総 説

超音波による癌治療の可能性と問題点

—その熱的および非熱的作用の意義—

近藤 隆 加納永一

福井医科大学放射線基礎医学教室

The Possibility of Ultrasonic Cancer Therapy

and Some of the Difficulties

—Implications of the Thermal and Nonthermal Effects—

Takashi Kondo and Eiichi Kano

Department of Experimental Radiology and Health Physics, Fukui Medical School

Summary :

Biophysical modes of ultrasound are classified as follows : 1) thermal effects, 2) cavitation effects, 3) the other nonthermal and noncavitation effects. There have been three approaches to cancer therapy with ultrasound : studies have sought to measure the effects of ultrasound alone on tumors, ultrasound in combination with radiotherapy, and ultrasound in combination with chemotherapy.

In this paper we will review and discuss the implications of the nonthermal effects of ultrasound when ultrasound is combined with heat, ionizing radiation, and chemotherapeutic agents, on the basis of the current reports related to ultrasonic cancer therapy and the biological effects of ultrasound.

Key Words :

超音波	Ultrasound
熱的・非熱的作用	Thermal and nonthermal effect
キャビテーション	Cavitation
ハイパーサーミア	Hyperthermia
放射線との併用	Combination with ionizing radiation
制癌剤との併用	Combination with anticancer drugs
癌治療	Cancer therapy

1. はじめに

超音波は「人間の耳で聞くことを目的としない音」と定義され、通常 20KHz 以上の非可聴域の音波である。超音波の医学的利用の進歩は目ざましく、特に診断学では必須の装置となっている。一方、治療への利用としては最近癌治療のためのハイパーサーミア用加温装置の開発とともに基礎的及び臨床的研究が行われている。超音波を用い

た癌治療については 1979 年に Kremkau¹⁾が歴史的背景を踏まえた総説を書き、その中で癌治療への適用を i) 超音波単独, ii) 放射線と超音波の併用および iii) 制癌剤と超音波の併用に分類している。超音波の生物作用に係わる作用機序には熱的作用と非熱的作用²⁾があり、後者はさらにキャビテーション作用とそれ以外の非キャビテーション的作用に大別される^{3,4)}。

非熱的作用を正確に把握することは超音波による障害(副作用)を防ぐ立場からも、また非熱的作用を積極的に利用しようとする立場からも重要と考えられるので、それゆえ当稿においては超音波の非熱的作用が他の制癌要因、即ち温熱(超音波による熱的作用を含む)、放射線および制癌剤とどのように相互作用するか、in vitro および in vivo で得られた最近の報告を中心にまとめ、考察を加えた。

II. 超音波の生物作用

超音波の生物作用に係わる作用機序は i) 熱的作用, ii) キャビテーション作用, iii) それ以外の非熱的非キャビテーション的作用に大別されている。以下この順に解説した。

i) 熱的作用

組織(媒質)中に弾性波(疎密波)である超音波が伝わると、この振動は組織分子の変位を引き起こす。熱は組織中の超音波吸収の結果として産生される。

熱損失がない組織中の平面超音波照射にともなう短い時間での温度上昇(ΔT ; °C)は単位面積当たり付与されたエネルギー(J/cm^2)、即ち超音波強度(I : W/cm^2)と照射時間(t : 秒)の積に比例する。

この関係は

$$\Delta T = \frac{2 \alpha I t}{\rho C m} \dots (1)$$

α : 振幅吸収係数
 ρ : 密度
 Cm : 比熱

で表される³⁾。

軟部組織で $\rho \approx 1.0 g/cm^3$, $Cm \approx 4.2 J/g^\circ C$, 1 MHz での吸収係数を $\alpha \approx 0.03 neper/cm^3$ とすると、(1)式より、1 W/cm^2 時の温度上昇は 0.014°C/秒(0.8°C/分)となる。

Nyborg⁶⁾は超音波吸収の少ない媒質(温度 T_∞ : °C)中の半径 R (cm) の球体(温度 T_0 : °C)について超音波照射時の平衡状態での温度差($T_0 - T_\infty$)と平衡に達するまでの時間(τ ; 秒)を次のように表わした。

$$T_0 - T_\infty = -\frac{\alpha I R^2}{K} \dots (2)$$

$$\tau = \frac{\rho C m R^2}{K} \dots (3)$$

K は熱伝導度で $K \approx 0.006 W/cm^2$ (軟部組織)とすると球状軟部組織で1 W/cm^2 時の温度差は(2)式より $T_0 - T_\infty = 5 R^2$ (°C), 平衡に達する時間は(3)式より

