

公益社団法人日本超音波医学会平成30年度超音波分子診断治療研究会抄録

代表：竹内真一（桐蔭横浜大学医用工学部臨床工学科）

幹事：内田武吉（産業技術総合研究所分析計測標準研究部門）

第1回

日時：平成29年8月3日（土）

会場：北海道大学 大学院情報科学研究科棟（高層棟）（札幌市）

日本超音波医学会第2回基礎技術研究会(2017)および日本超音波医学会平成29年度第2回光超音波画像研究会との共同企画の為、「日本超音波医学会第2回基礎技術研究会 Vol. 2017 No. 2」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29年10月28日（土）

会場：北海道大学大学院獣医学研究院 講堂（札幌市）

第16回日本超音波治療研究会との共催

1) 0-1 電界誘起法により作製した微小気泡の超音波照射下でのふるまいの高速度観察

常世 晶、工藤 信樹（北海道大学大学院情報科学研究科 生命人間情報科学専攻 人間情報工学研究室）

本報告ではこの電界誘起気泡（以下、電界気泡）について、超音波照射下でのふるまいを高速度観察し、バブルリポソーム気泡（BL 気泡）と比較した結果を述べる。実験には、蛍光染料でラベルした同じ組成の脂質で難溶化した電界気泡と BL 気泡を用いた。各気泡に、中心周波数 1 MHz、最大負圧 0.8 MPa、波数 3 波のパルス超音波を照射した際のふるまいを高速度カメラ（HPV-X、島津製作所）で撮影した。BL 気泡では脂質が一様に付着しているのに対し、電界気泡では不均一に付着している様子が見られた。電界気泡（10 個、 $3.8 \pm 1.4 \mu\text{m}$ ）と BL 気泡（20 個、 $3.5 \pm 0.7 \mu\text{m}$ ）の高速度撮影結果から求めた気泡径の最大膨張率は、それぞれ 20.8 ± 10.5 、 12.9 ± 3.9 であった。また、電界気泡では非等方的な収縮がより高頻度に起きる傾向にあった。これより、脂質シエルの付着の均一性が気泡のふるまいに影響を与えることが確認された。

2) 0-2 組織内水素濃度測定による水素ガスマイクロバブルの肝組織集積の観察

渡邊 晶子 1、Sheng Hong 1、星野 耕大 2、立花 克郎 1

（1 福岡大学医学部 解剖学、2 福岡大学病院救命救急センター）

我々は、生体内で産生も消費もされない水素ガス内包アルブミンバブル（以下 H2-MB）を開発し、水素を指標にして組織集積を評価することが出来るか検討した。水素濃度の測定に、ポーラログラフ法を採用した UH メータと電極（ユニークメディカル社製）を使用した。H2-MB をラットに投与後、肝臓に超音波診断装置から超音波を照射し、肝臓組織の水素濃度を測定した。H2-MB 投与から約 15 秒後、肝臓の水素濃度が上昇しはじめた。ベースラインに戻った後に超音波を照射すると、再び水素濃度の上昇が見られた。

3) 0-3 フォーカストシャドウグラフ法を用いた HIFU 音場評価におけるカメラフォーカス位置の設定

神 飛翔、工藤 信樹（北海道大学大学院情報科学研究科）

本報告では、フォーカストシャドウグラフ法を用いた HIFU 音場の評価におけるカメラフォーカス位置設定の指針について述べる。口径 110 mm、焦点距離 100 mm、共振周波数 1.58 MHz の集束型振動子を用いて推定焦点強度 $2,500 \text{ W/cm}^2$ の HIFU 音場を発生させた。音場軸を原点としてカメラフォーカス位置を設定して音場投影像を撮影し、フィルタ補正逆投影法により音場分布を求めた。カメラフォーカス位置を原点と原点から $\pm 15 \text{ mm}$ に設定して可視化した投影像を図 1 に示す。原点位置では音場が描出されず、音軸から等距離で可視化した投影像では輝度分布が反転した像となっていることが確認できる。しかし、+15 mm の投影像の焦点域では -15 mm の像には見られない干渉縞が観察された。また、逆投影により求めた焦点面でのビー

ムプロファイルは -15 mm では音圧分布と良く一致したが、-30 mm では差異が生じ、カメラフォーカス位置が過大な場合には、音場中での光線の曲がりにより逆投影アルゴリズムが機能しないと考えられた。

4) 0-4 音響化学療法に向けた活性酸素生成量の定量と発生領域の可視化

西高 慎也 1、益子 大作 1、吉澤 晋 2、梅村 晋一郎 1 (1 東北大学医工学研究科、2 東北大学工学研究科)

本研究では活性酸素を定量し、発生領域の可視化を行った。活性酸素の定量方法として KI 法を用いた。KI 溶液に超音波を照射することで生成した活性酸素の酸化作用によって三ヨウ化物イオンが生成する。これは特徴的な吸収ピークを持つことから、吸光度を測定することによって活性酸素を定量した。また、キャビテーション気泡の挙動を調べるために高速度カメラを用いて撮影を行った。活性酸素の生成領域を調べるためにはルミノール溶液を用いた。活性酸素種の $\cdot\text{OH}$ がルミノール分子を励起させることによって発光する現象を用いている。ルミノールを浸透させたゲルに超音波を照射し、一眼レフカメラで Bulb 撮影を行った。超音波の照射シーケンスとして、高強度かつ短時間の超音波の照射後に低強度かつ長時間の超音波を照射するシーケンスを用いた。今回、照射する超音波の焦点を走査して高効率化の検討も行った。

