

## F. 健康危険情報

特になし

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

1) Sakai K, Umezawa S, Tamura M, Takamatsu Y, Tsuchiya K, Torigoe K, Ohkubo T, Yoshimura T, Esumi K, Sakai H, Abe M. Adsorption and micellization behavior of novel gluconamide-type gemini surfactants. *J. Colloid Interface Sci.*, 318, 440-448, 2008.

2) Abe M, Nakayama A, Kondo T, Morishita H, Tsuchiya K, Utsumi S, Ohkubo T, Sakai H. Preparation of tiny biodegradable capsules using electrocapillary emulsification. *J. Microencapsulation*, 24, 777-786, 2007.

3) Tsuchiya K, Ishikake J, Kim, T. S., Ohkubo T, Sakai H, Abe M. Phase behavior of mixed solution of a glycerin-modified cationic surfactant and an anionic surfactant. *J. Colloid Interface Sci.*, 312, 139-145, 2007

4) Abe M, Tsubone K, Koike T, Tsuchiya K, Ohkubo T, Sakai H. Polymerizable Cationic Gemini Surfactant. *Langmuir*, 22, 8293-8297, 2006

### 2. 学会発表

1) “Synthesis and Properties of a Novel Surfactant Modified with Cycloamylose”

Paveena Wongtrakul, Ichige H, Oyaizu K, Yuasa M, Ohkubo T, Sakai H, Abe M.

第 58 回コロイドおよび界面化学討論会  
平成 17 年 9 月 10 日、栃木

2) “新規重合性ジェミニ型陰イオン界面活性剤の合成と水溶液物性”

坪根和幸、和田みゆ紀、土屋好司、大久保貴広、

酒井秀樹、阿部正彦

日本化学会第 86 春季年会  
平成 18 年 3 月 28 日、千葉

3) “Synthesis and Properties of a Novel Surfactant Modified with Cycloamylose”

Paveena Wongtrakul, Ichige H, Oyaizu K, Yuasa M, Ohkubo T, Sakai H, Abe M.

第 45 回日本油化学会年会  
平成 18 年 9 月 8 日、千葉

4) “新規重合性ジェミニ型界面活性剤の合成と物性”

小池隆明、坪根和幸、土屋好司、大久保貴広、酒井秀樹、阿部正彦

第 45 回日本油化学会年会  
平成 18 年 9 月 8 日、千葉

5) “新規重合性ジェミニ型陰イオン界面活性剤の合成と水溶液物性”

和田みゆ紀、坪根和幸、土屋好司、大久保貴広、酒井秀樹、阿部正彦

第 45 回日本油化学会年会  
平成 18 年 9 月 8 日、千葉

6) “新規重合性ジェミニ型陰イオン界面活性剤の合成および水溶液物性”

岩田直之、坪根和幸、土屋好司、大久保貴広、酒井秀樹、阿部正彦

第 45 回日本油化学会年会  
平成 18 年 9 月 8 日、千葉

7) “新規重合性ジェミニ型陽イオン界面活性剤の合成とその物性”

小池隆明、坪根和幸、土屋好司、大久保貴広、酒井秀樹、阿部正彦

2006 年度材料技術研究協会討論会  
平成 18 年 12 月 2 日、千葉

8) “Preparation of micro/nano bubbles for ultrasound contrast agents”

Tsuchiya K, Fujiwara K, Konno T, Itani K, Ito T,

Matsuura T, Ohkawa K, Tsubone K, Sakai H,  
Abe M.

American Chemical Society (ACS) 234th National  
Meeting & Exposition,

Aug. 21, 2007 (Boston, USA)

9) “超音波診断用微小気泡の調製と物性”

藤原和慶、土屋好司、今野剛人、射谷和徳、  
伊藤貴司、松浦知和、大川清、坪根和幸、  
酒井秀樹、阿部正彦

第46回日本油化学会年会

平成19年9月6日、京都

10) “シクロアミロース修飾界面活性剤の合成と  
その界面物性”

吉津祐美、Wongtrakul Paveena、三瓶春代、  
寺田喜信、鷹羽武史、土屋好司、酒井健一、  
酒井秀樹、阿部正彦

第46回日本油化学会年会

平成19年9月6日、京都

11) “超音波診断用造影剤として利用可能な  
微小気泡の開発”

土屋好司、藤原和慶、今野剛人、射谷和徳、  
伊藤貴司、松浦知和、大川清、坪根和幸、  
酒井秀樹、阿部正彦

色材協会創立80周年記念会議

平成19年9月14日、東京

12) “新規重合性ジェミニ型陰イオン界面  
活性剤の気液界面での“ダブル”ボラ型吸着  
挙動”

和田みゆ紀、坪根和幸、土屋好司、酒井健一、  
酒井秀樹、阿部正彦

第46回日本油化学会年会

平成19年9月6日、京都

13) “重合性ジェミニ型陰イオン界面活性剤の  
合成と水溶液物性”

和田みゆ紀、坪根和幸、土屋好司、大久保貴広、  
酒井秀樹、阿部正彦

色材協会創立80周年記念会議

平成19年9月13日、東京

14) “超音波診断用造影剤の開発に向けた  
マイクロナノバブルの調製”

土屋好司、藤原和慶、今野剛人、射谷和徳、  
伊藤貴司、松浦知和、大川清、坪根和幸、  
酒井秀樹、阿部正彦

第60回コロイドおよび界面化学討論会

平成19年9月20日、長野

15) “超音波診断用造影剤への応用を目指した  
マイクロ/ナノバブルの調製”

土屋好司、阿部正彦

平成19年11月30日、千葉

16) “重合性ジェミニ型陰イオン界面活性剤の  
合成と水溶液物性”

和田みゆ紀、坪根和幸、土屋好司、酒井健一、  
酒井秀樹、阿部正彦

平成19年12月1日、千葉

## H. 知的財産権の出願・登録状況

### 1. 特許取得

1) 発明の名称：重合性2鎖2親水基含有陰  
イオン界面活性剤及びその製造方法

発明者：坪根和幸、阿部正彦、酒井秀樹、  
大久保貴広

出願人：坪根和幸(代表)、大川清、松浦知和、  
武林敬、阿部正彦、酒井秀樹

出願日：平成18年3月20日

特願：2006-112666

2) 発明の名称：疎水基を有する環状グルカン  
誘導体およびその製造方法

発明者：阿部正彦、湯浅真、市毛秀俊、鷹羽武史、  
寺田喜信

出願人：阿部正彦、湯浅真、鷹羽武史、寺田喜信

特願：2004-241570

分担研究報告書

10. 超音波分子イメージング装置に関する研究

研究者 伊藤貴司 アロカ(株)研究所 主幹研究員  
射谷和徳 アロカ(株)研究所 主任研究員  
赤羽睦弘 アロカ(株)研究所 研究員

研究要旨：超音波分子イメージング技術では、目的分子捕捉性、選択性に優れた分子プローブと、分子プローブを高感度・高解像度に映像化する画像化技術が両輪となる。本研究では、微小気泡、特に直径 $1\ \mu\text{m}$ 以下のナノバブルを、超音波によって高感度にイメージングするための要素技術を開発する。

平成17年度では、バブルの音響特性を測定するシステム、バブル振動に伴う非線形信号を解析するシミュレーター、RFB（ラジアル・フロー型3次元培養システム）を超音波で観察するシステム、の開発を進めた。

平成18年度では、単分散で直径 $1\ \mu\text{m}$ 以下のナノバブルの生成を目的としたバブル生成技術とパルス圧縮法を応用した高感度画像化技術の基礎検討を進めた。更に、RFB内のバブルを観察する実験を行った。