$$\tau = 700 R^2 \text{ (秒)} \text{ となる。}$$

半径1 cmの中心での定常状態における温度上昇は5°Cであり必要とされる時間は700秒(約12分)となる。

上記の値は組織の吸収係数、超音波周波数、強度等に大きく依存し⁷⁾、また実際の生体では熱の伝導、血流等の影響を受けて、修飾される。

ii) キャビテーション

液体中を超音波が伝搬すると、疎密波のため液体中に過圧と負圧が生じ、ある強度以上では負圧により液体が引き裂かれ空孔(洞)が生じる。この現象をキャビテーション(空洞現象)と呼ぶ。この空孔は液体の蒸発や溶存気体からなる気泡となるが内部は真空に近い。生成された気泡は液体中に溶解することもあるがある大きさ以上では音場中で振動を続ける(これを安定型キャビテーション(stable cavitation)という)。さらに大きな超音波強度ではこれらの気泡は音場中で振動し、断熱的に圧縮と膨張を繰り返して成長し、数回の振動の後、崩(圧)壊する。これを崩壊型キャビテーション(collapse cavitation あるいは transient cavitation)という^{3,4)}。

気泡の振動、特に収縮時には気体内部はかなり的高温と高圧になっており気泡崩壊時には局所的に更に高い温度と圧力状態を生じ、衝撃波も発生する。気泡の振動により周囲には液体の速度こう配が発生し流体力学的せん断力(shearing force)を生じる。

最近の研究により、超音波による化学作用もキャビテーションによる局所的高温によることがわかってきた⁸⁾。最初の反応を起こす領域は気泡中心部のガス相で、ここが最も温度が高く、例えば

水分子はここで熱分解されて・OH (hydroxyl radical) と・H (hydrogen atom) となる⁹⁾。揮発性の溶質はここで熱分解される。次は気泡のガス相と周囲液相間の中間層で、非揮発性溶質はここに集積して熱分解される¹⁰⁾。例えば Suslick らは中心ガス相温度 $5200 \pm 650^\circ\text{K}$ 、周囲の液体の殻 (shell) 200 nm の温度を約 1900°K と計算している¹¹⁾。最後は周囲の液相であり拡散したフリーラジカルのラジカル同志または他の溶質分子との反応が起こる。ここで起こる反応は放射線化学的反応と同様であり、その動力学で説明される¹²⁾。超音波キャビテーションにともなうフリーラジカルの生物学的影響評価は重要な問題であり、著者もこれを検討した。培養細胞やヒト赤血球を用いた実験結果では生物効果へのフリーラジカルの寄与はキャビテーションによる機械的作用のそれに比べてかなり小さいと思われる^{13,14)}。

キャビテーションはある超音波強度 (しきい値) 以上で発生するが、超音波の周波数、周囲温度、周囲圧力、液体中の液存気体の種類や量等に大きく依存する。

キャビテーションの検出にはヨウ化カリウム溶液 (KI) からのヨウ素 (I_2) の遊離、DNA の分子量の低下およびサブハーモニック雑音の検出¹⁵⁾の他に音響ルミネッセンス、フリーラジカルの検出、インピーダンスの変化、光学のあるいは、音響学的な気泡のイメージング等¹⁶⁾の方法がある。しかしながらこれらの指標がキャビテーションの安定型によるのか、崩壊型によるのか明確に区別することは難しく、またキャビテーション発生のしきい値を正確に決めることは、検出系の感度やヒステリシス効果¹⁷⁾に依存し必ずしも容易ではない。

一般に、生体中でのキャビテーション発生には、その粘弾性の高さゆえに高い超音波強度が必要とされる。例えば Gross ら¹⁸⁾はイヌの心血管系で $0.5 \sim 1.6\text{MHz}$ の超音波、 $16\text{W}/\text{cm}^2$ 以上でキャビテーションを認めており Sommer と Pound¹⁹⁾は集束超音波 $75 \pm 8\text{W}/\text{cm}^2$ 以上でウシやブタの筋肉中に崩壊型キャビテーションを認めたと報告

している。一方 ter Haar²⁰⁾らはモルモット後肢に 0.75MHz 超音波を照射した時、連続波の $110\text{mW}/\text{cm}^2$ あるいは 2msec パルス波の $240\text{mW}/\text{cm}^2$ で微小気泡の形成を認めている。これらの発現強度は前者に比較して極めて低く、生成機序の解明と影響評価は今後の重要な課題と思われる。

iii) 非熱的非キャビテーション的作用

この作用はさらに放射圧 (Radiation Pressure), Radiation Force (適当な訳語が見当たらない)、放射トルク (Radiation torque) および直進流 (Acoustic streaming) に分類されている。これによる生物学的効果は超音波強度に依存するが、効果の発現に関する超音波強度のしきい値はないと考えられている²¹⁾。特に温熱と超音波併用時に、この作用が温熱による細胞致死効果を増強すると報告²²⁻²⁶⁾されている。また多くの超音波による生体作用がこの作用と関係していることが知られているが、これらの詳細な機構は不明な点が多い。

