

公益社団法人日本超音波医学会平成 28 年度超音波分子診断治療研究会抄録

代表：梅村 晋一郎（東北大学 大学院 医工学研究科）

第 1 回

日時：平成 28 年 8 月 6 日（土）

場所：北海道大学

1) 画像差分シュリーレン法を用いた強力集束超音波音場の可視化の試み

榊飛翔，工藤信樹（北海道大学）

我々は、超音波音場を取得する光学的手法として画像差分シュリーレン法を提案し、その有用性を検討してきた。本報告では提案手法を用いて超音波治療用の強力集束超音波（HIFU）の音場を可視化し、ハイドロホン測定と比較した結果を述べる。超音波ビームの焦点の音場像から求めた伝搬方向と方位方向の半値幅は、それぞれ 5.8 mm と 0.42 mm であった。これに対し、ハイドロホンで測定した半値幅はそれぞれ 7.3 mm と 1.0 mm であり、伝搬方向の半値幅は良く一致した。方位方向の半値幅が一致しなかったのは、ハイドロホン受圧面の直径が 0.5 mm と大きいことの影響と考えられ、可視化法が高い空間分解能を有していると考えられた。また、音軸上の輝度波形の二乗平均値と焦点での音圧波形から求めた超音波の平均強度には良い比例関係が見られた。さらに、輝度波形を空間的に 1 階積分した波形には、非線形性を考慮したシミュレーションで求めた音圧波形に類似した特徴が認められた。これらの結果より、本手法は音場の評価だけでなく、強度や圧力波形の簡易的定量評価にも有用と考えられる。

2) 集束超音波の音響放射力イメージングによる超音波治療前焦点領域可視化の有効性

岩崎亮祐，高木亮，長岡亮，富安謙太郎，吉澤晋，西條芳文，梅村晋一郎（東北大学）

強力集束超音波治療の普及と発展にはコスト面で有利な超音波ガイド方式における安全性と再現性の向上が不可欠である。本研究では、治療前に凝固が生じる領域を予測するターゲティング手法の検討を行った。治療用超音波の吸収に伴って作用する音響放射圧により生じる組織変位を可視化する ARFI 法を適用することで、実際にエネルギーが散逸する真の焦点を事前に確かめることができると考えられる。ARFI 法により変位分布を取得した後 HIFU 照射を行い試料に凝固を生じさせ、そのスライス像の肉眼所見と比較を行った。その結果、HIFU の減衰や屈折に起因する焦点領域の変化に追従する変位分布が得られ、焦点可視化手法としての有効性が示された。

3) 集束超音波を用いた結石破碎における焦点領域制御

由良俊哉，高木亮，吉澤晋，梅村晋一郎（東北大学）

現在の結石破碎術の第一選択は体外から衝撃波を集束させ結石破碎を行う SWL (shock wave lithotripsy) である。しかし、この手法は破碎片や正常組織の損傷が比較的大きいことが問題として挙げられる。そこでこれらを解決するために集束超音波によるキャビテーションエロージョンを利用した結石破碎療法の研究を行っている。問題点として治療

時間が長いことが挙げられる。これまでは時間的に焦点走査を行うことで破碎速度の向上を行ってきた。しかし高強度かつ高繰り返し周波数の条件においてはキャビテーションクラウドが超音波の伝播を妨げてしまい破碎速度が飽和するという問題があった。そこでトランスデューサに位相制御をかけることで同時に複数焦点作り出し1点に集束していたエネルギーを分散させ広範囲かつ高速な破碎を目指した。

4) 本当にソノポレーションか？

佐々木東，工藤信樹，中山翔太，滝口満喜（北海道大学）

我々はこれまで古典的抗がん剤シスプラチンのソノポレーションを獣医臨床に応用するための検討を行ってきた。今回はシスプラチンの効果増強と腫瘍細胞のシスプラチン取り込みとの関連を探るため，3次元培養系でシスプラチンと超音波+マイクロバブルを併用し，殺細胞効果の判定および白金定量を行った。また，培養ディッシュに播く3次元培養の溶液量を変えて，超音波+マイクロバブルによるシスプラチンの作用増強が観察できる溶液量（厚み）を検討した。さらに，3次元培養の溶液量を固定し，超音波照射からシスプラチン添加のタイミングを変更して，殺細胞効果への影響を観察した。

5) 白金および金ナノ粒子併用による超音波誘発細胞死増強効果

近藤隆¹，P. Jawaid¹，M. U. Rehman¹，M. A. Hassan²，Q. L. Zhao¹，P. Li¹，宮本有生³，三澤雅樹⁴，小川良平¹，清水忠道¹（¹富山大学，²University of Sharjah，³東京大学，⁴産業技術総合研究所）

臨床超音波医学に造影剤技術が導入されて以来，超音波とファインバブルの相互作用に関する研究報告は極めて多いが，超音波とナノ粒子併用に関する生物・生体作用に関する報告は少ない。最近の研究で，集束超音波と金ナノ粒子併用により，がん細胞より効率的にネクロシスを誘発することが報告された。我々は抗酸化作用を有する白金ナノ粒子を各種物理的ストレス（紫外線，温熱，放射線，大気圧プラズマ）処理に併用した場合の細胞死への影響について検討し，アポトーシスを抑制することを報告してきた。本研究では，抗酸化作用を有する白金ナノ粒子と抗酸化作用を持たない金ナノ粒子の超音波との併用効果について得られた細胞死の結果を報告し，その相違点について考察する。

