

〔特集〕 注目研究 in CFD30

# 超音波によるバブルリポソームの制御に関する シミュレーション手法の開発

東京大学 大学院工学系研究科機械工学専攻  
大阪大学 大学院基礎工学研究科機能創成専攻生体工学領域  
日本大学 生産工学部機械工学科  
東京大学 大学院工学系研究科機械工学専攻

速 水 尚  
伊 井 仁 志  
沖 田 浩 平  
高 木 周\*

## Development of the simulation method on the control of bubble liposome by ultrasound

Nao Hayami, Department of Mechanical Engineering, The University of Tokyo.

Satoshi Ii, Division of Bioengineering, Department of Mechanical Science and Bioengineering, Graduate School of  
Engineering Science, Osaka University.

Kohei Okita, Department of Mechanical Engineering, College of Industrial Technology, Nihon University.

\*Shu Takagi, Department of Mechanical Engineering, The University of Tokyo.

\*E-mail for correspondence: takagi@mech.t.u-tokyo.ac.jp

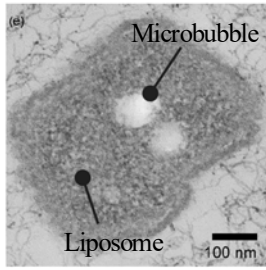
### 1 緒言

直径  $5\mu\text{m}$  以下のマイクロバブルは、超音波血管造影剤としてすでに実用化されている。このマイクロバブルを、ドラッグデリバリーシステム (Drug Delivery System: DDS) にも利用するマイクロバブル DDS が、新しいタイプの DDS として期待されている<sup>1)</sup>。マイクロバブル DDS の薬剤キャリアの一例として、Fig. 1 に示す帝京大の丸山らが開発したバブルリポソームがある<sup>2)</sup>。バブルリポソームは脂質二重膜のカプセル構造内部にマイクロバブルを保持した構造を持ち、薬剤の大量輸送および超音波造影が可能であるという特徴を有する。加えて、超音波による薬剤放出制御が可能であることも示唆されており、Wallace ら<sup>3)</sup>はキャビテーションによる気泡の崩壊圧を利用することで、脂質膜カプセルの破壊に成功している。しかし、キャビテーションを利用した手法では高強度の超音波が必要となるため、周辺組織への侵襲が問題となる。

本研究では、より低侵襲な薬剤放出制御の手段とし

て、超音波により誘起される気泡の並進運動に着目している。気泡は音場から音響放射力を受けることが知られており、尾崎ら<sup>4)</sup>は超音波音場を制御することにより気泡の二次元的な位置制御に成功している。この技術はバブルリポソームの生体内での位置制御にも応用可能であると考えられる。また牛嶋ら<sup>5)</sup>は、ピペットで固定したバブルリポソームに低強度の超音波を照射し、内部気泡の並進を誘起することで、カプセル膜の破壊に成功している。

一方で、実際に生体内で利用することを考えると、バブルリポソームの位置制御から薬剤放出制御まで遠隔で気泡運動を制御することにより行う必要があるが、その具体的な制御手法については確立されていない。そこで本研究では超音波によって誘起された気泡の並進運動によるバブルリポソームの位置制御手法および膜破壊手法を検討するためのシミュレーション手法を確立することを目的とする。開発された手法を用いて、流体・気泡・膜構造の三次元シミュレーションを実施し、バブルリポソームの超音波音場内での挙動について解析を行う。

Fig. 1 Bubble Liposome<sup>1)</sup>

## 2 手法

### 2.1 気泡と流体の連成

#### 2.1.1 時間スケールの異なる二つの運動

生体内で用いられるミクロンサイズのマイクロバブルを考えた場合、超音波音場内で、その体積振動と並進運動の時間スケールが大きく異なる。体積振動の周期は0.1-1.0  $\mu\text{s}$  程度であるのに対して、音響放射力による並進運動の時間スケールは、数 ms から数 s 程度である。これらの時間スケール違いを踏まえると、体積振動を追跡する時間刻みで並進運動を扱うことは計算負荷の観点から見て極めて困難である。そこで本手法では流れ場と音場の計算を分離して行った。

音場 $P$ については解析的な線形波の重ね合わせにより表現するに留め、次式により気泡の体積振動を記述する。この式は Rayleigh-Plesset 方程式と呼ばれる。

$$R\ddot{R} + \frac{3}{2}\dot{R}^2 = \frac{1}{\rho} \left( P_B - P_\infty - \frac{2\sigma}{R} - \frac{4\mu\dot{R}}{R} \right) \quad (1)$$

ここで、 $R$ は気泡半径、 $\rho$ 、 $\mu$ は周囲流体の密度および粘性、 $\sigma$ は表面張力を表す。また $P_B$ 、 $P_\infty$ はそれぞれ気泡内部の圧力および十分遠方での圧力を表す。

流れ場については、時間平均的な速度場  $\mathbf{u}$  および圧力場  $p$  を考え、次式に示す非圧縮の質量保存則および運動量保存則により記述する。

$$\nabla \cdot \mathbf{u} = 0 \quad (2)$$

$$\rho \frac{D\mathbf{u}}{Dt} = -\nabla p + \mu \nabla^2 \mathbf{u} + \bar{\mathbf{F}} \quad (3)$$