III. 温熱と超音波の非熱的作用の相互作用

超音波の非熱作用が温熱による細胞致死効果を増強することは Li ら²⁰⁾により報告された。以後の温熱と治療用超音波 (主に連続波であり周波数 $0.5 \sim$ 数 MHz 、超音波強度 $0.1 \sim$ 数 W/cm^2) の併用実験例を Table 1 に示した。

ter Haar ら²¹⁾は細胞致死効果のない水準で 3MHz 超音波を用い非熱的非キャビテーション的作用が温熱による V79 細胞致死効果を増強することを報告した。これらの増強効果は細胞接着性の減少²⁴⁾についても認められており、超音波によらない shear stress でも温熱細胞致死効果が増強されること²⁷⁾から超音波の非熱的作用としての機械的作用が寄与していることは確かなようである。

著者らはキャビテーションの発生を修飾するためには溶存気体の種類を変えることが適切と考え、3原子ガス N_2O と他の Ar , O_2 , N_2 とを比較した。その結果 N_2O 飽和条件下では 1MHz (あ

Table 1 Combined Treatments of Hyperthermia and Therapeutic Ultrasound

Reference	Ultrasound	Temperature	Biological model	Endpoint
Li <i>et al.</i> (22)	1.0 MHz 1.0-2.2 W/cm ²	39-43 C	Chinese hamster ovary cells (HA-1)	Cell survival (c.f.u.)
ter Haar <i>et al.</i> (23)	3.0 MHz 3.0 W/cm ²	43.0, 44.5 C	Chinese hamster V 79 cells HeLa S-3 cells	Cell survival (c.f.u.)
Anderson <i>et al.</i> (24)	1.5 MHz 2.2 W/cm ²	44.0 C	Mouse L cells	Cell survival (c.f.u.) Cell attachment
Kondo & Kano (25)	1.0 MHz 2.7 W/cm ²	44.0 C	Mouse L cells	Cell survival (c.f.u.)
ter Haar <i>et al.</i> (26)	2.6 MHz 1.5-2.5 W/cm ²	43.0 C	Chinese hamster V 79 cell spheroids	Growth of spheroid

るいは 1.2MHz) 超音波によるフリーラジカル生成, KI からの I₂の遊離, DNA 鎖の切断, 細胞の破壊 (Cell lysis) および生存増殖細胞コロニー形成率の低下が抑制された^{13,25,28)}. 同様の効果は CO₂存在下でも認められた²⁸⁾. DNA 鎖の切断と KI からの I₂の遊離, およびマウス L 細胞の生存増殖細胞コロニー形成率の低下における N₂O の効果を Fig. 1 と Fig. 2 に示した. ここで用いた指標はいわゆるキャビテーション発生の指標であり, これが抑制されることから当初は N₂O 飽和

条件ではキャビテーション気泡の発生そのものが抑えられると考えた. しかしながら, 現在では N₂O は 3 原子ガスで他の 1 原子あるいは 2 原子ガスに比べてその γ 値 (定圧比熱と定容比熱の比, Cp/Cv) が小さいために, より低温の気泡を形成し, フリーラジカル生成や細胞致死を起こさない "活性の低い" 気泡ができるためと考えている¹³⁾. キャビテーション気泡の断熱的崩壊時の最終温度 (T_{fi}) は一例として N₂O で T_{fi} = 1350°K, 1 原子ガスで T_{fi} = 3015°K と試算された¹²⁾.

Fig. 1

The relationships between change of molecular weight of DNA (solid line) or amount of iodine liberated from potassium iodide-starch solution (dashed line) and 1 MHz ultrasonic intensity (spatial average temporal average). The number average molecular weight of DNA was calculated from neutral sucrose sedimentation analysis and that of control was $5.0 \pm 0.1 \times 10^6$ daltons. The amount of iodine was measured spectrophotometrically and was calculated from the standard curve of iodine concentration. Arrows indicate the intensity at which cavitation occurs. Oxygen gas (closed symbol) or N₂O gas (open symbol) was bubbled before and during sonication. These methods in detail were described in Ref. 13.

Fig. 2 Ultrasonic intensity-survival curves of mouse L cells under O_2 -, Ar -, N_2 - or N_2O -saturated conditions. Sonication time was 1 min. c. f. u. : colony forming unit. The bars indicate standard deviations ($n=4$). Ultrasonic intensity in the figure means spatial average temporal average intensity. These methods in detail were described in Ref. 13.

