

図 2)-2-1-9 に示す構成の実験系を構築し、まず相変化ナノ液滴を封入したポリアクリルアミドゲルファントム、続いて皮下に Colon26 腫瘍を移植したマウスを用いて検討を行った。予備検討により図 2)-2-1-10 に示すシーケンスを、安定的に超音波診断装置によるモニターを行いながら相変化および治療を行うためのベースとして用いることに決定し、以下の実験を行った。まず、ゲル中にてキャビテーション生成が生じるかどうか、および、それが超音波診断装置にて観察可能かどうかを検討した。

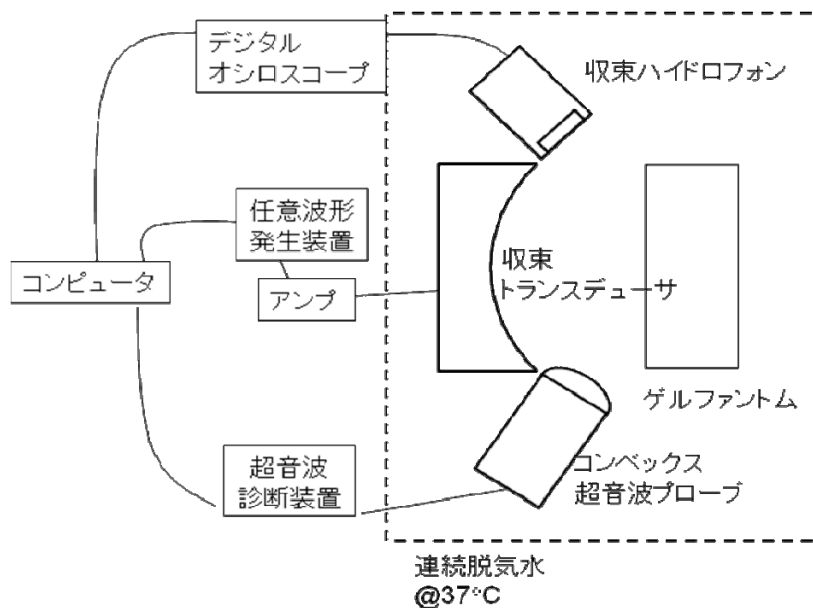
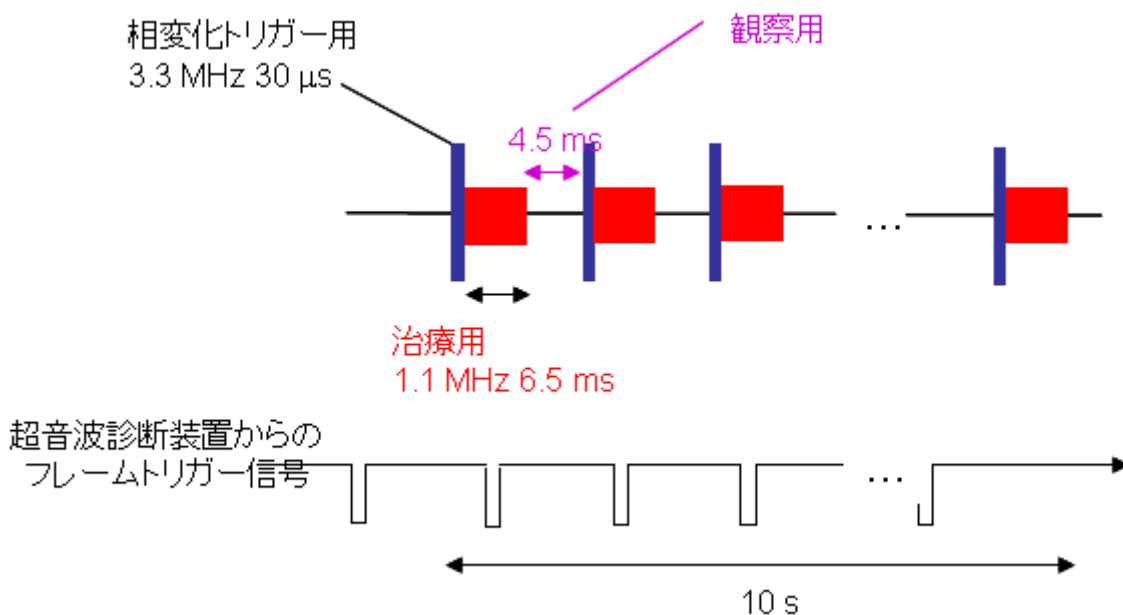


図 2)-2-1-9 超音波照射実験系

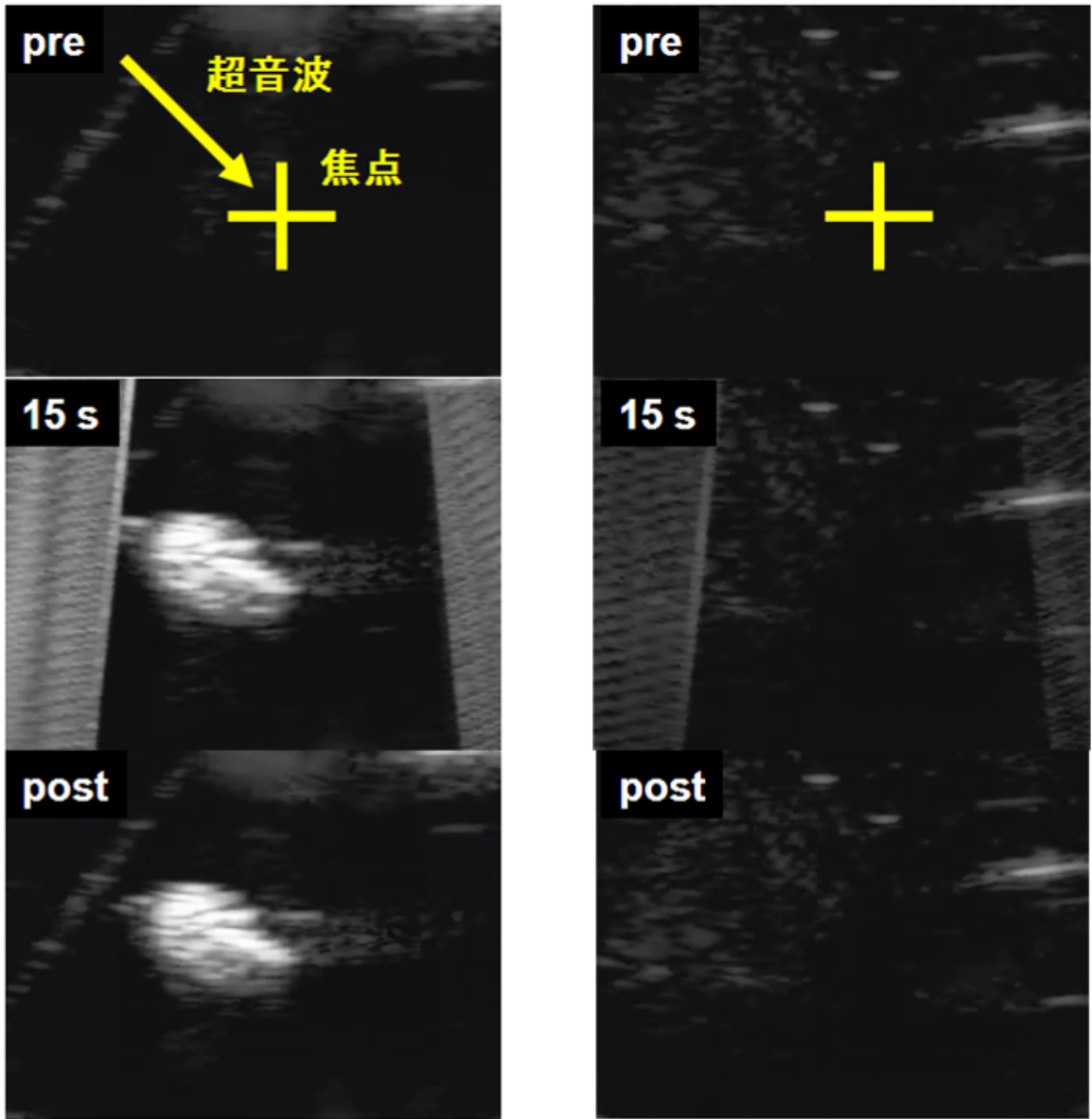


図

2)-2-1-10 治療用シーケンス概念図

図 2)-2-1-11 に、相変化ナノ液滴を 20ppm の濃度で封じ込めた 7.5%ポリアクリルアミドゲルに超音波を照射した際の画像の変化を示す。対照として、相変化用のトリガーパルスを照射しない場合の結果を合わせてしめす。また、図 2)-2-1-12 に対照として相変化ナノ液滴が入っていないゲルでの結果および相変化ナノ液滴の perfluoropentane および perfluorohexane の代わりに perfluorooctane を用いて液滴化した非相変化ナノ液滴を用いた場合の結果を示す。図 2)-2-1-11 および図 2)-2-1-12 から明らかなように、相変化ナノ液滴が存在し、かつ、相変化用のトリガー超音波が照射された場合のみ、画像上焦点位置に変化が見られた。相変化ナノ液滴が入っている場合に見られた画像変化がキャビテーションを可視化したものかどうかを確認するため、収束ハイドロフォンを用いて超音波照射時の音響信号を取得した。図 2)-2-1-13 に音響信号およびその周波数解析結果を示す。対照として、相変化用のトリガーパルスを照射しない場合の結果を合わせてしめす。また、図 2)-2-1-14 に対照として相変化ナノ液滴が入っていないゲルでの結果および相変化ナノ液滴の perfluoropentane および perfluorohexane の代わりに perfluorooctane を用いて液滴化した非相変化ナノ液滴を用いた場合の結果を示す。図 2)-2-1-13 および図 2)-2-1-14 より明らかなように、図 2)-2-1-11 において輝度変化が見られた相変化ナノ液滴が入っていてかつ相変化用トリガー超音波を照射した場合のみに、キャビテーション生成時に特異的に観察される分調波成分（基本波の $1/2$ の周波数成分）およびその分数調波成分（基本波の $1/4$, $1/3$, $2/3$, $3/4$ ）が著しく生成していることがわかる。それ以外の結果においては、分調波は全く見られず、また、気泡が振動すると生じる第二高調波もほとんど観察されない。これらの結果より、図 2)-2-1-11 のシーケンスによる超音波照射は、相変化ナノ液滴存在時に相変化用トリガーを照射した場合のみ気泡を生成し、その気泡を核としてキャビテーションを起こしていると推測される。このような選択的な、部位限定的な治療を行うには最適である。特に非相変化ナノ液滴ではまったくキャビテーションが見られないことは、「ターゲット部位のみでマイクロバブルを生成し、そのマイクロバブルの存在する部位のみを治療する」という本開発の基本概念が実証されていることを意味するため、極めて重要である。相変化ナノ液滴により選択性と安全性とを両立可能であることが原理的に立証されたことになる。

1cm



PCND (+)
トリガー(+)

PCND (+)
トリガー(-)

図 2)-2-1-11 超音波照射時の画像上の変化(1)

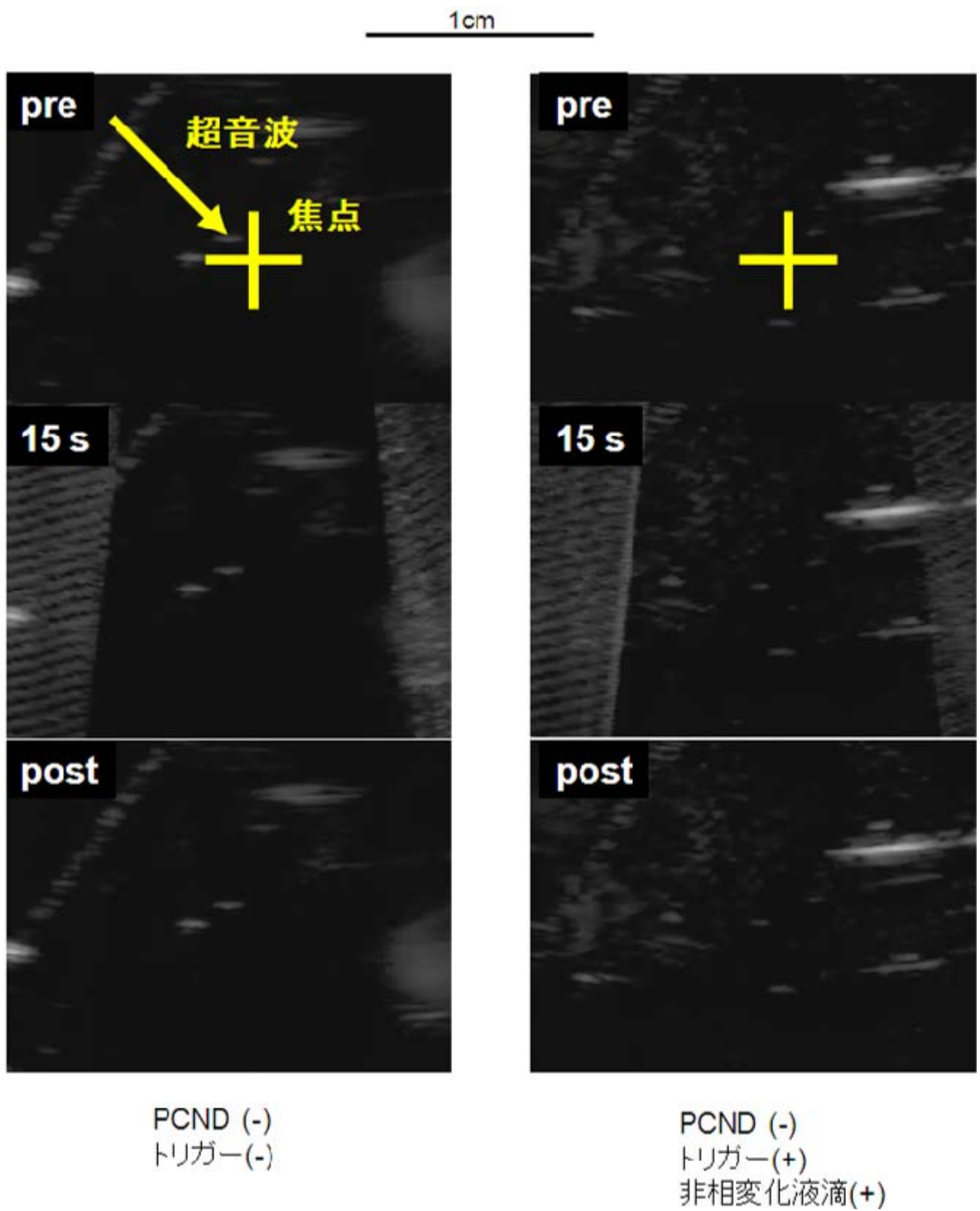


図 2)-2-1-12 超音波照射時の画像上の変化(2)

PCND (+)トリガー(+)

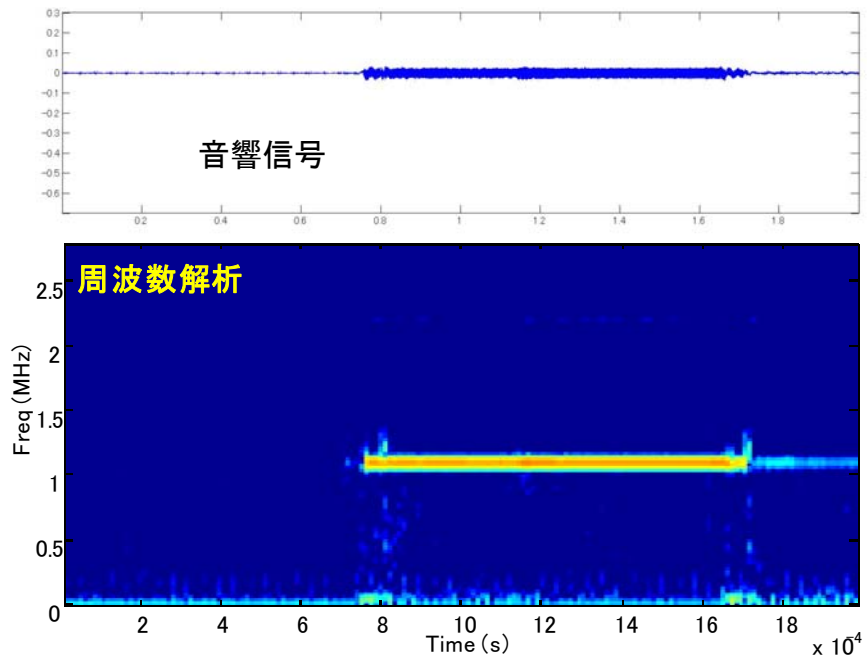
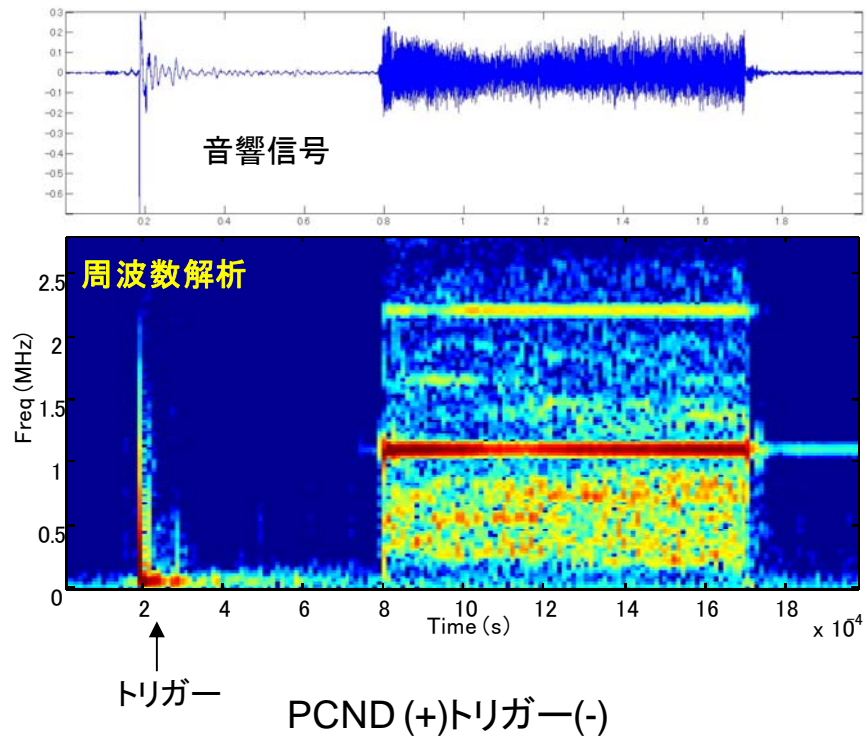


図 2)-2-1-13 超音波照射時の音響信号およびその解析結果(1)

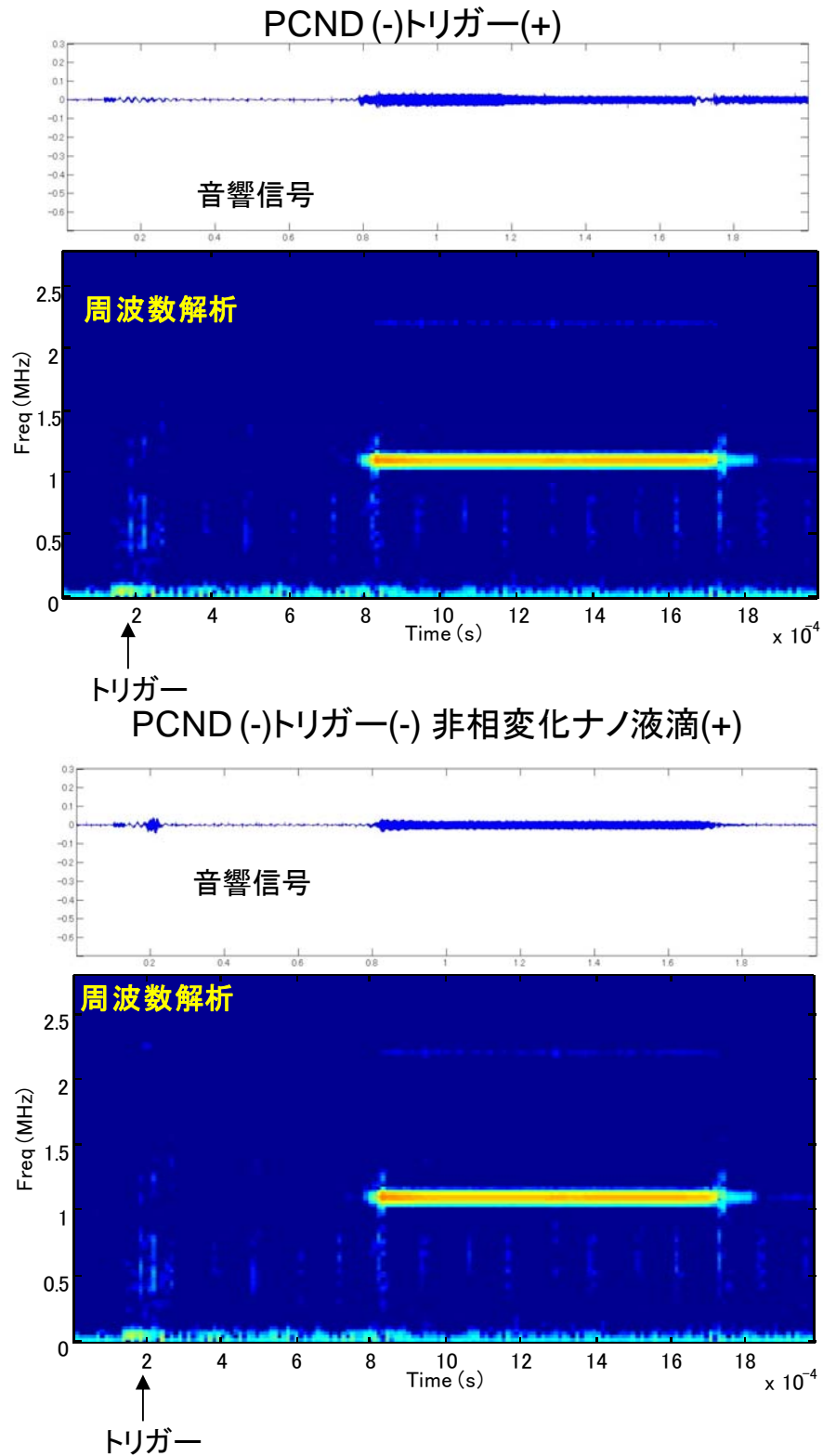
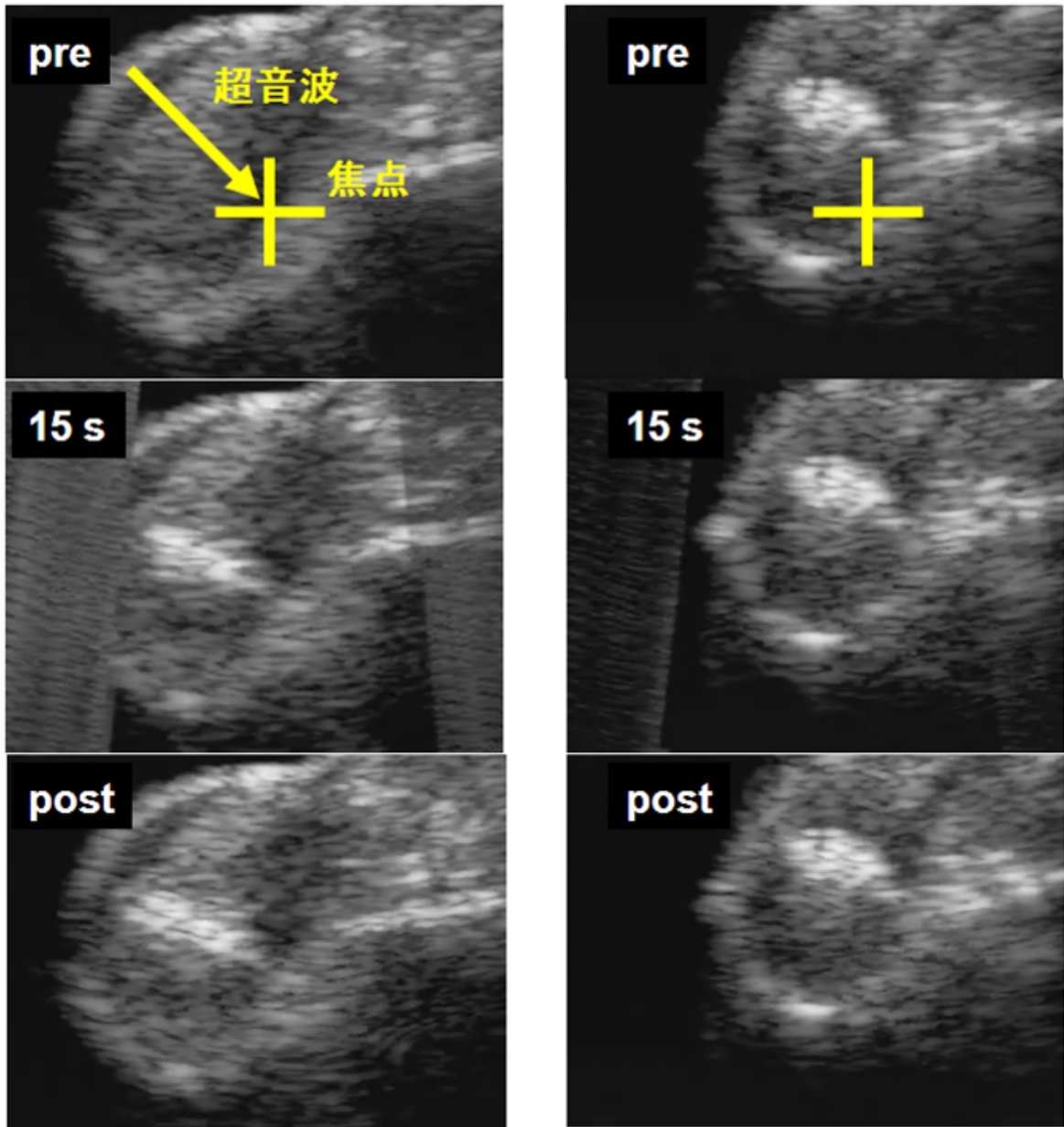


図 2)-2-1-14 超音波照射時の音響信号およびその解析結果(2)

以上の知見を元に、マウス皮下に移植した Colon26 実験腫瘍に対する効果を調べた。図 2)-2-1-15 に図 2)-2-1-10 に示すシーケンスで照射した際の超音波画像の変化を示す。対照とし

て、相変化用のトリガーパルスを照射しない場合の結果を合わせてしめす。また、図 2)-2-1-16 に対照として相変化ナノ液滴が入っていないゲルでの結果および相変化ナノ液滴の perfluoropentane および perfluorohexane の代わりに perfluorooctane を用いて液滴化した非相変化ナノ液滴を用いた場合の結果を示す。図 2)-2-1-15 および図 2)-2-1-16 から明らかなように、相変化ナノ液滴が存在し、かつ、相変化用のトリガー超音波が照射された場合のみ、画像上焦点位置に変化が見られた。すなわち、ゲルファントムを用いて行った実験と全く同じ結果が得られた。また、相変化ナノ液滴および相変化用トリガーが存在する状態で超音波を照射した後の腫瘍の断面を図 2)-2-1-17 に示す。輝度変化が生じた部位に組織ダメージが生じていることがわかる。なお、ダメージは主に焦点部位では観血的、焦点よりも手前では非観血的であり、焦点でキャビテーションが起り、その気泡の働きで焦点よりも手前で超音波が反射し、加熱作用が生じたものと考えられる。この断面は超音波照射直後に得られたものであり、急速な組織変化が生じたことを意味している。この結果はゲル実験にて実証された本開発の基本概念がさらに生体内にて有効に働くことを証明したことになる。

1cm



PCND (+)
トリガー(+)

PCND (+)
トリガー(-)

図 2)-2-1-15 マウス腫瘍への超音波照射の効果(1)

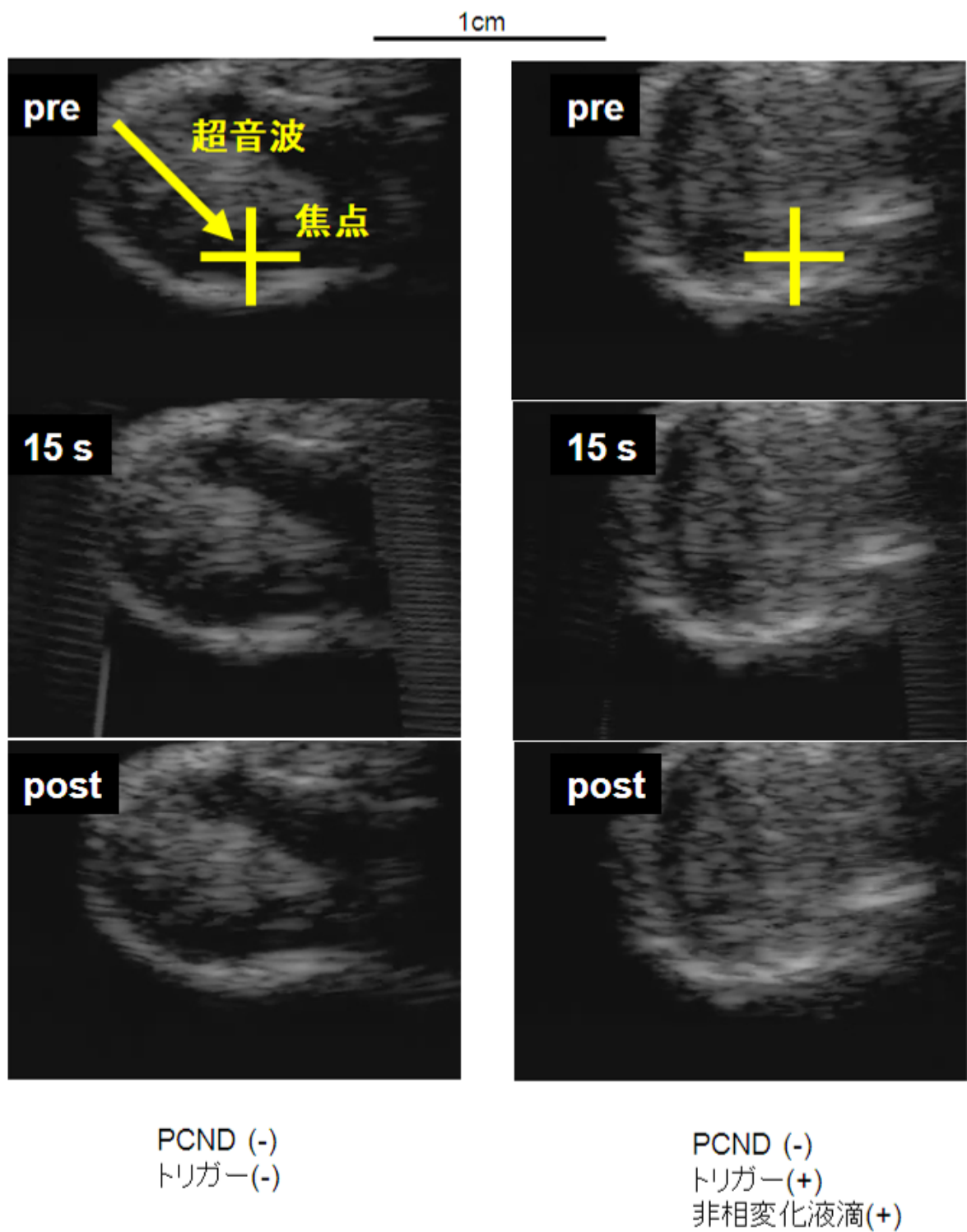


図 2)-2-1-16 マウス腫瘍への超音波照射の効果(2)

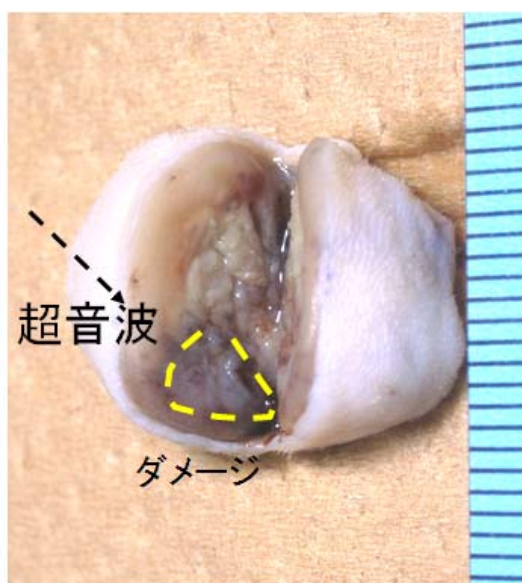


図 2)-2-1-17 超音波照射直後のマウス腫瘍剖面

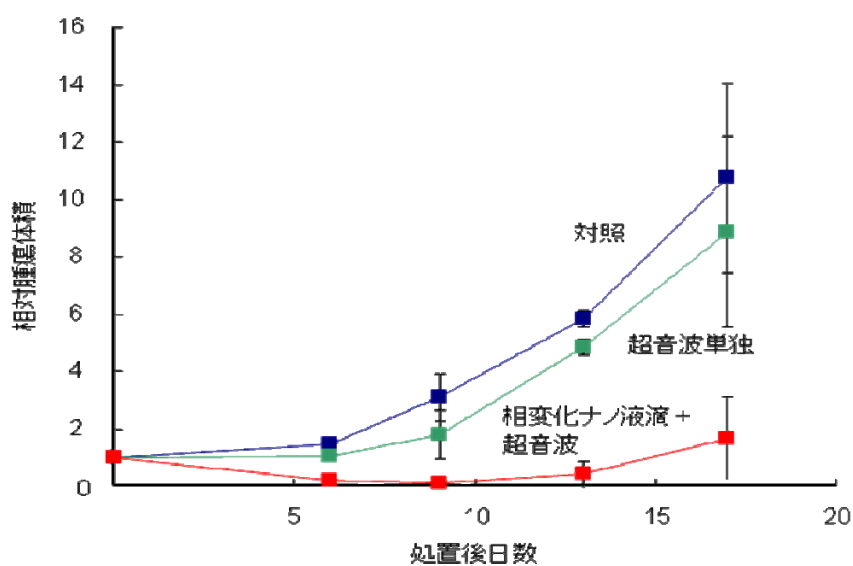


図 2)-2-1-18 マウス腫瘍増殖に対する相変化ナノ液滴および超音波の効果

この結果を基に、さらに腫瘍全体に超音波照射を行うことにより腫瘍増殖に関する効果を確認する実験を行った。結果の一例を図 2)-2-1-18 に示す。図から明らかなように、この超音波強度単独ではほとんど抗腫瘍効果は見られないが、相変化ナノ液滴が存在する場合に顕著な抗腫瘍効果が見られており、観察を続けた間ほとんど腫瘍の増殖が見られていない。治療 17 日後における治療群の腫瘍体積はコントロール群の約 14%であることから、本治療法の抗腫瘍効果は顕著である。

以上のように、図 2)-2-1-10 に示す超音波照射シーケンスは、相変化ナノ液滴から生成したマイクロバブルを用いる超音波治療用のシーケンスとして優れていることが明らかになった。

まとめ

1-10 MHz の周波数範囲で、相変化ナノ液滴を原料として生成されたマイクロバブルを増感剤として用いて腫瘍治療を行うためのシーケンス開発を行った。当初は加熱凝固とキャビテーション効果を別個に最適化する方針で検討を行ったが、1 MHz 周辺の低周波領域を用い、新規に開発した相変化-治療同期間欠照射手法により加熱凝固治療効果とキャビテーション治療効果が同時に得られることが明らかになった。相変化-治療同期間欠照射手法により、超音波強度 200 W/cm² において照射時間換算 1 秒以内に加熱凝固に達し 1 分持続可能であることが示された。さらに本照射シーケンスを用いてマウス皮下移植腫瘍に対する抗腫瘍効果を検証した結果、2 週間以上腫瘍の再増殖が見られなかった。

治療用超音波照射装置

背景

ナノ液滴が相変化することにより生成されるマイクロバブルの超音波加熱作用増幅効果や非熱的キャビテーション作用を用いた治療を行う超音波シーケンスを実現するためには、適切な周波数および強度の超音波を治療目標部位に集束させることが重要である。このような患部への超音波の集束を可能とする治療用超音波照射装置の開発を行った。その構成は、治療目的腫瘍を照準するための超音波撮像を行う超音波診断ユニットに、治療用強力超音波を発生する超音波治療ユニットを組み合わせるのが一般的である。従って、相変化用超音波照射は、超音波診断ユニットにより照射される形態であっても、超音波治療ユニットによる形態であってもよい。2)-1-2 では、超音波診断ユニットによる相変化照射シーケンスを研究開発したが、本章に記す研究開発では、超音波治療ユニットによる相変化用超音波照射を可能とすることを前提として、可変フォーカス型超音波治療ユニットを開発した。これにより、相変化用超音波照射が必ずしも可能でない通常の超音波診断ユニットを組み合わせることにより、治療用超音波照射装置を構成できる。

開発の要素技術としては高出力多素子トランスデューサと、それを電気的に駆動する多チャンネル高出力ビームフォーマからなる。通常の可変フォーカス型撮像システムに比べ、治療用システムの場合、出力すべき超音波のエネルギーが 100 から 1000 倍に大きくなるため、材料選定の見直しや耐熱性の向上など、大きな変更が必要となった。強力超音波による加熱凝固治療は、数十年にわたって研究開発されてきており、その実現するのに必要な超音波出力仕様については、ほぼ明らかになっている。従って、加熱凝固治療機能のみに限れば、その実現に必要な高出力多素子トランスデューサと多チャンネル高出力ビームフォーマの仕様は、本開発開始時の知識をもとに決定できるものであった。これに対し、相変化用に必要な超音波出力仕様については、本開発開始時には明らかになっておらず、開発過程でそれを明らかにしながら、相変化と加熱凝固とを同時に可能とする高出力

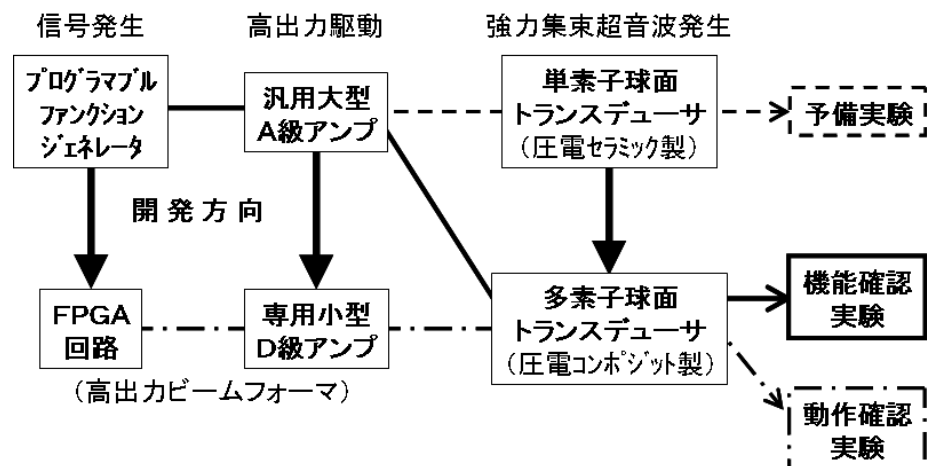


図 2)-2-2-1 本開発における治療用超音波照射装置の開発プロセス

多素子する高出力多素子トランスデューサと多チャンネル高出力ビームフォーマの仕様を暫定的に決定して試作し、その仕様が充分であったことを実験によって確認するという過程を踏まなければならない。そこで、図 2)-2-2-1 に示すようなプロセスに従って治療用超音波照射装置の開発を行った。

まず、臨床的実用化段階においてあるべき装置構成を考える。可変フォーカス型超音波照射を可能にするには、多素子トランスデューサとその個々の素子を駆動する多チャンネル高出力アンプおよびその個々の入力信号を発生する回路セットが必要である。必要な素子数を見積もると、体表より 10 cm 程度の距離を加熱に適当な 1 MHz 程度の超音波周波数を用いて、電子フォーカスにより最大 0.5 cm の焦点移動を可能とするには、球面状に配列した 100 から 200 個程度の素子が必要である。これほど多数な素子を汎用の A 級 RF アンプにより電氣的インピーダンス整合をとりながら独立に駆動するのは、装置スペース・重量・コスト的に非現実的である。大型化する最大の原因は、電氣的インピーダンス整合を取るためには、トランスデューサ側に供給する大きな電力と同じ電力を A 級アンプ側で常に消費せねばならず、それを熱として逃がさなければならないからである。電氣的インピーダンス整合をとらない設計の専用の D 級 RF アンプを開発すれば、この問題は解消する。インピーダンス不整合により懸念される 2 m 程度の長さの駆動ケーブル両端での反射は、1 MHz における電気長は 300 m 程度であるので、実用上問題にならない。また、多チャンネル D 級 RF アンプに要求される入力デジタル信号は、小型の FPGA 回路により生成できる。

上記のような臨床的実用化段階までに到達すべき装置構成を念頭に、それに至る前段階として、圧電コンポジット製多素子球面トランスデューサに代えて圧電セラミック製単素子球面トランスデューサを、専用小型 D 級アンプに代えて汎用大型 A 級アンプを、FPGA 回路に代えて A 級アンプ用入力信号も生成できるプログラマブル・ファンクション・ジェネレータを起用した構成により研究開発を進めた。以下、個々の要素の開発について記す。

単素子球面トランスデューサの開発

相変化ナノ液滴を利用した高効率超音波治療に適合する超音波照射シーケンスの基礎検討に適した単素子球面トランスデューサ各種を設計・製作・性能評価した。

1) 仕様

① 入力チャンネル数

相変化ナノ液滴を利用した高効率超音波治療に適した超音波照射シーケンスの基礎検討のための超音波照射実験を、少ない装置数による構成で可能とするため、1つの同軸入力端子からの電気入力により超音波照射可能な単素子トランスデューサとした。

② 超音波周波数

治療標的組織の体表からの距離を数cmから10cm程度とすると、それを加熱凝固するのに適した超音波周波数は1から数MHzであることは、生体組織による超音波減衰を考慮した理論や、超音波加熱凝固治療の臨床応用実績により、ほぼ確立されている。一方、相変化型ナノ液滴を相変化させるのに適した超音波周波数については、予備的実験が進められているものの確立されてはいない。そこで、照射可能超音波周波数の範囲をサブMHzから10MHz弱とし、複数のトランスデューサによりこれをカバーすることとした。

③ 集束度

超音波治療において、治療標的組織に対して使用可能な生体の超音波“窓”は、体内のガスや骨の存在により限られており、使用するに適切な集束度はFナンバー(=焦点距離/開口径)1程度以上であることは、超音波加熱凝固治療の臨床応用実績により、ほぼ確立されている。そこで、集束度はFナンバー1とした。

④ 焦点距離

水槽中における実験に都合がよいよう焦点距離は2cmから8cmとした。

⑤ 電氣的インピーダンス

相変化ナノ液滴を利用した高効率超音波治療に適した超音波照射シーケンスの基礎検討のための超音波照射実験を、100V15Aの電源により動作するパワーアンプ1台(例えばENI2100L)で可能とするため、また、ナノ液滴相変化用に数波長の比較的短いパルス波を照射できるようにするために、パワーアンプの出力インピーダンス50Ωとインピーダンス整合をとる必要がある。そこで、超音波照射面を水中に没したときの電氣的インピーダンスを位相まわり0の周波数において

40Ωから75Ωとした。

⑥ 超音波出力

臨床応用に適した10s以内の超音波照射により生体組織を加熱凝固するのに必要な超音波出力は、超音波周波数とビーム幅に強く依存する。本開発では、ナノ液滴を相変化させて得るマイクロバブルによる増感効果を用いることを想定しているが、比較実験のため、超音波照射単独による加熱凝固も可能であることが望ましい。一方、主な使用目的は、水槽中の基礎検討実験であるので、その目的にあった出力仕様が適当である。そこで、100V15Aの電源により動作するRFパワーアンプ(例えばENI2100L)に接続し、その最大出力で10s程度連続動作させたとき、超音波を連続出力可能なこととした。

2) 構造



図 2)-2-2-2 開発した単素子球面トランスデューサの例 (左 : 0.8MHz 右 : 8MHz)

100V 15Aの電源により動作するRFパワーアンプ1台による駆動による超音波照射で、生体組織を加熱凝固するのに必要な超音波出力を得ることを目標に、機械的損失が最小となるエアバック構造をとった。また、Fナンバー1を実現するため、曲率半径と直径の等しい球殻状圧電セラミックを用い、球殻の内面を水槽中の水にふれる接地電極、アルミ合金製ハウジングに隠れる球殻の外表面すなわちエアバック側をhot電極とした。図2)-2-2-2に開発したトランスデューサの例を示す。

周波数サブMHzから10MHz弱の1桁を超える範囲にわたり、一定の圧電材料の一定のモードを用いて圧電トランスデューサの電気的インピーダンスを一定に保つには、その面積を周波数の自乗にほぼ反比例させて変化させる必要がある。Fナンバーを1に固定して、その焦点距離を2cmから8cmという2オクターブの範囲に留めるのは不可能である。そこで、圧電体として、富士セラミックス製の複数種類の圧電セラミック材C-213、C-206、C-82、M-5から適切な電気的インピーダンスをもつ圧電材を周波数に合わせて選択し、エアバック構造として水中に没したときの電気的インピーダンスが50Ω近辺となるよう直径をチューニングした。

3) 超音波出力の較正

① 方法

個々の超音波トランスデューサについて、電子天秤を用いて放射圧を測定することにより連続波出力時の超音波出力を測定し、電気入力および印加電圧の自乗との比例関係を確認、比例係数を求めた。超音波トランスデューサよりも一回り大きな軽量容器の底面に超音波吸収性ポリウレタン材であるSorbothaneを敷き、これに脱気水を満たして超音波発生面を下向きにトランスデューサを水没さ

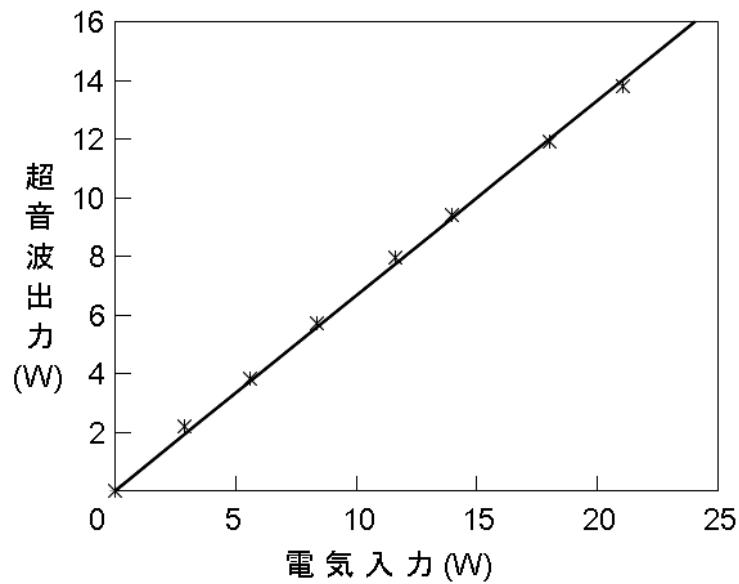


図 2)-2-2-3. 超音波出力較正結果の例（超音波周波数 0.8MHz）

せる。そして、超音波照射時と非照射時の電子天秤の表示値の差から、超音波照射による放射圧を計算した。電気入力パワーは、超音波トランスデューサ入力端子電圧の自乗と入力電気インピーダンスから算出した。

② 結果の例と考察

上記のようにして較正した結果の例を図 2)-2-2-3 に示す。図中、原点を起点とする半直線は、測定結果に最小自乗フィットさせて求めたものである。超音波出力は電気入力パワーによく比例しており、その変換効率は、70%程度と、超音波トランスデューサとしてはかなり高い。

4) パルス特性

① 必要性

相変化型ナノ液滴を相変化させるのに適した超音波照射シーケンスについては、予備的実験が進められているものの確立されてはいない。そこで、それを検討するための超音波トランスデューサが、上記のように高い効率と有するだけでなく、優れたパルス特性をも有していれば、実験により探索できる範囲が広がるので、これをめざした。

② 評価方法

プログラマブル・ファンクション・ジェネレータ（出力インピーダンス 50 Ω）により超音波トランスデューサの共振周波数の正弦波半波長のパルスを生成して、脱気水中に没したトランスデューサを駆動する。発生した超音波パルスを焦点付近において広帯域ハイドロフォンで受信し、デジタルオシロスコープにより波形を観察した。次に、同じく、プログラマブル・ファンクション・ジェネレータにより、先の正弦波 1 波長のパルスに対し遅延させた正弦波半波長 2 つ目のパルスを加えた信号を生成して、トランスデューサを駆動し、受信した超音波パルスの長さが最小となるよう 2 つ目のパルスの振幅を調整し、波形を観察した。

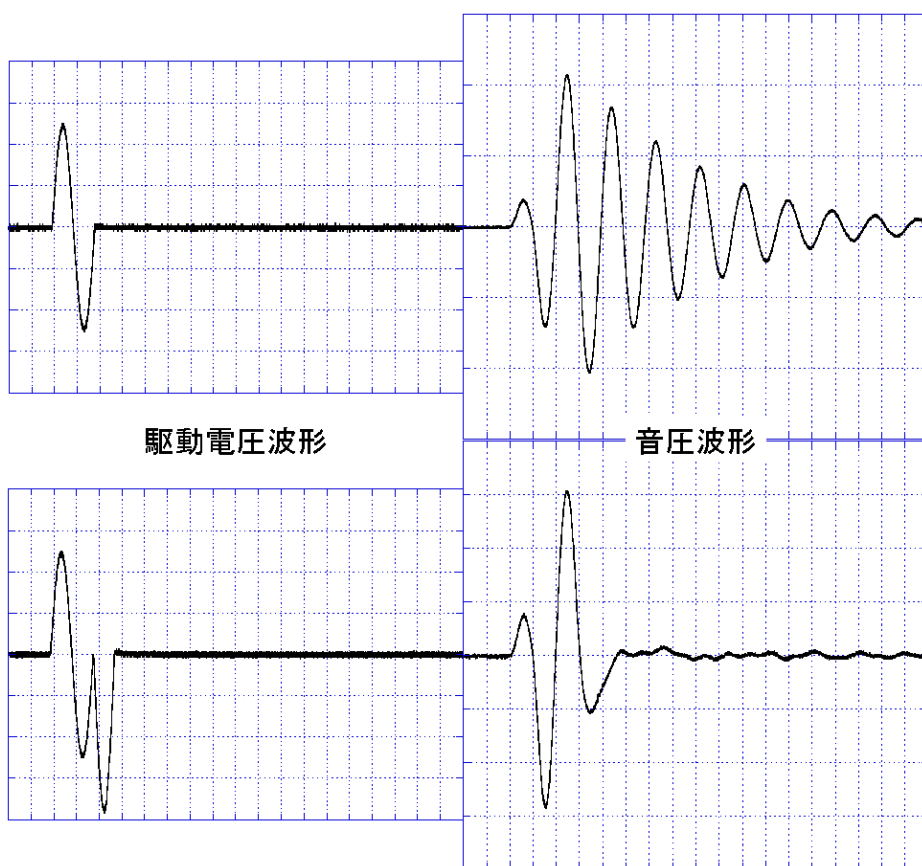


図 2)-2-2-4 超音波パルス送信波形の測定例（超音波周波数 0.8MHz）

③ 結果の例と考察

上記のように生成した超音波パルスを受信した音圧波形の例を図 2)-2-2-4 に示す。電氣的インピーダンス整合が取れているために、エアバック型の低ダンピングトランスデューサとしては比較的短い超音波パルスが生成されている。特に、下段の超音波パルスは、エアバック型トランスデューサとして特筆すべき短さである。

