

# 公益社団法人日本超音波医学会令和6年度超音波分子診断治療研究会抄録

代表:吉澤晋(東北大学)

## 第1回

日時:2024年8月2日(金)13:00-17:20

会場:北海道大学(札幌市)

共催:日本超音波医学会 基礎技術研究会, レーザー学会 光音響イメージング技術専門委員会

### 2024-01 超音波照射による線虫の酸化ストレス耐性獲得メカニズムに関する研究

平井三四郎, 市川寛, 秋山いわき(同志社大)

酸化ストレスの原因である活性酸素は生体内のいたるところで産生され、過剰になることで酸化ストレスを引き起こす。酸化ストレスは認知症や糖尿病のような老化関連疾患や寿命への影響に関与しており、これらを予防・延伸するためには生体の抗酸化能の向上が必要である。そこで本研究では、線虫モデルを用いて、超音波照射による線虫の寿命や抗酸化能への影響を調べた。一辺35 mm, 周波数2 MHzの平面型振動子から距離70 mmの位置に培養皿を設置し、皿が浸かる高さまで常温の脱気水を注ぎ、超音波を照射した。その結果、線虫の寿命が延長し、抗酸化能が向上することを確認した。さらに本研究では超音波照射による抗酸化能向上のメカニズムについても焦点を当てたところ、機械感受性イオンチャネルであるPiezo1が関わっていることが確認された。

### 2024-02 超音波を用いたサルコペニア予防法の開発～酸化ストレスの観点から～

丹羽良介, 市川寛, 秋山いわき(同志社大), 南山幸子(京都府立大)

[目的] 酸化ストレス関連疾患の一つであるサルコペニアに対し、我々は、体表の一部に超音波を照射することにより生体内抗酸化能を向上させることでサルコペニアの予防が可能であることを、動物実験モデルを用いて明らかにしてきた。この結果は、体表の一部に超音波を照射した場合に、非照射部位である遠隔の臓器に抗酸

化能誘導作用が認められることを示している。本研究は、超音波照射により細胞から抗酸化能を誘導させる物質が血中に放出されると仮定し、そのメカニズムについてin vitroで検討した。

[方法] ヒト表皮角化細胞(HaCaT)に超音波照射( $I_{SPTA}=0.47\text{ W/cm}^2$ , 10 min)後、照射10分後に回収したコンディションメディウムを超音波非照射のマウス骨格筋細胞(C2C12)に添加し、24時間後および48時間後にマウス骨格筋細胞の細胞内一重項酸素消去活性および過酸化水素消去活性を測定した。さらに、各種活性酸素消去物質などを用いて、抗酸化能誘導物質の超音波照射による細胞外放出メカニズムについて検討した。

[結果] ヒト表皮角化細胞に超音波照射をした後のコンディションメディウムをマウス骨格筋細胞に添加した際、超音波照射を行っていないにもかかわらず、マウス骨格筋細胞の抗酸化能誘導作用が確認された。また、超音波照射後にコンディションメディウムを除去した後のヒト表皮角化細胞では24時間後の抗酸化能誘導効果が認められなくなった。

[結論] 超音波照射により誘導される抗酸化能増強メカニズムは、超音波による直接的な刺激によるものではなく、超音波照射により細胞外へ放出される抗酸化能誘導物質によるものであることが示唆された。

### 2024-03 超音波を用いた生体内軟骨組織の音速測定に向けた基礎検討

新田尚隆, 鷺尾利克, 疋島啓吾(産業技術総合研究所)

音速は、変形性膝関節症等の軟骨疾患の評価指標として非侵襲測定が期待されている。しかしながら、軟骨内には強散乱点が存在しないため、従来の手持型プローブを用いたフォーカシング法では軟骨内の音速を求めることができない。そこで本研究では、設定音速を変化させながら全開口による送信フォーカシングを行い、

軟骨下骨表面から擬似的な点散乱波を発生させ、受信したチャンネルデータに対してフォーカシング法を適用する音速測定法を提案した。提案手法の実現可能性を検証するため、音速の異なる複数の軟骨ファントムを用いた実験を行った。その結果、提案手法は、音速の差異を精度よく捉えることが可能であった。

#### 2024-04 改良型第3世代アンチバブルに対する超音波照射

佐々木東, 工藤信樹, 滝口満喜(北大)

アンチバブルは、内部に液胞を含むマイクロサイズの気泡である。気泡としての特性を保ったまま、内部に薬剤を封入できる可能性を持つため、超音波と組み合わせることでドラッグデリバリーシステムになりうると考えられている。これまでの第3世代では超音波照射に対する応答性に改善の余地があった。今回は第3世代アンチバブルの組成は変更せずに、粒子径と液胞の搭載効率を下げた改良型第3世代アンチバブルでの基礎検討を報告する。4種の改良型アンチバブルのうち1種は超音波への応答性が著しく改善しており、発展性に期待したい。今後はドラッグデリバリーの可能性検討へと進んでいきたい。

#### 2024-05 マルチスケール QUS 評価を目的としたポータブル POC システムの構築

長岡未唯(千葉大), Jonathan Mamou, Cameron Hoerig (Weill Cornell Medicine), 平田慎之介, 吉田憲司, 山口匡(千葉大)

これまで各種の生体組織の性状を超音波で定量的に評価するために、臨床レベルから超高周波帯までの超音波で同一の生体組織の物理特性を評価する検討を進めてきた。また、それらの検討の中で、複数の QUS 法や治療応用、マルチモダリティの融合検討なども行っている。QUS 法と音響特性の検討をブリッジするためには、広い周波数帯での散乱特性と音響特性をリンクする必要があるが、広範囲の周波数帯を網羅した検討が十分に行われていない状況である。また、現在あるシステムでは数十 MHz の高周波数帯と数百 MHz 以上の超高

周波数帯で高感度に生体組織を計測することが困難という問題があり、さらに、今後ヒト組織を対象とした検討に応用する際には、手術室への持ち運びや複数の場所での実験を行うために、簡易かつ可搬型のシステムが必要である。そこで散乱や減衰を評価する QUS と音響特性評価を一元的に行うこと可能にすることを目的として、広範囲の周波数帯に対応可能なポータブル型の POC システムを構築した。