体積振動の時間平均的な効果は式(3)中に音響放射力 $\bar{\mathbf{F}}$ として表現されている。

本手法では、並進運動すなわち式(2)、(3)を $\Delta t$ により時間発展させ、体積振動すなわち式(1)を $\Delta t_B$  ( $\Delta t_B \ll \Delta t$ )により時間発展させることで、流れ場と音場の分離を行った。

#### 2.1.2 音響放射力

音場中の気泡は、気泡の体積振動と周囲流体の音圧勾配とに起因する音響放射力を受けることが知られている<sup>6)</sup>。この力は、気泡径に比べ音波の波長が十分に大きいとき次式で表されることが知られている。マイクロバブルの気泡径は  $\mu\text{m}$  程度であり、一方 MHz 帯の超音波の波長は mm 程度であるため、この近似は妥当であると言える。

$$\bar{\mathbf{F}} = -\langle \nabla P \rangle \quad (4)$$

ここで $\langle \rangle$ は一周期における時間平均値であることを示す。

この力は、気泡が波数 $k$ 、角周波数 $\omega$ 、静水圧 $p_0$ 、音圧振幅 $P_A$ の一次元定在波 $P_\infty(y, t) = p_0 + P_A \cos(\omega t - ky)$ 中に存在するとき、微小半径振幅を仮定した線形化理論から次式で表せることが知られている。

$$\bar{F}_{\text{trav}} = \frac{2\pi k R_0 P_A^2}{\rho} \frac{2\beta_{\text{tot}}\omega}{(\omega_0^2 - \omega^2)^2 + (2\beta_{\text{tot}}\omega)^2} \quad (5)$$

ここで $\omega_0^2$ は気泡の共振角周波数を、 $\beta_{\text{tot}}$ は減衰係数を表す。この式から、一次元進行波中では、気泡は常に音波の進行方向に力を受けることが分かる。

また、一次元定在波 $P_\infty(y, t) = p_0 + 2P_A \sin(ky) \cos(\omega t)$ 中に存在する場合は次式で表される。

$$F_{B1} = \frac{4\pi k R_0 P_A^2 \sin(2ky)}{\rho} \frac{\omega_0^2 - \omega^2}{(\omega_0^2 - \omega^2)^2 + (2\beta_{\text{tot}}\omega)^2} \quad (6)$$

上式から、 $\omega_0^2 > \omega^2$ のとき、すなわち気泡半径が小さく、その共振周波数が照射超音波の周波数より大きいときは腹へ、 $\omega_0^2 < \omega^2$ のとき、すなわち気泡半径が大きくなり、その共振周波数が小さいときは節へと力を受けることになる。

#### 2.1.3 Force Coupling Method

2.1.1 節および 2.1.2 節で述べた音響放射力の数値的な扱いについては、Maxey らの Force Coupling Method (FCM)<sup>7)</sup>を用いた。FCMは粒子周りの流れを再現するための手法であり、ストークス流れに基づいて定式化された手法であるが、有限の  $\text{Re}$  数流れにも適用可能であることが示されている。

FCM においては気泡が占める体積部分にも流体が満たされるため、計算領域全域において式(2)(3)に示す支配方程式が適用される。いま粒子の回転を無視すれば、気泡界面における境界条件は次式で表される。

$$\mathbf{u} = \mathbf{V}^{(n)} \text{ at } |\mathbf{x} - \mathbf{Y}^{(n)}| = a^{(n)} \quad (7)$$

ここで、 $\mathbf{V}^{(n)}$ 、 $\mathbf{Y}^{(n)}$ 、 $a^{(n)}$ はそれぞれ  $n$  番目の気泡の並進速度、重心位置および気泡半径を表す。FCM では粒子径のスケールで平滑化したエンベロープ関数 $\Delta(\mathbf{x})$ を用いて次式により流体が気泡から受ける力 $\mathbf{f}(\mathbf{x}, t)$ を計算する。

$$\mathbf{f}(\mathbf{x}, t) = \sum_{n=1}^N \bar{\mathbf{F}}^{(n)} \Delta(\mathbf{x} - \mathbf{Y}^{(n)}(t)) \quad (8)$$

ここで、 $N$ は領域内の気泡の総数を表す。また $\Delta(\mathbf{x})$ は次式で表される。

$$\Delta(\mathbf{x}) = (2\pi\sigma^2)^{-3/2} \exp\left(-\frac{\mathbf{x}^2}{2\sigma^2}\right) \quad (9)$$

また気泡の並進速度については、同様のエンベロープ関数を用いて次式により求める。

$$\mathbf{V}^{(n)}(t) = \int_{\Omega} \mathbf{u}(\mathbf{x}, t) \Delta(\mathbf{x} - \mathbf{Y}^{(n)}(t)) d^3\mathbf{x} \quad (10)$$

ここで、 $\Omega$ は流体の占める全領域を表す。式(9)の $\sigma$ は孤立粒子のストークス抵抗の式 $\mathbf{F} = 6\pi\mu a\mathbf{V}$ を満たすように定められており、次式を満たす。

$$\frac{a}{\sigma} = \sqrt{\pi} \quad (11)$$

FCMは低解像度（粒子あたり4-6格子）で流れ場を再現できる手法であるが、あくまで近似的な手法であり、厳密には粒子表面における境界条件を満足しないことに注意されたい。Maxey らにも、 $r/a \leq 1.25$ においては誤差が生じることが指摘されている。