5) フォーカス特性の検討

① 必要性

開発した単素子球面トランスデューサは、超音波治療を想定した基礎検討に供するものなので、そのフォーカス特性は超音波治療に適するものであるべきである。この点を検討した。

② 方法

(1) 実験方法

開発した単素子球面トランスデューサ（共振周波数 3.46 MHz、直径および曲率半径 24 mm、C 213 材）を脱気水中で A 級 RF パワーアンプにより連続波駆動し、形成される音場について、ハイドロフォンを機械的に走査しながら、その出力信号の振幅と位相をデジタルオシロスコープにより計測した。

(2) 時間反転法

計測された焦点面上の音圧振幅と位相をもとに、位相を反転し、焦点面から音源へ向け逆方向に音波を仮想的に照射することにより音源における音場を得て、位相を再び反転させて、本来の音源における音場を得た。

(3) 音場形成シミュレーション方法

音源と伝播双方に線形重ね合わせの原理が成り立つことを仮定し、音源上に半波長以下の間隔で仮想的点音源を多数おいて計算した。

(4) トランスデューサの振動解析方法

有限要素法により解析する。解析ソフトウェアはP Z F l e xを用いた。

③ 結果と考察

(1) 伝播軸上の音場

計測された超音波音場を、数値シミュレーションにより理論的に得られる音場と比較して、その伝播軸上の音圧を図2)-2-2-5に示す。特に、焦点ロブの前方において、2次的ロブの音圧が理論音場よりも2倍程度も高まっており、治療用の音場として見る場合、治療目標組織外に副作用を及ぼす可能性を上げる要因として懸念される。

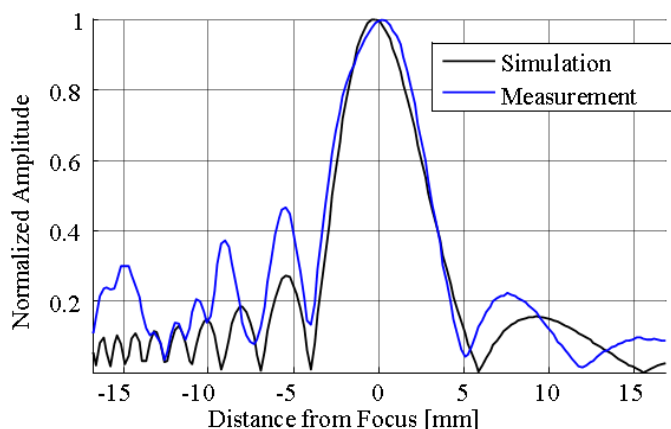


図 2)-2-2-5. 伝播軸上の音圧 (超音波周波数 3.46MHz)

(2) 焦点面の音場

2次的ロブの音圧が高くなる上記の問題を解明する手掛りとして、焦点面上の音場の音圧と位相を合わせて測定した。その結果を、数値シミュレーションにより理論音場と比較して、図2)-2-2-6に示す。方位方向の音場において、中心軸から3-4 mm離れたところに理論音場より高い音圧分布が観測されており、軸上の2次的ロブとの関連が気になるところである。

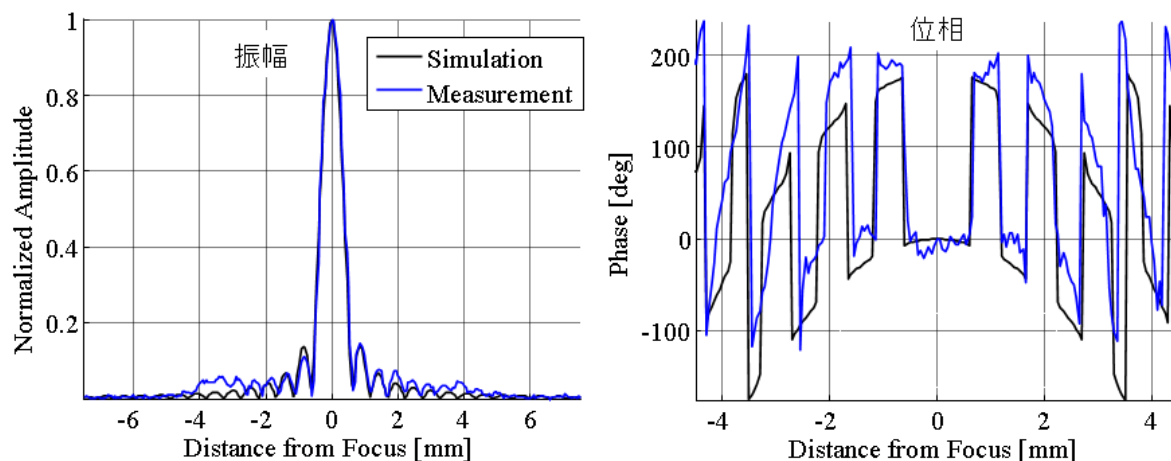


図 2)-2-2-6. 焦点面上の音圧 (超音波周波数 3.46MHz)

(3) トランスデューサ面上の音場

図 2)-2-2-6 に示した焦点面上の計測音場と理論音場をもとに、時間軸反転法を用いて、音源であるトランスデューサ面における音場を求めた結果を、図 2)-2-2-7 に示した。理論音場の振幅が単純な矩形関数になっていないのは、焦点面音場の計測範囲が有限で打ち切られていることにより生ずる Gibbs 現象の一種である。計測音場には、理論音場にはない大きな振幅と波長のリップルが見える。

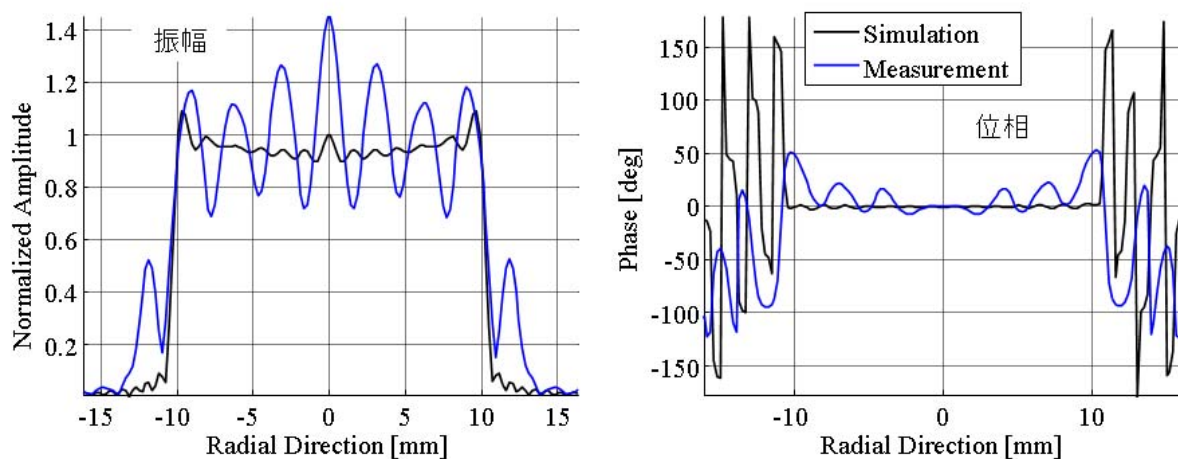


図 2)-2-2-7. トランスデューサ面上の音圧 (超音波周波数 3.46MHz)

(4) トランスデューサ沿面伝播成分

求められたトランスデューサ面上における図 2)-2-2-7 に示した振幅・位相をもつ音場を Fourier 変換すると、リップル成分に対応するトランスデューサ面に沿ってその縁から中央へ伝播する成分が見出された。この成分が、トランスデューサ面から、それに対して一定の角度をもつ波を放射した結果、図 2)-2-2-8 に示すように、伝播軸上に不要応答が形成されたものと考えられた。

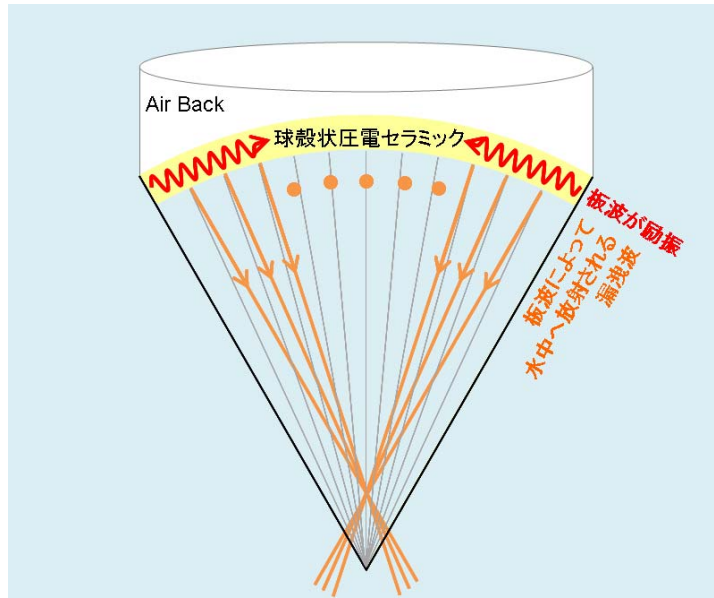


図 2)-2-2-8. トランスデューサ沿面伝播成分と軸上不要応答

数値計算上、この空間周波数成分をトランスデューサ面上の音場から除き、トランスデューサ面から再伝播させて、軸上音圧を求めると、図 2)-2-2-9 中、緑の曲線で示したようになる。軸上不要応答が除かれており、トランスデューサ沿面伝播成分が伝播軸上不要応答の主原因であったことがわかる。

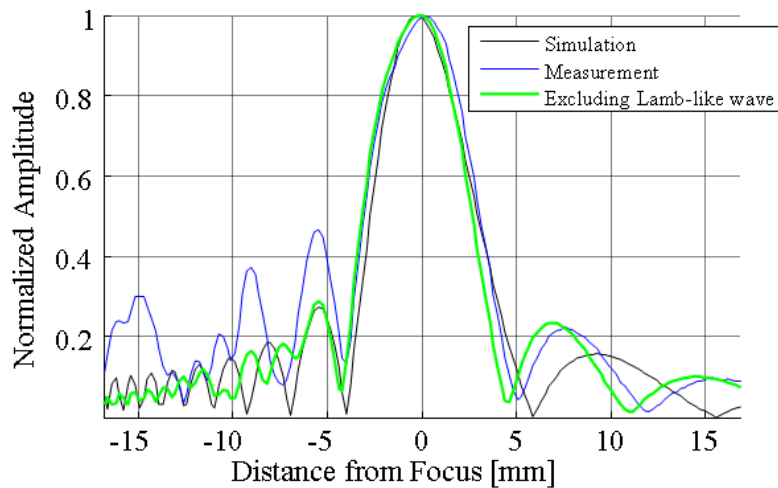


図 2)-2-2-9. トランスデューサ沿面伝播成分と軸上音場（超音波周波数 3.46MHz）

(5)有限要素法による振動解析

実験に用いた球殻状トランスデューサに圧電的に励起される振動を有限要素法により解析した。その 1 例を図 2)-2-2-10 に示す。対称モードの板波が励起されている。その波長、伝播の位相速度、伝播方向は、図 2)-2-2-7 に示したトランスデューサ面上の音場とよく一致し、このモードが、軸上不要応答の主原因であったと考えられる。

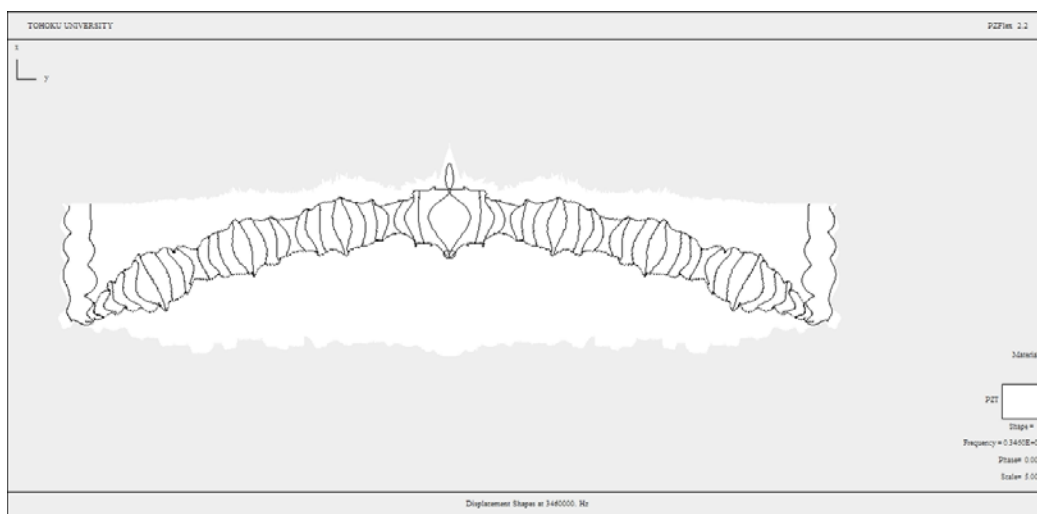


図 2)-2-2-10. 有限要素法による振動解析の 1 例（超音波周波数 3.46MHz）

(6) 板厚 3 倍化による伝播軸上不要応答の抑制

伝播軸上不要応答の主原因が図 2)-2-2-10 に示したような板波伝播モードによるのであれば、板厚の増加により不要応答を抑圧できるはずである。同じ周波数の厚み圧電振動は、板厚を奇数倍にしても励振できる。そこで、板厚を 3 倍化した球殻状圧電トランスデューサを試作して音場を計測した。伝播軸上の音圧を、数値シミュレーションにより理論的に得られる音場と比較して、図 2)-2-2-11 に示す。軸上不要応答が抑圧されていることがわかる。

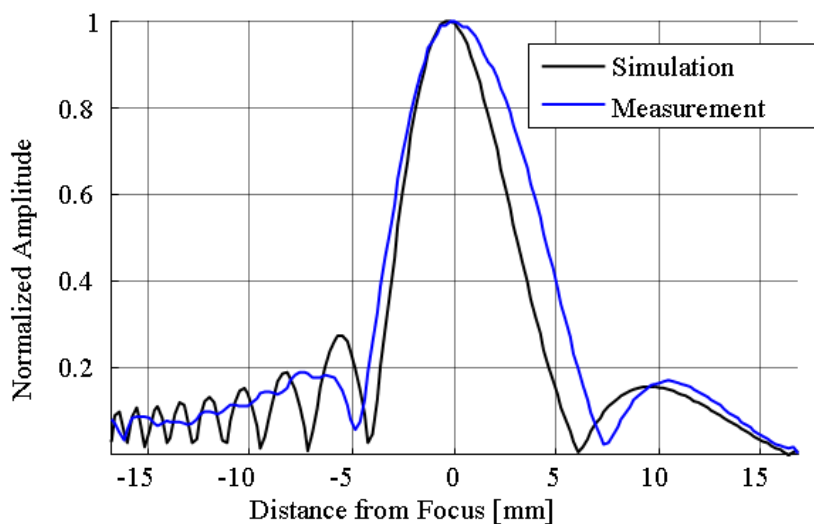


図 2)-2-2-11. 板厚 3 倍化による伝播軸上不要応答の抑圧（超音波周波数 3.35MHz）

③ まとめ

球殻状圧電セラミックによる圧電変換を用いる集束超音波音源は、医療用超音波を発生する最も一般的な方法として広く使われており、加熱凝固治療も例外ではない。しかし、エアバック構造が一般的な治療用トランスデューサでは、球殻状セラミックに板波が圧電的に励振され、これが本来の焦点に隣接した領域に不要応答を形成することがある。この不要応答が、治療標的領域

外で副作用を生ずる可能性や、実験における超音波作用を複雑にする可能性を高めるので注意を要する。

多素子球面トランスデューサの開発

相変化ナノ液滴を利用した高効率超音波治療に適合する多素子球面トランスデューサを開発した。

① 焦点距離

体表から最大10 cm程度までの標的組織を治療可能とするために焦点距離は10 cm程度とした。

② 集束度

単素子トランスデューサと同様、集束度はFナンバー（=焦点距離／開口径）1程度とした。従って、トランスデューサの開口径は10 cm程度、開口面積は80 cm²程度とする。

③ 超音波周波数

体表から最大10 cm程度までの標的組織を治療可能とするために、生体組織中を10 cm程度伝播するときの周波数比例的減衰が大きくなりすぎないように、超音波周波数は1 MHz程度とした。

④ 素子数と曲面配列

多素子トランスデューサにより超音波をフォーカスする場合、素子間隔を水中における半波長以下とすれば、圧電素子を例え平面に配列したとしても、原理的には、いかなる位置にも焦点形成可能である。ところが、半波長は0.8 mm程度であるから、80 cm²程度の開口をカバーするには、1万を超える素子数が必要となる。これに対し、焦点距離程度の曲率半径をもつ曲面上に、素子を配列すると、必要な素子数を最小限とすることができる。この場合、必要な素子数は、要求される焦点移動範囲によりきまる。Fナンバーが1程度のとき、焦点を幾何学的焦点から方位方向に Δ 移動させるために、送波信号に与えるべき位相差は、図2)-2-2-12に示すように、伝播距離 Δ に相当する。これに必要な最小素子数は、焦点移動方向に Δ ／半波長程度である。要求仕様は焦点移動可能距離1 cm以上であるから、 Δ を5 mmとおくと、1方向に最小限7素子程度、これを2次元配列するとして全部で最小限50素子程度必要なことになる。要求仕様を安全に実現するため、曲率半径10 cmの曲面に100－200素子を配列することとした。

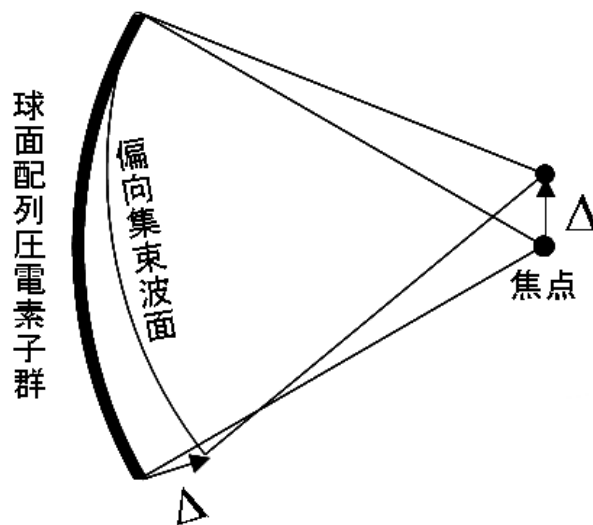


図 2)-2-2-12. 焦点移動に必要な素子数の見積もり

⑤ 圧電素子構造の検討

上記の素子数の見積もりから、1素子のサイズは1cm弱である。これを一体の圧電セラミックにより構成することも考えられるが、このサイズになると、前章で解析したように、単純な厚み振動だけを励振するのが困難になり、素子単体を詳細に設計しなければならなくなる。このような試みは、研究レベルではされているものの、製品レベルまでには技術が確立されていないのが現状である。

加熱凝固治療用超音波治療装置について電子的な焦点移動を製品において実現しているのは、イスラエル Insightec 社のみである。その製品には、フランス Imasonic 社製の圧電コンポジット製球面アレイ・トランスデューサが使用されている。この圧電コンポジットは、厚みの数分の1の幅をもつ柱状に圧電セラミックを刻み、その間隙に高分子を充填して固めた構造をもっている。この構造により、個々の圧電セラミック柱は単純な伸縮モードで振動するので、前章で解析したような不要モードに関する考慮が実質的に不要となる。電気的に1素子として機能する素子は、この圧電セラミック柱を複数個並列接続することにより構成できる。従って、任意度の高い素子形状をもつアレイ・トランスデューサを、電極パターンを変更するだけで構成できる。また、高分子による繋ぎは比較的柔軟にできるため、比較的小さな曲率半径の球面形状を実現することも可能である。

欠点は、機械的損失の大きな高分子による繋ぎが、大振幅動作時に発熱して、熱破壊を引き起こしやすいことである。このため、超音波診断用に製品レベルの圧電コンポジットを供給しているメーカーは複数あるが、超音波治療用に供給しているのは現状 Imasonic 社のみである。上記利点は、この欠点を上回るものと判断し、圧電コンポジットを用いることとした。

⑥ 撮像用探触子の組み込み

治療標的組織を照準し、そこに分布するナノ液滴群がマイクロバブル群に相変化することを確認し、超音波治療過程を監視するために、撮像用探触子は、本開発の治療用超音波照射装置に不

可欠といってよい。Insightec社の治療用超音波照射装置では、MRIを撮像手段として用いているが、本開発の治療用超音波照射装置では、ナノ液滴からマイクロバブルへの相変化をダイナミックに確認する必要があり、撮像速度とマイクロバブルに対する感度の劣るMRIは不向きである。

一定の超音波周波数において高い方位分解能を実現するには、横幅の広い撮像用探触子が有利である。一方、限られた大きさの生体の超音波“窓”を治療用トランスデューサと分け合って使用するには、横幅の狭い撮像用探触子が有利である。この相反する2要求を高いレベルで両立する撮像用探触子として、アロカ製UST9120と日立メディコ製C532を選んだ。どちらの探触子も組み込み可能とするため、治療用トランスデューサに直径3.2mmの円形孔を設けることとした。

治療用焦点スポットの伝播方向サイズを抑制するには、開口中央部からの治療用超音波の寄与が重要である。この点を重視すれば、探触子用の円形孔は、治療用トランスデューサの中央部以外に設けるべきである、以下の2点から、敢えて治療用トランスデューサ中央部に設けた。集束超音波により局所的に相変化させて得るマイクロバブルによる効率的加熱を用いるので、超音波単独の加熱よりも局所性の高い効果が期待できることに加え、中央部の円形孔は、圧電コンポジットで曲面を構成する加工上、都合が良いためである。

⑦ 圧電素子配列パターン

治療用トランスデューサの素子配列パターンを決定するにあたり、中央部に円形孔を設けることを前提とすると、同軸構成を基本とするのが素直である。この場合、トラック幅はトラック径に反比例するように選ぶのが基本である。これには、以下の2つの理由がある。電子フォーカスによる焦点距離を幾何学的焦点距離から変化させるとき、送波面のトランスデューサ面に対する偏向角は、トラック径に比例するので、トラック幅はそれに反比例させるのが合理的である。また、各素子を駆動するRFアンプの仕様を極力共通化するには、各素子の電気的インピーダンスを共通とするのが合理的である。圧電コンポジットでは、それは各素子の面積に単純に反比例するので、トラック幅とトラック径の積を一定とするのが合理的である。さらに、図2)-2-2-12に示したように、伝播方向に対し垂直にも焦点移動を可能とするため、複数トラックをセクタ分割する構成とした。

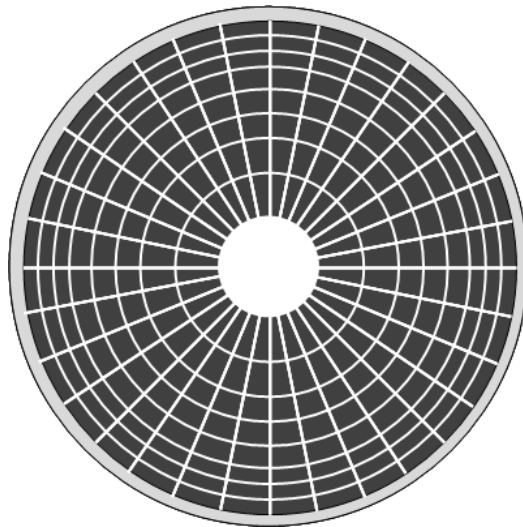


図 2)-2-2-13. 8トラック×32セクタ構成

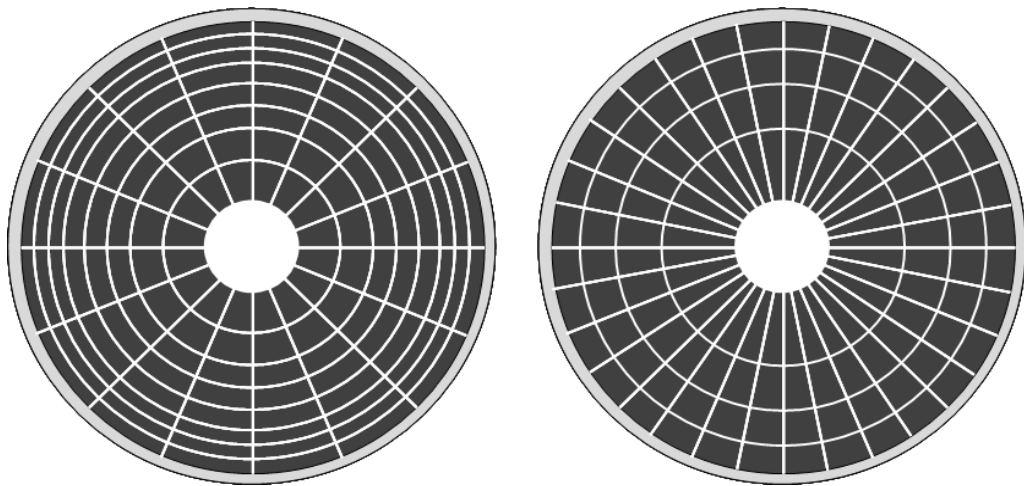


図 2)-2-2-14 8トラック×16セクタ構成 図 2)-2-2-15 4トラック×32セクタ構成

以上を踏まえた上で、余裕をもって1cmの電子的焦点移動を可能とするには、図 2)-2-2-13 に示すような8トラック×32セクタからなる256素子による構成が理想であると考えた。しかしながら、トランスデューサ単価が高くなることと、引き出しケーブル束数が増えすぎて使い勝手が損なわれることが予想されたことから、128素子による構成として、図 2)-2-2-14 に示す8トラック×16セクタからなる構成と図 2)-2-2-15 に示す4トラック×32セクタからなる構成との2通りを特注することとした。また、照射可能超音波周波数についても0.8-1.2MHzと1.4-2.1MHzの2通りを特注することとした。

⑧ 治療用トランスデューサまわりの構成

図 2)-2-2-16 には、撮像用探触子UST9120を組み込み、支持アームに固定した本開発の治療用トランスデューサを示す。



図 2)-2-2-16. 治療用トランスデューサまわりの構成

A級マルチアンプによる高出力ビームフォーマの開発

相変化ナノ液滴を利用した高効率超音波治療に適合する高出力ビームフォーマをA級マルチアンプ構成により開発した。これにより、開発課題の多い専用小型D級アンプの完成を待たずに、治療用超音波照射装置の機能確認実験を可能とした。

1) チャンネル数

アレイ・トランスデューサを構成する100以上の素子それぞれを独立に駆動するには、専用小型アンプの開発が必要である。これと同等な送波動作を、コスト的にもスペース的にも数の限られた汎用大型A級アンプを用いて可能とするには、少し工夫が必要である。例えば、図2)-2-2-12に示すように、超音波伝播方向に垂直に電子的焦点移動を行う場合、焦点移動方向に直交する方向に並ぶ素子は、同じ信号で駆動することができる。従って、焦点移動方向に応じて複数素子を電氣的に束ねる回路を用いれば、8から10チャンネルのアンプを用いることにより、アレイ・トランスデューサを構成する全素子を駆動することができる。

そこで、治療的超音波加熱凝固に必要な電気パワーを高々2台により発生可能な実績のあるA級RFアンプENI2100L相当の駆動能力をもつアンプ10基よりなるマルチ・アンプ系に、8または10チャンネル to 128チャンネルのチャンネル数変換回路を接続し、これを介して治療用アレイ・トランスデューサを駆動する構成とした。128素子よりなる治療用アレイ・トランスデューサの素子を16素子並列接続しても、電氣的インピーダンスは50Ωより2倍以上大きく、アンプ1チャンネルとはインピーダンス整合が取れないが、アンプの合計出力に充分余裕があるため、ナノ液滴の相変化と生体組織の加熱凝固に十分な超音波パワーを発生可能であると予想された。

2) マルチ入力信号の生成

10基のA級RFアンプの入力信号は、1台あたり2つの出力チャンネルをもつプログラマブル・ファンクション・ジェネレータNF回路WF1973を5台用いて行った。ファンクション・ジェネレータ5台間の同期は、同期信号発生用にWF1973をもう1台用いて行うことにより、チャンネル間時間誤差10ns以内で可能である。アレイ・トランスデューサ各素子から発生される超音波の間の位相誤差は最大 $\pi/8$ 程度まで許容される。超音波周波数が1MHzの場合、これは60ns程度に相当するので、チャンネル間時間誤差10ns以内は十分な精度である。図2)-2-2-17には、開発したA級マルチアンプによる高出力ビームフォーマの構成を示す。

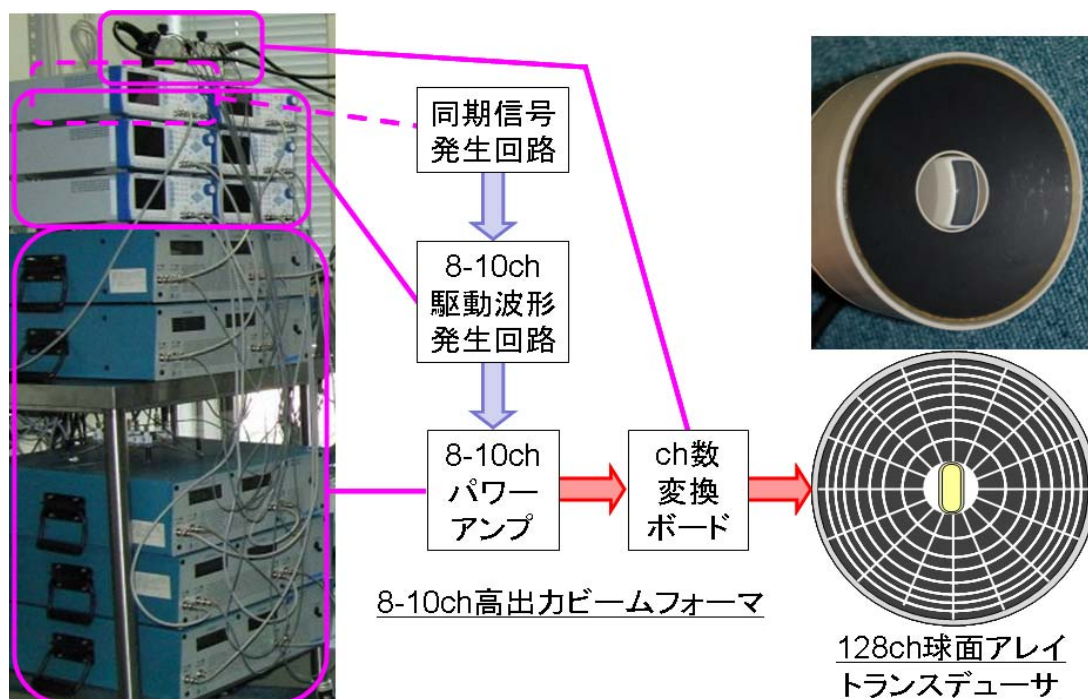


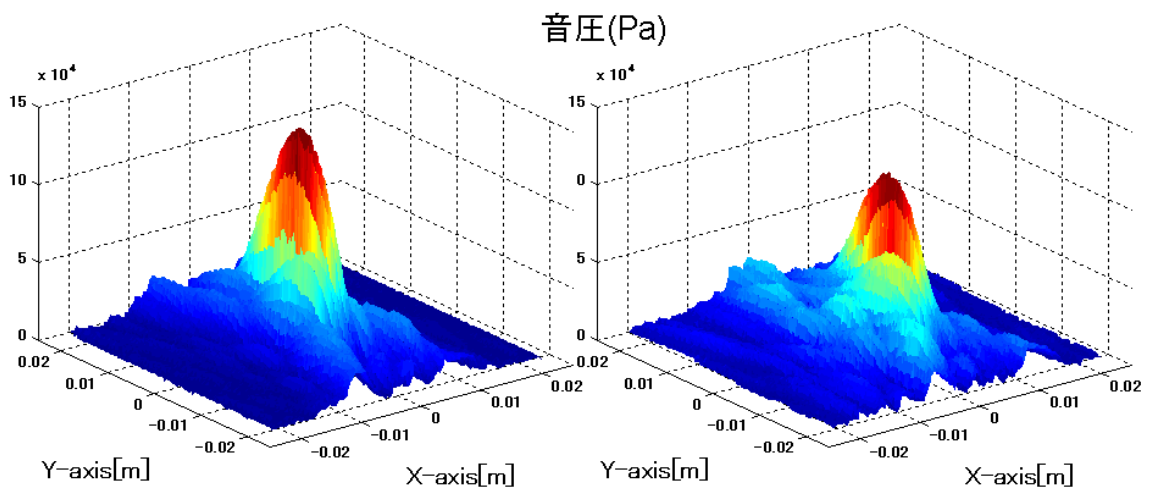
図2)-2-2-17. A級マルチアンプによる高出力ビームフォーマの構成

機能確認実験

高出力ビームフォーマにより駆動した治療用アレイ・トランスデューサ焦点の電子的移動機能を、マイクロフォンによる音場測定、日立製作所中央研究所の開発した相変化ナノ液滴とアルブミンを含むゲルを用いた相変化加熱凝固能評価実験、日立製作所中央研究所が農工大と協力して開発した相変化ナノ液滴を静脈投与後摘出したウサギの腎臓を封入したゲルを用いた相変化加熱凝固能評価実験によって確認した。治療用アレイ・トランスデューサは、8トラック×16セクタ、使用可能超音波周波数範囲0.8-1.2MHzのものを、1MHzで駆動して用いた。

1) マイクロフォンによる焦点音場測定

図2)-2-2-17の装置構成による焦点の電子的移動をマイクロフォンによる音場測定により確認した。其の例を図2)-2-2-18に示す。超音波伝播方向に±1cm計2cm、その垂直方向に±5mm計1cmの電子的焦点移動が可能であることが確認された。



焦点=幾何焦点

伝播方向に垂直な方向に
5 mm 偏向時

図 2)-2-2-18. 電子的に移動した焦点の音場 (超音波周波数 1MHz)

2) 相変化および加熱凝固用超音波照射シーケンス

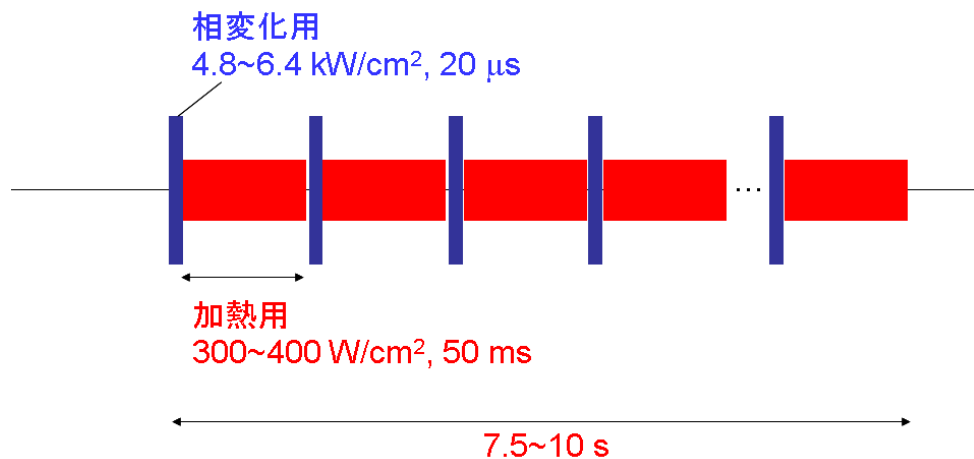


図 2)-2-2-19. ナノ液滴入り ex-vivo ウサギ腎臓用シーケンス (超音波周波数 1MHz)

ナノ液滴入りゲルには、相変化用に超音波強度 16 kW/cm^2 で 0.9 ms 照射、加熱凝固用に 4 kW/cm^2 で 9 s 照射のシーケンスを用いた。ナノ液滴入りウサギ腎には、図 2)-2-2-19 に示す超音波照射シーケンスを用いた。超音波強度はいずれも水中での空間ピーク値で、ゲルや腎組織による減衰は考慮していない。

3) 超音波照射実験セットアップ

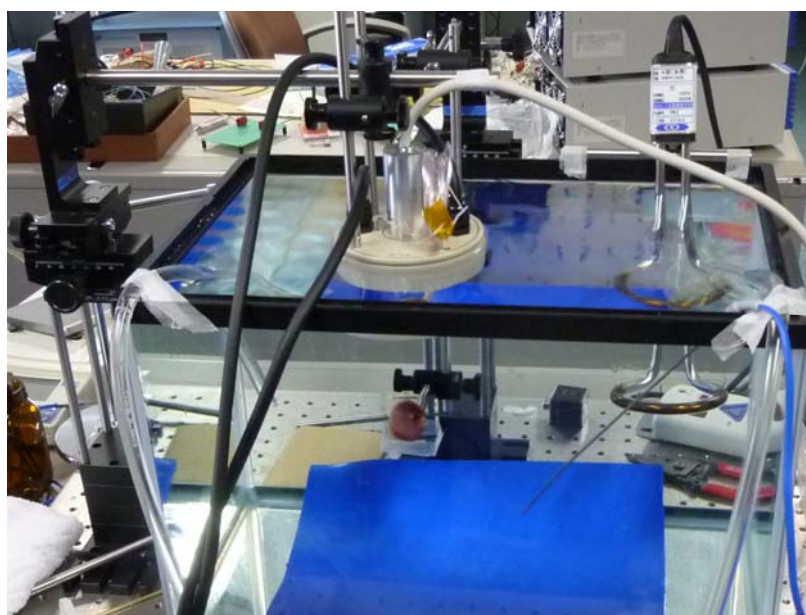


図 2)-2-2-19. 超音波照射実験のセットアップ

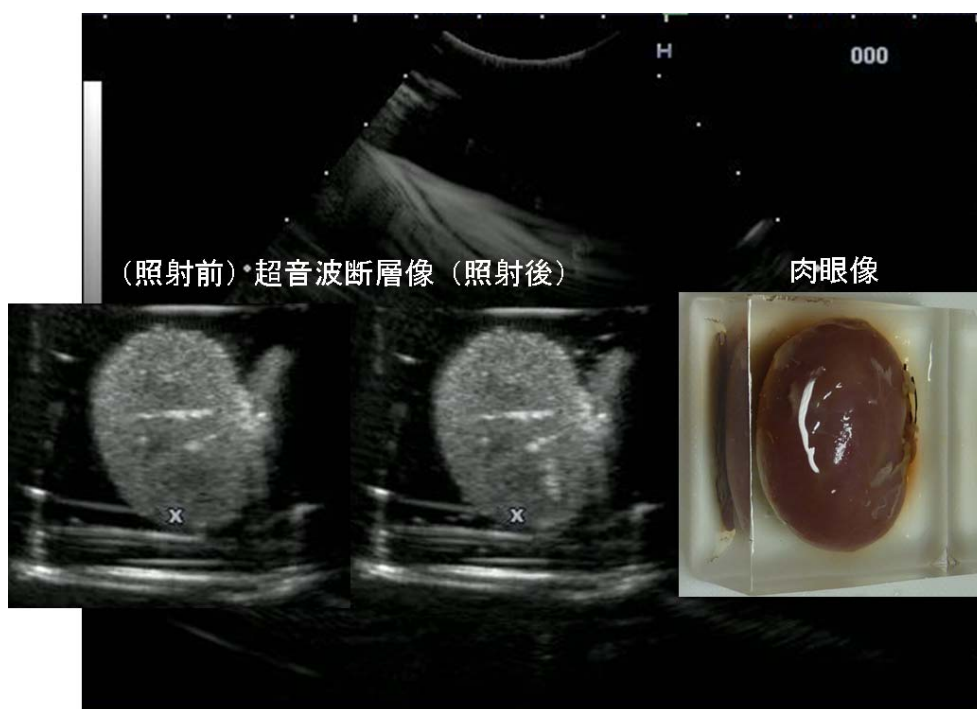


図 2)-2-2-20. 超音波断層像による照射対象物 (ex-vivo ウサギ腎) の照準

ナノ液滴入りゲルとナノ液滴入りウサギ腎の超音波照射実験のためのセットアップを図 2)-2-2-20 に示す。

水槽の底面に超音波吸収性ポリウレタン材である Sorbothane を敷き、これに脱気水を満たして超音波発生面を下向きにしてアレイ・トランスデューサを半分水没させた。対象物を治療用トランスデューサに組み込んだ超音波探触子により撮像した断層像を用いて、図 2)-2-2-21 に示すように照準して相変化用および加熱凝固用の超音波を照射した。

4) 相変化加熱凝固能における電子的焦点移動能の確認実験結果

相変化・加熱凝固能における電子的焦点移動能を伝播方向およびその垂直方向について確認した結果を、それぞれ図 2)-2-2-21 および 22 に示す。伝播方向には幾何学的焦点±10 mm、その垂直方向には幾何学的焦点±5 mm、電子的に焦点を移動しても、ナノ液滴の相変化に続けて、それにより生じたマクロバブルを効率化に用いる加熱凝固が可能であることが確認された。

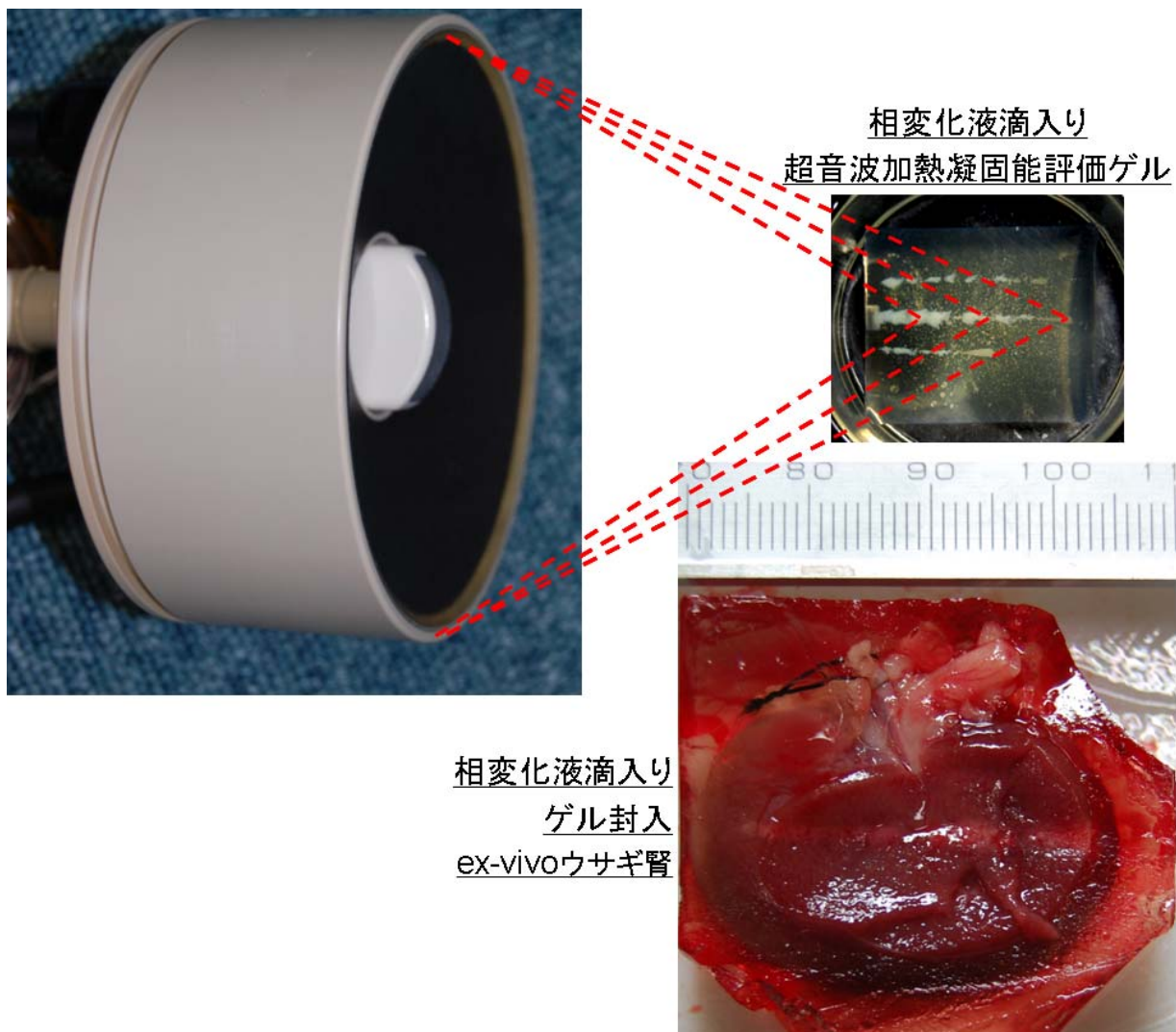


図 2)-2-2-21. 相変化加熱凝固能における伝播方向電子的焦点移動能の確認

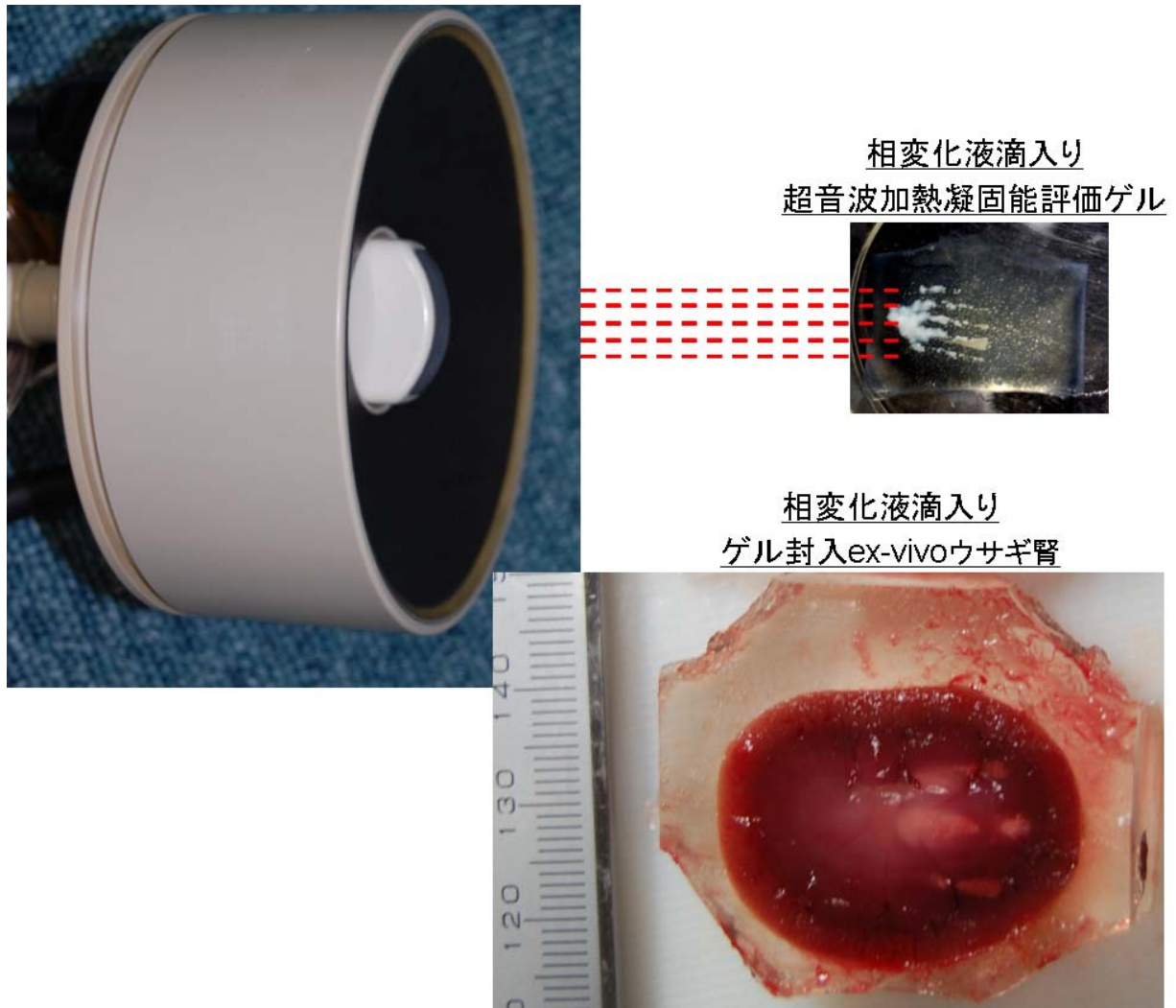


図 2)-2-2-22. 相変化加熱凝固能における伝播垂直方向電子的焦点移動能の確認

高出力ビームフォーマ用小型D級アンプの開発

超音波治療用アレイ・トランスデューサの各素子を直接駆動するのに適した小型高効率D級アンプについて、新規な回路方式を考案し、試作して、その駆動能力を単素子トランスデューサとアレイ・トランスデューサを駆動し超音波を発生させることにより確認した。

1) 階段波駆動方式

超音波素子駆動用D級アンプの現在最も一般的な方式は、n型とp型パワーMOSFETをプッシュプル接続したスイッチング回路である。これにより矩形波状の電圧波形が得られる。パワーMOSFETのON抵抗が負荷に対して充分小さければ、負荷に送り出される電気パワーに比べてアンプ側で消費される電気パワーを充分小さくすることができ、インピーダンス整合による駆動を基本としたA級アンプに比べ著しい小型化・低コスト化が可能となる。

