

氏名（本籍）	佐々木 一 昭（神奈川県）		
学位の種類	博士（獣医）		
学位記番号	獣医博乙第66号		
学位授与年月日	平成17年3月14日		
学位授与の要件	学位規則第4条第2項該当		
学位論文題目	超音波化学作用を利用した癌治療の基礎的研究		
審査委員	主査	東京農工大学 教授	小久江 栄 一
	副査	帯広畜産大学 教授	佐藤 基 佳
	副査	岩手大学 教授	小林 晴 男
	副査	東京農工大学 教授	山根 義 久
	副査	岐阜大学 教授	武 脇 義

### 論 文 の 内 容 の 要 旨

手術によらない非観血的癌治療方法はいくつかあるが、中でも現在、超音波エネルギーがこの目的に注目されている。超音波を使った皮膚癌、乳癌、前立腺癌の治療はすでに実用されている。これは超音波の温熱作用を利用したもので、超音波エネルギーが生体に収束する時に伝播過程で減衰するが、その減衰したエネルギーが熱に変換される作用を利用して癌組織を熱凝固させるものである。しかしこの治療方法は、超音波エネルギーが生体深部に収束できないため、深部癌の治療には利用できなかった。

申請者は長年にわたり超音波による深部癌の治療法について研究を進めてきた結果、前述の熱作用ではなく超音波化学作用（音響化学作用）に期待しえるものがあると考えた。これは超音波照射により発生した微小気泡が音圧により潰れる“キャビテーション現象“の際に、局所的に活性酸素やラジカル種を生ずる化学作用を利用するものであり、とくに音響化学活性をもつ物質の共存により抗癌効果を発揮することに注目した。すなわち、癌組織に音響化学活性物質を集積させておき、そこに超音波照射することにより空間選択的に抗癌活性化させ、局所的で低侵襲な癌治療を実現しようとする考えである。

そこで申請者はまず、局所の音響化学作用を増幅して深部組織にまで到達させる方法として、基本波とその倍の周波数を持つ2種類の超音波を同時に焦点においてのみ重なり合うように照射する「第2高調波重畳法」を考案し、試作トランスデューサによって音響化学作用の促進作用を検証した。その結果、500kHzと1.0MHzの2種類の超音波を同時に重なり合うように照射することで、単一周波数による照射と比較して、効率良く音響キャビテーションを発生させ、酸化反応を著しく促進することがわかった。また、音響化学活性物質ガリウムポルフィリン誘導體 ATX-70 の体内動態を皮下に腫瘍を移植したマウスを用いて解析した。その結果、投与後24時間では血液中濃度に対する腫瘍内濃度が最大になり、かつ筋肉や皮膚内の濃度に対しても十分な濃度差が認められるので、投与後24時間での治療が治療効果と副

作用のバランスをとるという観点から、望ましいと考えられた。

以上の治療プログラムを、実際に担癌動物を使って実験治療を試みた。ATX-70 を投与し腫瘍部分に第二高調波重畳法による超音波照射を行い癌治療効果について検討した。その結果、ATX-70 の投与量が 2.5 mg/kg 以上の場合に、2 種類の周波数を重畳させて照射 (12 W/cm<sup>2</sup> 以上) することで、単一周波数による照射に比べ皮下移植マウス大腸癌および腎臓内に移植したラット乳癌に対して有意な抗癌作用を持つことがわかった。

以上の研究から、ATX-70 投与と第二高調波重畳法を併用することで相乗的な音響化学的癌治療が実現できることを理論と実験で証明したが、今後さらに人体の深部癌の超音波治療についての検討を進める予定である。

## 審 査 結 果 の 要 旨

非外科的癌治療法の一つとして超音波エネルギーの利用が注目されており、現在すでにその温熱作用を利用した超音波治療法が子宮筋腫や前立腺癌に使われている。しかしこの超音波加熱療法は、治療に必要なエネルギーの到達が身体の浅部組織に限られ、深部癌治療には利用できない。申請者は超音波エネルギーの持つもう一つの超音波化学作用に注目し、超音波による深部癌治療について研究した。物理学上の工夫を重ね基本波とその 2 倍の周波数を持つ第 2 高調波との 2 種類の超音波を焦点でのみ重なり合うように照射する「第 2 高調波重畳法」を考案し、超音波エネルギーを深部組織に強く収束させることに成功した。この方法によると超音波の化学作用が深部組織での組織障害性を著しく増強することを確認した。さらに、癌組織に高濃度に分布し超音波化学作用により活性化され制癌作用を発揮する化合物を併用することにより、選択的に癌組織だけに損傷を与える治療法が可能なことを、動物疾病モデルを用いて実証した。申請者はこれら一連の基礎研究成果を学位論文としてまとめ、本研究科に提出した。

超音波エネルギーの暴露を受けると活性酸素やラジカル分子種が発生し、これらが癌組織を破壊する性質の化学物質がある。この化学物質が癌組織に高濃度に集中している時に超音波エネルギーを与えれば、健康組織の障害を少なくして癌組織に大きな障害を与えることが出来る。そこで申請者はまず「第 2 高調波重畳法」により効率よく活性酸素やラジカル分子種を発生する化学物質の選択を行い、ガリウムポルフィリン誘導体 ATX-70 に注目した。次にこの化学物質の動物モデルでの体内動態を解析し、癌組織、血漿、各種臓器組織での化合物濃度の時間的消長を明らかにした。これにより、最もこの化合物が癌組織に高い比率で蓄積する時間帯を特定し、この期間に超音波照射する実験治療プログラムを確立した。このプログラムに則り、担癌動物に ATX-70 を投与して超音波照射したところ、2 種類の深部癌 (マウス大腸癌およびラット腎臓内乳癌) に対して、顕著な癌治療効果を発揮することを実証した。

以上について、審査委員全員一致で本論文が岐阜大学大学院連合獣医学研究科の学位論文として十分価値があると認めた。

## 基礎となる学術論文

- 1) 題 目 : Antitumor effect sonodynamically induced by focused ultrasound in combination with Ga-porphyrin complex  
著 者 名 : Sasaki, K., Yumita, N., Nishigaki, R. and Umemura, S.  
学術雑誌名 : Japanese Journal of Cancer Research  
巻・号・頁・発行年 : 89(4) : 452-456, 1998
- 2) 題 目 : Pharmacokinetic study of a gallium-porphyrin photo- and sono-sensitizer, ATX-70, in tumor bearing mice  
著 者 名 : Sasaki, K., Yumita, N., Nishigaki, R., Sakata, I., Nakajima, S. and Umemura, S.  
学術雑誌名 : Japanese Journal of Cancer Research  
巻・号・頁・発行年 : 92(9) : 989-995, 2001
- 3) 題 目 : Effect of split-focus approach on producing larger coagulation in swine liver  
著 者 名 : Sasaki, K., Azuma, T., Kawabata, K., Shimoda, M., Kokue, E. and Umemura, S.  
学術雑誌名 : Ultrasound in Medicine and Biology  
巻・号・頁・発行年 : 29(4) : 591-599, 2003
- 4) 題 目 : Sonodynamic treatment of murine tumor through second-harmonic superimposition  
著 者 名 : Sasaki, K., Kawabata, K., Yumita, N. and Umemura, S.  
学術雑誌名 : Ultrasound in Medicine and Biology  
巻・号・頁・発行年 : 30(9) : 1233-1238, 2004