## 2.2 膜と流体の連成

### 2.2.1 膜モデルと Immersed Boundary 法

カプセル径に比べ脂質膜の厚さは非常に小さいため、本手法では膜厚を0とし膜の慣性を無視した。このとき膜面での境界条件は次式で与えられる。

$$[[\mathbf{u}_1 - \mathbf{u}_2]]_m = 0 \quad (12)$$

$$[[p_1 - p_2]]_m = -\mathbf{F}_m \cdot \mathbf{n} \quad (13)$$

ここで添え字1, 2はそれぞれベシクル内外を表す。 $\mathbf{F}_m$ は膜力であり、 $\mathbf{n}$ は膜面上の外向き法線ベクトルを表す。

本手法では式(12), (13)の境界条件の扱いに対して、Peskin の Immersed Boundary (IB) 法<sup>8)</sup>を用いた。IB法では格子スケールで平滑化されたデルタ関数 $D(\mathbf{x})$ を用いて、不連続に満たされるべき境界条件を平滑化して記述する。 $D(\mathbf{x})$ としては次式を用いた。

$$D(\mathbf{x}) = \frac{1}{L^3} \varphi\left(\frac{x}{L}\right) \varphi\left(\frac{y}{L}\right) \varphi\left(\frac{z}{L}\right) \quad (14)$$

$\varphi(d)$

$$= \begin{cases} \frac{1}{8} \left(3 - 2|d| + \sqrt{1 + 4|d| - 4|d|^2}\right), & |d| \leq 1 \\ \frac{1}{8} \left(5 - 2|d| - \sqrt{-7 + 12|d| - 4|d|^2}\right), & 1 \leq |d| \leq 2 \\ 0, & \text{otherwise} \end{cases} \quad (15)$$

ここで $L$ は格子幅を表す。

### 2.2.2 膜力

リポソーム膜は、膜面上を自由に移動可能である脂質分子により構成され、その表面積および内部体積は一定であることが知られている。ゆえに、非圧縮性を有する二次元流動膜としてモデル化される。またリポソーム膜は非常に薄い膜ではあるが、大きな曲げに対して抵抗を示すものとしてモデル化される<sup>9)</sup>。以上を踏まえ本手法では、リポソーム膜を次式に示す Helfrich モデル<sup>8)</sup>により表現した。

$$E = E_\sigma + E_b = \int_{\Gamma} \sigma dA + \int_{\Gamma} 2\kappa H^2 dA \quad (16)$$

ここで、 $E$ 、 $E_\sigma$ 、 $E_b$ はそれぞれ膜の全エネルギー、弾性エネルギー、曲げエネルギーであり、 $\kappa$ は曲げ剛性、 $H$ は平均曲率、 $\Gamma$ はリポソーム膜を表す。 $\sigma$ は疑似的な表面張力であり、流動膜の非圧縮性を課するためのラグランジュの未定乗数となっている。 $\sigma$ については、局所的な面積変化率に比例するとし次式で与えた。

$$\sigma = \sigma_0 \left( \frac{dS}{dS_0} - 1 \right) \quad (17)$$

ここで、 $\sigma_0$ は比例定数、 $dS$ は微小面積要素、 $dS_0$ は初期状態における微小面積要素である。

膜力は膜のエネルギーの第一変分を考えることにより、次式で与えられる<sup>10)</sup>。

$$\mathbf{F}_\sigma = -\frac{\delta E_\sigma}{\delta \mathbf{X}} = \nabla_s \sigma - 2H\sigma \mathbf{n} \quad (18)$$

$$\mathbf{F}_b = -\frac{\delta E_b}{\delta \mathbf{X}} = 2\kappa(\Delta_s H + 2H(H^2 - K))\mathbf{n} \quad (19)$$

$$\mathbf{F}_m = \mathbf{F}_\sigma + \mathbf{F}_b \quad (20)$$

## 2.3 モデルの概要と計算の流れ

### 2.3.1 バブルリポソームの計算モデル

本研究では、静止流体中に存在するバブルリポソームを解析対象とする。また破膜は考慮せず、限界張力 $\sigma_{\max}$ を設定し、これにより膜破壊の評価を行う。

Fig. 2 にバブルリポソームの計算モデルを示す。本研究では、毛細血管の太さを考慮し、リポソーム径を5  $\mu\text{m}$  に固定して解析を行った。リポソーム内外には水が満たされているものとし、非圧縮の流体については固定矩形格子でオイラー的に記述した。気泡はその重心点のみをラグランジュ的に記述し、体積力として音響放射力を作用させるものと見なす。また簡単のため、リポソーム内部に単一の気泡が含まれる場合のみを考えている。膜構造については、三角形要素の非構造格子でラグランジュ的に記述し、体積力として膜力を作用させるものとしている。

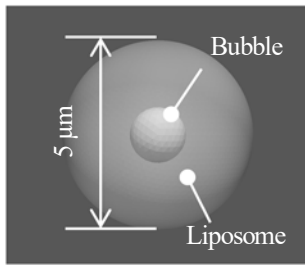


Fig. 2 Computational Bubble Liposome model

### 2.3.2 流れ場の計算手順

流れ場の計算は Fig. 3 に示す手順で行う。Fig. 3 にはループの中身を示してある。まず初めに音響放射力および膜力を計算する。続いて、流れ場に力を分配し、得られた体積力の情報を元に流れ場の支配方程式を時間発展させる。最後に、新たに得られた速度場の情報を元に気泡位置および膜位置を更新する。