平成19年度では、ナノバブルを高感度に検出するためのアルゴリズムの検討を進めた。バブル振動のシミュレーション結果から、低周波数の超音波を利用することで、高次でかつ強い非線形信号が発生することが判明し、高次高調波を利用することで高感度化の見通しが得られた。更に、低周波超音波を送信するための振動子と、高次高調波エコー信号を受信するための振動子を独立させた探触子を設計し、バブルからの高次高調波エコーを画像化する実験装置を試作した。直径 $600\ \text{nm}$ のナノバブルにおいても第3次以上の高次高調波を検出することで、市販の超音波造影剤と同等の検出感度が得られることを検証した。また、慈恵大学や理科大との共同実験で、RFB内の3次元腫瘍モデルに、抗CD147抗体を標識したマイクロバブルを環流させる実験を行った。抗CD147抗体標識バブルは、市販の造影剤に比べ、腫瘍部分で強い造影エコーが観察された。

A. 研究目的

微小気泡(バブル)は、内包する気体が超音波を受けて大きく圧縮・膨張を起し、2次的に超音波を放射することで優れた造影効果を発揮する。微小気泡体を、癌の浸潤マーカーであるCD147を認識する分子をラベルすることで、悪性腫瘍に特異的に集積させることが可能となる。悪性腫瘍特異的に集積したバブルを超音波で高感度に映像化することで、早期に悪性腫瘍を診断する超音波分子イメージング技術を開発する。また、微小気泡のサイズが、市販の造影剤の数 $\mu\text{m}$ から数百 $\text{nm}$ に小さくなると、生体内の集積性・選択性が高まり、分子プローブとしての分子捕捉能の向上が期待される。更に、 $200\text{nm}$ 以下のサイズでは、EPR効果として知られるように血管壁を通過し、腫瘍組織自体のターゲティングが可能となる。一方、バブルを微小化すると、安定性の低下と検出感度の低下が懸念される。本研究では、生体適合性・安定性に優れた微小気泡、特にナノサイズの微小気泡を生成する技術及び高感度に映像化する技術を開発する。

B. 研究方法

① バブル音響特性の測定システムの構築

バブルに超音波を送信し、その受信エコーを解析することでバブルの音響特性を測定するシステムを構築する。

② バブル振動を解析するシミュレーターの作製  
バブル膜の振動を解析するシミュレーターを作製する。音圧・周波数・波数の異なる超音波信号を送信し、非線形振動特性に係わるバブルのパラメータを明らかにする。

③ 超音波観察用RFBの試作  
RFB及び細胞培養用担体を超音波の透過性に優れた樹脂に変更する。

④ ナノバブル生成技術の検討  
 $1\ \mu\text{m}$ 以下のバブルを高効率で発生させるために技術改良を行う。具体的には、多孔質ガラスを利用した方法を検討する。

⑤ パルス圧縮法を応用した画像化技術の検討  
バブル振動シミュレーターを用い、レーダー技術で利用されているパルス圧縮技術をバブル検出に応用した場合の感度と、解像度を検証する。

⑥ ナノバブル音響特性の測定  
ナノバブルとマイクロバブル(市販造影剤)の反射エコーを測定し、音響特性を比較する。

⑦ 高感度検出アルゴリズムの検討

実験結果とバブル膜の振動シミュレーターによる解析結果とを比較し、妥当性を検証する。シミュレーションを用いて、ナノバブルに各種条件の超音波を送信し、対組織信号比C T Rが最大となる送信方法と検出アルゴリズムを開発する。

⑧ 高次高調波を利用した画像化装置の試作

シミュレーションによる解析によって、低周波送信でバブルを大きく振動させ、その時発生する高次高調波を利用することで、高い検出感度が得られることが推察された。低い周波数で送信するための振動子と高次高調波を受信するための振動子を独立させた探触子を設計し、バブルからの高次高調波を画像化する実験装置を試作する。試作した実験装置を用いて、ナノ及びマイクロバブルの検出感度(対組織信号比)を測定し、従来技術と比較する。

C. 研究成果

① バブル音響特性の測定システムの構築

チェンバー内にバブルを環流し、音圧、周波数、波形等の異なる超音波をバブルに照射する。その時バブルから発生する放射エコーを受信し、パソコンにデータを記録する。受信データをFFT解析することで、バブル非線形特性などの音響特性が測定できることを確認した(図1)。

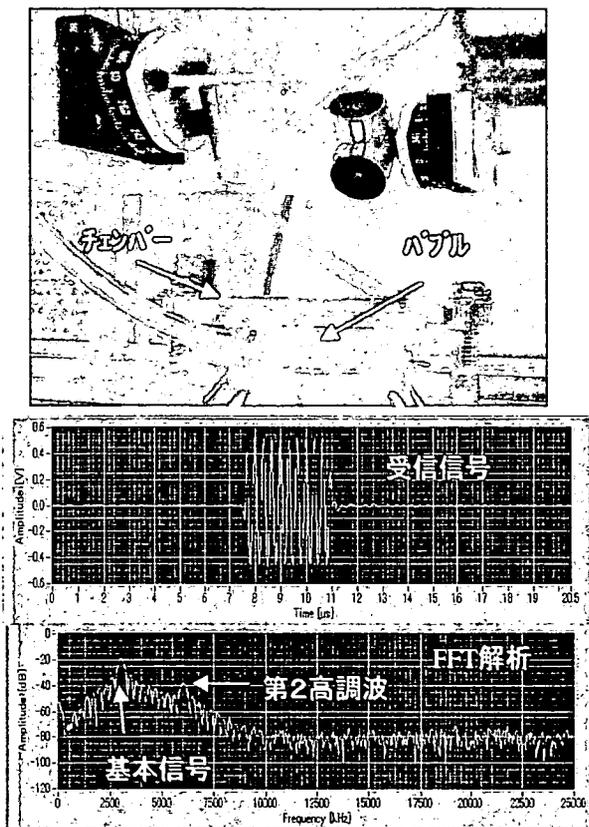


図1 バブル音響測定システム

上：実験システム

下：受信信号とFFT解析結果

② バブル振動を解析するシミュレーターの作製

バブル高感度画像化技術の開発には、超音波照射によるバブルの挙動を知る必要がある。バブルの挙動を解析するため、バブルのシェルの影響を考慮したバブル膜の運動方程式(微分方程式)の解を数値演算で求めるシミュレーターを作製した(図2)。

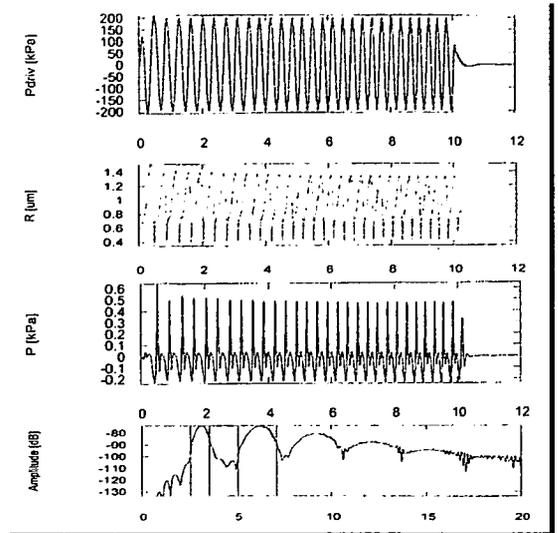


図2 シミュレーターの出力の1例

1 段目：入力信号 2 段目：バブル膜の振動波形  
3 段目：放射エコー信号 4 段目：FFT解析

③ 超音波観察用RFBの試作

RFB(ラジアル・フロー型バイオリアクター)による3次元腫瘍モデルを利用して悪性腫瘍へのバブルの集積性・検出感度を超音波で評価するには、本RFBを超音波の透過性の高い材質に改良する必要がある。RFBの底面を超音波透過性に優れたTPX樹脂で作製することで、超音波診断装置で、RFB内が観察できることを確認した(図3)。