一方、圧電体の厚み共振を用いた超音波トランスデューサは、基本周波数だけでなく、その奇数倍の周波数においても電気機械変換能をもつので、矩形波に含まれる奇数倍高調波成分も超音波に変換してしまい、これが送信超音波中の不要成分となり不都合である。そこで、LC共振回路等を用いて高調波成分が負荷側へ伝達されるのを抑制する構成が用いられることが多い。しか

し、高出力用途では、サイズの大きなインダクタを用いる必要を生じ、場合によっては、このサイズがパワーMOSFETよりも大きくなってしまいます。また、使用周波数によってLCの組み合わせを変更する必要があり、複数周波数への対応が要求される場合には、サイズがさらに大きくなってしまいます。

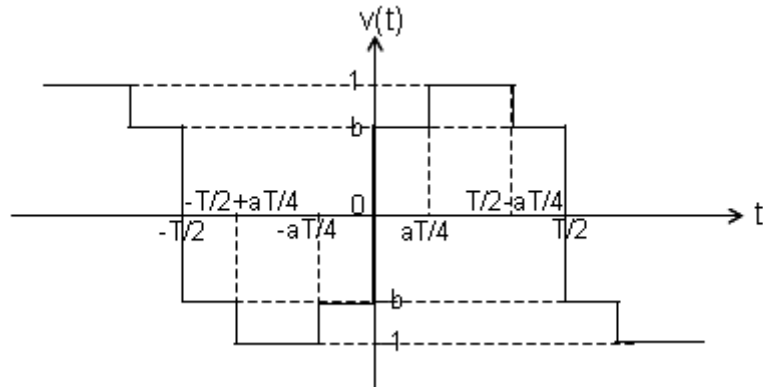


図 2)-2-2-23. 階段波

そこで、矩形波に代えて階段波を用い、駆動電圧波形から問題となる高調波成分を除去することを考える。図 2)-2-2-23 のような階段波 $v(t)$ を考えると、 $v(t)$ は以下のように Fourier 展開される。

$$v(t) = \frac{4}{\pi} \sum_{m=0}^{\infty} \frac{1}{2m+1} \left[b + (1-b) \cos \frac{a(2m+1)\pi}{2} \right] \sin \frac{2(2m+1)\pi t}{T}$$

ここで、 $a = \frac{1}{2}$, $b = \sqrt{2} - 1$ とおくと $\sin \frac{2 \cdot 3\pi t}{T}$ および $\sin \frac{2 \cdot 5\pi t}{T}$ の係数を 0 とすることができ、

高調波成分の中でも特に問題となり得る 3 倍および 5 倍高調波を抑圧できると考えられる。

2) 回路構成

階段波駆動を可能とする回路構成を図 2)-2-2-24 に示す。矩形波駆動回路を 2 組並列に接続した形をしているが、各 FET のソースが逆流防止ダイオードを介して負荷に接続されている点が重要である。このダイオードの働きにより、2 つの n 型 FET または 2 つの p 型 FET が同時に ON になったとき、電圧の大きい側の一方のみに電流が流れるため、図 2)-2-2-25 に示すような単純なゲート信号により階段波動作が可能となっている。なお、RO は超音波トランスデューサの代わりに負荷として接続した抵抗である。

3) 回路動作シミュレーション

図 2)-2-2-24 に示す回路に図 2)-2-2-25 に示すゲート信号を入力したときの回路動作をシミュレーションした。シミュレーションには PSpice を用いた。得られた電圧出力波形の例を図 2)-2-2-26 に示す。3 倍高調波成分は顕著に抑圧されているが、5 倍高調波成分は顕著とはいえない。また、n 型と p 型 FET の

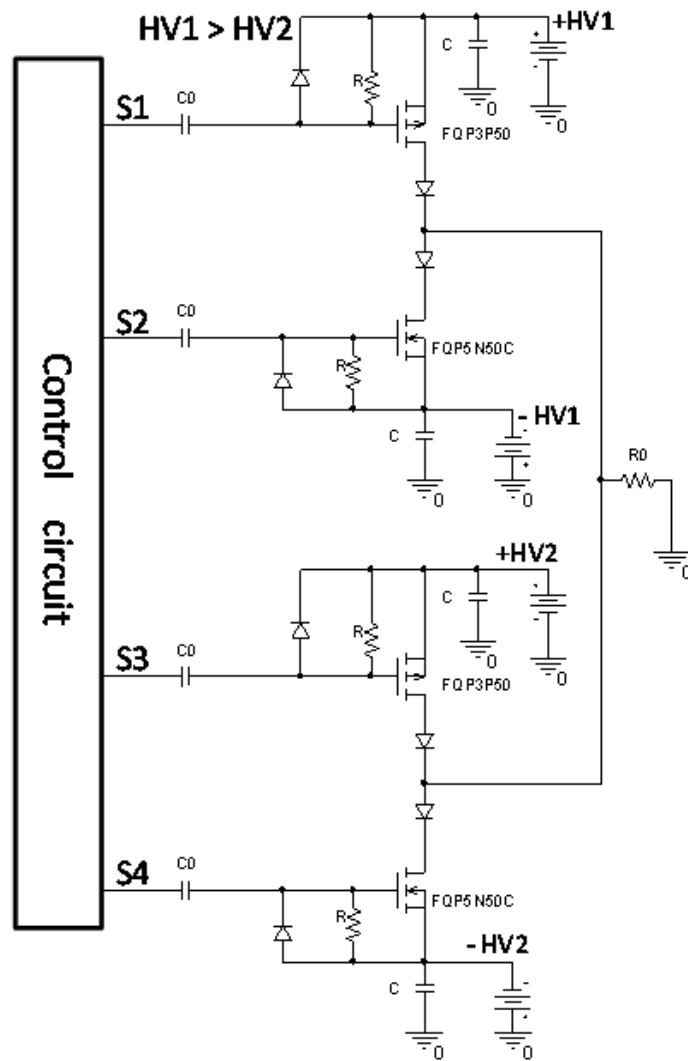


図 2)-2-2-24. 階段波駆動回路の構成

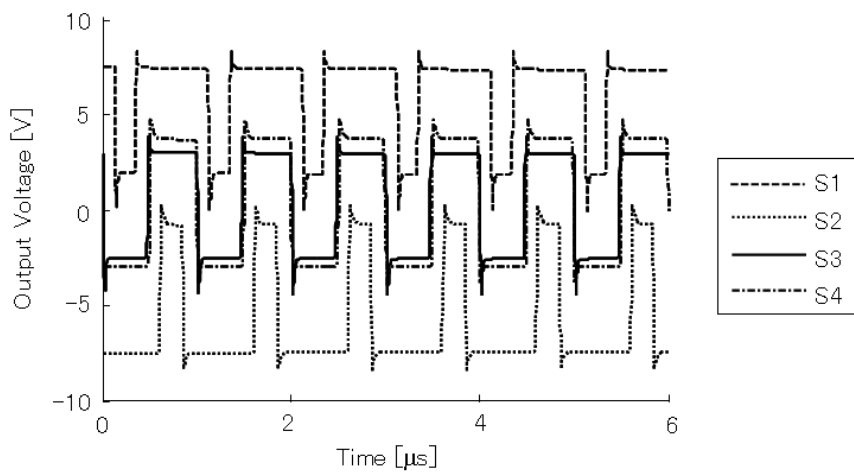


図 2)-2-2-25. 階段波駆動のためのゲート信号

の特性の非対称性のためか、偶数倍高調波成分も発生している。

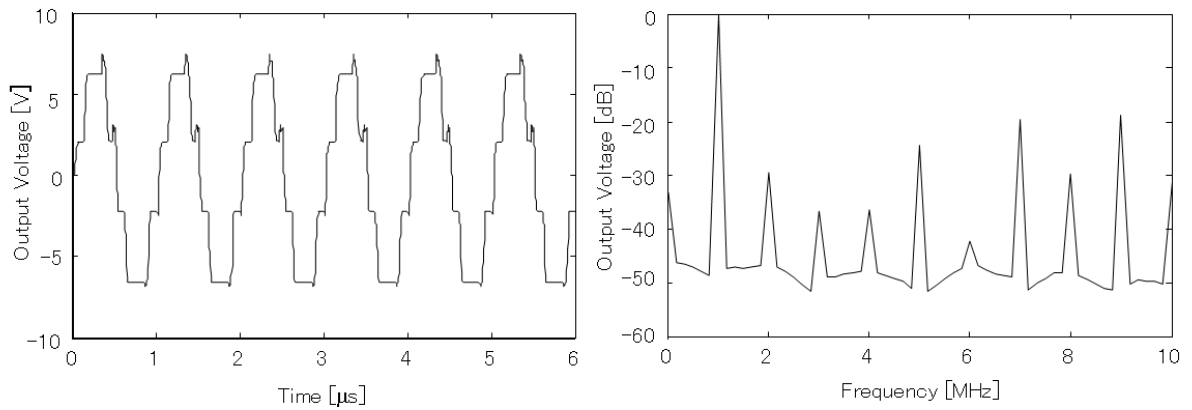


図 2)-2-2-26. 回路シミュレーションによる出力電圧波形の例

4) 試作回路

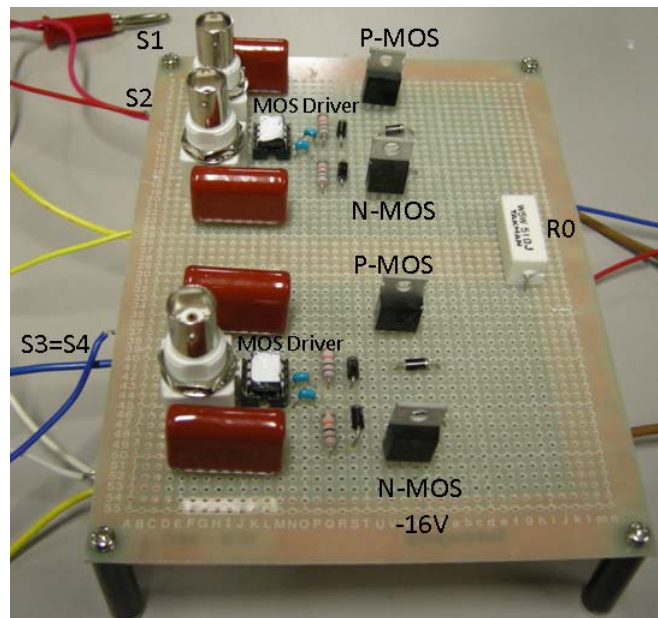


図 2)-2-2-27. 試作階段波駆動回路

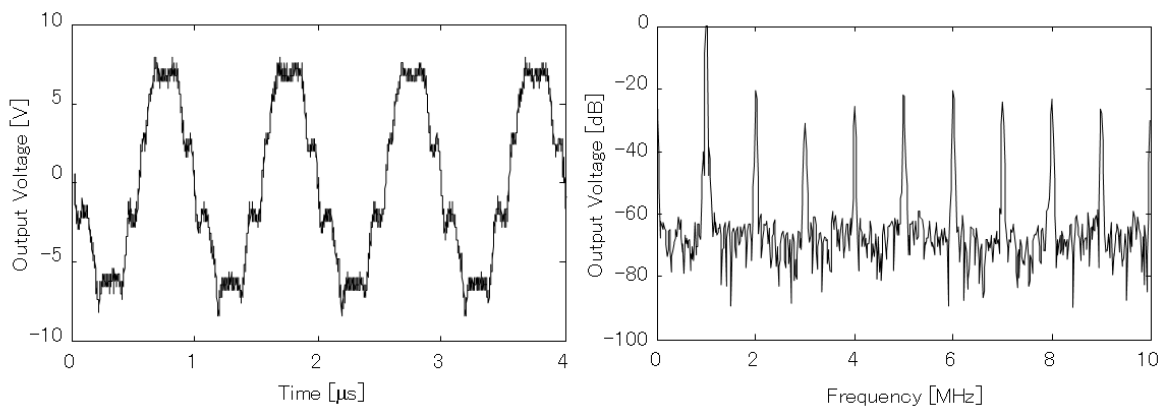


図 2)-2-2-28. 試作回路による出力電圧波形の例

試作した回路の外観を図 2)-2-2-27 に示す。これを動作させることにより得られた出力電圧信号すなわち負荷抵抗 R_0 に印加された電圧波形の例を図 2)-2-2-28 に示す。シミュレーション波形に比べ、10 dB 弱上昇している高調波成分もあるが、問題ないレベルであると判断される。

5) 単素子球面トランスデューサ駆動実験

負荷を純抵抗 R_0 から共振周波数 1.1 MHz の圧電セラミック製単素子球面トランスデューサにつなぎかえ、これを駆動する実験を行った。単素子球面トランスデューサは脱気水中に水没させ、焦点における音圧波形をハイドロフォンにより計測した。同じ試作回路を用いて矩形波駆動した場合と階段波駆動した場合とを比較した。図 2)-2-2-29 には、その駆動波形の例を示し、図 2)-2-2-30 には、そのとき得られた音圧波形を、図 2)-2-2-31 にはそのスペクトルを示す。矩形波駆動では、焦点における音圧波形が、基本波成分とほぼ等しい振幅の 3 倍高調波成分を含んでいる。3 倍高調波成分は、基本波成分よりも 1 桁ちかく小さな面積の焦域に超音波パワーが集束されるので、その振幅が 10 dB 程度強調されるためである。階段波駆動では、この 3 倍高調波成分が 20 dB 程度抑圧され、実質的に問題にならないレベルとなっている。矩形波駆動では、それ以外にも 4 倍、5 倍、6 倍、7 倍、8 倍高調波成分が大きめとなっているが、これらは、基本波成分および 3 倍

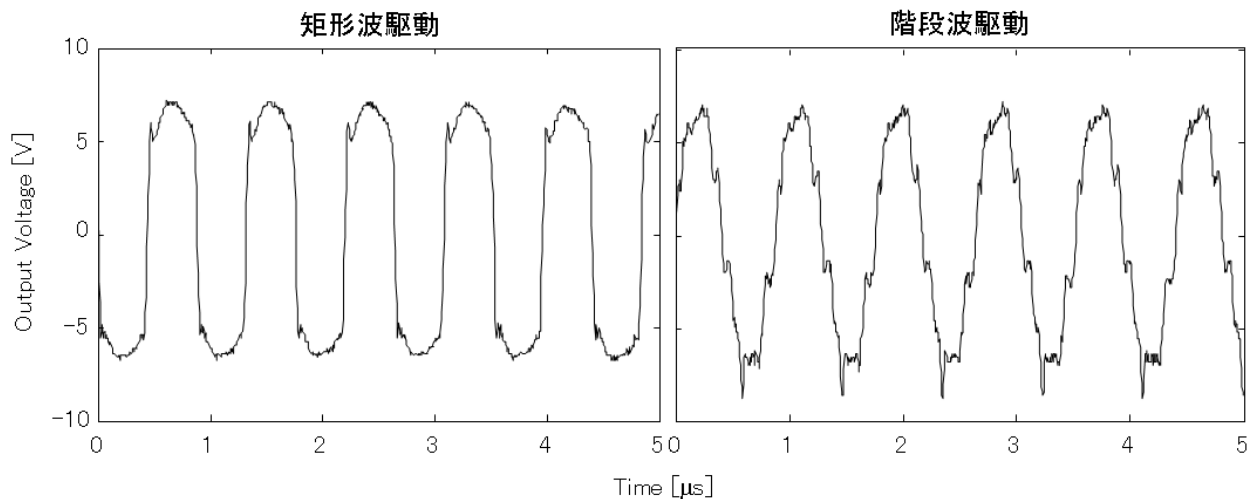


図 2)-2-2-29 単素子球面トランスデューサを試作回路により駆動した電圧波形の例

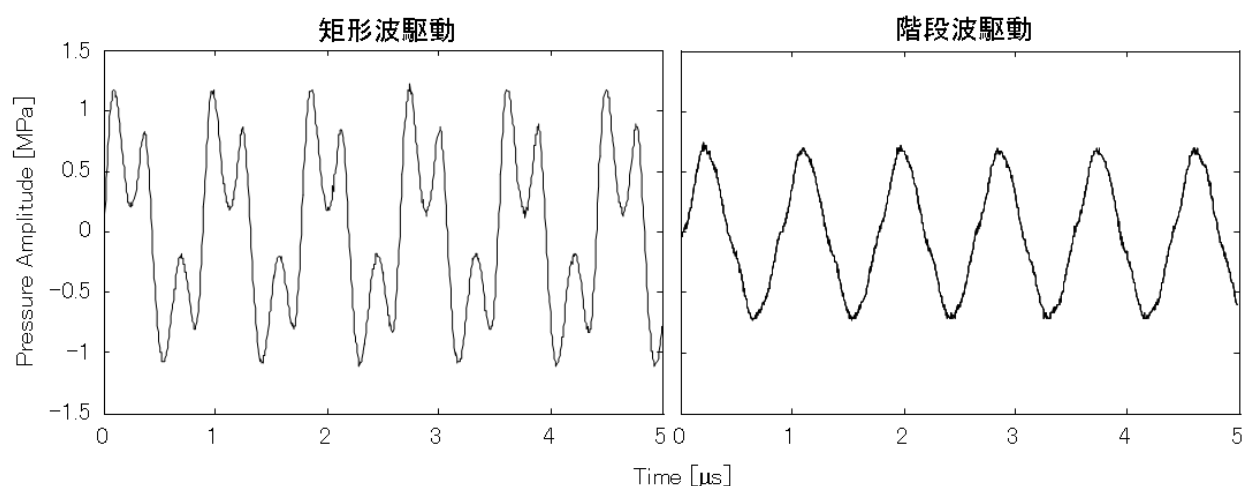


図 2)-2-2-30 単素子球面トランスデューサを試作回路により駆動して得られた
焦点音圧波形の例

高調波成分をもとに非線形伝播により発生した可能性がある。また、ハイドロフォンを焦点から除き、駆動電圧を±100Vに上げて連続動作させたが、試作回路は故障しなかった。

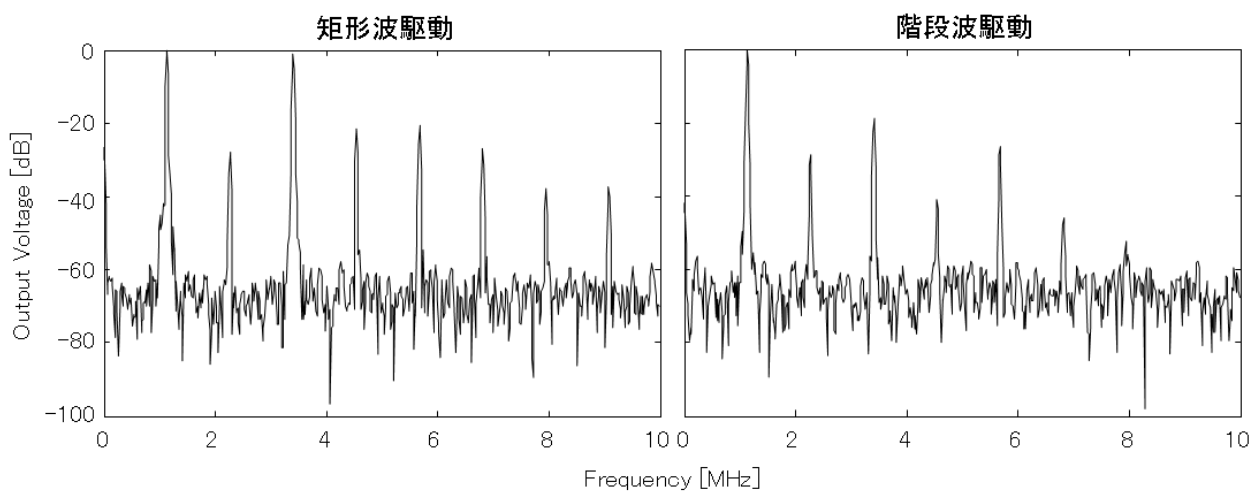


図 2)-2-2-31 単素子球面トランスデューサを試作回路により駆動して得られた
焦点音圧スペクトルの例

6) 多素子球面トランスデューサ駆動実験

この小型D級アンプを8チャンネル試作し、②-2-5の機能確認実験に用いたのと同じ多素子球面トランスデューサを駆動して、その焦点付近の音場を同期シュリーレン法により観察した。駆動超音波周波数は1MHzとした。8チャンネルD級アンプの入力信号は、図 2)-2-2-32 に示すFPGA評価基板(XILINX製Spartan3A)を用いて制御し生成した。

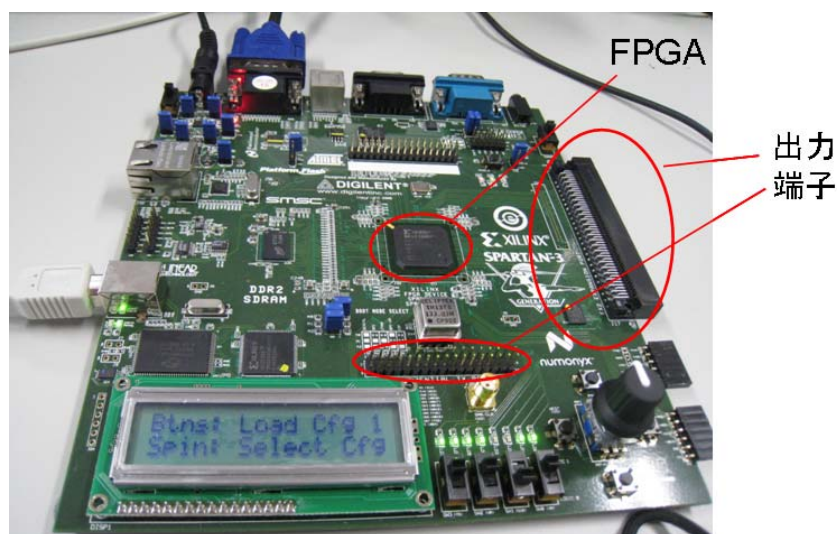


図 2)-2-2-32 8チャンネルD級アンプの入力信号生成に用いたFPGA評価基板

幾何学的焦点距離を中心として、伝播方向に前後10mm、焦点距離を電子的に移動したときに得られる焦点の音場を図 2)-2-2-33 に示す。臨床装置として現実的な回路構成による、治療用超音波照射装置の動作が確認できた。

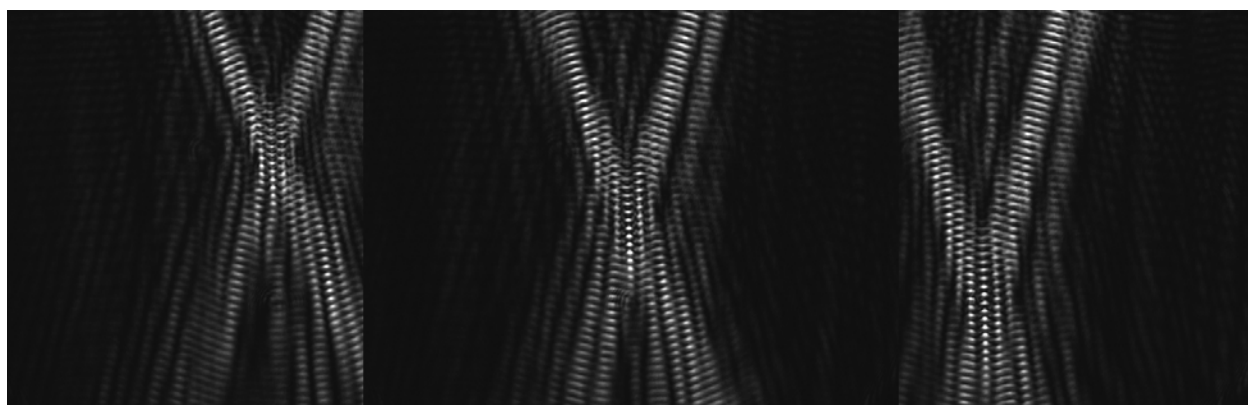


図 2)-2-2-33 多素子球面トランスデューサを8チャンネルD級アンプで駆動することによる焦点移動

(超音波周波数は1MHz、図中のリップル間隔はその半波長0.75mmである。)

まとめ

以上、プログラマブル・ファンクション・ジェネレータとA級マルチ・アンプよりなる高出力ビームフォーマによって多素子球面トランスデューサを駆動することにより、開発した治療用超音波照射装置の焦点移動/相変化/加熱凝固能を確認した。また、将来の臨床的実用化において現実的なサイズに収まるFPGA回路と小型D級アンプよりなる高出力ビームフォーマによって多素子球面トランスデューサを駆動することにより、開発した治療用超音波照射装置の焦点移動能を確認した。

中・大動物による治療効果検証

背景

本研究開発においては、生体投与時はナノサイズの液滴であり、超音波パルス照射時に液相から気相への相変化を生じてマイクロバブルを形成する相変化ナノ液滴を超音波造影・増感剤として用いる。

これまで、マウス腫瘍を用いた評価系により、相変化造影および治療効果の原理的な検討を行ってきた。しかしながら、動物種により相変化造影剤の体内挙動や治療効果（組織変性などの生体作用）が異なる可能性がある。また、動物のサイズやターゲット臓器の部位により、超音波の減衰や散乱の影響が大きく異なり、相変化超音波の条件が異なる可能性がある。これらの要素を加味し、本開発では、マウス、ラットおよびウサギの腫瘍を用いて、動物種および動物サイズの違いによる相変化造影効果および治療効果の影響を検討する必要がある。特に、最終的に人のような大きなサイズの動物を対象とした相変化造影を想定すると、ウサギおよび犬において、造影および治療を施行することのできる実験系を構築することが極めて重要である。そこで、以下にウサギおよび犬を用いた相変化造影と治療を同時に実現する実験系とデータを示す。

ウサギおよび犬を用いた実験では、ほぼ同様な麻酔方法を採用した。麻酔導入としてメドミジンとミダゾラムを筋肉内投与して、十分な沈静が得られた後にイソフルレンの吸入麻酔に切り替えた。また、薬物投与用ルートとしてウサギの場合は耳静脈に（犬の場合は前肢橈側皮静脈）20Gのサーフローを留置した。

図 2)-2-3-1 は、上記麻酔管理を行った犬横臥位腹部左腎臓のエコー走査を行った際の撮像写真である。エコー像からわかるように超音波プローブより約 5 ミリの皮膚および筋層を経て厚さ 1 センチ程度の脾臓を隔てて厚さが約 3 センチで長さが 7 センチ程度の腎臓が認知できた。

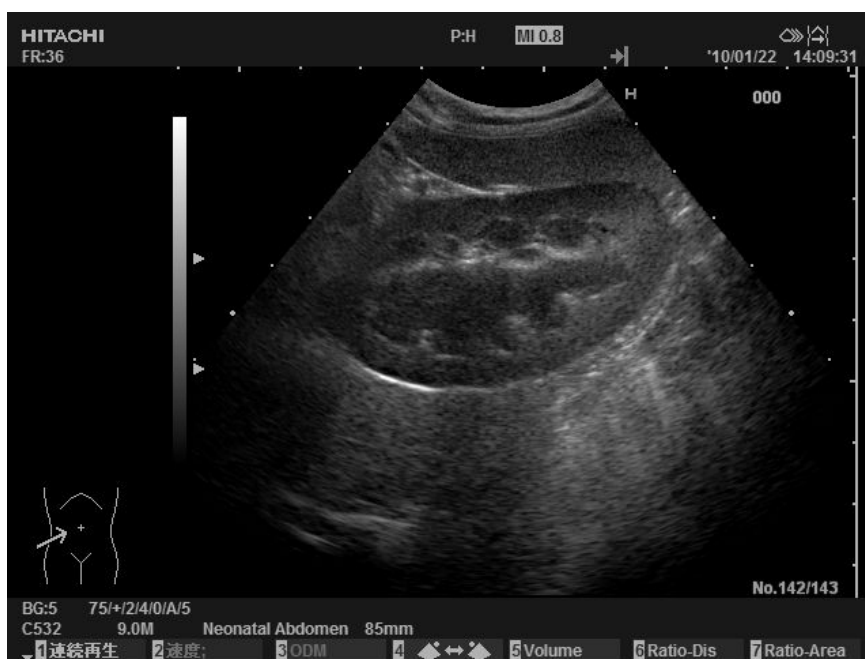


図 2)-2-3-1 犬の腎臓の経皮膚的エコー像の一例

次の図 2)-2-3-2 は、同様にウサギの左側腎臓エコー像である。プローブより約 5 ミリの皮膚および筋層を経て厚さ 2 センチ弱で長さが約 4 センチ程度の腎臓を認知できる。



図 2)-2-3-2 ウサギの経皮膚的腎臓エコー評価

図 2)-2-3-3 は、相変化造影治療用のトランスデューサ写真である。患部の観察および照準には写真向って右側のコンベックス型超音波プローブ（日立メディコ社 EUP-C532）を、左側には東北大作成の相変化・治療用の超音波トランスデューサを配置した。両者はアルミニウムハウジングで連結され、相変化・治療用トランスデューサの幾何学的超音波焦点を照準用プローブの撮像断面のほぼ中心部を観察できるように設定された。相変化・治療用トランスデューサは、1.6MHz の周波数で駆動した。詳細な照射シーケンスは、図 2)-2-3-6 に解説した。

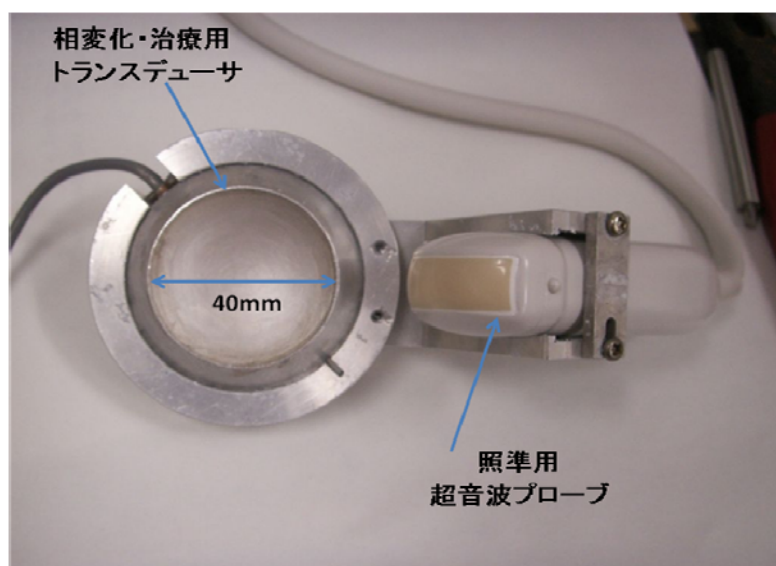


図 2)-2-3-3 相変化造影・治療用トランスデューサ外観写真

この相変化造影・治療用トランスデューサをウサギや犬の体表に密着させるため、図 2)-2-3-4 に示すように、アクリルアミド架橋のカップリングゲルに内包して体表に設置した。麻

酔下の動物を右臥させ、左側腹壁の左腎臓の直上に設置した。動物の表皮は剃毛し、皮膚をアルコール消毒したのち超音波ゼリーを塗布しゲルを密着させた。

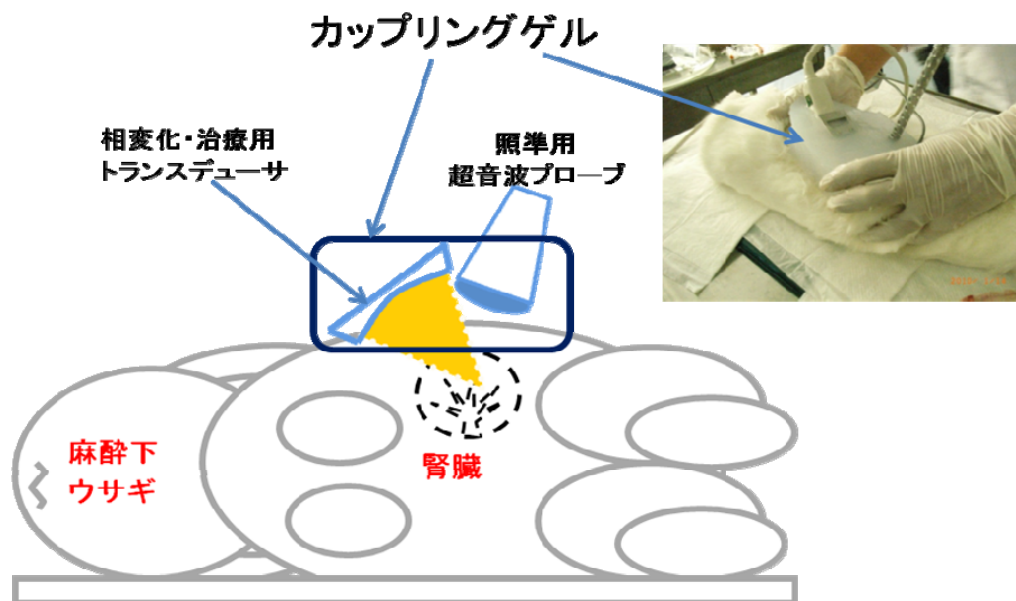


図 2)-2-3-4 実験系風景および概念図

図 2)-2-3-4 は、照準用プローブより観察した、ウサギ腹部のエコー像である。ゲルを介して表皮の直下に腎臓が観察された。

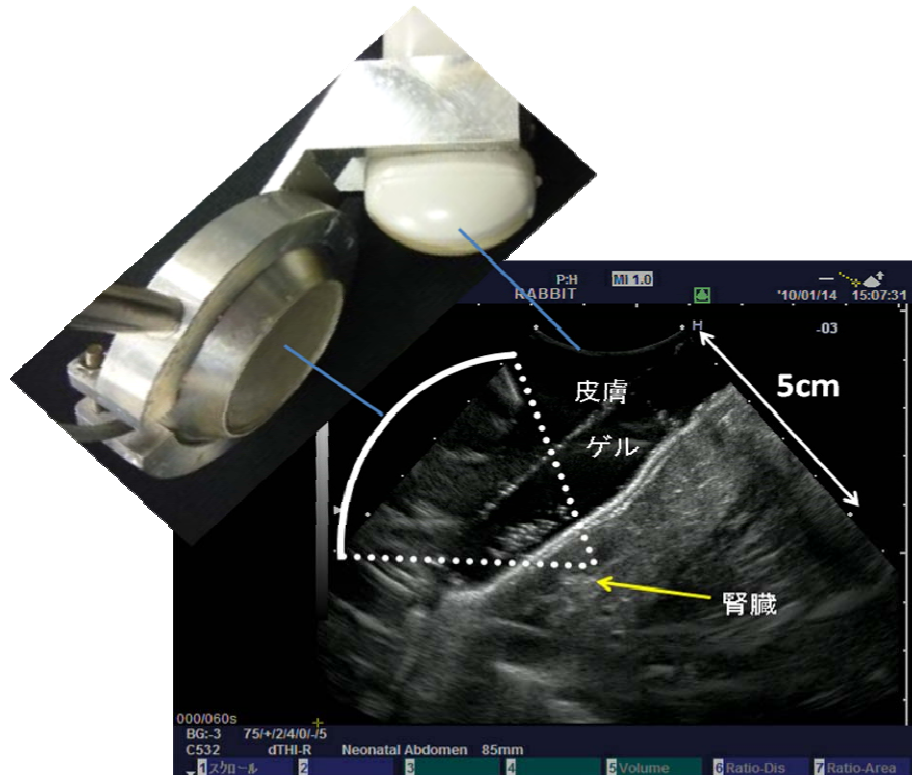


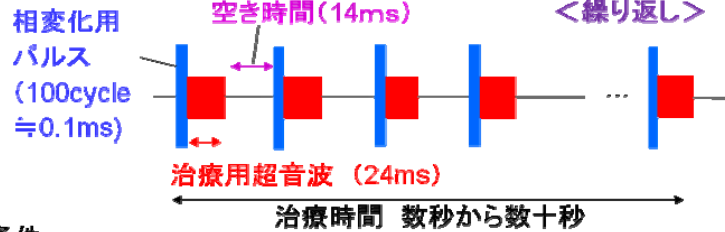
図 2)-2-3-5 超音波照射系のアライメント

相変化造影剤を PFC5 換算で 20mg/kg の投与量で静脈注射後に、以下の図 2)-2-3-6 のような照射シーケンスにて相変化造影・治療超音波を照射した。

相変化・治療用 超音波

東北大作成トランスデューサ 使用

パルスシーケンス



超音波条件

相変化用パルス: $f=1.6\text{MHz}$, 強度(負圧ピーク)=7MPa(組織減衰なし)
4.98MPa (3cm組織減衰考慮)

治療用超音波: $f=1.6\text{MHz}$, 強度(SPTA)=260W/cm² (組織減衰なし)
134W/cm² (3cm組織減衰考慮)

照準(モニタリング)用超音波

日立メディコ製 EUP-C532(4~8MHz) を 超音波診断装置(EUB7500)に接続して使用

$f=4\text{MHz}$

Differential Tissue Harmonic Imaging Mode

図 2)-2-3-6 相変化・治療用超音波の照射シーケンス

結果と考察

図 2)-2-3-7 は、上記シーケンスにて 20 秒間照射を行った直後のエコー像である。腎臓内部に治療超音波の入射方向に沿って焦点前後に細長い高輝度領域が観察された。ただちに、ウサギを安楽殺し腎臓を観察したところ、図 2)-2-3-8 に示すように、前記の細長い高輝度に対応したような組織変性が認められた。組織の破壊を伴う変性とそれを取り囲むような出血像が観察された。

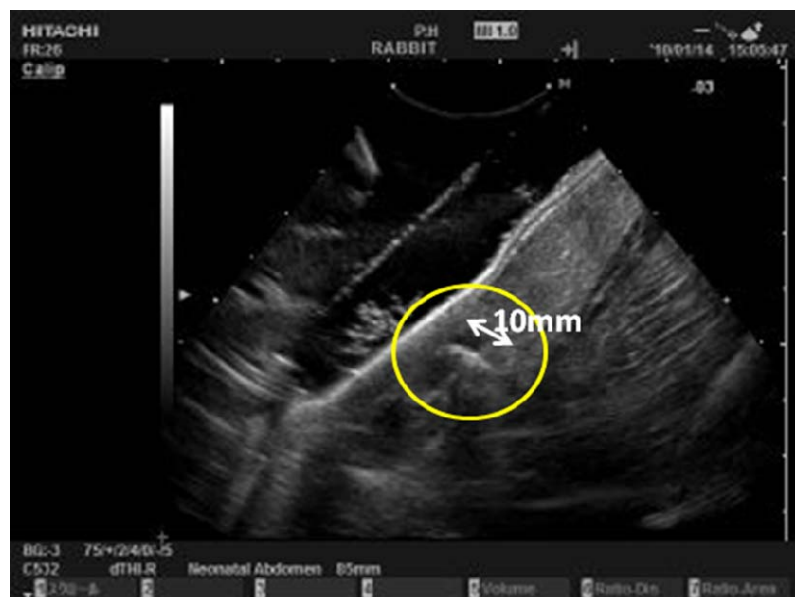


図 2)-2-3-7 20 秒照射直後のウサギ腎臓エコー像

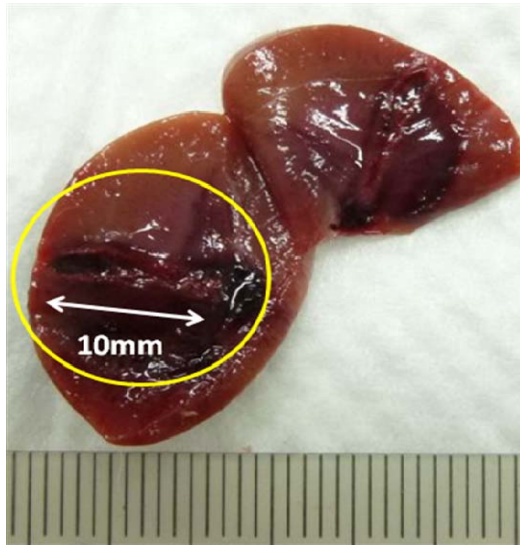


図 2)-2-3-8 20 秒照射直後摘出のウサギ腎臓断面

図 2)-2-3-6 で示した超音波の照射シーケンスは、相変化用のパルス超音波に引き続き治療用の超音波を 24ms 照射したのち、14ms の照射休止を行っている。この休止期間に、照準用プローブでの観察が行われている。治療シーケンスは、相変化パルスと治療超音波および休止時間の繰り返しをしているわけであり、前述の例では 20 秒間繰り返したことになる。図 2)-2-3-8 では約 10 ミリにおよぶ細長い強度の組織変性が生じた。

ここで、照射中に患部を観察しながら高輝度が生じた段階で、この繰り返し治療シーケンスを停止した場合に例を以下に示す。

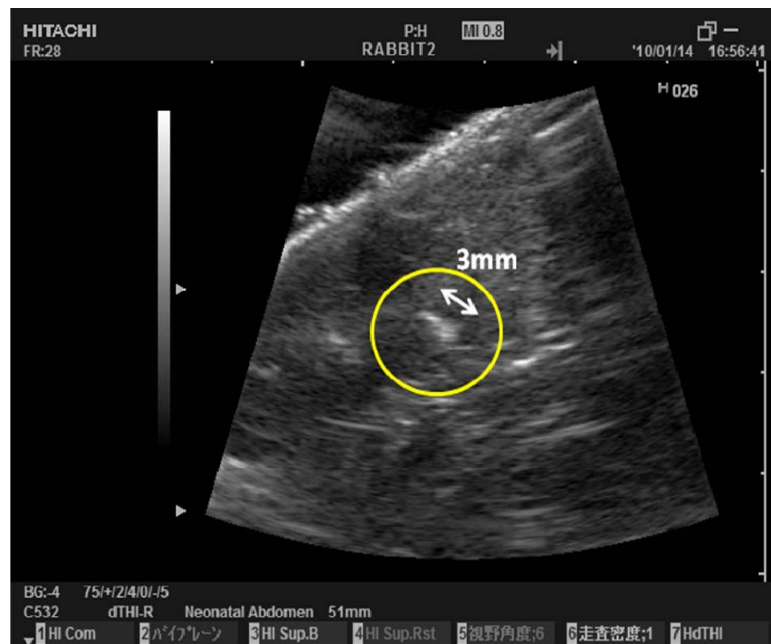


図 2)-2-3-9 治療観察中に照準に高輝度変化が認められたタイミングで治療を終了した直後のウサギ腎臓エコー像

上の図 2)-2-3-9 は、治療中に高輝度変化が認められた瞬間に治療を停止した直後のウサギ腎臓

エコー像である。このように 20 秒照射した例より短い高輝度領域が観察された。

以下の図 2)-2-3-10 は、そのウサギの所見である。超音波の伝搬経路と思われる皮膚表面および皮下組織、腹膜には肉眼的な変化は認められなかった。腎臓表面被膜下には照射経路に応じた出血を疑わせる所見を認めた。図 2)-2-3-10 右のように断面を観察（ホルマリン固定後）すると、照射に応じた出血様の変化を認めた。肉眼的には、出血様変化は治療用超音波の照準領域に限局しておりその周囲の腎臓組織は正常であった。

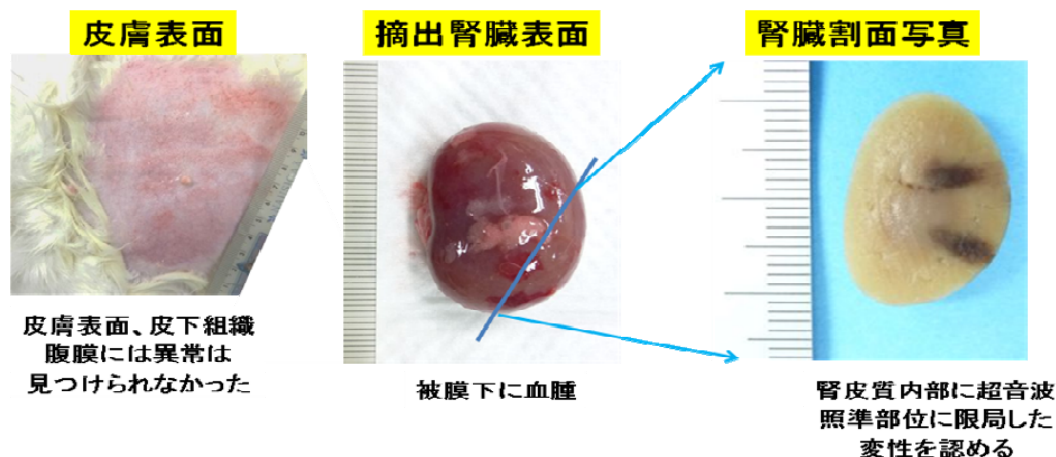


図 2)-2-3-10 腎臓の摘出後評価

次に、HE 染色した組織標本の拡大写真を示す。図 2)-2-3-11 は、照準領域の出血様部位の弱拡大写真である。写真上下に細長い出血領域が観察される。出血のサイズは、写真上下方向におよそ 3mm で左右方向におよそ 1.5mm 程度である。出血領域の周囲の腎臓組織には組織障害は認められなかった。

図 2)-2-3-12 は出血領域の強拡大写真である。糸球体内部には赤血球が充満し、尿細管腔内にも赤血球が充満しており血管の破綻が強く疑われる。また、糸球体内部に血栓用構造物が認められ、尿細管の細胞に強度な凝固壊死が認められる部位も存在する。尿細管の壊死の程度は、違いがあり、組織的検索は今後も課題といえる。

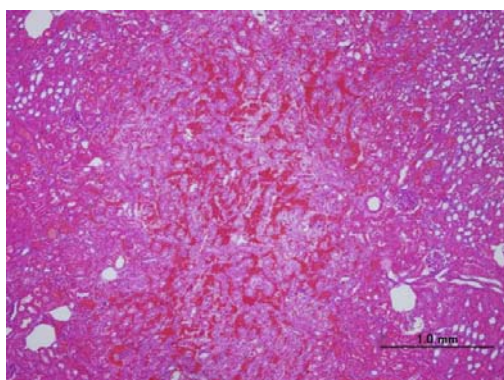


図 2)-2-3-11 HE 組織標本の弱拡大写真

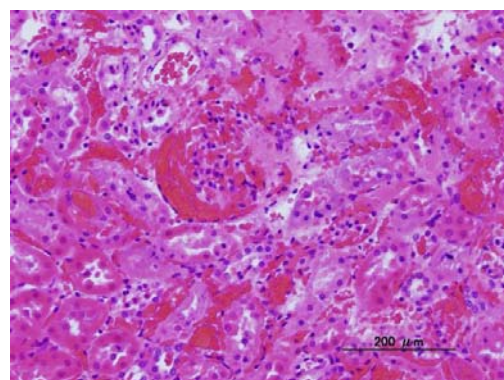


図 2)-2-3-12 HE 組織標本の強拡大写真

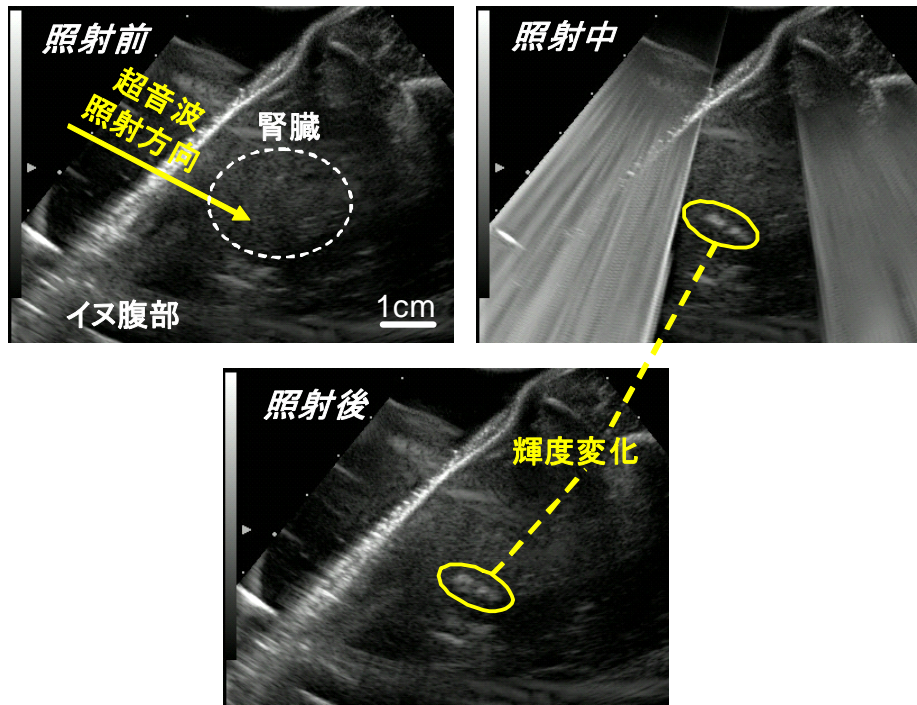


図 2)-2-3-13 体外からのイヌ腎臓への超音波照射時の組織変化観察

以上のウサギを用いた検討を元に、より人体に近いイヌを用いた検討を行った。一例として、図 2)-2-3-9 に示すのとほぼ同じ超音波条件で、体外から腎臓への超音波照射を行った際の超音波画像上の変化を図 2)-2-13 に示す。ウサギと同等の変化を認めた。すなわち、照射中に画像上高輝度領域が焦点近傍に現れ、超音波照射後も継続して観察された。このことから、イヌにおいてもウサギと同様の生体効果が得られることが期待される。実用化を目指す上で、イヌサイズでの効果検証は極めて重要であり、大きな一歩を踏み出したといえる。今後、組織変性の程度などより詳細な検討を進める。

まとめ

相変化造影剤を用いた相変化撮像を小動物だけでなく、ウサギを使った中型動物の腫瘍モデルにおいて実現している。選択的な治療効果を発揮させ、同時に標準部位以外での副作用を回避するための相変化造影剤体内挙動の把握と治療超音波の照射条件を詰め、マウス・ラットではなく人に近い超音波画像が取得できるウサギの内部臓器（腎臓）において、治療用超音波を使った限局的な組織障害効果を再現性よく発現させることができた。照準した治療領域以外の組織における組織損傷などは認められず、顕著な副作用は認められなかった。この治療超音波は、人間の臓器を体表面から治療することを想定して、超音波エネルギーの減衰を考慮した条件で施行した。すなわち、皮膚や皮下脂肪がウサギより厚い人間での適応を考慮した超音波条件でウサギの腎臓という実質組織において相変化造影治療のコンセプトを実証した。さらに、最終的な確認実験としてウサギよりさらに人のサイズに近い犬を用いて治療用超音波による経皮膚的照射による相変化造影治療が実質臓器（腎臓）で実現できることを確認中である。画像上の変化から、ウサギと同様の効果が期待される。