#### 2024-06 機械的バースト加振せん断波ビスコエラストグラフィにおけるせん断波伝搬速度の揺らぎの検証

齋藤慎一郎, 小林翔, 菅幹生, 吉田憲司, 山口匡, 平田慎之介(千葉大)

本研究では、せん断波伝搬速度 (SWS) の周波数特性を評価できる手法の開発を目的として、任意周波数のバースト波で駆動される外部加振器を用いて生体内にせん断波を励起する機械的バースト加振せん断波ビスコエラストグラフィ (MBE-SWVE) を提案している。これまでに肝臓を模擬した粘弾性ファントムを対象として、MBE-SWVE により SWS の周波数特性評価が可能であることを確認している。しかしながら、ファントム内の粘弾性は均一であるにもかかわらず、計測した SWS に縞模様状の揺らぎが生じることも確認された。本発表では、SWS が揺らぐ原因について検討した結果を報告する。

#### 2024-07 リンパ節腫脹モデルマウスの超音波定量解析と微細血流イメージング

大村眞朗(富山大), 前田一伎, 小玉哲也(東北大), 吉田憲司, 山口匡(千葉大)

摘出や体内リンパ節を対象とした超音波定量解析において、散乱係数解析によりリンパ節のがん転移の有無を8~9割の正診率で診断できている。散乱係数解析の過程で組織の減衰補正を行うが、患者ごとのリンパ節の減衰係数を0.5 dB/cm/MHz一定と仮定し、そのばらつきを考慮できていない。本研究ではリンパ節腫脹モデルマウスにおいて、腫瘍成長に伴う減衰係数の傾向を *in-vivo* で3次元的に確認するとともに、音響特性や病理構造も踏まえた組織性状の考察を行う。また、転移リンパ

節の早期診断指標として、還流欠損が着目される。これまでにマイクロ CT による血管分布の 3 次元可視化や超音波 B モード像による還流欠損部の面積の定量評価を行っている。本研究で新たに RF データを用いたクラッタフィルタ、動き補正、超解像イメージング処理を検討し、脈管分布の鮮鋭化や高コントラスト化がどの程度可能かを評価した。

#### 2024-08 炎症性血管の進行の評価に向けた光音響信号の周波数パラメータ分布の評価

鈴木陸, 板谷信行, 萩原嘉廣, 石井琢郎, 西條芳文 (東北大)

関節炎初期に生じる血管新生では、直径 10-200  $\mu\text{m}$  程度の微小血管が増生し、その径や長さ、本数が経時的に変化すると報告されている。我々の研究グループではアニュラレイ光音響イメージングシステムの開発を進め、表在微小血管網の選択的かつ高精細な可視化を達成し、測定対象の径を精細に抽出することが可能となった。そこで、現在、血管径の定量評価法の確立を目的とし、受信された光音響信号の周波数解析手法を検討している。本発表では、光吸収体の径と周波数の関係について、数値シミュレーション、ファントム試験、ヒト皮膚微小血管イメージングに加え、関節炎を発症したラットを対象とし、解析された光音響信号の周波数パラメータ分布を評価することで光吸収体の径が識別できる可能性について報告する。

#### 2024-09 下部尿路流動可視化のためのベクターフローイメージングフレームワークの開発

石井琢郎, 西條芳文 (東北大), Hassan Nahas, Billy Yiu, Alfred Yu (University of Waterloo)

下部尿路症状に関する下部尿路の機能的評価や、治療による流路性状変化のモニタリングのため、下部尿路内の流れの振る舞いの詳細な可視化が期待されている。従来のカラードプラー法を含む検査技術では、排尿中の尿道内における高速で動的かつ非周期的な流れの時空間変動を定量的に捉える事は困難であった。こうした課題を解決するため、発表者らは前立腺肥大症を

有する男性下部尿路を対象流路とし、超音波造影剤を含む生理食塩水の流れイメージングを想定した排尿流動態ベクターフローイメージングフレームワークを構築した。リニアアレイプローブを用いて異なる2つの送信方向に平面波ビームを交互送受信し、複数の受信ステアリング角度を用いて Tx-Rx 角度の組み合わせ毎にビームフォーミングおよびカラードプラーデータを生成した。つぎに Extended Least-squares Vector Doppler 法を用いて、エイリアシングノイズを自動補正しながら流速ベクトル場を推定した。さらに、12 角度の Multi-angle 平面波シーケンスを流れイメージング用の送受信中に間欠的に挿入して取得し、B-mode 画像を流れ情報と同時に取得した。最後に Vector Projectile Imaging 法に基づき動的かつ非周期的な下部尿路の臓器運動と排尿流動態を可視化した。本手法の有効性を可変形下部尿路模型による実験と前立腺肥大症を有する下部尿路の in vivo イメージングによって確認した。

## 第 2 回

日時：2024 年 10 月 26 日 (土) 13:30 - 16:00

会場：同志社大学 (京都市)

#### 2024-10 Histotripsy の治療効率向上を目的とした衝撃波散乱気泡クラウドの連続的生成

吉澤晋, 高橋和希, 森中直也, 森翔平 (東北大学)

HIFU 治療において、キャビテーション気泡は従来の加熱治療を増強するだけでなく、化学的効果を主たる治療機序とする Sonodynamic therapy, 機械的効果を主たる治療機序とする Histotripsy を可能とする。2023 年 10 月に Histotripsy の機器が肝腫瘍焼灼機として FDA から承認されたこともあり、最近軟部組織を破砕して治療する Histotripsy 治療が注目されている。Histotripsy 治療では、時間あたりの治療効率に課題があり、これに対しては高い PRF で短いパルス照射することで治療のスループットを上げる方法が採用されることが多い。一方でパルス照射あたりの気泡量を増加させることができれば、それも治療のスループット向上につながると考えられる。そこで本研究では、気泡領域拡大による Histotripsy の

治療スループット向上を目的とし、電子走査によって HIFU 焦点を高速に走査し、キャビテーション気泡クラウドを連続的に生成する手法について検討を行った。

#### 2024-11 各種ガスが封入されたウルトラファインバブルの形態比較検討

立花克郎, 貴田浩志(福岡大学)