6) 血中安定型バブル製剤の開発と腫瘍標的化に向けた試み

杉井むつみ，鈴木亮，U. Johan，小田雄介，宇留賀仁史，小俣大樹，島忠光，宗像理紗，丸山一雄（帝京大学）

これまでに我々は，脂質を殻に持つバブル（リピッドバブル; LB）の殻組成に DSPG を組み込むことで，LB の安定性が改善することを見出してきた。そこで本研究では，血中安定性向上に向けた DSPG 含有率の最適化と腫瘍標的化に向けた基礎的検討をおこなった。殻組成（DSPC : DSPG : DSPE-PEG(2k)=0~90 : 90~0 : 10（モル比））の LB を調製し，それらをマウス眼窩静脈より投与した。その後，超音波造影輝度を指標に血中安定性を評価した。腫瘍標的型 LB は，腫瘍新生血管を認識する cRGD ペプチドを

LB に修飾し (cRGD-LB) 臍帯静脈内皮細胞 (HUVEC) への接着能を評価した。その結果、DSPG を60%含有する LB において最も長時間の造影が可能であった。cRGD-LB の HUVEC への接着が確認されたことから、今後これら LB を診断や治療へ応用可能であると考えられる。

7) 分子標的化バブルと超音波を併用した癌細胞殺傷効果とアポトーシス誘導

渡邊晶子, 成平恭一, 喜久田利弘, 立花克郎 (福岡大学)

切除不能の進行・再発口腔癌に対する治療法の選択肢は少なく、新規治療方法の開発が望まれている。その中で近年、セツキシマブ等の分子標的薬が注目されている。本研究では、セツキシマブを付加した分子標的化アルブミンバブルと癌細胞に超音波を *in vitro* にて照射し、殺細胞効果の向上およびアポトーシス誘導が認められるか検討した。アルブミンバブル単独に対して分子標的化バブルと超音波照射併用群で最大で約 10%、超音波単独照射群およびセツキシマブと超音波照射併用群と比べると約 20~30% の細胞殺傷効果の向上が認められた。また、分子標的化バブルと超音波照射併用により、全体の約 20% の細胞にアポトーシスが認められた。

8) マルチトランスデューサー型デバイスを用いた遺伝子デリバリー特性評価 35 宇留賀仁史¹, 鈴木亮¹, 小俣大樹¹, 小田雄介¹, U. Johan¹, 杉井むつみ¹, 島忠光¹, 宗像理紗¹, 望月 剛^{2,4}, 丸山一雄¹ (¹帝京大学, ²MU研究所)

微小気泡と超音波を用いた遺伝子デリバリー研究が盛んに行われている。これらの基礎研究において、細胞培養容器ごと遺伝子導入操作が可能な装置の開発が求められている。そこで本研究では、新規に開発した複数の超音波振動子を励振可能な装置と微小気泡 (バブルリポソーム) を用いて遺伝子導入し、その遺伝子発現を指標に遺伝子デリバリーの特性評価を行った。その結果、本装置とバブルリポソームを用いることで細胞内へ遺伝子導入できることが明らかとなった。このことから、本装置が培養細胞に対する超音波遺伝子導入デバイスとして有用であることが示された。

9) マルチモダリティ音速測定法の精度改善に関する検討

新田尚隆, 賀谷彰夫 (産業技術総合研究所)

音速は組織性状を反映し、弾性や含水量の評価指標として非侵襲測定が望まれている。しかしながら実質的に超音波の伝搬時間のみを測定する超音波診断装置単独では音速を測定することが難しい。そこでMR画像から得られる幾何学的な距離情報と組み合わせ、音速の非侵襲測定を可能にするマルチモダリティ法の検討を進めている。本研究では、これまでに取得した再生軟骨の生体内評価データを用い、音速測定の精度改善について検討を行った。

10) 肝病変進行と超音波画像のエコー振幅統計量分布の関係の検討

森翔平¹, 平田慎之介¹, 山口匡², 蜂屋弘之¹ (¹東京工業大学 工学院システム制御系, ²千葉大学)

病変肝超音波画像の振幅分布特性に着目したびまん性肝疾患の定量診断手法を検討し

ている。本報告では、超音波画像のエコー振幅データから一意に計算されるエコー振幅統計量に着目し、肝線維化の進行度とエコー振幅統計量分布の関係を検討した。本報告では、エコー振幅統計量として1次モーメントと3次モーメントを用いた。検討の結果、肝線維化の進行にしたがい1次モーメントは小さく、3次モーメントは大きくなる傾向にあることがわかった。さらに、1次モーメントと3次モーメントの2次元分布を用いて評価したところ、分布のピーク位置や分散から肝線維化を定量評価できる可能性が示唆された。

11) 組織ひずみと剪断波計測の併用による定量的エラストグラフィ法の研究

高山裕成, 近藤健悟, 浪田健, 山川誠, 椎名毅 (京都大学)

癌や慢性肝炎などの疾患では、組織の硬さ変化を伴うことから、組織弾性を定量化することができれば早期発見や治療効果の判定ができる。超音波エラストグラフィの原理にはshear wave法とstrain法の2つがある。Shear wave法は組織内にせん断波を伝搬させ、組織弾性が大きいと組織内を伝わる伝搬速度が速くなる性質を用いるもので、定量性が高いと言われているが、せん断波の反射・屈折等によるアーチファクトが生じやすい。Strain法は、組織を圧迫し、生じたひずみ分布を求めるもので、安全で解像度が高いが、硬さの相対値のみが得られる。本研究では、shear wave法とstrain法とを組み合わせることでアーチファクトの少ない組織弾性画像を構成する手法を検討する。shear wave法でアーチファクトが生じやすい腫瘍などの硬い内包物を含む場合に焦点を絞る、定量的でアーチファクトが生じ難い組織弾性の推定法を検討した。

