超音波の作用によるマイクロバブルの破壊とキャビテーション気泡の生成*

Ultrasound Induced Microbubble Destruction and Cavitation Bubble Generation

富田 幸雄** 打越 亮介** 稲葉 拓也** 小玉 哲也***
TOMITA Yukio UCHIKOSHI Ryohsuke INABA Takuya KODAMA Tetsuya

Abstract Microbubble destruction and the induced cavitation bubble behavior are regarded as key phenomena affecting the enhancement of sonoporation. In the present study an experiment was carried out for investigating the interaction of ultrasound waves with microbubbles. Test liquid was a suspension of Sonazoid ultrasound contrast agent diluted with distilled water with the volumetric concentration of 10 % [v/v], which was set in a cylindrical vessel, i.e. one of a 24 well-plate, conventionally used in *in vitro* experiments and irradiated by ultrasound waves with the frequency of 1 MHz. It was found that microbubbles were rapidly destroyed and the survival number was reduced to half the original number within 100ms for all the liquid depths examined here. A maximum number of cavitation bubbles was achieved at a certain exposure time less than one second where more than sixty cavitation bubbles were generated, subsequently behaving in the observation volume (= 14 mm³). Although almost the microbubbles were crushed within one second, we occasionally observed a special situation where plenty of cavitation bubbles happened at the exposure time of five seconds due to the circulation flow generated by the acoustic radiation pressure coupled with the flow induced by the free surface fluctuation.

Keywords: Microbubble, Sonazoid, Cavitation bubble, Ultrasound, Sonoporation

1. 緒言

薬液や気体を内包するマイクロバブルを循環・送達し、標的組織の近傍でこれらを破壊して外来遺伝子や分子を組織内部へ導入する DDS (Drug Delivery System) は、癌治療をはじめとする多様な応用が期待されているため医工学や分子生物学の分野で注目されている[1-4]。

外来遺伝子が細胞内で発現するためには、遺伝子は細胞核まで到達しなければならない。超音波とマイクロバブルの相互作用で発生する過渡的な衝撃圧は外来分子を細胞内部へ移動させることが可能で、この超音波による細胞膜の穿孔作用はソノポレーションと呼ばれる[4]。ナノや数ミクロンオーダーのバブルの崩壊によってこの種の衝撃圧が発生可能であるが、一方、殻構造を有するマイクロバブルは比較的低いエネルギーの超

音波により容易に破壊される[3]。その結果、内部気体や液体が流出し、これらの二次生成物を核としてキャビテーション気泡が発生する。

キャビテーション気泡力学によれば、気泡崩壊時に発生する液体マイクロジェットや衝撃波の衝突[5,6]に起因する極めて短い持続時間の力積[7,8]は、細胞に一過性の浸透圧変化を生じさせる可能性がある。衝撃波による外来分子導入の数値予測[9]や超音波場に形成される細胞膜表面の微細孔の観察結果[10,11]などは、衝撃波や液体ジェットのいずれも外来分子を細胞内部へ過渡的に移動できる要因となりうることを示唆している。

実用的な観点からは、外来分子を細胞内部へ導入する効率を高めることが必要である。ソノポレーションの発生効率を上げるためには、細胞とマイクロバブルやキャビテーション気泡との相互

* 2009.10.5 受付

** 北海道教育大学函館校 〒040-8567 北海道函館市八幡町 1-2

TEL: (0138)44-4307 FAX: (0138)44-4307 E-mail: tomita@hak.hokkyodai.ac.jp

*** 東北大学大学院医工学研究科

干渉の機会を増大させる必要がある。このような目的でコントロールされた環境下で行われる *in vitro* 実験では、複数の微小容器から成る well プレートが常用され、様々な条件が同時に調べられている。しかし、個々の容器内部のマイクロバブル破壊のプロセスやキャビテーション気泡の発生状況については殆ど明らかになっていない。

本研究では、細胞実験でよく使用される 24 well プレートの一つの円筒容器を実験容器に取り上げ、その中に肝臓まわりの血液循環の超音波造影剤としてよく使用されるソナゾイドの懸濁液を試験液として注入し、超音波照射によるマイクロバブルの破壊とキャビテーション気泡の発生状況を調べた結果を報告する。