マイクロバブル超音波造影剤は臨床の場で多く使われている。近年、ウルトラファインバブル(ナノバブル)が次世代の造影剤、治療促進剤として注目されている。しかし、ナノバブルの物理特性はまだ未解明の部分も多く、特に封入ガスの種類の検討はされていない。本研究では  $C_3F_8$ ,  $CO$ ,  $H_2$ ,  $He$ ,  $O_2$  を封入したナノバブルの物理特性を測定し評価した。

#### 2024-12 抗がん剤デリバリーによる放射線増感作用の検討

佐々木東, 蔵田智美, 工藤信樹, 滝口満喜(北大)

超音波とマイクロバブルの併用により放射線増感剤を腫瘍局所にデリバリーすることで、放射線の治療効果増強が果たせるかもしれない。本報告では脳腫瘍に対する放射線増感技術の可能性探索として、*in vitro* の 3 次元培養系で抗がん剤デリバリーと放射線増感効果の関連性を検討した。水溶性抗がん剤としてシスプラチン、脂溶性抗がん剤としてテモゾロミドをデリバリーし、0, 1, 2, 5, 10 Gy で X 線照射した。細胞生存率は、一部で統計学的有意差をもって、抗がん剤デリバリーと X 線照射併用群が最も低くなった。しかし、増感比を算出するほどの効果は確認できなかった。超音波とマイクロバブルによるドレッジデリバリーにより放射線の効果を相加的に増強させる可能性が示された。

#### 2024-13 メダカ胚における GFAP 遺伝子の発現に関する研究

森山祐吏, 土門匠, 大西歩葉, 高柳真司, 池川雅哉, 秋山いわき(同志社大), 日下部りえ(関西大), 上野智弘(京都大), 岩崎了教(エービー・サイエックス研究所), 吉岡正裕(産業技術総合研究所計量標準総合センター)

我々は、超音波照射が生物の発生に与える影響について研究している。我々の先行研究では、メダカ胚に超音波を照射することによって、孵化時間が短縮することや、神経系タンパク Glial fibrillary acidic protein (:GFAP) の発現量が上昇することを確認している。GFAP は中間系フィラメントの 1 つで、アストロサイト細胞質における細胞骨格の重要な構成要素として、構造の保持、酵素や細胞小器官の足場、細胞外環境の機械的刺激の感知などの役割を担っているタンパク質である<sup>1)</sup>。本研究では、メダカ胚の発生過程における GFAP の発現の局在を、ホールマウント *in situ* ハイブリダイゼーション(:WISH)法を用いて検出した。その結果、どの発生過程においてもメダカ胚の脳や神経管に発現の局在を確認した。今後は、発生過程における GFAP の局在を、超音波照射メダカ胚と無照射胚で比較し、超音波が生物の発生に与える影響を検討していく。

1. Messing A, Brenner M. GFAP at 50. ASN Neuro, 12: 1759091420949680, 2020.

#### 2024-14 空中超音波照射による人の血中抗酸化能に及ぼす影響

松下麗花, 市川寛, 伊藤希々花, 松本葵, 丹羽良介, 秋山いわき(同志社大)

本研究は、超音波(US)照射により生体の酸化ストレス耐性を誘導することにより、抗酸化能の低下を認められる多くの老化関連疾患の予防法に繋げるための基礎データを収集することを目的としている。ヒトに空気中で US を照射し、抗酸化能変動について検討したため、報告する。

被検者の顔面を含む上半身(T シャツ着用)に対し空気中で US を前方 1 m および後方 1 m より同時に 10 分間照射する。US 照射前および US 隔日照射 7 日目の照射より 24 時間経過後の 8 日目に血液(10 ml)を採取し、血清をサンプルとして供する。US 照射には中心周波数 40 kHz の振動子(村田製作所製 MA40S4S)を用いる。その他の条件は、音圧 0.51 Pa, バースト波は繰返し周波数 10~100 kHz, デューティ比 10~50 %とする。また、本システムでは US の往復時間は 3 ms となる。

得られた血清サンプルに対し、光照射により一重項酸素( $^1\text{O}_2$ )を発生させ、SOAC 法にて、消去活性を測定する。抗酸化能の変化は、US 照射前後で比較検討する。

### 第 3 回

日時：2024 年 12 月 11 日(金)

会場：大学コンソーシアム富山（富山市）

共催：日本超音波医学会 基礎技術研究会、千葉大学  
マルチスケール QUS 研究会

#### 2024-15 血液粘性推定に向けた流体の速度分布形状の評価

湊川結太, 大村眞朗, 長岡亮, 長谷川英之(富山大)

血液粘性は心血管系の診断に有用な指標であり、ヘマトクリットや赤血球凝集に関係する。これまでに、超音波後方散乱法による先行研究では、赤血球凝集状態に血流流速やずり速度が関わる事が示されている。本研究では超音波による血液粘性推定に向け、血流速度の分布形状を評価する。ハーゲン・ポアズイユ流れを再現した有限要素法シミュレーションを構築し、複数の流入条件で得られた速度分布形状を評価し、安定的な解析条件を検証した。さらに、赤血球凝集や血液粘性の違いが速度分布形状に及ぼす傾向について、ブタ赤血球の実測データにおいて同手法による評価を行った。

#### 2024-16 高周波超音波を用いた仔ウサギ脳の微小血管イメージングにおける動き補償効果の検討

杉浦諒(富山大), Magnus Cinthio, David Ley (Lund University), 大村眞朗, 長岡亮, 長谷川英之(富山大)

高分解能を特徴とする高周波超音波は微小血管イメージングに適しているが、微弱なエコー信号を平均化することで特徴を抽出するため、動きの影響を受けやすい。本報告では、微小血管イメージングにおける動き補償効果の検討を行った。本研究では、Vevo F2 の UHX46 トランスデューサーを使用して、平面波伝送により仔ウサギの脳を覚醒下で計測した。本手法では、スペックルトラッキングを使用して、2 フレーム間の相関を計算し、この相関値が最大になる変位を推定することで、動きの変位を

