

一般社団法人日本超音波医学会平成 26 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 26 年 8 月 1 日（金）

場所：北海道大学医情報科学研究科（札幌市）

共催：日本音響学会アコースティックイメージング研究会
平成 26 年度第 2 回光超音波画像研究会，第 3 回基礎技術研究会
と共催の為、「超音波医学」42 巻 2 号（基礎技術研究会）に掲載
されていますので，ご参照下さい。

第 2 回

日時：平成 26 年 11 月 15 日（土）

場所：仙台情報・産業プラザ 多目的ホール（仙台市）

共催：第 13 回超音波治療研究会（JSTU 2014）

1) ナノ液滴気泡化に周囲温度が与える影響の検討

田中 純，石島 歩，東 隆，南畑孝介，山口哲志，
長棟輝行，佐久間一郎，高木 周，松本洋一郎（東京大学工学
系研究科）

相変化ナノ液滴（Phase Change Nano Droplet: PCND）は超音波
気泡化パルス照射することで相変化する液滴で，超音波造影剤
や超音波治療増感剤として研究されている。主に perfluoro-n-pen-
tane (PFP)，perfluoro-n-hexane (PFH) による PCND や，PFP と
PFH を混合した PCND が研究に用いられている。これらの
PCND には沸点の違い（PFP：29℃，PFH：57℃）があり，生成
した気泡の寿命が異なることが音響計測によって示されている。
気泡寿命が大きく異なるメカニズムを調べるため，沸点と周囲温
度の差を制御して気泡化の様子を調べることを本研究の目的とし
て，得られた成果について報告する。

2) ソノポレーションにおける 2 気泡間相互作用を用いた細胞損傷の制御

工藤祐也，工藤信樹（北海道大学大学院情報科学研究科）

我々は，超音波照射下で生じる微小気泡のふるまいにより細胞膜
の透過性を一時的に向上させ，細胞内に遺伝子や薬剤を導入する
ソノポレーションについて検討している。我々はこれまで，微小
気泡の非等方的収縮に伴って発生する水流が膜損傷を引き起こす
ことを報告し，近接する 2 つの気泡を用いることにより安定な水
流の発生と，それによる導入効果の向上が期待できることを報告
してきた。本報告では，2 気泡を細胞近傍に配置して実際にソノ
ポレーションを行ない，超音波照射下の気泡のふるまいにより生
じる水流が細胞へ与える作用を観察した結果について報告する。

3) リンパ管への薬剤投与とソノポレーションを組み合わせた担がんリンパ節治療

加藤茂樹¹，白井優子¹，小玉哲也¹，森 士朗²（¹東北大学医工
学研究科，²北海道大学病院）

腫瘍のリンパ節転移に対する従来の化学療法は薬剤を静脈からの
全身投与であり，薬剤が全身に拡散するため，組織選択性の低下
や強い副作用の発生などの課題を抱えている。本研究は，腫瘍の
リンパ節転移に対してリンパ管を介した腫瘍リンパ節への直接的
な薬剤送達法の開発と，超音波と微小気泡による抗がん剤の腫瘍
細胞への効果的な導入法開発を目的にする。Doxorubicin (Dox)
と音響性リポソームを投与した腋窩リンパ節に超音波を照射した

群は，高い抗腫瘍効果が得られており，報告する。

4) 音響性リポソームと超音波を用いた Vasohi bi n-1 遺伝子導入による抗血管新生効果の評価

堀江佐知子¹，鈴木康弘¹，小林美穂¹，佐藤靖史¹，小玉哲也²
（¹東北大学加齢医学研究所，²東北大学医工学研究科）

Vasohi bi-1 (VASH-1) は，血管内皮細胞が発現し自らに作用し
て血管新生を抑制するネガティブフィードバック調整因子である。
VASH-1 は腫瘍血管新生を抑制することにより腫瘍の増大を抑え
ることからがん治療への応用が期待されている。本研究では音響
性リポソームと超音波を用いてマウス乳がん固形腫瘍に VASH-
1cDNA を局所導入し，抗腫瘍効果を評価することを目的とする。
音響性リポソームと超音波を用いて腫瘍組織に VASH-1A もしく
は VASH-1B 遺伝子を腫瘍組織に導入すると血管内皮細胞での発
現が確認され，VASH1A と VASH1B は共に腫瘍生育を抑制した。
VASH1A は血管の正常化を誘導し，腫瘍血流と低酸素を改善す
るのに対し，VASH1B は血管を退縮し，腫瘍壊死を来す効果が
あった。

5) 酸化チタン光触媒，マイクロバブルと HIFU を併用した癌細胞殺傷効果の検討

立花克郎，遠藤日富美，Moosavi Fatemeh，フェリル ロリト，
渡邊晶子（福岡大学医学部解剖学講座）

酸化チタンは代表的な光触媒としてよく知られている。本研究で
は超音波の特殊な効果に着目し，酸化チタン水溶液と微小気泡を
組み合わせた，新しい高密度焦点式超音波（以下 HIFU，3.5 MHz，
210 W/cm²，Duty 50%，0.5 Hz pulse で 1 秒間）がん治療を検討
した。ヒトリンパ腫細胞株 U937 を細胞培養用プレートに細胞浮
遊液させ，対照群，HIFU 群，酸化チタン投与群，微小気泡併用
群で比較検討した。微小気泡はソナゾイドを用いた。対照と比較
し，酸化チタンのみ，微小気泡のみでは細胞数の減少は認めな
かった。それに対し，HIFU 群は 84.4%，酸化チタンの HIFU 併
用群は 69.1%と細胞数の減少を認めた。さらに，ソナゾイドと
HIFU 併用群は 21.0%，酸化チタンとソナゾイドと HIFU 併用群
は 11.3%と著明な生細胞数の減少を認め，酸化チタンと微小気
泡の相互作用が示唆された。

6) Effects of nano-platinum particles on cell death induced by ultrasound

Paras Jawaid¹，Mati Ur Rehman¹，Peng Li¹，Qing Li Zhao¹，
Mariame Ali Hassan¹，Tadamichi Shimizu¹，Takashi Kondo¹，
Yusei Miyamoto²（¹Graduate School of Medicine and Pharmaceutical
Sciences，University of Toyama，²Graduate School of Frontier
Sciences，The University of Tokyo）

Ultrasound (US) has been shown to induce apoptosis and cell lysis
in cancer cell lines. In this study, we report on the potential use of
platinum nano particles (nano-Pts), a SOD/catalase mimic antioxi-
dant, in combination with US for 2 min at an intensity of 0.4 W/cm²
with 10% duty factor. The apoptosis induction, as detected by DNA
fragmentation and Annexin V-FITC/ PI was shown to be mediated
by the both mitochondrial and caspase 8 dependent pathways, ob-
served by Flow cytometry and spectrophotometry assay which were

significantly decreased in the cells pre-treated with nano-Pts. In addition, nano-Pts also decreased the expression of proteins that related to apoptotic and autophagic cell death which are responsive to US. Furthermore, interestingly morphological changes as evidenced by Giemsa staining and cell viability measured by trypan blue assay showed enhanced cell killing in the combination treatment. The occurrence of US-induced DNA damage was also observed. Taken together, in this study we have shown for the first time that in combination treatment, nano-Pts protect US induced autophagic and apoptotic cell death, as well as enhanced cell killing by switching the apoptosis into particular irreparable pyknotic and non-apoptotic cell death; however, the underlying mechanism for this switch remains unclear. These results indicate the potential of nano-Pts in combination with US and would further clarify the role of nano-Pts in US-aided therapies.

第3回

日時：平成26年12月19日（金）

場所：横浜国立大学保土ヶ谷キャンパス環境情報1号棟305室（横浜市）

共催：日本ソノケミストリー学会 第7回超音波とマイクロバブルの相互作用に関するシンポジウム

1) 位置制御した気泡と細胞の相互作用の高速度観察

工藤信樹（北海道大学大学院情報科学研究科）

我々は、微小気泡が付着した細胞にパルス超音波を1回照射するだけで細胞膜に膜損傷を生じることを見出し、薬剤や遺伝子を細胞内に導入するソノポレーションへの応用について検討している。この手法は一般に広く行われている連続超音波を用いるソノポレーションに比べて生体への作用が少ない反面、導入効率が低く、その向上が課題となっている。そこで我々は、超音波照射下における気泡の高速なふるまいと細胞に生じる膜損傷を対応づけることによりソノポレーションの発生機序を明らかにし、導入効率の向上を目指す検討を行ってきた。本稿では、光ピンセットにより気泡の位置制御を実現し、気泡と細胞の相互作用を高速度カメラで顕微撮影するシステムに蛍光観察系を加えて細胞損傷の精密な評価を実現し、気泡のふるまいと細胞損傷の関連を調べた結果について述べる。

2) バブルダイナミクスの理論解析

安井久一（産業技術総合研究所）

超音波照射下で膨張、収縮する気泡は、スピーカーが振動によって音を放射するのと同じように、周囲に音波を放射する。これを音響キャビテーション・ノイズという。この音波を受けることで、それぞれの気泡の膨張、収縮の様子が変化したが、これを気泡間相互作用という。ところが、医療用マイクロバブルに関しては、気泡間相互作用に関する知見が乏しいのが現状である。本研究では、数値シミュレーションにより、医療用マイクロバブルに関して、気泡間相互作用が重要になる条件を調べ、その結果を報告する。

3) 3次元超音波音場の位相操作による流路内マイクロバブルの誘導制御

榊田晃司、保坂直斗、宮蓍慎也、津口冬威、江田 廉、

小野本真哉、望月 剛（東京農工大学）

血液中に投与された微小気泡は血流と共に拡散するため、高濃度

で疾患部へ送達することが困難であるという問題点がある。そこで我々はこれまで、人工血管を流れる微小気泡に超音波照射を行い、任意経路に誘導する手法の開発を行ってきた。超音波音源として単板のトランスデューサでは1本のビームが形成されるのに対して、2Dアレイトランスデューサを用いて各振動子の位相制御を行うと複数の焦点音場を同時に形成可能となり、微小気泡の捕捉や誘導の効率が向上することを報告してきた。これらの原理は音波の進行方向に受ける面積に比例した放射力、及び気泡の振動によって生じるPrimary Bjerknes Forceを利用している。しかし、これらはいずれも音響エネルギーの高い場所から低い場所へ押し出す力のみであり、音波の進行方向に逆らう方向の力を生成することはできなかった。そこで本研究では、複数の焦点の空間的な配置を時間変化させると共に、焦点間の音場分布の位相差を操作することによって音波の進行方向と逆方向の力を形成し、生体内での微小気泡の能動制御の可能性を飛躍的に向上させることを目的として研究を行ったので、報告する。

4) 超音波照射による急性脳塞栓と固形がん治療

横山昌幸、王 作軍、白石貢一（慈恵医科大学ME研究部）

超音波は生体内で様々な物理的、生化学的作用を及ぼし得るので、多様な方法で医療に用いることができる。応用の第一は、超音波照射によってrt-PAの血栓溶解作用を促進するものである。我々は照射超音波の頭蓋骨の透過率という治療の効果と安全を左右する重要な因子が、よく解析されていない点が問題であることを提起した。超音波は骨表面や超音波振動子表面で反射し、それが反射なしで直進する波と干渉することで、超音波強度が強くなったり弱くなったり変動し得る。この変動は、従来、治療の効果と安全性に関わるほど大きくないと考えられてきた。我々はこの変動が従来予想されるよりもずっと大きく、これの変動を抑制する技術が必要であると考えた。今回は骨ファントムと人頭蓋骨の両方で、これらを透過後に超音波強度が何倍にも変動することを見だし、その変動が超音波変調をかけることで顕著に減少することを報告する。

一方の、固形がん治療に関しては、超音波照射によってがん組織に一酸化窒素（NO）を産生させ、それをradio-sensitizer（通常は組織内の酸素をradio-sensitizerとする）としてX線治療を実行する、新規超音波—X線併用療法提案する。この研究は、当研究室の杉田が500kHzの中周波数超音波照射によってがん組織選択的にNO産生が誘起されることの発見による。本発表では、超音波照射によってがん組織NO濃度が上昇し、X線照射すると減退宿効果が見られた結果を報告する。

5) 定在波音場及び集束音場における音響キャビテーションと音響流の観測

植村友樹¹、三並京平¹、佐々木一真¹、佐藤敏夫¹、竹内真一¹、
崔 博坤²（¹桐蔭横浜大学大学院、²明治大学理工学部）

医療分野では高強度の超音波により音響キャビテーションが発生した場合に人体に多大な影響を与えることとなる。そこで生物学的安全性の確保といった観点から音響キャビテーションの測定方法の検討が重要となっている。産業分野では音響キャビテーションによる洗浄や分散効率向上を目的として音響キャビテーションの発生位置や発生量の特定が重要であり、音響キャビテーションの測定技術の向上が今後も期待されている。そのため、当研究室では音響キャビテーションの空間分布の測定を行うためにキャビテーションセンサの開発を行ってきたが、センサを音場内に投入

する際に音場に対して擾乱を与えてしまう、音響キャビテーションの空間分布測定に対し長時間を要するといった問題が新たに発生した。そこで本研究では、ソノケミルミネッセンス (SCL: Sono Chemi Luminescence)、超音波診断装置 (GE Healthcare: LOGIQe) の B モード画像を用いて音響キャビテーションの空間分布を観測した。さらに、粒子画像流速測定法 (PIV: Particle Image Velocimetry) を用いて音場内で発生した音響流を解析し、音響流が音響キャビテーションの発生に対してどのような影響を与えているか検討を行ったので、報告する。

6) 超音波による遺伝子発現制御

小川良平, 森井章裕, 渡部明彦, 近藤 隆 (富山医科薬科大学大学院医学薬学研究部)

超音波は、体内深部に到達し、特定の部位に集中して照射することも可能である。この性質を利用して、体内に導入した遺伝子の発現を超音波で制御できれば、時間的・空間的な遺伝子発現制御が期待でき、様々な病気の治療に役立つと考えられる。以前、ヒト子宮頸癌由来の HeLa 細胞中で放射線刺激により活性化する転写因子の結合配列をランダムに組み合わせることにより、超音波に応答して活性化するプロモーターを構築した。これらのプロモーターの活性化には、超音波照射により引き起こされる細胞内酸化ストレスが関与していることが示された。しかし、これらのプロモーターは細胞特異的であり、HeLa 細胞でのみ顕著な超音波応答性を示した。そこで、異なる細胞でも、同様の原理で超音波応答性のプロモーターを構築可能であるかを調べるために、ヒト前立腺癌由来の LNCaP 細胞で細胞内酸化ストレスにより活性化する転写因子の結合配列を使用して、超音波応答性プロモーターの作成を試みた成果について報告する。

7) 電界・プラズマを利用したマイクロバブル射出による機能創発

山西陽子 (芝浦工業大学機械工学科)

研究当初は細胞を切るマイクロ電気メスは、細胞に熱ダメージを与える、電気分解による無秩序な気泡の発生、電極摩耗、切開後に付着するタンパク質による電極劣化等の失敗続きであった。しかしながらある時、電極先端に空隙 (バブルリザーバ) を設けた構造で放電した時に、これまで無秩序に発生していた気泡に指向性が存在していることに気づき、高速度カメラを用いてその気泡を確認したところ、サイズの揃った一列の高速気泡列であることがわかった。この気泡によって細胞表面も加工できることがわかり、気泡で細胞を切る「バブルメス」と呼ばれるデバイスとして研究を進めるに至っている。ガラス電極をアクティブ電極とし、加工対象である細胞を対向電極に接触させて電極間に電圧を印加することで、先端から非常に小さな気泡を連続して打ち出し、その力で細胞を加工するという方法で、堅い植物細胞でも加工できる力がありながら、加工表面に熱ダメージを与えないという利点があり、紹介する。

8) プラズマによって生成されるキャビテーションとキャビテーションによって生成されるプラズマ

佐々木浩一 (北海道大学大学院工学部)

プラズマはキャビテーション気泡をつくり、キャビテーション気泡の圧壊によってプラズマがつくられる。また、現在、反応性プラズマの分野では、液体中でのプラズマの生成とその応用に関する研究が高い関心を集め、発展的な課題になっている。まさしく、ソノケミストリーと反応性プラズマは隣り合わせの研究分野

になっていると言える。本講演では、液相レーザーアブレーション誘起のキャビテーション気泡がナノ粒子生成に果たす役割、超音波誘起キャビテーション気泡の圧壊によるプラズマ (ソノプラズマ) 生成を効率化する方法、および、ソノケミストリープロセスの非平衡性を高める目的で試みているキャビテーション気泡内での放電プラズマ生成について紹介する。

9) バブルリポソームを利用した超音波遺伝子デリバリーシステムによる疾患治療

根岸洋一¹, 高橋 (遠藤) 葉子¹, 新槇幸彦¹, 鈴木 亮²,

丸山一雄² (¹東京薬科大学薬学部, ²帝京大学薬学部)