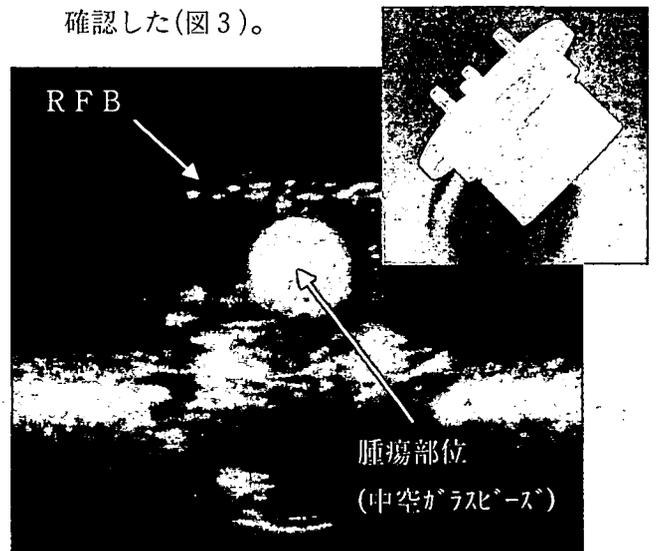


図3 超音波観察用RFB

右上：TPX樹脂で作製したRFB

下：超音波診断装置によるRFBの観察

④ ナノバブル生成技術の検討

宮崎県工業技術センターが開発した多孔質ガラス方式バブル発生技術(図4-1)を利用し、単分散なナノバブルの生成を行った。タウリン誘導重合性ジェミニ型陰イオン界面活性剤を用いて、粒径600nmの単分散のバブルの生成を確認した(図4-2)。

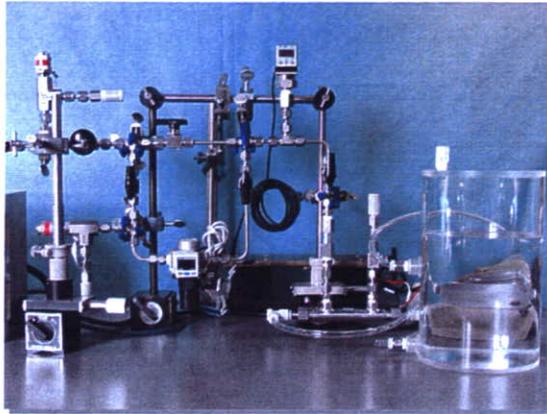


図4-1 多孔質ガラス方式バブル発生装置

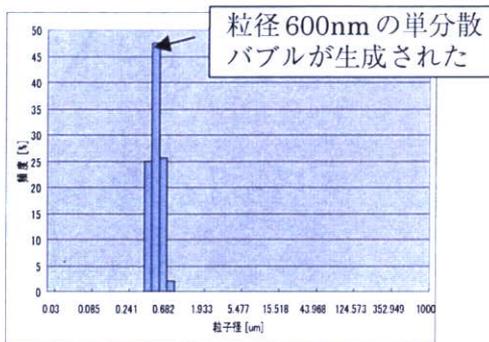


図4-2 バブル粒径分布

⑤ パルス圧縮法を応用した画像化技術の検討

レーダー技術で利用されているFM CW法やパルス圧縮法等を応用した低音圧の長パルス信号を用いた検出方法の検討を進めた。組織伝搬中に発生する非線形振動の低音圧化による抑制効果を検証するために、KZK方程式を用いた超音波ビームの伝搬シミュレーターを作成し、17年度に作成したバブル振動シミュレーターと結合した。その結果、バブルで発生する信号Sと組織から反射するノイズNを数値計算により求めることが可能となった。

パルス圧縮法による検出感度のシミュレーション結果では、チャープ信号の中心周波数をバブル共振周波数に合わせることで高いSNRが得られた。このことは、バブルの基本特性として、低音圧長パルス信号による非線形振動の検出方法では、粒径分布の均一性が重要であると示唆している。非線形振動特性に優れた均一バブルとパルス

圧縮法とを組み合わせることで、従来法に比べ6dBの検出感度向上が期待でき、また、1mm以下の高い解像度が得られた(図5)。

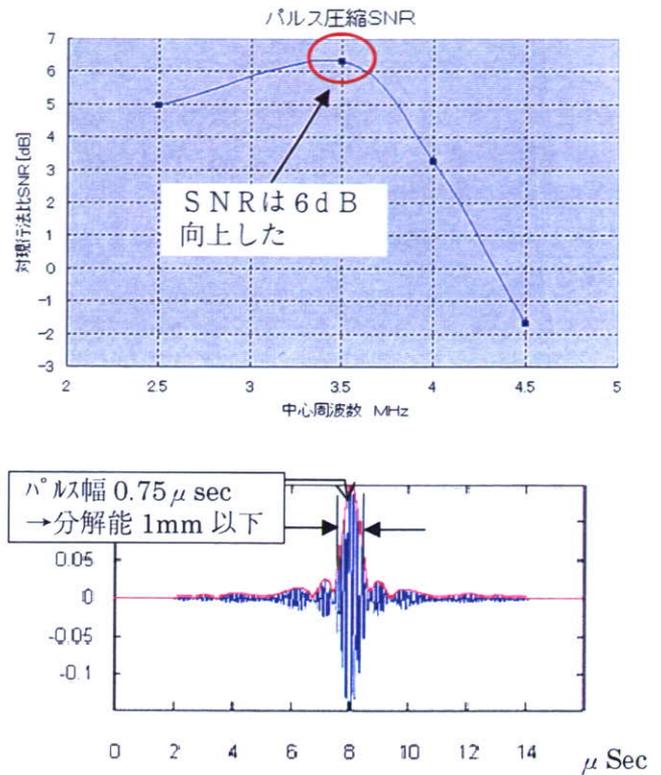


図5 パルス圧縮法の応用上：対組織信号比SNRの計算  
下：パルス圧縮後の波形

⑥ ナノバブル音響特性の測定

通常の診断で利用されている低い周波数の送信条件で、市販の超音波造影剤(商品名：ソナゾイド)と検出感度を比較した。ナノバブル(600nm)は、市販造影剤(マイクロバブル)に比べ、基本波帯でのエコー強度が大きく減少した。一方、第2高調波帯でのエコー強度の差は、約-5dB程度と小さくなり、高次高調波を用いることでナノバブルを映像化する事が可能であると推察された。(図6)

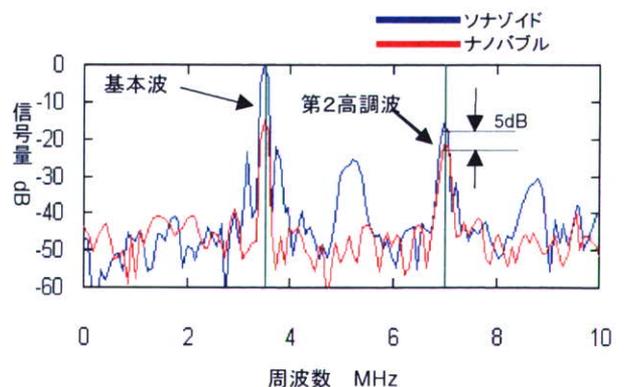


図6 ナノバブルエコー信号量(実験結果)

⑦ 高感度検出アルゴリズムの検討

バブル膜の振動シミュレーターから、バブルからのエコー信号を求めた。シミュレーション結果(図7-1)は、図6の実験結果と良く一致した。このシミュレーターを用いて、ナノバブルをより高感度で画像化する条件を検討した。その結果、ナノバブルを低い周波数で励振し、第3次以上の高次高調波を画像化することで、マイクロバブルと同等のCTR(対組織信号比)が得られる可能性が示唆された(図7-2)。