推定する。特異値分解ベースのクラッタフィルタにより血球からのエコー信号を抽出し、パワードプラ法により微小血管を可視化した。動き補償は、画像信号をレンジ方向とラテラル方向の両方向で5つのブロックに分割し、それぞれの動き情報を用いて平行移動することにより動き補償を行う。その結果、微小血管をイメージングした一部の領域で振幅値が増加し、心臓の拍動や呼吸による脳位置の移動が補償され、微小血管イメージングの精度向上が示された。

#### 2024-17 膀胱シミュレーターを使用した膀胱内 Vector Flow Imaging の検討

佐々木東, 工藤信樹, 滝口満喜(北海道大)

血流の可視化法として種々の Vector Flow Imaging が超音波診断装置に実装され始めている。生体には心血管系以外にも、内部に液体を貯留し流れが生じうる臓器として膀胱がある。そこで、既存の超音波診断装置に搭載されている Vector Flow Imaging 技術が膀胱に応用できないかを探索した。膀胱内エコー観察用シミュレーター内に水、もしくは超音波造影剤を混ぜた水で流れを作り撮像を行ったところ、超音波造影剤を併用することでシミュレーターに入る流れの Vector Flow Imaging は可能だった。

#### 2024-18 光音響イメージングによる酸素飽和度推定の課題

鈴木陸, 石井琢郎, 西條芳文(東北大)

光音響イメージングは、組織にレーザー光を照射し、光吸収体から生じる超音波信号を取得することで、特定の生体内物質を選択的に可視化する技術である。近年、2 波長以上のレーザー光を用いることで、酸化・還元ヘモグロビンの光吸収係数の差から、微小血管の酸素飽和度を推定し、組織の非侵襲的な性状診断法としての応用が提案されている。しかし、光音響イメージングによる酸素飽和度の推定では、レーザーの出力の不安定性や組織内での強い光散乱等の影響で、推定精度に課題が多くある。本発表では、ウマ保存血液を注入した模擬血管とラット等の生体に対して、波長 532 nm と 556 nm の

レーザー光で生じた光音響信号から酸素飽和度を推定し、その推定精度について議論する。

#### 2024-19 MBE-SWVE におけるせん断波伝搬速度推定の高精度化に関する検討

齋藤慎一郎, 小林翔, 松田歩夢, 菅幹生, 吉田憲司, 山口匡, 平田慎之介(千葉大)

本研究では、生体内を伝搬するせん断波の速度(SWS)の周波数特性を評価できる手法の開発を目的として、機械的バースト加振せん断波ビスコエラストグラフィ(MBE-SWVE)を提案している。MBE-SWVEでは、任意の周波数で駆動される圧電振動子を用いて体表面を機械的に加振することで、バースト波として励起されたせん断波のSWSを計測する。本検討では、SWSの計測精度を向上させるため、ビームステアリングによる超音波撮像と画像コンパウンドを適用した。ステアリング角度は $\pm 4^\circ$ とし、加振周波数を30 Hzから470 Hzまで変化させ、各周波数におけるせん断波伝搬の可視化およびSWS計測について評価を行った。評価には肝臓を模擬した高分子ゲルファントムを使用した。

#### 2024-20 散乱体密度が音響特性評価に与える影響の基礎検討

坂口翔哉, 長岡未唯, 平田慎之介, 吉田憲司, 山口匡(千葉大)

超音波を用いて生体組織の状態を非侵襲的かつ定量的に評価するためには、細胞や構造単位での音響特性を理解することが重要である。本検討では、生体組織の総合的な散乱特性や音響特性を評価するために、均質で散乱体濃度が異なる生体模擬ファントムおよびラットの摘出肝臓を1~15 MHzの5種の平面振動子で計測し、音速と減衰を評価した。均質なファントムに比して、ラット肝臓では音響特性と周波数との間に相関性が認められなかった。特に10 MHz超での評価結果特において高周波数域での減衰が大きく、正常肝臓のような均質な組織であっても超音波の散乱と伝搬に構造が影響を与えていることが想

定される。

#### 2024-21 マルチタスク学習を用いた血管内超音波画像による経皮的冠動脈形成術の合併症予測

金子慧士, 西穀, 野村行弘, 中口俊哉(千葉大)

経皮的冠動脈形成術は冠動脈の狭窄・閉塞病変を治療するカテーテル手術である。治療中に流出したプラーク内容物により末梢血管が閉塞し、血流障害をきたす合併症のリスクがある。一方、プラーク性状から合併症のリスクを評価できる可能性が示唆されており、医師は術前に発症リスクを把握することで最適な術式を選択できる。本研究では治療前に用いられる血管内超音波から病変部の血管断面画像を取得し、深層学習による合併症の発症有無を予測する。本発表では血管内超音波画像内の血管壁と内腔の領域を分割するタスクを組み合わせた学習手法を検討した。複数の異なるタスクを同時に学習するマルチタスク学習と各タスクを順に学習する逐次学習を構築し、合併症の予測精度を比較した。

#### 2024-22 U-net ディープラーニングに基づく血流画像のコントラスト評価

王洪鵬, 坂口裕基, 大村眞朗, 長岡亮, 長谷川英之(富山大)

本研究室では、高フレームレート超音波イメージング技術を用いた血流イメージングの実験を行っている。高フレームレート血流イメージングでは、SVD(特異値分解)クラッターフィルタを用いる。SVDフィルタは、時空間特性を有する超音波素子信号を特異値分解し、時空間特異値行列と特異値対角行列に分解する。組織やノイズに対応する特異値を除去することで、血液中の微弱なエコーを効果的に可視化することが可能である。しかし、SVDフィルタの計算コストが大きいと、リアルタイムでの可視化が困難である。本研究では、SVDクラッターフィルタを教師データとして利用し、ディープラーニングネットワークを用いて同等の性能を達成することを試みた。従来の研究では、LSTM(長短期記憶)ディー