2. 実験装置および方法

Fig.1 に(a)実験装置概略図と(b)観測部を示す。細胞実験で常用される 24 well プレートの一つの円筒容器⑤ (内径 16.0 mm、深さ 17.9 mm、底部厚さ $H_b = 1.2$ mm のポリスチレン製、well 面積は 2.0 cm^2) を実験容器とした。厚さ 4 nm の脂質層の内部にペルフルブタンガス (C_6F_{10}) を内包する平均直径 $3 \mu\text{m}$ の超音波造影剤ソナゾイド (Sonazoid UCA: 第一三共株式会社) [12] をマイクロバブル (MB) として使用し、この $16 \mu\text{L}$ を注射用水 2 mL で懸濁して原液を作り、蒸留水で希釈して体積濃度 10 % [v/v] の懸濁液として振動子④の中央上方にセットした。MB が完全球体であるとして体積濃度 10 % 懸濁液中に最初に存在する個数を概算すると 5.63×10^7 個/ml となる。液深 H_L の値は細胞実験[1]で検討された深さを中心に種々変化させた。外部直径 41 mm の超音波振動子④ (富士セラミック HPP1038-SUS) の共振周波数は 1.0 MHz、出力 $I = 1 \text{ W/cm}^2$ (Fig.4 では比較のために 0.24 W/cm^2 も使用) であり、Duty 比 $x = 50$ % のパースト信号 (パルス数 $N_p = 500$ と 2000 の 2 種類) と連続波 (CW: Duty 比 100 %) を利用する。これらの信号処理には多機能センササイザー② (エヌエフ回路設計ブロック WF1946A) を使用し、パイボラ増幅器③ (HAS4101) で増幅して超音波を発振させた。初期液体温度は 25°C 、この時、水中音速 $c = 1497 \text{ m/s}$ 、波長 $\lambda (= c/f)$ は 1.5 mm となる。距離 H_a を 1 波長の 1.5 mm ($=\lambda$) にセットした。液中の振動圧力測定にはハイドロフォン (ONDA 社 Model HNP-1000) を使用した。観察対象領域は通常細胞が付着される容器底部[1, 2] を含む中央底部体積 $V_0 (= 2.3 \text{ mm} \times 1.6 \text{ mm} \times 3.8 \text{ mm} = 14.0 \text{ mm}^3)$ に限定した。本実験で読み取り可能なキャビテーション気泡の最小直径は $10 \mu\text{m}$ であり、こ

Fig.1 Schematic views of (a) the experimental setup and (b) the observation section.

の時の被写界深度は 3.8 mm であった。

マイクロバブル破壊実験では、トリガー信号①で超音波を発振させ、様々な超音波照射時間 t_{ex} に対するソナゾイドの破壊の様子を調べた。採取した懸濁液中に含まれるソナゾイドの残存数は、光学顕微鏡 (測定領域 $v_0 = 48.4 \mu\text{m} \times 36.3 \mu\text{m} \times 180 \mu\text{m} = 3.16 \times 10^{-4} \text{ mm}^3$) で計測した。またトリガー信号①を、遅延装置⑦を介して閃光時間 $2 \mu\text{s}$ のマイクロフラッシュ⑧ (菅原 MF-80) に送り、超音波照射から一定時間経過した懸濁液中の現象を高倍率デジタルカメラ⑨ (Nikon Coolpix 995) で瞬間撮影した。撮影は暗室状態でを行い、シャッターは開放状態 (BULB) とした。また閃光時間 $1 \mu\text{s}$ のフラッシュ光源を同期させた毎秒 30 コマのデジタルビデオ (SONY TRV900) による長時間撮影も行った。なお、円筒容器の光学的ゆがみを低減する目的で、容器全体を直方体アクリル容器⑥に入れた。振動面から水面までの距離 $L_{s,0}$ は円筒容器内の液面可視化に影響がないように 15 mm ($= 10 \lambda$) とした。

3. 実験結果および考察

3.1 マイクロバブルの破壊

超音波照射前のソナゾイド懸濁液は、一様に分散しているマイクロバブルによるミー散乱のため白濁している。しかし、ひとたび超音波にさら

Fig.2 Sonic cracking of microbubbles observed at 66 ms after the US irradiation ($x = 100\%$; $H_L = 2.6$ mm).