N_2O 存在下の超音波照射で発生しうる低温の気泡に関する作用機序の解明は今後の検討課題である。しかしながら、 N_2O はここで用いた実験条件 (1 MHz 超音波) では、いわゆるキャビテーションによる効果 (細胞致死効果, DNA 鎖切断, フリーラジカル生成等) を抑える事ができ、この点他の O_2 , N_2 および Ar とは大きく異なる。それゆえ、温度上昇を抑えた N_2O 飽和条件下では超音波の非熱的非キャビテーション的作用を選択的に細胞に作用させることができるとの考えで話を進める。

超音波照射による温度上昇をできる限り抑えるため両側にポリエステルフィルムを取付けた T 字型の容器を作成し、種々の気体条件下で温熱と超

音波併用時の細胞致死効果を検討した²⁵⁾。37°C では、 Ar , O_2 , N_2 飽和条件で超音波照射すると細胞致死効果が認められたのに対し N_2O 飽和条件では全く認められなかった。44°C 温熱は全てのガス条件で同様の細胞致死効果を引き起こした。44°C 温熱と超音波を同時併用すると前三者のガス飽和条件下で細胞致死効果の増強が認められたが相加効果以上の増強は認められなかった (増強比は約 1)。これに対し、 N_2O ガス条件下で 44°C 温熱と超音波を併用すると温熱細胞致死効果の非致死的超音波による増強が認められた。この時、増強比は 1.39 となった。しかしながら、 N_2O 条件で見られるこの増強効果は超音波と温熱を別々に処理した時には認められなかった²⁵⁾。Fig. 3 に強度を変えて

超音波と 44°C 温熱を同時併用した結果を示した。ただし、高い超音波強度では容器自体の温度上昇による寄与は無視できない。これらの結果から、

Fig. 3 Ultrasonic intensity-survival curves of mouse L cells exposed to X-rays at 37°C (open circle) or 44°C hyperthermia (closed circle) under N₂O saturated conditions. Treatment time was 5 min. The percent of cell survival after X-irradiation alone at a dose of 3.12 Gy (5 min) was about 15% and that after 44°C hyperthermia alone (5 min) was about 40%. Ultrasonic intensity in figure means spatial average temporal average intensity. The bars indicate standard deviations (n=3). c. f. u. : colony forming unit. These methods in detail were described in Ref. 25 and 55.

44°C加温による細胞損傷の修復を、同時に作用したキャビテーションをともなわない超音波の非熱的作用が阻害するために、温熱細胞致死効果が増強されると考えられる。一方キャビテーションを生じる条件下では機械的作用による細胞破壊

(Cell lysis) の効果が大きく、非熱的非キャビテーション的作用は結果としてマスクされると思われる。

温熱の細胞内標的には、膜、細胞骨格、DNA、および酵素等²⁹⁾が考えられ超音波もまた細胞膜³⁰⁾、DNA³¹⁾、蛋白質合成³²⁾等に影響することが知られている。Ben-Hur と Green³³⁾はプロカインによる超音波と温熱的作用による細胞致死効果の増強を報告しており、少なくとも細胞膜系での両者の相互作用の可能性は高いといえる。

一方, in vivo では、超音波ハイパーサーミアを利用する立場上、超音波による温度上昇(熱的作用)と、非熱的作用を切り離して作用させることは難しい。一般に低い超音波強度では非熱的非キャビテーション的作用が優位であるが強度が高くなると熱的作用が優位となる²¹⁾。さらに高い強度では組織内でキャビテーションが発生し、細胞破壊が起こる。集束強力超音波を用い腫瘍を破壊しようとする試みはハイパーサーミア利用とは別の観点から試行されている³⁴⁾。超音波ハイパーサーミアをマウス腎臓³⁵⁾、ネコ脳^{36,37)}に適用した例では組織障害は温度上昇に依存している。Britt³⁶⁾は特に脳組織で加温部位と非加温部位が明確に区分できる利点を指摘しており、超音波ハイパーサーミアは正確な加温が必要とされる眼科領域への適用も検討されている³⁸⁾。

なお、超音波を腫瘍に照射すると転移が促進されるという懸念もあるが、周波数やハイパーサーミア併用の有無等条件を変えてハムスタ線維肉腫に照射した実験結果ではその可能性は否定されている³⁹⁻⁴¹⁾。今後も、引き続き検討すべき課題であると思われる。

IV. 電離放射線と超音波の熱的および非熱的作用との相互作用

X線と超音波を併用した実験臨床例は古く 50 年代からある¹⁾が、その作用機序について述べたのは 1970 年の Repacholi⁴²⁾からである。以後の、電離放射線と治療用超音波の併用に関する報告を Table 2 にまとめた。彼はエールリッヒ腹水癌細