プラーニングネットワークを用いた。LSTM は時系列データの処理に優れており、非線形データへの適応性が高い。また、SVD フィルタと比較して、血流イメージングにおけるコントラスト強調で優れた性能を示している。しかし、LSTM は時間的特徴のみに考慮するため、空間的特徴を十分に考慮していないという制限がある。この問題を解決するために、本研究では空間的特徴抽出に優れた U-Net 畳み込みディープラーニングネットワークを用いた。U-Net は画像分割に広く応用されており、エンコーダ、デコーダ、スキップ接続で構成される。この構造により、浅い空間特徴と深い空間特徴を同時に抽出することが可能である。本研究では、高フレームレート超音波イメージング技術と U-Net ネットワークを組み合わせることで、従来の SVD フィルタと同様の性能を達成した。また、血管の流れを可視化し、関心領域のコントラストを評価した。

#### 第 4 回

日時：2025 年 3 月 10 日（月曜日） 10:00-17:00

会場：福岡市科学博物館サイエンスホール（福岡市）

共催：超音波治療研究会 Taiwan/Korea/Japan  
International Joint Session (TAITU/KSTU/JSTU)

2024-23 20 年間の挑戦と発見超音波治療の新たな可能性

立花克郎（福岡大学医学部医学科解剖学講座）

2005 年に私が教授に就任してから現在までに超音波治療の分野は激変しました。当初は超音波治療の臨床応用はほとんどされておらず、まだ治療法として未熟でありました。それから 20 年の年月が経過し、飛躍的に超音波技術は進歩し、今では日本各地で超音波治療を受けられるようになりました。発表では主なマイルストーンと今後の未来の超音波治療装置の展望を解説する。

2024-24 Potential Applications of Transcranial Ultrasound in Stroke Therapy

Ming-Yen Hsiao, M.D., Ph.D., CIPS Associate professor,  
National Taiwan University College of Medicine, Taiwan

Stroke therapy faces significant challenges, including the limited treatment window for reperfusion therapy, the lack of effective neuroprotective treatments, and the limitations of current neuromodulation tools. Transcranial ultrasound presents potential applications such as sonothrombolysis and focused ultrasound (FUS)-mediated blood-brain barrier (BBB) opening to enhance CNS drug delivery. Additionally, FUS brain stimulation presents a versatile, target-specific neuromodulation and creates new opportunities for glymphatic modulation. Impaired glymphatic function is a key factor in stroke pathologies, and FUS-mediated glymphatic modulation may help restore normal fluid dynamics. In our stroke animal model, we observed a significant decrease in cerebrospinal fluid (CSF) influx after photothrombotic stroke induction. Remarkably, daily contralesional FUS treatments restored the impaired CSF influx. These findings suggest that FUS modulation of CSF dynamics could provide a promising avenue for stroke therapy. These advancements have the potential to pave the way for more effective and targeted interventions in stroke and other CNS disorders.

2024-25 Blood-Brain Barrier Opening with Golay-Coded Ultrasound to Improve Therapeutic Consistency in Glioblastoma Models

Jinhyoung Park, Sungkyunkwan University, Korea

Transcranial-focused ultrasound has demonstrated potential for blood-brain barrier (BBB) opening and localized drug delivery to intracranial brain lesions, making it a promising therapeutic strategy for glioblastoma (GBM) treatment. However, consistent drug delivery to GBM is hindered by cranial beam distortions, particularly standing-wave formation, when conventional sinusoidal-periodic ultrasound transmission sequences are used. We proposed a novel Golay-coded random (Golay-random) ultrasound transmission sequence to mitigate the

standing wave effects and address this challenge. The efficacy of the Golay-random sequence in reducing standing wave formation was validated through computational simulations, which revealed significantly reduced fluctuations in acoustic pressure levels compared to that in sinusoidal-periodic sequences. In vivo experiments quantified the BBB opening using gadolinium contrast-enhanced magnetic resonance imaging (MRI). The Golay-random sequence demonstrated effective BBB opening, with BBB permeability-increasing with burst length from 1.25 to 2.50 ms and plateauing at 5.00 ms. By contrast, no consistent correlation between the burst length and BBB opening was observed with the sinusoidal-periodic sequence. In GBM mouse models, post-treatment MRI revealed significantly smaller tumor sizes in the group receiving doxorubicin with Golay-random transmission (G-Dox:  $3.72 \pm 4.34 \text{ mm}^3$ ) compared to those receiving doxorubicin with sinusoidal-periodic transmission (P-Dox:  $18.05 \pm 11.81 \text{ mm}^3$ ). Optical in vivo imaging corroborated these findings, showing reduced tumor progression in the G-Dox group ( $4.54 \pm 5.67$ ) relative to the P-Dox group ( $25.17 \pm 33.71$ ). These results highlight the Golay-random sequence as a superior alternative to conventional sinusoidal-periodic sequences, offering improved precision and reliability in drug delivery and enhanced therapeutic outcomes for GBM.

#### 2024-26 Ultrasound-guided HIFU treatment using cavitation bubbles

Shin Yoshizawa, Tohoku University, SONIRE Therapeutics, Japan

High-intensity focused ultrasound (HIFU) is a noninvasive treatment modality for tumors. Although several HIFU treatment devices have received regulatory approval in Japan, they have not become widespread. We have developed a HIFU treatment system with high safety and efficacy by using cavitation bubbles. Cavitation bubble clouds can be generated by an extremely high-

intensity ultrasound pulse. It has been known that cavitation bubbles can accelerate the ultrasonic tissue heating and act as contrast agents in ultrasound imaging for the treatment monitoring. A clinical study using this approach was conducted in 2017 and a start-up company was established in 2020 with the aim of social implementation of this technology. The startup is currently conducting clinical trials in Japan for pancreatic cancer and is preparing for clinical trials in the United States. In this talk, the methods and devices to use cavitation bubbles as enhancers in a HIFU thermal treatment and contrast agents in treatment monitoring are introduced.