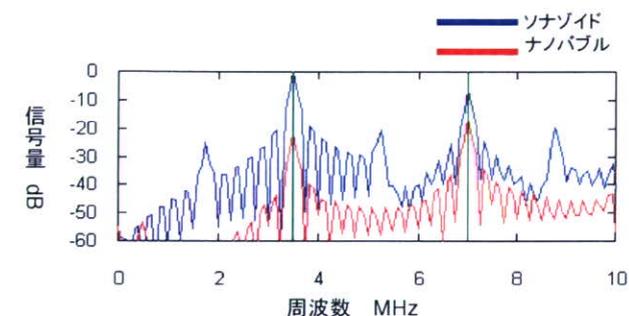


図7-1 エコー信号量(シミュレーション) 実験結果(図6)とシミュレーションは、良く一致した。シミュレーターの妥当性が確認された。

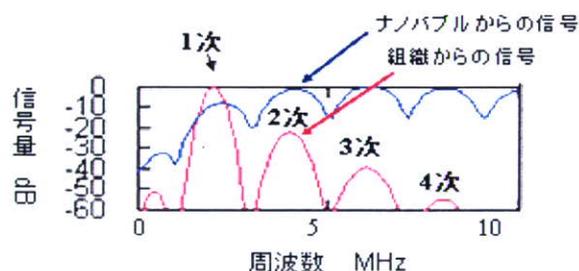


図7-2 高次高調波による検出

バブル(600nm)と組織から発生する反射エコーをシミュレーションした。バブルからの高調波信号量は、高次においてもほぼ一定であった。一方、組織伝搬中に発生する高調波信号量は、高次になるほど減少した。

⑧ 高次高調波を利用した画像化装置の試作

送信2MHz、受信6MHzの送受信独立型リング状探触子を搭載したプローブを試作し、高次高調波でバブルを画像化する実験システムを試作した(図8-1)。血流モデル(図8-2)を用いて、ナノバブル(600nm)の3次高調波とマイクロバブル(ソナゾイド:2.5μm)の2次高調波による映像化を行い、そのCTRを比較した。ナノバブルでも、市販の造影剤と同等の感度(図8-3)が得られることが実験によって確認された。

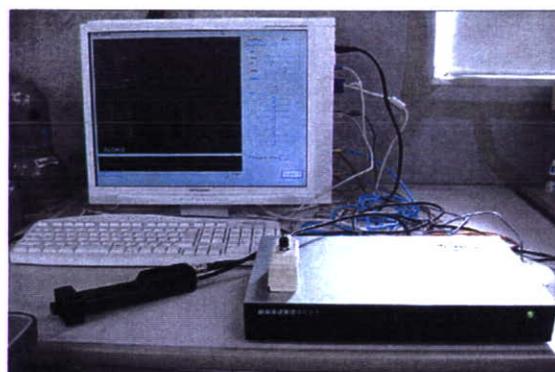


図8-1 3次高調波による画像化システム 上:プローブ 下:本体

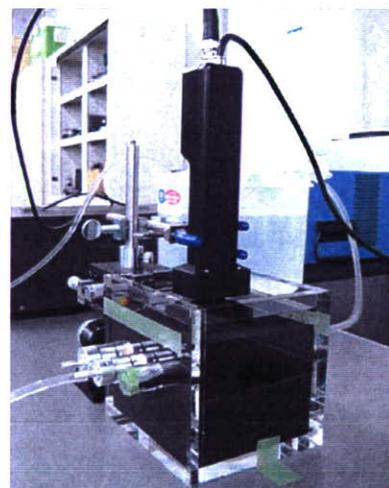


図8-2 血流モデル 血管モデルにバブルを流し、組織とバブル(血管内)からエコー信号を画像化した。

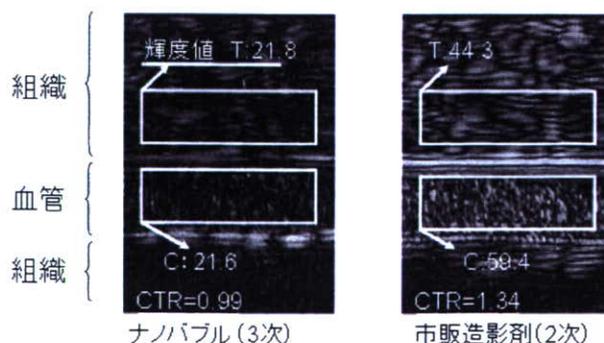


図8-3 ナノバブルの検出感度

ナノバブルの3次高調波による検出感度(CTR)は、市販造影剤の2次(コントラストモード)と同等であった。

## D. 考察

多孔質ガラス方式によるバブル発生方法では、ガラスの細孔径によって生成されるバブルの直径が制御される。ナノ微細加工技術を応用し、人工的により微細な孔を作製することで、500 nm以下のバブルの生成が期待される。

バブルは、共振周波数よりも低い超音波で励振することで大きく膨張し、それに伴い強い非線形信号を発生することが確認された。送信周波数として2 MHz以下の低い周波数を利用することで、3次高調波でも6 MHz以下となり、生体深部のバブルからの情報を画像化することが可能である。これまで、ナノバブルを画像化する場合、より高い周波数を使用することが検討されていた。この場合、生体内での超音波の減衰によって、深い所の画像化に課題があった。我々が提案する技術を利用することで、ナノバブルによる分子プローブを、深部臓器に利用することが可能となる。

また、この技術はマイクロサイズのバブルにおいても応用が可能である。市販の超音波造影剤(マイクロバブル)に適用することで、従来の技術に比べ検出感度が3倍以上向上する実験結果も得られている。

EPR効果で腫瘍領域へバブルを集積させるためには、直径200 nm以下のより小さいバブルを利用することが要望されている。直径200 nm以下で、単分散かつ安定性に優れたナノバブルを生成する必要がある。また、バブルの微小化に伴い、エコー絶対量が低下する。高次高調波とパルス圧縮を組み合わせ合わせた技術についても検討を進める必要がある。

## E. 結論

RFB(ラジアル・フロー型バイオリアクター)を超音波の透過性に優れた樹脂で製作することで、3次元培養された腫瘍モデルを用いて、バブルの動態を観察することが可能となった。慈恵大学、理科大学と共同で行った抗CD147抗体標識バブルの3次元腫瘍モデルによる画像化実験では、標識バブルが市販の造影剤に比べ優位に腫瘍部分で造影されることが確認できた。

バブル膜の振動シミュレーターと組織伝搬中に発生する非線形振動をKZK方程式より計算する超音波ビームの伝搬シミュレーターを作製し、結合した。その結果、バブルで発生する信号Sと組織から反射するノイズNを解析的に求めることが可能となった。そこで、レーダー技術で利用されているパルス圧縮技術をバブル画像化に応用した場合のSNRを解析した。バブル共振周波数を中心信号とするチャープ信号を送信することで、SNRが6 dB改善されることが推察された。

ナノバブルでは、マイクロバブルに比べ反射エコー量が

減少するため、その検出感度の低下が懸念される。従来ナノバブルの検出に不向きと考えられていた低い周波数の超音波を利用することで、大きな非線形エコー信号が発生し、マイクロバブルと比較しても、その信号強度差は僅かであることが確認された。また、実験とシミュレーション結果は、非常に良く一致し、ナノバブルにおいても、低い周波数の超音波を利用し、その時発生する高次高調波を検出することで、高感度に画像化出来ることが示唆された。そこで、2 MHzの低い周波数で送信し、バブルからの第3次高調波を画像化する実験システムを製作し、画像化実験を行った。ナノバブルにおいても、従来のマイクロバブルと同等の感度が得られることが確認された。本技術を応用することで、従来のコントラストエコーにおいても感度の向上が期待される。

## F. 健康危険情報

総括報告書にまとめて記載。

## G. 研究発表

### 1. 発表

1-1) 射谷和徳、伊藤貴司、今野剛人 “ラベル化造影剤を用いた超音波によるがんの超早期診断システムの研究開発に係る先導研究” 第1回 ナノバイオテクノロジー連携群 成果報告会 平成18年12月21日

1-2) 射谷和徳 他 “ラベル化造影剤を用いた超音波によるがんの超早期診断システムの研究開発” 第46回日本生体医工学会 平成19年4月25日

1-3) 今野剛人・射谷和徳・伊藤貴司 “超音波分子イメージング用ナノプローブの開発—ナノバブルノ生成” 日本超音波医学会第80回学術集会 平成19年5月20日

1-4) 今野剛人・射谷和徳・伊藤貴司 他 “Approach for Early Cancer Diagnosis Using Targeted Ultrasound Contrast Agents” Joint Molecular Imaging conference 平成19年9月12日