Table 2 Combined Treatments of Ionizing Radiation and Therapeutic Ultrasound

Reference	Ultrasound	Radiation Dose(Gy)	Temperature	Biological model	Endpoint
Repacholi <i>et al.</i> (42)	1 MHz, pulse 10 W/cm ²	6-10	25 C	Ehrlich ascites tumor cells	Electrophoretic mobility
Clarke <i>et al.</i> (43)	1 MHz, 5 W/cm ² 1 MHz, 1 W/cm ²	1-4 20	6 C 38-39 C	L5178Y lymphoma cells B1CR/M1 tumor/rats	Growth curve Tumor weight
Todd & Schroy (44)	920 KHz 0.14 W/cm ²	-10	Room temp.	Chinese hamster M3-1 cells	Cell survival (c.f.u.)
Martins <i>et al.</i> (45)	1 MHz 0.125-4 W/cm ²	-6	Temp. increase < 1 C	Chinese hamster M3-1, V 79 cells	Cell survival (c.f.u.)
Ishigaki <i>et al.</i> (46)	1 MHz 3 W/cm ²	4-15	Temp. increase < 0.15 C	Walker 256 sarcoma/ rats	Tumor growth
Harkanyi <i>et al.</i> (47)	800 KHz 0.1-1.0 W/cm ²	0.5		CBA/H-T5J mice	Chromosome aberration/ bone marrow cells
Witcofski & Kremkau (48)	1.9 MHz 1.5 W/cm ²	10.1-50	ca. 42-46 C	BA tumor/C3H mice S-180 tumor/Balb/c mice	Skin reaction & TCD ₅₀
Burr <i>et al.</i> (49)	1 MHz 2 W/cm ²	2	22 C more	Human peripheral blood lymphocytes	Chromosome aberration
Abadir <i>et al.</i> (50)	3 MHz 1 W/cm ²	6	37.6 C	Testis/rats	Histological changes
Kunze-Muhle (51)	810 KHz 3 W/cm ²	5-20		Human peripheral blood lymphocytes	Chromosome aberration
Baker <i>et al.</i> (52)	870 KHz 0.5-1.75 W/cm ²	17.5-25	42.5 C	C3H mice	Renal function
Baker <i>et al.</i> (53, 54)	780 KHz 0.5-2.0 W/cm ²	10-30	42.5-43.0 C	C3H mice	Skin reaction
Kondo & Kano (55)	1.0 MHz 2.7 W/cm ²	-6.2	37 C	Mouse L cells	Cell survival (c.f.u.)
Harrison & Balcer-Kubiczek (56)	1.765 MHz 1.3, 2.6 W/cm ²	-2	37 C	C3H/10T1/2 cells	Transformation frequency

胞の電気泳動実験を試み、X線と超音波の併用では移動度について相加的效果しか得られなかったと報告した。Clarke ら⁴³⁾は L5178Y 細胞および実験腫瘍系の実験で熱作用以外の超音波作用とX線の相互作用を否定した。一方、チャイニーズハムスター M3-1 細胞を用いた Todd & Schroy⁴⁴⁾および Martins ら⁴⁵⁾はX線照射後の超音波照射による細胞致死効果の相乗的増強を報告し、前者では温度上昇によらない非熱的作用の寄与が示唆されている。移植腫瘍を用いた実験では石垣⁴⁶⁾らがX線と超音波を同時に併用した時に最大の腫瘍成長抑制効果を認め、また非熱的作用の寄与を示唆している。Witcofski と Kremkau⁴⁸⁾は放射線感受性の異なる腫瘍系間でX線照射前後に超音波を照射しその効果を比較した結果、放射線高感受性の腫瘍で温熱増感比 1.6 ~ 1.7 を得ている。また Abadir⁵⁰⁾らはラット精巣にX線照射後、マイクロ波あるいは超音波によるハイパー

サーミアを併用し、より低い温度上昇でも高度な組織障害が発現することから超音波の非熱的效果の関与を示唆した。超音波ハイパーサーミアとX線との併用による腎機能および皮膚反応への影響は Baker ら⁵²⁻⁵⁴⁾により報告されている。

著者らは前項で述べた種々のガス条件、即ち N₂O および Ar, O₂飽和条件でマウスL細胞にX線と超音波を同時に照射した⁵⁵⁾。Ar および O₂飽和条件では超音波照射単独で細胞致死効果が認められるがX線と併用しても相加的増強に留まった。一方 N₂O 飽和条件では超音波単独では細胞致死効果は認められず、X線との併用群でも超音波による修飾効果は認められなかった (Fig. 3)。

同一実験条件でX線と温熱(39 ~ 43°C)を同時に併用した時には 39°Cで 1.18, 40°Cで 1.27, 42°Cで 1.36, 43°Cで 1.72 の温熱増感比を得た (Fig. 4)。なお Fig. 4 においては 42°Cおよび 43°Cでの温熱による細胞致死画分は補正されている。以

