を作用させた際の分散メカニズム解明のため、プロセス設計において必要な分散速度式を導く。さらに、超音波分散のプロセスモデルを提案し、得られた速度式による検証を行ったので報告する。

3) 超音波を利用する金属ナノ粒子の合成：粒径と形状の制御

興津健二（大阪府立大学大学院工学研究科）

金属ナノ粒子の合成と応用に関する研究が現在活発に行われている。例えば、棒状に形状制御された金ナノ粒子（金ナノロッド）は可視領域と近赤外領域に表面プラズモン共鳴に基づく二つの吸収ピークを持ち、光メモリーやドラッグデリバリーシステム等、様々な分野での応用が期待されている。水溶液に超音波を照射すると極めて高温高圧のバブルが生成し、このバブルを利用することにより、様々なラジカルや不安定な化学種を生成させることができる。これらのラジカルや化学種と金属イオンとを反応させることにより、金属イオンを還元することができ、実験条件を制御することにより、様々なサイズや形状ならびにそれに基づく物理化学特性を有する金属ナノ粒子を合成することができる。今回、超音波キャビテーションを利用するナノ粒子創製の研究例について概説する。

4) 超音波による巨大 DNA 分子の二本鎖切断

吉田憲司¹、香川幸大¹、小川直樹¹、剣持貴弘¹、吉川祐子¹、

吉川研一¹、渡辺好章² (¹千葉大学 CFME、²同志社大学生命科学部)

現在、超音波は画像診断技術のみならず、高強度集束超音波法（HIFU: High Intensity Focused Ultrasound）をはじめとした様々な治療技術に幅広く応用されている。診断技術では、反射、散乱、ドプラ効果等の超音波の波動としての特性を利用し、各種臓器の形態、性状、機能情報を取得している。一方で、多くの超音波治療技術では、高強度超音波がもたらす熱的作用や非熱的作用

(キャビテーションの作用)を利用している。これらの作用は、細胞のアポトーシスやネクローシス等の生物学的な反応を引き起こす可能性がある。細胞死はDNA分子の損傷と関連していることから、超音波照射がDNA分子に与える影響を定量的に評価することは、超音波医用技術の安全性の観点から非常に重要であると考えられる。DNA分子の損傷は、塩基の置換、架橋、鎖の切断(一本鎖切断、二本鎖切断)に大別される。中でもDNAの二本鎖切断は細胞の死に直結するため、もっとも深刻な損傷として理解されている。本発表では、DNAの一分子観察法を基に、超音波照射によって引き起こされるDNAの二本鎖切断を評価した結果について述べる。また、キャビテーション発生の音響モニタリング結果との比較から、二本鎖切断と超音波キャビテーションの因果関係について検討する。

5) 超音波による蛋白質のアミロイド線維形成

後藤祐児 (大阪大学蛋白研究所)

蛋白質はフォールディングし、特異的な立体構造を形成して機能を果たす。他方、変性した蛋白質はミスフォールディングして、アミロイド線維と呼ばれる線維状の重合体を形成して、アミロイドーシスと総称されるさまざまな疾患の原因となる。アミロイド線維の形成は、溶質の結晶成長と類似しており、核形成と伸長の2段階からなる。我々は、超音波による溶液のアジテーションがアミロイド線維の形成を促進することを見出した。アミロイド線維が形成される前の蛋白質溶液は、過飽和状態にあり、超音波によって過飽和が解消されることによって、溶解度を越えて溶けていた溶質(蛋白質)が析出したと考えられる。超音波を利用した過飽和の解消は、アミロイド線維の形成だけでなく、機能的な天然構造の結晶形成においても効果的であると期待できる。本研究では、超音波照射による蛋白質のアミロイド線維形成機構を詳細に検討すると共に、超音波照射を利用してアミロイド線維を効率よく形成し、評価する装置HANABIを研究開発したので報告する。

6) ナノとソノ、ナノとバイオの学際領域で

小松直樹, 木村隆英 (滋賀医科大学化学)

ナノ粒子を扱う上で、超音波技術は必要不可欠と言える。しかしながら、ナノサイエンス、ナノテクノロジーの分野において超音波技術の重要性が十分に理解されているとは言えず、それゆえ、“ナノ”と“ソノ”との学際領域には、大きな可能性が存在する。このような背景において、我々は、あくまで“ナノ”を主役として研究を進めているが、いろいろな“ソノ”を試すことのできる環境におき、この学際領域において、時に面白い発見がある。本発表では、ナノとソノ、そしてバイオも絡めた我々の最近の成果①ドラッグキャリアへの応用を目指した水溶性グラフェンの合成および②ロゼッタ冷却容器によるカーボンナノチューブの水溶化プロープについて報告する。