1-5) 射谷和徳・伊藤貴司 他 “ラベル化造影剤を用いた超音波によるがんの超早期診断システムの研究開発” 第2 ナノバイオ連携施策群成果報告会 平成19年12月5日

1-6) 射谷和徳 他 “Preparation and Detection of Nanobubbles: Toward Ultrasonic Molecular Imaging” 第9回国際造影超音波シンポジウム 平成19年12月16日

## H. 知的財産権の出願状況

### 1. 特許取得

1-1) 射谷和徳・伊藤貴司・今野剛人・特願  
2006-135178・気泡検出装置・アロカ株式会社

1-2) 射谷和徳・大川清・松浦知和・阿部正彦・特願  
2006-333792・画像形成システム・アロカ株式会社

1-3) 射谷和徳・大川清・松浦知和・阿部正彦・特願  
2007-205952・造影用カプセル・アロカ株式会社

1-4) 射谷和徳・特願 2007-215654・超音波診断装置・  
アロカ株式会社

1-5) 射谷和徳・特願 2007-318814・超音波診断装置・  
アロカ株式会社

厚生労働科学研究費補助金（医療機器開発推進研究事業：ナノメディシン研究）  
分担研究報告書

1 1. 第2世代超音波造影剤ソナゾイドの特性

分担研究者	宮本 幸夫	東京慈恵会医科大学	准教授
分担研究者	射谷 和徳	アロカ（株）研究所	主任研究者
流動研究員	土屋 好司	財団法人医療機器センター・東京理科大学	
協力研究者	西岡真紀子	東京慈恵会医科大学	講師
協力研究者	中田 典生	東京慈恵会医科大学	講師

研究要旨：新規開発のマイクロ・ナノバブルが既存の超音波造影剤と比較して、優れた特性を持つか検討するため、まず、第2世代超音波造影剤であるソナゾイド（Sonazoid）の特性を検討した。ソナゾイドは、粒径  $2\mu\text{m}$  前後で均一で、時間をおいても安定であった。音圧 MI 0.20 までの超音波を連続照射しても、安定であった。今後、ソナゾイドの特性を基準として、新規集積超音波造影剤としての、マイクロ・ナノバブルを開発する。

A. 研究目的

超音波造影剤（マイクロ・ナノバブル）の新規開発のためには、マイクロ・ナノバブルの、①安定性、②粒径の均一性、③音響特性に関して検討する必要がある。平成19年1月に、レボピストに続く第2世代超音波造影剤ソナゾイド（第一製薬株式会社）が発売され、臨床現場で使用されるようになった。ソナゾイドは、フォスファチジルセリンを主成分とする粒径  $2\mu\text{m}$  の超音波振動性マイクロバブルで、水に難溶性のペルフルブタンが封入されている。静脈内投与直後の血管イメージ、投与後10分後のクッパーイメージで、超音波での肝臓腫瘍の発見、診断に用いられる。今回は、ソナゾイドの *in vitro* での特性を計測した。

B. 研究方法

ソナゾイドの安定性を、目視、微分干渉

顕微鏡、動的光散乱法による粒径観察で検討した。また、超音波照射に対する強度、安定性を検討した。

C. 研究結果

ソナゾイドを水に100倍希釈し、攪拌しながら、それぞれの方法で観察、記録した。

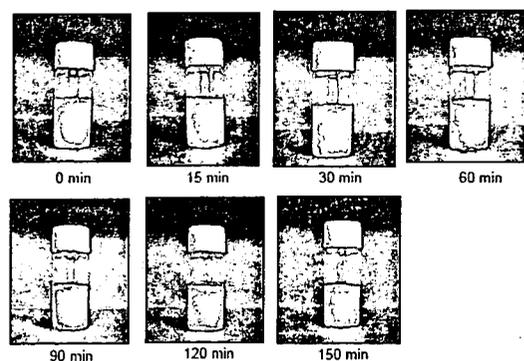


図1：目視観察（攪拌時）

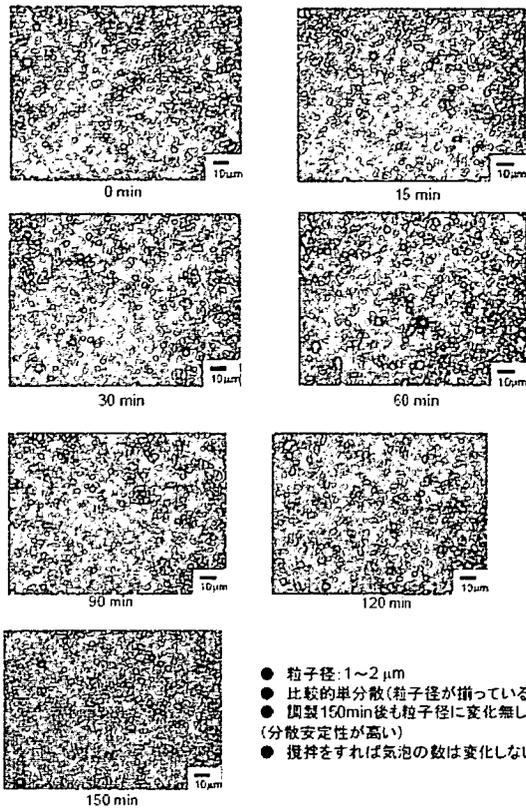


図2：微分干渉顕微鏡での観察

ソナゾイドは目視、顕微鏡観察において、粒径も安定しており、また融合することなく、分散安定性にも優れていた(図1, 2)。粒系に関しては、動的光散乱法でもその安定性を確認した(図3)。

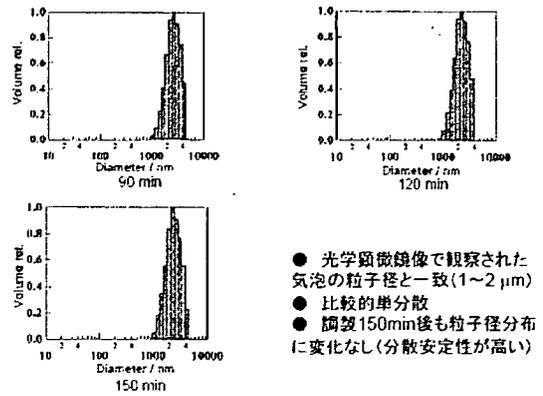
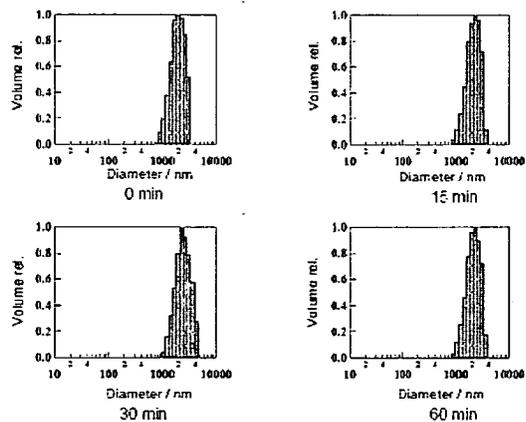


図3：動的光散乱法による粒径分布の測定

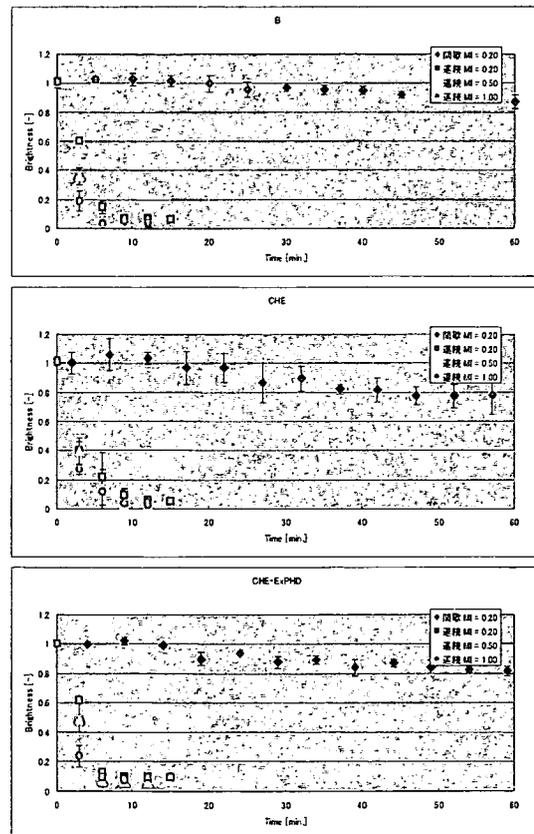


図4：超音波照射時の安定性

音圧が MI 0.20 以下の超音波で、間歇照射であれば、ソナゾイドはほとんど破裂することなく、安定であった。しかし、MI 0.20 以上では、ソナゾイドは破裂した。

