

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成24年 4月 9日現在

機関番号：12301

研究種目：基盤研究（B）

研究期間：2009～2011

課題番号：21360195

研究課題名（和文）超音波によるターゲット自己探索型気泡マニピュレーション

研究課題名（英文）Target self-search type micro-bubble manipulation by an ultrasonic wave

研究代表者

山越 芳樹（YAMAKOSHI YOSHIKI）

群馬大学・大学院工学研究科・教授

研究者番号：10174640

研究成果の概要（和文）：

微小気泡は超音波場中で2種類の音響放射圧を受ける。気泡が受ける音響放射圧を使うと気泡の運動を外部から制御できる。本研究では、ドラッグデリバリスシステムの高効率化を目的として、音響放射圧を使ったターゲットへの気泡捕捉技術を新たに開発した。1つは自己トラッピング法であり、もう一つは周波数操作法である。これらの有効性を気泡として超音波造影剤を用いて確認し、超音波照射シーケンスの効果について明らかにした。

研究成果の概要（英文）：

Micro-bubble receives two kinds of acoustic radiation forces from ultrasonic wave. If the acoustic radiation forces are used, movement of micro-bubble is controllable from the outside. In this research, micro-bubble trapping methods to the target are newly developed aiming at improvement of drug injection efficiency of drug delivery system. One is the self-trapping method and another is the frequency operating method. Experiments are carried using an ultrasonic contrast agent. Usefulness and the effect of ultrasonic wave irradiation sequence are shown.

交付決定額

（金額単位：円）

|        | 直接経費       | 間接経費      | 合計         |
|--------|------------|-----------|------------|
| 2009年度 | 5,600,000  | 1,680,000 | 7,280,000  |
| 2010年度 | 5,000,000  | 1,500,000 | 6,500,000  |
| 2011年度 | 3,100,000  | 930,000   | 4,030,000  |
| 年度     |            |           |            |
| 年度     |            |           |            |
| 総計     | 13,700,000 | 4,110,000 | 17,810,000 |

研究分野：超音波医用工学

科研費の分科・細目：電気電子工学・計測工学

キーワード：超音波、微小気泡、音響放射圧、ドラッグデリバリスシステム、ターゲッティング

## 1. 研究開始当初の背景

近年、様々な薬剤を患部まで運び、作用させるドラッグデリバリスシステム (Drug Delivery System; DDS) の研究が盛んに行なわれている。DDS の中でも有力な手法の一つ

として微小気泡を用いた超音波支援の DDS がある。微小気泡に超音波を照射すると微小気泡が体積振動し Bjerknes 力が発生する。この力により薬剤の入った微小気泡を操作することで、DDS の実現が可能であると考えら

れる。超音波支援の DDS において、必要とされる技術は大きく三つに分けられる。気泡を操作し患部付近に付着させる技術(ターゲティング技術)、気泡内の薬液を患部に対して放出する技術(コントロールドリリース技術)、薬液を効率よく吸収させる技術(吸収改善技術)である。本研究で目指すのは、この中でターゲティング技術の高効率化である。従来ターゲティング技術として、Primary Bjerknes 力を用いた超音波の進行方向への力の発生とこれを用いた血管など流路壁面への気泡捕捉や、超音波の定在波を用いた捕捉技術などが提案されていたが、捕捉効率、捕捉位置の精度などの点で問題があった。

## 2. 研究の目的

本研究では、超音波中で微小気泡に働く音響放射圧を有効に活用することで、微小気泡のターゲットへの捕捉効率向上、精度向上を図る超音波による新たな気泡操作技術を開発することを目的とする。研究では、2つの方法を開発した。1つはターゲット面にわずかに付着した気泡(種気泡)を使い、この種気泡に多くの気泡を付着させる技術で自己トラッピング法と呼ぶ方法である。あらかじめ抗原抗体反応等により種気泡を付着させる手法と組み合わせることでターゲットに数多くに気泡を導入できる技術に結びつく可能性がある。この意味で、ターゲットを気泡自ら探索して付着する自己探索型の気泡捕捉技術と言える。もう一つは、周波数掃引法と呼ぶ気泡捕捉技術である。超音波中で気泡に働く Secondary Bjerknes 力を積極的に用いて、気泡の集合化による超音波に対する感度向上と、流路壁面への気泡付着を促進させる新たな方法である。