7) パルス超音波と造影剤による新規DDS

川畑健一¹, 浅見玲衣¹, 蘆田玲子² (¹日立製作所中央研究所, ²大阪成人病センター消化器検診科)

超音波生体作用の治療応用には、直接治療効果を得る以外に、薬物キャリアーあるいは組織・細胞への物理刺激として働かせ、Drug Delivery System (DDS) 的な治療効果を得る方法がある。このような効果を得るために、キャビテーション生成による機械的な作用の活用が有効であると考えられる。特に、超音波単独でなく造影剤(=キャビテーションの効果増強剤)を併用するこ

とで、効果がよりマイルドな条件でかつ確実に得られることが期待される。本研究は、すい臓がんをターゲットとし、このような造影剤を用いる超音波DDSの開発を行うことを目標としている。すい臓がんは、血流が乏しく全身投与による薬物送達困難なことから、局所投与された薬剤ならびに造影剤に超音波照射を組み合わせが有用であると考えられる。このため、本手法では、抗がん剤等の薬剤と造影剤とを治療対象に局所投与し、超音波照射によって薬物を治療対象全体に浸透させることで、選択的かつ効果的な治療効果を得るというアプローチを取ることとした。このようなアプローチにおいては、造影剤分布が当初投与された部位から腫瘍全体に広がることが要求される。超音波照射の効果を用いて組織の浸透性を向上させることができれば、画像診断装置で観察しながら超音波を照射することで、必要とされる部位全体に造影剤および薬剤を浸透させることが可能である。今回は、このような目標を達成するために、新規開発中の超音波造影剤である相変化ナノ液滴(以降、PCND)が適用可能かを調べる基礎検討を行ったので報告する。

8) キャビテーション気泡による加熱増強効果を利用した強力集束超音波治療

吉澤 晋¹, 佐々木博史¹, 後藤功太¹, 宮下拓也¹, 高木 亮², 梅村晋一郎² (¹東北大学大学院工学研究科, ²東北大院大学院医学研究科)

強力集束超音波(HIFU: High-Intensity Focused Ultrasound)を用いた治療では、体外で発生させた超音波を患部に集束することによって、組織を局所的に加熱凝固させる。これによって、非侵襲に癌などの治療を行うことができるために注目されている。HIFUの焦点における圧力振幅は大きく、音響キャビテーションが発生し得る。発生、成長したキャビテーション気泡は集束超音波の圧力場を乱して治療の精度を低下させる一方で、気泡の体積振動に起因するエネルギー散逸などによって加熱作用を増強することが知られている。したがって、音響キャビテーションを適切に制御できれば、従来よりも高効率かつ高精度な超音波治療法を実現することが可能となる。ここでは、広範囲でキャビテーション気泡の加熱増強効果を利用することを目的とした超音波照射方法について紹介する。本手法では、高強度かつ短時間の超音波(「トリガーパルス」と呼ぶ)を走査して複数箇所にキャビテーションを生成・成長させ、直後に比較的低強度の超音波を連続照射(「加熱用超音波」と呼ぶ)するシーケンスを繰り返すことで、広範囲の組織を効率よく加熱凝固させること可能としている。

【特別講演】

画像差分型シュリーレン法による治療用連続超音波音場の可視化

工藤信樹 (北海道大学大学院情報科学研究科)

超音波出力が治療効果や安全性に直結する超音波治療において、正常な超音波出力が確保されていることを確認することは非常に重要である。多くの場合、定期的な保守により確認が行われるが、強力な治療用超音波を簡便に正しく測定することは難しい。また、治療用に多く用いられる連続波超音波では、反射や屈折をした超音波が干渉して複雑な音場を形成するため、超音波を一点で測定するのではなく、音場として可視化することが重要である。超音波音場を可視化する方法として、シュリーレン法やシャドウグラフ法が古くから使われている。これらの手法では、超音波圧力で生じる水の屈折率変化により光が曲げられることを基本原理としており、非接触で音場の可視化が行えることから、治療用の

強力超音波の評価に適している。しかし、シュリーレン法の実現に高品質な光学系が要求されるため、装置が大型化し高価になるという問題があり、応用を妨げられてきた。我々は、超音波音場の可視化を簡便な光学系で実現する新しい手法として画像差分型シュリーレン法を提案し、その有用性を検討してきた。本会では、手法の概要と応用例について述べる。