12) 超音波エコーの周波数および時間変化の推定による対象物 2次元速度検出

長谷川英之 (富山大学)

本研究グループは、高速超音波イメージングによる生体組織の動態計測に関する研究に取り組んでいる。そのためには、生体組織の変位・速度を推定する手法が必要である。現在、生体組織の2次元もしくは3次元変位の推定法としてスペックルトラッキング法が広く用いられているが、受信超音波信号のサンプリング間隔未満の微小な変位を推定するためには補間処理が必要であるなど、計算負荷が大きい。高速超音波イメージングでは、秒間最大数千枚という膨大な数の超音波像を処理する必要があるため、計算負荷を低減する必要がある。本報告では、補間を必要としない、2次元フーリエ変換を用いた2次元変位計測手法に関する検討を行った。2次元フーリエ変換を用いた変位推定法はこれまでも報告されており、その手法では位相スペクトルの時間変化から2次元変位を推定している。位相スペクトル各成分の周波数は、通常サンプリング周波数と解析窓幅により決定されるが、フーリエ変換により推定される周波数スペクトルは、対象信号の真の周波数スペクトルと、解析窓の周波数スペクトルの畳み込みとなるため、特に解析窓が狭い(解析窓の周波数スペクトルのメインローブ幅が広い)場合は位相スペクトル各成分の周波数が不定となる。本研究では、位相スペクトル各成分の重心周波数を推定する手法を導入し、ファントムを用いて評価実験を行ったところ、周波数スペクトルの

位相変化を用いた従来の推定法によるラテラル方向および距離方向の速度推定誤差がそれぞれ14%と3%であったのに対し、提案手法ではそれぞれ3%と2%に誤差を低減できることが示された。本手法は3次元への拡張も容易であり、高速超音波イメージングにおける変位・速度推定法として有用である。

13) ハンドヘルド型光音響イメージング装置を用いた頸動脈不安定プラークのスクリーニングのための実験的検討

平野進，浪田健，近藤健悟，山川誠，椎名毅（京都大学）

アテローム硬化によるプラークの崩壊は致死的な病態を引き起こしうるため、早期に発見することが重要である。そこで我々は、体表から撮像可能なハンドヘルド型光音響イメージング装置を開発した。頸部の構造を模擬したファントム実験により、開発した装置の有用性を検証した。対象となるプラーク吸収が強い波長の光を照射することで、深さ20 mmの位置においても模擬プラークの画像化が可能であることを確認した。さらに、複数波長を用いて光音響スペクトルと光吸収スペクトルの相互相関係数マップを作成することにより、特異的にプラークを検出できることを確認した。これらの解析をおし、開発した装置の有用性を実証した。

第2回

日時：平成28年10月22日（土）

場所：富山大学五福キャンパス

招待講演

1) フォーカストシャドウグラフ法による強力集束超音波音場の可視化

工藤信樹，榊飛翔（北海道大学）

光学的手法により非接触で音場を可視化するフォーカストシャドウグラフ法を、HIFU音場の可視化に応用し、ハイドロホン計測やシミュレーションで求めた音場分布との比較を通じて、その有用性について検討した。

2) 集束超音波治療に有効なキャビテーション気泡の生成とその可視化

梅村晋一郎，吉澤晋，高木亮，安田淳（東北大学）

極めて大振幅の短い超音波パルス（Trigger pulse）によりキャビテーション気泡のクラウドを生成し、その気泡を、直後の中振幅の超音波 burst により強制振動して熱源としたり圧壊して音響化学反応を引き起こしたりする Trigger HIFU 照射と名付けた照射シーケンスについて、in vivo におけるキャビテーションクラウドの生成を高速に（1kfps 以上）超音波イメージングした。さらに、Trigger HIFU 照射によって、超音波焦域に選択的に活性酸素が生成されることを、in vitro において、光学的観察により確かめた。

3) マイクロバブルを用いた遺伝子導入とバブルクラウド制御

東隆，Y. Zhang，尾崎太一，松崎玄伸，高木周，松本洋一郎（東京大学）

超音波遺伝子導入においては、導入率と細胞生存率にトレードオフがあることが多く、また、照

射中にバブル濃度が変化すると、照射の初期と、バブル濃度が低下した後に生じている現象が異なる可能性がある。今回、細胞培養容器内での遺伝子導入における光学及び音響的な計測により、ソノレーションメカニズムを検討した。また、マイクロバブルの体内濃度の制御を念頭において、バブルをマニピュレーションする方法、特に効率的にマニピュレーションすることを念頭にバブルクラスターの位置やサイズに関して制御する方法を検討した。

4) 気泡キャビテーション信号の高時間分解能その場計測

山越芳樹，江田廉（群馬大学）

超音波造影剤として開発された微小気泡をキャリアとして利用し薬剤や遺伝子を細胞へ導入する効率を向上させるためには、気泡破壊や非線形振動発生時に生じる気泡キャビテーション信号を非侵襲的にリアルタイムで取得し、これを強力超音波の照射シーケンスにフィードバックできるシステムを実現することが必要になる。本報告では、汎用の超音波映像装置のパワードプラ画像を検出手段として用い、映像用超音波(i-US)に対して強力超音波(h-US)を遅延同期させて照射させることで気泡キャビテーション信号を高時間分解能かつ高感度に観測する手法を提案する。

5) 静的加圧がウルトラファインバブルに与える影響

辻内亨，安井久一，兼松渉（産業技術総合研究所）

低温水への空気の加圧溶解と液温度上昇による過飽和状態を利用してウルトラファインバブル（UFB）を発生させ、UFBを含む液体に静的加圧を加えて、加圧前後の数密度をパーティクルカウンタにより調べると、加圧後と比べて加圧前により多くのUFBが存在していたことが明らかになる。本報では、加圧前後のUFBを含む液体に関する径分布をレーザ散乱回折に基づいて計測し、静的加圧がウルトラファインバブルに与える影響を検討する。

6) ウルトラファインバブルの研究開発：医療応用への挑戦

立花克郎（福岡大学）

小型容器に液体を封入し、超高速回転で攪拌したところ、均一で高密度のマイクロバブル・ナノバブルを作ることができる。従来のバブル発生装置では、液体量が最低でも1から10リットル必要であるのに対し、この方法によれば、医療分野において望まれる多種の薬剤のマススクリーニングが可能となる。超音波とバブル化した薬剤を併用して治療すれば、適応疾患が広がり、新しい治療法に発展する可能性がある。

7) ウルトラファインバブルの形状を電子顕微鏡で観察する

川崎一則（産業技術総合研究所）

急速凍結レプリカ電子顕微鏡法は、ウルトラファインバブル（UFB）の解析方法として期待されるが、以下の議論がある。これらについて紹介する。(1)電子顕微鏡は、高分解能である反面、視野が小さいため、UFBの個数濃度測定が困難である。(2)凍結時に氷晶が形成されると、UFBの形状に影響を及ぼすおそれがある。(3)凍結工程において、凍結UFB水の表面に環境中の水が結露し、観察画像に現れる危険がある。(4)UFBと同程度のサイズの微粒子が混在すると、それらを混同する可能性がある。

8) ウルトラファインバブルの溶解消滅に伴う温度圧力場の数値解析—フリーラジカル発

生はあり得るか？

安井久一，辻内亨，兼松渉（産業技術総合研究所）

ウルトラファインバブルをキャビテーション現象により発生させた場合，発生時に OH ラジカルや過酸化水素(H₂O₂)が生成する．これとは別に，寿命が数ヶ月に達することがあるウルトラファインバブルを含んだ水を静置するだけで，OH ラジカルが生成するという実験報告があり，ウルトラファインバブルが溶解消滅する際に，OH ラジカルが生成することが示唆されている．本研究では，その可能性を調べるために，ウルトラファインバブルの溶解消滅過程の数値シミュレーションを行った．とくに，従来の研究では準静的として無視されてきたバブル周囲の液体の慣性（バブルの動力学）を考慮した数値シミュレーションを行った．

第3回

日時：平成28年11月12日（土）

場所：東京女子医科大学 先端生命医科学研究所

1) 骨芽細胞の LPS 誘導性 IL-1 α 産生は LIPUS 刺激の抗炎症作用によって抑制される
長尾麻由，田邊奈津子，間中総一郎，内藤昌子，昔農淳平，鈴木直人，前野正夫，佐藤秀一（日本大学）

歯周病発症と進行に関わるリポ多糖体（LPS）が骨芽細胞に作用すると，炎症性サイトカインが産生され骨吸収を促進することが知られている．中尾らは，低出力超音波（LIPUS）は LPS により増加した骨芽細胞の炎症性ケモカインを抑制すると報告したが，LIPUS が他の炎症性サイトカインに及ぼす影響については検討されていない．そこで LPS 存在下で骨芽細胞の炎症性サイトカイン産生に及ぼす継続的な LIPUS の影響について細胞生物学的に検討した．LIPUS は LPS により増加した IL-1 α ，TLR4 の発現を有意に抑制した．免疫染色において，LPS により NF- κ B の核内移行は促進したが LIPUS 刺激により NF- κ B の核内移行は抑制された．Losartan を添加，もしくは si RNA により AT1 受容体をノックダウンした骨芽細胞では，LIPUS により抑制された IL-1 α の発現は有意に増加させ，また免疫染色では NF- κ B の核内移行が促進した．さらに PLC β 阻害剤である U73122 を添加すると，LIPUS により抑制された NF- κ B の核内移行が促進した．

2) LIPUS の出力が軟骨細胞の細胞外マトリックスタンパク発現に及ぼす影響

昔農淳平，田邊奈津子，阿部仁子，間中総一郎，長尾麻由，鈴木直人，前野正夫，植田耕一郎（日本大学）

低出力超音波（LIPUS）は，骨折の治癒を約 38% 促進させことが報告されているが，軟骨に対する LIPUS の影響についての報告は少ない．そこで，LIPUS の出力を変化させた際の軟骨細胞への影響を細生物学的に検討した．軟骨細胞分化促進に関与する転写因子である sox9 と，軟骨基質形成に関与する細胞外マトリックスタンパクである aggrecan，Collagen type II の遺伝子発現量は，19 日目（LIPUS 刺激開始 5 日目）に

において、コントロールと比較して出力依存的に増加がみられた。Collagen type X は 21 日目において、60 mW/cm² でコントロールと比較して有意に増加した。さらに、ALP 染色は 28 日目において、出力依存的に活性の上昇がみられた。

3) 集束型流水式超音波洗浄によるヒト口腔内バイオフィルムの除去効果

滝口尚¹, 佐藤正典², 山田純輝¹, 小田中響¹, 山本松男¹ (1昭和大学, 2本多電子)

歯垢は、歯やインプラント表面に形成されるバイオフィルムであり、含嗽剤や抗菌薬を用いても十分に除去できず、歯ブラシを用いても、小窩に入り込んだ微生物を擦り落とすことはできない。一方で、微細構造へ超音波エネルギーを到達させるには、超音波の特徴である振動加速度がある。そこで我々は、流水中の水分子に加速度エネルギーを印加した集束型流水式超音波洗浄方法のバイオフィルム除去効果を検討した。バイオフィルムの洗浄効果は、印加電力 15 W, 音圧 0.6 MPa, 振動子から 50 mm の距離で超音波を作用させた時、バイオフィルムの残存率は、術前 100% に対し、術後、鏡面加工で 22.8%, 粗面加工で 7.05% と減少させた。また各試験片を SEM で観察すると、球菌、桿菌等からなる細菌塊は除去され、試験片にダメージが無いことも観察された。

4) 低出力超音波 (LIPUS) による歯根膜由来幹細胞の BMP9 誘導性骨分化及び炎症性応答の制御

楠山譲二, 中村利明, 大西智和, 榮樂菜保子, 野口和行, 松口徹也 (鹿児島大学)

歯周病による骨破壊は、骨芽細胞分化阻害と炎症性サイトカインの放出による複合疾患であり、LIPUS はこの両者を同時に効率良く抑制できることが予想される。そこで本研究では、ヒト歯根膜由来幹細胞 (hPDLSC) を用い、LIPUS による歯周組織再生への応用の可能性について検討した。LIPUS の hPDLSC に対する分化促進作用は、BMP2 よりも BMP9 誘導性骨分化に対して効果的だった。これは LIPUS 刺激が hPDLSC 細胞特異的に、BMP2 アンタゴニストである Noggin の発現を促進するためであることが示唆された。また hPDLSC を炎症性サイトカインで刺激すると ERK のリン酸化が誘導され、IL-8, CCL2, RANKL の mRNA 発現が上昇したが、LIPUS による同時刺激はこれらの炎症応答を抑制した。更に LIPUS 照射は、炎症性サイトカインによる骨分化阻害作用を顕著にブロックした。

5) 白金および金ナノ粒子併用による超音波誘発細胞死の増強

近藤隆, J. Paras, R. Mati Ur, 趙慶利, 小川良平 (富山大学)

我々は SOD カタラーゼ活性を有する白金ナノ粒子を各種物理的ストレス (紫外線, 温熱, 放射線, 大気圧プラズマ) 処理に併用した場合の細胞死への影響について検討し、アポトーシスを抑制することを報告してきた。本研究では、抗酸化作用を有する白金ナノ粒子と抗酸化作用を持たない金ナノ粒子の超音波との併用効果についてアポトーシスおよびアポトーシス以外の細胞死について検討した。その結果、抗酸化作用を有する白金ナノ粒子は超音波誘発アポトーシスを抑制するが、それ以外の細胞死については増強に作用した。一方、抗酸化作用を持たない金ナノ粒子は超音波誘発アポトーシスおよびそれ以外の細胞死

の両者とも増強に作用した。ナノ粒子は FB に比べて安定で、表面加工もしやすく、今後、特定の細胞を標的とした治療への応用が期待される。

6) Bactericidal effect of photolysis of H₂O₂ in combination with sonolysis of water via hydroxyl radical generation

生宏 (福岡大学)

The suspension of *Staphylococcus aureus* mixed with the different concentrations of H₂O₂ was irradiated simultaneously with a laser light (wavelength: 405 nm, irradiance: 46 and 91 mW/cm²) and ultrasound (power: 30 w, frequency: 1.65 MHz) at 20±1° C of the water bulk temperature for 2 min. The combination of laser and ultrasound irradiation significantly reduced the viable bacterial count in comparison with the laser irradiation of H₂O₂ alone. By contrast, the ultrasound irradiation alone exerted almost no bactericidal effect. These results suggested that the combination effect of photolysis of H₂O₂ and sonolysis of water on bactericidal activity was synergistic. It was suggested that the combination effect of photolysis of H₂O₂ and sonolysis of water on bactericidal activity would be exerted via oxidative damage of cellular components such as DNA.

7) 超音波照射がラット神経膠腫細胞株 C6 に及ぼす影響の基礎検討

菅侯浩明, 佐藤貴亮, 竹内真一 (桐蔭横浜大学)

超音波で癌細胞をアポトーシスへ誘導することが可能であれば, 新たな治療法が考えられる。超音波照射 8 時間後の蛍光顕微鏡写真において, 印加電圧 150 Vpp にて照射時に, 同一細胞で Annexin V-FITC と PI の蛍光が確認され, アポトーシス後期及びネクローシスの段階であることが示唆された。印加電圧 213 Vpp にて照射時は, 同一細胞で Annexin V-FITC のみの蛍光が確認され, アポトーシスの初期段階であることが示唆された。

8) 超音波照射をトリガーとする薬物放出システムの基礎的検討

矢作亮介 (千葉大学)

術前及び術中の病巣位置の正確な把握が容易とすることを目的に, X 線造影剤や蛍光化リポソームを両親媒性分子でカプセル化したベシクル凝集体 (Giant cluster like vesicle: GCV) を作製し組織マーカーとして利用することを着想した。さらに本研究では, 超音波を照射して GCV を破壊することで, 生体中に投与した組織マーカーをドラッグデリバリーの供給体として利用できないか検討を行っている。照射前にセル内に多量に存在した GCV が照射後には観察されず, 超音波凝固切開装置での超音波照射により GCV が破壊されたことを確認した。ブレード先端とセルとの距離を変えて超音波照射した場合, 0.50 mm では GCV の破壊が顕著だったが, 1.0 mm では破壊された範囲が小さくなり, 2.0 mm では破壊は見られなかった。