治療用超音波および照射システムの小動物による安全性検証

目的

本システムは、腫瘍血管の Enhanced Permeability and Retention 効果を利用して、腫瘍部でナノ液滴を相変化させ、生成したマイクロバブルに治療用超音波を照射することで、標的患部でのみキャビテーションによる腫瘍組織傷害作用を期待した。標的患部における治療効果の確認は重要であるが、実用化においては、治療による副作用や標的部外への傷害の程度を確認し、安全基準に則った治療法にしなければならない。本研究は、超音波を用いた腫瘍治療の副作用の検討と、標的部外の正常組織における本治療法の安全性を病理組織学的に検証することを目的とした。

国内外の臨床の現場で、超音波治療 (FUS ; focused ultrasound surgery) が行われているが、国際的な安全基準に関しては現在検討されているところであり、未だ確立されていない。本研究では、超音波を用いた腫瘍治療法の副作用の本報告書「相変化ナノ液滴併用超音波による組織傷害の病理組織学的重症度の新分類法」で示した病理組織学的安全基準 (案) を用いて本治療の安全性評価を行った。超音波は機械的作用、熱的作用、音響化学的作用を有するが、マイクロバブルによる超音波加熱作用の増強が本システムの治療効果の1つの要因と考える。一方、周波数が低いほど機械的作用は大きく、周波数が高い程熱的作用が大きくなるという超音波の基本的作用を考慮すると、本システムの安全性を評価する上で、生体組織の熱的变化だけではなく、低周波超音波による生体反応の検討も重要であると考ええる。

本研究では、本システムによる加熱作用を検証するため、1) 熱による組織傷害と相変化ナノ液滴併用超音波による組織傷害を比較した。また、2) 相変化ナノ液滴と3) 治療用超音波条件を用いて、マウス皮下腫瘍モデルに対して、4) 相変化ナノ液滴併用治療用超音波の腫瘍組織傷害作用を病理組織学的に評価し、本システムによる治療効果を確認した。同条件をラット正常肝臓に適用し、5) 正常組織における相変化型ナノ液滴併用治療用超音波の安全性を調べた。さらに、超音波刺激による生化学反応の検討として、6) 低周波超音波による腫瘍内 NO 産生を検証した。NO は腫瘍増殖に関与することから、本システムにおいても重要な検討項目であると考ええる。

安全性試験

1) 熱による組織傷害

【実験目的】

電気凝固の熱的作用による組織傷害を病理組織学的に評価する

【実験方法】

実験対象 : Fisher 344 ラット (233.5 g) 1例

麻酔方法 : イソフルレン (1.0~3.0%)、マスク吸入麻酔、酸素 473~624ml/min

測定項目 : 直腸温

実験手順 : 全身麻酔下にラット正常肝臓を露出し、電気凝固装置 (エルマン社・サージトロン EMC) によりバイポーラ型摂子を用いて5秒間肝組織を焼灼した。焼灼の強度は3W, 6W, 9Wとした。

評価方法 : 実験後、ペントバルビタール静脈麻酔による安楽死処置後、直ちに肝臓を摘出し10%ホルマリンにて固定した。焼灼部最大断面が出るように切り出し、パラフィン包埋、4 μ mに薄切後 HE 染色、Masson 染色を行った。

【結果】

3W, 6W, 9W の強度において、肉眼的に焼灼による白色変化が認められた。

同部位を病理組織学的に観察すると、核は残存するが細胞質の染色性が著変し、高度変性を示していた。これは、組織傷害重症度 gradeⅢ（上章参照）に相当し、不可逆的变化と考えられた。また、正常部分との境界付近では出血が生じており、一部細胞の壊死傾向が認められた。

【検討】

電気凝固の熱的作用による高度の細胞変性は、細胞膜が崩壊し、更に核の消失に至るものと推定された。相変化ナノ液滴併用超音波による組織傷害の重症度（上章参照）に照らし合わせると組織傷害重症度 gradeⅢに相当する不可逆的变化と考えられた。即ち、相変化ナノ液滴併用超音波による組織傷害の機序は熱的作用による傷害機序と類似することが示唆された。

一方、Sasaki 等はミニブタ正常肝臓に超音波（High intensity focused ultrasound (HIFU)）のみを照射した。その焦域における組織傷害を上章で作成した組織傷害重症度と比較すると、重症度Ⅳに相当する無構造凝固壊死巣がみられた（図 2）-2-4-4⁵⁾。Sasaki 等は、周波数 4.25MHz の連続波、標的部での音響強度約 1kW/cm² を 4 秒間照射した。本治療システムの治療用超音波とは周波数も、波形も異なるが、熱的作用による組織傷害の機序と類似性が認められた。



図 2)-2-4-1 焼灼部の肉眼写真

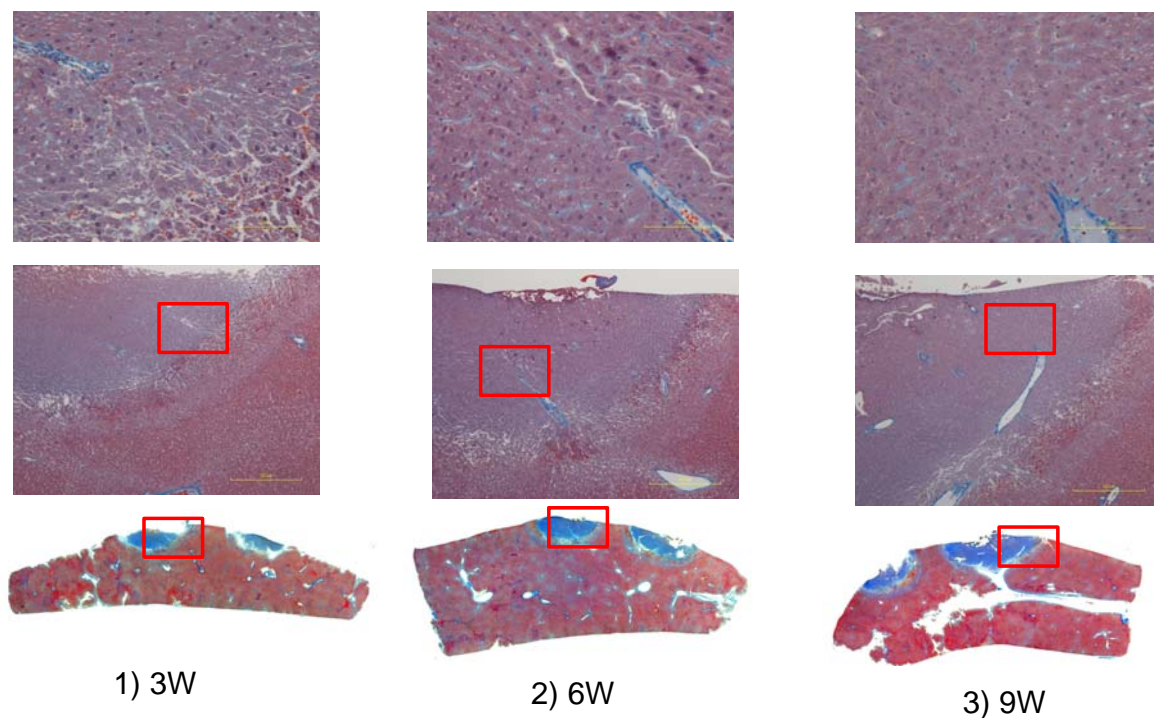


図 2)-2-4-2 焼灼部の光顕写真（Masson 染色）

上段：40 倍 中段：4 倍 下段：2 倍

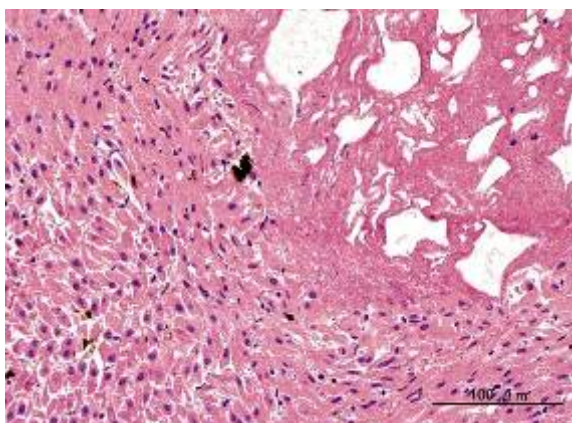


図 2)-2-4-3 HIFU 照射後のミニブタ正常肝臓の組織像 (H-E 染色)

以上から、相変化型ナノ液滴併用超音波の組織傷害作用は熱的作用と類似しており、これは HIFU による組織傷害作用においても同様であった。過去に、超音波の安全性を評価する病理組織学的基準はない。本研究成果である組織傷害重症度分類表により、超音波単独のみならず造影剤を併用した際の超音波の安全基準案を提示できたものと言える。

【結論】

相変化ナノ液滴併用超音波による組織傷害作用は、熱あるいは H I F U による組織傷害機序と類似することが示唆された。

2) 相変化型ナノ液滴条件

日立製の相変化型ナノ液滴は PFC 封入リン脂質を使ったキャリアである。本安全性試験では、PFC5:PFC6=50:50 のナノ液滴を使用した。

3) 治療用超音波条件

相変化型ナノ液滴に相変化用超音波を照射すると液滴は気相化してマイクロバブルが生成される。生成したマイクロバブルを振動・圧壊させて加熱治療を行うための超音波を、相変化用超音波と一体化し、治療用超音波とした。小動物に対する超音波条件は、マウス腹部皮下 colon26 移植腫瘍モデルを用いた実験により、日立中研により最適化された条件である。

表 2)-2-4-1 治療用超音波条件

周波数	3MHz + 1MHz
波形	Burst, PRF 53Hz, PD 10s
波数	3MHz) 100 cycles 1MHz) 10632 cycles
音響強度	3MHz) 2.0 kW/cm ² ~ 2.5 kW/cm ² 1MHz) 200 W/cm ² ~ 400 W/cm ²

4) 相変化型ナノ液滴併用治療用超音波による腫瘍組織傷害作用

【実験目的】

小動物に最適化された治療用超音波による腫瘍組織傷害作用の病理組織学的を立証する。

【実験方法】

実験対象：CDF1 マウス(7週齢) 3頭

結腸癌由来腫瘍 Colon26 皮下移植約2週間後

麻酔方法：ペントバルビタール、腹腔内投与

動物実験：非治療群(超音波非照射)1例、治療群 2例

実験場所：日立製作所中央研究所

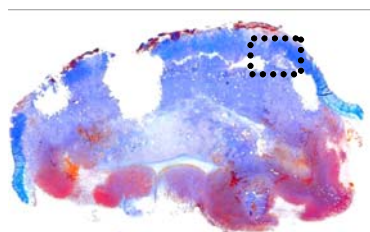
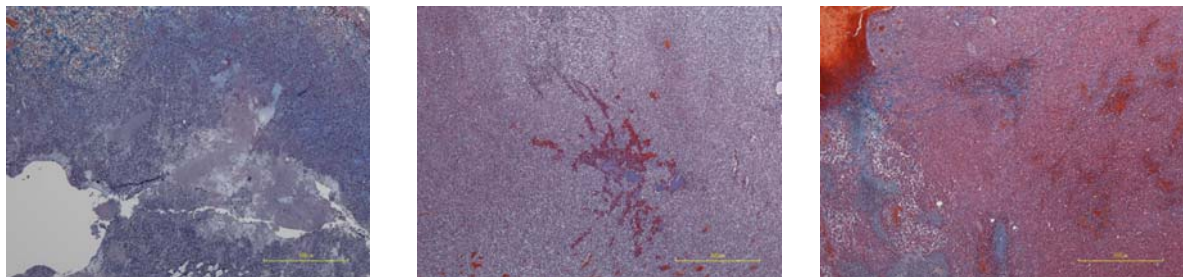
実験手順：治療群はマウス皮下 colon26 移植腫瘍モデル2例に相変化型ナノ液滴(28mg/kg)を尾静脈より投与し、2分後から治療用超音波を腫瘍全域に照射した。実験後、頸椎脱臼による安楽死処置後、直ちに腫瘍を摘出し10%ホルマリンにて固定した。

病理組織学的評価：組織検体を超音波照射部位中心に組織標本としてパラフィン包埋、4 μ mに薄切後 Masson 染色を行った。また、非治療群(超音波非照射)1例の腫瘍も同様の処置を行った。

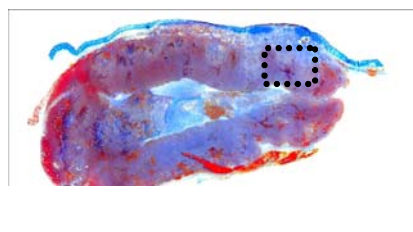
病理組織学的評価場所：慈恵大学病理学講座

【結果】

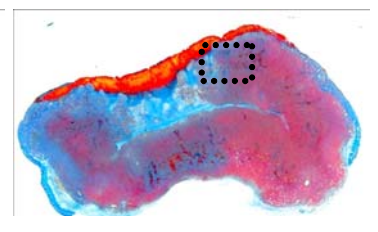
治療群2例において、腫瘍全体に生存腫瘍細胞が優勢であったが、組織の無構造化を示す不規則な地図状の壊死領域(無構造凝固壊死、重症度IVに相当)が散在していた。非治療群には、自然壊死巣が認められたが、無構造凝固壊死巣は認められなかった。



1) 治療例 - 1



2) 治療例 - 2



3) 非治療例

図 2)-2-4-4 マウス colon26 の組織像

【検討】

colon26 腫瘍組織内の非治療群には、自然壊死巣が認められたが、無構造凝固壊死巣は認めら

れなかった。一方、治療群 2 例では自然壊死巣と腫瘍細胞の生存領域以外に無構造凝固壊死巣が認められ、相変化型ナノ液滴併用超音波の作用による効果と考えられた。治療効果を高めるためには、相変化型ナノ液滴と超音波の相互作用を増高する条件を検討する必要があることが示唆された。

【結論】

相変化ナノ液滴と小動物に最適化された治療用超音波による作用がマウス colon26 皮下腫瘍組織において確認できた。

5) 正常組織における相変化型ナノ液滴併用治療用超音波の安全性

【実験目的】

相変化型ナノ液滴併用治療用超音波による正常組織傷害を病理組織学的に評価する。

【実験方法】

麻酔方法：イソフルレン（導入 3.0-4.0%，維持 1.0-2.0%）、マスク吸入麻酔、酸素 680～750ml/min
測定項目：直腸温、血液酸素飽和度 (SpO₂)（前脚）

動物モデル作成方法：Umemura らが用いたマウス開腹下肝臓牽引モデルをラットにおいて作成した^{1,2)}。大腿静脈より 24G 留置針を挿入後、腹部を正中切開し、肝左葉を 6-0 プロリーン糸で体外に牽引し、専用のフレームに固定した。

実験手順：大腿静脈から日立製相変化型ナノ液滴（組成 A）を単回投与した後、0.9%の生理食塩水槽中で相変化用超音波を体外に牽引した肝臓に治療用超音波を照射した。実験中はラットの直腸温が 36 度～37 度を保つように水温を調整した。超音波は液滴投与前、投与後 3 分、40 分に照射した。

病理組織学的評価：実験終了後、直ちに安楽死せしめ、肝を摘出した。10%ホルマリン固定後、超音波照射部を切り出し、パラフィン包埋後、600 μm 毎に厚さ 4 μm に薄切し、HE 染色を行った。組織傷害重症度分類表の grade II～grade IV に相当する組織傷害を（組織傷害）陽性とした。

【結果】

全例において、超音波画像上の輝度変化と肉眼的傷害所見を認めなかった。3 例中 1 例で、液滴投与後 10 分に超音波照射による病理組織学的組織傷害を認めた（最大傷害断面積 0.72mm²）。

【考察】

液滴投与後 10 分に 3 例中 1 例において最大傷害断面積直径約 1.0mm の組織傷害を招来した。組織傷害領域は超音波ビーム焦点領域の 88%であった。傷害の重症度は grade II～IV であり、目的の焦点領域内に液滴と超音波による組織傷害作用が生じたと考えられる。

マウス腫瘍モデルに最適化した治療用超音波は 3 例中 1 例に病理組織学的に傷害を与えたが、標的領域内にその傷害は留まり、標的外正常肝臓に対して病理組織学的に無害であった。

これらの小動物を用いた実験から本治療法に関して以下の事が示唆された。

- 1) 治療効果：皮下移植腺がんを用いた実験的検討では、ナノ液滴投与下超音波照射により腫瘍内に無構造的壊死を惹起し、腫瘍縮小効果が期待される。
- 2) 安全性：本治療法における超音波条件の安全性が、ナノ液滴集積性の高い肝臓において示唆された。

【結論】

マウス腫瘍モデルに最適化された治療用超音波は、標的領域外のラット正常肝臓に対して、病理組織学的に組織傷害を与えず、安全であることが示唆された。

6) 低周波超音波による腫瘍内 NO 産生

【実験目的】

低周波超音波による腫瘍内 NO 産生動態変化を検証する

【実験方法】

腫瘍モデル：動物) Fisher 344 ラット (315.5-423.5) 3例

腫瘍細胞) RT-2 glioma(2×10⁶cells)

移植部位) 大腿皮下

麻酔方法：イソフルレン (1.0～3.0%)、マスク吸入麻酔、酸素 473～624ml/min

超音波条件：周波数) 490.6kHz、連続波、音響強度) 1.0W/cm²、照射時間) 30 分間

実験手順：移植 10 日後に、全身麻酔下にラット大腿皮下腫瘍部に超音波を照射した。

評価方法：腫瘍に NO 電極を穿刺し、電極先端が腫瘍中心部となるように固定。

超音波照射による

NO 産生動態を実時間的にモニタした。

【実験結果】

超音波照射により腫瘍内 NO 産生は増高した。初期値 2.0-5.0 μ M からの最大変化量は、1.3-6.9 μ M であった。

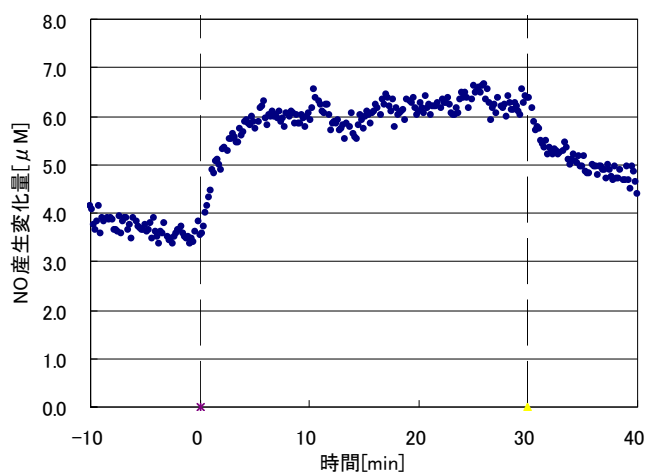


図 2)-2-4-5 超音波による腫瘍内 NO 産生動態変化の例

【検討】

本実験で使用した 490.6kHz 連続波超音波は、ウサギ大腿内転（正常組織）の NO 産生量を上昇させることが報告されている (Sugita 等⁶⁾)。本実験結果では、全例において、超音波の照射後、NO 濃度は上昇し、照射後 30 分以内に最大値となった。また、超音波の照射を停止すると、NO 濃度は低下傾向を示した。このことから、本超音波条件は腫瘍においても NO 産生量を一時的に上昇させる作用を有することが示唆された。

Doi 等は腫瘍内における NO が腫瘍成長に密接に関係し、NO が腫瘍成長を早めることを報告した

7)。さらに、Ambs 等は NO の抑制によって腫瘍治療効果得られる可能性を示唆した⁸⁾。本実験結果から、低周波超音波が腫瘍内 NO 産生の動態を変化させ得る可能性が考えられる。本システムを臨床適用する際には、その超音波条件と遺残腫瘍成長との関係を検討する必要があるものと考えられる。

生体内では、NO 合成酵素の活性により L-Arginine と酸素からの合成や、ヘム蛋白質からの遊離などによって NO は産生される。効率的に超音波 NO 産生を制御するために、本実験で検出した NO 産生機序の解明も重要であると考ええる。

本実験で使用した超音波周波数 500kHz は本システムの超音波条件範囲であるが、本実験で使用した小動物腫瘍モデルに最適化した超音波周波数 1MHz とは異なる。しかしながら、本実験で使用した超音波条件範囲外の超音波が腫瘍内 NO 動態に影響を与える可能性は否定できない。臨床応用に際しては、本システムの副作用として、腫瘍内 NO 動態変化の有無とこれが腫瘍に及ぼす影響を十分に検討するべきであると考ええる。

【結論】

490.6kHz 連続波超音波の照射によって腫瘍内の NO 産生量は一時的に上昇した。

臨床応用に向けた考察

相変化ナノ液滴併用超音波による組織傷害機序は、熱あるいは H I F U による組織傷害機序と類似することから、組織傷害重症度分類法 (①-5-3 参照) は超音波治療の病理組織学的安全評価の基準として利用できるものと考えられた。

マウス colon26 皮下腫瘍において、相変化ナノ液滴併用超音波の作用による無構造凝固壊死が認められ、本システムの有効性が確認された。

マウス皮下腫瘍において、治療の有効性が確認できた超音波はラット正常肝臓に対して病理組織学的に無害であり、安全であると考えられた。

今後の臨床使用に向けては、1) 標的とする腫瘍の病態モデルにおける有効性、2) 標的とする腫瘍発生臓器の正常組織における安全性および 3) 大型の動物における安全性などを検討する必要となるものと考ええるが、本研究では、今後、安全性を検討する上での基盤を作ることができたものと考ええる。

結論

超音波治療における病理組織学的安全性の評価基準案を提示し、超音波焦点外における治療用超音波の安全性を病理組織学的に確認した。今後、標的とする臓器の腫瘍モデルや大型動物などによる基礎的検討を行う事により、臨床応用が期待できる。

ゼラチン誘導体系キャリアーを用いる相変化ナノ液滴体内動態制御

ゼラチンは臨床使用実績をもち、生理的プロセスにより分解代謝される生体適合性材料である。またゼラチンは、種々の反応性官能基をもつため、化学修飾が容易である。本研究では、臨床使用実績があるポリ乳酸、コレステロール、およびフッ素化合物などの疎水性残基をゼラチンへ化学導入、界面活性能をもつゼラチン誘導体を用いた。これらのゼラチン誘導体を用いてナノ液滴を作製し、その保存安定性および血中安定性について調べた。

ゼラチン誘導体の作製

【実験方法】

ゼラチン（牛骨由来、等電点 5.0、重量平均分子量 10,000 および 100,000）の脱水ジメチルスルホキシド溶液（DMSO）へ、それぞれの疎水性残基（水酸基を活性化した乳酸オリゴマー（重量平均分子量 1,000, 3,300, 5,000, および 20,000）とコレステロール、トリフルオロ酢酸無水物、および活性化パーフルオロペンタン酸）を加えた。これらの混合溶液を室温、18 時間の条件で反応させた。得られた反応溶液を水に対して 2 日間、透析した。不溶性成分を遠心（8,000 rpm, 10 分）で除去、可溶性成分を凍結乾燥し、疎水性残基を化学導入した種々のゼラチン誘導体を作製した。疎水性残基の仕込み量を変化させることによって疎水性残基導入率の異なるゼラチン誘導体を得た。

【結果と考察】

得られたゼラチン誘導体の作製条件およびリン酸緩衝生理食塩水（PBS）への溶解性を表 2)-3-1-1 に示す。分子量の高い導入乳酸オリゴマーあるいは導入率の高いゼラチン誘導体は PBS に溶解しなかった。これは、ゼラチン誘導体分子内の疎水性分子の割合が高かったことが原因であると考えられる。今後の実験では、分子分散状態あるいはミセル状態で溶解しているゼラチン誘導体を用いた（表 2)-3-1-1）。

表 2)-3-1-1：作製したゼラチン誘導体の水に対する溶解性（1 mg/ml）

疎水性基		仕込み比(ゼラチンに対して)				
		3	10	15	30	90
乳酸オリゴマー	1,000	○	/	○	/	/
	3,300	/	○	/	/	/
	5,000	×	×	×	/	/
	20,000	×	×	×	/	/
コレステロール	387	/	/	○	○	○
トリフルオロ酢酸	211	/	/	◎	◎	◎
パーフルオロペンタン酸	264	◎	/	◎	◎	/

×：水に不溶、○：ミセル状に溶解、◎：分子分散溶解

表 2)-3-1-2：表面修飾ナノ液滴の作製に用いたゼラチン誘導体 (Code)

疎水性基		仕込み比(ゼラチンに対して)				
		1	5	15	30	90
乳酸オリゴマー	1,000	1-3		1-15		
	3,300		3-5			
コレステロール	387			C15	C30	C90
トリフルオロ酢酸	211					F90
パーフルオロペンタン酸	264	CF3		CF15	CF30	

ゼラチン誘導体を用いた表面修飾ナノ液滴の作製と評価

【実験方法】

得られたゼラチン誘導体のリン酸緩衝生理食塩水溶液 (PBS, pH 7.4) (1 mg/ml、20 ml)へ、パーフルオロペンタン (PFC5、沸点 29°C) あるいはパーフルオロヘキサン (PFC6、沸点 60°C) を添加した。この添加液を、常圧ホモジナイザー (4°C、25,000 rpm、10 秒)、続いて高圧ホモジナイザー (4°C、10 Mpa、6 分間) を用いて乳化、1.2・m のシリンジフィルターを用いてろ過し、ゼラチン誘導体を用いて表面修飾したナノ液滴を得た。添加する PFC5 あるいは PFC6 の量およびゼラチン誘導体の種類を変化させることによって、種々の表面修飾ナノ液滴を作製した。表面修飾ナノ液滴中の PFC5 および PFC6 の量は、ガスクロマトグラフ (インジェクタ温度：100°C、ディテクタ温度：200 度、カラム：Gasukuropack54 80/100、溶出条件：100°C→5°C/min→130°C→60°C/min→190°C、2min、サンプル投与量：5・1) 用いて測定した。添加した PFC5 および PFC6 量に対する表面修飾ナノ液滴中の PFC5 および PFC6 量の割合 (%) を封入率と定義した。表面修飾ナノ液滴のサイズは、動的光散乱装置にて測定した。ゼラチン誘導体を用いた表面修飾ナノ液滴を分散させたアクリルアミドゲルを作製した。このアクリルアミドゲルへの超音波を照射、表面修飾ナノ液滴の相変化能を調べた。

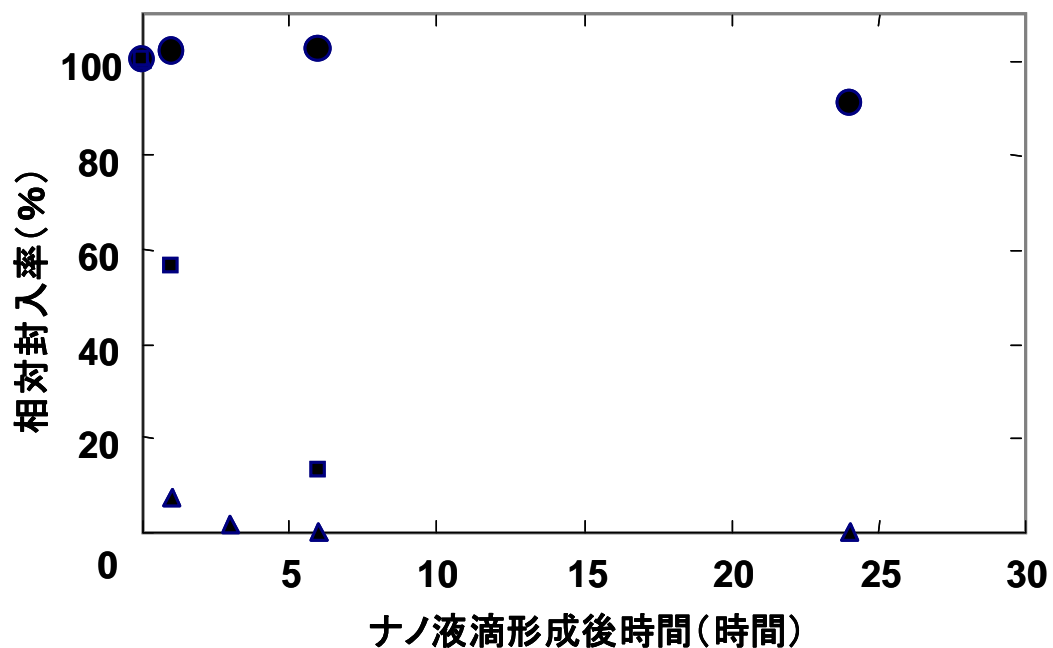


図 2)-3-1-1 : 表面修飾ナノ液滴の相対封入率の時間変化に与える仕込み PFC6 量 (vol%) の影響。仕込み PFC6 量 (vol%) : 0.25 (●)、1.0 (■)、2.5 (▲)。ゼラチン誘導体 (C15, 1 mg/ml) で作製した。表面修飾ナノ液滴作製直後の封入率を 100% とした。

【結果と考察】

図 2)-3-1-1 は、表面修飾ナノ液滴の封入率に与える PFC6 の添加量の影響を示す。表面修飾ナノ液滴のサイズは時間とともに大きくなり、その封入率も減少した。この傾向は、PFC6 添加量の増加 (ゼラチン誘導体添加量は一定) とともにより大きくなった。これは、PFC6 に対するゼラチン誘導体の量が少なく、ナノ液滴表面の修飾が十分に行われなかったためであると考えられる。今後の実験では、ゼラチン誘導体 1 mg に対して 25 · 1 (0.25 vol%) の PFC の条件で作製した表面修飾ナノ液滴を用いた。

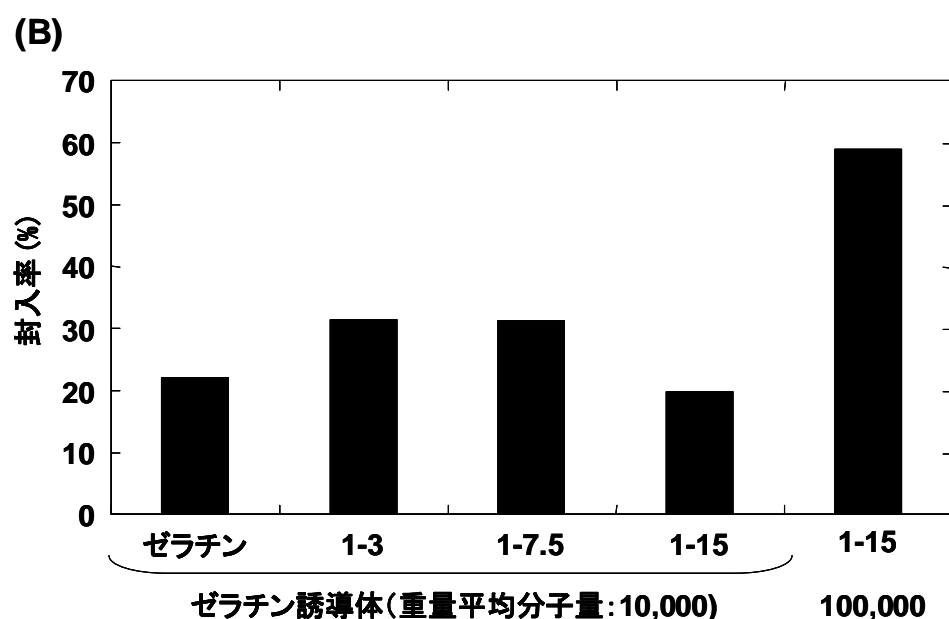
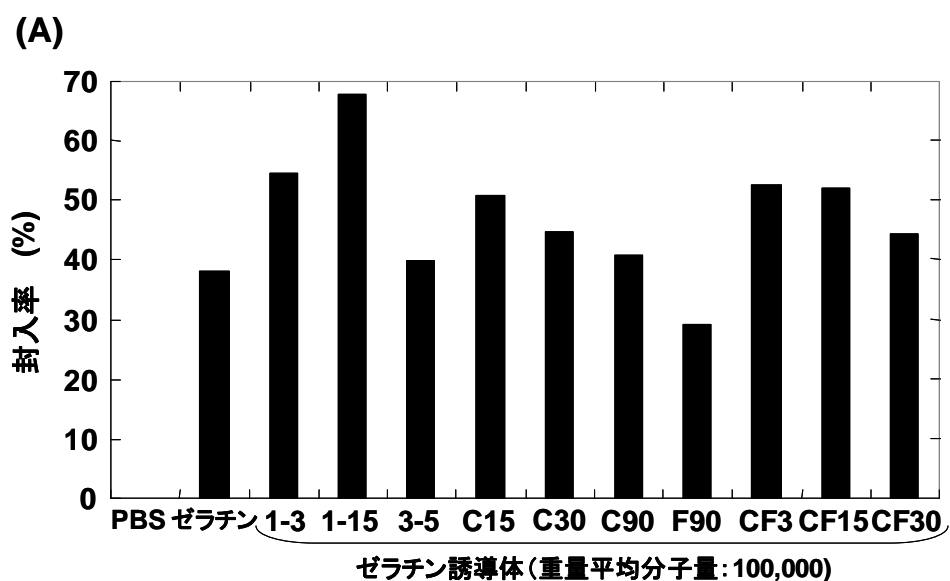


図2)-3-1-2: 表面修飾ナノ液滴の封入率に与える(A)ゼラチン誘導体の種類および(B)ゼラチン分子量の影響。作製時のゼラチン誘導体の濃度は1 mg/ml、仕込みPFC6量は0.25 vol%である。

表面修飾ナノ液滴の封入率に与えるゼラチン誘導体の種類の影響を調べた。その結果、分子量1,000の乳酸オリゴマーを導入したゼラチン誘導体が最も高い封入率を示した(図2)-3-1-2A)。また、ゼラチンの分子量が低い場合(重量平均分子量:10,000)、封入率は低くなった(図2)-3-1-2B)。これらの結果は、PFCを封入した表面修飾ナノ液滴の形成にはゼラチン分子量と疎水性残基の種類とのバランスが重要であることを示している。表面修飾ナノ液滴のサイズはゼラチンの種類に関係なく、200 nm程度であった。そこで以降の検討は、PFC5あるいはPFC6の含有率が最も高か

った乳酸オリゴマー導入ゼラチンで表面修飾したナノ液滴を用いて行った。表面修飾ナノ液滴の超音波による相変化能を調べた結果、これまでのリン脂質を用いたナノ液滴とほぼ同等の相変化能を有していることがわかった(図2)-3-1-3)。

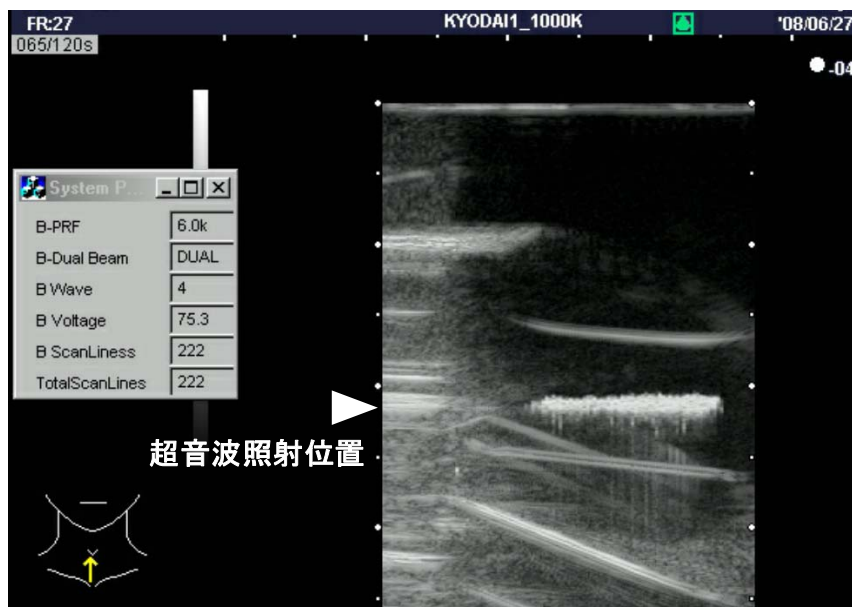


図2)-3-1-3：表面修飾ナノ液滴の超音波照射による相変化像

ゼラチン誘導体を用い表面修飾ナノ液滴の保存安定性の評価

【実験方法】

生理的条件下で液体から気体へと相変化する PFC5 を添加した表面修飾ナノ液滴を作製し、PBS 中、4℃および 37℃の条件下で、開放系にて静置、一定時間後の残存 PFC5 量を測定した。表面ナノ液滴形成直後の PFC5 量に対する一定時間後の残存 PFC5 量の割合を残存率 (%) と定義、表面修飾ナノ液滴の保存安定性を評価した。加えて、表面修飾ナノ液滴の体内での安定性を体外で評価する 1 つの方法として、血液中に存在する最も多いタンパク質である牛血清アルブミン (BSA) 中での保存安定性を調べた。

【結果と考察】

図2)-3-1-4A は、PBS 中での表面修飾ナノ液滴の残存率の時間変化である。半減期は、37℃において 4 時間以上であった。しかしながら、BSA を含む PBS 中での表面修飾ナノ液滴の保存安定性は低下した (図2)-3-1-4B)。これは、BSA とナノ液滴表面のゼラチン誘導体鎖との相互作用によって表面修飾ナノ液滴が不安定化したことが原因の一つであると考えられる。

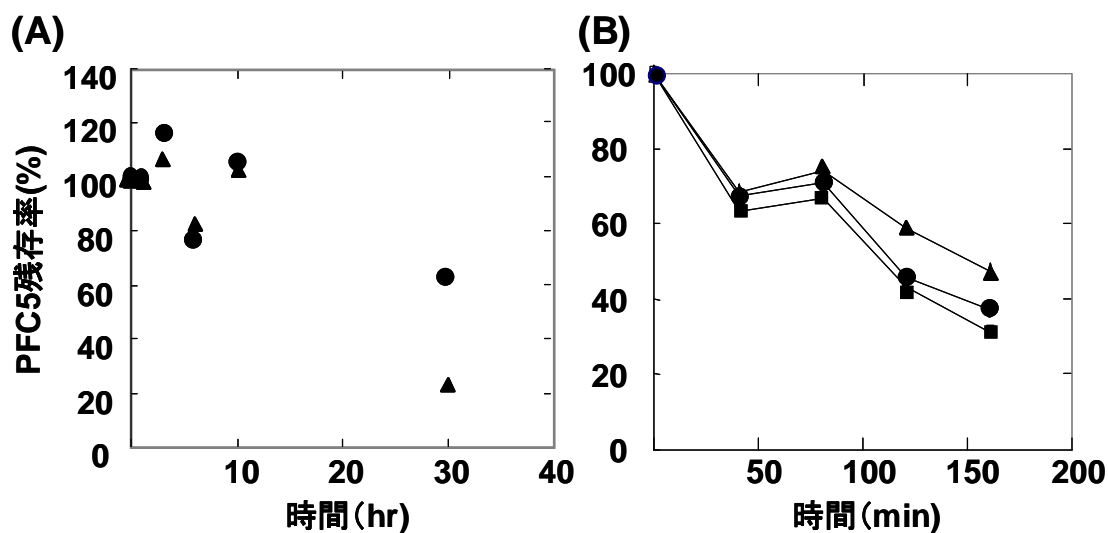


図 2)-3-1-4: 表面修飾ナノ液滴の PFC5 残存率の時間変化。ゼラチン誘導体(1-15)からなる表面修飾ナノ液滴を使用した。(A) 表面修飾ナノ液滴を PBS 中、4(●)あるいは 37°C(▲)で攪拌した。(B) ゼラチン誘導体(●)、合成高分子(▲)あるいはリン脂質(■)からなる表面修飾ナノ液滴を BSA を含む PBS 中、37°Cで攪拌した。

保存安定性向上を目指した表面修飾ナノ液滴の改良

【実験方法】

上記の問題点を解決するために、ナノ液滴表面のゼラチン鎖を化学架橋し、修飾ゼラチン鎖の表面からの脱離を抑制、液滴構造を強固にすることを試みた。すなわち、表面修飾ナノ液滴に対して種々の濃度のグルタルアルデヒドあるいは 1-エチル-3-(3-ジメチルアミノプロピル)カルボジイミド (EDC) をそれぞれ加え、シッフ塩基あるいはアミド結合により、ゼラチン分子間を化学架橋した。得られた架橋型表面修飾ナノ液滴に対して、上述と同様の実験を行った。

【結果と考察】

通常の表面修飾ナノ液滴と比較して、架橋型表面修飾ナノ液滴の保存安定性の改善は得られなかった。この原因として、架橋反応が不十分であったことが考えられ、今後、詳細な検討が必要である。

ゼラチン誘導体を用い表面修飾ナノ液滴の *in vivo* 血中安定性の評価

【実験方法】

乳酸オリゴマーを化学導入したゼラチン誘導体の脱水 DMSO 溶液へ、片末端メトキシ基、片末端 N-ヒドロキシスクシンイミド基をもつポリエチレングリコール (MeO-PEG-NHS, 重量平均分子量: 5,000) を加え、室温で 18 時間の条件で反応させた。得られた反応溶液を水に対して透析、凍結乾燥することにより PEG 化ゼラチン誘導体を作製した。得られた PEG 化ゼラチン誘導体を用いて、上記と同様の方法で表面修飾ナノ液滴を作製、ナノ液滴中の PFC5 および PFC6 量を測定した。その結果、PFC5 および PFC6 を同程度封入できていることがわかった。近赤外領域で蛍光発光する Cy5.5 で PEG 化ゼラチン誘導体を標識した後、表面修飾ナノ液滴を作製した。担がんマウスの尾

静脈より Cy5.5 標識表面修飾ナノ液滴を投与、経時的に蛍光イメージング装置 (LAS 4000、GE Healthcare 社製) で撮像し、表面修飾ナノ液滴の体内動態を評価した。一方、正常マウスへ表面修飾ナノ液滴を静脈内投与し、経時的に採血、血液中に存在する PFC 量をガスクロマトグラフで測定、血中半減期を算出した。

【結果と考察】

図2)-3-1-5 にゼラチン誘導体あるいは PEG 修飾ゼラチン誘導体を用いた表面修飾ナノ液滴の蛍光イメージングの時間変化を示す。投与 3 時間後より表面修飾ナノ液滴はがん組織へ集積した。一方、ゼラチン誘導体あるいは PEG 修飾ゼラチン誘導体を用いた表面修飾ナノ液滴の血中半減期は 2 分程度 (図2)-3-1-6) であり、第 1 世代のナノ液滴と同等であった。これらの結果は、血中投与により、表面修飾ナノ液滴中の PFC が脱離していることを示唆している。

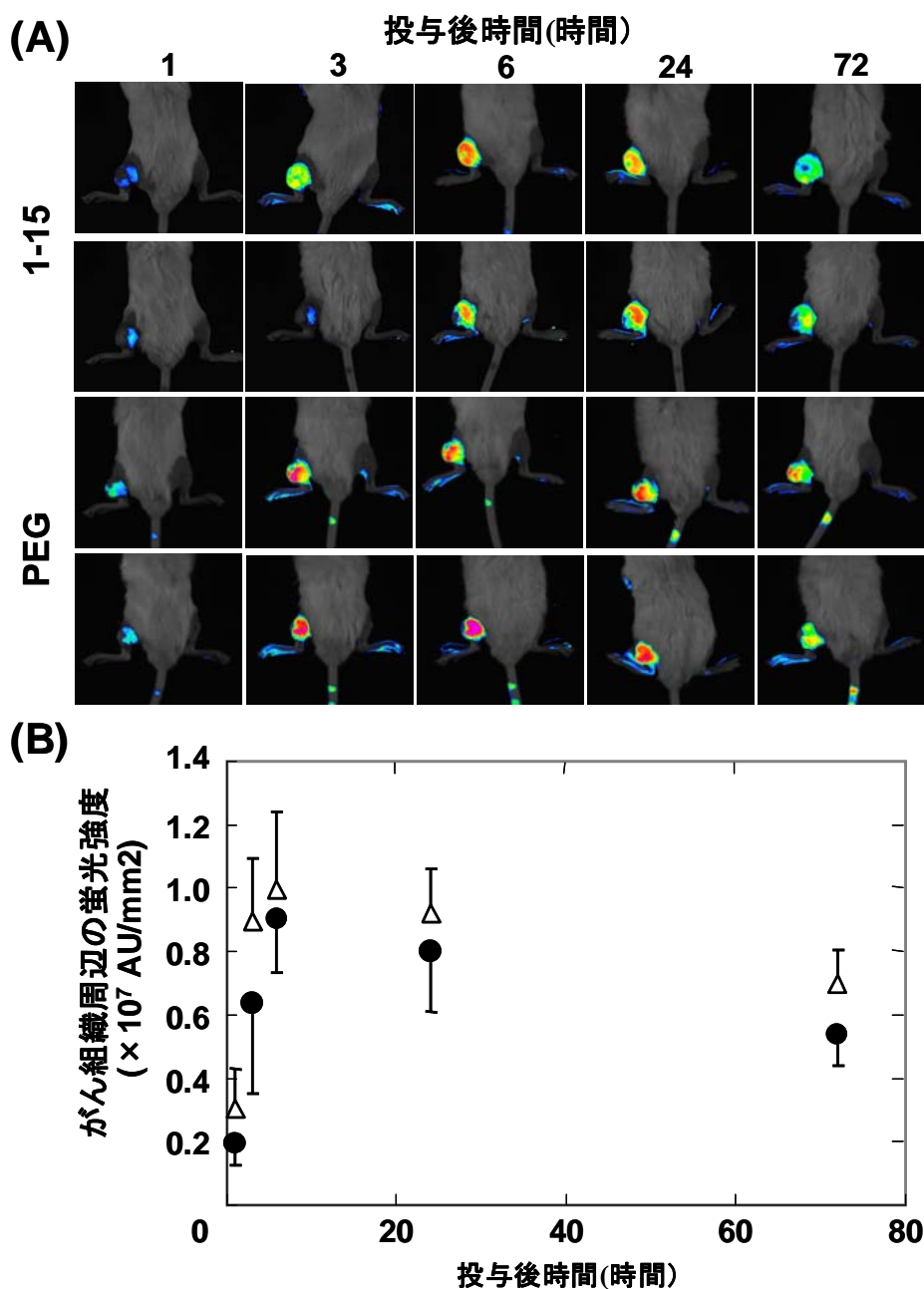


図2)-3-1-5：ゼラチン誘導体(1-15, ●)あるいはPEG修飾ゼラチン誘導体(PEG, ▲)を用いた表面修飾ナノ液滴蛍光イメージング(A)およびがん組織周辺の蛍光強度の時間変化(B)。Cy5.5で蛍光標識したゼラチン誘導体を用い、担がんマウス（左後肢にがん細胞を移植）の尾静脈より投与した。

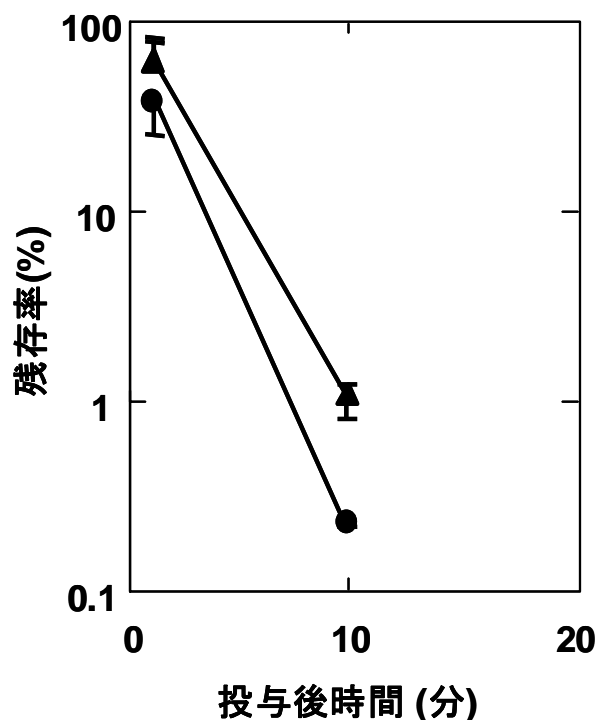


図2)-3-1-6：ゼラチン誘導体(●)あるいはPEG修飾ゼラチン誘導体(▲)を用いた表面修飾ナノ液滴の血中残存率の時間変化。正常マウスを用いた。

In vivo血中安定性向上のための表面修飾ナノ液滴の改良

【実験方法】

ナノ液滴の in vivo 血中安定性を向上させるために、ナノ液滴の表面にあるゼラチン鎖のアミノ基あるいはカルボキシル基に対して異なる量の MeO-PEG-NHS あるいはメトキシ基とアミノ基からなる PEG (MeO-PEG-NH₂) をそれぞれ反応させることによってナノ液滴の PEG 修飾を試みた。得られた PEG 修飾ナノ液滴の表面電位を電気泳動光散乱装置で測定した。PEG 表面ナノ液滴の血中安定性を同様の方法にて評価した。

【結果と考察】

図2)-3-1-7はPEG修飾ナノ液滴の表面電位と血中残存率の時間変化を示している。PEG-NHSの仕込み量を変化させることによって表面電位が0へ近づいたことから、ナノ液滴表面がPEG鎖によりカバーされていると考えられた。しかしながら、このPEG修飾によってはナノ液滴の血中安定性に変化は認められなかった。PEG修飾の様式、例えば表面密度がその血中安定性の程度に影響することが報告されている。今後PEG修飾密度に関する詳細な検討が必要となるであろう。