されると、懸濁液の透明度は急激に高くなる。すなわちソナゾイドの破壊が著しく進む。Fig.2 は液体深さ $H_L = 2.6$ mm ($= 7\lambda/4$) の条件で、毎秒 30 コマの長時間撮影を行ったデジタル映像から、超音波照射後 66 ms での 1 枚の画像を取り出したものである。超音波は容器底から上方へ向けて照射されている。ソナゾイドが音響破壊[3]を起こし、分裂した殻の破片や内部流出物は音響放射圧によって上方へ移動する。やがて液面に到達し、その後液中を循環して繰り返し照射される超音波と干渉する。このようにマイクロバブルの破壊による二次生成物は液体内に運ばれてキャビテーション核となる。

ソナゾイドの破壊実験では、懸濁液中に一定の時間 t_{ex} だけ超音波を照射した後に発振器を止め、ピペットで採取した容器底近傍の少量の懸濁液を顕微鏡で観察し、そこに含まれるソナゾイドの残存数 N_{MB} を計測した。Fig.3 は光学顕微鏡写真撮影の一例である。図中、(a)は連続的な超音波照射 (CW; Duty 比 $x = 100\%$)、(b)と(c)は Duty 比 $x = 50\%$ のバースト信号による超音波照射の結果であり、パルス数 N_p は(b)2000、(c)500 となっている。またこれら 3 つの条件に対する各 3 枚の写真は、超音波照射時間 t_{ex} がそれぞれ (1) 0 ms、(2) 100 ms、(3) 550 ms に対応している。写真(a)-(3)にある基準寸法は $10\ \mu\text{m}$ である。Fig.3 から連続的な超音波照射の方がソナゾイドの破壊が著しいことが分る。また同じ Duty 比 $x = 50\%$ のバースト信号では 超音波エネルギー密度は同じであるが、継続パルス数が少ない $N_p = 500$ の方が破壊の程度が弱い傾向にある。以上の実験結果を図に示したのが Fig.4 である。ただし、照射前の懸濁液中に存在するソナゾイドの平均数 $N_{MB,0}$ は顕微鏡の測定領域内で 44 個であった。白抜きデータ $\diamond$ ($H_L = 1.0$ mm)、 $\square$ ($H_L = 2.0$ mm)、 $\triangle$ ($H_L = 3.0$ mm)、 $\circ$ ($H_L = 4.0$ mm) はパルス数 2000 (出力 $1\ \text{W}/\text{cm}^2$) の条件で懸濁液の液深 H_L がパラメータとなっており、黒塗りの三角印 ($\blacktriangle$) はパルス数 500 (出力 $1\ \text{W}/\text{cm}^2$) で $H_L = 3.0$ mm の場合、また白抜きの小さい三角印 ($\triangle$) はパルス

Fig.3 Microscopic observation of Sonazoid microbubbles: (a) CW, (b) $N_p = 2000$ pulses, (c) $N_p = 500$ pulses; $t_{ex} = (1) 0$ ms, (2) 100 ms, (3) 550 ms.

Fig.4 Survival number $N_{MB}/N_{MB,0}$ of Sonazoid versus exposure time t_{ex} . Open symbols correspond to the data for $I = 1.0\ \text{W}/\text{cm}^2$, $x = 50\%$ and $N_p = 2000$ pulses; $\blacktriangle$: $I = 1.0\ \text{W}/\text{cm}^2$, $x = 50\%$ and $N_p = 500$ pulses; $\triangle$: $I = 0.24\ \text{W}/\text{cm}^2$, $x = 50\%$ and $N_p = 2000$ pulses.