[結果・考察]高速度カメラ撮影によって、焦点を走査する場合としない場合、共にキャビテーション気泡が生成していることが確認できた。活性酸素の定量の結果、生成量は超音波の焦点を走査する方が多くなった。しかし投入エネルギーを考慮して活性酸素生成効率を算出した場合、超音波の焦点を走査しない方が効率は大きくなった。ルミノール溶液の撮影結果より、どちらのシーケンスにおいても、超音波焦点付近のみで発光を確認することができた。発光領域の近似体積は超音波焦点を走査しない場合の方が大きくなった。今後はより高効率化、局在化できるシーケンスの検討

が必要である。

5) 0-5 Evaluation of a Three Hydrophone-based Method for 2-Dimensional Cavitation Localization

Maxime Lafond^{1,2}, Nicolas Asquier², Jean-Louis Mestas², Shin Yoshizawa¹, Shin-ichiro Umemura¹, Cyril Lafon² (¹Umemura-Yoshizawa Laboratory, Tohoku University, Sendai (Japan), ²Laboratory of Therapeutic Applications of Ultrasound (LabTAU), INSERM U1032, Université de Lyon (France))

Cavitation is a critical parameter in various therapeutic applications of ultrasound (US) such as histotripsy, lithotripsy, drug delivery and cavitation-enhanced hyperthermia. A cavitation exposure outside of the region of interest may lead to a suboptimal treatment efficacy or in a worse case, to safety issues. Current methods to localize cavitation are based on imaging approaches, by beamforming the cavitation signals received passively by a US imager. These methods, although efficient, require expensive equipment which may discourage potential future developments. We propose a three hydrophones method to localize the cavitation cloud source using GPS equations. After a numerical validation, the system was able to track a source displacement with an accuracy that is similar to the size of the cavitation cloud. This technique can be extended in 3D by adding one hydrophone. As a very light technique, the 3D localization can be performed in real-time, and with an accuracy the is inferior to the size of the cavitation cloud.

6) 0-6 気泡援用集束超音波治療における 3 パルス法を用いたキャビテーション気泡の非線形エコー解析

岩崎 亮祐、長岡 亮、吉澤 晋、梅村 晋一郎（東北大学医工学研究科）

本研究ではマイクロバブル造影剤と比較して不安定なキャビテーション気泡に対し3パルス法による特異的イメージングを試み、治療の安全性と効率の両立に繋げることを目的とした。3パルス法は位相の120°異なる3つのパルスを順次送信し受信信号を加算することで、基本波成分に加え偶数倍高調波成分も低減するハーモニックイメージング手法である。

1パルスのみを用いた場合と比較して、PI法、3パルス法どちらのハーモニックイメージング手法でも組織エコーの加算結果から基本波成分が抑制され、また3パルス法においてはそれに加え二次高調波成分も低減された。エコー信号から再構成されるB-mode像では、PI法と比較して3パルス法でより明瞭にキャビテーション気泡が描出された。したがって深部までの画像化を想定した治療モニタでは、非線形伝播の影響を抑制できる3パルス法がキャビテーション気泡を特異的に検出することに対し有効であることが示唆された。

7) 0-7 脳への集束超音波照射による金ナノ粒子の送達効率向上の検討

菊地 映美1、石島 歩1、小林 英津子1、東 隆1、2、佐久間 一郎1、伊藤 大知1、2、太田 誠一2（1東京大学大学院工学系研究科、2東京大学大学院医学系研究科）

本研究では、培養細胞を用いたBBB in vitroモデルを構築し、集束超音波を照射してサイズが異なる金ナノ粒子を透過させ、粒子サイズと粒子透過性との相関を検討した。マウス脳微細血管内皮細胞株（bEND.3）を24ウェル用トランズウェルに播種してBBB in vitroモデルを作製し、集束超音波を照射した。超音波条件は周波数1MHz、音圧320kPa、照射時間1秒間とした。評価系構築の初期検討のため、マイクロバブルは未使用とした。超音波照射後、BBBの透過性の指標である経内皮電気抵抗の時間変化を測定した。また、BBBモデル内に3、15、120nmの金ナノ粒子を加えて12時間インキ

ュベートし、外側の培地に透過した粒子濃度をICP-MSで測定した。

超音波照射から5分後から2時間後までの間、経内皮電気抵抗は超音波照射前の70-80%程度となり、BBBモデルのバリア機能の低下が確認された。一方で4時間後には約100%に回復し、BBBは超音波照射直後から4時間程度、一時的に開通すると示唆された。超音波を照射しない場合と比較して照射後の粒子透過量は3、15nmの粒子では有意に増加し、3nmの方が15nmのものよりも約2倍高かった。一方、120nmの粒子の透過量に有意差はなかった。今後はマイクロバブルを併用したBBBモデルへの超音波照射と評価を行う。

8) 0-8 急性肝不全モデルにおける超音波照射によるトロンプモジュリン製剤の効果増強作用

星野 耕大1、仲村 佳彦1、石倉 宏恭1、立花 克郎2

（1福岡大学病院救命救急センター、2福岡大学医学部 解剖学）

急性肝不全に対してトロンプモジュリン製剤（rhsTM）は予後を改善すると報告されている。今回、同モデルに対して rhsTM 投与後に肝臓へ超音波照射を加えることで rhsTM の効果が増強するかを検討した。マウスに lipopolysaccharide と D-galactosamine を腹腔内投与することで急性肝不全モデルを作製した。モデル作成から30分後に Placebo 群、rhsTM 1mg/kg 群、3mg/kg 群、5mg/kg 群に分類して尾静脈投与し、モデル作成から7時間後の肝酵素（AST、ALT）を比較検討した。また、rhsTM 1mg/kg もしくは 3mg/kg 投与直後に肝臓へ超音波を照射し、上記同様に肝酵素を測定した。超音波照射条件は Intensity 0.3 W/cm²、Duty 50%、60sec に設定した。急性肝不全マウスモデルに対して rhsTM は濃度依存性に肝酵素の改善を認め、超音波照射を加えることで rhsTM の効果増強作用が認められた。