## 3. 研究の方法

図1にターゲットへの自己捕捉法の原理を示す。自己捕捉により気泡がターゲットに付着するメカニズムには2つの種類がある。一度気泡がターゲット表面に付着すると、気泡は体積振動により周囲に球面波状の2次超音波を放射する。この2次超音波は気泡の非線形振動により高調波を含むが、この高調波の主要成分の波長を $\lambda$ とすれば、気泡から距離 $\lambda$ ごとに付近の気泡に働く音響放射圧の符号が変化し最終的に安定点である $\lambda$ の間隔で気泡がターゲット表面に並ぶことにな

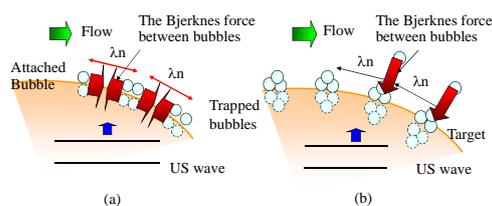


図1 ターゲットへの気泡の自己捕捉法

る(図1(a))。一度、多数の気泡が波長 $\lambda$ ごとに整列するようになると、壁面からはその法線方向に球面波の合成波である平面的な波は放射され、この超音波の振幅は球面波の場合よりも増強されるのでさらに気泡の付着効果は増強される(図1(b))。この2つの効果により、一度寄付が壁面に付着すると、子の気泡が種気泡になり、多数の気泡をターゲット壁面に付着させるようになる。これが気泡の自己付着法の原理であるが、種気泡を気泡があたかも探索しそれに自己増強的に気泡が付着していくという意味で自己探索型の気泡操作法と言える。

図2に周波数掃引法による気泡捕捉法の原理を示す。

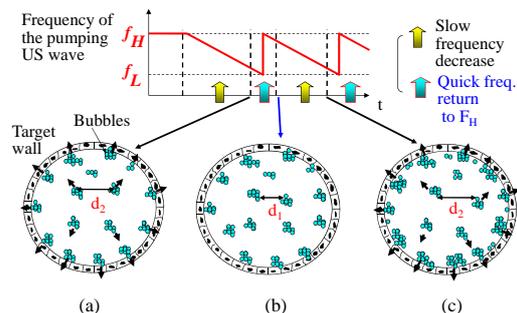


図2 周波数掃引法の原理

図2は血管など円筒状の流路の断面であるが、この流路の気泡を導入し超音波(ポンピング超音波)を照射すると、気泡は体積振動を生じるようになり、気泡周囲に2次超音波を放射するようになる。この2次超音波の音圧勾配と気泡の体積振動により周囲の気泡には音響放射圧である Secondary Bjerknes 力が働き、気泡が集合し、集合気泡が2次超音波の波長間隔で整列するような安定状態が形成される(図2(a))。次に、ポンピング超音波の周波数を図2の上図に示すようにゆっくりと低下させる。このとき集合気泡の間隔は2次超音波の波長間隔であるので、ポンピング超音波の周波数の低下とともに2次超音波の周波数も低下し(2次超音波の波長が増加)、その結果、集合気泡の間隔が増加する(図2(b))。ポンピング超音波の周波数は、超音波振動式のQ値により下限が制限されるので、この下限に達した後、ポンピング超音波の周波数を周波数 $f_H$ にまで瞬時に上昇させる。これにより集合気泡は新たな分布で配置される。この後、ポンピング超音波の周波数を再びゆっくりと低下させると、集合気泡は2次超音波の波長の増加とともに流路壁面に押し付けられる(図2(c))。このような超音波照射シーケンスを繰り返すことで、流路壁面の気泡密度を向上させることができ、先の自己トラッピング法と組み合わせることで、ターゲット付近の気泡捕捉を促進できる。

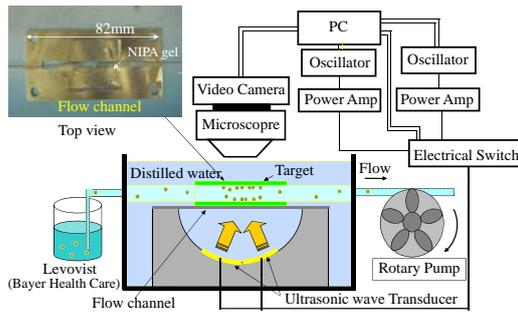


図3 実験系

図3に実験系の概要を示す。

実験に用いた超音波振動子のパラメータを以下に示す。凹面超音波振動子 (Fig. 5-1) で大きさは  $10 \times 10$  mm で曲率半径は 20 mm である。音圧や周波数、位相などは、振動子に接続した発振器によって制御を行なっている。凹面超音波振動子に接続した発振器は気泡トラッピング用に WF1974 (NF 回路設計)、また捕捉した気泡には比較的高い音圧の超音波を照射し、気泡を破壊し (キャビテーション)、流路壁面に微小孔を形成させたが (ソノポレーション)、ソノポレーション用として発振器 33120A, 33250A (Agilent) を用いた。必要な超音波の音圧を得るために、気泡トラッピング用超音波はパワーアンプ HL-450B (東京ハイパワー)、ソノポレーション用超音波にはパワーアンプ HL-100B DX (東京ハイパワー) をそれぞれ用いて出力を増幅し、超音波振動子に電圧を印加する。気泡トラッピング用の発振器とソノポレーション用の発振器はリレー回路によって PC 制御により切り替えて駆動する。実験に際し、凹面超音波振動子は同じ曲率半径 (20 mm) をもつアクリル製の振動子ホルダーに 2 枚の超音波振動子が中央を境にとりあうように設置した。また、凹面超音波振動子が発生させる音圧をあらかじめオランダ社のハイドロフォンプローブ HNR1000 を用いて測定した。この実験系の発振器はすべて PC に接続されており、PC において超音波照射シーケンスを設定できるようになっている。

図4に模擬流路を示す。今回、生体模擬ファントムとして用いた NIPA ゲルは、高分子ゲルの一種である。高分子ゲルとは高分子が

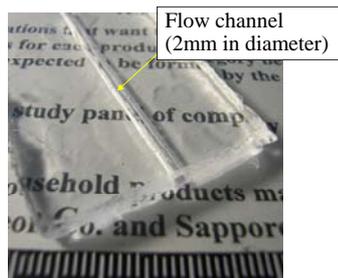


図4 模擬流路 (NIPA ゲル)

架橋されることで三次元的な網目構造を構成して、内部が溶媒によって膨潤されたゲルである。NIPA ゲルは透明度が高いため、外部から内部の観察が可能であり、高い加工性や自立性を持つ。また、生体組織に近い音響特性 (2-3%以下)、弾性 (8-20Pa) を持ち、可逆的な温度応答性を有する。これは、NIPA ゲルが  $33 \sim 35^\circ\text{C}$  程度に相転移温度があり、それ以下では親水性で溶媒を吸収し膨潤、それ以上では疎水性となり溶媒を放出するので体積が縮小し、白濁する。実験に用いた NIPA ゲルは、厚さ 4mm の NIPA ゲルの板に直径 2mm の円柱状の穴が空いた構造をモールド法で作成した。水中における超音波反射率が約 2.7% である。

#### 4. 研究成果

自己捕捉法の実験結果を図5に示す。

この図は流路壁面 (図では 1 方向と記載)

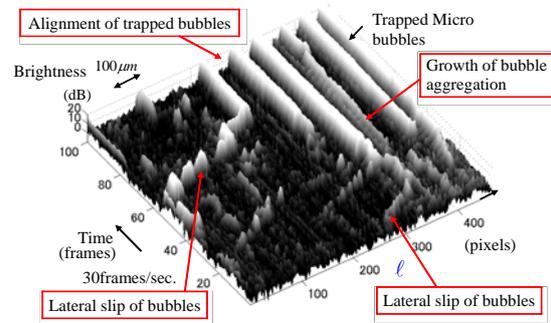


図5 自己捕捉法の結果

にある微小気泡の位置を光学顕微鏡で観察し、その時間的変化を 3 次的に図示したものである。超音波の照射が開始されると、気泡が Secondary Bjerknes 力により壁面を移動し、ほぼ等間隔に並ぶこと (図 1(a))、さらに等間隔に並んだ気泡が近隣の気泡を集め、集合気泡の大きさが大きくなること (図 1(b)) などのメカニズムが良くわかる。

図6に周波数掃引法の実験プロトコルを示す。

気泡として超音波造影剤であるレボビスト

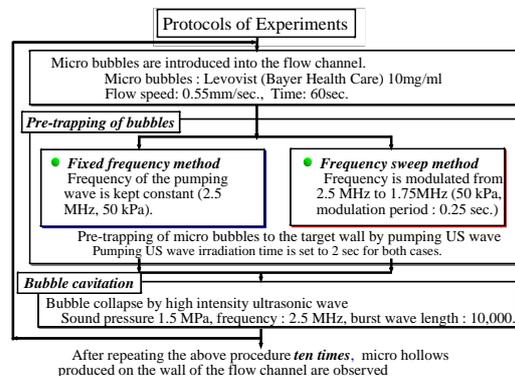


図6 実験プロトコル

を用い、流速を 0.55 mm/秒とした。周波数掃引法を用いない場合と比較した。周波数掃引法では超音波の周波数掃引範囲を 1.75MHz から 2.5MHz とし、周波数掃引を用いない場合には周波数を 2.5MHz に固定した、ともに音圧は 50kPa に設定した。気泡の捕捉のために 2 秒間トラッピング用超音波を照射し、その後、捕捉した気泡を破壊するために周波数 2.5MHz、音圧 1.5MPa、バースト長 10,000 の超音波を照射した。この捕捉、気泡破壊の実験を 10 回繰り返して、その後、気泡のキャビテーションにより生じた流路壁面の微小窪みを共焦点レーザー顕微鏡で観察した。

図 7 に周波数掃引法と周波数掃引を用いない従来法である周波数固定法で流路壁面に形成される微小窪みの等価半径の分布を示す。等価半径 1 ミクロン程度の微小孔が形成されているが、従来法に比べてここで開発した周波数掃引法ではより多くの微小孔が形成されていることがわかる。

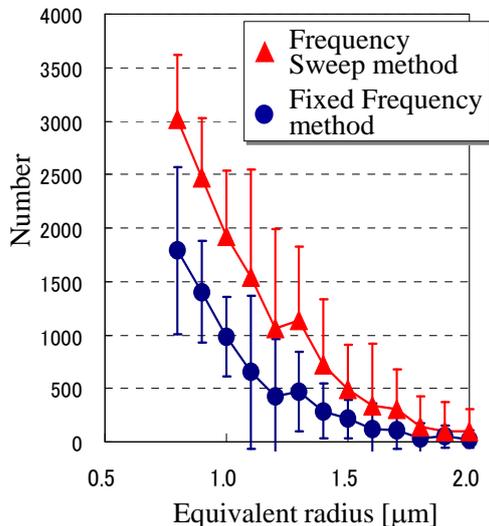


図 7 周波数掃引法と周波数固定法の比較

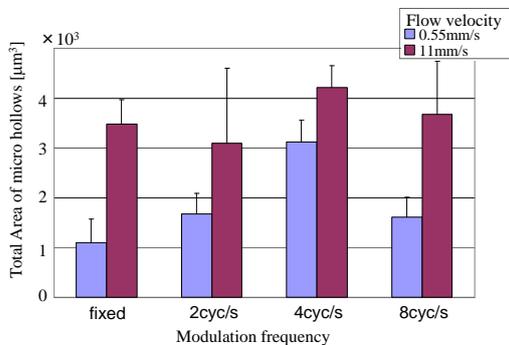


図 8 周波数掃引法における掃引速度の影響

図 8 に周波数掃引法における掃引速度の影響を実験的に求めた結果を示す。流速が小さい場合 (0.55mm/秒) では、1 秒間に 4 サイクル程度周波数掃引を行うと微小穴の総面積は最大になるが、流速が 11mm/秒になると、掃引速度の影響はあまり見られなくなった。これは流速が高くなると、流路中心部と流路壁面付近で流速の差が大きくなり、この結果、流路の中心に近いところを流れる気泡が流路壁面付近を流れる気泡を追い越す現象が生じ、この追い越しにより 2 つの気泡間には斥力が働きこれが周波数掃引と同様な作用を生み出しているためと考えられた。

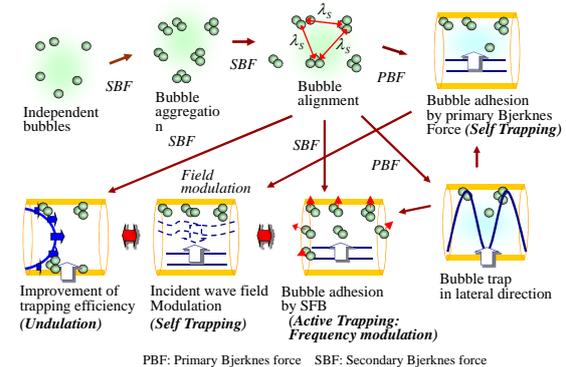


図 9 気泡間の相互作用と気泡捕捉への効果

図 9 に本研究で知見として得られた音響放射圧を介した気泡間相互作用とその気泡捕捉への応用を図示した。気泡に超音波を照射すると、Secondary Bjerknes 力により気泡が集合化し、集合気泡が 2 次超音波の波長間隔で並ぶようになる。このような気泡群は、超音波に対して高い感度を持つが、自己捕捉法で示したような、自己探索的なターゲットへの気泡捕捉が可能になる。この効果は気泡の集合化の程度とともに大きくなるので、DDS におけるターゲットング技術の高効率化のためには非常に有効なメカニズムである。一方、トラッピング超音波の周波数を特定シーケンスで掃引する周波数掃引法は、流路壁面付近の気泡密度を向上させるので、上記の自己探索型の気泡捕捉をさらに促進できる。

以上、本研究では超音波の音響放射圧を有効に用いた微小気泡の捕捉技術について、自己補足法とこれを増強する周波数掃引法という 2 つの方法を開発できた。今後、これらの DDS での有効性を検証していきたい。

### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕 (計 5 件)

- 1) Y. Yamakoshi and T. Miwa, Observation of Micro Hollows produced by Bubble Cloud Cavitation, Jpn. J. Appl. Phys., 51, (2012), In Press. 査読有
- 2) Y. Yamakoshi and T. Miwa, Effect of Ultrasonic Wave Irradiation Sequence in Micro Hollow Production Produced by Bubble Cavitation, Jpn. J. Appl. Phys., 50, 07HF01-1-5 (2011). 査読有
- 3) T. Miwa and Y. Yamakoshi, Dynamics simulation of microbubbles in ultrasonic wave field considering the secondary Bjerknes force, Key Engineering Materials, Vol. 459, pp. 271-276, (2011). 査読有
- 4) T. Miwa, Y. Yamakoshi, and T. Mashiyama, Optical scattering measurement of microbubble cloud dynamics in ultrasound, Jpn. J. Appl. Phys., Vol. 49, No. 7, pp. 07HF19-1-7, (2010). 査読有
- 5) Y. Yamakoshi, T. Miwa, N. Yoshizawa, H. Inoguchi, and D. Zhang, Effect of pre-trapping of microbubbles in sonoporation using N-isopropylacrylamide gel flow channel phantom, Jpn. J. Appl. Phys., Vol. 49, No. 7, pp. 07HF17-1-5, (2010). 査読有

[学会発表] (計 14 件)

国際学会 5 件

- 1) Y. Yamakoshi and T. Miwa, Observation of bubble cloud cavitation by confocal laser microscope, 3rd Int. conf. on Advanced Micro Device Engineering, Kiryu, (Japan), (2011.12.8).
- 2) Y. Yamakoshi and T. Miwa, "Evaluation of ultrasonic wave irradiation sequence in bubble cloud cavitation", Abst. on World Congress of Ultrasound in Medicine and Biology, Vienna, (Austria) (2011.8.24)
- 3) Y. Yamakoshi, H. Inoguchi, D. Zhang, H. Khorri, Y. Nakano, and T. Miwa, Bubble Cavitation Enhancement by Pumping Ultrasonic Wave, Int. conf. on Advanced Micro Device Engineering, Kiryu, (2010.12.10)
- 4) Y. Yamakoshi and T. Miwa, "Novel method of sonoporation in drug delivery system using frequency modulation of pumping ultrasonic wave", Int. conf. on Advanced Micro

Device Engineering, Kiryu (2009.12.11)

- 5) Y. Yamakoshi, T. Miwa, Y. Takahashi and H. Inoguchi, Effect of Pre-trapping of Micro Bubbles on Mechanical Damage Enhancement in Bubble Cavitation, 2009 IEEE Int. Ultrasonic Symp., Roma, Italy, September (2009.9.21).

国内学会 9 件

- 1) 山越芳樹, 郡裕路, 中野宜泰, 山口淳, 三輪空司, 気泡クラウドキャビテーションにより形成される微小窪みの観察, 第32回超音波エレクトロニクスの基礎と応用に関するシンポジウム, 京都, 2011年11月10日
- 2) 山口淳, 郡裕路, 中野宜泰, 小澤知享, 山越芳樹, 三輪空司, キャビテーションにおける気泡クラウドの挙動についての実験的検討, 日本超音波医学会関東甲信越地方会 23 回学術集会, 東京, 2011年10月30日
- 3) 中野 宜泰, 山越芳樹, 三輪空司, 気泡クラウドからのソノポレーションについての実験的検討, 日本超音波医学会第84回学術集会, 東京, 2011年5月27日
- 4) 郡 裕路, 山越芳樹, 三輪空司, ソノポレーションにおける超音波照射シーケンスの検討, 日本超音波医学会第 84 回学術集会, 東京, 2011年5月27日
- 5) 山越芳樹, 三輪空司, 気泡キャビテーションにおけるポンピング超音波の周波数変調の効果, 第31回超音波エレクトロニクスの基礎と応用に関するシンポジウム, 東京, 2010年12月6日
- 6) 山越芳樹, 気泡キャビテーションにより生じるゲル流路内面の微小窪みの評価, 日本超音波医学会関東甲信越地方会 22 回学術集会, 東京, 2010年10月30日
- 7) 山越芳樹, 吉澤伸幸, 井野口博輝, 郡裕路, ノルスリアナ ファティハ, 三輪空司, 生体模擬流路でのキャビテーション観察による微小気泡プリトラッピングの検討, 日本超音波医学会第 83 回学術集会, 京都, 2010年5月31日
- 8) 三輪空司, 山越芳樹, 増山知東, 超音波中の微小気泡群ダイナミクスの光散乱計測, Ultra Sonic Electronics Symposium, 京都, 2009年11月20日
- 9) 三輪空司, 山越芳樹, 高橋悠二, 音響放射圧場中での気泡群ダイナミクスの三次元シミュレーション, 日本超音波医学会, 東京, 2009年5月22日

〔図書〕（計 0 件）

〔産業財産権〕

○出願状況（計 0 件）

○取得状況（計 0 件）

〔その他〕

なし

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

山越 芳樹 (YAMAKOSHI YOSHIKI)  
群馬大学・大学院工学研究科・教授  
研究者番号：1 0 1 7 4 6 4 0

### (2) 研究分担者

三輪 空司 (MIWA TAKASHI)  
群馬大学・大学院工学研究科・教授  
研究者番号：3 0 3 1 3 4 1 4

### (3) 連携研究者

なし