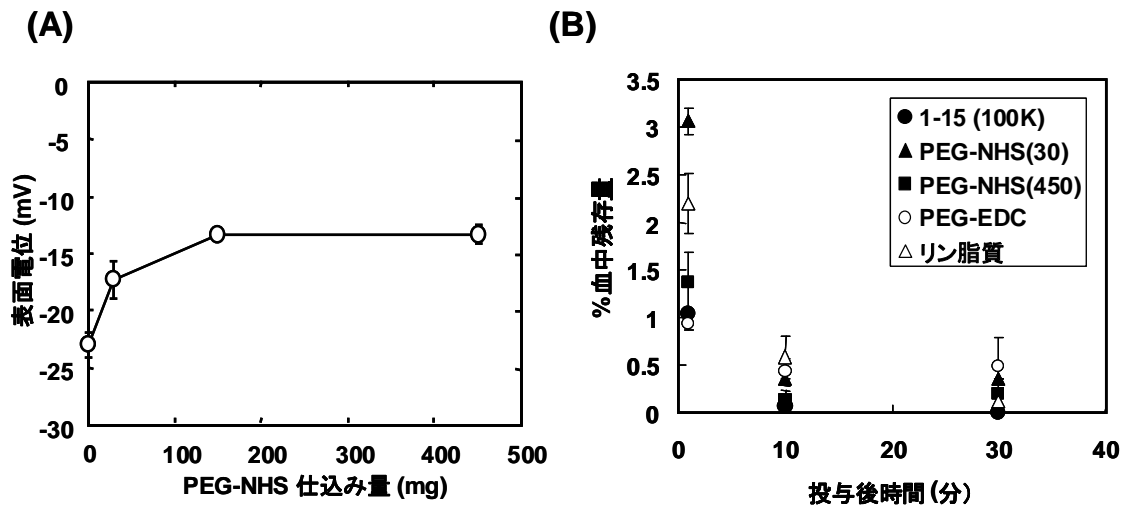


図 2)-3-1-7 : PEG 修飾ナノ液滴の表面電位と血中残存率の時間変化。

【まとめ】

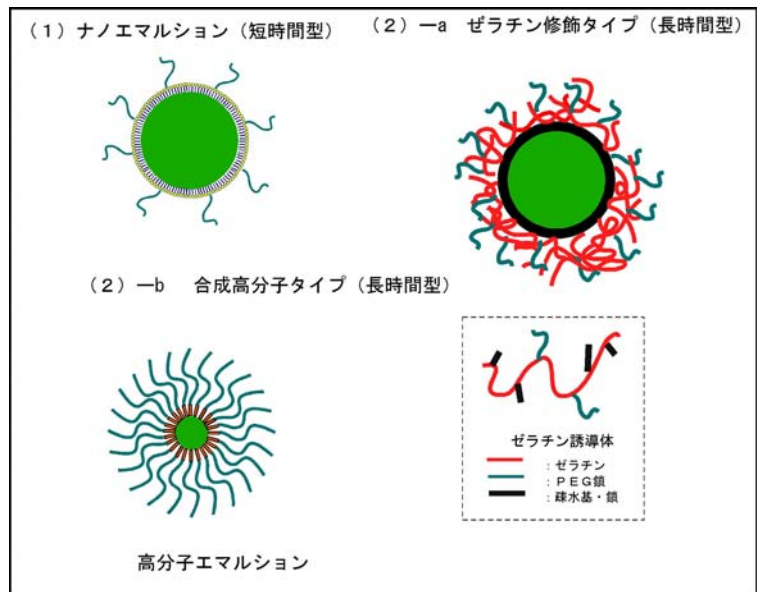
ゼラチン誘導体を用いて PFC を封入した表面修飾ナノ液滴を作製することができた。ゼラチン誘導体の分子量および種類によって PFC の封入率は異なっていた。ゼラチン誘導体修飾によってもリン脂質からなるナノ液滴とほぼ同等の超音波照射による相変化能を有していた。ゼラチン誘導体修飾により PFC を封入したナノ液滴の保存安定性および血中安定性は、第 1 世代のリン脂質からなるナノ液滴と同等であった。原因として、ナノ液滴表面のゼラチン鎖の不安定性および表面に修飾されている

PEG の密度の低さが考えられる。ナノ液滴表面のゼラチン鎖の安定性を高めるために、複数の種類のゼラチン誘導体を用いた表面修飾ナノ液滴の作製や加圧化でナノ液滴表面のゼラチン鎖を架橋するなどの工夫が考えられる。ナノ液滴への修飾 PEG 密度を増加させるためには、PEG の分子量や修飾反応の方法などを変化させることが必要であると考えられる。今後は、これらの点について検討していく予定である。

液晶性高分子キャリアを用いる相変化ナノ液滴体内動態制御

神奈川科学技術アカデミー

合成高分子を用いて、血液内投与後に比較的長時間（2時間～48時間）で画像化と治療を行う PFC エマルション作製を目的とする。血液中の半減期が2時間～24時間と長ければ、EPR効果を利用したターゲティング効率が高い造影剤を得ることができる。ターゲティング効率を



高めることは、投与量に対するがん集積割合が高まることであり、①-1 のナノ液滴に比べてより少量の造影剤による画像取得が可能となるとともに、より小さながん部位の検出を可能とする。この長時間型のキャリアシステムは、前項目の天然高分子のゼラチンを用いた研究と目指すところである。但し、両系統にはこれまでに得られている結果、材料特性上に大きな違いがある。よって、同一の目標を目指しながら、異なるアプローチを取ることで目標達成をより確実にするとともに、それぞれの材料特性を生かして目標値を超えて性能の高いキャリアシステムを得ることが可能になると考えられる。図 2)-3-2-1 に各種エマルションの形態を示す。(2)-a のゼラチン誘導体のシステムは、これまでに各種ナノ粒子の安定化の研究実績があり、その結果を適用することで長時間安定なシステムを得ることは比較的容易と考えられる。ただし、天然材料であることから化学修飾を施すことによっても、その物理化学的性質を大きく変えることは容易でない。これとは反対に、(2)-b の合成高分子を利用したシステムでは、低分子薬物を封入したキャリアシステムの研究実績はあるものの、疎水性液体を封入するシステムへの応用は初めてである。よって、長時間安定な P F C ナノ液滴を形成する高分子組成を求めることが、ゼラチン誘導体に比べて困難と考えられる。一方、一度その組成が見つければ、合成高分子なのでその物理化学的性質を大きく変えて高い安定性の組成を求めることは容易である。また、この両系統に共通する物理化学的性質等の情報交換をしてより高い性能を得ることに役立てることも、両系統が併存する利点である。

本研究項目の具体的な目標は合成高分子を用いた PFC 封入ナノサイズのエマルションを作製し、日立製作所が開発中のナノ液滴よりも以下の項目が優れたものを開発することが目標である。

〈1〉保存安定性の向上

〈2〉血中半減期の増大

用いる合成高分子としては次の 2 つの系統を用いた。すなわち、ポリエチレングリコールを一成分とするブロックコポリマーで、もう一つの成分として 〈a〉液晶性高分子、および 〈b〉フッ素含有高分子を含むものである。まず、それぞれの高分子の狙いをまとめる。

〈a〉液晶性高分子の利用

高分子ミセル内核やエマルション内部に薬物や造影剤を封入することは、薬物・造影剤分子のミセル内核内への移動であり、封入安定性とはその分子がミセル内核より容易に移動しないことである。よって、封入における「高効率」と「高い安定性」は相反する現象である。よって、封入された後の安定性を高めようとミセル内核を固い（固体性に富む）ものとする、それに従って封入が困難となることが課題であった。図 2)-3-2-2 に示すように、封入が最も容易なのはミセル内核が液体状態のものであり、この場合は薬物分子を極めて容易に高効率で封入できる一方、薬物分子が瞬時に放出されることとなり、ターゲティングに役立てることはできない。一方、横山らの研究ではミセル内核が固体状態のものを用い、ターゲティングが可能な薬物封入に成功しているが、封入率が低いという困難を経験した。この点は P F C の封入においても問題となり得ることである。

この課題を解決し、高効率かつ安定性高く高分子ミセルに疎水性分子を封入することが液晶性高分子を用いることで可能となる。そのシステムの概要を、高分子ミセルを例にして図 2)-3-2-2 及び図 2)-3-2-3 に示す。温度によって相が変化するサーモトロピック液晶分子は、図 2)-3-2-3 に示すように高温側から液体相（分子の方向性がランダム）、ネマチック液晶相（分子の方向性がある）、固体結晶相と相転移する。分子構造によっては、途中にスメチック相が入る場合がある。ブロックコポリマーは、液晶相（スメチックあるいはネマティック）と固体結晶相間の相転移温度が 37℃より高いものを用いる。図 2)-3-2-4 に示すように薬物封入操作を

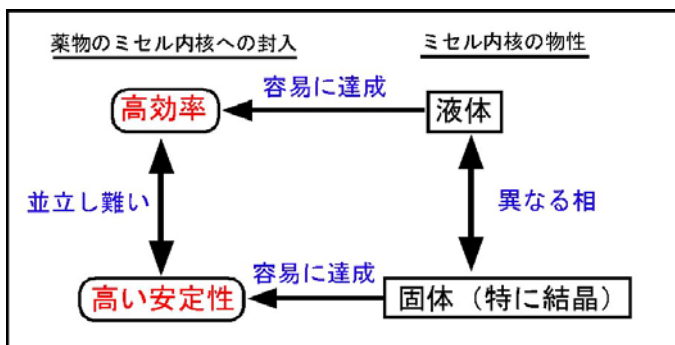


図 2)-3-2-2 高分子ミセル内核の物性と薬物封入の関係

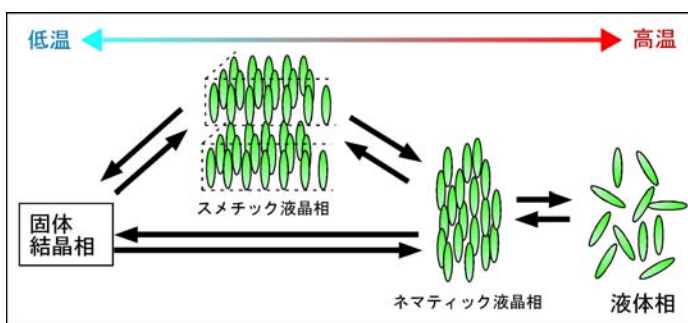


図 2)-3-2-3 サーモトロピック型液晶分子の相転移

この相転移温度より高い温度で行うことにより、薬物が液晶相の内核に封入されるので、高い封入効率を得ることができる。次いで、このミセルの温度を下げることで、内核が固体結晶相となるので、高い封入安定性が得られる。よって、高効率でかつ、安定性高く封入できる高分子ミセルキャリアシステムが得られる。(この封入過程を高圧条件下で行うので、PFCの相転移温度は上昇して、37℃より高い封入時の温度でも液体であるのに対し、液晶⇄固体結晶間の相転移は体積変化が少ないので圧力による相転移温度上昇は極めて小さい。)

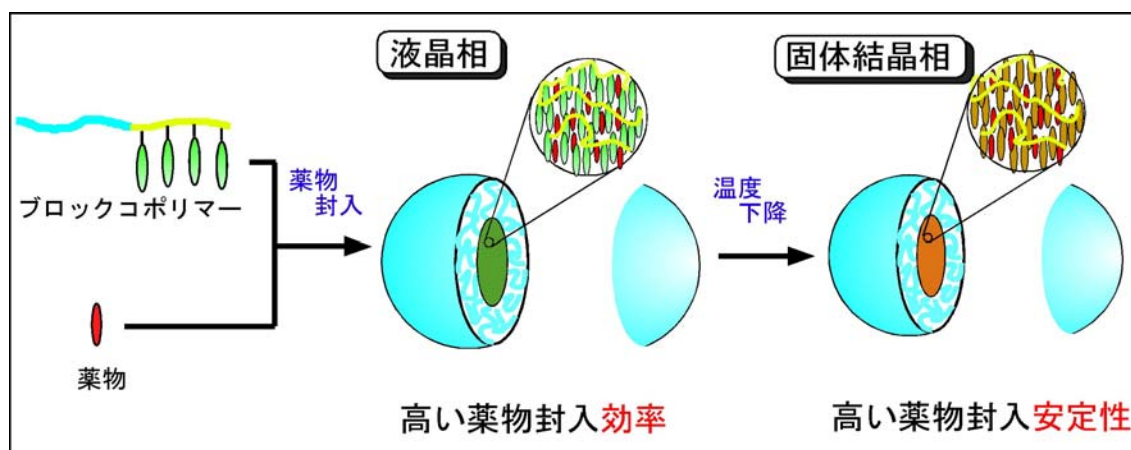


図 2)-3-2-4 液晶性高分子ミセルでの高効率かつ高安定な薬物封入

(b) フッ素含有高分子

本研究開発の超音波造影剤である PFC は水に溶けにくい疎水性ではあるが、一般の炭化水素よりもフッ化アルキル同士により溶けやすい性質を有する。よって、PFC を効率よく封入するために、疎水性部分を付加アルキル化した高分子を使うのは合理的選択といえる。

この割合が高くないと、最後のステップである RAFT 重合の後に精製する目的物であるブロックポリマーに、相当量のポリエリレングリコールポリマーが不純物として混在することとなる。問題は、化合物 (6) のカラムクロマトグラフによる厳密な精製方法 (カラム精製条件を高め再結晶を組み合わせた) により解決され、その PEG 誘導体 (7) の純度向上が達成された。結果、液晶性ブロックポリマーでの不純物をく減少させることができた。化合物 (7) の末応基の導入率が従来の 48% から 84% に上昇させることができたからである。作製したブロックポリマーにはゲルパーミエーションクロマトでの不純物 (PEG ホモポリマー) が確認されなかった。液晶性ブロックポリマーから高分子ミセルが形成され、その平均粒径は図 2)-3-2-6 に示すように、40nm と 150nm であった。

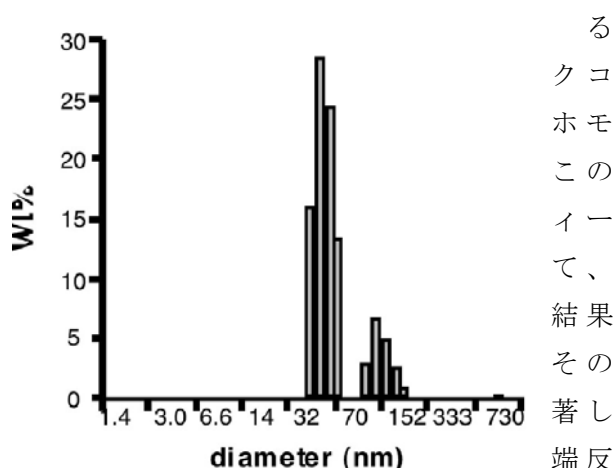


図 2)-3-2-6 液晶性ブロックポリマーから形成した高分子ミセルの粒径分布

この液晶性高分子はそのホモポリマーのバルク状態で液晶性を示すことが知られているが、高分子ミセルや PFC 封入エマルションでは液晶性高分子が数 nm の大きさの範囲に限定して存在している。このような小さな場で液晶性を示すかは重要な点である。このような小さな nm の場、界面での液晶性については過去に知見が無く、本プロジェクトの中で初めて解析に挑むことになった。

ここで用いたブロックポリマーの構造式と組成を図 2)-3-2-7 に示す。液晶性高分子鎖のピリジル基に疎水性の酸であるデカン酸を相互作用させた後、透析法によって高分子ミセルを形成させた。これは液晶の相転移温度を 37 度付近に合わせるためである。

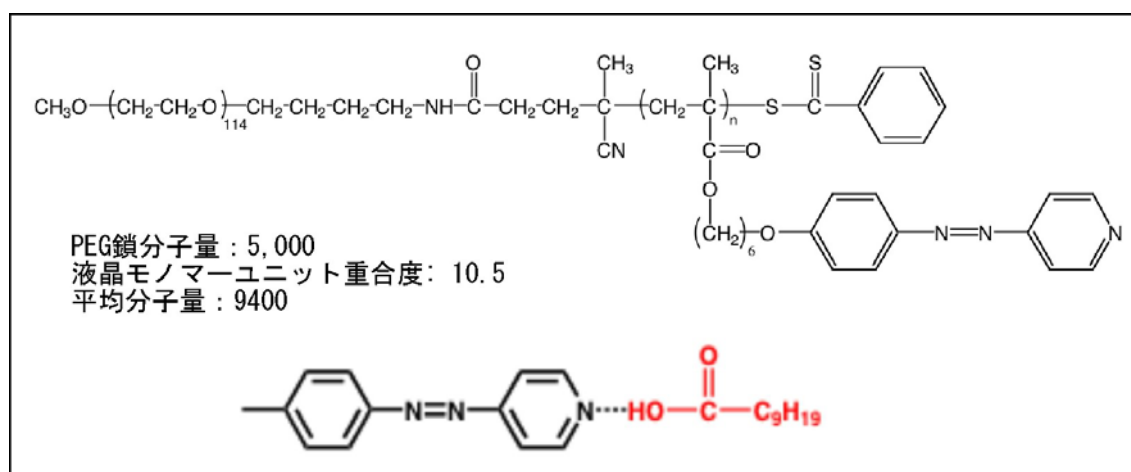
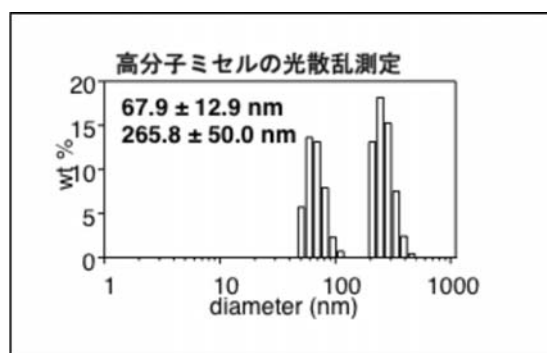


図 2)-3-2-7 液晶性ブロックポリマーの構造式と組成

このデカン酸を導入した高分子ミセルの動的光散乱で測定した粒径分布を図 2)-3-2-8 に示す。260nm 付近に 2 次凝集と考えられる大きな粒径が観察されるが、70nm 程度のきれいな高分子ミセルが形成される。また、これらの粒径分布はデカン酸を加えない場合とほぼ同じものであった。このブロックコポリマーをバルク状態（固体状態）で示差熱分析装置（D S C）によって測定すると図 2)-3-2-9A に示すように 54°C に液晶に基づくと考えられる吸熱ピークが見られた。これは文献の温度と一致した。また、偏光顕微鏡で見ると図 2)-3-2-9B に示す明らかな液晶が観察された。これらの実験結果はミセル状態においてもバルク状態と同様に液晶が存在していることを支持する。

図 2)-3-2-8 デカン酸を作用させた
高分子ミセルの粒径分布



高
を
晶
的
液
で
流
F
PFC
封
入
量
は
0.2
%
程
度
と
低

以上のように、計画した内核が液晶性の分子ミセルを得ることと、その液晶性の証明することに成功した。しかし、後述する非液晶性高分子との P F C 封入率の比較では、圧倒的に非液晶性高分子のものが優れていた。この晶性ブロックコポリマーの特長である、高温 PFC を封入し、低温にして整粒できる特殊装置によって、加圧下でミセル形成および P C 封入がなされたが、ポリマー重量に対して

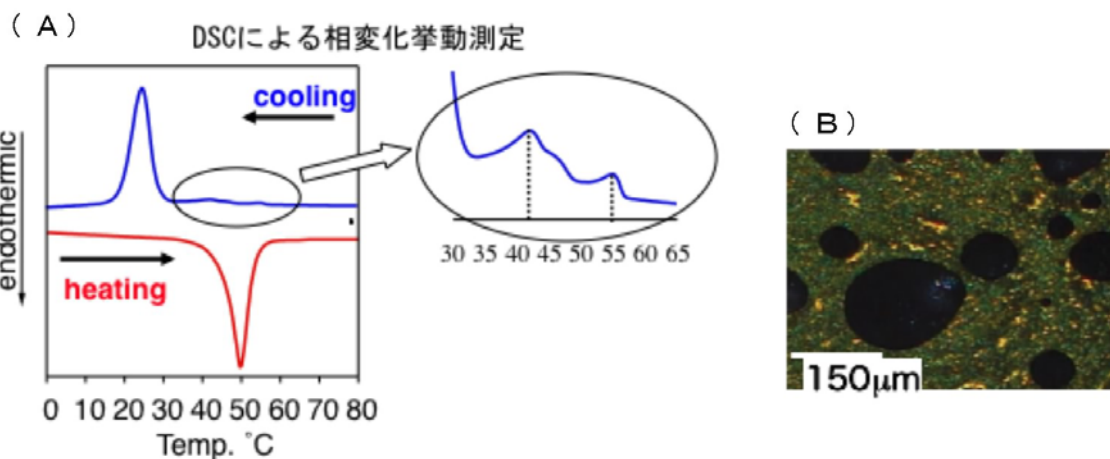


図 2)-3-2-9 液晶性ブロックコポリマー(デカン酸添付済み)のバルク状態での液晶性
(A) D S C 測定 (B) 偏光顕微鏡

い含量であった。この結果から、当初液晶性高分子を主に、非液晶性高分子を従として研究を進めてきたが、ここで方針を変更し、非液晶性高分子に集中して今後の研究開発を行うこととした。この変更に伴って、次年度以降はこの項目の名称を「合成高分子を用いるナノ液滴の体内動態制御用キャリア」と変更した。

(b) フッ素含有高分子

図 2)-3-2-10 に示す構造のフッ化アルキルを側鎖に導入したブロックコポリマーを作製し、

その水溶液に P F C を混合するという極めて簡単な方法で封入を試みたところ、表 2)-3-2-1 に示すように極めて高い封入率が得られた。同様の条件で上述の液晶性高分子の場合は最大で 0.5% と低い値であった。この 100 倍以上も高い P F C 封入率が得られ、その封入率も中間目標を満たしていることから、今後はフッ化アルキル化ブロックコポリマーに集中して検討を行うこととした。

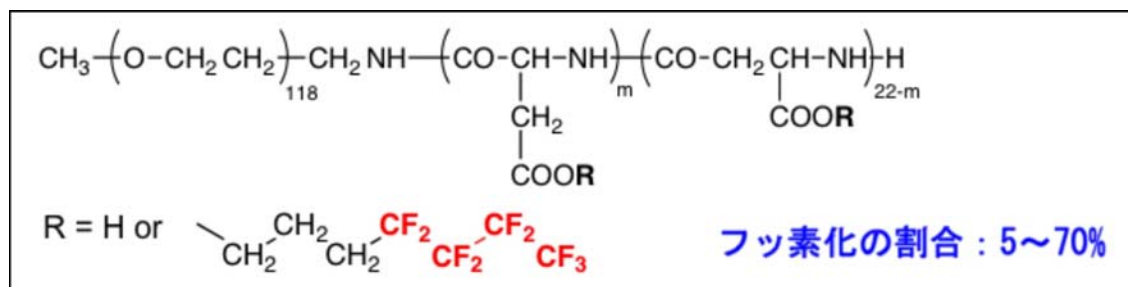


図 2)-3-2-10 非液晶性（フッ化アルキル化）ブロックコポリマーの構造

フッ素化率	PFC収率(%)	PFC含量(%)	平均粒径(nm)
0 %	0	0	-
5 %	32.6	27.7	609
10 %	76.9	65.4	664
20 %	22.2	18.9	568
40 %	1.9	1.6	563
70 %	1.3	1.3	362

表 2)-3-2-1 フッ化アルキル化ポリマーへの P F C の封入

超音波照射部位

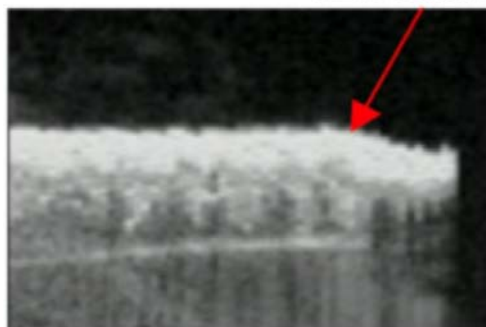


図 2)-3-2-11 アクリルアミドゲルを用いた造影実験

表 2)-3-2-1 の中でも、フッ化アルキル化率が 10% のものが最も高い収率を示したことからこのブロックコポリマーを用いて以下の検討を行った。

まず、この P F C 封入ナノ液滴が日立製作所のナノ滴滴と同様に超音波に造影され得ることを確認した。図 2)-3-2-11 に示す、超音波画像は日立製作所で標準的に行っているアクリルアミドを用いた造影実験である。

次に、リポソームの整粒に用いるエクストルーダー装置を用い、粒径を小さくする検討を行った。(32°C が沸点の P F C を用いるために、低温 10°C で操作ができる特殊仕様の装置を用いた。) 400nm の口径のフィルターを用いたとき、図 2)-3-2-12 に示すように、平均 310nm とがん組織への浸透には望ましい粒径とすることに成功した。

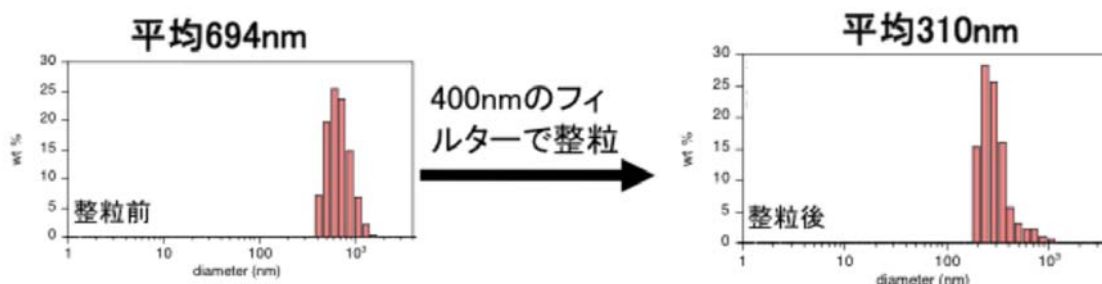


図 2)-3-2-12 エクストルーダーによるナノ液滴の粒径調整

次に、ナノ液滴の製剤としての保存安定性に関する検討を行った。これまではナノ液滴を作製するとすぐに凍結し、物性や安定性の評価も翌日行っていた。エマルジョン製剤の標準的な保存法は、冷蔵であるので、今回 P F C 封入操作後に、冷蔵し、1ヶ月後の P F C 封入量を測定した。その結果を図 2)-3-2-13 に示す。1ヶ月の長い保存期間にも関わらず、従来の凍結よりも安定性は高い結果となった。以上の結果は、この PFC エマルジョンが冷蔵で保存できることを示したことに重要性があ

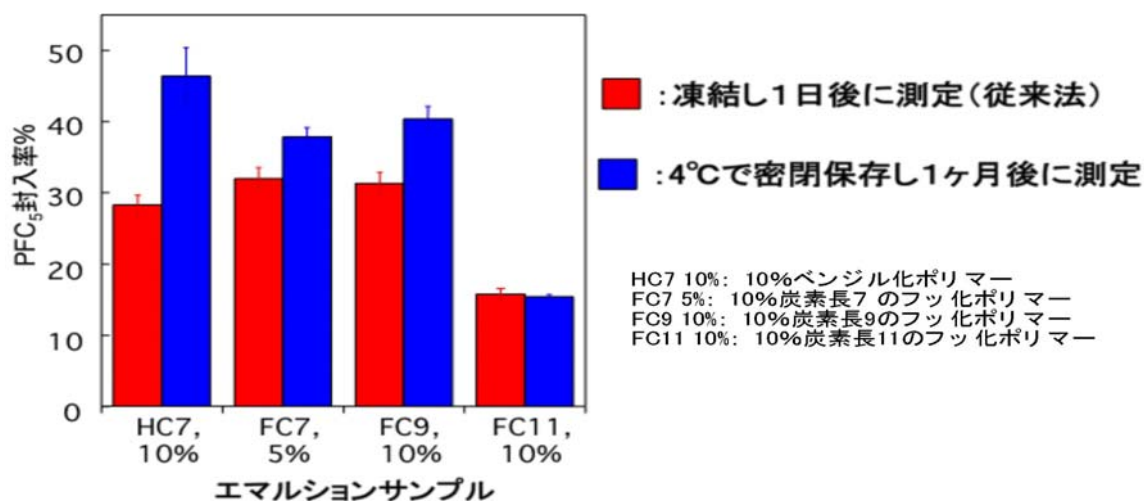


図 2)-3-2-13 冷蔵長期保存の検討

この C7 のフッ化化合物をアスパラギン酸側鎖に導入することで、良好な PFC 封入挙動が得られたので、他のフッ化化合物についても表 2)-3-2-1 の F 化率 10%に近いものを合成して、PFC 封入挙動を比べてみた。表 2)-3-2-2 にその結果を示す。表 2)-3-2-1 で最も封入率が高かった F 化率 10% (実測値は 13.5%) の疎水基置換率のものを 3 種類合成紙、同一条件での PFC 封入量を比較した。C9H6F13、C11H6F17、C7H15 (これは F がない通常の炭化水素) いずれの場合も、C7H6F9 を上回ることがなかった。ここで疎水基としては C7H6F9 をこれ以降に用いることとした。

疎水基	疎水基導入率	[PFC] mg/mL
C7H6F9	5.9%	46.1
C7H6F9	13.5%	108.9
C9H6F13	13.5%	45.5
C11H6F17	13.6%	22.4
C7H15	13.2%	48.0

表 2)-3-2-2 種々の疎水基の P F C 封入挙動への影響

次に、C7H6F9 (13.5%) のものを用いて、in vitro PFC 封入安定性、および in vivo 血中濃度を測定した。合わせて、高压乳化装置で PFC 封入を行い、上記の上厚手の攪拌のみを比較した。まず、PFC の封入効率については高压乳化装置と大気圧下での攪拌と大差が無かった。図 2)-3-2-14 は 4%アルブミン溶液中、37°Cでの PFC 封入安定性である。日立の脂質ベースのものに比べて、高い安定性を示したが、それほど大きな差とはいえない範囲であった。

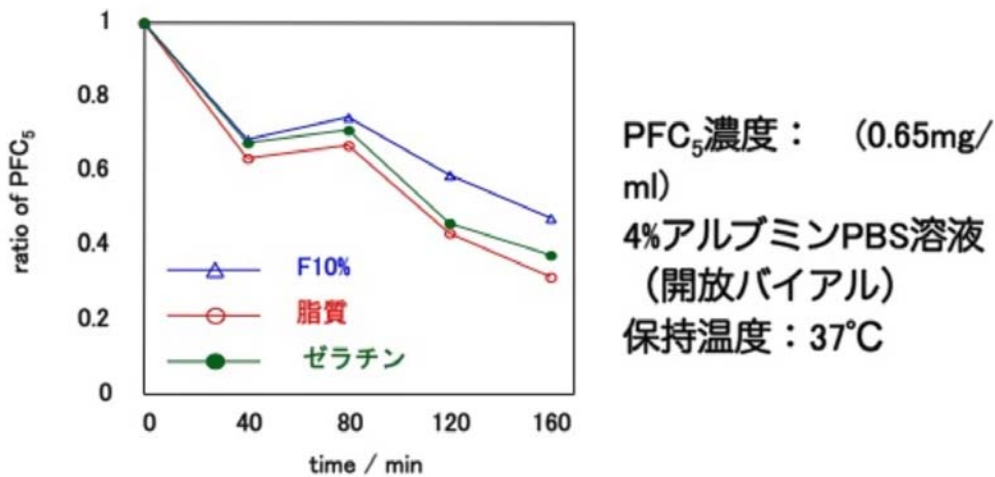


図 2)-3-2-14 アルブミン液滴中での P F C 封入安定性

次にマウスの静脈内に注射し、その血液濃度を測定した。その結果を図 2)-3-2-15 に示す。

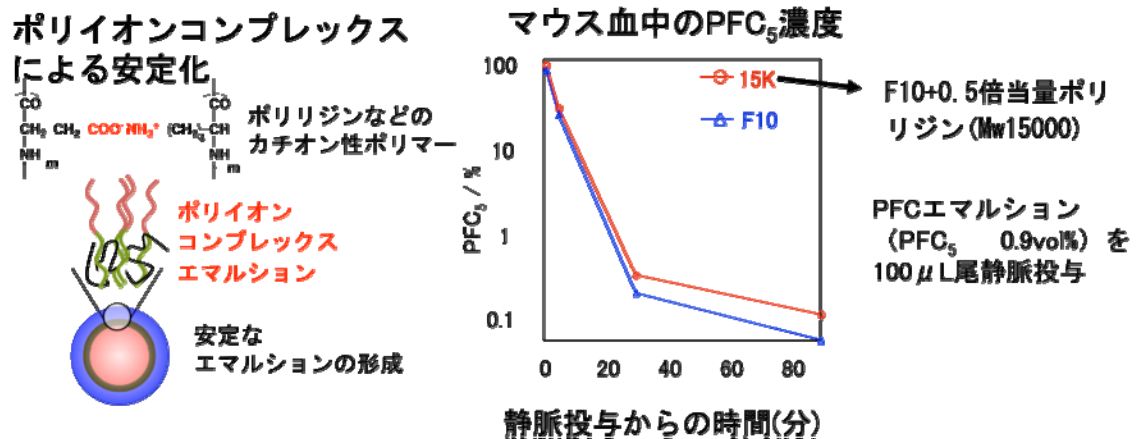


図 2)-3-2-15 マウス血中での PFC 濃度

この PFC エマルションも脂質ベースのエマルションと血中濃度推移に大きな差はなく、60 分経過すると血中からほとんどクラランスされてしまうことがわかった。この血中安定性を増加させる目的で、ポリリシンを用いてイオンコンプレックスによって安定化する試みを行った。すなわち、ブロックコポリマーのアスパラギン酸残基は 80%以上未修飾のアスパラギン酸であり、カルボキシル基を有するので、1 級湯浴みの基を有するポリリシンと依存相互作用させることによって、エマルションの安定化を目指した。このポリイオンコンプレックス化することで、半減期は 1.6 分から 2.4 分に増大した。しかし、これのみでは長時間型に対応するような半減期の増大には不十分であった。

よって次にこの半減期が短い原因が、このエマルションが大きい（粒径 600 nm 程度）であると仮定し、このエマルションの小粒径化を 2 つの方法によって試みた。その方法とは、

- (1) 高圧乳化法の最適化
- (2) 超音波を用いた新規 PFC エマルション作製法 である。

(1) 高圧乳化法の最適化

PFC/ポリマー比を変えること、および乳化装置を換えることによる小粒径化を試みた。

・ 京都大学の高圧乳化装置を使用

・ 一部を 0.5 等量(COOH に対し)の P(Lys) を混合し、イオンコンプレックス化

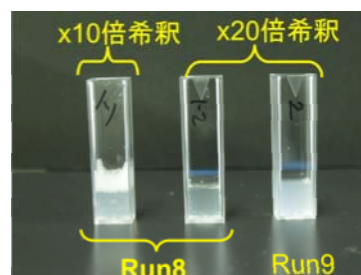
Run	内容	PFC	ポリマー	水	PFCs 収率	Cumulant 平均粒径 下段はイオンコンプレックス	
						25°C	37°C
5	標準	PFC ₅ 1000uL	160 mg	78 mL	62.2%	611 nm	306 nm
		PFC ₆ 1000uL				544 nm	366 nm
6	ポリマー 2 倍量	PFC ₅ 500uL	160 mg	39 mL	46.3%	477 nm	319 nm
		PFC ₆ 500uL				460 nm	327 nm
7	ポリマー 5 倍量	PFC ₅ 1000uL	400 mg	78 mL	56.2%	386 nm	296 nm
		PFC ₆ 1000uL				356 nm	274 nm

ポリマーを多くすることで小粒径化が達成されたので、これで血中濃度測定を行ってゆく。

次に、帝京大学に設置されたナノマイザーと用い、京都大学(日立製作所と同じ)の乳化装置と比較した。

- ・ 帝京大学の高圧乳化装置
(ナノマイザーII吉田機械)
圧力: 120~130MPa
回数: 4回

乳化直後の溶液→



Run	内容	PFC	ポリマー	水	PFC5 収率/%	Cumulant平均粒径/nm	
						作製直後	1日後
8	標準	PFC ₅ 100uL PFC ₆ 100uL	32.0 mg	15.6 mL	21	235	438
9	PFC 2倍	PFC ₅ 200uL PFC ₆ 200uL	32.0 mg	15.2 mL	53	227	665

ナノマイザーを用いると、従来の乳化装置に比べて小さなエマルションが得られた。しかし、1日経過すると従来と同じくらいの粒径になってしまった。

以上の結果は、この方法によってもある程度は粒径を小さくすることができることを示した。

(2) 超音波を用いた新規 PFC エマルション作製法

以上の高圧乳化装置や常圧攪拌とは全く異なる超音波照射を用いた PFC エマルションを試みた。手順としては、蒸留水にポリマーを溶かし、それに (PFC₅ 2%, PFC₆ 2%) を加え、フタをしてから超音波洗浄機 (Branson1510) で白濁度が一定になるまで照射する。

この方法では平均 200nm 程度の小さな粒径を得ることができた。

・ポリマーとしては表 2)-3-2-1 の F10%よりはよりフッ素率の高い F70%ポリマーでエマルションかがより速やかに進行した。

・温度は PFC₅ の沸点より高い 40°C が良好な結果を得られた (エマルション化が迅速)

・Cumulant 平均粒径 211nm (重量換算平均では 182nm) で [PFC5]=11.8mg/mL であり高圧乳化法よりも顕著に小さなエマルションが得られた。この DLS で測定した粒径分布を図 2)-3-2-16 に示す。

200nm 付近の粒径分布以外には大きな凝集物が存せず、極めて小さくそして均一な粒径が得られることが判明した。また、収率も 36% とかなり大きなものだった。

一般に、ナノサイズのエマルションを EPR 効有効な小粒径 (100~200nm 位) でかつ、大きな含量 (0.5%wt. 以上の PFC5 濃度) であることはいい。しかし、このポリマーを用い、超音波洗浄機超音波照射という極めて簡単な方法で得られたことは大きな発見である。現時点では、密閉容器中ならば数日は PFC は抜けることなく安定にエマルシ

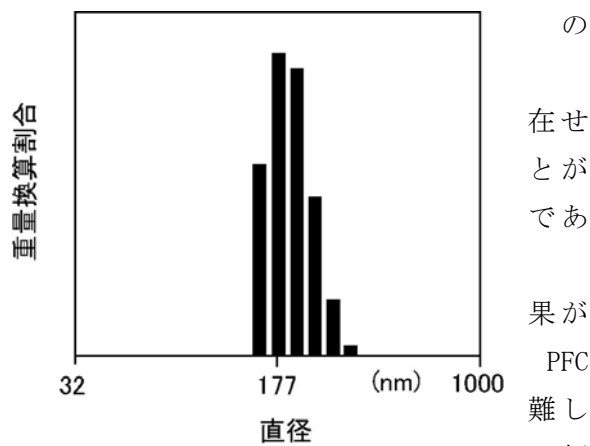
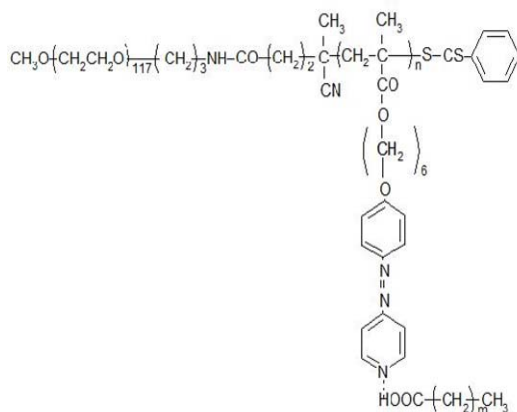


図 2)-3-2-16 超音波法によって作成した PFC エマルションの粒径分布

オン中に保持され、粒径も（超音波照射を繰り返すと）ほぼ一定に保たれる。この方法はエマルション作成方法として今後詳細に検討される方法と考えられる。

京都大学理学部

低分子の界面活性剤水溶液中で形成されるセルにおいて、多くの場合その中心部分（コア）の内部は液体である。また、ドラッグデリバリーシステム(DDS)で使われるような両親媒性高分子からなるミセルの場合、コアがガラス化または結晶化することもある。もし、高分子の疎水部が側鎖に液晶メソゲンを付与することでコアに液晶状態をもつミセルを作り、ミセルコア内の液体—液晶—固体などの状態変化を用いて、ナノ液滴の機能性を制御することができる。液晶コアの物理的相状態は外場で制御することができ、この状態変化を用いて効率のよい薬物・造影剤の作成プロセスや、体内での薬物のリリース機能をスイッチングするのに役立つ。本開発研究では、神奈川技術アカデミーで合成された、右図のような側鎖型液晶の両親媒性高分子を用いて、ミセルコアに液晶秩序を持つミセルを試作し、DDSのアクティブ制御を目指して、コア内の液晶構造とダイナミクスを研究した。



A-1) 液晶ジブロック高分子のキャラクタリゼーションと DDS 液晶ナノミセルの作成

用いた高分子は親水部として poly(ethylene glycol) を持ち、疎水部は 6-[4-(4-pyridyazo)phenoxy]hexyl methacrylate であり、いわゆる側鎖型液晶高分子をなしている。側鎖のメソゲンのピリジル基に酸を水素結合させることで液晶性を発現させることができる。本実験ではここに数種類のカルボン酸を結合させた試料を作成した。

図 2)-3-2-17 液晶ジブロック高分子の構造

ミセル水溶液を作成する前の純粋な高分子は、室温に置いて PEG 鎖が結晶化している。水に可溶化することで PEG 鎖が水和して水溶液中では結晶化が阻害される。このため、純粋な高分子の物性測定は、PEG 鎖が溶解している 50~60℃以上の温度で測定を行った。この結果、偏光顕微鏡観察からは、液体—液晶転移を 68℃付近で観察することに成功した。左図は等方的な液体状態で、偏光顕微鏡下では暗視野として観察される。これに対して、68℃以下では右図のように、クロスニコルの偏光板位置でも、複屈折により試料は明るく光を通し、異方性が存在することを明確に示している。

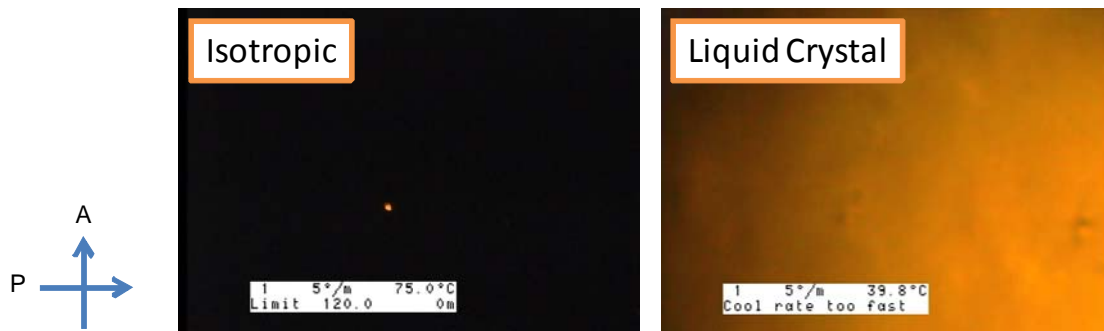


図 2)-3-2-18 液晶ジブロック高分子の偏光顕微鏡観察と温度依存性 (左 : 75℃、右 39.8℃)

一方、小角X線回折測定からは、PEG鎖の長さに対応した数10nm程度の繰り返し層状構造を持つ、ラメラ相となることがわかった。このラメラ相の層状構造は、上記の液晶-液体転移では消失しないこともわかった。従って、偏光顕微鏡観察で確認された相転移は、ラメラ相からの変化ではなく、確かに液晶高分子側鎖にある液晶メソゲンが作る配向秩序の相転移であることが証明された。さらに、このラメラ相における粘弾性測定を行った結果、PEG鎖が融解した態では上記液晶相転移点より高温側、低温側ともにソフトな弾性が測定され、やはりラメラ相の層状構造内で液晶相転移が起こることが確かめられた。このソフト弾性は、2分子膜の弾性に対応しており、今後材料設計を行う際に、PEG鎖と液晶コアの間にある高分子外殻の硬さの尺度を示す物性量として用いることができる可能性がある。

A-2) 動的光散乱法による液晶ナノミセルコア中の液晶状態の観測・評価

ここで、側鎖型液晶高分子をミセル化した溶液の物性測定を行う前に、液晶側鎖を持たない通常の DDS 高分子と同じ材料を用いて、ミセル溶液を作成し、動的光散乱法で測定を行った。右図に示すように、偏光散乱光(VV)を用いた通常の測定から、溶液中をブラウン運動するミセルの流体力学的半径を求めることができる。用いた高分子では約100nmの単分散性の高い高分子ミセルが作成できていることがよく示された。後に述べる偏光解消散乱(VH)には揺らぎが観測されず、ミセル溶液は光学的には、静的にも動的にも完全な等方性を示していることも確認した。

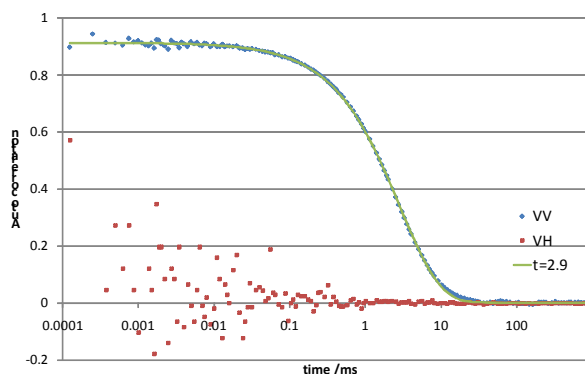


図 2)-3-2-19 非液晶水溶性高分子ナノミセルの動的光散乱スペクトル

そこで、前出の水溶性液晶高分子のカルボン酸複合体を1wt%の水溶液にし、攪拌、ソニケーションによりミセル化した。この溶液に直線偏光のレーザー光を照射し、散乱光の偏光散乱(VV)と偏光解消散乱(VH)をそれぞれDLSで測定しダイナミクスを調べた。偏光解消成分は、試料の異方性に由来するダイナミクスの情報を与えてくれる。得られた相関関数は揺らぎの相関関数の形状(緩和時間の個数)に応じてフィッティングし、揺らぎの緩和時間と分布を計算した。

図は高分子+decanoic acid複合体ミセル溶液の相関関数である。巨視的に等方的なミセル溶液にも関わらず、VH散乱を示すことがわかった。またVV散乱では1つの緩和モードしかないが、VH散乱では2つの緩和モードが存在し、遅いモードの緩和時間はVV散乱の緩和モードに近い。ここで、ミセル形状が球形から楕円体などに変化した場合、異方的な散乱体の回転に由来するVH散乱が考えられるが、実験結果

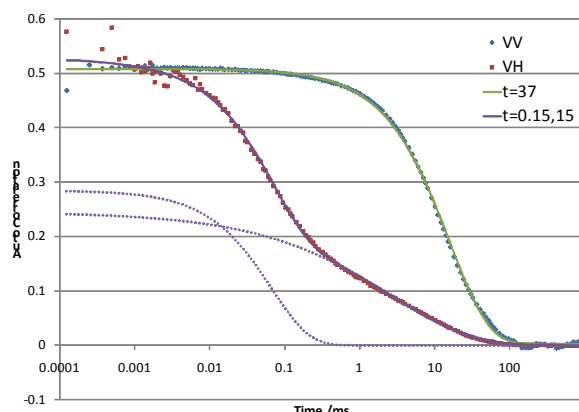


図 2)-3-2-20 液晶ナノミセルの動的光散乱スペクトル (赤:VH、紫:ミセル内の液晶の配向緩和とミセルの回転緩和、緑:VV=ミセルの並進拡散)

はこの緩和モードの理論式と一致しない。ここで、V_V 散乱、V_H 散乱の波数依存性は、V_V 散乱および V_H 散乱の遅いモードの緩和時間は端数 q の 2 乗に逆比例するが、V_H 散乱の早いモードはほとんど q に依存しない。つまり V_V 散乱、V_H 散乱に両方に現れる遅いモードはミセル回転・および並進拡散に由来する運動モードであると理解できる。一方、V_H 散乱の早いモードは光の波長より小さな領域に制限された揺らぎであると考えられる。これらのことから、われわれは V_H 散乱の早い揺らぎのモードとは、ナノサイズのみセルコア中にある、液晶の配向揺らぎであると結論した。

すなわち、偏光解消成分による動的散乱測定を用いることで、ナノサイズのみセルの中に閉じ込められた、きわめて微少な領域に存在する液晶秩序の有無を判定することに成功した。

A-3) 液晶相転移によるナノ液滴の構造変化の評価

さらに図 2)-3-2-21 の V_H 散乱の相関関数の温度依存性から、低温域では 2 つの緩和モードが観測されるのに対して 45℃より高温では早い緩和モードが消えて遅い緩和モードだけが残ることがわかった。バルク試料の顕微鏡観察により、液晶一等方相転移が確認されることから、早い緩和モードの揺らぎの消滅は、みセルコア中の液晶が、液晶一等方相転移を起こし配向秩序を失ったためと説明できる。つまり、液晶ナノみセル内の液体ー液晶転移も、この偏光解消動的散乱測定を使うことで、きわめて鋭敏に検知できることを確認した。この方法によれば、超音波照射や体内での環境変化、温度変化によるみセル内の相転移を正確に観測することができることを示した。

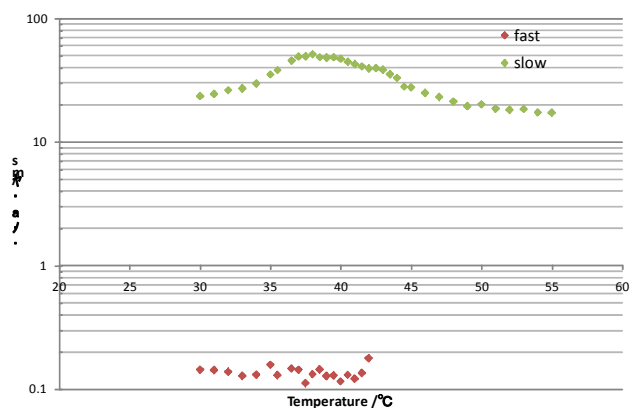


図 2)-3-2-21 V_H 散乱にみられる 2 つの緩和モード (配向揺らぎとみセルの回転緩和) の緩和時間の温度

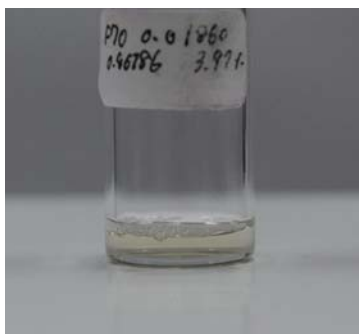
このように当初の開発計画に基づき、100nm 程度のきわめて小さいみセルのなかで起こる、液晶ー液体相転移を鋭敏に検知できることが基本的に示された。

B) フッ素鎖置換水溶性ジブロック高分子を用いたフッ素ナノ液滴の作成および物性測定・評価

本研究グループでは、アクティブキャリアを目指した前出の液晶ナノみセルの研究に加え、治療・診断システムに適合した、実用上最適なナノ液滴を得るため、神奈川技術アカデミーの横山グループにより合成された、フッ素鎖を有する新たな高分子共重合体を用いて研究を進めた。新たな高分子共重合体は、内核にパーフルオロアルカンを安定に取り込むためにフッ素鎖が導入され、他方のブロック内に配置された PEG 鎖によって、高分子みセルとなって水中に分散する。これを第 2 世代のキャリアと呼ぶ。当研究グループでは、治療・診断システムを開発する日立グループが、プロジェクト発足当初より用いている第 1 世代キャリアと、平行して新たに開発している第 2 世代キャリアの物性測定を行い、有効な第 2 世代キャリアの分子設計指針を提供した。