ポスターセッション

9) P-1 HIFU 装置のプロープ形状が加温特性に及ぼす影響

市島泰人 1、新藤康弘 2、加藤和夫 1、竹内晃 3
(1 明治大学大学院機械工学専攻 生体情報科学研究室、2 東洋大学理工学部機械工学科、3 ルーククリニック)

近年、小型 HIFU 装置の開発が進められているが、その短焦点深さに問題点がある。この焦点深さの制御に関して、主にトランスデューサの形状を改良する試みが行われている。しかしながら、この手法では、HIFU 装置本体の原理的な改造が必要である。そこで本研究では、簡便な方法として、HIFU システムの超音波照射領域、焦点深さを変更可能な制御手法を提案する。具体的には、既存の小型 HIFU システムを用いて、そのプロープ先端の形状を変更することにより、加温領域範囲および焦点深さの制御に関する検討を行う。本実験では、3D プリンターで造形した種々のプロープを用い、加温領域と加温深さについての実験を行った。ここでは、テーパ角度 θ が異なる 3 種類のプロープを作製した。そして、アクリルと寒天ファントムに超音波を照射した。Fig. 1 に焦点深さプロファイル、Fig. 2 に照射領域プロファイルを示す。本研究は、トランスデューサの形状に依存することなく、簡便な焦点位置の制御手法を提案した。実験結果から、超音波プロープのテーパ角度により、加温領域および、深度制御の可能性を示した。

ポスターセッション

10) P-2 針電極加温時における超音波画像を利用した三次元温度分布推定の基礎検討

齋藤 貴博、加藤 和夫 (明治大学大学院理工学研究科 機械工学専攻 生体情報科学研究室)

本研究では、超音波画像を利用した生体内温度分布推定法を提案している。これは、加温前後に撮像した超音波画像に画像処理を施すことで体内の温度分布を推定する手法である。さらに、この手法では複数層における加温前後の超音波画像を撮像後、これらに種々の画像処理を施すことで三次元的に

温度分布を推定することが可能である。本研究では針電極加温時における三次元温度分布推定を行った。具体的には、針電極(直径:1mm、長さ:20mm)に対し垂直な方向に超音波プロープを設置し、複数層における超音波画像を撮像した。その後、画像処理技術を用いて、加温前後における超音波画像の変位量から非侵襲的に三次元温度分布を推定することにより本加温システムの有用性を示した。

ポスターセッション

11) P-3 超音波照射による剛体壁近傍の気泡崩壊に単分子膜が及ぼす影響

長澤 健志 1、杉浦 壽彦 2 (1 慶応大学大学院理工学研究科、2 慶応大学理学部)

本研究では、単分子膜が剛体壁近傍での崩壊現象に及ぼす影響を調べることとする。本研究の軸対称な解析モデルを Fig.1 に示す。気泡表面における力学的な境界条件には、単分子膜による表面張力の変化を考慮した Maromttant らのモデル (P. Marmottant et al, 2005) および膜の粘性を考慮した Hsiao らの研究 (C.-T Hsiao and G. L. Chahine, 2013) を取り入れた。これらのもとで、速度ポテンシャルを変数として境界要素法による数値解析を行った。膜の無い気泡と単分子膜付きの気泡では、崩壊直前の気泡中心位置と形状およびその移動速度には差異が生じた。

ポスターセッション

12) P-4 腫瘍新生血管ターゲティング能を有するリピッドバブルの開発

鈴木 悠乃、鈴木 亮、杉井 むつみ、小俣 大樹、Unga Johan、宗像 理紗、丸山 一雄 (帝京大学薬学部)

本研究では、腫瘍新生血管内皮細胞に高発現している $\alpha v \beta 3$ インテグリンに結合する cyclic RGD (cRGD) ペプチドを修飾したリピッドバブル (LB) を開発し、本 LB の腫瘍新生血管ターゲティングに関する基礎的検討を行った。蛍光物質 (DiO)、リン脂質 (DSPC : DSPG) および cRGD または cRAD (コントロール) 修飾脂質の懸濁液を添加したバイアル

内をパーフルオロプロパンガスで充満させ密栓した。このバイアルを45秒間攪拌し、ペプチド修飾LB (cRGD-LB、cRAD-LB) とした。これらLBを $\alpha v \beta 3$ インテグリンを発現するヒト臍帯静脈内皮細胞 (HUVEC) に添加し、30分間、37°Cで培養した。細胞を洗浄後、各LBの細胞への結合をフローサイトメトリーで解析した。cRAD-LBを添加した細胞の蛍光は低かった。一方、cRGD-LBを添加した細胞において高い蛍光が認められた。このことから、cRGD-LBの方が、細胞に効率よく接着・取り込まれることが示唆された。cRGD-LBの接着・取り込みがcRGD特異的であることを検討するため、cRGD修飾脂質の過剰添加による競合阻害を行った。その結果、cRGD修飾脂質の添加によりcRGD-LBの細胞への接着・取り込みが低下した。このことから、cRGD-LBはcRGD特異的に細胞に接着・取り込まれることが示唆された。

13) P-5 強力集束超音波による骨膜の神経に及ぼす影響

南場 寛文1、川崎 元敬2、村松 脩大2、池内 昌彦2、大迫 洋司3、小泉 憲裕4、葭仲 潔5 (1 細木病院整形外科、2 高知大学医学部整形外科、3 高知大学医学部解剖学講座、4 電気通信大学 大学院情報理工学研究科、5 産業技術総合研究所)