繰り返しになるが、音響放射力の分配および気泡位置の更新には FCM を、膜力の分配および膜位置の更新には IB 法を用いている。

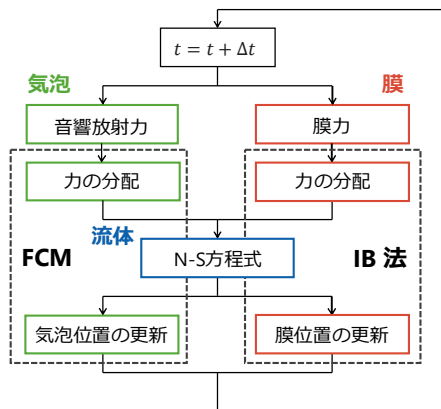


Fig. 3 Flow chart of the computation of the flow field

### 2.3.3 音場の計算手順

音場については流れ場よりも短い時間刻みで計算を行う。この計算はすべて、Fig. 3 における音響放射力の部分に含まれる。音場の計算手順を Fig. 4 に示す。ここでは、まず式(1)に示した気泡の体積振動を記述する Rayleigh-Plesset 方程式を解き、続いて音場を更新する。音場については、音源を多数の点音源に分割し、各点音源からの線形波の重ね合わせにより解析的に表現するにとどめている。これは次式で表される。

$$p(\mathbf{r}, t) = \sum_j \frac{P_{Aj}}{|\mathbf{r} - \mathbf{r}_{sj}|} e^{i(\omega t - k|\mathbf{r} - \mathbf{r}_{sj}|)} \quad (21)$$

ここで、 $\mathbf{r}$  は気泡近傍の位置、 $\mathbf{r}_{sj}$  は点音源  $j$  の位置、 $P_{Aj}$  は点音源  $j$  から単位距離だけ離れた点における音圧振幅を表す。

以上の処理に得られた気泡の体積および音圧勾配の

情報から、気泡に作用する瞬間の力を求める。これらの処理を繰り返し、流体の時間刻み幅の分だけ時間発展させた後、平均化処理を行い、音響放射力を流体側へと返す。

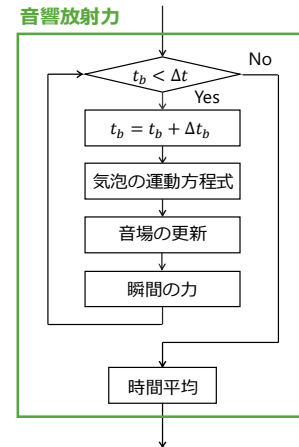


Fig. 4 Flow chart of the computation of the sound field

## 3 結果と考察

### 3.1 FCM 適用の妥当性

ここでは、ベシクル内の狭い領域に閉じ込められた気泡の運動に対して計算結果の検証を行った。具体的には、バブルリポソームを簡略化した物理モデルに対し、ストークス流れの一般解として知られる Lamb の一般解から解析解を導出し、これと計算結果との比較を行った。

#### 3.1.1 Lamb の一般解

ストークス流れの支配方程式  $\nabla \cdot \mathbf{u} = 0$ ,  $\mu \nabla^2 \mathbf{u} = \nabla p$  の一般解は Lamb の一般解と呼ばれ次式で表される<sup>11)</sup>。

$$\mathbf{u} = \sum_{\substack{n=-\infty \\ n \neq -1}}^{\infty} \left[ \frac{(n+3)r^2 \nabla p_n}{2\mu(n+1)(2n+3)} - \frac{nxp_n}{\mu(n+1)(2n+3)} \right] + \sum_{n=-\infty}^{\infty} [\nabla \Phi_n + \nabla \times (\mathbf{x} \chi_n)] \quad (22)$$

ここで、 $p_n$ ,  $\Phi_n$ ,  $\chi_n$  は  $n$  次の球面調和関数である。

#### 3.1.2 簡略化したバブルリポソームの物理モデルの解析解

簡略化した物理モデルを Fig. 5(a)に示す。ここでは、リポソームを速度を持たない半径  $r_0$  の球殻と見なし、この中心部に気泡を見立てた半径  $a$  の球形粒子が速度  $U$  で並進しているモデルを考えた。

いま粒子の速度は  $\mathbf{U} = U \mathbf{e}_z = U \cos \theta \mathbf{e}_r + U \sin \theta \mathbf{e}_\theta$  と表せるから、球座標系において流れの境界条件は次式で与えられる。

$$\mathbf{u}|_{r=a} = \mathbf{U} \Leftrightarrow u_r|_{r=a} = U \cos \theta, u_\theta|_{r=a} = -U \sin \theta \quad (23)$$

$$\mathbf{u}|_{r=r_0} = \mathbf{0} \Leftrightarrow u_r|_{r=r_0} = 0, u_\theta|_{r=r_0} = 0 \quad (24)$$

この境界条件より, Lamb の一般解において  $P_1(\cos \theta) = \cos \theta$  のみが必要となる事が分かる. 故に式(22)において  $n = -2$  および  $n = 1$  の場合を考えることにより, 解析解は次式の形を満足することが分かる.

$$u_r = \left[ \left\{ A_{-2} \left( \frac{a}{r} \right) - 2B_{-2} \left( \frac{a}{r} \right)^3 \right\} + \left\{ \frac{A_1}{10} \left( \frac{r}{a} \right)^2 + B_1 \right\} \right] \times U \cos \theta \quad (25)$$

$$u_\theta = \left[ \left\{ \frac{A_{-2}}{2} \left( \frac{a}{r} \right) + B_{-2} \left( \frac{a}{r} \right)^3 \right\} + \left\{ \frac{A_1}{5} \left( \frac{r}{a} \right)^2 + B_1 \right\} \right] \times (-U \sin \theta) \quad (26)$$