#### D. 考察、E. 結論

ソナゾイドは均一な粒径のマイクロバブルで、安定性も高く、MI 0.20 までの音圧にもほとんど破壊されることがなかった。ソナゾイドを基準として、新規の標識集積超音波造影剤の開発を行う。

#### F. 健康危険情報

特になし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

なし

##### 2. 学会発表

1) 日本分子イメージング学会設立総会・第一回学術集会. 平成 18 年 5 月 22、23 日、京都

2) 総合科学技術会議・科学技術連携施策群「超早期診断と低信州医療の実現と一体化、生活の安全・安心を目指して」第一回ナノバイオテクノロジー連携群 成果報告会. 平成 18 年 12 月 12 日、東京

3) 平成 18 年度厚生労働科学研究費研究成果等普及啓発事業、萌芽的先端的医療技術推進研究「ナノメディシン研究成果発表会」平成 19 年 2 月 13 日、東京

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

### Ⅲ 研究成果の刊行に関する一覧表

研究成果の刊行に関する一覧表

書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ

特になし

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Seewald S, <u>Imazu H</u> , Omar S, et al.	EUS-guided drainage of hepatic abscess	<i>Gastrointest Endosc.</i>	61	495-498	2005
Seewald S, Groth S, Omar S, <u>Imazu H</u> , et al.	Aggressive endoscopic therapy for pancreatic necrosis and abscess: a new safe and effective treatment algorithm	<i>Gastrointest Endosc.</i>	62	92-100	2005
Wada A, <u>Ohkawa K</u> , Tsudzuki M, et al.	A nucleotide substitution responsible for the tawny coat color mutation carried by the MSKR inbred strain of mice	<i>J. Heredity.</i>	96	145-149	2005
Asakura T, Imai A, <u>Ohkawa K</u> , et al.	Relationship between expression of drug-resistance factors and drug sensitivity in normal human renal proximal tubular epithelial cells in comparison with renal cell carcinoma	<i>Oncol. Repts.</i>	14	601-607	2005
<u>Aizawa M</u> , Ono A, Ohno T, and P-K. Cho	Synthesis of Calcium-phosphate Microsphere with well-controlled Particle Size by Ultrasonic Spray-pyrolysis Technique and Their Sinterability	<i>Phosphorus Res. Bull.</i>	19	1-6	2005
<u>Ishibashi Y</u> , et al.	A case study of remnant gastric ulcer: eradication of Helicobacter pylori not only improved the ulcer but also decreased p53 protein expression	<i>JMAJ</i>	48(5)	241-245	2005
山田恭輔、上田和、齋藤元章、齋藤絵美、茂木真、高倉聡、新美芳樹、佐々木寛、田中忠夫	卵巣癌腫瘍減量手術における消化管合併切除	日本産婦人科手術学会機関誌	16	53-59	2005
Okamoto A, Nikaido T, Ochiai K, Takakura S, Saito M, Aoki Y, Ishii N, Yanaiharu N, <u>Yamada K</u> , Takikawa O, Kawaguchi R, Isonishi S, Tanaka T and Urashima M.	Indoleamine 2,3-dioxygenase serves as a marker of poor prognosis in gene expression profiles of serous ovarian cancer cells.	<i>Clin Cancer Res.</i>	11	6030-6039	2005

山田恭輔、岡本三四郎、高尾美穂、上田和、斎藤元章、茂木真、落合和徳	インフォームドコンセントの実際 卵巣がん手術療法 標準的手術 2006; 73: 343-348	産科と婦人科 増刊号	73	343-348	2006
Igeta N, Katakami T, and Aizawa M.	Fabrication and Characterization of the Apatite-fiber Scaffolds with Enhanced Mechanical Property using Apatite Gels as a Sintering Agent	<i>Phosphorus Res. Bull.</i>	19	42-47	2005
Hiramoto A, Matsuura T and Aizawa M.	Three-dimensional cell culture of hepatocytes using apatite-fiber scaffold	<i>Archives of BioCeramics Research.</i>	5	238-241	2005
Aizawa M, Itatani K and Okada I.	Characterization of Porous $\beta$ -tricalcium Phosphate Films Formed on Alumina Ceramics by Spray-pyrolysis Technique and Their <i>in vitro</i> Evaluations Using Osteoblasts	<i>J. Ceram. Soc. Jpn.</i>	113	245-251	2005
Okada I, Namiki Y, Uchida H, Aizawa M and Itatani K.	MD simulation of crystal growth of NaCl from its supersaturated aqueous solution	<i>J. Mol. Liq.</i>	118	131-139	2005
Aizawa M, A.E.Porter, S.M.Best and W.Bonfield	Ultrastructural Observation of Single-crystal Apatite Fibres	<i>Biomaterials.</i>	26	3427-3433	2005
松本守雄、森末 光、相澤 守	アパタイトファイバースキャフォールドの開発と臨床応用に向けた試み	セラミックス	40	865-868	2005
相澤 守、松本守雄	硬組織再生を促進するアパタイトファイバースキャフォールドの開発	化学と工業	58	1078-1081	2005
相澤 守、神澤信行、松本守雄	アパタイトファイバースキャフォールドのナノ構造と細胞分化	バイオマテリアル	23	336-342	2005
Matsuura T.	Bioreactors for 3-dimensional high density culture of human cells	<i>Human Cell.</i>	19	11-16	2006
松浦知和、幡場良明、石川周太郎、小川哲朗	多孔質水酸アパタイトを用いたバイオ人工肝臓	セラミックス	40	869-872	2005
Yonezawa S, Yoshizaki N, Kageyama T, Takahashi T, Sano M, Tokita Y, Masaki S, Inaguma Y, Hanai A, Sakurai N, Yoshiki A, Kusakabe M, Moriyama A, Nakayama A.	Fates of Cdh23/ CDH23 with mutations affecting the cytoplasmic region	<i>Hum Mutat.</i>	27 (1)	88-97	2006
Matsuda A, Hirota T, Akahoshi M, Shimizu M, Takahashi A, Tamari M, Nakashima K, Takahashi N, Obara K, Doi S, Miyatake A, Yuyama N, Kamogawa Y, Enomoto T, Ohshima K, Tsunoda T, Miyatake S, Izuhara K, Kusakabe M, Hopkin, J., Shirakawa T.	Coding SNP in Tenascin-C Fn-III-D domain associates with adult asthma	<i>Hum Mol Genet.</i>	14	2779-2786	2005

Tsukamoto T, Yamamoto M, Fukami H, Yoshikawa A, Sakai H, Hirata H, <u>Kusakabe M</u> , and Tatematsu M.	Susceptibility to colon carcinogenesis in C3H $\leftrightarrow$ C57BL/6 chimeric mice reflects both tissue microenvironment and genotype	<i>Cancer Letter.</i>	Sept 14		2005
佐々木直一、青塚聡、 松葉恭一、井上循、 磯西成治、石川博、 日下部守昭	HiCEPを用いたシスプラチン 耐性ガン細胞の網羅的発現プロ ファイリング	乳癌基礎研究	14	5-9	2005
Masaki T, <u>Matsuura T</u> , <u>Ohkawa K</u> , Miyamura T, Okazaki I, Watanabe T, Suzuki T.	All-trans retinoic acid down-reg ulates human albumin gene expression through the induction of C/EBP beta-LIP	<i>Biochemical J.</i>	397	345-353	2006
Minami J, Takada K, Aoki K, Shimada Y, Okawa Y, Usui N, <u>Ohkawa K</u> .	Purification and characterization of C-terminal truncated forms of histone H2A in monocytic TH P-1 cells	<i>Int J Biochem Cell Biol.</i>	39(1)	171-180	2007
Kanai H, Marushima H, Kimura N, Iwaki T, Saito M, Maehashi H, Shimizu K, Muto M, Masak T, <u>Ohkawa K</u> , Yokoyama K, Nakayama M, Harada T, Hano H, Hataba Y, Fukuda T, Nakamura M, Totsuka N, Ishikawa S, Unemura Y, Ishii Y, Yanaga K, <u>Matsuura T</u> .	Extracorporeal bioartificial liver using the radial-flow bioreactor in treatment of fatal experimental hepatic encephalopathy	<i>Artificial Organs.</i>	31	148-151	2007
Kosuge M, Takizawa H, Maehashi H, <u>Matsuura T</u> , <u>Matsufuji S</u> .	A comprehensive gene expression analysis of human hepatocellular carcinoma cell lines as components of a bioartificial liver using a radial flow bioreactor	<i>Liver Int.</i>	27(1)	101-108	2007
<u>Aizawa M</u> , Ueno H, Itatani K and Okada I.	Synthesis of calcium-deficient apatite fibres by a homogeneous precipitation method and their characterizations	<i>J. Eur. Ceram. Soc.</i>	26	501-507	2006
Miyazaki A and <u>Aizawa M</u> .	Adhesion, Proliferation and Mor phology of Osteoblasts Cultured on Apatite Ceramics with Prefe red Orientation to <i>a</i> -plane	<i>Key Engineer. Mater.</i>	309-311	109-112	2006
Ohno T and <u>Aizawa M</u> .	Effect of the Concentrations of the Starting Solution on the Syntheses and Powder Properties of Hollow Tricalcium-phosphate Microspheres by Ultrasonic Spray-pyrolysis Technique	<i>Key Engineer. Mater</i>	309-311	235-238	2006

<u>Aizawa M</u> , N. Patel, A.E.Porter, S.M.Best and W.Bonfield,	Syntheses of Silicon-containing Apatite Fibres by a Homogeneous Precipitation Method and Their Characterization	<i>Key Engineer. Mater.</i>	309-311	1129-1132	2006
Morisue H, Matsumoto M, Chiba K, Matsumoto H, Toyama Y, <u>Aizawa M</u> , Kanzawa N, T.J.Fujimi, Uchida H, Okada I.	A novel hydroxyapatite fiber mesh as a carrier for recombinant human bone morphogenetic protein-2 enhances bone union in rat posterolateral fusion model	<i>Spine.</i>	31	1194-200	2006
<u>Aizawa M</u> , Uchida H, Okada I, T.J.Fujimi, Kanzawa N, Matsumoto M, Morisue H and Toyama Y.	Development of Apatite Fiber Scaffolds Promoting Hard-tissue Regeneration and Their Application to Biomedical Devices	<i>Archives of BioCeramics Research.</i>	6	9-12	2006
Honda M, T.J.Fujimi, Kanzawa N, Izawa K, Tsuchiya T, <u>Aizawa T</u> .	Osteogenic Differentiation in a Three-dimensional Apatite-fiber Scaffolds	<i>Archives of BioCeramics Research.</i>	6	171-174	2006
Izumi S, Honda M, N. Kanzawa, T.J.Fujimi, Uchida H, Tsuchiya T, Morisue H, Matsumoto M, <u>Aizawa M</u> .	Apatite-fiber Scaffold Provides Three-dimensional Culture Environment for Osteoblast-like cells	<i>Archives of BioCeramics Research.</i>	6	175-178	2006
Tanaka Y, Morisue H, Matsumoto M, Toyama Y and <u>Aizawa M</u> .	Development of Porous Ceramics with Well-controlled Pore Sizes Created From Single-crystal Apatite Fibers and Its Biological Evaluation	<i>Archives of BioCeramics Research.</i>	6	200-203	2006
Onaya N, Ohno T, Pak-kon. Choi and <u>Aizawa M</u> .	Effect of ultrasonic vibration frequency on the particle size of hydroxyapatite microspheres synthesized by ultrasonic spray-pyrolysis	<i>Archives of BioCeramics Research.</i>	6	204-207	2006
Yamamoto H and <u>Aizawa M</u> .	Synthesis of Plate-shaped Apatite with Preferred Orientation to c-Plane Using Enzyme Reaction of Urea with Urease	<i>Archives of BioCeramics Research.</i>	6	212-215	2006
Yoshikawa A, Horiguchi Y, Oribe K, and <u>Aizawa M</u> .	Mechanical Property of Apatite Cement Hardened by Chelating-effect of Inositol Phosphate	<i>Archives of BioCeramics Research.</i>	6	216-219	2006
Hiramoto A, <u>Matsuura T</u> and <u>Aizawa M</u> .	Three-dimensional Cell Culture of Hepatocyte Using Apatite-fiber Scaffold and Application to a Radial-flow Bioreactor	<i>Archives of BioCeramics Research.</i>	6	220-223	2006
Miyazaki A, Kanzawa N and <u>Aizawa M</u> .	Adhesion, Proliferation and Differentiation of Osteoblasts Cultured on Apatite Ceramics with Preferred Orientation to a-plane	<i>Archives of BioCeramics Research.</i>	6	224-227	2006
Tanabe H, Ohbuchi A, Nakamura T, <u>Aizawa M</u> .	Release profiles of calcium and phosphate ions from the $\beta$ -tricalcium phosphate fiber scaffolds in the HEPES buffer solutions	<i>Archives of BioCeramics Research.</i>	6	236-239	2006

Saito M, <u>Matsuura T</u> , Masaki T, Maehashi H, Shimizu K, Hataba Y, Iwahori T, Suzuki T, Braet F	Reconstruction of liver organoid using a bioreactor	<i>World J Gastroenterol.</i>	12	1881-1888	2006
<u>Abe M</u> , Tsubone K, Koike T, <u>Tsuchiya K</u> , Ohkubo T, <u>Sakai H</u> .	Polymerizable Cationic Gemini Surfactant	<i>Langmuir.</i>	22(20)	8293-8297	2006
Yonezawa S, Yoshizaki N, Kageyama T, Takahashi T, Sano M, Tokita Y, Masaki S, Inaguma Y, Hanai A, Sakurai N, Yoshiki A, <u>Kusakabe M</u> , Moriyama A, Nakayama A.	Fates of Cdh23/CDH23 with mutations affecting the cytoplasmic region	<i>Hum Mutat.</i>	27(1)	88-97	2006
Sousa KM, Mira H, Hall AC, Jansson-sjostrand L, <u>Kusakabe M</u> , Arenas E	Microarray analyses support a role for Nurr1 in resistance to oxidative stress and neuronal differentiation in neural stem cells	<i>Stem Cells.</i>	25(2)	511-519	2007
Braet F, Nagatsuma K, Saito M, Soon L, Wisse E, <u>Matsuura T</u> .	The hepatic sinusoidal endothelial lining and colorectal liver metastasis	<i>World J Gastroenterol.</i>	13(6)	821-825	2007
Ueda K, <u>Yamada K</u> , Urashima M, <u>Ishibashi Y</u> , Shirai M, Nikaido T, Takahashi H, Okamoto A, Saito M, Yasuda M, <u>Ohkawa K</u> , Tanaka T.	Association of extracellular matrix metalloproteinase inducer in endometrial carcinoma with patient outcomes and clinicopathogenesis is using monoclonal antibody 12C3	<i>Oncol Rep.</i>	17	731-5	2007
今津博雄、 <u>田尻久雄</u>	感染性膵壊死、膵膿瘍に対するEUSガイド下ドレナージ術	胆と膵	27	55-60	2006
<u>山田恭輔</u> 、上田和、石塚康夫、岡本愛光、安田允、田中忠夫	卵巣癌の新しい予後因子とバイオマーカー	産婦人科の実際	55(13)	2195-2200	2006
Eda H, Aoki K, Fujii K, <u>Ohkawa K</u> .	FGF-2 signaling induces downregulation of TAZ protein in osteoblastic MC3T3-E1 cells	<i>BBRC</i>	366	471-475	2008
Asakura T, Sasagawa A, Takeuchi H, Shibata S, Marushima H, Mamori S, <u>Ohkawa K</u> .	Conformational change in the active center region of GST P1-1 due to binding of a synthetic conjugate of DXR with GSH, enhanced JNK-mediated apoptosis	<i>Apoptosis.</i>	DOI 10.1007		2007
Mamori T, Asakura T, <u>Ohkawa K</u> , <u>Tajiri H</u> .	Survivin expression in early hepatocellular carcinoma and post-treatment with anti-cancer drug under hypoxic culture	<i>World J Gastroenterol.</i>	13(40)	1306-11	2007
Isome M, Lortie MJ, Murakami Y, Parisi E, <u>Matsufuji S</u> , Satriano J.	The antiproliferative effects of a gmatine correlate with the rate of cellular proliferation.	<i>Am. J. Physiol. Cell Physiol.</i>	293(2)	C705-11	2007