強力集束超音波(HIFU)照射後早期の骨膜内神経線維の密度の経時的変化を免疫組織化学的評価により明らかにすることである。

ソニトロン GTS (ネッパジーン社) を用いて HIFU (周波数 2.2MHz、Duty100%、出力 0.3kW/cm²) を 10 秒ずつ数回の照射を、腹腔麻酔下に Wistar rat (8-10 週齢) の脛骨内側面へ実施した。照射前 (コントロール)、照射後 3 日、1 週、2 週、3 週の各時点で 4 匹ずつの脛骨を摘出し、パラホルムアルデヒドで固定して脱灰処置の後、凍結切片を作成し、HE 染色による骨膜の組織学的評価、および PGP9.5 抗体 (神経線維マーカー)、CGRP (炎症性疼痛ペプチド) により染色される骨膜に存在する神経線維の密度を蛍光顕微鏡で計測し、経時的変化の統計学的な評価を行った。その結果、HE 染色では骨膜、

および筋肉や皮質骨の明らかな変化は認めなかった。CGRP の密度では、コントロールと比較して照射後 3 日目に有意な低下を示していたが、経過と共に増加していた。PGP9.5 では有意な経時変化を示さなかった。

第 3 回

日時: 平成30年1月19日 (金)

会場: 慶応義塾大学日吉キャンパス 往来舎 シンポジウムスペース (横浜市)

日本ソノケミストリー学会第10回超音波とファインバブルの相互作用に関するシンポジウムとの共催、ファインバブル学会連合の協賛

1) 基調講演 超音波による細胞死と細胞応答—マイクロバブルの影響

近藤 隆1、小川 良平1、趙 慶利1、野口 京1、田淵 圭章2 (1 富山大院 医学薬学研究部、2 富山大学 研究推進機構)

今回は、超音波の生物作用について、細胞死および細胞応答の研究から分子的メカニズムについて概説する。超音波の生物作用を考える上で、マイクロバブルの関与は極めて重要で、キャビテーション発生に伴うバブルの圧縮・膨張およびその後の圧潰が機械的作用を誘発する。超音波造影剤は超音波を反射する気体を含有するマイクロバブル製剤で、超音波による臨床診断の精度向上に用いられるが、キャビテーションの核としても作用し、超音波の作用を増強することが知られている。本発表では、著者ら行ってきた超音波による生物・化学的影響研究について、用いたマイクロバブルの添付効果について、時系列に従って言及する。レボビストはガラクトースを主体とし微小気泡の安定化のために 0.1% のパルミチン酸を含む造影剤であり、アルブネックスに次ぐ第 2 世代の超音波造影剤として期待されていた。これらは、キャビテーションの効率を上げることが知られていたため、微粒子であるエコスフェア、人工バブルの PVC-AN を加えて、化学効果を比較した。Ar 飽和溶液でこれらの

濃度を変えた過酸化水素生成を指標にした検討では、エコスフェア>レボビスト>アルブネックス>PVC-AN となった。但し、空気飽和条件では順位は変わった。この頃、超音波によりアポトーシスが誘発されることが判明し、レボビストを併用し調べたところ、二次的ネクロシスでは相乗的な、早期アポトーシスでは相加的増強が認められた。超音波は遺伝子導入にも利用でき、レボビスト併用により、この効率が上がることが判明した。また、アポトーシスに関するバブルの比較では、超音波郷土によっても変わるがオプチゾン>YM-54>レボビストの順であった。レボビストはまた、OH ラジカル生成のしきい強度をさげるとともに、アポトーシスに関連した細胞内の活性酸素生成、Ca²⁺濃度を増やした。遺伝子導入に対するバブルの比較では YM-54>MR-815H>レボビストの順となり、脂質殻を有するバブルの優位性を示した。遺伝子導入に対するバブルの効果はパルス繰り返し周波数に依存せず、導入効率が低い条件でこれを上げた。本邦で第 3 世代の造影剤ソナゾイドが臨床使用されるようになり、併用効果を検討したところ、OH ラジカル生成、アポトーシス関連指標を増強した。遺伝子発現変化を調べたところ、変化はキャビテーションに伴うものであった。ソナゾイドは同様の遺伝子発現を増加した。

2) 超音波照射下での気泡と細胞の相互作用：側方観察でわかったこと

工藤 信樹、磯野 朱音（北大院 情報科学）

細胞と微小気泡間の相互作用の直接観察は、ソノポレーション減少の解明に有効である。我々は、これを実現するため倒立型顕微鏡と高速度カメラを組み合わせた観察システムの開発を行ってきた。しかし、従来の観察システムでは細胞の変形を十分捉えることができないという問題があった。そこで、今回は、ソノポレーション観察用のチャンバを側方観察可能とし、高画質で長時間観察が可能な高速度カメラを用いることによって観察システムを改良し、観察を通じて性能評価を行った結果を報告する。直径 1~2・m の微小気泡が 3 個附着

した細胞に超音波パルスを 1 回照射し、気泡の膨張・収縮に応じて細胞が変形する様子を側方から高速度観察した。その結果、ゲル層の下に附着した 1 個の細胞を每秒 107 フレームの撮影速度で 256 フレーム撮影した。観察の結果、膨張・収縮を繰り返す気泡は柔軟層から離れる方向に力を受け、その力が細胞の足場への接着力よりも大きいことがわかった。また、別の 2 つの気泡は、膨張・収縮・膨張を経て複数の気泡片に分割され、これに続く収縮期には気泡があった位置に細胞膜の変形が観察された。この結果より、超音波 2 周期の間に生じる気泡のふるまいが細胞膜を損傷させ得ることがわかった。このように、開発した側方観察用チャンバと新しい高速度カメラを用いて、微小気泡と細胞の相互作用を観察した結果、ほとんど透明な細胞であっても、その高速な変化を捉え得ることがわかった。