遺伝子治療は、候補となる治療用遺伝子を体内の標的組織へ、効率的に安全に導入する手法を用いて、遺伝病、がん、感染症などの疾患へ適用する治療法で臨床応用が期待されている。標的組織への遺伝子導入を担うベクターの開発は、遺伝子治療の技術開発の中でも重要であると考えられているが、毒性、抗原性などの臨床上の安全性に問題が無く、しかも遺伝子発現効率の高い非ウイルスベクターおよびドラッグデリバリーシステム (DDS) 技術・方法論の研究開発が切望されている。そのような背景から、これまでに我々は、非ウイルスベクターの新規の遺伝子デリバリーツールとしての超音波造影ガス封入リポソーム (バブルリポソーム) と超音波照射を利用した遺伝子デリバリーシステムの開発を進めてきた。この遺伝子デリバリーシステムは、バブルリポソームにプラスミド DNA や siRNA の共存下で治療用超音波 (1-2 MHz) を照射するとキャビテーション誘導 (バブルの崩壊) に伴うマイクロジェット流が発生し、それを駆動力として薬物・遺伝子が瞬時に細胞内へと送達できるというものである。本研究では、重篤な遺伝病として知られているデュシャンヌ型筋ジストロフィー (DMD) の疾患モデル動物 (*mdx*: 細胞骨格タンパク質であるジストロフィン欠損により、筋肉が幼弱) に対し、バブルリポソームと超音波照射の併用法による遺伝子デリバリーを行い、治療効果の有無 (欠損ジストロフィンタンパク質の発現回復) を検証することで、本法の有用性を評価し、その成果を報告する。

10) 教育講演 医療用バブルの歴史と今後

立花克郎 (福岡大学医学部)

近年、超音波画像診断技術は目覚ましい進歩を遂げてきた。超音波診断画像から得られる情報量は飛躍的に増加し、心臓、頸部、腹部領域における一般診療の場で必要不可欠な診断手法となった。一方、超音波の治療への応用は 50 年以上の長い歴史をもちながら診断領域ほどの脚光を浴びてこなかった。しかし、この数年、今までになかった新しい超音波治療方法・装置が次々と登場するようになった。また、臨床で分子診断や Drug Delivery System にバブルを応用する新たな分野も築かれようとしている。1. 血栓溶解剤と超音波の併用 2. 超音波発熱 3. 振血管内カテーテルを用いた血栓溶解療法、4. 経頭蓋超音波血栓溶解療法、5. 薬物効果増強作用のメカニズム、6. 超音波遺伝子導入法、7. 進む診断と治療の融合化について、解説する。

第4回

日時：平成27年3月7日（土）

会場：福岡大学病院臨床大講堂（福岡市）

【招待講演1】

Precision drug delivery with ultrasound and microbubbles: mechanisms, applications and progress to translation to clinics. From basics to translational research

Ayache Bouakaz, Inserm U930, Université François Rabelais, Tours, France

Targeted drug delivery (delivery of a drug to a spatially localized site in the human body) is one of the most ambitious goals of modern therapy. The strict localization of the pharmacological activity of a drug to the site of pathology would result in a significant reduction in systemic drug toxicity. This would enable the ability to deliver increased doses of drug to desired tissue, and thus would result in an increase in treatment efficacy and safety. Although a great amount of work is conducted worldwide on the research of various targeted drug delivery systems, clinical applications of site-targeted delivery are still very limited. In recent years, new promising possibilities for targeted drug delivery have been discovered based on the combination of ultrasound (US) and microbubbles.

Sonoporation consists of the interaction of US waves and gaseous microbubbles used as contrast agents. The result of this interaction is a transient permeabilization of the cell membrane allowing for the uptake of drugs or DNA, and other therapeutic compounds from the extracellular environment. The membrane alteration is temporary but leads to a permanent trap of the compound inside the cell after US exposure. The first experiments on sonoporation date back to 1980s. Various US exposure conditions have been tested blindly including frequencies ranging from the kHz to the MHz. Sonoporation has also been evaluated using high pressure amplitude US waves. Since then and with the recent introduction of contrast agents, higher frequency US with cavitation enhanced by microbubbles have been sought to induce a range of effects on cells. Extensive examinations have been carried out to evaluate the efficiency of US in combination with contrast microbubbles in inducing cellular uptake. Although these result and finding were achieved in a controlled in-vitro environment, diagnostic US scanners were also useful for therapeutic applications of sonoporation particularly with the guidance of treatment afforded by the imaging mode.

Today, the mechanisms involved in the sonoporation process and the cell membrane permeabilization remain poorly identified. Although no consensus has been reached, several scenarios have been hypothesized, including the formation of pores, further stimulation of endocytotic pathways and occurrence of membrane wounds. Elucidating the mechanisms responsible for delivery of compounds to the cells and the kinetics of permeabilization are essential in order to improve and control this therapeutic strategy. This invited talk will focus on the current knowledge of the mechanisms of sonoporation and drug delivery using US and microbubbles. We will also discuss the current therapeutic applications of microbubbles and future progress and potential translational use into clinics.

【招待講演2】

Ultrasound Theranostics with Bubble

Kazuo Maruyama, Laboratory of Drug and Gene Delivery Research, School of Pharma-Sciences, Teikyo University

“Theranostics” is a portmanteau word of therapeutics and diagnostics. The term “Theranostics” describes technology with concurrent and complementary diagnostic and therapeutic capabilities. Various techniques using nanoparticles in combination with light, sound, and electromagnetic fields are currently being developed for both therapeutic and diagnostic application. Among all diagnostic imaging techniques, ultrasound imaging has a unique advantage because it is real-time, low-cost, safe, and easy to incorporate into portable devices. In fact, ultrasound is used widely in clinical settings not only for diagnosis but also for therapy. With the use of microbubbles as ultrasound contrast agents, the sensitivity of ultrasound imaging has been greatly improved. However, microbubbles have room for improvement in size, stability, and targeting function. To solve these issues, we previously developed intelligent bubbles called “Bubble liposomes” (BLs) based on liposome technology^(1,2,3). BLs contain echo contrast gas, which can function as a ultrasound imaging and drug and gene delivery tool with ultrasound exposure *in vitro* and *in vivo*. Ultrasound theranostics with BLs was examined in thrombolysis^(4,5) and solid tumor ablation⁽⁶⁾.

Thrombus-targeted BLs modified with Arg-Gly-Asp (RGD) peptide which binds to glycoprotein IIb-IIIa complex on activated platelets was developed for ultrasound theranostics for performing ultrasound thrombus imaging and enhanced ultrasonic thrombolysis. The ultrasound theranostics capabilities of newly developed RGD-BLs were studied with rabbit iliofemoral arterial thrombus. RGD-BLs could accumulate on the thrombus after intravenous injection and the thrombus location was clearly recognized by a 9 MHz linear transducer of diagnostic ultrasound machine, and also confirmed by angiography. Following the recognition of thrombus position, therapeutic ultrasound (0.5 – 1.0 MHz low-frequency ultrasound) was exposed transcutaneously over the site of the rabbit iliofemoral arterial thrombus. This procedure induced cavitation of RGD-BLs on the thrombus and following disrupting the clot, resulted in achievement of higher recanalization rate. Thus, the combination of ultrasound and RGD-BLs could be used as an effective and completely non-invasive recanalization therapy.

The ultrasound theranostics capabilities of BLs for the solid tumor were studied in Colon 26 tumor bearing mice. BLs was injected to mice via tail vein and 9 MHz linear ultrasound was exposed to solid tumor site transdermally. The flow of BLs in blood was observed and neovasculature of tumor tissue was imaged clearly. Following the recognition of neovasculature in tumor tissue, 1.0 MHz therapeutic ultrasound was exposed transdermally over the site of solid tumor tissue. This cycle was repeated several times. This process induced cavitation of BLs in the tumor tissue, resulted in rising the temperature of tumor tissue to 45 – 55°C, and also significant reduction of tumor growth. Cavitation leads to localized heating and could be used for ablative cancer therapy. Thus, the combination of BLs and ultrasound could be efficacious for neovasculature image and cancer ther-

apy.

1. Suzuki R, Takizawa T, Negishi Y, Utoguchi N, Maruyama K. Effective gene delivery with liposomal bubbles and ultrasound as novel non-viral system. *J Drug Target* 2007; 15: 531-537.
2. Suzuki R, Takizawa T, Negishi Y, Utoguchi N, Sawamura K, Tanaka K et al. Tumor specific ultrasound enhanced gene transfer in vivo with novel liposomal bubbles. *J Control Release* 2008; 125: 137-144.
3. Suzuki R, Oda Y, Utoguchi N, Namai E, Taira Y, Okada N et al. A novel strategy utilizing ultrasound for antigen delivery in dendritic cell-based cancer immunotherapy. *J Control Release* 2009; 133: 198-205.
4. Hagiwara K, Nishioka T, Suzuki R, Maruyama K, Takase B, Ishihara M et al. Thrombus-targeted perfluorocarbon-containing liposomal bubbles for enhancement of ultrasonic thrombolysis: in vitro and in vivo study. *J Thromb Haemost* 2013; 11: 1565-1573.
5. Hagiwara K, Nishioka T, Suzuki R, Takizawa T, Maruyama K, Takase B et al. Enhancement of ultrasonic thrombus imaging using novel liposomal bubbles targeting activated platelet glycoprotein IIb/IIIa complex--in vitro and in vivo study. *Int J Cardiol* 2011; 152: 202-206.
6. Hamano N, Negishi Y, Takatori K, Endo-Takahashi Y, Suzuki R, Maruyama K et al. Combination of Bubble Liposomes and High-Intensity Focused Ultrasound (HIFU) Enhanced Antitumor Effect by Tumor Ablation. *Biol Pharm Bull* 2014; 37: 174-177.

【招待講演 3】

低出力超音波 (LIPUS) を用いた間葉系幹細胞の分化能維持

楠山 謙二 (鹿児島大学大学院医歯学総合研究科口腔病理解析学分野)

間葉系幹細胞 (MSC) は、自己複製能力を持つ多能性細胞である。MSC は培養条件を変えることで、骨芽細胞、軟骨芽細胞、脂肪前駆細胞へと分化することが知られている。骨欠損に対して、MSC を骨分化させた細胞を用いて、骨再生を効率的に誘導することができれば、臨床における非常に有用な治療法となる。MSC の細胞培養は比較的容易であり、複数回の継代により多量の細胞数を確保することができるが、継代を重ねると、その可塑性や形態が徐々に失われる。そのため、臨床応用に必要となる MSC を、分化能を保った状態で培養する技術はまだ不十分である。現在我々は低出力超音波 (LIPUS) による物理刺激で MSC の分化能を維持するための分子メカニズムを解析しており、本発表では今までに明らかにした LIPUS の細胞分化に対する影響と、そのキーとなる分子についてご紹介させていただきたい。

【招待講演 4】

超音波照射と糖修飾バブルリポソームの併用による標的指向型 DDS の開発

川上 茂 (長崎大学大学院医歯薬学総合研究科医薬品情報学分野)

我々は、糖鎖認識機能のための糖修飾脂質ならびに超音波応答のための超音波造影剤を組み込んだ糖修飾バブルリポソームを調製し、体外からの超音波照射との併用を利用した精密な標的指向型ドラッグデリバリーシステム (DDS) の開発を行ってきた。本発表では、遺伝子・オリゴ核酸や超音波増感剤を薬物として適用した際の DDS および導入遺伝子発現分布の新規評価法に関す

る我々の最新の研究成果について発表を行いたい。

【招待講演 5】

細胞培養足場層の硬さがソノポレーションにおける気泡と細胞のダイナミクスに与える影響

工藤信樹 (北海道大学大学院情報科学研究科)

我々は、細胞へ遺伝子や薬剤を安全に導入する *in vivo* ソノポレーションの実現を目指して検討を行っている。本報告では、まず細胞損傷の発生に最も重要な役割を果たす微小気泡のダイナミクスに着目し、気泡が硬い物質もしくは柔軟な生体組織の近傍に存在する場合にダイナミクスがどのように変化するかを明らかにする。さらに、ソノポレーションの対象となる細胞の状態についても注目し、ソノポレーションによって生じる細胞の損傷と修復が、一般的な条件で培養された細胞と *in vivo* に近い条件で培養された細胞でどのように異なるか調べた結果について報告する。

【一般演題】

1) 超音波誘発細胞死に与える白金ナノ粒子の影響

近藤 隆 (富山大学大学院医学薬学研究部 (医学) 放射線基礎医学講座)

白金をナノ粒子とすると SOD およびカタラーゼ活性を有することが知られている (Kajita et al., *Free Radic Res*, 2007)。我々は、ヒトリンパ腫細胞株を用いて、紫外線、温熱、および放射線誘発アポトーシスに与える影響を調べたところ、細胞内活性酸素種 (ROS) の生成を抑制し、アポトーシス生成も抑制することを報告してきた。超音波も細胞内 ROS を生成することを見出しており、本研究では、超音波誘発細胞死に与える白金ナノ粒子の影響を調べたところ、超音波と白金ナノ粒子の相互作用について独特の特性が判明したので、報告する。

2) 超音波造影剤ソナゾイドに含まれるナノバブルと超音波照射による殺細胞効果の検討

渡邊晶子, Seyedeh Moosavi-Nejad, 遠藤日富美,

Loreto Feril, 立花克郎 (福岡大学医学部解剖学教室)

マイクロバブルを利用した超音波による癌治療への応用を目指し、本検討では異なるサイズの超音波造影剤ソナゾイドと超音波照射による殺細胞効果について検討した。

U937 細胞懸濁液に、超音波の照射直前に平均粒子径約 300 nm と約 1 mm のソナゾイド懸濁液をそれぞれ 5% 加えた。周波数 510 kHz, 1.011 MHz, 2 MHz, パルス繰り返し周波数 10 Hz の条件で超音波振動子を駆動し、U937 に対して超音波を 90 秒間照射した。超音波照射直後の細胞生存率を、トリパンブルー染色法により測定した。

すべての周波数において、平均粒子径約 300 nm よりも約 1 mm のソナゾイドを加えた方が高い殺細胞効果が得られた。

3) バブルリポソームと超音波照射併用による臓器選択的核酸デリバリーシステムの開発

根岸洋一¹, 櫻井あかね¹, 高橋葉子¹, 新槇幸彦¹, 鈴木 亮², 丸山一雄² (¹東京薬科大学薬学部薬物送達学教室, ²帝京大学薬学部薬物送達学研究室)

我々は、体外からの超音波照射併用することで、細胞や臓器選択的な薬物・核酸デリバリーを可能とするバブルリポソーム (BLs) の開発を進めてきた。本研究では、全身投与に適した核酸デリバリーシステムの構築に向け、アニオン性脂質を含有するバブルリポソーム (An-BLs) の調製を行い、超音波併用による臓器選択的な核酸デリバリーを試みた。導入用核酸・遺伝子には、中性電

荷の核酸にカチオニックペプチドを連結させたもの、あるいはルシフェラーゼ遺伝子発現プラスミドを用いた。はじめに An-BLs の体内での安定性を超音波診断造影装置により調べたところ、血中滞留性に優れていることが示された。さらに心臓や脳選択的な核酸・遺伝子デリバリーも示された。以上より、An-BLs は、安定な超音波造影剤かつ臓器選択的な核酸デリバリーツールとして機能することから、超音波診断と治療の一体化（セラノスティックス）システムの構築を可能とするバブル製剤となりうるものと期待された。

4) 血流や骨を有するファントム内の超音波照射による温度上昇

遠藤信行，清水一磨，波田野雄一，土屋健伸（神奈川大学工学部電気電子情報工学科）

筆者らは JIS 規定に基づいて製作した寒天ファントムを使用して、診断あるいは治療時の、超音波照射による軟部生体組織ファントム内の温度上昇について研究してきた。

本報告では、胸部診断時のセクターキャンにおける肋骨の影響についてのシミュレーション、ならびに、血管による温度上昇の抑制効果を推定するシミュレーションを行った。そして、セクターキャン時においては、肋骨の温度が上昇する可能性について述べる。さらに血流の温度抑制効果に関し、毛細血管は無く太い一本の血管しか存在しないような基礎研究の結果について述べる。

5) 強力超音波音場測定用耐音響キャピテーションハイドロホンの開発

椎葉倫久¹，高野海渡²，岡田長也³，黒澤 実⁴，竹内真一⁵（¹桐蔭横浜大学院，日本学術振興会特別研究員，²桐蔭横浜大学，³本多電子株式会社，⁴東京工業大学大学院，⁵桐蔭横浜大学）

我々はチタン製前面板の裏面に水熱合成 PZT 多結晶膜を成膜し、

HIFU 治療装置の焦点付近やソノレーションのような音響キャピテーションの発生する強力超音波音場でも壊れない堅牢型ハイドロホンの開発を行っている。MASON の等価回路に基づく数値シミュレーションの結果、固有音響インピーダンスが約 20~30 MRayl の背板を用いる事でフラットな受信感度の周波数特性を得られることがわかった。そこで、固有音響インピーダンスが約 27 MRayl の背板を有する堅牢型ハイドロホンを開発した。このハイドロホンをを用いると従来よりも忠実に超音波波形の非線形歪を表現できることが分かった。また、音響キャピテーションが発生している超音波洗浄器の水槽内で超音波曝露実験を行った結果、この堅牢型ハイドロホンは市販のハイドロホンより長い耐久性を有していることがわかった。

6) 画像差分シュリーレン法を用いた超音波診断装置音場の可視化と定量化

関根大輝，工藤信樹（北海道大学大学院情報科学研究科）

我々は、機器の劣化や故障による超音波出力の変化を簡便に可視化する画像差分シュリーレン法を提案し、その実用性の評価を行っている。今回は、提案手法を用いて臨床用超音波診断装置のパルス音場を可視化し、得られる画像から音圧波形を再現する方法について検討した結果について述べる。さらに、故障プローブの音場可視化を行ない、故障による音場の変化と出力変化の定量評価を行った結果と、ハイドロホンでの計測が難しい減衰媒質中での音場可視化を行った結果についても述べる。