各係数は次式となる.

$$A_{-2} = \frac{6(1 - \alpha^5)}{(1 - \alpha)^4(4 + 7\alpha + 4\alpha^2)} \quad (27)$$

$$B_{-2} = \frac{1 - \alpha^3}{(1 - \alpha)^4(4 + 7\alpha + 4\alpha^2)} \quad (28)$$

$$A_1 = \frac{30\alpha^3(1 - \alpha^2)}{(1 - \alpha)^4(4 + 7\alpha + 4\alpha^2)} \quad (29)$$

$$B_1 = -\frac{\alpha(9 - 5\alpha^2 - 4\alpha^4)}{(1 - \alpha)^4(4 + 7\alpha + 4\alpha^2)} \quad (30)$$

ここで,  $\alpha$  は気泡径とリポソーム径の比を表す. またこの気泡が受ける抗力は気泡表面に生じる応力を積分することにより, 次式の形で記述できる.

$$F_z = -4\pi A_{-2} \mu a U \quad (31)$$

### 3.1.3 解析解と FCM による数値解との比較

解析解と FCM による数値計算結果の比較を Fig. 5(b) に示す. ここでは, 横軸に気泡中心から並進方向の距離  $x_1$  をとり, 縦軸に並進方向の流体の速度  $u_1$  を示している. また気泡半径および球殻の半径はそれぞれ  $0.5 \mu\text{m}$  および  $2.5 \mu\text{m}$  とした. 実際の計算では, リポソームを固定することができないため, 計算値はベシクルの重心から見た相対速度をプロットした. 簡略化したモデルではあるが, 気泡外部の流動に注目すれば, 解析解と計算による値とが精度良く一致することが確認できる.

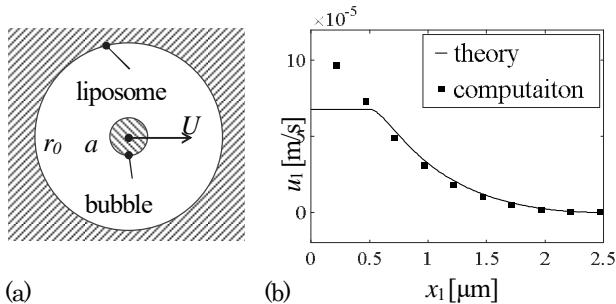


Fig.5 (a) Simplified model of bubble liposome (b) Profile of velocity  $u_1$  along the streamwise axis  $x_1$

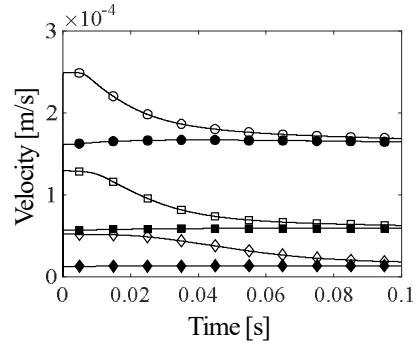


Fig. 6 Time evolution of velocity; ○, ●: 2.0  $\mu\text{m}$ -bubble and vesicle; □, ■: 1.5  $\mu\text{m}$ ; ◇, ◆: 1.0  $\mu\text{m}$

## 3.2 単一のバブルリポソーム

### 3.2.1 定在波音場中での並進運動

ここでは, 音圧振幅 10 kPa, 周波数 1 MHz の一次元定在波の節と腹の中間点にバブルリポソームを置き, その速度の時間変化を調べた. 各時刻における気泡及びベシクルの重心速度の時間変化を Fig. 6 に示す. ここでは気泡直径が 1.0  $\mu\text{m}$ , 1.5  $\mu\text{m}$ , 2.0  $\mu\text{m}$  の三通りの結果を示している. いずれの場合も, 音場形成直後は気泡とベシクルとの間には速度の乖離が存在するが, 気泡がベシクル膜に近づくにつれ両者の速度が一致していく様子が確認できる.

### 3.2.2 集束超音波音場中での挙動

バブルリポソームを実際に生体に向けて利用することを考えると, 音圧振幅は小さければ小さいほど好ましい. またキャリアの位置制御性を考えると, 膜破壊が生じるまでの移動距離は小さければ小さいほど好ましい. すなわち, カプセル膜はできるだけ動かさずに内部の気泡のみを動かすことが求められる. よって, ここでは, 限界張力を  $\sigma_{\max} = 5.0 \times 10^{-4} \text{ N/m}$  をと設定し, 複数の気泡半径  $R_0$  に対して, 膜に限界張力を発生させるために必要な最小の音圧振幅  $P_A$ , および限界張力が生じるまでにリポソームが移動した距離  $L$  を評価した.