3) 超音波セラノスティクスーリピッドバブルと超音波による癌新生血管の造影と開口による EPR 効果の亢進ー

帝京大・薬 ○丸山 一雄、小侯 大樹、Johan Unga、鈴木 亮

我々は、超音波セラノスティクスに対応する新規バブル製剤（リピッドバブル、LB）の開発を進めており、本発表では最近の実験成果を紹介し、EPR 効果の亢進による薬物送達について議論したい。LB は外殻成分がリン脂質、PEG-脂質と他の成分からなり、パーフルオロプロパンガスが内相を構成している。パーフルオロプロパンガスの保持性が良く、血中安定性の高い特徴を有し、無菌製造法・凍結乾燥製剤化法を確立した。担癌マウスに LB を静注し、腫瘍新生血管の造影を行ったところ、30 分以上の造影が可能で、ソナゾイドに比べて非常に長い造影持続時間であった。また、マウスに LB とルシフェラーゼ遺伝子をコードした pDNA とともに尾静注し、直ちに経皮的に肝臓または心臓に向けて超音波照射（1MHz）したところ、照射した肝臓または心臓部分にのみ顕著な遺伝子発現が観察された。担癌マウスに、LB とドキシソル

ビスン (DOX) を同時に尾静注し、腫瘍血管を超音波造影中に治療用超音波照射でキャビテーションを誘導すると、DOX 単独投与量 (5mg) の 1/5 で有意な治療効果を示した。また、DOX 単独投与では見られた貧血や血小板減少といった副作用を抑制することも示された。これは、LB と治療用超音波照射で腫瘍血管のオープニングが生じ DOX の移行量が増大した結果と考えられる。このように、バブルは腫瘍血管の造影と治療が可能となり、癌に対する超音波セラノスティクスの構築が可能である。血管周皮腫のイヌに対して DOXIL を点滴静注後、LB を投与し治療用超音波照射 (1MHz、2W/cm²) を 2 回照射したところ、腫瘍の縮小が認められた。この場合も LB のソノポレーションによって腫瘍血管の開口が生じ、DOXIL が血管外に放出され、EPR 効果の亢進の結果と考えられる。

4) 強力超音波音場における音響キャビテーション・バブルの挙動の観測

桐蔭横浜大・医用工学・臨床工学 ○竹内真一
超音波洗浄機の水槽内や高密度集束超音波 (High Intensity Focused Ultrasound) 治療装置に用いる集束超音波トランスデューサの形成する集束超音波音場の焦点近傍のような音響キャビテーション・バブルの発生を伴う強力超音波音場内におけるキャビテーション・バブルの挙動をソノケミカルミネセンスや高速ビデオカメラ、微粒子画像流速計 (Particle Image Velocitometry PIV)、超音波診断装置を用いて観測した。さらに当研究グループで開発中の堅牢型マイクロホンを強力超音波音場に設置した場合に、マイクロホンがキャビテーション・バブルの挙動に及ぼす影響やキャビテーション・バブルがマイクロホンからの出力波形に及ぼす影響を観測した。本稿では、これらの観測データの一部として、集束超音波音場の焦点近傍におけるキャビテーション・バブルの挙動を PIV で観測した結果と焦点に設置した堅牢型マイクロホンにおよぼす音響キャビテーションの影響について記述する。

まず、強力超音波音場における音響キャビテーション・バブルの観測を目的として、開口直径 100mm、焦点距離 100mm の集束形超音波振動子が水中に形成する集束超音波音場の焦点付近に生成するキャビテーション・バブルの挙動を PIV システムで観測した。超音波の伝搬に沿ってキャビテーション・バブルによる流線を観測でき、特に集束音場の周辺部分に多数の軌跡が存在することがわかった。また、中心軸に沿って生じる音響流によって渦流が発生し、音場の外側に向かって回転する挙動を示しているものと考えられる。

また、開口直径 80mm、焦点距離 50mm の集束音場の焦点に直径が 3.5mm の堅牢型マイクロホンを設置して、キャビテーション・バブルの挙動と堅牢型キャビテーションの出力波形を同時に計測した。出力波形にキャビテーション・バブルによる変化が生じたことをコンパレータで検出すると LED が発光して、高速ビデオカメラに写り込むようにしてある。この時、マイクロホン先端付近に存在する大きな気泡が、マイクロホンの先端に衝突し、モニタ用の LED が点灯した。その後 この気泡はマイクロホン先端の受音面を移動する。このとき、集束形振動子が発生する 1 MHz の波形上にキャビテーション・バブルの衝突による周波数の高い波形が重畳され、トリガ信号が ON する。以上の結果から、キャビテーション・バブルがマイクロホンの受音面に衝突するとマイクロホン出力波形に高周波のパルス状の変化が出現することがわかった。

5) ファインバブルサイエンスのトレンド

慶応大理工 ○寺坂幸一

著者は、ファインバブルに関連する学協会またはその学協会内の部会、分科会、研究会などの専門家組織を横断的に連携することによって、ファインバブルを専門的に扱う研究者の交流や協力の促進を図り、ファインバブルサイエンス (科学) およびテクノロジー (技術) の発展に寄与することを目的として積極的な活動を行っている。これまで、1982 年に日本混相流学会 (日本学術会議混相流小委員会 (当時))、1984 年に化学工学会の粒子・流