上の結果は非熱的非キャビテーション的作用はX線とは相互作用せず、もしX線と超音波の同時併用時に相乗的増強効果がみられるとするならばそ

Fig. 4 Survival curves of mouse L cells irradiated by X-ray under hyperthermic temperatures (39–43°C). Cells were treated in the medium saturated with oxygen. c. f. u. : colony forming unit. When L cells were irradiated by X-ray at 37°C, D_0 value was 0.90 ± 0.04 Gy. Thermal enhancement ratios (TERs) at 39, 40, 41, 42, and 43°C were 1.18, 1.27, 1.30, 1.36, and 1.72, respectively. TERs at 42 and 43°C were corrected by T_0 values of survival curves obtained from hyperthermic treatments at 42 and 43°C. These methods in detail were described in Ref. 55.

れは超音波の熱的作用(温度上昇による)によることを示唆している。

放射線照射中の温熱処理(39 ~ 42°C)が増感効果を示すことが報告⁵⁷⁾されて以来、照射前後の温熱処理もまた放射線増感効果を示すことが見いだされている。超音波の非熱的作用が放射線の効果を増強する例ではX線照射後の超音波照射で増強効果が認められ⁴⁴⁾、またX線照射前よりも照射後の超音波照射の方がこの効果が大きいことが報告されている⁴⁵⁾。同様の傾向は、X線と3 W/cm²超音波を併用してその後の染色体異常出現について調べた実験でも認められた⁵¹⁾。即ち、X線照射後に超音波照射した時はX線単独照射時あるいはX線照射前に超音波照射した時に比べて染色体異常が増加した。一方、診断レベルの強度(20 mW/cm²)の超音波照射の場合は逆にX線照射前の処理で染色体異常が増加している。Burr ら⁴⁹⁾は γ 線との同時および照射2時間以内の併用で染色体異常の増加を報告しているが、*in vivo*では併用効果がないという報告⁴⁷⁾もある。また酵母について γ 線と超音波を併用処理した例⁵⁸⁾では生存率を指標にした場合 γ 線照射後に超音波照射した場合の方が逆の順序よりも相乗作用の程度が大きく、また障害修復不能株では相乗作用はないか小さいことが報告されている。これに対して、超音波照射はX線誘発トランスフォーメーションに影響しないという報告⁵⁶⁾もある。

これらの結果からX線照射後にある条件で超音波を照射したとき、超音波の非熱的作用が電離放射線によるDNA損傷の修復を阻害する可能性が示唆される。一方、*in vivo*では放射線効果の増強に関して非熱的作用の寄与を否定する報告と肯定する報告の両方があり、将来の検討が待たれる。

なお、診断レベルの超音波とX線との併用については細胞の増殖率と形態学的変化において相乗効果が無いとする報告⁵⁹⁾、この両者の併用による染色体異常頻度上昇は無いが姉妹染色分体交換(SCE)では同時併用時にわずかな頻度増加があったとする最近の報告⁶⁰⁾がある。診断用超音波と

SCE については最近の総説^{61,62)}がある。多くの報告は否定的であるが数例の肯定的報告も有り必ずしも明確な結論が出ているわけではない。

V. 制癌剤と超音波の熱的および非熱的作用との相互作用

超音波と制癌剤を併用した報告例 (Table 3) としては Methyl CCNU を、末期脳腫瘍患者に適用した臨床報告⁶³⁾があるが、初めての系統的実験は

Kremkau⁶⁴⁾ による報告と思われる。彼らは Nitrogen mustard と超音波を併用処理した L1210 細胞をマウス腹腔内へ投与し、その後のマウスの生存率を比較したところ超音波併用群で薬効増強作用 (生存率の上昇) と細胞への薬剤の取り込みの増加を認め、温度上昇によらない超音波の非熱的作用の寄与を示唆した。その後、超音波ハイパーサーミアと制癌剤を併用した実験例が報告された。