解析対象とした超音波照射系を Fig. 7 に示す. ここでは, 集束超音波の焦点部分にトラッピングされた単一のバブルリポソームに対し, 別の超音波を照射し気泡を駆動する状況を考えている. 音源 A, A', B はすべて集束超音波を発生させるトランスデューサであり, 焦点距離は 40 mm, 直径は 40 mm である. 音源 A, A' はともに周波数 1 MHz の集束超音波を形成し, その焦点における音圧振幅は 10 kPa である. これら A, A' により三次元的な定在波音場を形成し, その頂点部分に気泡をトラッピングする. 焦点部分は定在波の腹と見なせるため, 2.1.2 節での議論から照射超音波の周波数 1 MHz よりも気泡の共振周波数が大きければ, 気泡は焦点部分にトラ

ッピングできる。一方、音源Bは周波数を各気泡の共振周波数と一致させ、音圧振幅については限界張力を与える最小の音圧振幅とした。ここで音源Bの周波数を気泡の共振周波数に一致させたのは、これらを一致させたときに、与えられた音圧振幅のなかで最も効率的に気泡に並進運動を誘起できるためである。このことは、2.1.2節の一次元進行波中の気泡が受ける音響放射力の式(5)からも確認できる。

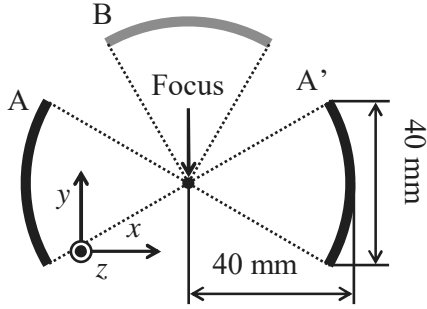


Fig. 7 The setting of transducers

また実際の生体への照射の妥当性を考えると、生体での減衰を踏まえれば、周波数を 5 MHz 以下に抑えることが求められる。したがって、ここでは解析対象として、気泡の共振周波数が音源 A, A' の周波数 1 MHz 以上であり、かつ 5 MHz 以下の気泡径を考える。具体的には、2.00  $\mu\text{m}$ , 2.25  $\mu\text{m}$ , 2.50  $\mu\text{m}$ , 2.75  $\mu\text{m}$ , 3.00  $\mu\text{m}$ , の 5 パターンについて解析を行なった。これらの気泡径に対応する共振周波数はそれぞれ 4.3 MHz, 3.8 MHz, 3.3 MHz, 3.0 MHz, 2.7 MHz となっている。2.2.1 節でも触れたが、ここではリポソーム径は 5  $\mu\text{m}$  で固定することに注意されたい。

Table 1 に解析結果をまとめる。各気泡 2.00  $\mu\text{m}$ , 2.25  $\mu\text{m}$ , 2.5  $\mu\text{m}$ , 2.75  $\mu\text{m}$ , 3.0  $\mu\text{m}$  に対する焦点での音圧振幅は 82 kPa, 77 kPa, 72 kPa, 69 kPa, 67 kPa となった。また最大張力が作用するまでの移動距離はそれぞれ、5.6  $\mu\text{m}$ , 8.1  $\mu\text{m}$ , 11.7  $\mu\text{m}$ , 17.2  $\mu\text{m}$ , 26.0  $\mu\text{m}$  となった。気泡径が大きいほど必要な限界張力を生じさせるための音圧振幅は小さくなるが、リポソームの移動距離は大きくなることから分かる。Table 1 の気泡径と音圧振幅およびリポソーム重心の移動距離についての対数プロットを Fig. 8, Fig. 9 に示す。ここでは横軸に各気泡半径  $R_0$  をリポソーム半径  $r_0 = 2.5 \mu\text{m}$  で除した無次元量の対数  $\log(R_0/r_0)$  を取り、Fig. 8 の縦軸には音圧振幅  $P_A$  を静水圧  $p_0 = 100 \text{ kPa}$  で除した無次元量の対数  $\log(P_A/p_0)$  を、Fig. 9 にはリポソーム重心の移動距離  $x$  をリポソーム直径  $2r_0 = 5.0 \mu\text{m}$  で除した無次元量の対数  $\log(x/2r_0)$  をとっている。Fig. 8, Fig. 9 からいずれにおいてもべき乗則が存在することが推察できる。それぞれの対数プロットにおいて最小二乗法から近似直線を求めたところ次式を得た。

$$\log(P_A/p_0) = -0.51 \times \log(R_0/r_0) - 0.67 \quad (32)$$

$$\log(x/2r_0) = 3.74 \times \log(R_0/r_0) - 3.50 \quad (33)$$

式(31)から、 $P_A \propto R_0^{-0.5}$  より  $R_0 P_A^2 \propto 1$  である。本節で考えた系では、音源Bによる音波は進行波であるから、2.1.2 節の一次元進行波中での理論と類似の振る舞いを示すことが予想される。そこで、一次元進行波中の自由界面気泡にはたらく音響放射力の式(5)において、 $\omega = \omega_0$  の場合を考えると、式(5)よりこの力は次式で表される。

$$\bar{F}_{trav}|_{\omega=\omega_0} = \frac{\pi}{2\mu c} R_0^3 P_A^2 \quad (34)$$

これを変形することにより、次式を得る。

$$\frac{\bar{F}_{trav}|_{\omega=\omega_0}}{R_0^2} \propto R_0 P_A^2 \propto 1 \quad (35)$$

すなわち、膜に生じる張力が固定されたとき、気泡スケールで考えた圧力の次元を持つ項  $\bar{F}_{trav}|_{\omega=\omega_0}/R_0^2$  が一定となる事が分かる。

また、式(33)から  $(L/2r_0) \propto \alpha^{3.74}$ 。これについては、3.1.2 節の議論から定性的に整理される。3.1.2 節の議論では、式(31), (27)から気泡に生じる抗力は気泡径とリポソーム径の比を  $\alpha$  として次式で表される。

$$F_z = -4\pi A_{-2} \mu \alpha U \quad (36)$$

$$A_{-2} = \frac{6(1 - \alpha^5)}{(1 - \alpha)^4 (4 + 7\alpha + 4\alpha^2)} \quad (37)$$