体プロセス部に気泡・液滴・微粒子分散工学分科会（気泡塔研究会（当時））、1992年に日本ソノケミストリー学会（ソノケミストリー研究会（当時））、2008年に化学工学会 反応工学部会 反応場の工学分科会設立、2012年に一般社団法人ファインバブル産業会（FBIA）が設立され、これらのファインバブル関連組織を連携するために、著者が中心となって2015年にファインバブル学会連合が設立された。また、ファインバブルの考え方（基礎技術から応用技術まで）を啓蒙し、するために教育と国内産業への普及を諮るために、ファインバブル入門書・テキストを発刊してきた。本講演では、著者のファインバブルサイエンスに関する活動と関係する国内（11県2市1町が参加しているファインバブル地方創生協議会の状況）及び国際的な状況（ファインバブルの国際標準規格（ISO）および国際標準化機構 ISO ファインバブル専門委員会（TC281）の状況）についても紹介があった。

6) ウルトラ・ファイン・バブルを使った医療用超音波イメージングの新展開

福岡大学・医学部 ○立花克郎

我々が独自に作製したウルトラ・ファイン・バブルの超音波造影効果を従来のマイクロバブル超音波造影剤；ソナゾイド（第一三共）と臨床で使われている超音波画像診断装置で比較し、今後の生体への応用・実用化に向けての基礎的な検討をした。ウルトラ・ファイン・バブルは超高速攪拌法で作成した。2ミリ容器本体に溶液を満たし、パーフルオロカーボンを充填させ、加圧した状態で密閉容器を高速細胞破碎システム（Precelly、Bertin Technologies社）で超高速攪拌した。

回転数は6500 - 10000 rpm で30秒間、4フェーズで作成した。ウルトラ・ファイン・バブルは0.006% アルブミン・RPMI1640の溶液であった。ナノバブル測定装置（NanoSight）でバブルの大きさを測定し200-600nm 径の粒子が認められた。超音波画像は2本の血管モデルチューブ（5mm径）が平行に挿入されている *in vitro* 血管流体ファントムで構築し、超音波画像装置を用いてリアルタ

イムで観察した（LOGIC E9、GE Healthcare、L8-18iプローブ、8~18MHz）。シリンジポンプを用いて書くtyー部に一定速度（1.5mL/min）でアルブミン・ウルトラ・ファイン・バブルとソナゾイド（0.0004・L MB/mL）を満たした。超音波プローブからの同一の超音波照射下で各造影剤を対比させながら超音波診断装置 GE Logic E9 で観察した。リアルタイムの frame rate 23Hz ではウルトラ・ファイン・バブルの視覚化は困難であった。一方、ソナゾイドによる造影効果は高く認められた。間欠送信で得た画像（frame rate 1Hz）でソナゾイドよりもウルトラ・ファイン・バブルの方がはっきり視覚化でき、鮮明に確認できた。また、ウルトラ・ファイン・バブルによるチューブ内腔を均一に染色し、境界の描出に高い所見が得られた。ウルトラ・ファイン・バブルによる造影超音波は、高度な狭窄や血栓・プラークなどの微細な構造の血流情報の検出に利用できる可能性がある。

7) 固体粒子洗浄では得られないファインバブルを用いた洗浄効果の促進

高知高専 ○秦 隆志、西内悠祐、慶応大理工 寺坂宏一

ファインバブルの洗浄機構に関してはいまだ明確に解明されていない点も多く、その解明をもって更なる循環型社会を担う洗浄技術への成熟が期待できる。そこで本研究では、リサイクル産業でのリサイクル品に付着した塩分や、沿岸部において飛来する海塩粒子の除去に効果を示しているファインバブル洗浄の作用機構解明を目的に検討をおこなった。10wt% 食塩水を3cm四方に裁断したアルミホイルに塗布し、24時間乾燥させて固着塩を模擬した試料片とした。実験は攪拌機羽に試料片を固定し、イオン交換水（コントロール水）と種々の濃度に希釈したファインバブル水の中でそれぞれ攪拌洗浄（80rpm）をおこない、除去評価としては洗浄水中の電気伝導率を経時測定した。電気伝導率の増加から溶液中に除去溶解された塩濃度を算出することができる。なお、ファインバブルの粒度分布・数密度測定にはブラウン運動を解析する粒

子追跡法とレーザー解説法を用いた。

洗浄環境に導入したファインバブルは約 200nm 付近 (ウルトラファインバブル) と約 2mm 付近 (マイクロバブル) の粒度分布を持ち、加水によって調整した数密度で実験をおこなった。マイクロバブルを含むファインバブル水において、洗浄効果 (除去率) はコントロール水に比べて高く、また、その洗浄効果はファインバブル濃度に依存することが確認された。これは、固着塩へのファインバブルの物理的な接触回数がバブル濃度によって異なることに寄与すると考えられる。更に、ウルトラファインバブルのみの系においてもコントロール水に比べて洗浄効果は向上している。この効果を検討するため、高速度カメラを用いて攪拌時の試料片表面におけるファインバブルの内、マイクロバブルの挙動を可視化観察した。マイクロバブルが試料片表面に付着し、表面を滑っていく様子が確認された。マイクロバブルにおいてはこのような物理的な接触効果が大きく寄与していると推測され、ウルトラファインバブルにおいてもその微小性からカメラでは捉えることができないが同じような作用が関与している可能性がある。

8) ファインバブルの発生技術開発と応用利用に向けた基礎検討

鹿児島大・工 ○五島 崇、三井 晋

本研究室では、これまでに各種分野でのファインバブル(

FB) 利用の普及を目指し、FB 発生器を複数開発しシリーズ化を図ってきた。そこで本研究では、開発した FB 発生装置を用いて UFB と不純物を識別する方法を提案し、UFB の生成挙動を明らかにすることを目的とする。また、MB については、蓄気室内圧力の振幅と周波数を能動的に制御する装置を設計し、外部からの液駆動を用いずにノズルから MB を発生させる装置の開発について報告する。

UFB と不純物を識別するため 3 種類のサンプル S①~③を調整した。S①は、ガラス容器に 200mL の脱イオン水を入れ、Branson 社製のホーン型超音波装置 (Ti 合金製振動子) を用いて超音波を照射し

た。20kHz、出力 56.7W にて 30 分照射した後、数 mm 以上の大粒子を除去するために処理水を 3 日間静置した。S②は、開発した FB 発生装置を用いて、モデル不純物として 20nm 金属粒子を脱イオン水に所定量添加し一定時間循環運転を行った後、1 日間静置した。S③は、研究室で製作した洗浄器型超音波装置を用いて、200mL の脱イオン水を 22kHz、出力 30W にて 30 分照射した後、3 日間静置した。UFB と粒子の大きさと数は、レーザー回折式粒度分布測定装置 (SALD-7500nano、(株)島津製作所) とパーティクルトラッキング式粒度分布測定装置 (ナノサイト LM-10、○バーン社) を用いて計測した。ナノサイトの計測により得られる光散乱強度分布について、モード径近傍 ($\pm 20\text{nm}$) のプロットを抽出し、光散乱強度を規格化した。また SALD-7500nano については粒子分析用の屈折率を用いて液中に存在する不純物の個数密度を推定した。ナノサイトの個数密度と規格化した光散乱強度分布および SALD-7500nano で得た不純物の個数密度を総合的に評価して UFB と不純物を識別した。測定結果に基づき UFB の生成挙動と安定化機構を推定した。結果は安井らが提唱する動的平衡説を裏付けており、UFB は液中に存在する不純物の吸着により分散安定化すると考えられる。

第 4 回

主催 日本超音波医学会・超音波分子診断治療研究会

日時：平成 30 年 3 月 3 日 (土) 13:30-17:20

会場：福岡大学医学部臨床大講堂 (病院内)

特別講演

1) オゾン・ウルトラファインバブル水の基礎的性質と歯科的臨床応用

荒川真一 (東京医科歯科大学大学院 生涯口腔保健衛生学分野)

オゾン水は、生体に対する安全性が高くかつ殺菌能があり、食品の洗浄等に広く利用されている。しかし、オゾン水には生成後約 30 分間で酸素濃度が半減するという欠点があった。一方、オ

ゾン・ウルトラファインバブル水 (OUIBW:旧オゾンナノバブル水) が開発され、冷暗所保存でオゾン水の優れた特質を長期にわたり維持することが可能となった。

本講演では、OUIBW の抗微生物作用、生体に対する安全性といった基礎的性質、さらに歯科領域での臨床応用として、歯周治療、インプラント周囲炎治療へ応用した結果を概説する。また、最近得られたデータを基に OUIBW の生体細胞に対する作用機序などについても考察したいと考える。

2) ウルトラファインバブルの医療応用へ向けての技術的課題とその克服方法

立花克郎 (福岡大学医学部解剖学講座)

近年、ウルトラファインバブルの医療への応用が注目されている。我々は密閉型の小型容器と新しい高速攪拌精製法を組み合わせることで、無菌状態・少量・高濃度の医薬品ウルトラファインバブル (UIB) の生成に成功した。我々の生成した UIB (200-500 nm) の大きさ、濃度、重さを正確に測定するためにナノ粒子レーザー解析システム (Nanosight)、ハイパフォーマンスコンパクトフローサイトメーター CytoFLEX、共振式質量・粒子径計測システム (Archimedes) を用いた。これらの測定方法を比較検討してその長所と短所を検討した。

3) 開発研究から見た超音波分子診断治療を取り巻く現状～マイクロバブル開発を中心に～

鈴木 亮、小俣大樹、丸山一雄 (帝京大学薬学部)

近年、超音波とマイクロバブルを利用した薬物送達法の開発が行われている。これは、マイクロバブルの振動や圧壊に伴い、血管透過性が亢進することを利用した方法である。現在では、抗がん剤とマイクロバ

ブルを投与し、脳腫瘍や膵臓がんなどのがん組織に超音波照射するがん治療が臨床研究で進められている。多くの場合、既存の超音波造影用マイクロバブルが転用されているが、十分な治療効果が得られているとは限らない。治療効果の増強には、超音波照射条件やマイクロバブルなど様々な条件を最適化する必要があると考えられている。残念ながら、マイクロバブルの開発研究は下火になってしまい治療用マイクロバブル開発はほとんど行われていない。そこで我々は、治療のためのマイクロバブル製剤の開発を進めている。本発表では、超音波分子診断治療を取り巻く現状に関して、我々のマイクロバブル開発研究での経験を交え概説する。

一般演題

1) ソノポレーション基礎検討のための電界誘起法による微小気泡発生手法の開発

常世 晶、工藤 信樹 (北海道大学 大学院情報科学研究科)

我々は、微小気泡とパルス超音波を用いた細胞への薬剤・遺伝子導入手法であるソノポレーションについて基礎的な検討を行っている。微小気泡としては、超音波造影剤が広く用いられているが、径のばらつきが大きく、細胞に付着する気泡の大きさや個数を制御できないため、ソノポレーション条件を一定に保つことが難しかった。そこで本検討では、2本の電極間に電圧を印加することで気泡を発生させる電界誘起法を用いて、径のばらつきが小さい気泡を1個単位で作製する手法を開発し、シェルや薬剤付加の可能性について検討した結果を報告する。

2) 高速攪拌によるファインバブル作成の最適条件探索のための数値計算

松隈洋介 1、内山弘規 1、立花克郎 2、渡邊晶子 2

(1. 福岡大学工学部化学システム工学科 2. 福岡大学医学部 解剖学講座)