Tanaka Y, Osaka T, Hattori A, Murakami Y, Matsufuji T, <u>Matsufuji S</u> , Shinkawa T, Isobe T, Mizutani T.	Soluble Liver Antigen/Liver and Pancreas, an Antigen in Autoimmune Hepatitis Patients: Influence on Selenocysteine Synthesis and its Complex with HSP70	<i>J. Health Sci.</i>	53(6)	682-691	2007
Tsukinaga S, Imazu H, Uchiyama Y, Kakutani H, Kuramochi A, Kato M, <u>Tajiri H.</u>	Diagnostic approach using endoscopy guided fine needle aspiration for lymphadenopathy in primary sclerosing cholangitis	<i>World J Gastroenterol.</i>	21	3758-9	2007
<u>Mamori S, Nagatsuma K, Matsuura T, Ohkawa K, Hano H, Fukunaga M, Matsushima M, Masui Y, Fushiya N, Onoda H, Searashi Y, Takagi I, Tagiri H.</u>	Useful detection of CD147 (EMMPRIN) for pathological diagnosis of early hepatocellular carcinoma in needle biopsy samples	<i>World J Gastroenterol.</i>	13(21)	2913-7	2007
<u>Saito M, Matsuura T, Nagatsuma K, Tanaka K, Maehashi H, Shimizu K, Hataba Y, Kato F, Kashimori I, Tajiri H, Braet F.</u>	The Functional Interrelationship between Gap Junctions and Fenestrae in Endothelial Cells of the Liver Organoid	<i>J Membr Biol.</i>	217	115-121	2007
Murakami K, Inoue Y, Hmwe SS, Omata K, Hongo T, Ishii K, Yoshizaki S, Aizaki H, <u>Matsuura T, Shoji I, Miyamura T, Suzuki T.</u>	Dynamic behavior of hepatitis C virus quasispecies in a long-term culture of the three-dimensional radial-flow bioreactor system	<i>J Virol Methods.</i>	148(1-2)	174-81	2008
Omura N, Kashiwagi H, Yano F, Tsuboi K, <u>Ishibashi Y, Kawasaki N, Suzuki Y, Mitsumori N, Urashima M, Yanaga K.</u>	Prediction of recurrence after laparoscopic fundoplication for erosive reflux esophagitis based on anatomy-function-pathology (AFP) classification	<i>Surg Endosc.</i>	21	427-30	2007
Ueda K, <u>Yamada K, Urashima M, Ishibashi Y, Shirai M, Nikaido T, Takahashi H, Okamoto A, Saito M, Yasuda M, Ohkawa K, Tanaka T.</u>	Association of extracellular matrix metalloproteinase inducer in endometrial carcinoma with patient outcomes and clinicopathogenesis using monoclonal antibody 12C3	<i>Oncol Rep.</i>	17	731-5	2007
Omura N, Kashiwagi H, Yano F, Tsuboi K, <u>Ishibashi Y, Kawasaki N, Suzuki Y, Matsumoto A, Mitsumori N, Urashima M, Yanaga K.</u>	Gastric ulcer after laparoscopic fundoplication for gastroesophageal reflux disease: significance of the eradication of <i>Helicobacter pylori</i>	<i>Surg Laparosc Endosc Percutan Tech.</i>	17	193-6	2007
Nakayoshi T, Kawasaki N, Suzuki Y, Yasui Y, Nakada K, <u>Ishibashi Y, Hanyu N, Urashima M, Yanaga K.</u>	Epidural administration of morphine facilitates time of appearance of first gastric interdigestive migrating complex in dogs with paralytic ileus after open abdominal surgery	<i>J Gastrointest Surg.</i>	11	648-54.	2007

<u>Takakura S</u> , <u>Saito M</u> , <u>Ueda K</u> , <u>Motegi M</u> , <u>Takao M</u> , <u>Yamada K</u> , <u>Okamoto A</u> , <u>Niimi S</u> , <u>Sasaki H</u> , <u>Tanaka T</u> , <u>Ochiai K</u> .	Irinotecan hydrochloride (CPT-11) and cisplatin as first-line chemotherapy after initial surgery for ovarian clear cell adenocarcinoma	<i>Int Surg.</i>	92	202-208	2007
Hashimoto H, <u>Kusakabe M</u> and Ishikawa H.	A novel method for three-dimensional observation of the vascular networks in the whole mouse brain	<i>Microsc Res Tech.</i>	71(1)	51-9	2008
Ito T, Ohi S, Tachibana T, Takahara M, Hirabayashi T, Ishikawa H, <u>Kusakabe M</u> and Hashimoto H.	Development of the mucosal vascular system in the distal colon of the fetal mouse	<i>Anat Rec.</i>	291(1)	65-73	2008
Horiguchi Y, Yoshikawa A, Oribe K and <u>Aizawa M</u> .	Fabrication of Chelate-setting Hydroxyapatite Cements from Four Kinds of Commercially-available Powder with Various Shape and Crystallinity and Their Mechanical Property	<i>J. Ceram. Soc. Jpn.</i>	116	50-55	2008
<u>Aizawa M</u> , Ohno T, Kanomata N, K. Yano and Emoto M.	Anti-tumorigenesis of Hollow Calcium-phosphate Microsphere Loaded with Anti-angiogenic Agent	<i>Key Engineer. Mater.</i>	361-363	1215-1218	2008
<u>Aizawa M</u> , Hiramoto A, Maehashi H and <u>Matsuura T</u> .	Reconstruction of Liver Organoid Using an Apatite-fiber Scaffold, a Radial-flow Bioreactor, and FLC-4 Cells of Hepatocyte Model	<i>Key Engineer. Mater.</i>	361-363	1165-1168	2008
Sakai K, Umezawa S, Tamura M, Takamatsu Y, <u>Tsuchiya K</u> , Torigoe K, Ohkubo T, Yoshimura T, Esumi K, <u>Sakai H</u> , <u>Abe M</u> .	Adsorption and micellization behavior of novel gluconamide-type gemini surfactants	<i>Colloid Interface Sci.</i>	318 (2)	440-448	2008
<u>Abe M</u> , Nakayama A, Kondo T, Morishita H, <u>Tsuchiya K</u> , Utsumi S, Ohkubo T, <u>Sakai H</u> .	Preparation of tiny biodegradable capsules using electrocapillary emulsification	<i>J. Microencapsulation.</i>	24 (8)	777-786	2007
<u>Tsuchiya K</u> , Ishikake J, Kim, T.S, Ohkubo T, <u>Sakai H</u> , <u>Abe M</u> .	Phase behavior of mixed solution of a glycerin-modified cationic surfactant and an anionic surfactant	<i>J. Colloid Interface Sci.</i>	312 (1)	139-145	2007

## IV 研究成果の刊行物・別刷

(別刷29冊タイトル頁のみ、日経産業新聞2008年2月1日)