Table 3 Combined Treatments of Anti-Cancer Drugs and Therapeutic Ultrasound

Reference	Drugs	Ultrasound	Temperature	Biological model	Endpoint
Heimbürger <i>et al.</i> (63)	Methyl CCNU	0.8-1.0 MHz, 0.2-0.8 W/cm ²		Four patients with terminal brain malignancy	
Kremkau <i>et al.</i> (64)	Nitrogen mustard	2.0 MHz 10 W/cm ²	<28.5 C	L1210 cells	Survival of mice after injection of cells
Elkon <i>et al.</i> (65)	Cis-DDP	870 KHz 0.5-2.0 W/cm ²	42.5 C 46.5 C	C3H mice	Renal function
Tacker & Anderson (66)	Methotrexate in liposome	5.3 MHz	42.0 C	TCC tumor/ C3H mice	Drug accumulation
Senapati <i>et al.</i> (67)	Cyclophosphamide Melpharan Procarbazine	670 KHz 5.0 W/cm ²	43.0 C	Human breast (MX-1) & lung (LX-1) tumors/ nude mice	Tumor growth
Longo <i>et al.</i> (68)	Cytosan Thiotepa	2.25 MHz 0.8-1.7 W/cm ²	44.2 C	TCT-4909 bladder tumor/rats	Tumor growth
Akimoto (69)	Mitomycin C	1.0 MHz 1-3 W/cm ²	<35 C	AH 109H cell tumor/rats	Tumor growth
Yumita <i>et al.</i> (70)	Daunomycin Adriamycin	1.92 MHz 0.66 W/cm ²	<35 C	Yoshida sarcoma/ rats	Tumor growth
ter Haar & Loverock (71)	Adriamycin	2.6 MHz 2 W/cm ²	37 C	Chinese hamster V 79 cells & spheroids	Growth of spheroids
Yumita <i>et al.</i> (72)	Hematoporphyrin	1.92 MHz 1.27-3.18 W/cm ²	<31 C	Sarcoma 180 cells AH 130 cells	Trypan blue dye stainability
Saad & Hahn (73)	Adriamycin Amphotericin B Cis-DDP VP16 (Etoposide)	2.0 MHz 0.5-2 W/cm ²	37-43 C	Chinese hamster ovary cells	Cell survival (c.f.u.)

Elkonら⁶⁵⁾は超音波ハイパーサーミアと Cis-diamminedichloride platinum (Cis-DDP) の腎機能への影響について報告し、また Tacker と Anderson⁶⁶⁾は 42°C で相転移を起こすりポソームに Methotrexate (MTX) を封入したものを移植腫瘍に注入し、超音波ハイパーサーミアにより効果的に MTX が腫瘍内に集積することを見いだした。Senapati ら⁶⁷⁾はヒト乳癌細胞および肺癌細胞をヌードマウスに移植したとき、前者で Melpharan が、後者で Procarbazine がハイパー

サーミア併用による相乗効果を示した事を、また Longo ら⁶⁸⁾は Cytosan, Thiotepa でハイパーサーミア併用による増強作用を各々報告した。

以上は超音波による熱的作用を利用した例であるが、最近、秋本⁶⁹⁾が AH109H 細胞移植腫瘍で Mitomycin C (MMC) を用いて、弓田ら⁷⁰⁾が吉田肉腫に Daunomycin および Adriamycin (ADR) を用いて、超音波照射にともなう温度上昇を阻止した条件での増強作用を報告した。その中で超音波による非熱的效果の寄与を示唆し、膜

の透過性の変化を主たる原因と示唆している。

さらに ter Haar⁷¹⁾らは V79 細胞およびそのスフェロイドに ADR と超音波を併用した時の非熱的作用によると思われる ADR の取り込みの増加、細胞致死効果の増大、スフェロイド成長遅延期間の増大を報告した。弓田ら⁷²⁾は光動力学的治療 (Photodynamic therapy) に用いられるヘマトポルフィリンを細胞毒性のない濃度で超音波と併用し、超音波による殺細胞効果の増大を報告している。最近、Saad と Hahn⁷³⁾は超音波により ADR および Amphotericin B の細胞毒性が高められ、その程度は超音波強度と温度に依存すること、一方、Cis-DDP や VP16 (トポイソメラーゼ II の阻害剤) については効果の無いことを示し、細胞膜に作用する制癌剤の効果が超音波の非熱的作用により増強されることを示唆した。また、体外衝撃波治療装置の癌治療への適用^{74,75)}が検討され、制癌剤併用例では Cis-DDP の効果は高まるが ADR に対してはその効果が認められないと報告⁷⁶⁾されている。

超音波が細胞膜に影響することは古くから知られ、最近でも治療用超音波により Rb^+ (Rb は周期率表上 K と同族) の取り込み減少⁷⁷⁾あるいは Ca^{2+} の取り込み増加⁷⁸⁾が報告されている。また、実験室用の超音波を用いた例では人工膜における透過性のこう進⁷⁹⁾、デキストラン⁸⁰⁾やプラスミド DNA⁸¹⁾等の高分子物質の細胞内への導入の報告がある。これらの結果は熱作用はもちろん、非熱的作用も細胞膜の構造と機能を修飾し制癌剤の効果を高める可能性が有ることを示しており、今後さらに一層の研究が期待される。局所ハイパーサーミアの場合、電磁波加温、超音波加温、およびレーザー加温いずれの場合も外部からの物理的エネルギーの付与が必要となる。今後はそれぞれの非熱的作用の特徴を生かした方法で、薬剤との併用による増強効果の検討が重要な課題となろう。この例としてマイクロ波によるリポソームからの薬剤の放出が研究されている⁸²⁾。

VI. 超音波加温の臨床例と最近の工学的進歩

超音波加温に関する総説⁸³⁾および電磁波加温との比較に関する総説⁸⁴⁻⁸⁶⁾は既に各々の長所と短所を指摘している。超音波に関してその特に秀れている点は局所化 (集束性) と深達性にある。一方音響インピーダンスの大きく異なる媒質や軟部組織とガス相での反射はその適用部位を大きく限定することになる。また骨での吸収の高さは時に疼痛を誘発し、制約要因の一つとなる⁸⁷⁾。しかしながら逆にこれを利用して骨加温に用いることも考えられよう。

現在までのところ、超音波ハイパーサーミアを利用し癌治療に適用した臨床例が集積されているのは Stanford Univ. (U. S. A.)⁸⁸⁻⁹¹⁾、MD Anderson Hospital (U. S. A.)⁹²⁻⁹⁴⁾、MIT (U. S. A.)⁹⁵⁻⁹⁷⁾そして Centre A. Vautrin (France)⁹⁸⁾である。さらに最近、Arizona Cancer Center (U. S. A.) から臨床例が報告された⁹⁹⁾。その結果を Table 4 に示した。特にハイパーサーミア単独に比較して放射線あるいは制癌剤の併用例で効果が高い。Cornell Univ. では眼内黒色腫に放射線と超音波ハイパーサーミアを併用し、線量の低減化を試みている¹⁰⁰⁾。

超音波ハイパーサーミアを用いる際、平面波超音波ではその副作用は、疼痛、表在性火傷 (紅斑、水泡)、腫瘍の潰瘍化^{89,94,98)}であり、一方、集束超音波では局所的不快感や神経根の疼痛^{90,91)}である。これらの副作用の多くは熱作用によるものであるが、超音波の神経への影響¹⁰¹⁾の様に非熱的作用によるものもある。副作用の発現率は研究施設により異なるが、MIT の報告例ではその値は小さい⁹⁷⁾。

超音波による加温法は当初平面トランスデューサを用いる方法から始まり種々の収束型超音波加温法が開発されてきた⁸³⁾。同一球面上に6個のトランスデューサを配して収束する Isospherical ultrasound device⁹¹⁾、診断用超音波スキャナー (Octoson) を改良した走査焦点多振動子システム¹⁰²⁻¹⁰⁴⁾、角形平面トランスデューサを (4 個あるいは 16 個) 組合せ、個々のトランスデューサを独

立してコントロールするシステム (Planar multielement ultrasonic hyperthermia system)¹⁰⁵⁾, Cylindrical-Section phased-array system¹⁰⁶⁾, Concentric-ring phased-array system¹⁰⁷⁾, Sector-vortex phased array system¹⁰⁸⁾ が最近開発されている。走査焦点超音波システムを用いた例では血流の影響も検討され^{104,109)}, 比較的高い血流量でも加温が可能であると報告されている。

今後は、副作用を避け標的部位のみを選択的に加温できるような工夫、最適強度、周波数の選択、適用部位にあった applicator と接合物質の改良^{110,111)}等が課題となろう。超音波は、非侵襲的温度計測法として用いられる可能性もあり^{112,113)}, 将来は加温、診断、温度計測が一つのシステムに集約できるかも知れない。また、相互にその短所を補った電磁波・超音波併用加温も検討すべき課題となろう。

Table 4 Clinical Results of Ultrasonic Hyperthermia for Cancer Patients

Institution (Reference)	Ultrasonic technique used	Results		
		Ultrasonic alone,	Ultrasonic + Radiation,	Ultrasonic + Chemotherapy
Stanford Univ. (88, 89)	2-3 MHz 0.5-1.2 W/cm ² unfocused	19 (5) / 44*	11 (2) / 18	
(90, 91)	Isospherical ultrasonic device (365 KHz, 6 transducers)	15 patients were treated, temperature information available (57 treatments)		
MD Anderson Hospital (92-94)	1-3 MHz 0.3-2 W/cm ² Unfocused	31 (6) / 69	33 (15) / 50	15 (4) / 19**
MIT (95)	1 MHz Steered focused	26 (6) / 36		
(96, 97)	0.5-5 MHz SIMFU	189 (92) / 270 15 (3) / 24***		7 (2) / 7
Centre Alexis Vautrin (98)	1-3 MHz Unfocused	1 / 12	6 / 10	4 / 4
Arizona Cancer Center (99)	Scanned focused system (1 MHz, 4 focused transducers)	14 patients were treated, temperature information available. (42 treatments)		

* numbers of PR + CR (numbers of CR)
numbers of sites treated

PR: partial response, CR: complete response
SIMFU: Scanned, