

# 公益社団法人日本超音波医学会令和元年度超音波分子診断治療研究会抄録

代表：工藤 信樹（北海道大学大学院情報科学研究科）

## 第1回

日時：令和元年8月2日（金）

会場：北海道大学 大学院情報科学研究科棟  
（高層棟） 11階 大会議室（札幌市）

日本音響学会 令和元年度第2回アコースティックイメージング研究会，平成31・令和元年度第3回基礎技術研究会，第1回超音波分子診断治療研究会，日本生体医工学会 北海道支部 第55回生体医工学研究会，レーザー学会 第6回光音響イメージング技術専門委員会と共催のため，平成31・令和元年度基礎技術研究会抄録に掲載されていますので，ご参照下さい。

## 第2回

日時：令和元年9月7日（土）

会場：Hwabaek International Convention Center  
（慶州ファベク国際コンベンションセンター，大韓民国慶州市）

共催：Korean Society for Therapeutic Ultrasound,  
5th Annual Symposium,

Session 3: International Session (Joint Session with JSUM & TAITU)

### 1. Microbubble dynamics inside a capillary network model developed using 3D cell culture

Nobuki Kudo (Faculty of Information Science and Technology, Hokkaido University, Japan)

Sonoporation is a technique that temporally increases cell membrane permeability by ultrasound irradiation for enabling transduction of

a drug or gene that normally has no cell membrane permeability. Blood-brain barrier is a boundary that separates blood from the cerebral tissue, and BBB opening is a technique that temporally opens tight-junctions between endothelial cells in a capillary also by ultrasound irradiation for enabling transport of drugs that normally cannot infiltrate into the cerebral tissue. Bubbles of several microns in diameter play a key role to improve efficiency of these two techniques, and almost all bubbles exist inside capillaries in an in vivo situation. Therefore, we developed a capillary network phantom using a 3D cell culture technique, and interaction between a bubble and endothelial cells inside the capillaries was investigated using an observation system equipped with a confocal microscope and a high-speed camera. In this presentation, the observation system newly designed for the capillary phantom study was introduced, and recent observation results are demonstrated.

### 2. Changing tumor microenvironment through oxygen-loaded microbubbles with acoustic tweezer

Chih-Kuang Yeh (Distinguished Professor Department of Biomedical Engineering and Environmental Sciences, National Tsing Hua University, Hsinchu, Taiwan)

Abnormal tumor vasculature restricts oxygen and nutrient transport to cause tumor hypoxia, which reduces the efficacy of chemotherapy and radiotherapy. Recent studies have been reported

that the morphology and function of tumor vessels could be remodeled as normal vessels under the anti-angiogenic status. The process of vascular normalization (VN) in tumors improves the maturity of vessel morphology, and then repairs vessel function to enhance tumor perfusion. Although tumor VN provides a potential way to regulate tumor microenvironment, the short VN time window induced by anti-angiogenic agents limits the clinical applications of tumor VN. This study proposes to improve tumor oxygenation by oxygen-loaded microbubbles ( $O_2$ -MBs) for regulating tumor microenvironment. Since abnormal tumor vasculature would restrict the transport of  $O_2$ -MBs, we develop an acoustic tweezer system to elevate the concentration of  $O_2$ -MBs within tumors without increasing the doses of  $O_2$ -MBs. By applying the phase dislocation on the array transducer, the acoustic tweezer propagates with a tornado structure to trap and collect  $O_2$ -MBs in the center of acoustic field. After trapping  $O_2$ -MBs by acoustic tweezer, a cascading  $O_2$ -MBs destruction pulse would be used to locally release oxygen in tumors. The tumor microenvironment regulations including VN, immune activation, and metastasis would be evaluated after enhancing tumor oxygenation.

### 3. Enhanced drug delivery to tumor tissue by combination of new lipid bubbles and ultrasound

Kazuo Maruyama (Laboratory for Ultrasound Theranostics, Faculty of Pharma-Sciences Teikyo University, Japan)

The enhanced permeability and retention (EPR) of nanoparticles in tumors has long stood as one of

the fundamental principles of cancer drug delivery, holding the promise of safe, simple and effective therapy. By allowing particles preferential access to tumors by virtue of size and longevity in circulation, EPR provided a neat rationale for the trend toward nano-sized drug carriers. Following the discovery of the phenomenon by Maeda and Matsumura in the mid-1980s, this rationale appeared to be well justified by the flood of evidence from preclinical studies and by the clinical success of DOXIL®. Clinical outcomes from nano-sized drug delivery systems, however, have indicated that EPR is not as reliable as previously thought. A closer look reveals that EPR-dependent drug delivery is complicated by high tumor interstitial fluid pressure, irregular vascular distribution, and poor blood flow inside tumors. Furthermore, the animal tumor models used to study EPR differ from clinical tumors in several key aspects that seem to make EPR more pronounced than in human patients.

In recent years, sonoporation, which is based on the combination of microbubbles and US, has been receiving ever more attention. Via stable and inertial cavitation effects, such as microstreaming, jet formation and shock waves, cell membranes can be permeabilized and tight junctions in vascular endothelium can be opened.

We have developed a new lipid bubble suitable for sonoporation. For good storage stability and ease of handling, lipid bubbles were made into freeze-dried formulations. Here we investigate tumor blood vessel imaging and enhancement of ERP effect by combination of lipid bubbles and ultrasound and describe a new drug delivery technology that Bubble-Ultrasound mediated Drug

Delivery System (BUS-DDS).

#### 4. World First Experience with MR-guided Focused Ultrasound in the Treatment of X-linked Dystonia-Parkinsonism (XDP)

WC Chang<sup>1</sup>, R Dominic G. Jamora<sup>3</sup>, Kevin WK Tsai<sup>1</sup>, W Lin<sup>2</sup>, PY Chiu<sup>2</sup>, HG Lai<sup>1</sup>, T Taira<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Focused Ultrasound Brain Treatment Center, Chang Bin Show Chwan Memorial Hospital, Chang Hua County, Taiwan, <sup>2</sup>Department of neurology, Show Chwan Memorial Hospital, Chang Hua County, Taiwan, <sup>3</sup>Department of Neurosciences, Philippine General Hospital, Manila, Philippine, <sup>4</sup>Department of Neurosurgery, Neurological Institute, Tokyo Women's Medical University, Tokyo, Japan.

**BACKGROUND:** XDP is a sex-linked disease initially presented with distal dystonia and rapidly progressed to generalized symptoms. Deep brain stimulation could help relieve symptoms but the economic status and health care system for these people are also an issue. Recently, the magnetic resonance (MR)-guided focused ultrasound technology (MRgFUS) offers feasible results in treating essential tremor and tremor dominant Parkinson's disease with optimized accuracy. We describe here the first experience of the MRgFUS treatment of XDP in Chang Bin Show Chwan Memorial hospital.

**METHODS:** This 42-year old male patient suffered from hand dystonia for 5 years and rapid progressed to generalize dystonia. XDP was diagnosed by Dr. Jamora with clinical survey, XDP gene and MRI findings. The scales of UPDRS, EQ-5D-3L, Unified Dyskinesia Rating Scale and Video-clips were collected. He was treated with

unilaterally MRgFUS ablation over right pallido-thalamic tract (PTT). Final temperatures at target were between 56°-60°. Primary relief symptoms were evaluated with subjective statement and clinical neurologic examinations. The MR examinations were performed before, during and immediately after the operation.

**RESULTS:** This is the first treatment using unilateral PTT tractotomy with MRgFUS in the world. The target was defined real time with patient's subjective statements during low power sonication. As a consequence, the treatment protocol was adapted by applying repetition of the final temperatures up to 56-60°. MRI showed a thermal lesion on PTT in T2-weighted (T2W) images after sonication. There were no neurologic deficits after treatment.

**CONCLUSIONS:** Our experience demonstrated the feasibility, safety, and accuracy of the MRgFUS tractotomy in treating XDP. In the treatment of movement disorders, the MRgFUS may be an alternative choice.

#### 5. BBB disruption for brain disorders

Jin Woo Chang (Center for Innovative Functional Neurosurgery, Department of Neurosurgery, Brain Research Institute, Yonsei University College of Medicine, Seoul, Korea)

Drug delivery to the brain is limited by the blood brain barrier (BBB). And currently, strategies to circumvent the BBB for the delivery of therapeutics (such as altering BBB with hyperosmotic solutions, or on utilizing invasive intracranial delivery and etc) are not satisfactory to demonstrate the beneficial effects for the patient with brain disorders because of the fundamental

limitation of these techniques. Recently, the field of MR guided high intensity focused ultrasound surgery (MRgFUS) is evolving and offers another opportunities of the investigation of patient's with many brain disorders such as glioblastoma and Alzheimer's disease with drug/cell deliveries through BBB disruption. Currently, we underwent a prospective, single-center, single-arm study of MRgFUS BBB disruption for the patient with glioblastoma. The purpose of this study was to evaluate the safety and the feasibility of the multiple disruption of the BBB with MRgFUS during the standard adjuvant chemotherapy with temozolomide (TMZ). Patients were enrolled at the beginning of their planned adjuvant TMZ chemotherapy. MRgFUS BBB disruption was performed with intravenous injection of microbubble (MB) and we disrupted BBB adjacent to tumor resection margin on the first or second day of every 6 cycle of TMZ chemotherapy. The MRI with T2\*/GRE MR sequence was performed immediately after every set of sonication for BBBD and a comprehensive MRI with gadolinium enhanced T1-weighted image was performed at the completion of all sonications for BBB disruption, to evaluate the adverse effects and the efficacy of the BBB disruption.

In this presentation, we would like to show our clinical outcome of MRgFUS BBB disruption for the patient with glioblastoma. Lastly, we also would like to show our experimental data of FUS BBBD for rat and mouse model's of Alzheimer's disease.

### 第3回

日時：令和元年12月7日（土）

会場：東京農工大学小金井キャンパス（東京都小金井市）

共催：第18回日本超音波治療研究会

オーガナイズドセッション1「薬物送達のバリエーションを越える」

#### 1. 血管内皮を越える機序は？・高速度観察と共焦点観察

工藤信樹（北海道大学大学院情報科学研究院）

超音波照射下において振動する微小気泡を薬物送達に利用する研究が広く行われている。血管内に投与した薬剤を超音波照射によって局所に送達するためには、照射部位の血管内に存在する気泡のダイナミクスを明らかにし、気泡の運動が血管に与える作用機序を解明する必要がある。血管内に投与された薬物と微小気泡は全血液中に一樣に拡散する。毛細血管内に存在する血液量は全血液量の5%程度であるが、その内腔の表面積は動脈の700倍に達し、さらに、内腔が狭いため全ての微小気泡が血管壁との距離が数ミクロンの範囲内に存在する。それゆえ毛細血管内にある気泡が内皮細胞に与える影響は他に比べて大きいと考えられ、毛細血管内における気泡のダイナミクスを明らかにし、内皮細胞に与える作用を調べることは重要な意味を持つ。これを目的として、我々は微小な気泡のふるまいを捉える高速度カメラと細胞が受ける作用を観察する共焦点顕微鏡を組み合わせた観察システムを開発した。また、生体組織内の毛細血管の観察は困難であるため、毛細血管と同程度の内腔径を有するゲルファントムとヒト臍帯静脈内皮細胞の3次元培養技術を用いて毛細血管ファントムを開発した。本発表ではこれらを用いて毛細血管内での気泡のダイナミクスとそれが血管に与える作用について検討を

行った結果を報告する。

## 2. ナノバブルでバリアを超えられるか？・筋疾患へのアプローチ

根岸洋一，葦沢慧，佐々木愛理，鈴木亮，丸山一雄，高橋葉子

(東京薬科大学薬学部，帝京大学薬学部)

骨格筋は遺伝子治療の有望な標的組織であり，さまざまな遺伝子送達法が試みられている．中でも，筋組織を支配する血管を利用したものは，その特性を生かす遺伝子送達法として期待されている．すでに，静脈内投与による遺伝子導入法では，一時的に血流を減少させた下肢末端の静脈内へ，遺伝子溶液を大容量かつ急速静注することで筋組織内へと送達させる方法（ハイドロダイナミクス法）が開発されている．しかしながら，大容量の遺伝子溶液を急速静注することは，ヒトへ応用する場合に制御が容易ではないと考えられる．これまでに我々は，新規の遺伝子送達キャリアとしてポリエチレングリコール修飾（PEG）リポソームに診断用超音波造影ガス（パーフルオロプロパン）を内封したナノバブルの開発を行ってきた．このナノバブルは，超音波照射時のキャビテーション誘導により生じるジェット流で，一時的に組織や細胞膜透過性を亢進させる作用を有している．実際に静注した混合溶液を止血帯により下肢に貯留させた状態で，体外より超音波照射することで，血管壁のバリアを超え，筋実質組織への遺伝子送達が可能となることを明らかとしている．本セッションでは，このようなナノバブルを利用した筋組織への遺伝子送達システム，さらには筋疾患治療への応用展開について述べさせて頂く．

## 3. 表在細胞への送達と限界・頭頸部癌と膀胱癌

佐々木東，工藤信樹，Moonen Chrit

(北海道大学大学院獣医学研究院，北海道大学大学院情報科学研究科，University Medical Center Utrecht)

表在組織は超音波とマイクロバブルによるドラッグデリバリーに適応臓器である．その中でも頭頸部および膀胱を対象にしたこれまでの研究から得られた知見を基に，臨床応用の可能性と限界を考えてみたい．頭頸部腫瘍に対するドラッグデリバリーではバブルおよび薬剤を全身投与することが予想され，ドラッグデリバリーの第1関門は血管内皮細胞となる．そこで，血管内皮細胞層と細胞外基質を組み合わせた *in vitro* の3次元培養系を用いて蛍光色素の空間的広がりを検討した．まず血管内皮細胞層の存在によって蛍光強度は最大40%低下した．バブル存在下で超音波（中心周波数1.3 MHz，パルス幅100  $\mu$ s，デューティー比10%，音圧1.0 MPap-p）を30秒間照射したところ，血管内皮細胞層から150  $\mu$ m程度の範囲内で蛍光強度の増強が確認された．この時，血管内皮細胞はパッチ状に脱落していた．膀胱への応用では膀胱内投与を想定し，腫瘍細胞と細胞外基質を組み合わせた *in vitro* の3次元培養系を用いて，抗がん剤の空間的広がりと時間的広がりを検討した．バブル存在下で，超音波（中心周波数1 MHz，パルス幅500  $\mu$ s，デューティー比50%，音圧0.13 MPap-p）を1分間照射したところ，培養表面から120  $\mu$ m程度まで抗がん剤濃度の上昇が認められた．また，単回の照射効果はおおよそ1時間持続する可能性が示された，培養系，超音波条件，薬剤のいずれも異なったが，デリバリーの空間的広がりにはほぼ一定だった．

超音波とマイクロバブルによってドラッグデリバリーは実現できており、治療効果まで発展させるためには最適化で十分なのか、もしくは新たな戦略やツールを用いるのか検討する必要があるようだ。

#### 4. 脳疾患治療に向けた血液脳関門オープニング技術の構築

小俣大樹, 丸山一雄, 鈴木 亮 (帝京大学薬学部)

本邦では、2016年にMRガイド下集束超音波治療器が医療機器として承認され、2019年にこの治療器を使用した本態性振戦治療が保険適用された。これは頭蓋外部から集束超音波を照射し、視床を局所的に加熱、壊死させる治療法であり、脳疾患に対する低侵襲的超音波治療が実現されている。これに加えて、超音波とマイクロバブルの併用による血液脳関門 (Blood Brain Barrier; BBB) オープニングを利用した薬物デリバリーや遺伝子デリバリーへの応用に関する研究開発が盛んに進められている。実際に、脳腫瘍やアルツハイマー病など様々な脳疾患治療に向けた研究が行われている。しかし、BBB オープニングに関する研究の多くは上市されているマイクロバブルを使用しており、BBB オープニング技術の中で重要な役割を果たすマイクロバブルの開発や特性評価は十分に進められていない。これまでに我々は、超音波診断・治療システムの構築を目指し、新規マイクロバブルの開発を進め、血栓の超音波造影やマイクロバブルと超音波の併用による薬物や遺伝子デリバリーについて報告してきた。現在、このマイクロバブルを使用した BBB オープニング技術の構築に取り組み、マイクロバブルの影響についても検討を進めている。マイクロバブル

の内包ガスの BBB オープニングへの影響について評価したところ、パーフルオロプロパンやパーフルオロブタンを内包したマイクロバブルを用いることで効率的にモデル薬物を脳内へとデリバリーできることを明らかにしている。本発表では、我々の研究を交えつつ、BBB オープニング技術について紹介し、今後の脳疾患に対する超音波治療について議論したい。

#### 5. 超音波を利用したイムノモジュレーションによるがん治療戦略と今後の展望

鈴木 亮, 小俣大樹, 丸山一雄 (帝京大学薬学部)

近年、がん治療における新たな戦略の1つとしてがん免疫療法が挙げられるようになった。有効ながん免疫療法を構築するためには、がん抗原の抗原提示細胞による T 細胞への提示、T 細胞の活性化、がん組織への遊走・浸潤、T 細胞によるがん細胞の認識、傷害といった一連のがん免疫サイクルが回り続ける必要がある。このサイクルを回すために、樹状細胞や養子免疫療法、サイトカイン療法、免疫チェックポイント阻害剤、CAR-T 療法など様々な方法が開発され、がん免疫サイクルの活性化による抗腫瘍免疫誘導が進められている。最近では、これまで免疫系とは無縁と考えられていた放射線療法、光線力学療法や超音波療法などの物理的エネルギーを利用したがん治療における抗腫瘍免疫系の活性化などが報告されている。しかし、これら物理的エネルギーでの治療に関する報告は、ほとんど免疫系賦活化の現象論にとどまっている。また、がん治療効果を増強するための検討もあまり進んでいないのが現状である。これまでに我々は、超音波の機械的・熱的作用を増強できる

マイクロバブルとの併用でがん組織を傷害すると、抗腫瘍免疫系が誘導され、この免疫誘導ががん治療効果のメカニズムそのものであることを見出した。このことから、マイクロバブルと超音波の治療において、がん組織内の免疫微小環境が抗腫瘍免疫を誘導しやすい環境に変化しているのではないかと考えた。そこで、マイクロバブルと超音波治療後のがん組織に抗原提示細胞である樹状細胞を投与したところ、がん治療効果が増強されることが明らかとなった。このように、マイクロバブルと超音波によるがん治療は、がん組織内のイムノモジュレーターとして機能している

ものと考えられた。そこで本発表では、イムノモジュレーションによるがん治療戦略について我々の研究を紹介するとともに、今後の展望について議論したい。

#### 第4回

日時：令和2年3月13日（金）

会場：福岡市科学館 6階サイエンスホール（福岡県福岡市）

\* 指定感染症である新型コロナウイルスの日本国内での感染拡大を懸念し、開催を中止致しました。