格子ボルツマン法を用いて容器内の二相流に外力を与えて攪拌する様子を計算した。細長い気体の柱が分裂して複数の微小気泡が生じる過程を観察し、加振方法の違いによる内部流動の違いを確認した。また、気泡の生成を定量的に評価する新たな指標をとって界面の長さを提案し、界面の時間変化を測定した。その結果、縦方向に発信した場合の界面長さが最も長いことがわかった。さらに、初期の気体と液体の体積比を変化して計算を行った場合、界面の長さは気液比が 1:1 の場合が最も長く、この結果は定性的に実験結果と一致した。

3) ウルトラファインバブル超音波造影効果の音響学的な検討

渡邊晶子 1、Hong Sheng¹、遠藤日富美 1、Loreto B. Ferill、入江豊 1、神山直久 2、立花克郎 1 (1 福岡大学 医学部 解剖学教室 2 GE Healthcare)

従来のマイクロバブル超音波造影剤の 1/10 の大きさであるウルトラファインバブル (UFB) は、複雑で微細な構造に入り込み、より精緻な画像を取ることが期待できる。UFB を用いた超音波造影イメージングのために、送信周波数、送信音圧、送信間隔などの超音波照射パラメータと造影効果との関係性について検討した。時間トリガーでの超音波の間歇送信 (フレームレート $\leq 1\text{Hz}$) を使うことで、UFB 造影剤からの音響信号が増大した。特定の送信周波数に限定して音響信号が増大したことから、UFB 造影剤は照射超音波に対する周波数依存性を持つ可能性が示唆された。高度な狭窄や血栓・プラークなどの微細な構造の血流情報の検出に UFB が利用できる可能性が示唆された。

4) 有害有機溶媒を用いないナノデバイス創製

三島健司 1,2 (1. 福岡大学工学部 化学システム工学科 2. 福岡大学複合材料研究所)

脂質、高分子、気体は、ナノデバイスとしての利用が期待されている。ナノデバイスは、その構造より生体適応性が高く、優れた薬剤送達能を示すが、調製の際にクロロホルムやメタノールなどの有害な有機溶媒を大量に使用するため、より人体に優しい製造方法の開発が求められている。当研究室では、二酸化炭素を超臨界流体とすることで、多くの高分子系ナノデバイスを開発してきた。今回、機能性溶媒として二酸化炭素を用いることで、これらのナノデバイスの開発方法について実験的に検討した。

5) 超音波/ナノバブルによるアポ A-I 模倣ペプチドの多面的機能促進

川内絵未 1,2、今泉聡 1,2、渡邊晶子 3、辻山理加 1,2、岡崎優子 1,2、西川宏明 1、上原吉就 4、三浦伸一郎 1、朔啓二郎 1、立花克郎 3

(1. 福岡大学医学部 心臓・血管内科学 2. 福岡大学医学部 医学系研究 生命医療倫理部門 3. 福岡大学医学部 解剖学講座 4. 福岡大学スポーツ科学部)

善玉コレステロール HDL 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、HDL を自己形成するアポ A-I 模倣ペプチド (FAMP) を開発し、FAMP が HDL と同様のコレステロール引き抜き能や抗動脈硬化作用を有し、動脈硬化巣のイメージングに応用できることを報告している。本研究では超音波/ナノバブルを併用することで、更なる FAMP の機能の増強を目指している。その結果、超音波/ナノバブルによる FAMP のコレステロール引き抜き能の増強が確認された。さらに、野生型マウスと動脈硬化モデルマウスの血管に超音波を照射しナノバブル FAMP の挙動を追ったところ、血管へのナノバブルの集積を確認した。本研究を進めることにより、動脈硬化性疾患の治療へ応用が期待できる。

6) ファインバブル生成に及ぼす加振方法の検討
内山弘規 1、松隈洋介 1、立花克郎 2、渡邊晶子 2

(1. 福岡大学工学部 化学システム工学科 2. 福岡大学医学部 解剖学講座)

少量の液体にファインバブルを生成させる新たな手法として、垂直、水平それぞれに、高速で加振可能な装置を試作した。ファインバブル生成におよぼす水溶液の濃度、気液体積比率、加振方向について検討した。生成したファインバブルの気泡径分布、および平均気泡径を求めた。高速度撮影を行い、気液界面の挙動も観察した。その結果、水平方向よりも垂直方向に加振したほうが、気液が激しく混合し、平均気泡径は小さくなることがわかった。また、本実験条件下での平均気泡径は、約 40 μm 以下であることが明らかになった。

7) 多色深部イメージングを利用した超音波応答型遺伝子送達システムの開発

川上 茂、三浦雄介、小川 昂輝、植木 郁花、西村 光洋、淵上由貴、萩森政頼

(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、マウス組織に対する多色深部イメージング法を開発し、超音波応答性ナノバブル製剤の利用や組織吸引圧法といった外部刺激応答型 DDS における遺伝子送達・発現の組織内空間分布特性を明らかにすることに成功した 1-5)。また、リポソームやナノバブルの高機能化を目的とした、高機能・高品質脂質 (Highly Functional and Quality (HFQ) 脂質) の開発を行っている 6)。本研究会では、マウス脳、腹膜組織、固形がんを対象とした多色深部イメージングを利用した超音波応答型遺伝子送達システムの開発ならびに HFQ 脂質による標的指向化戦略に関する研究成果について発表を行う。

参考論文等 : 1) Drug Deliv, 24, 906-17 (2017), 2) Drug Deliv, 24, 737-744 (2017), 3) Drug Deliv, 24, 320-27 (2017), 4) Int J Nanomed, in press, 5) 特願 2017-30702, PCT/JP2018/6564, 6) Int J Pharm, 521(1-2), 361-64 (2017)