数 2000 (出力 $0.24\ \text{W}/\text{cm}^2$) で $H_L = 3.0$ mm の条件に対する結果である。いずれも 10 回平均のデータである。ソナゾイドの残存数は照射時間の増加に伴い急激に減少し、100 ms でほぼ半数となった。超音波の照射時間が 1 s の時、測定領域 V_0 ($= 3.16 \times 10^{-4}\ \text{mm}^3$) 内に残存するソナゾイドの数は数個であった。しかし顕微鏡下の測定領域内に 1 個のソナゾイドがある場合でも、試験液内の観察領域 V_0 ($= 14\ \text{mm}^3$) の懸濁液中には、なお 4.43×10^4 個という多数のソナゾイドが存在している。マイクロバブルの破壊に及ぼす液深 H_L の影響は、Fig.4 の結果を見る限り判然としない。

これは超音波照射により自由表面にキャピラリ波が生じて液面が乱れ、超音波の反射波が様々な方向へ分散して定在波が形成されにくくなっていることと、超音波照射の早い段階にマイクロバブルが破壊されるため、これが懸濁液中の圧力場・速度場に影響を及ぼしているものと推察できる。今、液深 $H_L = 3.0 \text{ mm}$ に着目して振動圧力のパルス数の影響を比較すると、パルス数 2000 より 500 の方が僅かながらソナゾイドは破壊されにくいことが分った。また超音波出力の影響は明白であり、出力 0.24 W/cm^2 の場合の 1 s 経過のソナゾイド残存数は 60 % 程度であるのに対し、出力 1 W/cm^2 では 5 % 以下であった。

3.2 キャビテーション気泡の発生

マイクロバブルが存在しない水中に、本実験と同じ発振条件で超音波を照射すると、発生頻度は非常に小さいものの一定の割合でキャビテーション気泡が発生する[13]。マイクロバブル懸濁液を使用する実験から、個々のバブル崩壊時の衝撃圧がソノポレーションの原因になりうるとの指摘がある[4]。これに対して *in vitro* 実験では、細胞内への外来分子の発現効率が調べられ、超音波と細胞との干渉時間として数秒から十数秒の超音波照射時間が最適な時間として報告されている[1]。前節で明らかのように、ソナゾイドは超音波照射の比較的早い段階で多数破壊される。そのため、細胞内部への外来分子の導入機構に対してマイクロバブル破壊後に発生するキャビテーション現象が重要な役割を担っているものと思われる。現象の観察方法としては、まず全体的な特性を把握するためにデジタルビデオを用いた長時間撮影を行い、その後、超音波起動信号をトリガーとして各時刻における現象の拡大瞬間撮影を行った。実験によれば、バースト信号並びに連続波信号のいずれの振動圧力に対しても、超音波照射から 50 ms 程度まではキャビテーション気泡の発生を認めることが出来なかった。この期間は、個々のソナゾイド気泡が膨張・収縮を繰り返している時期で、高次モードの表面振動が励起されてバブル表面の不安定性が増大すると殻の破壊が起こる。一部のソナゾイド気泡の殻が破壊されると、その周囲の圧力場・速度場が変化し、次々と隣接するバブルの破壊を誘発して音響破壊を引き起こすものと推察できる。

Fig.5 はパルス数 500 (Duty 比 $x = 50 \%$)、出力 1 W/cm^2 の発振条件で液深が $H_L = 4 \text{ mm}$ の場合の撮影例であり、超音波照射から 150 ms だけ時間が経過している。写真の中央付近にある黒い塊は破壊されたソナゾイドの殻が集積したデブリスや内部流出気体の集合体と考えられ、その周辺

Fig.5 Cavitation bubbles generated in the vicinity of the second products. This picture was taken at 150 ms after the ultrasound irradiation ($N_p = 500$ pulses, $x = 50 \%$; $I = 1 \text{ W/cm}^2$; $H_L = 4 \text{ mm}$).

Fig.6 Cavitation bubbles generated in the vicinity of the second products. This picture was taken at 650 ms after the ultrasound irradiation ($N_p = 2000$ pulses, $x = 50 \%$; $I = 1 \text{ W/cm}^2$; $H_L = 3 \text{ mm}$).

Fig.7 Cavitation bubbles generated along the two lines separated with the distance of a half of the wave length. This picture was taken at 450 ms after the ultrasound irradiation ($N_p = 500$ pulses, $x = 50 \%$; $I = 1 \text{ W/cm}^2$; $H_L = 3 \text{ mm}$).

に球形状のキャビテーション気泡が観察できる。右下 (A 点) にある気泡は直径 $78 \mu\text{m}$ 、また左上

Fig.8 A snapshot taken at 5 s after the ultrasound irradiation, indicating a number of cavitation bubbles generated in a Sonazoid suspension near the bottom of the vessel ($x = 100\%$; $I = 1 \text{ W/cm}^2$; $H_L = 4 \text{ mm}$).

(B点)にある気泡は直径 $21 \mu\text{m}$ である。超音波は下方から上方へ向けて照射されており、半波長 $\lambda/2$ ($= 0.75 \text{ mm}$) の間隔で正・負の最大圧力振幅が繰り返されている。Fig.6 は超音波照射から 650 ms 後に撮影した写真で、発振条件は、パルス数 $N_p = 2000$ ($x = 50\%$)、出力 $I = 1 \text{ W/cm}^2$ で、液深は $H_L = 3 \text{ mm}$ である。画面全体に二次生成物が認められるが、一方、Fig.5 と比較して多数の微細なキャビテーション気泡が発生しているのが分かる。Fig.7 は一定の距離 (およそ半波長) を隔てて気泡群が発生している例であり、瞬間的に圧力の腹が形成されたものと推測される。

一般に、超音波照射から 1 s を過ぎるとキャビテーション気泡の発生数は急減するが、時として超音波照射の 5 s 後でも多数の気泡が発生する場合があった。Fig.8 は連続波 (CW; $x = 100\%$) の条件で得られたその一例である。容器底近傍に多数のキャビテーション気泡が認められる。その理由については 3.3 節で考察する。

Fig.9 に液深 $H_L = 3 \text{ mm}$ に対する単位体積・単位時間当たりのキャビテーション気泡発生数 N_B^* ($= N_B / (V_0 t_d)$) の超音波照射からの経過時間 t との関係を示す。図中、 $\triangle$: $N_p = 2000 \text{ pulses}$ ($x = 50\%$)、 $\blacktriangle$: $N_p = 500 \text{ pulses}$ ($x = 50\%$) および $*$: CW ($x = 100\%$)、また t_d はマイクロフラッシュの発光時間である。超音波照射後 0.3 s から 0.5 s あたりでキャビテーション気泡の発生数は最大となっている。これに対して 1 s を過ぎると発生数は一定の値に落ち着く傾向となっている。Fig.10 は 10 s までの超音波照射時間に対して、各照射時間で振動子が停止する際の信号に同期して撮影された瞬間写真から得られた観察領域 V_0 中でのキャビテーション気泡の発生実数 N_B とソナゾイド

Fig.9 Time dependency of the number of cavitation bubbles per unit volume and per unit exposure time N_B^* $\text{mm}^{-3} \mu\text{s}^{-1}$ for $H_L = 3 \text{ mm}$; $\triangle$: $x = 50\%$ ($N_p = 2000 \text{ pulses}$), $\blacktriangle$: $x = 50\%$ ($N_p = 500 \text{ pulses}$), $*$: $x = 100\%$.

Fig.10 Cavitation bubbles versus relative survival number of microbubbles for $H_L = 3 \text{ mm}$; $\triangle$: $x = 50\%$ ($N_p = 2000 \text{ pulses}$), $\blacktriangle$: $x = 50\%$ ($N_p = 500 \text{ pulses}$), $*$: $x = 100\%$.

残存相対数 $N_{MB}/N_{MB,0}$ との関係を示している。ソナゾイドの破壊が進み残存相対数がおおよそ 0.2 付近でキャビテーション気泡の発生数は最大となっている。この時超音波照射直後に発生したソナゾイドのデブリスが低圧形成に重要な役割を担ったものと推測される。ソナゾイド懸濁液が超音波照射を長時間受けるとキャビテーション気泡は一定数を維持するようになる。その理由としてデブリスの一部が液面に浮遊して漂うため核の数が単純に増加しないこと、および液中のデブリスが超音波照射で微細な粒子となり低圧形成の可能性が低下したためであると考えられる。

3.3 自由表面の変動

超音波照射から 1 s 以内に多数のソナゾイドが破壊されていることが明らかになったが、Fig.8 で例示したように数秒を越える時間においても突発的に多くのキャビテーション気泡が発生する場合があった。これは、固体粒子や微細気泡など気泡核の原因となる微粒子を含んでいる水道

