

氏名	やすだ じゅん 安田 惇
授与学位	博士(工学)
学位授与年月日	平成28年3月25日
学位授与の根拠法規	学位規則第4条第1項
研究科, 専攻の名称	東北大学大学院工学研究科(博士課程) 通信工学専攻
学位論文題目	音響化学治療を目的とした音響キャビテーション気泡の挙動と 活性酸素生成の研究
指導教員	東北大学教授 梅村 晋一郎
論文審査委員	主査 東北大学教授 梅村 晋一郎 東北大学教授 吉信 達夫 東北大学教授 小玉 哲也 東北大学准教授 川下 将一 東北大学准教授 吉澤 晋

論文内容要旨

低侵襲ながん治療法のひとつとして、高密度集束超音波(High-Intensity Focused Ultrasound:以降HIFUと呼ぶ)治療がある。この方法では、体外の超音波発生装置(トランスデューサ)から超音波を照射し、がん組織にそのエネルギーを集束させる。そして、この集束させたエネルギーによってがん組織に不可逆変化をもたらすことによって治療を行う方法である。

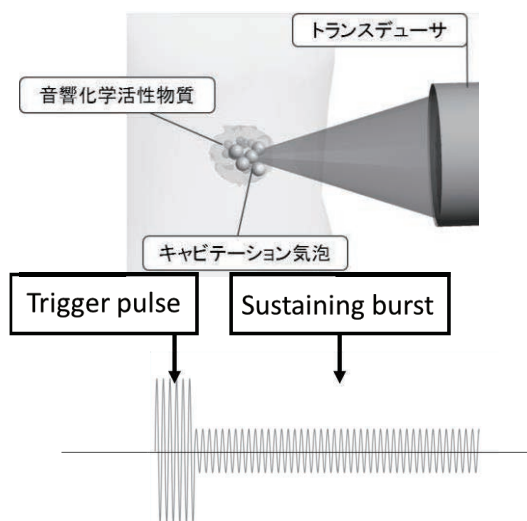
本研究で対象とした音響化学治療とは、このようなHIFU治療のひとつである。この治療法では、①まず、音響化学活性物質と呼ばれる薬剤を体内に注入し、がん組織に到達させ、②次に、超音波をがん組織に向け照射し、キャビテーション気泡と呼ばれる微小な気泡を発生させ、③そして、この気泡が激しく膨張、収縮を繰り返す際に活性酸素を生成し、その生成された活性酸素によってがん細胞を死滅させる。音響化学活性物質とは、活性酸素の生成を促進させる物質である。(図1参照)

この治療手法では、活性酸素をがん組織のみに局在化させ、高効率に多く生成させることが重要となる。しかしながら、活性酸素を多く得るため1 sオーダーの連続波を用いて超音波エネルギー投入量を増やすのみでは、患部以外にもキャビテーション気泡が生成されてしまい、局在化と高効率化の両立は難しくなる。

そこで、本研究では、これらを両立する超音波の照射シーケンスの開発を目的とした。提案したシーケンスは、最初に極めて高い強度の、短い(数 μ sオーダー)超音波パルス照射して、キャビテーション気泡を局在的に生成させ、その直後にキャビテーション気泡を生成させない強度の、長い(1 ms オーダー)超音波バースト波を照射することにより、生成した気泡を激しく体積変動させ、活性酸素を生成するものである。キャビテーション気泡の生成と体積変動の各段階それぞれに最適な超音波照射を行うシーケンスである。(Triggered HIFU シーケンスと呼ばれる(図2参照))この開発のため、HIFUによる活性酸素生成の局在化と高効率化を評価する手法も確立した。

[図1] 音響化学治療の概念図

音響化学活性物質の存在しているがん組織にキャビテーション気泡を生成させ、活性酸素を発生させる。
音響化学活性物質は、静脈注射などで体内に注入され、患部に到達する。



[図2] 提案されたシーケンスの詳細

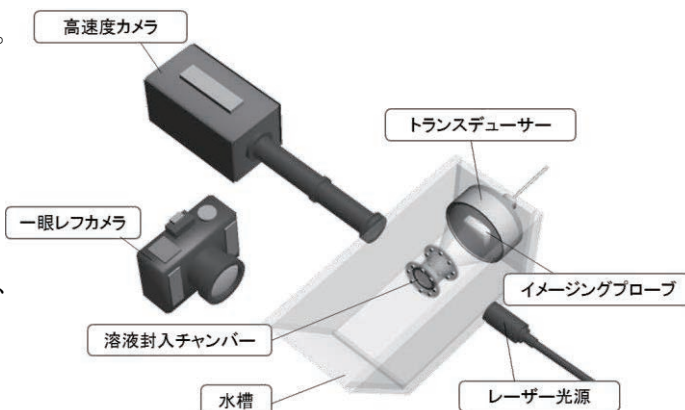
Triggered HIFU シーケンスと呼ばれるもので、Trigger pulse (エネルギーが高く短い時間)の超音波と、Sustaining burst (エネルギーが比較的低下、長い時間)の超音波の、2つの照射波形を組み合わせたものとなる。
Trigger pulse で図のような密度の高い、局在的な気泡クラウドを生成させ、さらに、Sustaining burst にて気泡を残留、そして激しき膨張、収縮させる。

本研究は全5章からなる。
第1章は緒論であり、本研究の背景、目的及び構成を述べている。

第2章では、本研究で提案したシークエンスにて、音響化学活性物質を含む水溶液に照射した際、生成したキャビテーション気泡が目的の挙動を示すかどうか、高速度撮影によって検証した。使用した超音波発生装置(トランスデューサ)は直径120 mmの凹面状のもので、Fナンバー1である。周波数は1 MHzであった。実際の臨床治療でも、深部の組織の治療を考えた際、トランスデューサは100 mm以上の焦点距離が必要であり、このサイズのトランスデューサでの検証は臨床応用を考えても望ましいと考えられる。

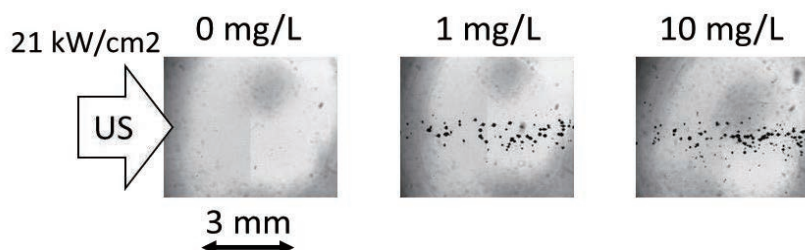
音響化学活性物質は、ポルフィリン、フルオレセイン、ローズベンガルなどがある。また、抗がん剤の中にも音響化学活性物質として働くものもある。本研究ではローズベンガル(Rose bengal: 以降RBと表記)を用いた。RBは、音響化学活性物質として活性酸素生成効果が確認された上に、更にキャビテーション気泡生成の閾値を下げる効果があることで知られている。なぜRBを用いたかという点、キャビテーション気泡生成の閾値を下げる作用の他に、毒性が非常に低く、非常に入手しやすいからである。また、RBは医療現場でも角膜の検査などに既に使われている。抗がん剤は価格的にも入手が困難なうえに取り扱いが非常に危険である。また、ポルフィリンは水に難溶性であるなど、取り扱いに困難を伴う。

ここでは、本章で用いた実験系の概要を述べる。実験系の概略図を図3に示す。水槽に、トランスデューサ(上記した直径120 mmのもの)を設置し、焦点付近に溶液封入チャンバーなどを設置した。水槽は脱イオン・脱気水で満たされ、トランスデューサはFPGA制御のD級アンプによって駆動された。トランスデューサは128素子のアレイ型トランスデューサで、素子ごとの位相を変化させることで焦点形状や位置を変えることができるが、本論文で行った実験条件では焦点位置は幾何焦点のみであった。チャンバー内には実験の目的ごとに違った溶液が封入された。キャビテーション気泡がチャンバー内に生成され、化学反応はこのチャンバー内で引き起こされた。チャンバーは内部がよく観察できるように、透明なアクリル樹脂で作られた。チャンバー内で生成されたキャビテーション気泡の挙動は、高速度カメラによって観察された。



[図3] 実験系の概略図

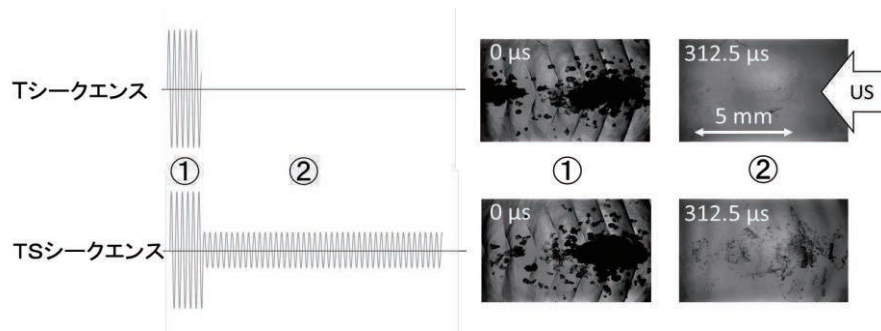
本章では、まず、RBによるキャビテーション気泡の生成閾値の低下を確認した。そのために、0 mg/L、1 mg/L、10 mg/Lの3つの濃度のRB水溶液に、様々な照射強度の超音波を照射し、気泡の生成される様子を高速度カメラで撮影した。図4は、その結果の一部である。0 mg/Lでは気泡は全く生成されていないのに対し、1 mg/L、10 mg/Lでは気泡が多くできていることがわかる。



[図4] RB濃度0 mg/L、1 mg/L、10 mg/Lにおけるキャビテーション気泡の生成の様子
各濃度の水溶液に照射した超音波のエネルギーは同じ21 kW/cm²である。

さて、次に、実際にTriggered HIFUシークエンスを照射した際、キャビテーション気泡がどのような挙動をするのか検証した。先ほどと同様に、0 mg/L、1 mg/L、10 mg/LのRB溶液をチャンバー内に封入し、Trigger pulseのみもの(Trigger pulseのみなのでTシークエンスと呼ぶ)と、Triggered HIFUシークエンス(Trigger pulseとSustaining burstの両方を持っているのでTSシークエンスと呼ぶ)の2つの照射波形を照射した。

図5が、この実験の結果の一部である。波形に示してある①、②タイミングと、キャビテーション気泡の撮影画像の①、②は対応している。①と②では、時間として312.5 μs離れている。Tシークエンスの場合、①で生成されたキャビテーション気泡クラウドは②の時間にはほぼ消滅しているのに対し、TSシークエンスでは②の時間にもまだ残留していることがわかる。

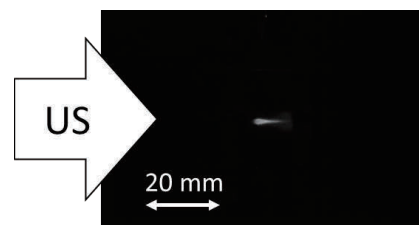


【図5】 各シーケンスでのキャビテーション気泡の様子

TS シーケンス、つまり、Triggered HIFU シーケンスの目的は、キャビテーション気泡クラウドを Trigger pulse にて生成し、Sustaining burst で気泡を残留させ、激しく振動させ、活性酸素の生成を促すことであった。図5から、Sustaining burst にてキャビテーション気泡が残留している様子が捉えられ、気泡が目的の挙動をしていることがわかった。ちなみに、図5の高速撮影画像はRBの濃度が0 mg/Lのものであるが、1 mg/L、10 mg/Lも同様な結果が得られた。また、この高速カメラ画像から概算した気泡量の経時変化を解析したところ、RBの濃度が高い方がより多くの気泡が残留する傾向にあることがわかった。

第3章は、Triggered HIFU シーケンスによる活性酸素の局在的な生成を検証した。検証手法としては、活性酸素の生成によって起こすことのできるルミノール反応という化学発光を利用し、活性酸素生成領域の可視化を行った。実験としては、ルミノールと音響化学活性物質を含む水溶液に第2章の時と同様にTシーケンスとTSシーケンスを照射し、一眼レフカメラで撮影することにより発光領域を観察した。

結果の一部を図6に示す。中央部の輝度の高くなっている部分が、TSシーケンス照射時に得られた発光領域である。ちなみに、Tシーケンス照射時は、TSシーケンス照射時とは違い、発光強度は非常に微弱であった。このTSシーケンスの照射時に観測された発光領域は、超音波照射方向に対し方位方向に直径4 mm(2.5波長)程度、伝播方向に10 mm程度の大きさとなっており、それ以外での発光領域は見られなかった。これは臨床応用を見据えた際、提案したシーケンスによってがん組織のみでの局在的な活性酸素の生成が可能であることが示唆された重要な結果である。さらに、TSシーケンス、つまりTriggered HIFUシーケンスの方がTシーケンスに比べ、発光強度が非常に強かった。このことから、TSシーケンスの方がTシーケンスと比較し、より多くの活性酸素が生成されていることが示唆された。このような局在化された発光領域と、TSとTシーケンスの発光強度の違いは0 mg/L、1 mg/L、10 mg/LのどのRBの濃度でも見られた。



【図6】 撮影された発光領域 (白色部が発光領域)

第4章は、Triggered HIFUによる活性酸素の効率的な生成を検証した。さらに、超音波の照射時間や照射強度をパラメータとして変化させ、パラメータの最適化を試みた。検証手法としては、KI法と呼ばれる活性酸素の定量法を用いた。これは、ヨウ素イオンが活性酸素に酸化され三ヨウ化物イオンになること

によって変化する特定の吸光度ピークの値を測定して活性酸素の生成量を定量する手法である。各シーケンスによる活性酸素生成量および、活性酸素生成効率、つまり投入した超音波エネルギーに対する活性酸素生成量を検討した。すると、TSシーケンスは、Tシーケンスと比べ、確かに活性酸素生成量が多かった。さらに、RBの濃度が高いほど、活性酸素生成効率が高くなることがわかった。これは、音響化学治療においてより高いがん治療の効果をj得ることができることを示唆する重要な結果である。さらに、第2章において、RBが存在している時、TSシーケンスのSustaining burst照射中の残留気泡量が多くなる傾向にあることがわかったが、これが活性酸素生成効率を向上させている一つの要因である可能性が示唆された。

第5章は、結論である。

本論文では、超音波の照射シーケンスを工夫することによって活性酸素生成の局在化と効率化の両立実現することができた。さらに一連の研究を進める中で局在化と効率化の評価手法に関しても確立させたものであり、超音波技術の医療分野への応用における発展に寄与することが少なくないと考えている。

論文審査結果の要旨

本論文は、音響化学的治療の局在性向上と高効率化を両立する集束超音波照射シーケンスの確立を目的とした研究の結果を纏めたものである。音響化学治療は、主にがんを対象とする。この治療法では、①音響化学活性物質と呼ばれる薬剤を体内に注入し、がん組織に到達させ、②超音波をがん組織に向け照射し、キャビテーション気泡と呼ばれる微小な気泡を発生させ、③この気泡が激しく膨張、収縮を繰り返す際に活性酸素を生成し、その生成された活性酸素によってがん細胞を死滅させる。音響化学活性物質とは、超音波の作用によって活性酸素の生成を促進させる物質である。

この治療手法では、活性酸素をがん組織のみに局在化させ、高効率に生成させることが重要となる。局在化させる技術として、超音波のエネルギーを集中させる高密度集束超音波 (High-intensity Focused Ultrasound : HIFU) がある。しかし、1 s オーダーの連続波を用いて超音波エネルギー投入量を増やすと、患部以外にもキャビテーション気泡が生成されてしまうので、局在化と高効率化の両立を達成した先行研究の例はない。

そこで、本研究では、これらを両立する超音波の照射シーケンスの開発を目的とした。提案したシーケンスは、最初に極めて高い強度の、短い(数 μ s オーダー)超音波パルス照射して、キャビテーション気泡を局在的に生成させ、その直後にキャビテーション気泡を生成させない強度の、長い(1 ms オーダー)超音波バースト波を照射することにより、生成した気泡を激しく体積変動させ、活性酸素を生成するものである。キャビテーション気泡の生成と体積変動の各段階それぞれに最適な超音波照射を行うシーケンスである。この開発のため、HIFUによる活性酸素生成の局在化と高効率化を評価する手法も確立した。本論文は全5章からなる。

第1章は緒論であり、本論文の背景、目的及び構成を述べている。

第2章では、本研究で提案したシーケンスにて、音響化学活性物質を含む水溶液に超音波を照射した際、生成されたキャビテーション気泡が目的の挙動を示すかどうかを、高速度撮影(撮影速度 500 kfps)によって検証した。使用した超音波トランスデューサの仕様は、臨床応用を意識したもので、周波数は 1 MHz、直径 120 mm の凹面状で、Fナンバーは 1 である。提案シーケンスによるキャビテーション気泡の局在的生成とそれに続く激しい膨張・収縮を撮影することができた。この結果は、音響化学治療のみにとどまらず、キャビテーション気泡による効率化を図る HIFU 治療すべてに貢献する重要な知見である。さらに、用いた音響化学活性物質が、キャビテーション気泡の生成と安定化に寄与することを高速度撮影により確認できた。このことは先行研究により示唆されていたが、直接観察により証明できた意義は大きい。

第3章では、提案シーケンスによる活性酸素生成の局在性を検証した。活性酸素の作用によって化学発光するルミノールを利用し、活性酸素生成領域を可視化した。ルミノールと音響化学活性物質を含む水溶液に対して、提案したシーケンスにより超音波照射したところ、超音波焦点付近に、超音波伝播方向の長さ 10 mm(約 7 波長)程度、方位方向の直径 4 mm(約 2.5 波長)程度の大きさの発光領域が観察され、それ以外での発光は見られなかった。これは、提案したシーケンスを臨床に応用する場合、がん組織のみに局在的に活性酸素を生成できることを示唆する重要な結果である。

第4章では、提案シーケンスにより活性酸素が高効率に生成されることを検証した。生成された活性酸素を、KI(ヨウ化カリウム)法により定量した。これは、ヨウ素イオンが活性酸素に酸化され三ヨウ化物イオンになることによる、吸光度ピークの高さの変化を測定して活性酸素生成を定量する手法である。提案シーケンスによって活性酸素が高効率に生成されることを示す結果は、提案シーケンスを音響化学的がん治療へ応用するにあたり重要である。

第5章は、結論である。

以上、要するに、本論文は、集束超音波照射シーケンスを工夫することによる活性酸素生成の局在化と高効率化の両立を示し、さらに、その評価手法を確立させたものであり、超音波物理工学の発展に寄与するところが少なくない。

よって、本論文は博士(工学)の学位論文として合格と認める。