B-1) フッ素化水溶性高分子を用いたパーフルオロアルカン内包ナノ液滴の作成プロセスと、動的散乱法によるナノ液滴の構造解析

神奈川技術アカデミーの横山グループにより合成された、フッ素鎖を有する新たな高分子共重合体を用いて、第2世代キャリアを作成した。新たな高分子共重合体は、パーフルオロアルカンを内殻に安定に取り込むためにフッ素鎖が導入されている。フッ素鎖のフッ化率の違いにより、3種類（フッ化率 10%(F10), 40%(F40), 70%(F70)）の高分子が合成された。分子デザインに対する指針を提供するため、各々のナノ液滴溶液を作成した。PFH を含まない F10 は水に瞬時に溶解して透明な溶液になるのに対して、F70 は長時間攪拌することで微少に白濁した一様溶液となる。当グループでは、特に最適なナノ液滴を作成するプロセスを考案するため、既に高分子ミセルが分散した溶液に PFH を加え、高温（PFH の沸点 60°C を超える温度）（擬超臨界状態）で超音波照射を行いながらナノ液滴を封入する新しいプロセスを検討した。この新しい封入プロセスを用いると、常温加圧によるこれまでの液滴封入プロセスに比べて、極めて透明度が高く、粘性の低いナノ液滴分散水溶液（図 2）-3-2-22 上写真）が得られることをはじめて発見した。一方、動的散乱法によって、内部のナノ液滴の構造解析を行うと、F10 を用いて作成したナノ液滴は、図 2）-3-2-22 左に示すように、第一世代のキャリアに比べて 10 倍程度の緩和時間を示し、液滴サイズは 700nm と見積もられ、理想とするキャリアのサイズよりかなり大きい事がわかった。単体の F10 の水溶性が高いことから判断して、封入プロセスで十分な PFH の取り込みが行われていないと考えられる。これに対して F70 を用いて作成したナノ液滴は、図 2）-3-2-22 右に示すように、緩和時間の広い分散を示し、50nm 程度から 200nm 程度まで、ナノ液滴のサイズが分散していると考えられる。これは、フッ素鎖化された共重合体により、PFH は内殻に取り込まれやすくなっているが、逆に水に対する親和性が低いため、超音波照射によっても平衡状態のサイズに緩和していないと考えられる。作成した F10, F70 とともに、最も高濃度の液滴は、高分子共重合体濃度は 4wt%、PFH 4wt% で仕込み、完全に溶解残りは無かった。再生研のガスクロマトグラフィーによる測定では、PFH の濃度は半分程度に減少しているが、これは、サンプル容器の上部空間に蒸発しているものと考えられ、より高い収率の実現が可能であると考えられる。高濃度のこの溶液では、溶媒に対する液滴濃度が 8wt% にもなり、この状態でも極めて溶液の粘性は低い状態を維持できることは、実用上大きな長所となる。



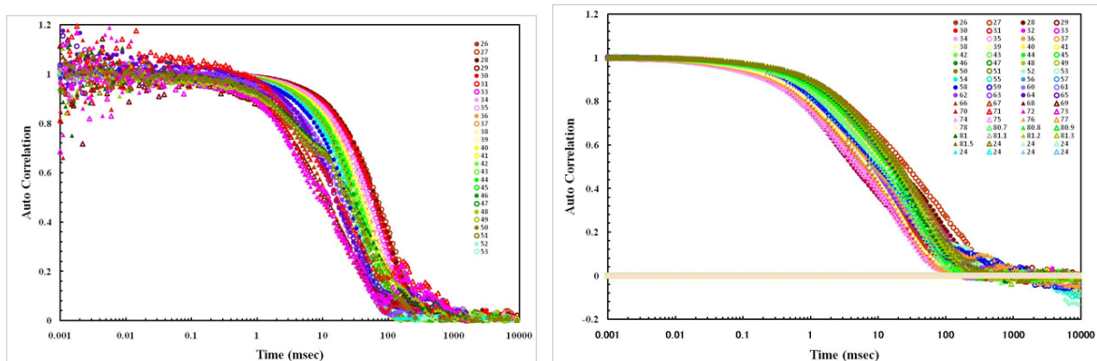


図 2)-3-2-22 フッ素鎖を有する高分子共重合体を用いて作成された
 ナノ液滴水溶液の写真(上)と、動的光散乱測定による自己相関関数
 (左:フッ化率 10% 右:フッ化率 70% 共に PFH100%)

B-2) 動的光散乱法によるマイクロ相分離構造内の液晶状態の観測・評価

ここで、PFH は 59°Cに沸点を持つため、溶液の温度を変えながら同様の測定を繰り返し、ミセルサイズの急激な変化をとらえることで、マイクロ相分離構造内でのパーフルオロアルカンの液体-気体相転移を観測することを試みた。ナノ液滴中に取り込まれた液体の沸点変化の情報から、ナノ液滴を保護する第2世代キャリアの物理的な性質（硬さ、安定性など）についての情報が得られる。

フッ素化高分子共重合体により作成された PFH100%のナノ液滴では、ナノ液滴中の相転移温度がPFHの大気圧中での沸点(59°C)から大きくずれて、約80°Cに変化が観測されている。これは、ナノ液滴キャリアの粘弾性（硬さ）に依存した安定性強化であると考えられる。つまり、大気圧中の沸点より相転移温度が上昇しているため、キャリアの殻に十分な硬さがあり、液滴を生体に導入した際の安定性が向上すると考えられる。また、フッ化率 F10, F70とも相転移温度はほぼ同じであり、ナノ液滴内の相転移温度はフッ化率に依存しない。これは液滴殻の硬さを決定しているのは、フッ素化された側鎖ではなく内核側のブロックを構成する高分子主鎖に依存していると推測される。

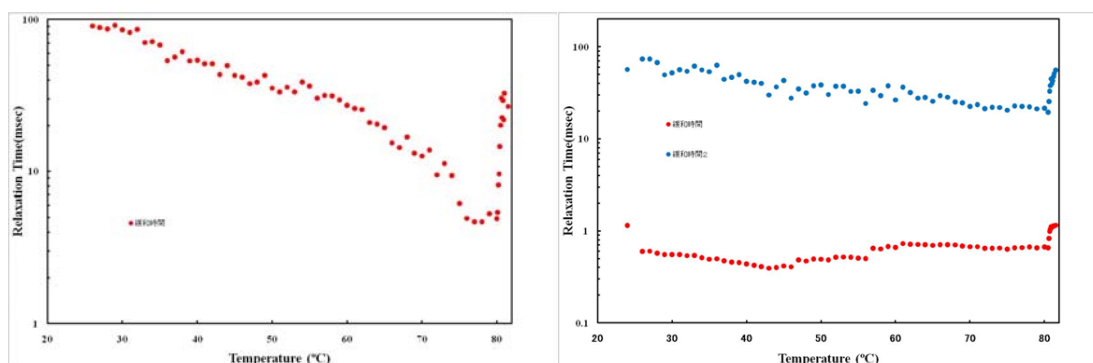


図 2)-3-2-23 フッ素鎖を有する高分子共重合体ナノ液滴の緩和時間の温度依存性
 (左:フッ化率 10% 右:フッ化率 70% 共に PFH100%)

このような構造安定性の評価法は、温度によるナノミセルの物性評価だけでなく、計時変化(保

存安定性) や、環境の変化(模擬血液中での安定性、患部近くでの環境変化、特定のタンパク質・生体物質に対する応答性) による、アクティブ DDS の物理的評価法としても用いることが可能である。

2)-4-3 トランスフェリン修飾バブルリポソームの開発 (帝京大学)

I PFP の液滴ミセルとドキソルビシンを内封したトランスフェリン修飾バブルリポソームの調製

本事業では、高い体内安定性を持ち、加熱凝固治療以外に化学的作用により抗腫瘍効果を発揮する音響化学活性物質を共存できる構造を持つ相変化ナノ液滴を開発することを目的として、音響化学的抗腫瘍活性物質としてドキソルビシン、相変化ナノ液滴として難水性低沸点化合物であるパーフルオロペンタン (PFP)、腫瘍組織標的リガンドとしてトランスフェリンを用い、これらが共存できる形態としてリポソームとした。リポソームは、深部治療に対応するために、また体内での安定性を確保し長時間滞留させるために、サイズを 200nm 以下とし、ポリエチレングリコール被覆すした (PEG-リポソーム)。リポソーム内部はドキソルビシンのゲルで満たされ、PFP のナノ液滴がその中に分散した形態とした (図1)。本バブルリポソームの調製方法のスキームを図2に示す。

音響化学的抗腫瘍活性物質とバブルの供給源を同時に深部腫瘍組織に送達



図1 腫瘍組織標的バブルリポソームの構造

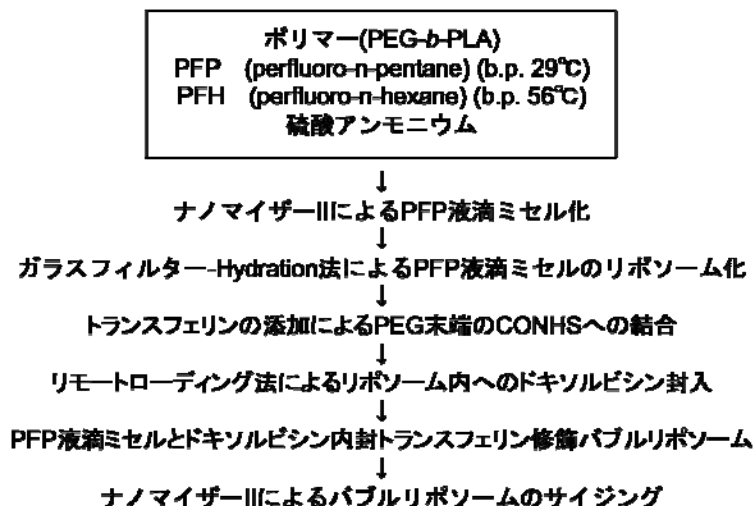


図2 PFP液滴ミセルとドキソルビシン内封TF-バブルリポソームの作製

1) PFPの液滴ミセルの調製

PFP（沸点 29℃）と PFH(沸点 56℃)の 1 : 1 混合物で、難水溶性化合物である点を利用して、各種界面活性剤を用いて 20℃以下でミセル化の検討を行った。このとき、超高压ホモジナイザー（高压乳化機、ナノマイザー）（図 3）を用い、50 nm 程度の可能な限り小さな液滴ミセルとした。この場合、超高压ホモジナイザーのジェネレータの先に冷却装置を装備したセカンドジェネレータを接続することにより、急激な圧力や温度変化を防ぎ、均一な液滴ミセルとすることが可能となった。

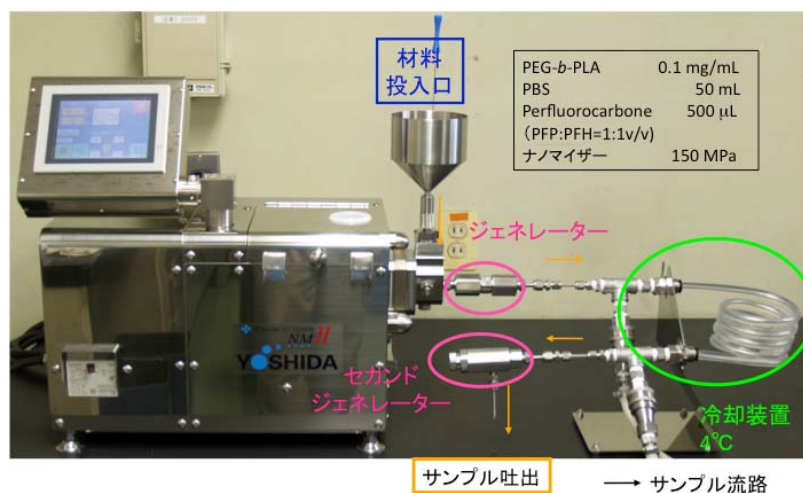


図3 ナノバブル調製に用いる超高压ホモジナイザー

PFP 液滴ミセルは、事前の検討より高分子 Poly(ethylene glycol)-*block*-polylactide methyl ether (PEG-*b*-PLA)（図 4）を選択し、ナノマイザーの加圧を 150MPa で行って得た。その結果、平均粒子径 69.5nm の PFP 液滴ミセルをコンスタントに調製できた（図 5）。

Poly(ethylene glycol)-*block*-polylactide methyl ether (PEG-*b*-PLA)

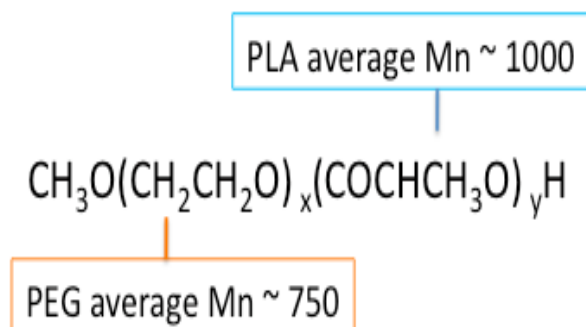


図4 PFP液滴ミセル形成に用いた高分子 PEG-*b*-PLA

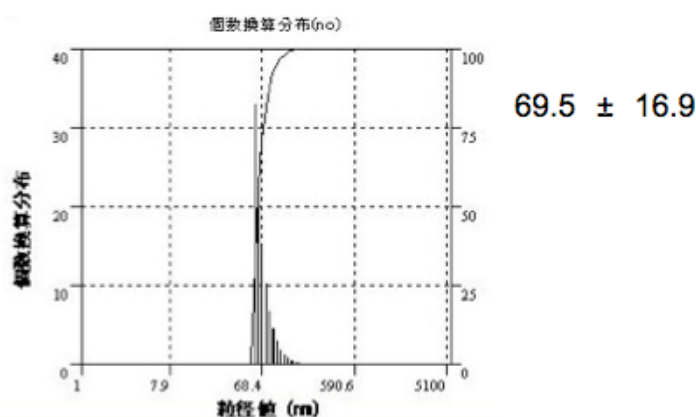


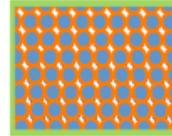
図5 PFP液滴ミセルの粒子径

2) PFP 液滴ミセルとドキシソルビシン封入トランスフェリン修飾バブルリポソームの調製

リポソームの脂質組成としてPOPC:Cholesterol:DSPE·PEG(2000):DSPE·PEG·NHS=63:31:1:5 m/mとした。これら脂質をクロロホルムに溶解し、ガラスフィルターの細孔内側（細孔サイズ 160 μm）に浸して真空ポンプで減圧乾燥させた。これを数回繰り返して、細孔内表面に脂質の薄膜を作製した。ここに、PFP 液滴ミセルの 120mM 硫酸アンモニウム溶液を静かにゆっくりと通過させ、Hydration させてリポソーム化させた（図6）。封入効率は約 70~80%で、600 nm 前後のリポソームとなった（図7）。直径 3.0cm のガラスフィルターから 6.4cm に変更することで、5 倍のスケールアップに成功した。

ガラスフィルター直径6.4cm(従来3.0cm)

ガラスフィルターの細孔内側表面に脂質
(POPC:CH:DSPE-PEG:DSPE-PEG-NHS)
の薄膜がコーティングされている



PFP液滴ミセルを
120mM硫酸アンモニウム溶液に分散する

PFP液滴ミセルが、ガラスフィルターの細孔を通過中に
Hydrationによってリポソーム内に内封される

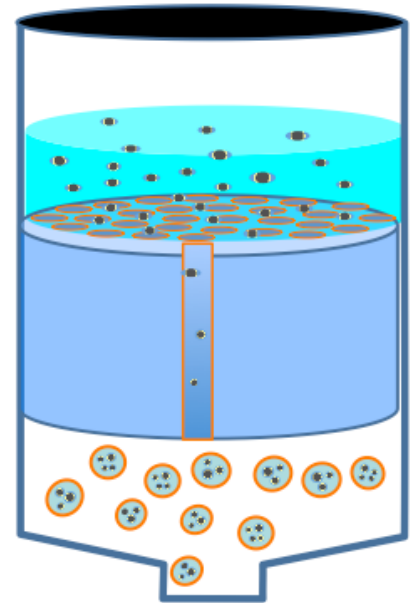
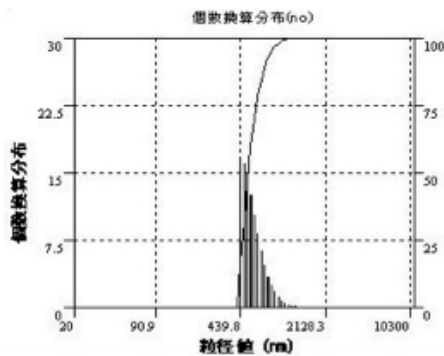


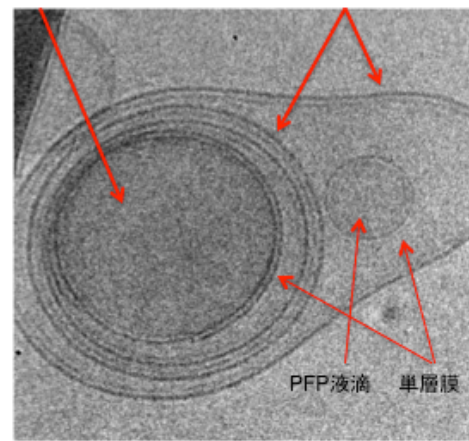
図6 ガラスフィルターHydration法によるPFP液滴ミセルのリポソーム内封化

5 倍のスケールアップに成功し、動物実験用サンプル調製が可能

粒子径: 557.7 ± 123.7 nm



PFP液滴 リポソーム2重膜



460nm

図7 PFP液滴とドキシソルビシン内封TF-バブルリポソームの粒子径と電顕写真

次に、ヒトトランスフェリンを添加して、リポソーム表面の PEG-NHS に反応させた (図8)。さらに、外相にドキシソルビシンを添加して、リモートローディング法によりリポソーム内部に導入した (図9)。リポソームの内部は 120mM 硫酸アンモニウム溶液になっており、内部に入ってきたドキシソルビシンは硫酸塩となるためリポソーム内部から外部に移動できなくなり、一方通行で内封される。出来上がったリポソームは、ドキシソルビシンが内封されたため赤色を呈した (図9)。

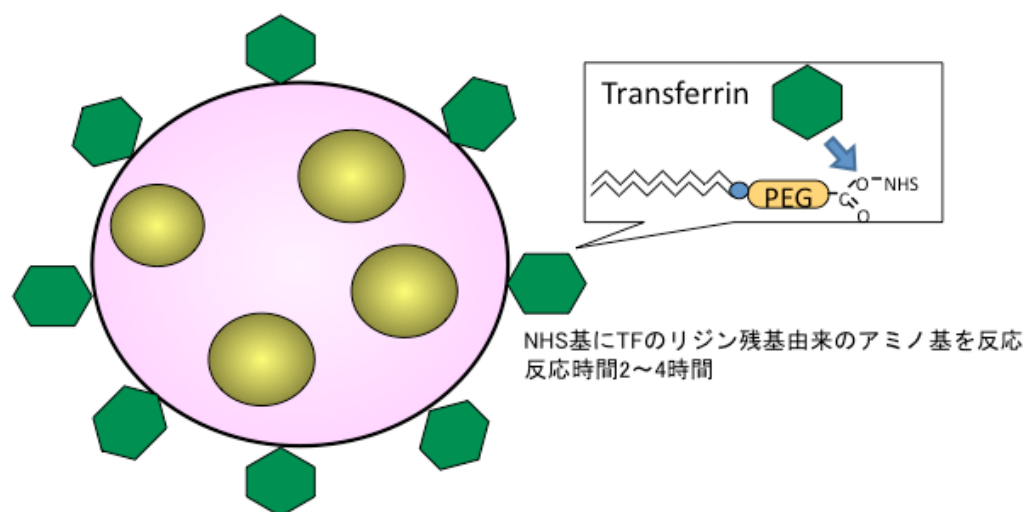


図8 PEG末端のPEG-NHSへのトランスフェリンの結合

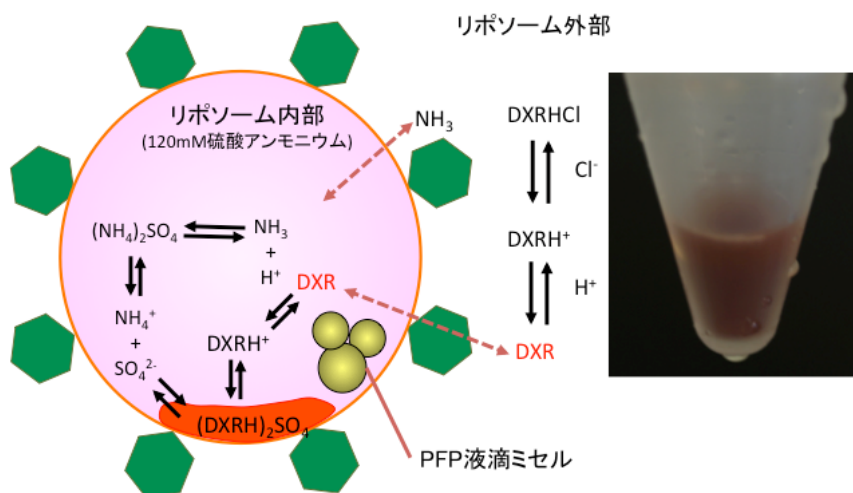


図9 リモートローディング法によるリポソーム内へのドキソルビシン封入

3) バブルリポソームのサイズダウン (200nm 以下にする)

得られたバブルリポソームを再度ナノマイザー処理することにより、200 nm 程度にサイズダウンすることに成功した (図 10)

粒子径: 181.8 ± 88.3 nm

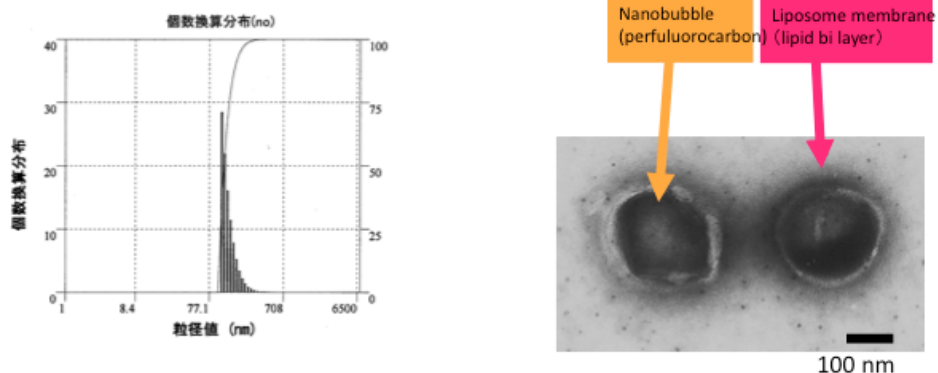


図10 ナノマイザーIIによるバブルリポソームのサイズダウンと電顕写真

4) バブルリポソームの構造確認と機能評価 (in vitro 実験)

バブルリポソームのサイズは平均粒子径が 557nm で、その構造を調べるために電子顕微鏡撮影の専門会社テラベース社に外注して位相差透過電子顕微鏡写真を撮影した(図7) 写真中央の濃い部分が PFP の液滴、そのまわりに PEG-b-PLA の単層膜、さらにそのまわりにリポソームの2重膜が観察された。写真のバブルリポソームは、多重リポソームで大きな1個のリポソーム(2重膜)の中に2個の液滴ミセルがあると考えられる。

ナノマイザーで約 200 nm 程度にサイズダウンしたバブルリポソームの電子顕微鏡写真を撮ることが出来た(図10)。リポソーム1個に1つのPFP液滴ミセルが存在する像が観察された。

PFP液滴ミセルとドキシソルピシン封入トランスフェリン修飾バブルリポソームの Colon26 細胞に対する結合性を検討した結果、有意に高い結合性が観察され、トランスフェリンが機能していることが確認された(図11)。

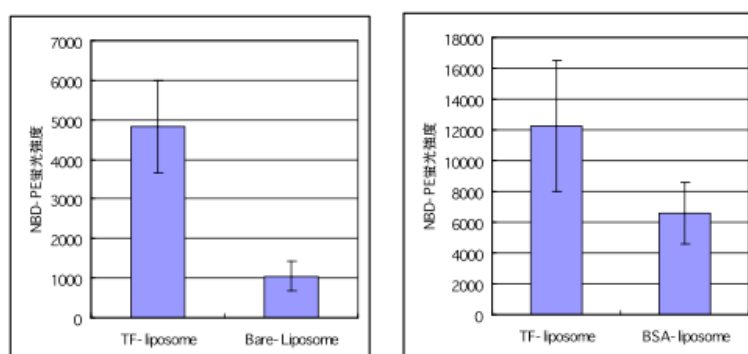


図11 PFP液滴ミセルとドキシソルピシン封入TF-バブルリポソームのマウス結腸癌細胞Colon26に対する結合性

5) 超音波プローブの開発 (再委託先: 東北大)

東北大工学部、梅村先生に再委託して、4種類の超音波プローブを開発し、以後の実験に用いた (図12)。4種類のプローブは、0.790MHz、1.66MHz、3.35MHz、8.25MHzで、集束超音波の発生が可能である。



0.79MHz 1.66MHz 3.35MHz 8.25MHz

図12 ガス化、キャビテーションに用いた超音波発振素子 (東北大 梅村先生製作)

6) 気泡の発生と腫瘍組織固化に適した収束超音波照射条件の検討 (in vitro 実験)

ガス化による造影を図13のように検討した。つまり、3%アガロースゲルの中に、PFP液滴ミセルとドキシソルビシン封入トランスフェリン修飾バブルリポソームを入れ超音波照射 (1 MHz、1 W/cm²) し、その時液滴からガス化する相変化を超音波画像診断装置で確認した。その結果、図14に見られるように光学顕微鏡観察で膨張したガス気泡の出現を確認した。また、診断装置の描画したところ、図15に見られるような造影画像を確認した。

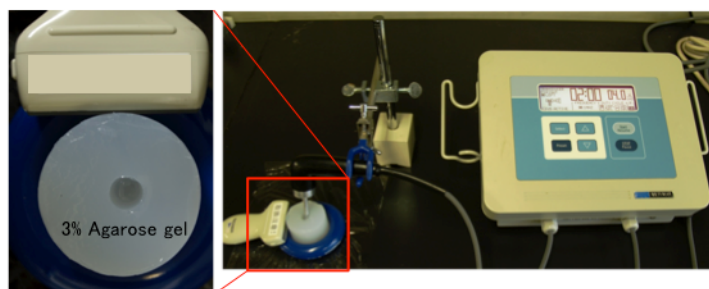
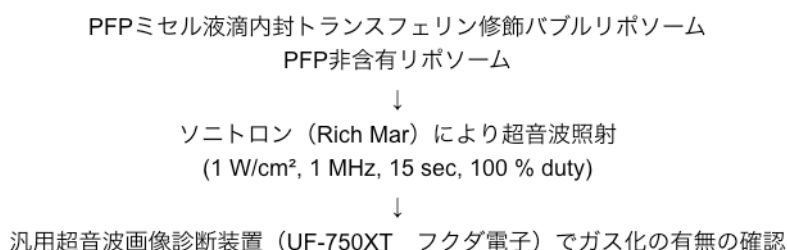


図13 PFP液滴とドキシソルビシン内封TF-バブルリポソームのガス化による造影

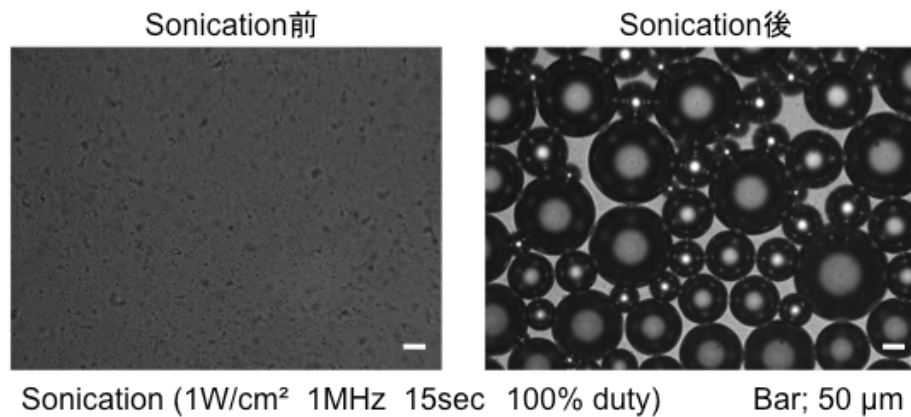


図14 PFP液滴ミセルとドキソルビシン封入TF-バブルリポソームに超音波照射によるガス化

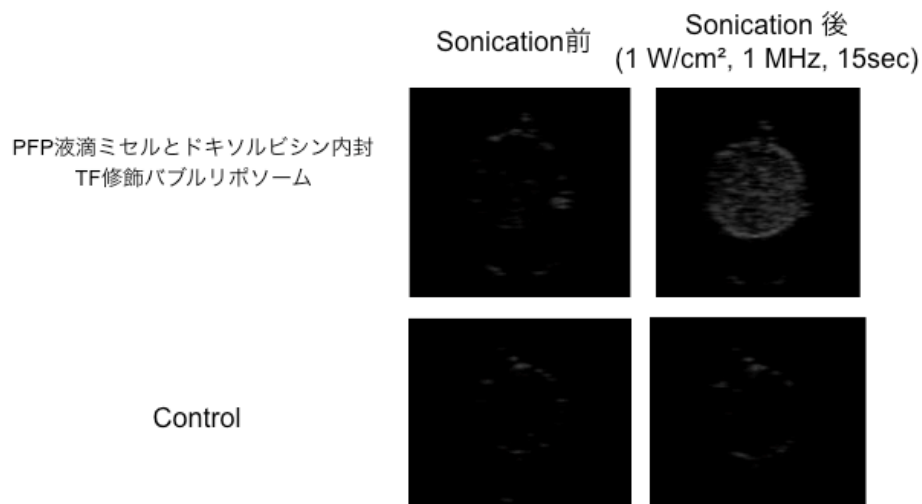


図15 PFP液滴ミセルとドキソルビシン内封TF修飾バブルリポソームのガス化と造影能の確認

ゲルファントムを用いて、バブルリポソームを癌組織中の閉鎖系に封じ込めた状態を再現し、透明で外部から容易に観察できる特性を生かして、集束超音波照射の照射によってその気泡の圧壊（キャビテーション）によるホットスポットの発生と熱電対プローブによる温度上昇を測定した（図16）。3.35MHzのプローブを用いて1000W/cm²、30秒間の照射で、約20℃の温度上昇結果が得られ、加熱作用に十分な発熱を得ることが出来た（図17）。ゲルファントムで行った場合、加熱凝固された血清アルブミンが白濁沈着し、ホットスポットの発生を確認できた（図18）。

また、内封されたドキソルビシンから生じる一重項酸素を図19の方法で測定したところ、図20に示すように、ポジティブコントロールとして用いたRose Bengal溶液やMethylene Blue溶液と同等かそれ以上の一重項酸素の発生を確認した。

超音波照射 (1000W/cm², 3.35MHz, 30 sec)



熱電対で水温を測定

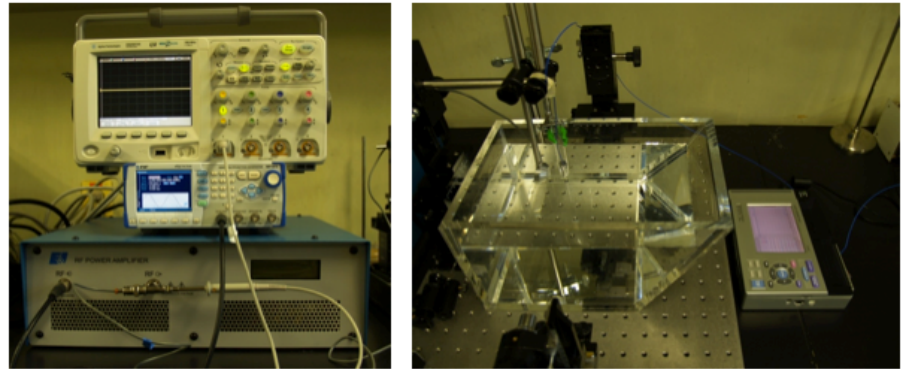


図16 PFP液滴ミセルとドキシソルピシン内封TF修飾バブルリポソームに対する超音波照射とキャビテーションによる発熱の測定

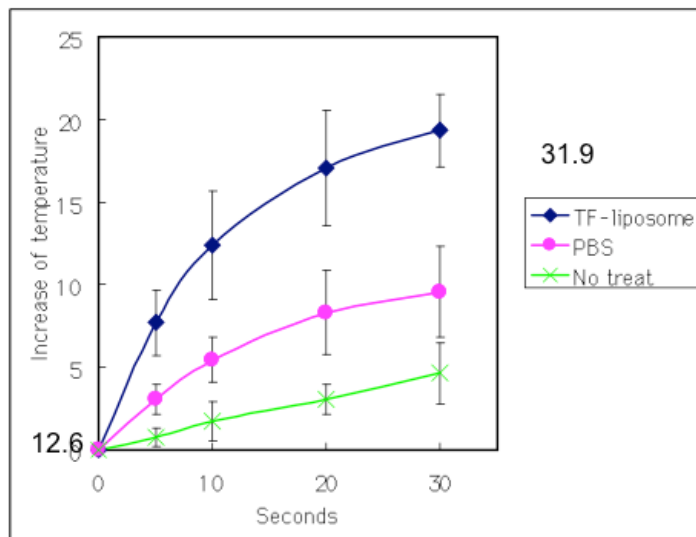
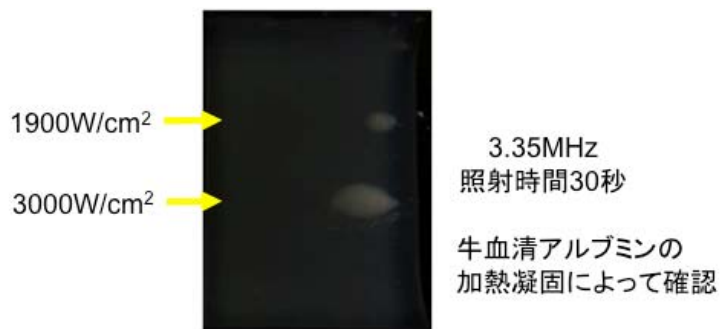


図17 PFP液滴ミセルとドキシソルピシン内封TF修飾バブルリポソームに対する超音波照射とキャビテーションによる発熱



PFP液滴ミセルとドキシソルピシン内封TF修飾バブルリポソーム含有ファントムファントムゲルの組成: 7.5%ポリアクリルアミドゲル+6.5% 牛血清アルブミン

図18 PFP液滴ミセルとドキシソルピシン内封TF修飾バブルリポソームに対する超音波照射とキャビテーションによる発熱の確認

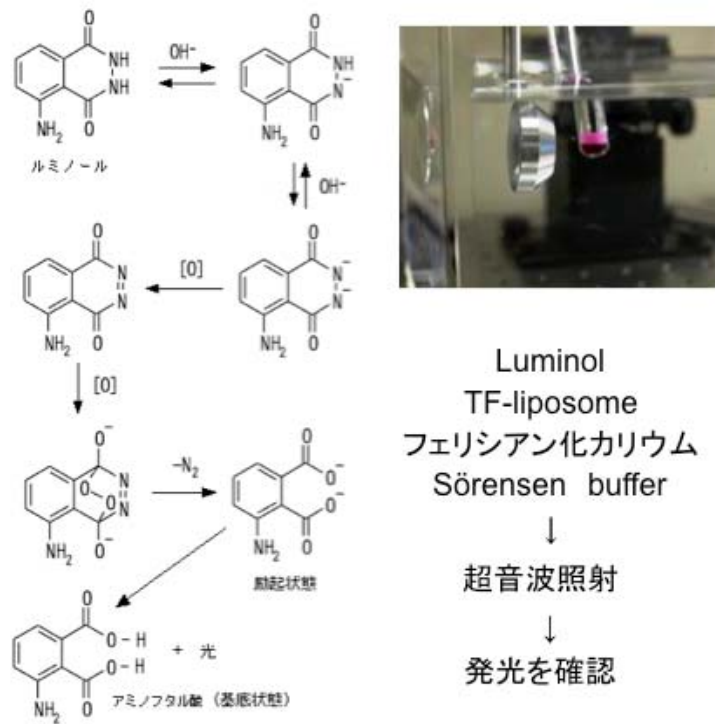


図19 PFP液滴ミセルとドキシソルピシン封入TF-バブルリポソームに超音波照射した時のドキシソルピシンによる一重項酸素の生成とその検出(ルミノール反応)

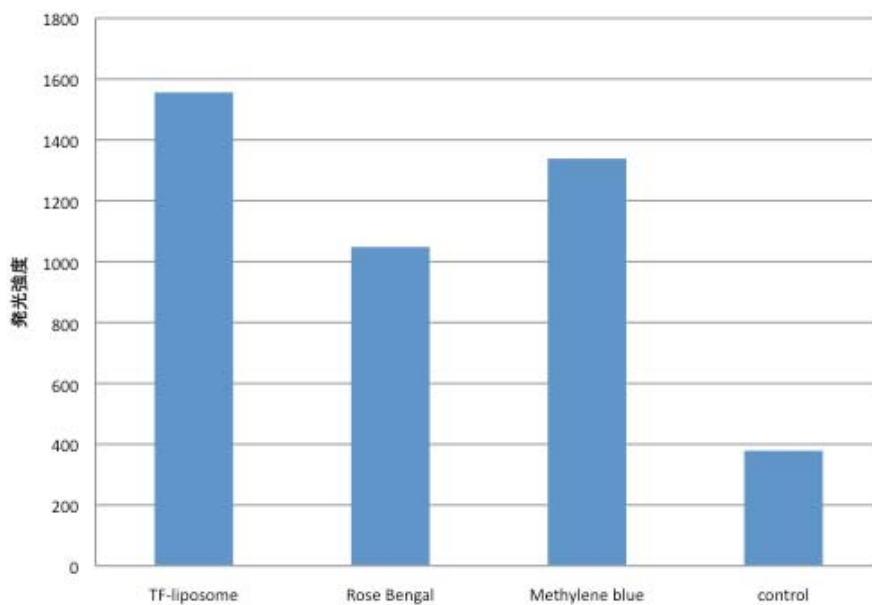


図20 PFP液滴ミセルとドキシソルピシン封入TF-バブルリポソームに超音波照射した時のドキシソルピシンによる一重項酸素の生成とその検出(ルミノール反応)

II 担癌マウスにおける、PFP ミセル液滴内封トランスフェリン修飾バブルリポソームの体内動態と腫瘍集積特性の評価および抗腫瘍効果

1) 各種担癌マウスを用いて、血中滞留性と腫瘍部位集積性の検討

十分な血中滞留性を有するバブルリポソームの作成は出来なかったため、担癌マウスでの血中滞留性と腫瘍部位集積性について検討できなかった。今後、更なるバブルリポソームの安定性について検討する必要がある。

2) 腫瘍部位の造影化の検討

Colon26 担癌マウスについて、肝臓部位に超音波照射すると、図 21 のように液滴からガス化、つまり相変化し血管造影出来た。バブルリポソームが機能していることが観察された。

次に、Colon26 担癌マウスについて、腫瘍部位に超音波照射すると、図 22 のように主要血管の造影が出来た。

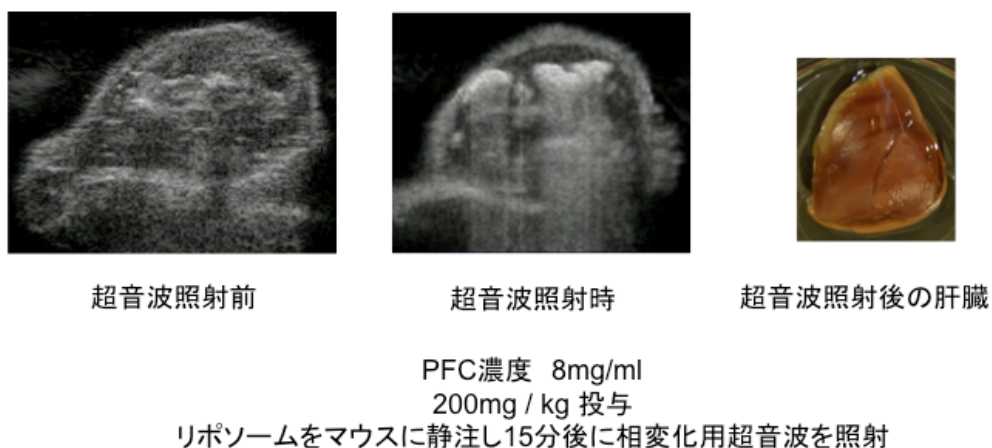
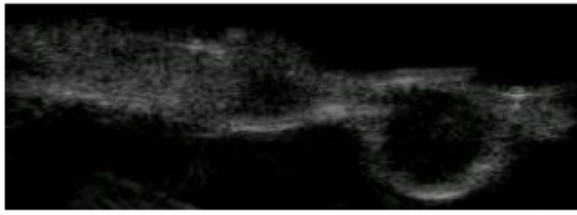
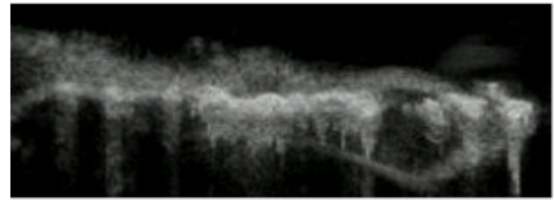


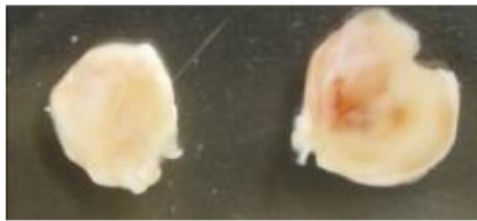
図21 PFP液滴ミセルとドキシソルピシン内封TF-バブルリポソームを尾静脈投与し、体外より肝臓部位に向けて超音波照射したときの造影と摘出肝臓の外観



超音波照射前



超音波照射時



超音波を照射した癌組織

PFC濃度 8mg/ml

200mg / kg 投与

リポソームをマウスに静注し

4分後に相変化用超音波を照射

図22 PFP液滴ミセルとドキソルビシン内封TF-バブルリポソームを Colon26担がんマウスに尾静脈投与し、体外よりがん部位に向けて超音波照射したときの造影と摘出がん組織の外観と内部

3) 抗腫瘍効果の検討

Colon26 担癌マウスについて、直接本バブルリポソームを腫瘍内投与し、その部位を局所的に超音波照射してその効果を観察した(図 23)。その結果、超音波照射直後に水ぶくれ様の腫れがみられ、1 日後に腫瘍組織の壊死が観察された(図 24)。

本バブルリポソームを尾静注し、体外から肝臓部位の一部にピンポイントで超音波照射し、解剖して肝臓の変性を観察したところ、図 25 に見られるように、ピンポイントに肝臓組織の加熱凝集が見られた。

以上より、本バブルリポソームが相変化を起こしガス化したバブルのキャビテーションによって組織の熱凝固変性が生じたものと考えられ、機能していることが観察された。

PFP液滴ミセルとドキソルピシン封入
TF-バブルリポソームをS180固形癌に注入
↓
超音波を照射
(1000W/cm², 3.35MHz, 2 min)

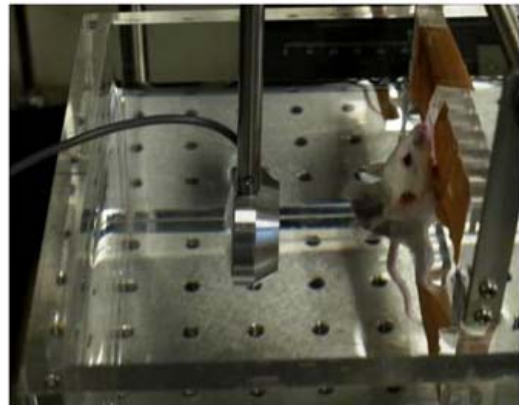
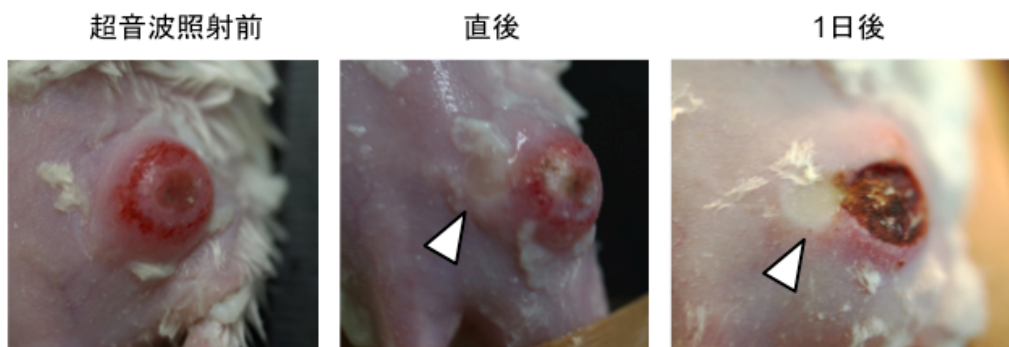


図23 PFP液滴ミセルとドキソルピシン封入TF-バブルリポソームを腫瘍内投与し、超音波照射の効果を観察



超音波照射: 1000V/cm²

図24 PFP液滴ミセルとドキソルピシン封入TF-バブルリポソームを腫瘍内投与し、超音波照射の効果を観察

PFP液滴ドキシソルピシン封入TF-バブルリポソームをマウスに尾静注
 ↓
 肝臓に向けて非侵襲的に超音波を照射 (400 W/cm², 3.35 MHz, 2 min)

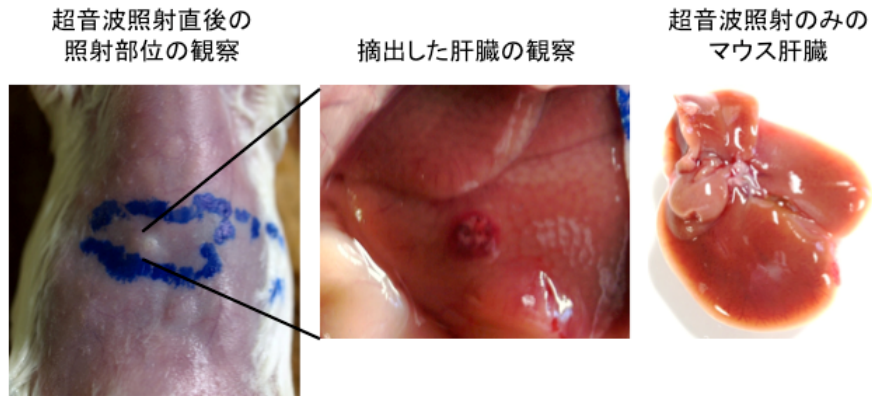


図25 PFP液滴ミセルとドキシソルピシン封入TF-バブルリポソームを尾静脈投与し、体外より肝臓部位に向けて超音波照射したときの効果

Colon26

担癌マウスについて、1 MHz でキャビテーションを生じさせたところ、図 26 に見られるように、腫瘍内部に若干の壊死が見られ、キャビテーションによる発熱による抗腫瘍効果が観察された。

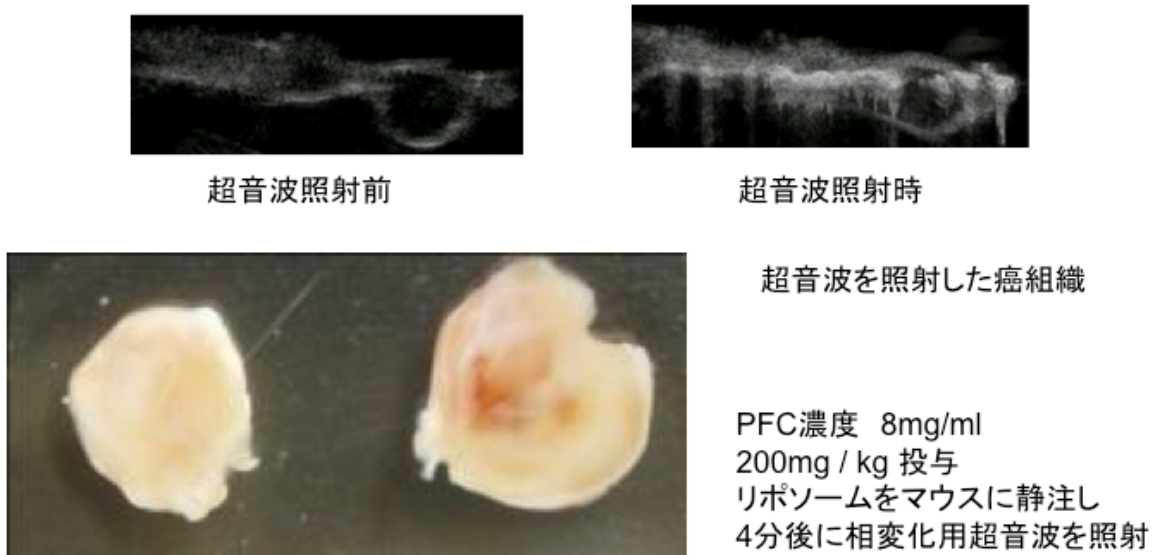


図26 PFP液滴ミセルとドキシソルピシン内封TF-バブルリポソームをColon26担がんマウスに尾静脈投与し、体外よりがん部位に向けて超音波照射したときの造影と摘出がん組織の外観と内部

IV. 実用化、事業化の見通しについて

1. 実用化、事業化の見通し

DDSという薬剤と医療機器を開発し、両者の融合システムとして実用化を目指す新しい取り組みであり、前臨床試験を可能とする薬剤および装置を完成或いは前臨床試験を開始し、治療効果および安全性を確実なものであることを確認することにより、次世代型悪性腫瘍治療の早期臨床応用技術の実現を目指し、実用化・事業化の可能性は高いと予想される。

1) 革新的DDSと光ファイバー技術を融合した光線力学治療システム

<DDSの実用化、事業化の見通し>

現行の膀胱がん治療では、膀胱筋層に達しない(T1)非浸潤性のがん(Ta)の場合、単発でも多発でも、治療の第一選択は、経尿道的膀胱腫瘍切除術(TUR)である。しかし、切除術の前の膀胱鏡検査において、膀胱がんの疑われる部位の生検(バイオプシー)が必ず行われ、がん診断確定部位と強疑診部位と認定されたところだけが切除される。言い換えると、生検を施行されたところ以外は切除されないことが多い。したがって、検査する泌尿器科医が検知できないほど微小な、サブミリサイズの病変を取りこぼしてしまう蓋然性が高い。

本事業で開発した技術が機能すれば、上述の従来型治療方法のパラダイムを変える。すなわち、バイオプシーを施行されていない部位に、微小がんが存在していたとしても、がんを高集積する光増感剤であれば、そこに集積し、光照射によるPDT効果が十分に期待できる。これは、治療と予防の境界域の新しい医療とも言える。サブミリサイズの病変が多発している状況であるとするれば、従来の外科治療を施すことは不可能であり、ここに本事業で開発する新しいPDT技術の優位性がある。再発率が50%を超える膀胱がんの再発率を大いに低減できる可能性を秘めている。もちろん、肉眼で十分に識別できる大きさのがんであっても、膀胱筋層に及ばないところに局限している前提があれば、PDTに用いる近赤外線の高深達長を考慮すると、治療に十分なPDT効果が発揮される。

同様のPDT治療コンセプトは、子宮体がんにも応用可能である。子宮体部が膀胱の形状に類似していることが、まずその大きな理由である。実医療の見地からも子宮体がんはPDT向きである。子宮体がんが疑われる場合、子宮鏡下に子宮粘膜搔爬を行い病理学的に検査する。この際、子宮粘膜搔爬直後にPDTを行うことで、浅層にしか存在しない0期(子宮内膜の異型増殖状態)のがんを根治できる可能性がある。この場合、診断と治療の一次的医療となり、0期の標準治療である単純子宮全摘出術と両側付属器(卵巣・卵管)切除術を回避できる可能性がある。

本システムは、上記の膀胱がん、子宮体がんに加えて、胃がん、大腸がん、食道がん、口腔内がん等のその他の粘膜がんやPDT適応である肺がんにも応用することができ、早期がんの低侵襲的治療法として幅広い応用が期待される。さらに、がん治療以外の応用としては、気道狭窄やカテーテルの先端から光照射を行うこともできるため内膜肥厚などの循環器疾患の治療にも適用されることが期待される。実際に波及効果として、PDT内包ミセルは気道狭窄の治療にも有効であることが明らかになっている。以上のように、PDT内包ミセルと光照射システムは、低侵襲的な新しい診断-治療システムとして、幅広い医療応用が期待できる。

一方、PDT技術としては、本事業で開発されたPDTシステムは、フォトフリンやレザフィリンなどの従来型光増感剤製剤を利用したPDTと比較して革新性と優位性を有している。すなわち、従来型光増感剤は、ある程度の腫瘍選択性を示すものの、正常組織への集積を完全に抑制することは困難であり、そのために正常組織への光照射は光傷害を惹起しうる。従って、正常組織を傷害することなく、PDTを安全に行うためには腫瘍に対するピンポイントの光照射が必要となる。しかしながら、上述のように、微小な、サブミリサイズの病変を標的としたPDTにおいてはピンポイントの光照射は困難であり、正常組織を傷害することなくがん組織を根絶することが極めて難しいと言える。一方、DDSは、Enhanced Retention and Permeability (EPR)効果によるがん選択的な集積に加えて、正常組織の血管壁は通過しないために正常組織への光増感剤の集積を顕著に抑制することができ、その結果、正常組織への光照射による光傷害を著しく抑制することが可能である。この結果、DDSと患部全体に光照射を行う光照射システムを組み合わせることによって、内視鏡では検知が困難なサブミリサイズの微小がんにも適応でき、さらに正常組織を傷害することなくがん組織を根絶することのできる新しいコンセプトのPDTが実現される。また、PDTでは、光増感剤の皮膚への集積により光過敏症が惹起されるために、その解決が強く望まれている。光過敏症が低減されたレザフィリンの場合においても患者は2週間の暗室での生活を強いられることが知られており、このため現在は、体外に速やかに排泄される光増感剤の開発がトレンドとなっているが、皮膚への集積を完全に回避することは困難である。これに対して、本事業で開発する高分子ミセル型DDSは、正常組織の血管壁を通過しないために、原理的に皮膚には集積しないものと考えられる。従って、本事業で開発されたPDTシステムは、光過敏症等の光毒性を大幅に低減もしくは回避することができるものと考えられる。その結果、本システムでは、PDT後に暗室で生活をする必要がなく、入院期間も短縮することができるものと思われ、患者QOLを大幅に向上させることができる。

実用化、事業化までのシナリオとしては、本プロジェクトで得られた成果を基盤としたDDSと光照射システムを融合したPDTシステムの研究開発が、最先端研究開発支援プログラム「ナノバイオテクノロジーが先導する診断・治療イノベーション」(平成22～25年度)(代表者 片岡一則)において、サブテーマ3「ナノデバイスを利用した低侵襲精密診断・ナビゲーション治療システムの創成」(サブテーマリーダー 西山伸宏)(サブテーマ3研究費総額 7.7億円)に採択されており、本プログラムの枠組みを利用して実用化への道筋を立てる。また、本事業で開発を進めてきたPDTシステムは、新規医薬品×新規医療機器となるために、治験の承認に向けては新たな効果安全性品質評価システム(レギュラトリーサイエンス)を構築する必要があるが、この点においては、本研究開発は、既に先端医療開発特区(スーパー特区)「医工連携による先進医療開発実用化プロジェクト」(代表者:永井良三)の計画に含まれており、この制度を利用してPMDAとの相談のもと、効率的な評価法を構築することができるものと考えている。

<光照射システムの実用化、事業化の見通し>

本事業で開発した光学システム・技術を実用化するに際して第一に考えなければならないのは、ヒト用にスケールアップすることである。現在実験に使用しているラットでは、膀胱サイズがヒトの1/6-1/8倍(体積として約1/200-1/500倍)である。したがって、ヒトへの応用を前提にし

た場合、現有開発品のサイズを6-8倍にしたものを作製すればよい。

本事業で開発したシステムを大別すると、①PDT用光源、②光照射用ファイバースコープ、③イメージングシステム、に分けられる。スケールアップを前提とした場合、①の光源開発におけるもっとも大きな問題は、高出力化である。ヒト膀胱内腔径は約9cmであることより、内腔面全域に50 mW/cm²の照射密度を得るためには、約15 Wの出力を発振できるレーザーが必要である。しかし、光増感剤の吸収波長を考慮すると(680 nm)、このクラスの出力を発振できるレーザーを製作することは技術的に困難ではない。コストも2-3Wクラスの数倍(1000-1500万円)と見積もれる。他方、光照射用ファイバースコープ、イメージングシステムに関しては、スケールアップする分には、現行よりも作製は容易で、技術的には大きな問題はなく、製作コストも低減する。

実際の医療応用に際して最も注意すべき点は、照射用ファイバースコープの破損およびそれに伴う生体損傷である。ファイバーの折れ、プローブ先端の剥離、プローブと生体組織接触による組織損傷(火傷)およびプローブ損耗などの急性の問題と、損壊した剥離破片が臓器に残存するというような慢性の問題が挙げられるが、後者は特に生体に対して持続的な侵襲となり、結果的には摘出のための外科的介入が必要になる。したがって、これらの問題を未然に回避することができるよう、ファイバースコープの設計開発を進めていく必要がある。しかし、ファイバースコープ社は、細径内視鏡の開発・販売を通して、安全性の高い製品を作り上げてきた数多くの実績・経験を有し、現在、開発実験に使用している試作品にしても、他施設より開発された同類プローブとの比較において、圧倒的に安全性の高いことが示されている。

実用化に関して、技術的問題、安全性の問題を上述したが、いずれのハードルも高くなく、本事業終了後、1年程度の開発期間をもってすれば、臨床試験に資する試作品製作は可能であると見積もることができる。

次に事業化の観点より述べる。医療への波及効果に関しては、数量的な見積もりは(国内のみを前提すると)、レーザー光源とイメージングシステムが年間各約1000台*1、光照射用ファイバースコープは、衛生面より滅菌消耗品となることより、年間約20000本と概算できる*2。世界全体を対象にした場合、これらの見積もりの4-10倍の潜在需要を見積もることができる。

購入後のサービスは、アフターケアとして、照射用レーザーのキャリブレーションや、イメージングシステムのキセノンランプ交換などが必要となってくる。しかし、これらは、現行医療ですでに使用されているPDT装置やイメージングシステムへのアフターケアと特別に変わることはないので、実施は容易である。

*1 レーザー光源とイメージングシステムは、耐久財として機能するので、いったん購入されると5年程度の償却期間があるとの前提を立てられる。国内で、(外科手術も可能な)泌尿器科を有する総合病院クラスが約8000施設あり、そのうちの約60%が購入すると仮定し、償却期間を5年間とすると、年間1000台と推定できる。

*2 光照射用ファイバースコープに関しては、年間約6000-7000名の膀胱がん患者にPDTを施行する可能性があり、一人当たり年間約3本使用すると仮定して算出した。

<関連分野への波及効果>

本事業で開発してきた光学システム・技術の特色は次の3点にある。

- ① 超小型サイズのファイバースコープとその加工技術
- ② 管腔構造内面の均質照射デバイス
- ③ 細径内視鏡を介する蛍光分光システム

上記3点は、低侵襲治療の流れを受けて、外科的手技の大きな潮流となっている内視鏡下の外科手術・処置を大きく支援する重要な光学技術に昇華する。腹腔や胸腔内部は術中ドーム状になるよう皮膚を伸展させられるが、特色②は、その内部全体を均質に照らす照明技術になりうる。他方、近赤外蛍光法を利用したがんのリンパ節転移を検知する技術開発が盛んになっているが、内視鏡下手術に際しては、狭い領域の視野しか確保できないケースが多いため、サブミリサイズの細径内視鏡による蛍光分光システム（特色③）は、かような場合にきわめて有用である。さらに、最近、内視鏡による胎児手術が医療先端施設で行われるようになってきたが、胎児の存在する子宮への侵襲を最小限にするのに、細径内視鏡の使用は有効であり、加えて、可視光の障害となる血液が存在しない羊水下での胎児診断技術に、蛍光法は原理的に使用しやすい。

特色①は、最近血管外科・内科で主流になりつつある動脈硬化病変をきたした血管の血管形成術において強みを発揮する。血管形成術に PDT が有用であるとする報告を筆頭に、光照射によってトリガーをかけることのできる動脈硬化治療用ナノデバイス、ナノキャリアの開発が数多く報告されていることより、今後当該分野における、特色①の技術応用がますます活発化していくと予想される。

2) 相変化ナノ液滴を用いる超音波診断・治療統合システム

1. 超音波治療システムとしての実用化の見通し

- ・ 今回、東北大を中心に開発した超音波治療システムのプロトタイプは、人体適用を想定したものであり、特に電子式の焦点移動機構により 1~2cm 程度の初期がんに機械的な移動機構なしで対応可能とすることを当初の目標とした。成果の章に記載の如く、この超音波治療システムプロトタイプは本プロジェクトにおいて当初目標をクリアした。今後いくつかの付帯的な開発（診断・治療統合用ソフト、電源周りのユニット化、電気的安全性の確保、等）により前臨床試験を行えるレベルに達したといえる。

2. 超音波治療用薬剤としての実用化の見通し

- ・ 本プロジェクトにおいては、日立製作所を中心に開発した超音波治療用薬剤（第一世代相変化ナノ液滴）は、診断・治療薬としての効果の検証を行い、前臨床試験に進むに足る安全性の確保を行うことを目標とした。成果の章に記載の如く、今回開発した薬剤は、小動物を用いて腫瘍治療効果を確認でき、かつ中・大動物への体外からの照射により、焦点領域のみでの選択的な効果発現が可能であることも確認できた。さらに、ラットを用いた前臨床相当の安全性試験においても良好な結果を得た。これらの結果により、前述の超音波照射システムと組み合わせて前臨床試験を行えるレベルに達したといえる。特に、今回副作用における種差があり、それが動物の大きさでなく肺の機能の違いによるものであることがわかったことから、今後ヒトと特性の異なる種（ウサギなど）での検討を極力排除することで、結果の解釈が明確になり、開発の加速が期待される。

技術的な完成度は高まったが、薬剤の実用化に関しては、装置に比べ薬剤の認可には期間と費用が多く必要となることから、慎重に行う必要がある。

2)-4-3 トランスフェリン修飾バブルリポソームの開発（帝京大学）

バブルリポソームの新規製造法に関して、平成 21 年 4 月に特許申請（特願 2009-113878）を行った。特許申請の関係で、発表論文、学会発表についての実績件数は少ないが、今後順次発表して行く予定である。また、これらの成果の事業化については、バブルリポソームの研究者レベルでの需要がかなりあることから、現在の個別対応から、今後は試薬会社とタイアップして試薬としての販売を検討していく予定で、相談中である。医薬品製剤・診断薬としての開発は、現在進行中のスパーク特区（特区 24）や医薬基盤研究所委託研究の中で、GMP 対応化や生体への安全性の面を詰めていくので、あと数年の時間を要する。

(添付資料)

- ・イノベーションプログラム基本計画
- ・プロジェクト基本計画
- ・事前評価関連資料(事前評価書、パブリックコメント募集の結果)
- ・特許論文リスト

・イノベーションプログラム基本計画

(添付資料)

平成20・03・25産局第6号

平成20年4月1日

健康安心イノベーションプログラム基本計画

1. 目的

今後、世界に類を見ない少子高齢化が進展する我が国において、国民が健康で安心して暮らせる社会を実現することは喫緊の課題である。具体的には、個の医療を通じて健康寿命の延伸、QOL(Quality of Life: 生活の質)の向上を図ることが求められている。

この目的を達成するため、創薬に資する基盤技術の開発、再生医療の確立、医療機器・福祉機器の開発等の手段を適切に組み合わせることによって、健康維持増進、疾患の早期診断、及び適切な治療法の提供を実現するほか、関連産業の競争力強化・ベンチャー企業の創出を図る。

2. 政策的位置付け

○「イノベーション25」(2007年6月閣議決定)

生涯健康な社会形成に向けて中長期的に取り組むべき課題として、治療重点の医療から予防・健康増進を重視する保健医療体系の転換、生命倫理・安全性と医療技術促進政策の調和などをとりあげ、再生医療及び在宅医療・介護に係る社会還元加速プロジェクトを実施するとともに、臨床研究・臨床への橋渡し研究をはじめとする研究開発ロードマップの提示により所要の措置を講じていくこととしている。

○がん対策推進基本計画(2007年6月閣議決定)

がん対策基本法に基づき、国、地方公共団体及び関係者等が、がん対策を総合的かつ計画的に推進するために策定された基本方針であり、取り組むべき施策の一つとして「がん研究」が取り上げられている。具体的には、現状、診断薬・診断機器の開発、治療薬・治療機器の開発等が推進されているが、さらに、有用な早期診断技術についての研究開発の推進等に取り組むことが提示されている。

○革新的医薬品・医療機器創出のための5か年戦略(2007年4月)

文部科学省、厚生労働省及び経済産業省の間において革新的な医薬品・医療機器の創出に向け、研究資金の集中投入、ベンチャー企業の育成、臨床研究・治験環境の整備、薬事法における審査の迅速化・質の向上など、研究から上市に至る過程の一貫かつ集中的な支援を実施することとしている。

○新健康フロンティア戦略(2007年4月新健康フロンティア戦略賢人会議)、同アクションプラン(2007年12月)

健康寿命の延伸や生活の質の向上を図ることを目的として策定された新健康フロンティア戦略及び新健康フロンティア戦略アクションプランの中で、「人間の活動領域の拡張に向けた取組」及び「医療・福祉技術のイノベーション」において、「先進的予防・診断・治療技術の開発」や「医薬等ベンチャー・基盤産業支援対策」等の施策が提示されている。

○科学技術の振興及び成果の社会への還元に向けた制度改革について(2006年12月総合科学技術会議)

科学技術の振興や成果還元上障害となる制度的な阻害要因として研究現場等で顕在化している諸問題を解決するための制度改革の実現に向け、制度所管省庁等が取り組むべき工程表とともに意見具申を行っている。

この中で、「治験を含む臨床研究の総合的推進」として、①支援体制等の整備増強、②臨床研究者・臨床研究支援人材の確保と育成、③研究推進や承認審査のための環境整備、④国民の参画の4つの観点から改革の方向を示している。

○ライフサイエンス推進議員連盟決議(2006年12月)

イノベーションの成果である革新的な医薬品・医療機器を迅速に国民に提供するため、①治験を含む臨床研究の活性化、②新たな医薬品等の承認審査の迅速化、③①及び②に関して総合的に検討を行い、当該問題を国全体で取り組むためのハイレベルな政策対話の実現に向け、政府として早急な対応を図るべきであることを決議している。

○経済成長戦略大綱(2006年7月財政・経済一体改革会議)

がん等の生活習慣病や感染症等各種疾病対策の推進等国民の保健医療水準の向上に資する医薬品・医療機器産業について、関係府省・機関、企業等の双方向の連携の下、特に、基礎・基盤研究、臨床研究及び基礎研究から臨床研究への橋渡し研究を推進するとともに、臨床研究基盤の整備、治験環境の充実等の国民に医薬品・医療機器を迅速に届けるための環境整備を行うことが提示されている。

○新経済成長戦略(2006年6月経済産業省とりまとめ)

産業界、学界、公的機関、政府が連携し、研究から市場へ、市場から研究へと、双方向で鋭い軸が通るようなシステム改革(イノベーションの加速化～「イノベーション・スーパーハイウェイ構想」)を実現するための施策として「がん対策等に資する先進医療機器・技術」の推進、「医薬分野での官民一体の対話の場」など事業化に向けた環境の整備が提示されている。

○第3期科学技術基本計画(2006年3月閣議決定)

第2期計画において、優先的に資源を配分することとされたライフサイエンス分野を、引き続き、特に重点的に研究開発を推進すべき分野(重点推進4分野)として位置づけ。また、研究分野の重点化にとどまらず、分野内の重点化も進め、選択と集中による戦略性の強化を図り、基本理念の下で新たに設定する6つの政策目標(イノベーター日本ー革新を続ける強靱な経済・産業を実現、生涯はつらつ生活ー子供から高齢者まで健康な日本を実現等)との関係を明確化することとしている。

○バイオテクノロジー戦略大綱(2002年12月BT戦略会議取りまとめ)及び産業発掘戦略ー技術革新(「経済財政運営と構造改革に関する基本方針2002」)(2002年6

月閣議決定)に基づき2002年12月取りまとめ)

健康・バイオテクノロジー分野における3つの戦略目標(「研究開発の圧倒的充実」、
「産業プロセスの抜本的強化」及び「国民理解の徹底的浸透」)に対応している。

○経済財政運営と構造改革に関する基本方針2005(2005年6月閣議決定)

2006年度までの2年間(重点強化期間)における重点課題として、「新しい躍動の
時代に向けて、少子高齢化とグローバル化を乗り切る基盤をつくること」という課題を掲
げ、その課題に対し、「3. 持続的な社会保障制度の構築(健康・予防介護等の推進)」
や「6. グローバル戦略の強化(「新産業創造戦略2005」の推進)」を取り組むべき
事項としている。

○「新産業創造戦略2005」(2005年6月経済産業省取りまとめ、同月13日経済財
政諮問会議に報告)

社会ニーズに対応する新産業分野として、「(5)健康・福祉・機器・サービス」を戦略
7分野の1つとしており、2010年の市場規模として約75兆円を掲げ、それに向けた
アクションプログラムとし取り組むこととしている5つの課題には、「バイオ技術を活用
した個別化医療や予防医療等の実現・普及」、「革新的な医療・福祉機器の開発・普及の
促進」が提示されている。

3. 達成目標

- ①医薬品の成功確率の向上に資する技術開発や臨床への橋渡し研究等を通じた、医薬品の
上市期間の短縮や開発コストの低減
- ②治療機器、再生医療を含む先進的な医療機器開発等の推進による国内外生産シェアの増
大、厚生労働省との連携事業(マッチングファンド、医療機器開発ガイドラインの策定
など)による開発から製品に至るまでの期間の短縮
等を達成する。

4. 研究開発内容

【プロジェクト】

I. 創薬・診断

I-1. 革新的医薬品の創出

(1)糖鎖機能活用技術開発(運営費交付金)

①概要

我が国が強みを持つ糖鎖工学分野において、これまでに取得・開発した「糖鎖遺
伝子ライブラリー」「糖鎖構造解析技術」「糖鎖合成技術」を活用し、癌や感染症な
ど様々な疾病に関与する糖鎖の機能を解析する基盤技術を確立し、我が国の優位性
を維持するとともに、創薬・診断等の分野における糖鎖機能の産業利用の促進を図
る。

②技術目標及び達成時期

2010年度までに、糖鎖や糖タンパク質などの機能を分子レベルで効率的に解

明するための基盤技術、糖鎖の機能解析・検証技術、及び、有用性が認められた糖鎖機能を産業利用するための基盤技術を開発する。

③研究開発期間

2006年度～2010年度

(2)機能性RNAプロジェクト(運営費交付金)

①概要

近年の研究成果により、タンパク質の合成に関与する既知のRNAとは異なり、がんや発生分化等の重要な生命現象に関与するタンパク質をコードしていないRNA(機能性RNA)の存在が明らかになってきており、世界中の注目を集めている。機能性RNAは再生医療やRNA医薬等への応用化にもつながることが期待されていることから、機能性RNA解析のための新規ツールを開発し、機能解析を行うことにより、本分野における我が国の優位性を確立する。

②技術目標及び達成時期

2009年度までに、機能性RNAの候補となるRNAをゲノム配列上から探索するバイオインフォマティクス技術の開発や、機能性RNAを解析するための支援機器やツールの開発を行い、機能性RNAの機能解析を行う。

③研究開発期間

2005年度～2009年度

(3)ゲノム創薬加速化支援バイオ基盤技術開発(化合物等を活用した生物システム制御基盤技術開発)(運営費交付金)

①概要

我が国が強みとする完全長cDNAライブラリーやタンパク質相互作用解析技術等を最大限に活用し、重要なタンパク質ネットワーク解析等により創薬の対象となるタンパク質の効率的な絞り込みを行うとともに、疾患等の生物現象を制御する化合物の探索まで、一貫した技術開発を行う。

②技術目標及び達成時期

2010年度までに、超高速・高感度にタンパク質の相互作用を解析する技術や疾患を制御する化合物の探索・評価技術を開発する。

③研究開発期間

2006年度～2010年度

(4)ゲノム創薬加速化支援バイオ基盤技術開発(創薬加速に向けたタンパク質構造解析基盤技術開発)

①概要

創薬上重要な膜タンパク質は複合体を形成していることも多く、その構造解析及び相互作用の情報を取得することは創薬研究において重要であるが、その解析は非常に困難である。そこで、膜タンパク質やその複合体の構造情報を取得する新たな技術等の開発に向けて、タンパク質の立体構造及びその構造変化や膜タンパク質複合体の構造情報等の解析及び構造情報を基にした高精度なシミュレーション技術を

開発する。

②技術目標及び達成時期

2011年度までに生体内に近い状態での膜タンパク質及びその複合体の構造解析手法、リガンド分子との相互作用解析手法を確立するとともに、当該技術から得られた情報に基づくin silico スクリーニング手法を確立する。

③研究開発期間

2007年度～2011年度

(5)ゲノム創薬加速化支援バイオ基盤技術開発(モデル細胞を用いた遺伝子機能等解析技術開発)(運営費交付金)

i)研究用モデル細胞の創製技術開発

①概要

医薬品開発における安全性や薬理評価の確実性の向上等、創薬に向けた研究開発を加速するためには、ヒト生体内における様々な反応や遺伝子の機能をより高い精度で解析するツールの開発が重要である。そのため、人体の組織や疾病等の様々なヒトモデル細胞株を創製するための基盤となる技術開発を行う。

②技術目標及び達成時期

2009年度までに、創薬等の研究開発に資する研究用細胞の創製技術を確立し、複数種の研究用のヒトモデル細胞を創製する。

③研究開発期間

2005年度～2009年度

ii)細胞アレイ等による遺伝子機能の解析技術開発

①概要

世界的にゲノム創薬が競争激化しているが、創薬のターゲットとなる遺伝子を絞り込みいち早く特許を押さえてしまうことが産業競争力強化のためには重要である。このためには、生体内で非常に複雑に制御されている遺伝子ネットワークシステムを高速・高感度に解析するシステムを開発し、創薬のターゲットの効率的な絞り込みを行うことが必要である。具体的には、多数の細胞に同時に異なる遺伝子を高効率で導入することにより、複数の遺伝子発現等の時系列計測を行い、得られる種々の細胞応答データから遺伝子ネットワークを解析する細胞アレイ技術を確立し、疾患関連遺伝子等、特定の創薬ターゲットの同定に有用な汎用性の高い解析ツールの開発を行う。

②技術目標及び達成時期

2009年度までに、細胞イベント(遺伝子発現、たんぱく質の細胞内局在性等)を測定するための網羅的なレポーターシステム並びに測定装置を新規に開発し、得られるデータから遺伝子ネットワークの解析システムを確立する。

③研究開発期間

2005年度～2009年度

(6)新機能抗体創製技術開発(運営費交付金)

①概要

ポストゲノム研究や診断・創薬等において重要となっている機能を有する抗体を創製するため、創薬標的として産業利用上重要だが、解析が困難な膜タンパク質やタンパク質複合体を特異的に認識できる抗体を系統的に作成する技術や抗体の分離・精製を高効率に行うための技術の開発を行う。

②技術目標及び達成時期

2010年度までに、産業上有用と考えられるタンパク質やその複合体を特異的に認識する抗体を創製するための基盤技術、及び、製造コスト低減に向けた抗体の分離・精製等を高効率に行う技術を開発する。

③研究開発期間

2006年度～2010年度

(7)基礎研究から臨床研究への橋渡し促進技術開発(運営費交付金)

i)橋渡し及び臨床研究拠点を活用した研究開発(運営費交付金)

①概要

がん対策等の国民医療高度化を目指し、急速に発展している多様なバイオ技術の融合と医療現場への円滑な橋渡しによるイノベーションの創出・加速のため、総合科学技術会議のもと文部科学省及び厚生労働省と連携し、橋渡し研究の強化に一体的に取り組む。具体的には、民間企業と臨床研究機関(文部科学省や厚生労働省が整備する橋渡し研究拠点等)が一体となって行う、医薬品、医療機器、診断ツール等の開発を推進する。

②技術目標及び達成時期

2011年度までに医療現場及び臨床研究からのフィードバックに基づく研究開発により、医薬品、医療機器、診断ツール等の研究開発成果を円滑に実用化につなげる仕組みを確立する。

③研究開発期間

2007年度～2011年度

ii)バイオ診断ツール実用化開発(運営費交付金)

①概要

我が国が有する微細加工技術・表面処理技術といったナノテク等の強みを活かし、微量サンプルから高感度・安価で再現性よく多様な遺伝情報(SNPs、mRNA、タンパク質等)を検出するためのバイオ診断機器を開発し、臨床現場において有効性を検証することにより個別化医療の実現に寄与する。

②技術目標及び達成時期

SNPs、mRNA、タンパク質等の遺伝情報を計測対象とするバイオ診断機器の実用化開発を行い、2008年度までに、許認可用データ取得可能な技術レベルに達することを目指す。

③研究開発期間

2006年度～2008年度

I-2. 診断ツールの開発

(1) 個別化医療実現のための技術融合バイオ診断技術開発(運営費交付金)

①概要

我が国が有する微細加工技術・表面処理技術といったナノテク等の強みを活かし、染色体異常を高感度、高精度かつ迅速、安価で非コード領域までを検出するゲノムアレイや解析基盤技術開発を行うとともに、診断への応用を可能とする全自動解析システムの開発を行う。

②技術目標及び達成時期

2010年度までに、BACを用いた非コード領域を含むゲノム全領域を検出できる高精度ゲノムアレイを開発する。さらに、臨床現場において、微量サンプル(数ナノグラム)から、12時間以内に染色体異常(増幅、欠失、コピー数多型等)を、低コストかつ定量性・再現性を確保して検出ができる自動染色体異常解析システムのプロトタイプを開発する。

③研究開発期間

2006年度～2010年度

(2) 糖鎖機能活用技術開発(運営費交付金)【再掲】

(3) 基礎研究から臨床研究への橋渡し促進技術開発(運営費交付金)【再掲】

I-3. 創薬・診断に係る基盤整備

(1) 統合データベースプロジェクト

①概要

ライフサイエンス分野では、自身の研究成果と既存の研究成果と対比することにより、自身の研究成果の仮説を考案する手がかりが得られたり、新しい実用化の発想が得られたりする可能性があるため、国家プロジェクト等により産生された研究データを一括して活用できるデータベースが、産業界や社会から要望されている。このため、政府全体の“生命科学データベース統合化の取組”の一環として、経済産業省関連の公的資金研究から産出される研究データを、産業上の有用性を評価のうえ、統合化し、産業界等に提供する。

②技術目標及び達成時期

2010年までに経済産業省関連機関により実施されたライフサイエンス分野の研究開発プロジェクトの成果に関する情報提供サイトを構築・運用する。また、ヒト遺伝子に関連した各種研究成果に関しては、平成17～19年度に実施したゲノム情報統合プロジェクトにおいて構築した「ヒト全遺伝子のアノテーション統合データベース(H-Invitational)」を基礎として、経済産業省関連の研究成果を連携して利用できるシステムを構築する。

③研究開発期間

2008年度～2010年度

II. 診断・治療機器、再生医療等

II-1. 診断・治療機器の開発

(1)分子イメージング機器研究開発プロジェクト(運営費交付金)

i)生活習慣病超早期診断眼底イメージング機器研究開発プロジェクト

①概要

細小血管の分子レベルでの代謝機能を非侵襲で可視化する細胞代謝イメージングを実現し、代謝異常を細胞レベルで観察することにより、循環器系疾患等の早期の診断・治療を図る。

②技術目標及び達成時期

2009年度までに、ナノテクノロジーを活用した光学基盤技術等を確立することにより、細胞やタンパク質レベルの組織診断を可能とする機器を開発する。

③研究開発期間

2005年度～2009年度

ii)悪性腫瘍等治療支援分子イメージング機器研究開発プロジェクト

①概要

良性・悪性の区別も含めた腫瘍の超早期診断を実現するため、悪性腫瘍に特異的に反応する標的物質を利用することにより生体細胞の分子レベルの機能変化を抽出・検出できる機器の開発を行う。

②技術目標及び達成時期

2009年度までに、全身で3mm、局所で1mmの分解能を有する分子イメージング機器を開発する。

③研究開発期間

2005年度～2009年度

(2)次世代DDS型悪性腫瘍治療システムの研究開発事業(運営費交付金)

①概要

DDSのさらなる裾野の拡大、及び早期実用化を目指し、様々な外部エネルギー(機器技術)と薬剤技術を組み合わせることにより、比較的人体の深部にある臓器(肺、消化器)等のがんを対象としたDDS型治療システムの開発を行う。

②技術目標及び達成時期

光線力学治療システムの前臨床試験の開始及び治療効果・安全性の検証と、超音波診断・治療システムの前臨床試験を可能とする薬剤及び装置の完成に関する開発を難治性がんの治療に向けて行う。

③研究開発期間

2006年度～2009年度

(3)インテリジェント手術機器研究開発プロジェクト(運営費交付金)

①概要

手術中ががん細胞等の病巣部の位置や動きを正確に診断しながら、必要最小限の切除で確実かつ安全に治療できる診断と治療が一体となった内視鏡手術支援システムの開発を行う。

②技術目標及び達成時期

・主要部位対象機器研究開発

脳神経外科領域、胸部外科領域、及び消化器外科領域を対象に、基盤技術を確立し、それらの技術を融合化して、製品化・実用化の目処をつける。非臨床試験を実施し、その有効性と安全性を確認する試験結果を得ることを目標とする。

・研究連携型機器開発

子宮内で行われる出生前治療を行うための新しい手術システム・機器を開発する。非臨床試験を実施し、その有効性と安全性を確認する試験結果を得ることを目標とする。

③研究開発期間

2007年度～2011年度(研究連携型機器開発は、2007年度～2009年度)

(4)基礎研究から臨床研究への橋渡し促進技術開発(運営費交付金)【再掲】

II-2. 再生医療の実用化

(1)再生医療評価研究開発事業(運営費交付金)

i)評価技術の開発

①概要

ヒトから細胞を採取し、これを体外で培養、必要に応じて組織に分化させ、これを患者に移植・治療する再生医療の国内での早期実用化、産業化を目指し、患者自身の細胞の採取・培養から組織形成・治療までの評価プロセス及び基準を開発、体系化する。

②技術目標及び達成時期

2009年度までに、再生医療の早期実用化、産業化のための、細胞培養評価法の開発、組織形成評価法の開発、実用化レベルでの評価基準の確立を行う。

③研究開発期間

2005年度～2009年度

ii)心筋再生治療研究開発プロジェクト

①概要

心筋再生治療の早期実用化を目指すために、厚い心筋組織で構築された内部に酸素や栄養を供給できるような血管網を有するバイオ心筋の作成技術を開発する。

②技術目標及び達成時期

2009年度までに厚さが5mm以上、酸素、栄養を供給できる血管網を有した心筋組織を開発する。

③研究開発期間

2006年度～2009年度

iii)三次元複合臓器構造体研究開発プロジェクト

①概要

生体適合性等を備えた三次元複合臓器構造体を開発し、従来のティッシュエンジニアリング技術では適用できない臓器の再生を可能にするため、大型化、三次元構造化、自己組織化及び計測評価法の確立のための技術基盤の開発を行う。

②技術目標及び達成時期

2009年度までに従来のティッシュエンジニアリング技術による単層構造に比べて再生組織の厚さが10倍以上及び構造体積は100倍以上、含有組織は従来の単一組織から3種類以上の複合組織化技術を開発する。

③研究開発期間

2006年度～2009年度

(2)基礎研究から臨床研究への橋渡し促進技術開発(運営費交付金)【再掲】

Ⅱ-3. 福祉機器の開発

(1)福祉用具実用化開発推進事業(運営費交付金)

①概要

「福祉用具の研究開発及び普及の促進に関する法律」(福祉用具法)に基づき、高齢者・心身障害者及び介護者の生活の質の向上を目的として、生活支援分野、社会活動支援分野を中心とした福祉用具の実用化開発を行う民間企業等に対し、研究開発費用の2/3以内を補助することで、多様な福祉ニーズに対応するとともに、当該分野における新産業の創出、成長の促進に資する。

②技術目標及び達成時期

高齢者、障害者の生活支援、社会参加支援に資する福祉用具の実用化開発を促進することにより、高齢者等の生活における負担の軽減を図り、安全で安心のできる生活を実現する。より具体的な目標として、各々の補助対象事業終了後3年経過した時点で50パーセント以上を製品化する。

③研究開発期間

1993年度～

Ⅱ-4. 診断・治療機器、再生医療等に係る基盤整備

(1)医療機器開発ガイドライン策定事業

①概要

医療機器産業への投資、新規企業参入、医療機器研究開発の促進及び薬事法審査の円滑化・迅速化にも資する「医療機器開発ガイドライン」を厚生労働省との連携の下、産学の協力を得て、個別の医療機器ごとに策定し、国内での機器開発促進の環境整備を図るとともに、医療機器メーカーと材料・部品メーカーの適切なリスク分担を可能とするモデル契約の策定やリスクマネジメント手法の開発等について検討を行う。

②技術目標及び達成時期

2010年度までに、今後実用化が期待される先進的な医療機器(7機種程度)について、工学的安定性や生物学的安定性等に関する詳細な評価基準を策定し、開発ガイドラインとして取りまとめる。また、治療機器への部材供給活性化のための調査研究を行い、医療機器開発に反映させることで、ハイリスクな医療機器に対する材料・部品の提供を活性化し、医療機器産業の活性化に資するものとする。

③研究開発期間

2008年度～2010年度

(2)福祉機器情報収集・分析・提供事業

①概要

福祉用具法に基づき、民間による福祉機器の実用化のための研究開発を促進するため、福祉機器に関する産業技術に係る情報の収集・分析・提供事業を実施することで、当該分野における福祉機器の普及や新規産業の創出・成長の促進を図る。

②技術目標及び達成時期

各年において福祉機器に係るニーズ等の調査の実施及び福祉用具実用化推進事業で開発された福祉機器の各種展示会等への出展による情報収集・分析・情報の提供を実施する。

③研究開発期間

1993年度～

5. 政策目標の実現に向けた環境整備(成果の実用化、導入普及に向けた取組)

○バイオテクノロジーに係る研究開発・産業化関連

[調査研究]

1) バイオインダストリー安全対策調査(2000～2009年度)

バイオテクノロジーの安全性を確保するため、これまで得られている知見を基に、安全性関連データベースの整備、安全性評価手法の高度化に必要な事項の検討及びガイドラインの作成を行う。

2) バイオ事業化に伴う生命倫理問題等に関する研究(2002～2011年度)

バイオテクノロジーの実用化に際して、新たな技術に対する国民の理解と合意を得るため、新たな技術の産業化に伴って発生する、我が国の社会における様々な問題を、文献の収集、国内外の調査等を行うことにより研究する。さらに、バイオテクノロジーに対する理解を深めるための情報発信等、社会的受容(public acceptance)を高めるための活動を支援する。

[標準化]

・各プロジェクトで得られた成果のうち、標準化すべきものについては、適切な標準化活動(国際規格(ISO/IEC)、日本工業規格(JIS)、その他国際的に認知された標準の提案等)を実施する。具体的には、統合データベースの情報やインターネットに公開されている情報資源等を相互運用するために、必要なデータ形式、フォーマット等の標準化を推進する。

[導入普及促進]

・個人遺伝情報保護ガイドラインの適切な運用

ゲノム研究の進展は、個人遺伝情報を用い、情報技術を駆使した幅広い医療・健康サービスによる人々の健康や福祉の向上、さらには新しい医療・健康サービス産業の育成に重要な役割を果たそうとしているが、その際、人権を尊重し、社会の理解と協力を得て、個人遺伝情報の厳格な管理の下で適正に事業を実施することが不可欠である。そのため、個

人遺伝情報を安全に保護するために作成した事業者が遵守すべきルール「経済産業分野のうち個人遺伝情報を用いた事業分野における個人情報保護ガイドライン(2004年12月17日告示)」「(個人遺伝情報保護ガイドラインという)を適切に運用する。

[産業間連携]

・研究開発型ベンチャー支援

バイオベンチャーは商品を市場に送り出すまでに長期間を要する、研究開発のために多額の資金調達を必要とする、事業を行うために様々な規制・審査を経る必要がある等、他業種のベンチャー企業と比較して困難な問題を抱えていることが多い。そのため、バイオベンチャーの様々な問題に対して施策への反映を検討し、補助金等の施策の紹介を通じてバイオベンチャー振興を図る。

また、「産業クラスター計画」に基づき、全国のバイオクラスターにおいて、企業間のネットワーク形成の支援、産学連携による研究開発プロジェクトの支援、地域系ベンチャーファンドによる資金調達支援等を実施していく。

・基礎研究から臨床研究への橋渡し促進技術開発(運営費交付金)【再掲】

[プロジェクト等間の連携について]

・ゲノム創薬加速化支援バイオ基盤技術開発(化合物等を活用した生物システム制御基盤技術開発)については、タンパク質機能解析・活用プロジェクトの成果を活用することで、超高速・高感度にタンパク質の相互作用を解析する技術を開発する。

・ゲノム創薬加速化支援バイオ基盤技術開発(創薬加速に向けたタンパク質構造解析基盤技術開発)については、「生体高分子立体構造情報解析」の成果を活用することで、膜タンパク質やその複合体の構造情報を取得する新たな技術等の開発に向けて、タンパク質の立体構造及びその構造変化や膜タンパク質複合体の構造情報等の解析及び構造情報を基にした高精度なシミュレーション技術を開発する。

・糖鎖機能活用技術開発については、糖鎖合成関連遺伝子ライブラリー構築、糖鎖エンジニアリングプロジェクトの成果を活用することで、糖鎖の機能を効率的に解析するための基盤技術を開発する。

・ゲノム創薬加速化支援バイオ基盤技術開発の「化合物等を活用した生物システム制御基盤技術開発」、「創薬加速に向けたタンパク質構造解析基盤技術開発」、「モデル細胞を用いた遺伝子機能等解析技術開発」については、必要に応じ、各々の成果を活用し、効率的、効果的な研究開発を図る。

[関係機関との連携]

・総合科学技術会議が推進する基本政策推進専門調査会 分野別推進総合PT ライフサイエンスPT及び科学技術連携施策(「生命科学の基礎・基盤」、「臨床研究・臨床への橋渡し研究」)の下、各プロジェクトについて、関係府省との適切な連携を図る。また、2007年1月に設置された「革新的創薬のための官民対話」の場を通じ、医薬品分野のイノベーションの創出と産業の国際競争力強化に係る諸施策の方向性に対する製薬業界、教育・研究機関、行政(文部科学省、厚生労働省、経済産業省)の認識の共有化を図る。

[その他]

・特許への取組

一段と激化する特許戦争の中、成果実用化・効率的な研究開発を推進するため、プロジェクト企画段階から、研究テーマ周辺の論文及び特許状況のサーベイ実施やプロジェクト実施段階における特許出願後の事業化構想等、特許に関する戦略的取組(プロパテントアプローチの導入)を実施する。

○医療福祉機器関連

[標準化]

高齢者等支援機器については、関係省庁との緊密な連携の下、標準化等の手法による実用化及び普及の方策を検討する。

[導入普及促進]

・福祉医療関連機器普及促進(財政投融资制度)(1992年度～2008年9月末)

医療・福祉関連機器の開発、生産、流通、販売等の関連する供給体制を強化するために必要となる設備に対し、長期かつ低金利な融資制度により支援を行い、さらなる製品の高品質化、低価格化を実現し、安定的な供給体制を確保する。

[関係機関との連携]

・医療の進歩・国民の健康に貢献する医療機器・用具の産業技術力向上及び国際競争力強化を目指し、研究開発から市場化までのすべてのプロセスにおけるマクロな戦略の検討と、医療機器の重要性について社会的認知の向上を実現するための仕組み及び個別プロジェクトの形成をはかることを使命とした「医療技術産業戦略コンソーシアム(METIS)」が平成13年に設立され、現在第3期に入っている。また、平成19年4月には「革新的医療機器の創出に向けた医療機器産業界との懇談会」が設置され、経済産業省、厚生労働省、文部科学省の3省が連携して取りまとめた「革新的医薬品・医療機器創出のための5か年戦略」を早期実行するための官民対話が推進されている。

[その他]

・薬事法審査の迅速化

医療機器の審査体制の強化による薬事法審査の迅速化の観点から、2004年から独立行政法人産業技術総合開発機構の工学系研究者を独立行政法人医薬品医療機器総合機構へ派遣したところである。

6. 研究開発の実施に当たっての留意事項

事業の全部又は一部について独立行政法人の運営費交付金により実施されるもの(事業名に(運営費交付金)と記載したものは、中期目標、中期計画等に基づき、運営費交付金の総額の範囲内で、当該独立行政法人の裁量によって実施されるものである。

なお、適切な時期に、実用化・市場化状況等について検証する。

7. 改訂履歴

(1) 平成12年12月28日付けがん・心疾患等対応高度医療機器プログラム制定。

(2) 平成14年2月26日付け健康維持・増進のためのバイオテクノロジー基盤研究プロ

グラム基本計画制定。

(3) 平成14年2月28日付け健康寿命延伸のための医療福祉機器高度化プログラム基本計画制定。がん・心疾患等対応高度医療機器プログラム(平成12・12・27工総第13号)は、廃止。

(4) 平成15年1月27日付け健康維持・増進のためのバイオテクノロジー基盤研究プログラム基本計画制定。健康維持・増進のためのバイオテクノロジー基盤研究プログラム基本計画(平成14・02・25産局第4号)は、廃止。

(5) 平成15年3月10日付け健康寿命延伸のための医療福祉機器高度化プログラム基本計画制定。健康寿命延伸のための医療福祉機器高度化プログラム基本計画(平成14・02・05産局第2号)は、廃止。

(6) 平成16年2月3日付け制定。健康維持・増進のためのバイオテクノロジー基盤研究プログラム基本計画(平成15・01・23産局第4号)及び健康寿命延伸のための医療福祉機器高度化プログラム基本計画(平成15・03・07産局第17号)は、本プログラム基本計画に統合することとし、廃止。

(7) 平成17年3月31日付け制定。健康安心プログラム基本計画(平成16・02・03産局第12号)は、廃止。

(8) 平成18年3月31日付け制定。健康安心プログラム基本計画(平成17・03・25産局第1号)は、廃止。

(9) 平成19年4月2日付け制定。健康安心プログラム基本計画(平成18・03・31産局第2号))は、廃止。

(10) 平成20年4月1日付け制定。健康安心プログラム基本計画(平成19・03・20産局第5号))は、廃止。_

・プロジェクト基本計画

P06042

(健康安心プログラム／次世代DDS型悪性腫瘍治療システムの研究開発事業)
「深部治療に対応した次世代DDS型治療システムの研究開発」基本計画

バイオテクノロジー・医療技術開発部

1. 研究開発の目的・目標・内容

研究開発の目的

本プロジェクトは、健康で安心して暮らせる社会を実現するため、高度医療機器や高齢者等の健康で積極的な社会参加を支援する機器等の開発、疾患関連遺伝子やタンパク質等の生体分子の機能・構造の解明に基づくテーラーメイド医療・予防医療・再生医療の実現に寄与する「健康安心プログラム」の一環として実施する。

悪性腫瘍（がん）は、現在、日本の死亡要因の第1位を占めており、死因全体の約30%にも達する。また、疾患の発生数も高齢化社会の進展とともに増加しつつある。近年、PET健診などに代表されるがん検診が行われているにも拘わらず、がんによる死亡数は増加してきているのが現状である。このようながんの治療法として、これまでに手術、放射線治療、化学療法、免疫治療などの集学的治療などが行われてきたが、がんを根治することはいまだできておらず、特に再発や転移をきたした場合の治療は困難であり、死にいたる症例も数多く見られる。一方、これらの治療法は長期間にわたって繰り返し実施されることが多いため、副作用が高頻度に発生し、適用可能な治療法はおのずと限定されてくる。また、治療による拘束やその副作用によって患者のQOL（Quality of Life）は著しく低下し、本人や家族の経済的損失は多大し、加えて国の医療コストを増大させている。

上記の従来型治療法では、薬剤が全身に行き渡るために生じる激しい副作用や、放射線被曝による正常細胞へのダメージ等が避けられないため、昨今の研究では、放射線等の使用を極力抑えつつ、薬剤等をがん細胞のみにピンポイントに届け、局所的に効かせる技術（ドラッグデリバリーシステム、以下、「DDS」と言う）の開発が行われてきつつある。

このため、独立行政法人新エネルギー・産業技術総合開発機構（以下、「NEDO技術開発機構」という。）は、QOLを低下させることなくがんを根治させるために、薬剤等をがん細胞のみにピンポイントに輸送し、光、超音波、磁場などの外部エネルギーを利用して、薬剤効果を局所的かつ高効率に発現させる技術の開発を行う。本プロジェクトは、体内における薬物の挙動（体内動態）を精密に制御し、選択的かつ望ましい濃度-時間パターンのもとに薬物を作用部位に送り込むことによって、薬物治療の最適化を実現することを目的とするドラッグデリバリーシステム（DDS）と人体の深部まで届く様々な外部エネルギーを組み合わせ、治療の効果及び効率を飛躍的に高める新たながん治療を可能とする「次世代DDS型悪性腫瘍治療システム」の開発を行うことを目的とする。

研究開発の目標

最終目標（平成 21 年度）

1) 革新的 DDS と光ファイバー技術を融合した光線力学治療（Photo-dynamic Therapy、以下、「PDT」と言う）システム

生体に安全な光エネルギーの照射によって優れた薬効を発現する光増感剤及びそれをがん細胞へ選択的に送達する DDS 製剤の開発、並びに生体内に低侵襲かつ効率的に光照射を行うことができる光ファイバー及び光照射装置の開発により、正常組織にダメージを与えることなく難治性がんを根治できる治療システムを開発する。膀胱がん・食道がん等の上皮系癌に対して前臨床試験を開始し、治療効果及び安全性が確実なものであることを確認する。なお、従来型光増感剤の 10 倍以上の腫瘍選択的な集積を実現し、さらに、従来型光増感剤の 1/10 の濃度、及び 1/10 の光エネルギー密度で従来型 PDT と同等以上の抗腫瘍効果を達成する。

2) 相変化ナノ液滴を用いる超音波診断・治療統合システム

マイクロバブルの液体前駆体（相変化ナノ液滴）をベースとした超音波診断・治療統合システムの薬剤の基本構造の確立と、表在部・腹部・泌尿器科領域などを対象とした腫瘍部位を想定して、この薬剤と組み合わせて用いる診断（造影）・治療の超音波照射装置の開発を行う。また、液晶性高分子或いはゼラチン誘導体等をシェルとして用いて、体内安定性が長く、音響化学活性物質を共存させた構造を持つ相変化ナノ液滴を開発し、超音波照射装置と組み合わせた治療システムを開発する。前臨床試験を開始するのに必要な薬剤構造及び装置プロトタイプを完成させることを目標とし、イヌなどの大動物での効果検証までを行い、前臨床試験を可能とする薬剤及び装置を完成させる。なお、診断装置としての分解能は 1 mm 以下とし、治療装置としてマウス或いはラットでの移植腫瘍の縮退効果（移植されたがんの体積を 30% 以下に減少）を達成する。

研究開発の内容

上記目標を達成するために、以下の研究開発項目について、別紙の研究開発計画に基づき研究開発を委託により実施する。

- 1) 革新的DDSと光ファイバー技術を融合したPDT（光線力学治療）システム
- 2) 相変化ナノ液滴を用いる超音波診断・治療統合システム

2. 研究開発の実施方式

(1) 研究開発の実施体制

本研究開発は、NEDO技術開発機構が、単独ないし複数の原則、本邦の企業、研究組合、公益法人等の研究機関（原則、国内に研究開発拠点を有していること。ただし、国外企業の特別な研究開発能力、研究施設等の活用あるいは国際標準獲得の観点からの国外企業との連携が必要な場合はこの限りではない。）から公募によって研究開発実施者を選定後、共同研究契約等を締結する研究体を構築し、委託して実施する。共同研究開発に参加する各研究開発グループの有する研究開発ポテンシャルの最大限の活用により効率的な研究開発の推進を図る観点から、研究体にはNEDO技術開発機構が委託先決定後に指名する研究開発責任者（プロジェクトリーダー）を置き、その下に研究者を可能な限り結集して効果的な研究開発を実施する。

(2) 研究開発の運営管理

研究開発全体の管理・執行に責任を有するNEDO技術開発機構は、経済産業省及び研究開発責任者と密接な関係を維持しつつ、プログラムの目的及び目標、並びに本研究開発の目的及び目標に照らして適切な運営管理を実施する。具体的には、必要に応じて、NEDO技術開発機構に設置する委員会及び技術検討会等、外部有識者の意見を運営管理に反映させる他、四半期に一回程度プロジェクトリーダー等を通じてプロジェクトの進捗について報告を受けること等を行う。

3. 研究開発の実施期間

本研究開発の期間は、平成19年度から平成21年度までの3年間とする。

4. 評価に関する事項

NEDO技術開発機構は、技術的及び政策的観点から、研究開発の意義、目標達成度、成果の技術的意義ならびに将来の産業への波及効果等について、外部有識者による研究開発の自主中間評価を平成20年度に、事後評価を平成22年度に実施する。なお、評価の時期については、当該研究開発に係る技術動向、政策動向や当該研究開発の進捗状況等に応じて、前倒しする等、適宜見直すものとする。