水を試験液とした実験では現れなかった現象である[13]。脂質層から成るソナゾイドの殻は長時間超音波にさらされると分解して、見かけ上、二次生成物が消えた状態になる。しかし、超音波で駆動される音響直進流は超音波出力に依存しながら液体内を移動して、常に、液体を循環させる流れを生成している[14]。これに加えて、 $f = 1$ MHz で加振される液体の表面は、高周波数成分のキャピラリー波形成とともに低周波数から成る液面振動を生じさせることが予測される。この現象を確認するため、それぞれの液深に対してデジタルビデオ撮影から得られた液面振動をFFT解析した。Fig.11 に液面中央部の最大変位 $A_{pp,max}$ (peak-peak 値) を液深 H_L で無次元化した結果を示す。最大振幅は $H_L = 4$ mm で 1 mm であった。液面が浅くなると相対的に振幅は増加するが、相対値 $A_{pp,max} / H_L$ は液深が 1.8 mm で最大値を取った。 $H_L = 1.8$ mm での液面振動の(a)時系列変化と(b)そのパワースペクトルを Fig.12 に示す。一般に円形形状の液面の振動の固有振動数 $f_{m,n}$ は次のように与えられる[15]。

$$f_{m,n}^2 = g \xi_{m,n} \tanh(H_L \xi_{m,n} / R_v) / (4\pi^2 R_v) \quad (1)$$

ここで、 g ：重力加速度、 $\xi_{m,n}$ ：ベッセル関数の1次微分 $J'_m(\xi) = 0$ の n 番目の根、 R_v ：円筒容器の半径である。本実験の場合 $R_v = 8$ mm、 $H_L = 1.8$ mm であるから式(1)からモード (1,1) の固有振動数を求めると 4.7 Hz となり、これは Fig.12(b) に現れている卓越したパワーピークを与えている振動数 5.2 Hz に近い。もちろん振動成分には更に高次の成分も含まれていると推測できるが、少なくとも液面が交互に左右に傾くモード (1,1) の振動成分を含んでいることは確かである。液面に浮遊していたデブリスは、このような液面運動の影響を受けて液中を循環しキャピテーション核となるため、比較的長い超音波照射時間においても一定の割合でキャピテーション気泡が発生出来るものと考えられる。

4. 結 言

ソノポレーションの発生効率の増大に関わる基礎研究として、24 well プレートの一つの円筒容器内に注入された体積濃度 10 % [v/v] のソナゾイド懸濁液中に共振周波数 1.0 MHz、出力 1 W/cm² の超音波を照射して、マイクロバブルの破壊過程とキャピテーション気泡の発生に関する実験研究を行い、以下の結果を得た。

- (1) ソナゾイドは超音波照射で急速に破壊され、100 ms で最初の個数の約半分となった。

Fig.11 Dimensionless maximum free surface amplitude of a Sonazoid suspension with the definition of peak to peak amplitude $A_{pp,max}$ which is divided by the depth H_L ($I = 1$ W/cm², $x = 100$ %).

Fig.12 Free surface fluctuation of a 10 % (v/v) Sonazoid microbubble suspension for $H_L = 1.8$ mm and $x = 100$ %: (a) variation of the vertical displacement of the free surface at the central part with time; (b) its power spectrum.

- (2) 超音波照射後 100 ms 前後からキャピテーション気泡が顕在化し、300 ms から 500 ms で発生数は最大となるが、1 s を過ぎると一定の値に落ち着く傾向となった。
- (3) ソナゾイドの破壊で生じた二次生成物が核となって液中を循環するため 比較的長い 5 s

という超音波照射時間においても多数のキャビテーション気泡が発生する場合があった。

謝 辞

終わりに臨み、高速度ビデオカメラ撮影でご尽力を頂きました浜田 豊 氏 (サンピコ株式会社) に深謝いたします。第一著者は科学研究費 (基盤研究 (C) : No.20560144)、また第四著者は科学研究費 (基盤研究 (B) : No.20300173、挑戦的萌芽: NO 21650124)、特定研究 MEXT (20015005)、厚生労働省先端医学技術研究費 (H19-nano-010) の補助を受けた。更に株式会社ナレッジクリエーションテクノロジーからご支援を頂いた。ここに記し謝意を表します。

Nomenclature

$A_{pp,max}$	: maximum free surface amplitude	[m]
c	: sound velocity	[m/s]
f	: frequency	[1/s]
H_L	: liquid depth	[m]
I	: sound intensity	[W/cm ²]
N_B	: number of cavitation bubbles	[-]
N_{MB}	: number of microbubbles	[-]
N_p	: pulse number of ultrasound waves	[-]
t_{ex}	: exposure time	[s]
x	: duty ratio	[%]

Greek letters

λ	: wave length	[m]
$\xi_{m,n}$	: n th root of the first derivative form of the Bessel equation $J'_m(\xi)=0$	[-]

参考文献

- [1] Kodama, T., Tomita, Y., Koshiyama, K. and Blomley, M.J.K., Transfection effect of microbubbles on cells in superposed ultrasound waves and behavior of cavitation bubble, *Ultrasound in Med.& Biol.*, Vol.32(6), 905-914 (2006).
- [2] Kodama, T., Tomita, Y., Watanabe, Y., Koshiyama, K., Yano, T. and Fujikawa, S., Cavitation bubbles mediated molecular delivery during sonoporation, *Journal of Biomechanical Science and Engineering, JSME*, Vol.4(1), 124-140 (2009).
- [3] Postema, M., van Wamel, A., Lancee, C. and de Jong, N., Ultrasound-induced encapsulated microbubble phenomena, *Ultrasound in Med. & Biol.*, Vol.30(6), 827-840 (2004).
- [4] Bao, S., Thrall, B.D. and Miller, D.L., Transfection of a reporter plasmid into cultured cells by sonoporation *in vitro*, *Ultrasound in Med.& Biol.*, Vol.23(6), 953-959 (1997).
- [5] Tomita, Y. and Shima, A., Mechanisms of impulsive pressure generation and damage pit formation by bubble collapse, *Journal of Fluid Mechanics*, Vol.169, 535-564(1986).
- [6] Philipp, A. and Lauterborn, W., Cavitation erosion by single laser-produced bubbles, *Journal of Fluid Mechanics*, Vol.361, 75-116 (1998).
- [7] Kodama, T., Hamblin, M.R. and Doukas, A.G., Cytoplasmic molecular delivery with shock waves: importance of impulse, *Biophysical Journal*, Vol.79(4), 1821-1832(2000).
- [8] Doukas, A.G., McAuliffe, D.J. and Flotte, T.J., Biological effects of laser-induced shock waves: structural and functional cell damage *in vitro*, *Ultrasound in Med.& Biol.*, Vol.19(2), 137-146 (1993).
- [9] Koshiyama, K., Kodama, T., Yano, T. and Fujikawa, S., Structural change in liquid bilayers and water penetration induced by shock waves: molecular dynamics simulations, *Biophysical Journal*, Vol.91(6), 2198-2205 (2006).
- [10] Ohl, C.D. and Ikink, R., Shock-wave-induced jetting of micron size bubbles, *Phys. Rev. Lett.*, Vol.90(21), 214502-214505 (2003).
- [11] Prentice, P., Cuschieri, A., Dholakia, K., Prausnitz, M. and Campbell, P., Membrane disruption by optically controlled microbubble cavitation, *Nature Physics*, Vol.1, 107-110 (2005).
- [12] Hoff, L., *Acoustic Characterization of Contrast Agents for Medical Ultrasound Imaging*, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht/ Boston / London (2001).
- [13] Tomita, Y., Inaba, T., Uchikoshi, R. and Kodama, T., Experimental study on the generation of ultrasonic cavitation and microbubble disruption, Presented at the 14th National Symposium on Cavitation, Sendai, CD-ROM, Paper No. 43 (2009).
- [14] Crum, Lawrence A., Bjerknes forces on bubbles in a stationary sound field, *Journal of the Acoustical Society of America*, Vol.57(6), 1363-1370 (1975).
- [15] Moiseev, N. N. and Petrov, A. A., The calculation of free oscillations of a liquid in a motionless container, In *Advances in Applied Mechanics*, Vol.9 (edited by Richard von Mises), Academic Press, (1966).