#### 2024-27 ソノポレーションを利用したmRNA デリバリー法の開発

川上 茂 1、松本 眞 1、岡見和哉 1、高山理紅 1、日宇健 2、吉田道春 2、小俣大樹 3、鈴木 亮 3、丸山一雄 3、向井英史 1

(1 長崎大学院医歯薬、2 長崎大学病院脳神経外科、3 帝京大学薬学部)

我々は、集束超音波照射とマイクロバブルによる BBB オープニングを利用した mRNA/LNP の脳内送達によるミクログリアでの遺伝子発現を報告した (J Control Release, 2022)。しかしながら、肝臓での高い遺伝子発現が課題の一つである。近年、脊髄性筋萎縮症 (SMA) などの神経・筋疾患の治療に対する核酸医薬の投与部位として脊髄内投与が行われている。我々の過去の脳への安定化バブルリポソーム/pDNA 複合体の脳へのソノポレーションでは、静脈内投与(Int J Nanomed, 2018)に比べて脳室内投与(Eur J Pharm Biopharm, 2019)では、全身での遺伝子発現は低く抑えられた。そこで脳室内投与に着目した。まず、mRNA/LNP とマイクロバブルを脳室内投与し、脳へ集束超音波照射を行ったところ、脳での高い遺伝子発現と肝臓での低い遺伝子発現がみられた。今後は遺伝子発現分布の最適化と安全性評価に関する研究をすすめ、ソノポレーションを利用した核酸医薬の脳室内投与法の有用性を評価していく。

## 2024-28 マウス尾部リンパ浮腫モデルにおけるソノポレーションを用いた経皮薬物投与の検討

鈴木琢也 1、久米川真治 1、上村和久 1、立花克郎 2、山田源 1、朝村真一 1

1 和歌山県立医科大学 大学院医学研究科 形成外科学、2 福岡大学 医学部解剖学講座

続発性リンパ浮腫の治療において、いまだエビデンスの確立された薬物治療は存在しない。皮下にリンパ液の貯留が生じ、やがて皮膚硬化を生じる病態から考えると経皮投与は有効と思われるが皮膚のバリア構造が経皮投与を困難にしている。本研究ではリンパ浮腫モデルマウスにおける経皮投与を可能とするための方法としてのソノポレーションの有効性について検討を行った。ICRマウスを用いて、ソノポレーション法で2000kDaのFluorescein isothiocyanate 標識デキストランを皮膚基底層を超えて投与することが可能であった。次いで、当科にて確立されたマウス尾部リンパ浮腫モデルを活用し浮腫部に副腎皮質ステロイド外用薬の塗布と超音波照射を行ったマウスにおいて、尾部体積の経時変化や組織病態の変化について検討を行ったところ、尾部体積の増加が抑制され、リンパ管の腫脹や脂肪沈着が抑制された。ソノポレーション法は効率的な経皮投与が困難な薬剤の皮下組織への投与を促進することができる。本法を用いることでこれまで投与が困難であった薬剤についてもリンパ浮腫の治療に適用できる可能性がある。

## 2024-29 超音波照射により抗酸化物質が細胞外に放出される

丹羽良介 1、市川寛 1、秋山いわき 2

1 同志社大学大学院 生命医科学研究科 医生命システム専攻 2 生命医科学研究科 医工学・医情報学専攻

[目的] 酸化ストレスに関連する疾患を予防するためには、生体の抗酸化能を向上させることが必要である。我々は以前より、超音波 (US) 照射による抗酸化能誘導効果に注目し、ラット腹部への単回の

US 照射により、血中の活性酸素種(ROS)消去活性の一過性の上昇を示す結果を得た。本研究では、US 照射により細胞から抗酸化物質が放出されるかどうかを検討した。[方法] ヒト表皮角化細胞 (HaCaT) に US 照射 ( $I_{SPTA}=0.36 \text{ W/cm}^2, 10 \text{ min}$ ) 後、照射 10 分後にコンディショニングメディウムを回収した。また、正常ラットに US 照射 ( $I_{SPTA}=0.36 \text{ W/cm}^2, 10 \text{ min}$ ) 後、照射 10 分後に採血し血液サンプルを回収した。これらのサンプル 硫黄関連抗酸化物質が含有されていると考え、サルファーインデックスにて解析した。[結果] ヒト表皮角化細胞に超音波照射をした後のコンディショニングメディウムでは 18 種で増減していた。ラット血漿サンプルでは 22 種が増減していた。[結論] 今回は、超硫黄化合物についての検討であったが、US 照射により放出される抗酸化物質に多くの硫黄化合物が存在することが明らかになった。また、細胞と生体では、放出される抗酸化物質に差異があった。US 照射により細胞内に蓄積されている抗酸化物質が一過性に放出されることが今回初めて明らかとなった。

## 2024-30 マイクロ流体技術によるマイクロバブル調製と薬物送達

小俣 大樹、宗像 理紗、鈴木 亮

帝京大学 薬学部 薬物送達学研究室

マイクロバブル (MB) の粒子径は超音波への応答に影響を与えることが知られている。近年、均一かつ再現性よく粒子を作製可能なマイクロ流体技術の MB 作製への応用が注目されている。そこで本研究では、マイクロ流体技術を用いた MB の粒度分布制御と薬物送達能を検討した。無動脈ポンプを用いてマイクロ流路内で超音波造影ガスと脂質懸濁液を混合し、MB を調製し、コールターカウンターで粒子径を測定した。粒度分布幅の指標として スパン値 ( $(D90-D10)/D50$ ) を算出した。その結果、マイクロ流路で作製した MB のスパン値は小さく、粒度分布幅が狭いことが示された。次に、モデル薬物としてエバンスブルー と MB をマウス尾静脈から投与し、脳

右側に経頭蓋的に集束超音波（周波数：1 MHz、音圧：0.3 MPa）を照射し、エバンスブルー移行量を評価した。その結果、粒度分布幅の広い MB と比較して、粒度分布幅の狭い MB は高いエバンスブルー移行量を示した。これらのことから、マイクロ流体技術は MB の粒度分布制御に有用であり、粒度分布幅の狭い MB は効率的に薬物を送達できることが示唆された。

#### 2024-31 超音波照射による細胞膜脂質の相状態変化の可視化

佐々木東、工藤信樹、滝口満喜(北海道大学)