これより  $\alpha$  が大きいほど、気泡に生じる抗力が大きくなるため、気泡とリポソームの相対速度が小さくなり、結果的にリポソームがより多くの距離を動いてしまうものと考えられる。

Table 1 Values when pseudo surface tension is fixed at  $5.0 \times 10^{-4} \text{ N/m}$

Bubble diameter [ $\mu\text{m}$ ]	Resonant frequency [MHz]	Acoustic pressure amplitude [kPa]	Moving distance [ $\mu\text{m}$ ]
2.00	4.3	82	5.6
2.25	3.8	77	8.1
2.50	3.3	72	11.1
2.75	3.0	69	17.2
3.00	2.7	67	26.0

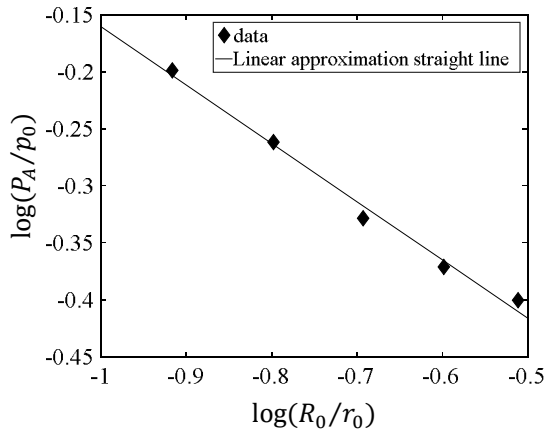


Fig. 8 Log plot of (acoustic pressure amplitude)/(static pressure) with respect to the ratio of the radius of bubbles to that of liposome

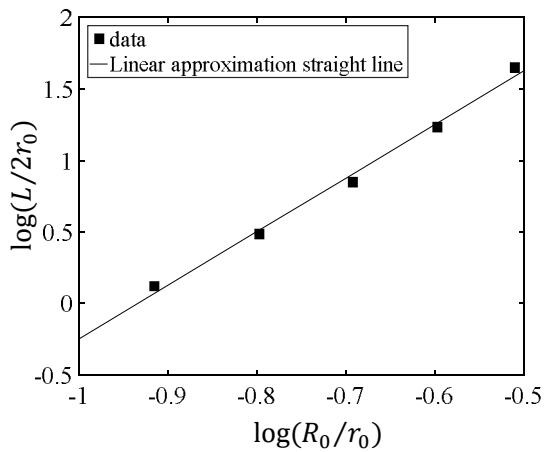


Fig. 9 Log plot of (traveling distance)/(liposome diameter) with respect to the ratio of the radius of bubbles to that of liposome

### 3.3 バブルリポソームクラスター

実際にバブルリポソームを薬剤キャリアとして使う場合には、バブルリポソームが複数存在する系に対して超音波を照射したときの挙動を考慮する必要がある。ここでは、気泡同士が十分離れているときに成立する気泡間相互作用のモデルを考え、3.1.1節で用いた音源  $A$ ,  $A'$  により形成される集束超音波の焦点近傍に存在するバブルリポソームクラスターのシミュレーションを行った。

まず、直径  $1.5 \mu\text{m}$  の自由界面気泡を内包した 27 個のバブルリポソームを焦点近傍に対称に配置した。体積振動自体は自由界面気泡の運動方程式を解いているが、並進運動では球形粒子として扱っていることに注意されたい。計算結果を Fig. 10 に示す。定在波の腹近傍では式 (6) より音響放射力は非常に小さな値をとるが、気泡間相互作用によりバブルリポソームの焦点への集積が促進されていることが確認できる。

続いて、直径  $1.0 \mu\text{m}$  の気泡を 6 個、直径  $1.5 \mu\text{m}$  の気泡を 15 個、直径  $2.0 \mu\text{m}$  の気泡を 6 個焦点近傍に配置した。ここでは気泡径にのみばらつきを持たせ、配置自体は先述の計算例と同じにしてある。結果を Fig. 11 に示す。先程の対称な系とは計算時間が異なることに注意されたい。均一な気泡径しか存在しない場合に比べ、非対称に集積する様子が確認できる。

Fig. 12 にそれぞれの計算における気泡重心の軌跡を示す。この図からも、気泡径のばらつきが気泡の凝集の様態に影響を及ぼしていることが確認できる。

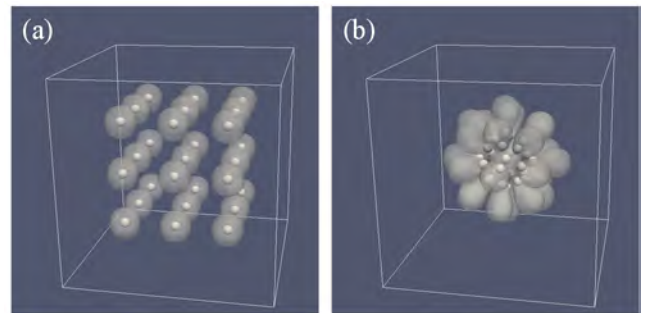


Fig. 10 Symmetrically-placed 27 bubble liposomes in the focal point; (a)  $t=0 \text{ ms}$ ; (b)  $t=13 \text{ ms}$