5. その他重要事項

(1) 研究開発成果の取扱い

①共通基盤技術の形成に資する成果の普及

得られた研究開発成果については、NEDO技術開発機構、実施者とも普及に努めるものとする。

②知的財産権の帰属

委託研究開発の成果に関わる知的財産権については、「独立行政法人新エネルギー・産業技術総合開発機構新エネルギー・産業技術業務方法書」第27条の規定等に基づき、原則として、すべて委託先に帰属させることとする。

③成果の産業化

a) 受託者は、本研究開発から得られる研究開発成果の産業面での着実な活用を図るため、本研究開発の終了後に実施すべき取り組みのあり方や研究開発成果の産業面での活用のビジネスモデルを立案するとともに、立案した取り組みのあり方とビジネスモデルについて、研究開発の進捗等を考慮して、本研究開発期間中に必要な見直しを行う。

b) 受託者は、上記 a) で立案した取り組みとビジネスモデルを本研究開発終了後、実行に移し、成果の産業面での活用に努めるものとする。

(2) 基本計画の変更

NEDO技術開発機構は、研究開発内容の妥当性を確保するため、社会・経済的状況、内外の研究開発動向、政策動向、プログラム基本計画の変更、第三者の視点からの評価結果、研究開発費の確保状況、当該研究開発の進捗状況等を総合的に勘案し、達成目標、実施期間、研究開発体制等、基本計画の見直しを弾力的に行うものとする。

(3) 根拠法

本プロジェクトは、独立行政法人新エネルギー・産業技術総合開発機構法第十五条第1項第2号に基づき実施する。

(4) その他

本プロジェクトで開発する医療機器の有用性は、その臨床効果に左右されるものであり、常に関連情報の収集を心掛け、必要に応じ、内容の見直しを行うものとする。

6. 基本計画の改訂履歴

(1) 平成19年3月、制定。

(2) 平成20年3月、軽微な修正による改訂。

(別紙) 研究開発計画

研究開発項目① 「革新的DDSと光ファイバー技術を融合したPDT（光線力学治療）システム」

1. 研究開発の必要性

PDT（光線力学療法）は、早期肺がんなどの低侵襲治療法として、現在、臨床応用されている。PDTの最大の問題は、光増感剤が皮膚に集積し、太陽光を浴びることにより惹起される光過敏症等の副作用であり、がん組織特異的に光増感剤をデリバリーするDDSの開発が強く望まれている。しかしながら、凝集性の高い光増感剤を薬剤キャリアに内包させることは必ずしも容易ではなく、光増感剤の高い活性を維持しつつがん細胞選択的に集積するDDSの開発が必要である。また、体内のがん組織に対するPDTを実現するためには、患部に対して低侵襲な照射を実現する一方で、標的組織に対して効率的に光照射を行う光ファイバー及び光照射装置の開発が必要である。膀胱がんなどの多発性かつ再発率の高いがんに対する有効なPDTを行うためには腫瘍選択的DDSと患部に効率的に光照射を行うことのできる照射システムを融合した治療システムを確立する必要がある。また、難治性がんの根絶のためには、本システムと化学療法剤内包DDSを併用し、お互いの治療効果を相乗的に高める治療法を開発する必要がある。

2. 研究開発の具体的内容

(1) 光増感剤を内包した腫瘍特異的DDS製剤の開発

組織浸透性に優れた長波長光による励起が可能な光増感剤を開発し、この光増感剤を内包して、a)血流中において高い安定性、b)高いステルス機能、c)がん細胞に対する高効率な標的性を持つDDSを開発する。

(2) 患部に対する効果的な光照射を可能にする照射システムの開発

生体に対して安全であり、細径(先端を含め最大径が1mm以下)かつ機械的強度が十分な光ファイバーを用いた、がん組織に対して均一な光を照射できる(照射むらのない)光照射装置を開発する。

(3) 難治性がんに対する光線力学療法の開発と化学療法及び免疫療法を融合した治療システムの開発

膀胱萎縮を惹起することなく、膀胱がんを根治できる治療システム及び食道がんなどその他の上皮系がんにも通用する汎用性の高いPDT（光線力学療法）を開発すると共に、制がん剤内包DDSによる化学療法とPDTを融合することにより、難治性がんの有効な治療を実現する。さらに、PDTと樹状細胞（DC；Dendritic Cell）の腫瘍内投与を併用し、細胞障害性T細胞（CTL；Cytotoxic T Lymphocyte）の誘導に基づく腫瘍特異的がん免疫治療も開発する。

3. 達成目標

①光増感剤をキャリアへ搭載後も、90%以上の一重項酸素産生効率を示す光増感剤を開発する。また、皮膚などの正常組織への集積を最小限にすることで皮膚毒性などの副作用を回避する一方で、従来型光増感剤の10倍以上の腫瘍選択的な集積を実現し、革新的治療効果を実現する。さらに、従来型光増感剤の1/10の濃度、及び1/10の光エネルギー密度で従来型PDTと同等以上の抗腫瘍効果を達成する。

②膀胱内腔全体を均質に照射することができ、粘膜面いずれの場所においても150 mW/cm²以上の照射強度を達成する。さらに、照射部位の熱凝固を回避し、照射組織面での温度上昇を30℃以内に抑えるファイバー先端の造作を実現する。

③膀胱萎縮を惹起することなく膀胱がんを根治できる治療システムを開発する。特に、膀胱がんモデルに対して、膀胱萎縮を10%以下に抑制し、光過敏症などの皮膚毒性を完全に回避する一方で、50%のマウスに対しがんを根治できるPDTを確立する。最終的に治療対象をその他の上皮系がんに応用し、前臨床試験を実施する。PDT及び化学療法単独では治療困難な腫瘍モデルに対して、両者の併用による有効な治療法を確立する。また、PDTとDCの腫瘍内投与によって、末梢及び肺転移モデルに対するPDTと免疫療法を融合した治療効果を確認する。

研究開発課題②「相変化ナノ液滴を用いる超音波診断・治療統合システム」

1. 研究開発の必要性

従来の超音波造影剤は、共振性に優れ造影能が高く、かつ、治療用増感剤としての機能も有するが、血管から腫瘍組織へ漏出することのできない「マイクロバブル系」と、血管から腫瘍組織へ漏出することが可能ではあるが、造影能がマイクロバブルに劣り、かつ治療用増感剤としての機能を有しない「ナノ微粒子系」に分けられる。腫瘍の選択的な診断・治療を行うためには、両者の長所を併せ持つ造影・増感剤が必要であるため、液-気相変化型のナノ液滴系造影・増感剤の開発が必要である。

本システムは、従来の超音波を用いた65℃以上のタンパク質凝固温度以上での加熱を数秒間行う加熱凝固治療に属するが、ナノ液滴が相変化した結果生成したマイクロバブルが存在する部位のみを選択的に加熱する新規な治療法である。相変化ナノ液滴を用いる診断・治療システムにおいては、ナノ液滴をエマルションの形態で用いており、従来は投与後1時間以内での短期型の処置が基本であった。これを腫瘍部位や状態の詳細な観察を行う或いは大きく成長してしまった腫瘍の治療を行う等の目的に適用するには、ナノ液滴を長時間体内で滞留できる造影前駆体の構造が必要となる。また、難治性のがんに対してより効果を上げていくためにはマイクロバブルの治療増感作用を活用して加熱凝固治療を行うと共に、キャビテーションにより抗腫瘍効果を発現する音響化学活性物質との共存で化学的作用を併用する集学的な治療法を開発する必要がある。

2. 研究開発の具体的内容

(1) 造影・増感作用を有するマイクロバブルの液体前駆体（相変化ナノ液滴）の開発

a)血管から腫瘍組織への漏出性、b)画像化の容易さ、c)治療用超音波の効果増強の3つの特長を併せ持ち、相変化によりマイクロバブルを生成できる相変化ナノ液滴型超音波造影・増感剤を開発する。

(2) 上記液体前駆体の活性化用超音波照射方法及び診断用プローブの開発

ナノ液滴を相変化させ、マイクロバブルを得るための活性化用の最適な超音波診断プローブを動物実験等の結果も考慮し開発する。

(3) 相変化ナノ液滴と診断用プローブを組み合わせる治療用照射装置の開発

相変化によりマイクロバブルを生じた後に、治療に適した超音波照射システムを開発する。

(4) 多機能化相変化ナノ液滴（長時間滞留、複メカニズムによる治療）の開発

高い体内安定性を持ち、加熱凝固治療以外に化学的作用により抗腫瘍効果を発現する音響化学活性物質を共存できる構造を持つ相変化ナノ液滴を開発する。

3. 達成目標

- ①体内で一時間程度の滞留性を確保しながら診断用超音波としての安全域内（安全基準に適合している事、Mechanical Index：1.9 以下、Thermal Index：1.0 以下）の条件で、相変化によるマイクロバブルを生成でき、かつ目的とする腫瘍内に 2×10^3 個/mm³以上集積可能とするナノ液滴を開発する。
- ②相変化ナノ液滴と組み合わせて用いる診断用超音波照射方法の開発及び高出力に対応した診断プローブを開発し、診断装置としての分解能は1 mm以下を達成する。（生体組織からの反射信号及びマイクロバブルからの反射信号の画像化用ではなく、ナノ液滴の相変化によるマイクロバブルを生成することができる事）
- ③相変化ナノ液滴と組み合わせて用いる、加熱凝固用超音波照射方法の開発及び診断プローブと診断装置と組み合わせて用いる治療装置を開発し、マウス或いはラットでの移植腫瘍の縮退効果（移植されたがんの体積を30%以下に減少）を達成する。（周波数：0.5 - 4.5 MHz，強度：300 W/cm² 以下）
- ④相変化ナノ液滴を2時間以上腫瘍内に滞留可能な安定化シェル及び音響化学作用による抗腫瘍効果を有するナノ液滴を開発し、小・中動物実験による治療効果及び安全性の検証を行う。
- ⑤高い体内安定性と標的性を持ち、超音波造影、加熱凝固治療および音響化学活性物質を共存できる構造を持つ多機能相変化ナノ液滴を開発する。（帝京大）

・事前評価関連資料(事前評価書、パブリックコメント募集の結果)NEDOポストより

事前評価書

		作成日	平成19年1月30日
1. 事業名称 (コード番号)	健康安心プログラム 次世代 DDS 型悪性腫瘍治療システムの研究開発プロジェクト		
2. 推進部署名	バイオテクノロジー・医療技術開発部		
3. 事業概要	<p>(1) 概要:我が国の死亡要因の第1位を占めているがんの発生部位には、体表面(皮膚等)と比較的人体の深部にある臓器(肺、膵臓)がある。従来の治療法(外科手術、化学的治療、放射線治療)におけるデメリット(薬剤が全身に行き渡るための激しい副作用、放射線被爆による正常細胞へのダメージ等)を解消するため、放射線等の使用を極力抑えつつ、薬剤等をがん細胞のみにピンポイントに届け、局所的に効かせる技術(DDS)の開発が行われている。本プロジェクトでは、人体の深部まで届く様々な外部エネルギーとDDSを組み合わせ、治療の効果及び効率を飛躍的に高めたがん治療を可能にする「次世代 DDS 型悪性腫瘍治療システム」の開発を行う。</p> <p>(2) 事業規模:総事業費(国費分) 12億円</p> <p>(3) 事業期間:平成18年度～21年度(4年間)</p>		
4. 評価の検討状況	<p>(1) 事業の位置付け・必要性</p> <p>従来型治療法では、薬剤が全身に行き渡るために生じる激しい副作用や、放射線被爆による正常細胞へのダメージ等が避けられないため、QOLを低下させることなくがんを根絶させるためには、薬剤等をがん細胞のみへピンポイントに輸送し、光、超音波、磁場などの外部エネルギーを利用して薬剤効果を局所的かつ高効率に発現させる技術が必要となってくる。</p> <p>体内における薬物の挙動(体内動態)を精密に制御し、選択的かつ望ましい濃度-時間パターンのもとに薬物を作用部位に送り込むことによって、薬物治療の最適化を実現することを目的とするDDSと、人体の深部まで届く様々な外部エネルギーとを組み合わせ、治療の効果及び効率を飛躍的に高めたがん治療を可能とする「次世代 DDS 型悪性腫瘍治療システム」が切望されている。</p> <p>また、本プロジェクトは「技術戦略マップ(平成18年4月経済産業省策定)においてライフサイエンス分野中、診断・治療機器分野の技術マップにおいて、「診断・治療一体化」のうち、「放射線以外の低侵襲標的治療」に位置付けられる。</p>		

<p>(2) 研究開発目標の妥当性</p> <p><目標></p> <p>a) 革新的DDSと光ファイバー技術を融合した光線力学治療システム 生体に安全な光エネルギーの照射によって、優れた薬効を発現する光増感剤とそれをガン細胞選択的に送達するDDS製剤の開発、並びに、生体内に低侵襲かつ効率的に光照射を行うことができる光ファイバー及び光照射装置を開発し、正常組織にダメージを与えることなく難治性ガンを根治できる治療システムを開発し、膀胱癌・食道癌等の上皮系癌に対して前臨床試験を開始し、治療効果および安全性を確実なものであることを確認する。</p> <p>b) 相変化ナノ液滴を用いる超音波診断・治療統合システム マイクロバブルの液体前駆体（相変化ナノ液滴）をベースとした相変化ナノ液滴を用いる超音波診断・治療統合システムの薬剤の基本構造の確立と、この薬剤と組み合わせて用いる診断（造影）用と治療用超音波の照射シーケンスの照射装置の開発を行う。また、リン脂質をシェルのベースとする相変化ナノ液滴は、ほぼ1時間以内に体内から排出されるが、診断・治療におけるオプションを増やすため、液晶性高分子あるいはゼラチン誘導体をシェルとして用いる、体内安定性の長い相変化ナノ液滴の構造についても検討を行う。さらに、加熱凝固以外の機序に基づく治療の可能性についても検討を加える。本研究開発において、前臨床試験を開始するのに必要な薬剤構造および装置プロトタイプを完成させることを目標としており、犬などの大動物での効果検証までを行い、前臨床試験を可能とする薬剤および装置を完成させる。</p> <p><妥当性> NEDO POST2 や H18年度の F/S での調査結果を踏まえ、優れた提案を採択し、目標値・妥当性について更なる検討を行う。</p>
<p>(3) 研究開発マネジメント</p> <p>公募を行い最適な研究開発体制を構築する。また、プロジェクトリーダーを選定し、プロジェクトリーダーと協議して研究管理を行う。また、研究開発委員会を年2～3回開催し、研究テーマ間の連携強化、進捗状況を踏まえた予算配分・事業計画の策定を行う。</p>
<p>(4) 研究開発成果</p> <p>a) 革新的DDSと光ファイバー技術を融合した光線力学治療システム 膀胱癌・食道癌等の上皮系癌に対して光線力学療法の治療システムを開発し、前臨床試験を開始し、治療効果および安全性を確実なものであることを確認する。</p> <p>b) 相変化ナノ液滴を用いる超音波診断・治療統合システム 表在部・腹部・泌尿器科領域などを対象とした腫瘍部位の診療を行う超音波による診断・治療統合システムを開発し、診断・治療に関する効果を大動物実験(犬など)等により検証し、前臨床試験を可能とする薬剤および装置を完成させる。</p>

<p>(5) 実用化・事業化の見通し</p> <p>次世代DDS型悪性腫瘍治療システムを前臨床試験を可能とする薬剤および装置を完成或いは前臨床試験を開始し、治療効果および安全性を確実なものであることを確認することにより、次世代型悪性腫瘍治療の早期臨床応用技術の実現を目指し、実用化・事業化の可能性は高いと予想される。</p>
<p>(6) その他特記事項</p>
<p>5. 総合評価</p> <p>従来の治療方法とは異なり、治療の効果及び効率を飛躍的に高めたガン治療を可能にする新しい治療法が確立され、患者が治療による拘束やその副作用から解放され Quality of Life(QOL)は著しく向上することが期待できる。それとともに、それを支える基盤医療産業が育成され、わが国の当該産業の国際競争力が増大し、国内産業の活性化にもつながることが期待できる。</p>

・特許論文リスト

[特許出願]

公開特許

1. 浅見玲衣、川畑健一 特開 2009-013081 診断又は治療用薬剤の調製方法及び装置 (公開 2009.01.22)
2. 川畑健一 特開 2009-122650 超音波照射装置 (公開 2009.10.18)
3. 浅見玲衣他 特開 2010-018692 超音波診断装置 (公開 2010.02.18)

出願特許

1. 丸山一雄 鈴木亮 平裕一郎、特願 2009-113878, リポソーム、リポソームの製造方法、及び医薬組成物、(出願 2009年5月8日)

登録特許

1. 杉田奈巳他、04369907 (国内)、7780598 (米国)、ZL200610099 (中国) 音響化学治療装置 (登録 2009/09/04)
2. 佐々木一昭他、04401354 (国内)、7699779 (米国)、超音波治療装置 (登録 2009/11/06)
3. 川畑健一 04279328 (国内) 超音波撮像システム (登録 2009/03/19)
4. 東隆他、1965224 (EP)、ZL200710188 (中国) 超音波撮像装置 (登録 2010/06/02)
5. 川畑健一他、ZL20061001(中国)、超音波診断治療装置 (登録 2008/12/31)

[論文]

1. Y. Li, W.-D. Jang, N. Nishiyama, A. Kishimura, S. Kawauchi, Y. Morimoto, S. Miake, T. Yamashita, M. Kikuchi, T. Aida, K. Kataoka, Dendrimer generation effects on photodynamic efficacy of dendrimer porphyrins and dendrimer-loaded supramolecular nanocarriers. *Chemistry of Materials*, 9 (23) 5557-5562 (2007)
2. W.-D. Jang, N. Nishiyama, K. Kataoka, Supramolecular assembly of photofunctional dendrimers for biomedical nano-devices. *Supramolecular Chemistry*, 19(4-5): 309-314 (2007)
3. N. Nishiyama, W.-D. Jang, K. Kataoka, Supramolecular nanocarriers integrated with dendrimers encapsulating photosensitizers for effective photodynamic therapy and photochemical gene delivery. *New Journal of Chemistry*, 31(7): 1074-1082 (2007)
4. W.-D. Jang, N. Nishiyama, K. Kataoka, Preparation of naphthalocyanine dendrimer loaded polyion complex micelle for photodynamic therapy. *Key Eng. Mater.* 342-343(Advanced Biomaterials VII): 465-468 (2007)
5. N. Nishiyama, Y. Nakagishi, Y. Morimoto, P.-S. Lai, K. Miyazaki, K. Urano, S. Horie, M. Kumagai, S. Fukushima, Y. Cheng, W.-D. Jang, M. Kikuchi, K. Kataoka, Enhanced photodynamic cancer treatment by supramolecular nanocarriers charged with dendrimer phthalocyanine. *J. Control. Release* 133 (3) 245-251 (2009) [Selected

as Cover Picture]

6. H. Cabral, M. Nakanishi, M. Kumagai, W.-D. Jang, N. Nishiyama, K. Kataoka, A photo-activated targeting chemotherapy using glutathione sensitive camptothecin-loaded polymeric micelles. *Pharm. Res.* 26 (1) 82-92 (2009)
7. N. Nishiyama, Y. Morimoto, W.-D. Jang, K. Kataoka, Design and development of dendrimer photosensitizer-incorporated polymeric micelles for enhanced photodynamic therapy. *Adv. Drug Deliv. Rev.*, in press
8. 三宅裕、立石昇一郎、脇田晃充、村原中、宮崎幸造、村岡未帆、西山伸宏、片岡一則、松尾洋孝、四ノ宮成祥、守本祐司, 生体投与された蛍光標識物質の血中・臓器内濃度の高感度測定システムの開発, *生体医工学* 47:610-617(2009)
9. Kawabata, K.-i.; Asami, R.; Azuma, T.; Yoshikawa, H.; Umemura, S.-i., Enhanced and Site-Specific HIFU Treatment with Phase-Change Nano Droplet., *Proc. IEEE Ultrasonics Symposium*, pp 5-8, 2007
10. R. Asami, H. Yoshikawa, T. Azuma and K. Kawabata, "Tumor Enhanced Imaging and Treatment with Targeted Phase-Change Nano Particles", *Proc. IEEE Ultrasonics Symp.* pp. 1973-1976, 2007.
11. T. Azuma, et al, "Heat Conductive Array Transducer for Phase-Conversion Molecular Imaging", *Proc 2007 IEEE Ultrasonics Symposium*, pp.836-9 (2007).
12. Asami, R.; Ikeda, T.; Azuma, T.; Yoshikawa, H.; Kawabata, K.-i., Measuring viscoelastic properties with in-situ ultrasonically induced microbubbles., *Proc. IEEE Ultrasonics Symposium*, pp 658-661, 2008
13. Kawabata, K.-i.; Asami, R.; Azuma, T.; Yoshikawa, H.; Umemura, S.-i., Cavitation assisted HIFU with phase-change nano droplet., *Proc. IEEE Ultrasonics Symposium*, pp 780-783, 2008
14. T. Azuma, S. Sonoda, K. Kawabata and S. Umemura, "High-Amplitude and Long-Burst Pulse Transmission Array Probe for Phase-Change Molecular Imaging", *Jpn. J. Appl. Phys.*, vol. 48, pp. 07GK09, 2009.
15. Kawabata, K., Asami, R., Azuma, T., Yoshikawa, H., Umemura, S., "Anti-tumor effects of cavitation induced with phase-change nano droplet and ultrasound", *Proc. IEEE Ultrasonics Symp.* pp. 208-211, 2009.
16. Asami, R., Azuma, T., Kawabata, K., Fluorocarbon droplets as next generation contrast agents - their behavior under 1-3 MHz ultrasound, *Proc. IEEE Ultrasonics Symp.* pp. 1294 - 1297, 2009.
17. K. Kawabata, R. Asami, H. Yoshikawa, T. Azuma and S. Umemura, "Sustaining Microbubbles Derived from Phase Change Nanodroplet by Low-Amplitude Ultrasound Exposure", *Jpn. J. Appl. Phys.*, vol. 49, pp. 07HF20, 2010
18. K. Kawabata, R. Asami, H. Yoshikawa, T. Azuma and S. Umemura, "Acoustic response

- of microbubbles derived from phase-change nano droplet” , Jpn. J. Appl. Phys., vol. 49, pp. 07HF18, 2010
19. Asami, R, Ikdeda, T, Azuma, T, Umemura, S and Kawabata, K, “Acoustic Signal Characterization of Phase Change Nanodroplets in Tissue-Mimicking Phantom Gels” , Jpn. J. Appl. Phys., vol. 49 pp. 07HF16, 2010.
 20. Yoshikawa, H., Azuma, T, and Kawabata, K., “Precise Vascular Visualization in Ultrasound Power Doppler Imaging with Motion Compensation” Jpn. J. Appl. Phys vol 49, pp. 07HF13, 2010
 21. Takagi, R., Yoshizawa. S, Umemura, S. “Enhancement of Localized Heating by Ultrasonically Induced Cavitation in High Intensity Focused Ultrasound Treatment” Jpn. J. Appl. Phys. Vol 49, pp. 07HF21, 2010
 22. Shishitani, T. Yoshizawa, S. Umemura, S. “Acoustic Impedance Evaluation of High-Intensity-Focused-Ultrasound exposed Chicken Breast Muscle using Ultrasonic Microscopy” , Jpn. J. Appl. Phys, Vol49, pp. 07HF04, 2010
 23. Masamichi Nishihara, Yoshihiko Murakami, Takashi Shinoda, Jun Yamamoto, Masayuki Yokoyama, Synthesis and Characterization of a Temperature-responsive Amphiphilic Block Copolymer Containing a Liquid Crystalline Unit, Chemistry Letters, 37(12) 1214-1215 (2008)
 24. Masamichi Nishihara, Kenji Imai, and Masayuki Yokoyama, Preparation of Perfluorocarbon/Fluoroalkyl Polymer Nanodroplets for Cancer-targeted Ultrasound Contrast Agents, Chemistry Letters, 38 (6), 556-557, (2009)
 25. Ryo Suzuki, Tomoko Takizawa, Yoichi Negishi, Kosuke Hagiwara, Naoki Utoguchi, Kaori Sawamura, Kumiko Tanaka, Eisuke Namai, Yusuke Oda, Toshihiko Nishioka, Yasuhiro Matsumura, Kazuo Maruyama, Tumor specific ultrasound enhanced gene transfer in vivo with novel liposomal bubbles, J. Control. Release, 125, 137-144, 2008.
 26. R. Suzuki, T. Takizawa, Y. Negishi, N. Utoguchi, K. Maruyama, Effective gene delivery with ultrasonic novel liposomal bubble destruction technology. Int. J. Pharm., 354, 49-55, 2008.
 27. Y. Oda, S. Otake, R. Suzuki, N. Nishiie, K. Hirata, Y. Taira, N. Utoguchi, Y. Negishi, K. Maruyama, Cancer immunotherapy utilized bubble liposomes and ultrasound as antigen delivery system, AIP Conf. Proc., 1215, 303-306, 2009
 28. R. Suzuki, Y. Oda, E. Namai, N. Nishiie, K. Hirata, Y. Taira, N. Utoguchi, Y. Negishi, K. Maruyama, Cancer gene therapy utilized ultrasound (US)-sensitive liposome as non-viral vector, AIP Conf. Proc., 1215, 127-130, 2009
 29. Ryo Suzuki, Yusuke Oda, Naoki Utoguchi, Eisuke Namai, Yuichiro Taira, Naoki Okada, Norimitsu Kadowaki, Tetsuya Kodama, Katsuro Tachibana, Kazuo Maruyama, A novel strategy utilizing ultrasound for antigen delivery in dendritic cell-based cancer

immunotherapy, J. Controlled Release. 133, 198-205, 2009.

[学会発表]

1. 西山伸宏, 熊谷康顕, 堀江壮太, Sarma Tridib, 程域, 張祐銅, 中岸義典, 守本祐司, 片岡一則, “固形がんの光力学治療のためのデンドリマーフタロシアニン内包高分子ミセルの開発”, 第29回日本バイオマテリアル学会大会, 千里ライフサイエンスセンター, 2007年11月27日(口頭)
2. Kozo Miyazaki, Hiroyuki Sato, Hiroshi Asanuma, Kyoko Urano, Nobuhiro Nishiyama, Kazunori Kataoka, Yoshinori Nakagishi, Makoto Kikuchi, Yuji Morimoto. “A novel photodynamic therapy for bladder cancer in an orthotopic rat model using a polymeric micelle encapsulating dendrimer-based phthalocyanine” 99th Annual Meeting 2008-American Association for Cancer Research (San Diego), April 12, 2008 (Poster)
3. 宮崎幸造, 浦野京子, 佐藤裕之, 四ノ宮成祥, 西山伸宏, 片岡一則, 守本祐司 “PDT 光照射におけるエコーガイドの新たな活用法” 第47回 日本生体医工学会大会, 神戸, 2008年5月8日(口頭)
4. 宮崎幸造, 守本祐司, 浦野京子, 熊谷康顕, 福島重人, 堀江壮太, 四ノ宮成祥, 西山伸宏, 片岡一則 “蛍光標識結合ナノミセル型光増感剤を用いたがん検知と光線力学療法の基礎的検討” 第47回日本生体医工学会大会, 神戸国際会議場, 2008年5月8日(口頭)
5. 浦野京子, 佐藤裕之, 浅沼 宏, 宮崎幸造, 西山伸宏, 片岡一則, 中岸義典, 菊池眞, 守本祐司 “ラット正所性膀胱がんに対する高分子ミセルデンドリマーフタロシアニンを用いた光線力学療法” 第47回日本生体医工学会大会, 神戸国際会議場, 2008年5月8日(口頭)
6. 熊谷康顕, 程或, 堀江壮太, 福島重人, 張祐銅, 西山伸宏, 片岡一則 “ジスルフィド架橋により安定化されたデンドリマー型光増感剤内包高分子ミセルの開発” 第57回高分子学会年次大会, パシフィコ横浜, 横浜市 2008年5月28日(口頭)
7. M. Kumagai, Y. Cheng, S. Horie, S. Fukushima, T.K. Sarma, W.-D. Jang, N. Nishiyama, K. Kataoka “Disulfide Core-Crosslinked Polymeric Micelles encapsulating Anionic Dendrimer Phthalocyanine for Photodynamic Therapy” 35th Annual Meeting & Exposition of the Controlled Release Society, July 12-16, 2008, New York, USA (Poster)
8. 熊谷康顕, 程或, 堀江壮太, 福島重人, 張祐銅, 西山伸宏, 片岡一則 “デンドリマー光増感剤内包高分子ミセルの架橋導入による光線力学効果向上” 第37回医用高分子シンポジウム, 東京医科歯科大学, 東京 2008年7月29日(口頭)
9. Nobuhiro Nishiyama, “Development of smart nanocarriers based on block copolymer

- assemblies” CNSI-CNBI Symposium on NanoBiotechnology, Iron Gate Memorial Hall, The University of Tokyo, September 9, 2008 (口頭)
10. 熊谷康顕, 堀江壮太, 福島重人, 程或, Stephanie Herlambang, 張祐銅, 西山伸宏, 片岡一則 “デンドリマー型光増感剤内包ジスルフィド架橋高分子ミセルの開発” 第57回高分子討論会, 大阪市立大学, 大阪市 2008年9月26日(口頭)
 11. 西山伸宏, 熊谷康顕, 堀江壮太, 福島重人, 宮崎幸造, 浦野京子, 張祐銅, Lai Ping-Shan, 守本祐司, 片岡一則 “空間構造を規制した超分子集合体の細胞内動態制御に基づく革新的光力学治療” 第57回高分子討論会, 大阪市立大学, 大阪市 2008年9月24日(口頭)
 12. 浦野京子, 熊谷康顕, 堀江壮太, 宮崎幸造, 福島重人, 西山伸宏, 片岡一則, 守本祐司 “ジスルフィド架橋により安定化されたデンドリマー型光増感剤内包高分子ミセルを用いた光線力学療法” 第29回日本レーザー医学会総会, 八王子, 2008年11月15日(口頭)
 13. 宮崎幸造, 守本祐司, 浦野京子, 福島重人, 熊谷康顕, 堀江壮太, 四ノ宮成祥, 西山伸宏, 片岡一則 “膀胱がんへのPDDとPDTに向けた新規蛍光色素付き光増感剤内包ミセルの開発” 第29回 日本レーザー医学会総会, 八王子, 2008年11月15日(口頭)
 14. 守本祐司, 宮崎幸造, 浦野京子, 西山伸宏, 熊谷康顕, 堀江壮太, 福島重人, 垣見和宏, 四ノ宮成祥, 片岡一則 “革新的DDSと光ファイバー技術を融合した 光線力学治療システムの研究開発” 第29回日本レーザー医学会総会, 八王子, 2008年11月15日(口頭)
 15. S. Horie, M. Kumagai, S. Fukushima, Y. Cheng, K. Miyazaki, K. Urano, W.-D. Jang, Y. Morimoto, N. Nishiyama, K. Kataoka, “Dendrimer phtalocyanine loaded polyion complex micelles with disulfide crosslinked cores for the enhanced photodynamic therapy effects”, 14th International Symposium on Recent Advances in Drug Delivery Systems, Salt Lake City, USA Feb 15-18, 2009 (Poster)
 16. K. Miyazaki, Y. Morimoto, M. Kumagai, S. Horie, S. Fukushima, K. Urano, N. Shinomiya, N. Nishiyama, K. Kataoka, “A novel DDS-based, fluorescence probe-equipped photosensitizer for photodynamic therapy and photodynamic diagnosis of bladder cancer”, 100th Annual Meeting of the American-Association-for-Cancer-Research, Denver, USA, April 18-22, 2009 (Poster)
 17. Y. Morimoto, K. Miyazaki, K. Urano, M. Kumagai, S. Horie, S. Fukushima, K. Matsumura, N. Shinomiya, N. Nishiyama, K. Kataoka, “Dendritic photosensitizer encapsulated in newly developed polymeric micelles designed for prolonged circulation”, 100th Annual Meeting of the American-Association-for-Cancer-Research, Denver, USA, April 18-22, 2009 (Poster)
 18. 宮崎 幸造, 浦野 京子, 熊谷 康顕, 堀江 壮太, 福島 重人, 四ノ宮 成祥, 西山 伸宏, 片岡 一則, 守本 祐司, “血中滞留性を向上させたデンドリマー型光増感

- 剤内包高分子ミセルの開発”，第48回日本生体医工学会大会，東京，2009年4月23日（口頭）
19. 宮崎 幸造，守本 祐司，浦野 京子，福島 重人，熊谷 康顕，堀江 壮太，四ノ宮 成祥，西山 伸宏，片岡 一則，“PDD と PDT に向けた新規蛍光色素付き光増感剤内包ミセルの開発と膀胱がん検出”，第48回日本生体医工学会大会，東京，2009年4月23日（口頭）
 20. N. Nishiyama, M. Kumagai, S. Horie, S. Fukushima, K. Miyazaki, K. Urano, Y. Morimoto, W.-D. Jang, K. Kataoka, “Development of Dendrimer Phthalocyanine-Loaded Polymeric Micelle for Detection and Treatment of Microcarcinoma”, 8th International Symposium on Frontiers in Biomedical Polymers, Mishima, Japan, May 20-23, 2009 (Oral)
 21. 熊谷康顕，堀江壮太，福島重人，Stephanie Herlambang, 張祐銅, 西山伸宏，片岡一則，“デンドリマーフタロシアニンとPEG-PLys のポリイオンコンプレックス形成における混合比の影響”，第58回高分子学会年次大会，神戸，2009年5月27日（ポスター発表）
 22. 堀江壮太，熊谷康顕，福島重人，宮崎幸造，浦野京子，張祐銅，守本祐司，西山伸宏，片岡一則，“内核にコレステロール基を導入したデンドリマーフタロシアニン内包ミセルの開発”，第25回日本DDS学会学術集会，東京，2009年7月3日（ポスター発表）
 23. 宮崎幸造，守本 祐司，堀江 壮太，熊谷 康顕，福島 重人，村岡 未帆，四ノ宮成祥，西山 伸宏，片岡 一則，“蛍光標識化高分子ミセルに内包されたデンドリマー型光増感剤を用いた光線力学的がん診断・治療”，第25回日本DDS学会学術集会，東京，2009年7月3日（ポスター発表）
 24. N. Nishiyama, Y. Morimoto, K. Miyazaki, K. Urano, S. Horie, M. Kumagai, S. Fukushima, W.-D. Jang, K. Kataoka, “Development of Dendrimer Phthalocyanine-Loaded Polymeric Micelle for Diagnosis and Treatment of Microcarcinoma”, 36th Annual Meeting & Exposition of the Controlled Release Society, July 18-22, 2009, Copenhagen, Denmark (Oral)
 25. 熊谷康顕，堀江壮太，Stephanie Herlambang, 福島重人，浦野京子，宮崎幸造，張祐銅，守本祐司，西山伸宏，片岡一則，“デンドリマーフタロシアニン内包高分子ミセルを用いた光線力学療法応用と光毒性メカニズム解析”，第38回医用高分子シンポジウム，東京，2009年7月27日（口頭発表）
 26. 熊谷康顕，Stephanie Herlambang, 堀江壮太，福島重人，守本祐司，張祐銅，西山伸宏，片岡一則，“光増感剤内包架橋ミセルを用いた光線力学療法の解析”，第58回高分子討論会，熊本，2009年9月16日（口頭発表）
 27. 福島重人，熊谷康顕，堀江壮太，Stephanie Herlambang, 張祐銅，西山伸宏，片岡一

- 則, “デンドリマーフタロシアニンとブロック共重合体からの種々の複合体形成”, 第58回高分子討論会, 熊本, 2009年9月16日 (口頭発表)
28. 宮崎幸造, 守本祐司, 熊谷康頭, 福島重人, 堀江壮太, 村岡未帆, 四ノ宮成祥, 西山伸宏, 片岡一則, “新規開発した均質照射型光ファイバーによるPDT 効果の向上”, 第30回日本レーザー医学会総会, 東京, 2009年12月2日 (口頭発表)
 29. K. Kawabata, R. Asami, T. Azuma, H. Yoshikawa and S. Umemura “Enhanced and Site-Specific HIFU Treatment with Phase-Change Nano Droplet”, IEEE Ultrasonics Symposium, ニューヨーク、米国、2007年10月28日
 30. R. Asami, H. Yoshikawa, T. Azuma and K. Kawabata, “Tumor Selective Imaging and treatment with Targeted Phase-Change Nano Particles”, IEEE Ultrasonics Symposium, ニューヨーク、米国、2007年10月28日
 31. T. Azuma, S. Sonoda, K. Kawabata and S. Umemura, “Heat Conductive Array Transducer for Phase-Conversion Molecular Imaging”, 2007 IEEE Ultrasonics Symposium, ニューヨーク、米国、2007年10月28日
 32. K. Kawabata, R. Asami, T. Azuma, H. Yoshikawa, and S. Umemura, “相変化ナノ微粒子を用いる選択的超音波造影技術”, 第9回国際造影超音波シンポジウム, 大阪、日本、2007年12月16日
 33. K. Kawabata, K. Sasaki, R. Asami, K. Hirata, T. Azuma, H. Yoshikawa, and S. Umemura, “うさぎ肝臓がんモデルを用いる相変化ナノ造影剤の生体効果検証”, 第81回学術集会, 神戸、日本
 34. R. Asami, T. Azuma, and K. Kawabata, “相変化ナノ液滴由来マイクロバブル生成量の定量化と制御”, 第81回学術集会, 神戸、日本
 35. K. Kawabata, K. Sasaki, R. Asami, K. Hirata, T. Azuma, H. Yoshikawa, and S. Umemura, “超音波と相変化ナノ液滴を用いる新規な診断・治療統合システムの技術開発”, 第47回日本生体医用工学会大会, 神戸、日本、2008年5月8日
 36. R. Asami and K. Kawabata, “Simultaneous Visualization of Multiple Probes with Ultrasound and Phase-Change Nano Droplets”, World Molecular Imaging Congress 2008, フランス
 37. R. Asami and K. Kawabata, “Impact of Surfactant Composition on Stability for Low Boiling Point Fluorocarbon-in-Water Emulsions”, 第11回国際リポソーム研究会議, 横浜、日本、2008年7月20日
 38. K. Kawabata, R. Asami, T. Azuma, H. Yoshikawa, and S. Umemura, “Preliminary Study on cavitation assisted HIFU effect with low frequency ultrasound and phase changeable nano droplet”, 2008 IEEE International Ultrasonics Symposium, 北京、中国、2008年11月2日
 39. R. Asami and K. Kawabata, “Multi-Functional Imaging with Phase Change Nano Droplets -Preliminary Study on Tissue Characterization with in-situ Inducible

- Microbubbles” , 2008 IEEE International Ultrasonics Symposium, 北京、中国、2008年11月2日
40. T. Azuma, S. Sonoda, K. Kawabata, and S. Umemura, “Thermal Breakdown Caused by High-Amplitude and Long-Burst Pulse Transmission for Phase-Conversion Molecular Imaging” , 2008 IEEE International Ultrasonics Symposium, 北京、中国、2008年11月2日
 41. K. Kawabata, R. Asami, T. Azuma, H. Yoshikawa, J. Shimizu, and S. Umemura, “相変化ナノ液滴共存下HIFU治療に関する基礎検討” , 超音波シンポジウムUSE2008, 仙台、日本、2008年11月11日
 42. R. Asami, T. Azuma and K. Kawabata, “Ultrasound Based Multi-Functional Imaging Using Size Dependent Characteristics of Phase Change Nano-Droplet” , 第29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, 仙台、日本、2008年11月11日
 43. T. Azuma, S. Sonoda, K. Kawabata, and S. Umemura, “High-Amplitude and Long-Burst Pulse Transmission Array Probe for Phase-Conversion Molecular Imaging” , 第29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, 仙台、日本、2008年11月11日
 44. R. Asami, T. Azuma, W. Khalil, K. Sasaki, K. Kawabata and S. Umemura, “相変化ナノ液滴の体内造影効果における粒子径の影響” , 日本超音波医学会 第82回学術集会, 東京、日本、2009年5月22日
 45. K. Kawabata, R. Asami, T. Azuma, and S. Umemura, “High intensity focused ultrasound (HIFU) therapy with nano droplets and microbubbles” , WFUMB 2009 WORLD CONGRESS, シドニー、オーストラリア、2009年8月30日
 46. K. Kawabata, R. Asami, T. Azuma and S. Umemura, “Anti-tumor effects of cavitation induced with phase-change nano droplet and ultrasound” , 2009 IEEE International Ultrasonics Symposium, ローマ、イタリア、2009年9月19日
 47. R. Asami, T. Azuma and K. Kawabata, “Fluorocarbon Droplets as HIFU-Therapy Enhancer - Their Behavior Under 1-3 MHz Ultrasound” , 2009 IEEE International Ultrasonics Symposium, ローマ、イタリア、2009年9月21日
 48. K. Kawabata, R. Asami, T. Azuma and S. Umemura, “相変化ナノ液滴を用いるキャビテーション生成” , 第30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、日本、2009年11月18日
 49. K. Kawabata, R. Asami, T. Azuma and S. Umemura, “相変化ナノ液滴より生成したマイクロバブルに関する考察” , 第30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、日本、2009年11月18日
 50. R. Asami, T. Ikeda, T. Azuma, S. Umemura and K. Kawabata, “Preliminary Study on Microscale Tissue Characterization with in situ Inducible Microbubbles” , 第30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、日本、2009年11

月 18 日

51. K. Kawabata, R. Asami, H. Yoshikawa, T. Azuma, and S. Umemura, “マイクロバブルの生体内 in situ 生成およびその医用応用”, 第 2 回超音波とマイクロバブルの相互作用に関するシンポジウム, 東京、日本、2009 年 12 月 18 日
52. K. Kawabata, R. Asami, H. Yoshikawa, T. Azuma, and S. Umemura, “ナノ液滴と超音波とを用いる新規診断・治療技術”, NEDO 特別講座, 東京、日本、2009 年 12 月 22 日
53. K. Kawabata, R. Asami, H. Yoshikawa, T. Azuma, and S. Umemura, “相変化ナノ液滴を核とするキャビテーション作用を用いたがん治療”, 日本超音波医学会第 83 回学術集会, 京都、日本、2010 年 5 月 29 日
54. R. Asami, W. Khalil, K. Sasaki, K. Kawabata and S. Umemura, “サブミクロン粒径の気泡化造影剤 腫瘍組織到達性の評価”, 日本超音波医学会第 83 回学術集会, 京都、日本、2010 年 5 月 29 日
55. K. Kawabata, R. Asami, H. Yoshikawa, T. Azuma, and S. Umemura, “Tumor treatment with acoustically activated phase change nano droplet”, 10th International Symposium on Therapeutic Ultrasound, 東京、日本、2010 年 6 月 9 日
56. R. Asami, T. Azuma, W. Khalil, K. Sasaki and K. Kawabata, “Size Dependent Characteristics of Submicron Fluorocarbon Droplets for HIFU Therapy of Tumor”, 10th International Symposium on Therapeutic Ultrasound, 東京、日本、2010 年 6 月 9 日
57. 西原正通、村上義彦、横山昌幸, Synthesis of novel liquid crystalline block copolymer for effective encapsulation of drugs, The 34th Annual Meeting and Exposition of the Controlled Release Society アメリカ・ロングビーチ, 2007 年 7 月、
58. 西原正通、村上義彦、横山昌幸, 薬物封入効率向上を志向した新規液晶性ブロックコポリマーの合成, 第 36 回医用高分子シンポジウム, 東京, 2007 年 7 月
59. 西原正通、村上義彦、横山昌幸、山本潤, 薬物封入効率の向上を目指した新規液晶性ブロックコポリマーの合成と薬物封入効率の評価, 神奈川県ものづくり技術交流会, 神奈川県, 2007 年 10 月
60. 西原正通、村上義彦、篠田貴志、山本潤、横山昌幸, 刺激応答性高分子ミセルのための多機能型両親媒性ブロックコポリマーの合成と評価, 第 24 回日本 DDS 学会学術集会, 東京, 2008 年 6 月
61. 西原正通、村上義彦、篠田貴志、山本潤、横山昌幸, 温度及び光応答性を有した高分子ミセルの作製と評価, 第 57 回高分子討論会, 大阪, 2008 年 9 月
62. K. Maruyama, Gene delivery by “bubble liposome” and ultrasound, 第 13 回日本遺伝子治療学会、愛知がんセンター、2007 年 6 月 28 日。
63. 丸山一雄、外部エネルギーと DDS の組合せによる次世代癌治療システム、第 47 回日本生体医工学会 NEDO ワークショップ、神戸国際会議場 (神戸)、2008 年 5 月 8-10 日
64. 丸山一雄・鈴木亮、小田雄介、宇都口直樹、リポソーム型微小気泡 (バブルリポソーム) の開発とドラッグデリバリーシステムへの応用、第 1 回超音波とマイクロバブルの相互

- 作用に関するシンポジウム、名古屋駅前イノベーションハブ（名古屋）、2009年1月9日
65. 光嶋里茶、鈴木 亮、小田雄介、西家功人、宇都口直樹、根岸洋一、中川晋作、丸山一雄、バブルリポソームを用いた超音波遺伝子導入によるがん遺伝子治療法の構築 遺伝子・デリバリー研究会 第9回シンポジウム（大阪） 2009年7月9-11日

[招待講演]

1. Nobuhiro Nishiyama, Kazunori Kataoka, "Development of smart nanocarriers for targeting therapy", 2007 International Symposium on Nano-Bioscience, Kyung Hee University, Seoul, Korea, August 20, 2007 (Invited Lecture)
2. Nobuhiro Nishiyama, Ping-Shan Lai, Michiaki Kumagai, Souta Horie, Woo-Dong Jang, Yuji Morimoto, Kazunori Kataoka, "Development of Dendrimer phthalocyanine-incorporated micelles for photodynamic therapy", 1st Asian Biomaterials Congress, Tsukuba, December 7, 2007 (Invited Lecture)
3. 西山伸宏, 片岡一則, "光応答型DDSを治療した革新的治療法の開発", レーザー学会第28回年次大会, 名古屋国際会議場, 2008年1月31日(招待講演)
4. Nobuhiro Nishiyama, Kazunori Kataoka, "Design of functional drug delivery system based on polymer assemblies" 10th European Symposium on Controlled Drug Delivery (ESCDD), Noordwijk an Zee, The Netherlands, April 2, 2008 (Invited Lecture)
5. 守本祐司 "Endoscopic Photodynamic Therapy" 第47回 日本生体医工学会大会, 神戸国際会議場, 2008年5月8日 (シンポジスト)
6. 西山伸宏 "革新的DDSと光ファイバー技術を融合した光線力学治療システムの技術開発" 第47回日本生体医工学会大会 NEDOワークショップ「次世代DDS型治療システムへの期待と課題」, 神戸国際会議場 2008年5月8日 (依頼講演)
7. Nobuhiro Nishiyama, "Development of smart nanocarriers based on block copolymer assemblies" CNSI-CNBI Symposium on NanoBiotechnology, Iron Gate Memorial Hall, The University of Tokyo, September 9, 2008 (Invited Lecture)
8. 西山伸宏 "光を利用したドラッグデリバリーシステムの開発" 第29回 日本レーザー医学会総会, 八王子, 2008年11月15日 (依頼講演)
9. 西山伸宏, "光線力学治療のためのデンドリマー型光増感剤内包高分子ミセルの開発", 光・量子デバイス研究会, 理化学研究所 鈴木梅太郎ホール, 和光市 2009年2月14日(依頼講演)
10. 守本祐司, 西山伸宏, 三池神也, "極細内視鏡による蛍光イメージング", 第48回日本生体医工学会大会, 東京, 2009年4月23日 (シンポジスト)
11. 西山伸宏, "高分子集合体を基盤とした診断-治療一体型DDS", 第3回NEDO特別講座シン

- ポジウム「次世代DDSが切り拓く未来医療」, 東京女子医科大学 弥生講堂, 東京2009年12月12日(特別講義)
12. K. Kawabata 10-th International Symposium on Ultrasound Contrast Imaging, “Nano particle based diagnostic and therapeutic system for tumor treatment, 新宿、2008. 12. 14
 13. S. Umemura, “Therapeutic use of microbubbles and their precursors”, 2009 Ultrasonics Symposium, 2009, 9.23
 14. K. Kawabata, “マイクロバブルの生体内 in situ 生成およびその医用応用”, 第2回超音波とマイクロバブルの相互作用に関するシンポジウム, 東京、日本、2009年12月18日
 15. K. Kawabata, “ナノ液滴と超音波とを用いる新規診断・治療技術”, NEDO 特別講座, 東京、日本、2009年12月22日
 16. K. Kawabata, “Phase change nanodroplet for sensitizer for thermal and cavitation effects of ultrasound”, NOISE-Con 2010, アメリカ、2010年4月23日
 17. Umemura, “Detection of transient microbubbles to enhance therapeutic ultrasound treatment”, 2010 ISTU, 東京 2010.06.09
 18. 丸山一雄 診断と治療を可能にするバブルリポソームの開発 日本バイオマテリアル学会シンポジウム2008 (東京) 2008年11月17日
 19. Kazuo Maruyama, Antigen delivery by combination of bubble liposomes and ultrasound for dendritic cell-based cancer immunotherapy, 2009 International Symposium of the Intelligent Drug Delivery System (Seoul, Korea) 2009年4月29-30日
 20. 丸山一雄、バブルリポソームによるがん治療、 第35回コントラストエコー研究会 (大阪) 2009年8月1日

[受賞実績]

1. 西山伸宏 平成21年7月 日本DDS学会 第一回日本DDS学会奨励賞(基礎)
2. 宮崎幸造 平成21年12月 第30回日本レーザー医学会 総会賞
3. 浅見玲衣、第28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 奨励賞 2008. 11. 11
4. 梅村晋一郎、2010 International Symposium on Therapeutic Ultrasound Fry award 2010.06.12
5. K. Maruyama, Outstanding Research Award in 14th International Symposium on Recent Advances in Drug Delivery Systems, February 18, 2009
6. 丸山一雄、日本DDS学会 第1回水島賞 受賞 平成20年6月

[新聞・雑誌等への掲載]

1. 2007年7月2日 日本経済新聞

“がんの「光線力学療法」-光増感剤内包し効果向上 投与量 1/8 副作用も少なく-”

2. 2009年5月10日 日本経済新聞

「がん患部直接たたけ 熱や光で薬放出 超音波で死滅も」

3. 2010年3月13日 日本経済新聞（技術ウオッチ欄）

「超音波当てがん治療 日立、薬剤併用し効率高く」

4. 2010年7月5日 日本経済新聞

「ニッポンの医療機器成長産業への壁（下）医工連携、遅ればん回」