9) 超音波とマイクロバブルによるデリバリーの時間的制約

佐々木東, 石井和浩, 工藤信樹, 滝口満喜 (北海道大学)

超音波とマイクロバブルによる抗がん剤デリバリーのために, これまで, 膀胱癌を模した 3

次元培養系で培養系の厚みと、抗がん剤シスプラチンの作用増強および細胞内デリバリーの関連を検討してきた。今回は、シスプラチン投与と超音波照射のインターバルを変え、もっとも効果が出る順番を検討した。シスプラチン添加のタイミングが照射後 0 時間、1 時間、2 時間の 3 点での評価を行った結果、超音波とマイクロバブルによるシスプラチン作用の増強が認められたのは照射後 0 時間でのみだった。現在、シスプラチン添加のタイミングを照射後 30 分と照射前 30 分で検討を行っている。

10) 超音波セラノスティクスへの応用を目的とした新規リピッドバブルの開発

杉井むつみ, 鈴木亮, U. Johan, 小田雄介, 宇留賀仁史, 小俣大樹, 丸山一雄 (帝京大学)
血中安定性の高いバブルをめざす研究において、脂質を外殻に持つ超音波造影用バブル (リピッドバブル; LB) の殻成分にアニオン性脂質である DSPG を添加することで LB の安定性が向上することを見出した。そこで本研究では、安定な LB の調製を目的に、DSPG 含有率の最適化を行なった。DSPG 含有率の異なる LB 投与後の腎臓における輝度解析の結果、DSPG 含有率の増加に伴い輝度の消失半減期が延長したが、DSPG 含有率 60 mol% をピークにその半減期は短くなった。その消失半減期は、既存の造影剤であるソナゾイドよりも長かった。DSPG 含有率 60 mol% の LB は血流動態の観察や治療を目的とした超音波セラノスティクス構築のための有用なバブル製剤になり得るものと期待される。

11) マルチトランスデューサー型デバイスを利用した遺伝子導入特性評価

宇留賀仁史¹, 鈴木亮¹, 小俣大樹¹, 小田雄介¹, U. Johan¹, 杉井むつみ¹, 島忠光¹, 宗像理紗¹, 望月剛², 丸山一雄¹ (1 帝京大学, 2MU 研究所)

新規に開発したマルチトランスデューサー型デバイスの遺伝子導入特性評価として、細胞培養皿内に照射される超音波の音場を評価し、本デバイスを用いた *in vitro* または *in vivo* における遺伝子導入の有用性を評価した。音圧測定の結果から、トランスデューサー中心部で約 150 kPa およびその辺縁部で約 60 kPa の平均音圧が確認された。このことから、本デバイスは、細胞培養皿内全体に超音波照射できることが示された。また、*in vitro* 遺伝子導入では、各種細胞においてルシフェラーゼ発現が認められた。さらに、*in vivo* 遺伝子導入では、様々な臓器 (心臓, 肺, 肝臓, 腎臓, 脾臓) においてルシフェラーゼ発現が認められた。このことから、マルチトランスデューサー型デバイスを用いることで培養細胞、マウスの様々な組織に対して遺伝子導入が可能であることが明らかとなった。

12) 超音波と分子標的化ナノバブルを併用した癌細胞殺傷効果

渡邊晶子, M.-N. Seyedeh, 生宏, 立花克郎 (福岡大学)

癌細胞に特異的な抗体 (分子標的薬セツキシマブ) を付加したマイクロバブルを作製し、超音波と併用することで細胞選択的な殺傷効果とアポトーシス誘導が認められている。今回は、セツキシマブを付加したナノバブルを作製した。分子標的化ナノバブルと癌細胞に超音波を *in vitro* にて照射し、アポトーシス誘導が認められるか検討した。音響強度 0.89 W/cm² において、分子標的薬やナノバブルと超音波照射併用群では約 5%、分子標的化バブルと超音波照射併用群においては約 10% の細胞にアポトーシスが認められた。1.0

W/cm² に増加すると、分子標的薬、ナノバブルと超音波照射併用群のアポトーシスが増加し、分子標的化ナノバブルと超音波照射併用群と同等の約 15% を示した。

13) 音響力学療法としての抗がん剤と集束超音波照射の併用における有用性評価

竹前和久^{1,2}, 前田真法¹, 岡本淳¹, 生田聡子¹, 堀瀬友貴¹, 白井 浩幸², 奥村睦男², 正宗賢¹, 村垣善浩¹ (1東京女子医科大学, 2興和)

薬剤と高密度集束超音波 (HIFU) を組合せたがんに対する音響力学療法 (SDT ; Sonodynamic Therapy) の実用化にむけ、汎用される抗がん剤の音響感受性薬剤としてのポテンシャルを評価する。抗がん剤未添加の溶液において、長時間の HIFU 照射により活性酸素の発生を認めた。一方、より短時間照射では、アドリアマイシンと同様のアントラサイクリン系薬剤であるエピルビシン塩酸塩 (EPI) を添加すると、抗がん剤未添加時と比べて活性酸素量の増大を認めた。

14) エピルビシンナノミセルを使った音響力学的療法の実用化開発

堀瀬友貴¹, 前田真法¹, 岡本淳¹, 生田聡子¹, 高木亮², 吉澤晋², 豊田和孝³, 植山剛³, 竹前和久⁴, 祖父尼淳⁵, 梅村晋一郎², 伊関洋¹, 正宗賢¹, 村垣善浩¹ (1東京女子医科大学, 2東北大学, 3デンソー, 4興和)

切除不能難治癌のための次世代のがん治療法として音響力学的療法 (Sonodynamic Therapy : SDT) を開発し、安全性について確認する。今回、独自に開発した HIFU 照射システムと、音響感受性物薬剤としてエピルビシンを内包したドラッグデリバリーシステムを組合せた SDT を開発した。SDT の安全性を確認するため 3 頭の疾患犬 (骨腫瘍 2 件, 肝癌 1 件) に対して動物試験研究を施行した。すべての症例において重篤な有害事象なく安全に実施できた。

第 4 回

日時：平成 28 年 3 月 11 日 (土)

場所：福岡大学 医学部 臨床大講堂

招待講演

1) 超音波キャビテーションによる菌類や藻類の非活性化

山本健 (関西大学)

超音波によって菌類や藻類を非活性化又は破壊できることは良く知られている。殺菌や有害藻類除去技術及び有効成分抽出方法を目標として盛んに研究されている。それらの非活性化機構、主に破壊機構には、超音波キャビテーションが関与していると考えられている。しかし、キャビテーションのどのような作用によって、どのようなメカニズムで破壊されるのかは解明されていない。実験から得られた菌類、藻類及び模擬生体試料であるマイクロカプセルの破壊効率の周波数依存性をもとに、破壊機構の一要因として細胞の機械的共振を議論する。

2) 複数気泡の非線形連成振動における分岐現象と振動の局在化

杉浦壽彦（慶應大学）

超音波照射下における気泡の体積振動は、内包気体の圧縮性に起因して強い非線形性を示す。このため、気泡振動が音響放射圧によって連成した気泡群のダイナミクスには、複雑な分岐現象が現れることが予想される。本稿では、二つの球形気泡の連成振動に対して摂動法を用いた非線形モード解析を行い、定常解の振動振幅および位相に現れる分岐構造を調べた結果を報告する。特に、二つの気泡の平衡半径が同程度の場合に対称性の崩れが生じ、一方の気泡に振動エネルギーが偏在する非線形局在化の現象について述べる。

一般演題

1) 超音波エラストグラフィに用いられる音響放射力インパルスが培養心筋細胞の拍動に与える影響

三輪英，工藤信樹（北海道大学）

超音波エラストグラフィでは従来の断層診断装置と比べて大幅に長い超音波パルスを用いられる。しかし、現在の超音波エラストグラフィの安全基準は、従来の診断装置と同じものが適用されており、パルス1波のパワーが大きくなったことによるリスクは十分に検討されていない。そこで本発表では、エラストグラフィに用いられる超音波が心筋拍動に与える影響を解明することを目的とし、培養心筋細胞を用いて拍動障害が発生する条件を超音波パルスのパラメータ（音圧・波数・エネルギー）の観点から検討した結果を報告する。

2) 静止音響場における気泡クラスターの高速度撮影と並進運動のモデリング

杉田直広，杉浦壽彦（慶應大学）

音響場における気泡クラスターの体積振動および並進運動を観察する実験方法を提案し、気泡クラスターにはたらく第2Bjerknes力および並進運動のモデリングを行った結果を報告する。提案手法では、高速度撮影における時空間解像度を向上させるために、可聴域（625 Hz）の音響場中で半径1 mm程度の気泡クラスターを観察している。実験手法の概要および撮影結果の画像解析手法を示し、画像解析から得られた気泡クラスター中心の軌跡と理論値との比較を示す。

3) 超音波音場分布の時空間変化を利用した極細カテーテルの屈曲制御とその展望

保坂直斗，牛水英貴，鈴木俊哉，望月剛，榊田晃司（東京農工大学）

直径0.5mm以下の極細カテーテルを、ガイドワイヤを用いずに血管内で誘導制御するためには、その先端を任意の方向に非接触に屈曲させる方法が必要である。本研究では、最大256素子を有する超音波2次元アレイトランスデューサによって設計された音響放射力により、その実現を目指している。具体的には、各素子を駆動する電圧の位相制御によって、超音波音場の空間的分布を形成し、その形状を音波の照射範囲内で移動させる。本発表では、位相を反転させた2焦点による平面的な屈曲制御と、リング状音場による3次元的な屈曲制御について紹介する。

4) 超音波エネルギーを利用した表面麻酔剤の効果増強の可能性

原田耕志¹, T. Ferdous¹, 上山吉哉¹, 立花克郎² (¹山口大学, ²福岡大学)

Painless treatment (苦痛を伴わない治療) は医療の質の向上, **QOL** の向上に関する重要なキーワードであり, 治療効果の向上とともに追求すべき先進国型の開発課題と言える. 我々はこれまでに **Painless treatment** の実践を目指した研究を継続し, リドカイン(LD)とアミノ安息香酸エチル(EAB)の併用にて表面麻酔の即効性が向上し除痛効果も高まること, また2薬剤の配合比によっては超音波処理により溶媒を用いることなく粉末から液化が可能なことを見出した. そこでテトラカイン, プリロカイン等, 現在臨床応用されている表面麻酔剤の配合比を調整し, 超音波処理により溶媒を介さず粉末から液化が可能な否かを検討したところ, いずれも粘性を呈するものの, 溶媒無しで完全に液化する組み合わせは上記の LD と EAB の併用以外には見出せなかった. また一度液化させた LD と EAB との共融混合体は, 以後固形化することはなく液化したままであった. ただし, 麻酔効果に関しては経時的に徐々に減弱した. そこで超音波処理そのものに麻酔効果を増大させる可能性を検討したところ, 超音波処理にて LD, EAB, 共融混合体それぞれ有意に麻酔効果が増強した. 詳細なメカニズムは不明であるが, 超音波エネルギーを利用して表面麻酔剤の効果の増強を図ることは **Painless treatment** の実践のために有用と考えられた.

5) Sonazoid を用いた腫瘍血管に対する超音波分子イメージングの開発

大谷健太郎 (国立循環器病研究センター)

我々は, Sonazoid を基盤とした分子標的気泡の作成の可能性について検討を行っている. 先般, 貪食細胞とアポトーシス細胞とを橋渡しする生体内タンパク **Lactadherin** を Sonazoid 表面に付与することで, 新生血管や血栓に対する Sonazoid の分子標的性が向上する可能性を見出した. 本研究では, **Lactadherin** 修飾により Sonazoid の腫瘍血管に対する分子標的性が向上するか否かについて, ヒト卵巣線種(SK-OV-3)細胞を皮下移植した担癌マウスを用いて検討を行った.

6) 腹膜線維症治療に向けた超音波応答性ナノバブルによる腹腔内組織への遺伝子導入法の開発

西村光洋¹, 麓伸太郎¹, 淵上由貴¹, 萩森政頼¹, 丸山一雄², 川上茂¹ (¹長崎大学, ²帝京大学)

腹膜線維症は腹膜の細胞形態や構造が変化するため, 治療を行う上で遺伝子発現分布の評価および制御が重要となる. 我々は, 遺伝子発現分布を制御可能な方法として超音波応答性ナノバブルに注目し, 組織透明化評価を利用した腹腔内組織への遺伝子導入法の開発を行っている. 本研究では, 蛍光染色した組織表面と遺伝子発現分布を **ClearT2** 法により観察することでナノバブルと超音波照射により腹膜線維症の治療標的である腹膜中皮細胞で遺伝子発現していることを明らかにした. さらに, 腹膜線維症モデルマウスを作製し **human HGF** 遺伝子を導入し, 腹膜線維症に対する治療効果を評価したので報告する.

7) Controlled unseeded cavitation for doxorubicin potentiation

M. Lafond (Tohoku University)

Ultrasonic cavitation is of great interest in various biomedical applications. Particularly in cancer therapy, various ways to enhance chemotherapeutic agents has been explored (sonoporation, enhanced retention effect, sonosensitive drug carriers, sonodynamic therapy...). The present works employ a two confocal transducers apparatus and a control loop with passive cavitation detector to generate cavitation in a controlled manner (both stable and inertial). Firstly, in vitro experiments show for stable cavitation the possibility to increase the efficacy of doxorubicin (both on mortality and cell proliferation rate). Mechanistic studies suggest an indirect interaction between cavitation and the efficiency of DNA repair processes of the studied 4T1 tumor cells. Although this result was not observable in vivo, a safety study was conducted in vivo. Both the effect on healthy tissues and the potential metastatic spreading were assessed. Only slight damages were observed on healthy tissues (muscle, vein, nerve, bone, skin, liver). Surprisingly, it was also shown that the metastatic spreading was reduced compared to the mice which did not receive ultrasound. This work suggests the safety and the possibility to employ cavitation in vivo but also the difficulty to transfer the studied mechanisms from in vitro to in vivo environment.

8) 集束超音波治療による有痛性骨関節疾患の圧痛に及ぼす影響

川崎元敬¹, 村松脩大¹, 南場寛文¹, 泉仁¹, 武政龍一¹, 池内昌彦¹, 牛田享宏¹ (1高知大学, 2愛知医科大学)

難治性の慢性痛を伴う骨関節疾患である骨転移, 腰椎椎間関節症, 内側型変形性膝関節症を有する患者において, 病変部の最も過敏な圧痛 (圧迫で誘発される痛み) 部位へ MR ガイド下集束超音波 (MRgFUS) 治療を実施し, その圧痛の変化と患者の主観的な疼痛の変化を調査した. 治療後, 各疾患において病変部の局所の疼痛は有意に軽減し, 同時に, 治療部位の圧痛も有意に改善した. 有痛性骨関節疾患における圧痛部位の評価は, MRgFUS 治療部位の決定や治療効果の判定に有用な可能性が示唆された.

9) アポ A-I 模倣ペプチドのコレステロール引き抜き能に対する超音波/ナノバブルの効果

川内絵未, 今泉聡, 渡邊晶子, 辻山理加, 岡崎優子, 西川宏明, 上原吉就, 三浦伸一郎, 朔啓二郎, 立花克郎 (福岡大学)

善玉コレステロールの一つである HDL (高比重リポ蛋白) のコレステロール引き抜き能は, 冠動脈疾患の有病率や心血管イベント発症と関連している. 我々は, 生体内で HDL の機能を増強させるアポ蛋白 A-I 模倣ペプチド FAMP の開発を行い, 成功した. 現在までに, FAMP にはコレステロール引き抜き能のほか, 抗動脈硬化作用があることを報告している. 本研究は, FAMP のコレステロール引き抜き能に対する超音波/ナノバブルの効果を検討した. その結果, 超音波により FAMP のコレステロール引き抜き能が増加し, 動脈硬化性疾患の治療へ応用できる可能性が考えられた.