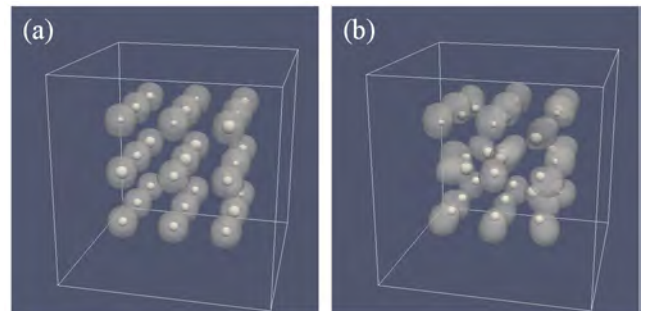


Fig. 11 Asymmetrically-placed 27 bubble liposome in the focal point; (a)  $t=0 \text{ ms}$ ; (b)  $t=1 \text{ ms}$

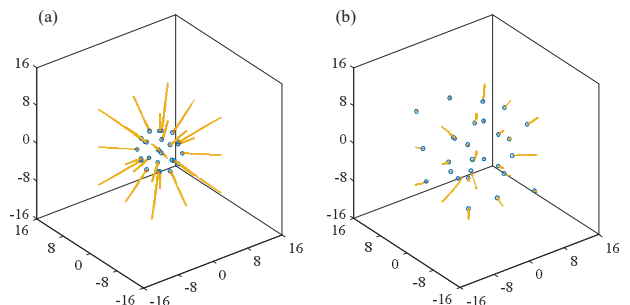


Fig. 12 Trajectory of 27 bubbles in the focal point; (a) symmetrically-placed bubbles for 13 ms; (b) asymmetrically-placed bubbles for 1 ms

#### 4 結論

バブルリポソームの超音波による非接触での位置制御手法および膜破壊手法の確立を目指し、超音波内でのバブルリポソームの挙動予測のためのシミュレーション手法の開発を行った。また、この手法を用いて、気泡の並進運動を誘起することにより膜破壊を効率よく行うことに関して、以下の知見を得た。

開発したシミュレーション手法の概要を以下に記す。

- 気泡の持つ時間スケールの異なる二つの運動、すなわち、音場内での体積振動および、音響放射力による並進運動を扱うべく、流れ場の計算と超音波音場の計算を分離し、気泡の体積振動についてはその時間平均的な効果、すなわち音響放射力のみを考慮した。
- 気泡の並進運動の扱いには Force Coupling Method を用い、膜構造の扱いには Immersed Boundary 法を用いた。これらを組み合わせることで、気泡および膜構造が混在する系を扱うことに成功した。

この手法を用いた超音波音場内でのバブルリポソームの挙動解析により、以下の知見を得た。

- 音響放射力に起因する気泡の並進運動により、リポソーム膜が変形しながら駆動する様子を再現することに成功した。
- リポソーム内部の気泡半径  $R_0$  が大きいほど、膜構造にある一定の張力を加えるために必要な音圧振幅  $P_A$  は小さくなる。このとき  $P_A \propto R_0^{-0.5}$  の関係が成り立つことを示した。
- 気泡径とリポソーム径の比  $\alpha$  が大きいほど、膜構造に生じる張力が最大となるまでにリポソームが移動する距離  $L$  は大きくなる。このとき  $(L/2r_0) \propto \alpha^{3.74}$  の関係が成り立つことを示した。
- 遠方場近似の下で気泡間相互作用を考慮することで、超音波音場内でのバブルリポソームクラスターの挙動予測が可能であることを示した。

以上より、同じサイズのリポソームに対して、リポソームの位置をできるだけ動かさずに膜破壊を起こすためには、気泡径を小さく、照射部位における超音波強度を低く抑えて薬剤放出の制御を行いたい場合には、リポソーム内部に封入できる範囲で気泡径を大きくすることが有効であることが示された。

#### 引用文献

- 1) Ferrara K. et al.: Ultrasound Microbubble Contrast Agents: Fundamentals and Application to Gene and Drug Delivery, *Annu. Rev. Biomed. Eng.*, 9 (2007), 415-447.
- 2) Suzuki, R. et al.: Effective gene delivery with novel liposomal bubbles and ultrasonic destruction technology, *Int. J. Pharm.*,

354 (2008) 49-55.

- 3) Wallace, N., Wrenn, S.P.: Ultrasound triggered drug delivery with liposomal nested microbubbles, *Ultrasonics*, 63 (2015) 31-38.
- 4) 尾崎太一: 超音波によるマイクロバブルのマニピュレーションに関する研究, (東京大学修士論文, 2016)
- 5) 牛嶋裕之: ドラッグ・デリバリー・システムのための超音波とマイクロバブルを用いたベシクル破壊に関する研究, (東京大学修士論文, 2012)
- 6) Leighton, G., *The Acoustic Bubble*, (Academic press, 1994).
- 7) Maxey M. R., Patel B. K.: Localized force representations for particles sedimenting in stokes flow, *Int. J. Multiphase Flows*, 27 (2001) 1603-1626.
- 8) Peskin, C. S.: Numerical analysis of blood flow in the heart, *J. Comput. Phys.*, 25 (1977) 220-252
- 9) Pozrikidis C.: Effect of membrane bending stiffness on the deformation of capsules in simple shear flow, *J. Fluid Mech.*, 440 (2001) 269-291
- 10) Helfrich, W.: Elastic properties of lipid bilayers: theory and possible experiments, *Z Naturforsch.*, C28 (1973) 693-703.
- 11) Kim S., Karrila S. J., *Microhydrodynamics: principles and selected applications* (Dover Pub. Inc., 1991) 83