細胞膜の構成成分であるリン脂質の構成成分が異なると細胞膜の性質が異なるとされる。脂肪酸の組成によって流動性の高い lipid-disordered phase (Ld 相)、流動性が抑制された lipid-ordered phase (Lo 相) が存在し、膜たんぱく質・コレステロールの存在や圧力・温度 変化などの要因で 2 つの相が変化しうる。細胞膜の相状態は膜の流動性や力学特性に影響し、力学的刺激に対する細胞応答に関連していると考えられている。そこで超音波照射によって細胞膜脂質の相状態の変化を検討するための試みを行っている。生きた細胞を溶媒極性応答蛍光色素で染色し、超音波照射と同期可能な共焦点顕微鏡システムを用いて観察し、照射前後での細胞膜の Ld 相・Lo 相の変化を観察している。

#### 2024-32 Ultrasound-Assisted Liquid CO<sub>2</sub> Extraction and Liposomal Encapsulation of Bioactive Components for Medical Applications

Tanjina Sharmin a,b, Toshihiro Takeshita c, Mikio Ouchi a,b, Kenji Mishima a,b\*

A Department of Chemical Engineering, Faculty of Engineering, b Research Institute of Composite Materials, c Resource Circulation, Faculty of Environmental Engineering, Fukuoka University, Japan.

Liposomes are widely used in pharmaceutical and biomedical applications due to their ability to encapsulate

and deliver both hydrophilic and hydrophobic compounds. However, conventional liposome production methods often require organic solvents and complex processing steps, limiting their scalability and biocompatibility. This study explores a novel water-CO<sub>2</sub> micro-phase separation technique combined with ultrasonication to produce liposomes in a green and efficient manner. High-pressure CO<sub>2</sub> induces phase separation, while ultrasonication facilitates lipid bilayer formation and size reduction. The process parameters were optimized to achieve uniform, nanosized liposomes with high encapsulation efficiency. Characterization using DLS, TEM, and UV-Vis spectrophotometry confirmed their stability and suitability for drug delivery. This solvent-free approach offers a scalable alternative for biomedical applications.

#### 2024-33 Production of Liposomes via Water-CO<sub>2</sub> Micro-Phase Separation Using Ultrasonication

Tanjina Sharmin a,b, Toshihiro Takeshita c, Kazusa Mishima d, Mikio Ouchi a,b, Kenji Mishima a,b\*

A Department of Chemical Engineering, Faculty of Engineering; b Research Institute of Composite Materials; c Resource Circulation, Faculty of Environmental Engineering; d Faculty of Pharmaceutical Sciences, Fukuoka University, Japan.

The extraction of bioactive compounds from natural sources for pharmaceutical applications requires efficient, green, and high-yield methods. Ultrasound-assisted liquid CO<sub>2</sub> extraction (UALC) offers an innovative approach by enhancing mass transfer and reducing thermal degradation of bioactives. However, many extracted compounds face challenges such as poor solubility and low bioavailability. To address this, liposomal encapsulation is utilized as a nano-delivery system to enhance the stability, solubility, and therapeutic efficacy of bioactives. This study investigates the UALC method for bioactive extraction, followed by liposomal encapsulation to optimize their medical applications. This approach provides a novel

strategy for improving the delivery and effectiveness of natural bioactive compounds in pharmaceutical applications.

#### 2024-34 生体への空気中超音波照射による抗酸化能変動の測定

伊藤希々花 1、松下麗花 1、松本葵 2、丹羽良介 1、市川寛 1、秋山いわき 1

1 同志社大学大学院生命 医科学研究科 2 同志社大学生命医科学部

酸素を用いてエネルギーを得る生物の体内では、活性酸素種 (Reactive Oxygen Species ; ROS) が產生されている。抗酸化酵素や抗酸化物質が低下する、あるいは ROS が過剰に発生することで生じる酸化ストレスの亢進は様々な疾病を誘発する。我々は、病気を予防するために生体の 抗酸化能を超音波照射によって向上する手法を検討している。周波数 40kHz、音圧 0.5Pa の超音波をヒト上半身へ空気中照射することで抗酸化能が向上することを確認した。しかし、ヒトの 胸部から腹部に超音波を直接照射した結果と比べると、抗酸化能向上率は低かった。効果的に空気中で超音波を照射する方法として、衝立内の超音波照射系を作成し、衝立内の超音波強度を測定した。また、線虫への空気中超音波照射を行い、0.5Pa で有意に一重項酸素消去活性が向上することを確認した。今後は衝立型照射装置を用いてヒトへの超音波照射を行い、抗酸化能の変動を測定していく。

#### 2024-35 超音波照射によるミトコンドリア膜電位の変化

四方晴 1、松下麗華 2、伊藤希々花 2、丹羽良介 2、市川寛 2、秋山いわき 2

1 同志社大学生命医科学部 2 同志社大学大学院生命医科学研究科

酸化ストレスは活性酸素種 (Reactive Oxygen Species : ROS)の過剰な產生によって引き起こされ、様々な疾患に関連する。我々は酸化ストレスの予防を目的にして抗酸化能の向上について検討してい

る。これまでの研究の結果、ヒトへの超音波照射で生体の抗酸化能の指標の1つである ROS 消去活性の向上を確認したが、そのメカニズムは明らかにされていない。メカニズムを解明するため、本研究では、ROS 産生の場合であるミトコンドリアに着目し、ヒト表皮角化細胞 (HaCaT)に対して超音波照射を行った際のミトコンドリア膜電位 変化を観察した。超音波は周波数 2.0 [MHz]、音圧 0.33 [MPa]、 $I_{SPTA}=0.47$  [W/cm<sup>2</sup>] の条件で、平面振動子を用いて水中 7.5 [cm] の位置から照射した。ミトコンドリア膜電位の検出には JC-1 MitoMP Detection Kit を用いた。蛍光プローブ JC-1 は膜電位を有するミトコンドリアでは赤色蛍光を発し、膜電位が消失すると緑色蛍光を発する。HaCaT に 10 分間超音波を照射し、照射直後群、10 分間静置後群に分け、蛍光顕微鏡を用いて観察した。RGB 3 色 8 ビットのデジタル画像を取得し、Red/Green の画素数の比で膜電位変化を評価した。その結果、超音波照射直後では脱分極が確認できた。また、照射後 10 分間静置した細胞では、照射直後の細胞と比較して膜電位の回復傾向を確認できた。脱分極の原因としては、ROS の過剰產生による膜損傷や、細胞質からの過剰な  $Ca^{2+}$  の流入などによる mPTP の開口が考えられる。膜電位の回復傾向は、 $Ca^{2+}$  の流入によって呼吸が促進されたことによるものと考えられる。

#### 2024-36 ヒトへの超音波接触照射による抗酸化能変動の測定

三村海斗 1、松下麗華 2、伊藤希々花 2、丹羽良介 2、市川寛 2、秋山いわき 2

1 同志社大学生命医科学部 2 同志社大学大学院生命医科学研究科

これまで我々は、超音波照射が生体内の抗酸化能に及ぼす影響について研究し、ヒトへの超音波接触照射による抗酸化能向上の可能性を検討してきた。本研究の目的は、音圧強度を下げた接触照射を行い、音圧強度による違い、照射面積と照射頻度が抗酸化能向上に及ぼす影響を検討した。また、我々の最終

的な目標は、高齢者施設など学外で使用可能なポータブル超音波照射装置を試作し、その有効性を検証するとともに、実用化を目指すことである。これまで音圧 150 [kPa] 下の接触照射では、ポータブルな装置としての実用化を考慮すると、照射用プローブと配線の複雑さが課題であった。そこで、配線を 1 つに簡略化し、9 つの振動子を統合した新たなプローブを再設計した。しかし、新プローブの振動子の構造上、音圧 150 [kPa] の出力が困難であったため、音圧を 100 [kPa] に下げた条件でも抗酸化能が向上するかを評価した。そのため、振動子全体で 100 [kPa] の照射が可能な条件を検討し、最適な中心周波数を決定した。さらに、照射面積と照射頻度による違いが抗酸化能に及ぼす影響を評価するため、男性 9 名を対象に週 1 回または週 4 回の超音波接触照射を実施し、週 4 回群は照射面積を半分にした群と、同じ面積で照射した群に分けた。今回の発表では、再設計した新プローブの最適な照射条件、音圧 100 [kPa] での照射が抗酸化能に及ぼす影響、さらに照射面積および照射頻度の違いによる影響について報告する。

#### 2024-37 超音波照射がメダカ胚の GFAP 発現に与える影響のウェスタンブロット法による検討

大西歩栞 1、池川雅哉 2、高柳真司 2、山下修司 2、森山祐吏 2、上野智弘 3、日下部りえ 4、岩崎了教 5、吉岡正裕 6、秋山いわき 1

1 同志社大学生命医科学部 2 同志社大学大学院生命医科学研究科 3 京都大学大学院医学研究科 4 関西大学化学生命工学部 5 Sciex 株式会社 6 産業技術総合研究所

メダカ胚を対象にしたプロテオーム解析によって超音波照射の生体作用を検討している。24 時間ごとに 4 日間、音圧 100kPa、500kPa の超音波 (1MHz) 連続波を 1 分間照射したメダカ胚と無照射のコントロール群について、Sequential window acquisition of all theoretical fragment ion spectra (SWATH) 法による網羅的定量プロテオーム解析では、600 種類以上のタンパク質発現量の増減を報告した。また孵化時間計測

では、音圧 100kPa の超音波有照射群において約 23 時間の短縮を報告した。本報告では、SWATH 解析にて、超音波照射によって発現量の増加を確認したタンパク質の 1 つである glial fibrillary acidic protein (GFAP) に注目し、Western blot (WB) 法を実施した。バンドシグナル値総量の測定では、有照射群 (n=5) は無照射群 (n=5) よりも平均値が増加したが、両者の有意差を確認できなかった。そこで、今後は個体数を増やすとともに、二次元電気泳動後ゲルを用いた WB を実施することで、タンパク質の存在形態に着目して評価することが重要であると考えている。

#### 2024-38 レーザースペckルを利用した微粒子懸濁液の簡易的相対濃度評価の検討

平川 靖之、高崎 瑛仁

久留米工業高等専門学校・電気電子工学科

波長相当の物理的な変化のある対象物に、レーザーのようなコヒーレント光を照射すると、散乱光同士が干渉し合ってレーザースペckル (LS) と呼ばれる縞模様が発生する。LS は、微粒子懸濁液においても観察することが可能で、LS 像を解析することで懸濁液の相対濃度評価が可能であることを前回報告した。今回、LS 像の解析法として、より簡便な画像輝度のヒストグラムの利用を試みた。LS 像は、照射範囲や照射強度により、散乱光の光源範囲が容易に変化し、従来の解析法では、慎重な光軸調整と照射輝度が必要であったが、本手法によれば、その手間が大幅に簡素化できる。実験では、従来の方法と同様な懸濁液濃度に対応できることが明らかとなった。最後に、ナノバブル懸濁液をご提供いただいた福岡大学医学部 立花 克郎 教授に感謝申し上げます。

#### 2024-39 続・明日からできる超音波穿孔法(ソノポレーション) ～最新知見と実験最適化のポイント～

貴田浩志 (福岡大学医学部医学科解剖学講座)

2022 年に本研究会で「明日からできる超音波穿孔法(ソノポレーション) ～遺伝子・薬物導入の原理と

方法～」と題し、ソノポレーションの基礎と実験手法に関する教育講演を行って以来、本領域では急速な進展が見られている。特に、ナノバブル生成技術の向上、超音波応答メカニズムの解明、mRNAをはじめとする新規モダリティの細胞内送達、中枢神経組織への効率的な薬物送達技術などが進歩している。本講演では、これらの進歩を踏まえ、最新の知見を再共有しながら、より効果的なソノポレーション実験の設計・実施方法を探る。具体的には、超音波の照射条件とナノバブルの組み合わせによる最適化戦略、導入効率と細胞・組織の障害性のバランスを取る方法など、これまでに明らかになったポイントを整理し、実験の再現性向上に寄与する具体的な手法を提示する。また、新たに超音波医学研究に取り組む研究者に向け、基本的な実験プロトコルの解説を交えながら、既存の研究者にも有用な応用例を紹介する。本講演を通じて、ソノポレーション実験をより精度高く実施するための具体的な知見を共有し、研究の発展に貢献することを目指す。