## 既発表学術論文

- 1) 題 目 : Role of high-affinity folate-binding protein in the plasma distribution of tetrahydrofolate in pigs  
著 者 名 : Sasaki, K., Natsuhori, M., Shimoda, M., Saima, Y. and Kokue, E.  
学術雑誌名 : American Journal of Physiology  
巻・号・頁・発行年 : 270(1) : 105-110, 1996
- 2) 題 目 : Sonodynamically induced antitumor effect of a gallium-porphyrin complex, ATX-70  
著 者 名 : Yumita, N., Sasaki, K., Umemura, S. and Nishigaki, R.  
学術雑誌名 : Japanese Journal of Cancer Research  
巻・号・頁・発行年 : 87(3) : 310-316, 1996
- 3) 題 目 : Sonodynamically induced antitumor effect of gallium-porphyrin complex by focused ultrasound on experimental kidney tumor  
著 者 名 : Yumita, N., Sasaki, K., Umemura, S., Yukawa, A. and Nishigaki, R.  
学術雑誌名 : Cancer Letter  
巻・号・頁・発行年 : 112 (1) : 79-86, 1997
- 4) 題 目 : In vitro and in vivo enhancement of sonodynamically active cavitation by second-harmonic superimposition  
著 者 名 : Umemura, S., Kawabata, K. and Sasaki, K.  
学術雑誌名 : The Journal of the Acoustical Society of America  
巻・号・頁・発行年 : 101(1) : 569-577, 1997
- 5) 題 目 : Binding characteristics of folate to high affinity folate binding protein purified from porcine serum  
著 者 名 : Natsuhori, M., Okada, M., Ida, R., Sasaki, K., Shimoda, M. and Kokue, E.  
学術雑誌名 : Journal of Veterinary Medical Science  
巻・号・頁・発行年 : 61(7) : 743-748, 1999

- 6) 題 目 : Intracorporeal imaging and differentiation of living tissue with an ultra-high-frequency ultrasound probe  
著 者 名 : Yokosawa, K., Sasaki, K., Umemura, S., Shinomura, R., Ishikawa, S., Sano, S. and Ito, Y.  
学術雑誌名 : Ultrasound in Medicine and Biology  
卷・号・頁・発行年 : 26(4) : 503-507, 2000
- 7) 題 目 : Sonodynamic effect of erythrosin B on sarcoma 180 cells in vitro  
著 者 名 : Yumita, N., Kawabata, K., Sasaki, K. and Umemura, S.  
学術雑誌名 : Ultrasonics Sonochemistry  
卷・号・頁・発行年 : 9(5) : 259-265, 2002
- 8) 題 目 : Ovarian and hormonal response of female goats to active immunization against inhibin  
著 者 名 : Medan, M. S., Watanabe, G., Sasaki, K., Nagura, Y., Sakai, H., Fujita, M., Sharawy, S. and Taya, K.  
学術雑誌名 : Journal of Endocrinology  
卷・号・頁・発行年 : 177(2) : 287-294, 2003
- 9) 題 目 : Functional and histological changes in rat femoral arteries by HIFU exposure  
著 者 名 : Ishikawa, T., Okai, T., Sasaki, K., Umemura, S., Fujiwara, R., Kushima, M., Ichihara, M. and Ichizuka, K.  
学術雑誌名 : Ultrasound in Medicine and Biology  
卷・号・頁・発行年 : 29(10) : 1471-1477, 2003
- 10) 題 目 : Transrectal ultrasonic diagnosis of ovarian follicular cysts in goats and treatment with GnRH  
著 者 名 : Medan, M. S., Watanabe, G., Sasaki, K. and Taya, K.  
学術雑誌名 : Domestic Animal Endocrinology  
卷・号・頁・発行年 : 27(2) : 115-124, 2004
- 11) 題 目 : Early pregnancy diagnosis by means of ultrasonography as a method of improving reproductive efficiency in goats  
著 者 名 : Medan, M. S., Watanabe, G., Absy, G., Sasaki, K., Sharawy, S. and Taya, K.  
学術雑誌名 : Journal of Reproduction and Development  
卷・号・頁・発行年 : 50(4) : 391-397, 2004
- 12) 題 目 : Sonodynamic therapy on chemically induced mammary tumor: Pharmacokinetics, tissue distribution and sonodynamically induced antitumor effect of porfimer sodium  
著 者 名 : Yumita, N., Okuyama, N., Sasaki, K. and Umemura, S.  
学術雑誌名 : Cancer Science  
卷・号・頁・発行年 : 95(9) : 765-769, 2004