第4回

日時：平成26年3月1日（土）

場所：福岡大学 講義棟 A-201（福岡市）

【特別講演】

癌根治療法をめざした超音波-放射線融合療法の開発一

杉田洋一（International Center for Medical Technologies Texas Medical Center 東京慈恵会医科大学医用エンジニアリング研究室）

癌に対する放射線治療は癌組織内の酸素を Radiosensitizer として使用しているため、虚血部位に好んで存在すると云われている癌幹細胞には全く効果が無い。この事が癌の再発、転移の大きな原因となっている。今回我々は癌組織全体に超音波を照射（連続波、500 KHz、2 W/cm²）する事で癌組織から一酸化窒素（NO）を産生させ、この NO を Radiosensitizer として使用する、超音波-放射線融合療法（US-X Fusion 療法）をグリオーマを大腿部に移植したラットモデルで施行し、その有効性を確認したので報告する。

【一般演題】

1) 低強度超音波照射による放射線誘発細胞死の増強-細胞生物学的検討一

Mikhail A. Buldakov¹, Mariame A. Hassaan², 近藤 隆²（¹トムスク癌研究所、ロシア、²富山大学大学院医学薬学研究部放射線基礎医学講座）

放射線は単独で癌治療における重要な位置をしめているが、温熱との併用等は研究されてきたが、超音波との併用例は少ない。そこで、本研究では放射線照射後に、低強度の超音波を照射し、放射線による細胞死に与える影響について検討した。その結果、U937 および Molt-4 細胞を使用したところ、細胞死に関して、両細胞とも併用による細胞死の相乗的増強効果が認められたがアポトーシスにおける増強効果は認められなかった。本研究会では、この機構を解明すべく、細胞周期、DNA 損傷、細胞膜損傷等について調べたので、報告する。

2) 微小気泡捕捉機能を有する高速度顕微鏡観察システムの開発

工藤信樹、内田和輝（北海道大学大学院情報科学研究科）

我々は、微小気泡を細胞に接触させた状態でパルス超音波を照射することにより細胞膜に一時的な損傷を発生させるソノポレーションについて検討をしている。この現象の機序を明らかにするには、気泡の大きさや細胞からの距離を自由に制御して、その影響を明らかにすることが望ましい。そこで我々は、光ピンセットを用いて気泡を捕捉することによってこれを実現し、気泡が細胞に与える過程を高速度撮影により明らかにする観察システムの開発を行っている。本発表では開発システムについて述べ、最近の観察結果を紹介する。

3) マイクロ RNA を利用した超音波による遺伝子発現制御

小川良平¹、森井章裕²、渡部明彦²、崔 正国³、近藤 隆¹（¹富山大学大学院医学薬学研究部放射線基礎医学講座、²富山大学大学院医学薬学研究部腎泌尿器科学講座、³富山大学大学院医学薬学研究部公衆衛生学講座）

マイクロ RNA (miRNA) は、遺伝子発現の制御を通して様々な生命現象に関与する。細胞特異的に発現する miRNA の相補配列を利用して、細胞特異的な超音波遺伝子発現制御が可能であることを示した。また、超音波刺激で発現減少する miRNA の相補配列の組み合わせが、超音波刺激による遺伝子発現制御に利用できることを見いだした。miRNA の標的配列を利用することで、より詳細な遺伝子発現制御の可能性が示された。

4) 細胞形状と膜流動性の変化がソノポレーションにおける細胞の損傷と修復に与える影響

田中裕人、工藤信樹（北海道大学大学院情報科学研究科）

我々はパルス超音波と微小気泡を用いたソノポレーションに関する検討を行っている。その検討の過程において、カバーガラス上の接着細胞を対象としたソノポレーションでは、浮遊細胞や生体内細胞の場合よりも細胞死の頻度が高い傾向が認められた。このことから、ソノポレーション効果は超音波の照射条件だけでなく、細胞の状態にも依存する可能性が考えられる。そこで本研究では、細胞形状や膜流動性を変化させてソノポレーションを行い、細胞の損傷と修復への影響について検討した。

5) 円開口面を持つ遮蔽板と音響レンズの組み合わせによる平面音波の発生

土屋健伸、小澤一樹、橋本 真、遠藤信行（神奈川大学工学部電気電子情報工学科）

広い範囲に均一な強さの超音波を放射できれば、多数の細胞試料に同一条件の超音波を照射でき、有用であると考えている。そこで、円開口面を持つ遮蔽板と音響レンズを組み合わせ、レンズ透過後に平面音波を発生させることを考えた。本研究では基礎研究として、まず、音波源とする通常の探触子の放射音波より、平面波に近い音波を生成できるかを、レンズ透過後の音圧と位相分布を測定して確認した。さらに照射される超音波の音圧を開口円の径変更で制御して音圧分布を測定した。その結果、最大 0.1 MPa 程度の音圧で、かつ、照射面積は広がらないが、ほぼ平面音波とみなせる音波を放射できた。

6) MRSA のバイオフィーム形成に対する Sonoporation の効果

重森 健¹、自見至郎²、立花克郎³、高木誠司¹、大慈裕裕之¹（¹福岡大学形成外科学、²福岡大学医学部病態構造系総研、³福岡大学解剖学）

創傷に形成された biofilm は貪食細胞の浸潤を阻止し、抗菌薬に対しても抵抗性を示し、治癒遅延の重大な原因となる。例えば MRSA の biofilm では臨床使用の数百倍の濃度の vancomycin でも抗菌効果が得られない。通常の状態の菌では sonoporation による抗菌薬の作用増強の報告が数多くあるが、biofilm に対する効果はまだ不明な点も多い。そこで我々は MRSA 臨床株の biofilm への sonoporation の効果の検討を行うこととした。研究開始から間もないため、現時点での結果と今後の展望について報告する。

【招待講演】

1) 超音波メスの心臓血管外科への貢献

田山栄基（九州医療センター心臓血管外科）

2000 年、Higami らにより超音波メスの冠動脈手術における内

胸動脈採取での有用性が報告された。超音波メスは、その2大特性“Cavitation Fragmentation”と“Protein Coagulation”を使い分けることにより、内胸動脈採取法を大きく進化させた（Pedicle法から Skeltonized 法へ）。グラフト採取時間の短縮、スパスマリスキの低減、グラフト長の延長などのメリットは、グラフト流量の増加、バイパスターゲットの拡大、両側内胸動脈の積極的応用などにつながった。超音波メスは冠動脈外科の予後改善に大いなる貢献を果たしている。

2) 創傷治療のための超音波装置

高木誠司, 重森 健, 大慈弥裕之 (福岡大学医学部形成外科)
治療が遷延している創傷 (= 慢性創傷) では、えてしてその創面がバイオフィームで覆われている。バイオフィームは細菌微生物が形成する膜状構造体であり、その内部において細菌は潜み生存し、創の縮小や創周囲からの上皮化を妨げるとともに時に重大創感染を引き起こす。創管理の現場においては「バイオフィームは除去した方が良い」とされており、これを目的とした「超音波装置」が存在する。残念ながら国内未承認なので臨床での実地使用の経験はないが、海外文献の紹介等を含めて情報提供させて頂きたい。

3) 超音波を応用した血管新生療法

佐々木健一郎 (久留米大学医学部循環器内科)
閉塞性動脈硬化症等、血管新生が必要は疾患に対して血管内皮前駆細胞 (EPC) を投与する血管幹細胞の血管新生能力を応用し

た治療法が期待されている。一方、同細胞が動脈硬化危険因子である高血圧や喫煙、脂質異常、糖尿病などによって、その細胞機能を障害することも知られている。低出力パルス超音波刺激 (LIPUS) が特定の細胞増殖に有効であることより、EPC に LIPUS を直接加えることにより、細胞機能の回復・増強を試みた。In vitro 実験においては、健康人のみならず、動脈硬化危険因子を持つ患者由来の EPC における血管新生能力を高めることが可能となった。本研究の現状について、紹介する。

4) Laser plasma shock wave driven microparticles for DNA/drug delivery

Hamid Hosseini (Bioelectronics Department, Institute of Pulsed Power Science & Graduate School of Science and Technology Kumamoto University)

The paper describes a micro-particle delivery device that generates a plasma jet through laser ablation and uses the jet to accomplish particle delivery into soft living targets for transferring biological agents. The laser (Nd:YAG, 1064 nm wavelength) ablation of the foil generated a plasma jet that carried the DNA coated particles into the living targets. Generation of the plasma jet on laser ablation of the foil and its role as a carrier of microparticles was visualized using a high-speed camera with a shadowgraph optical set-up. The device physics could be characterized from the visualized images.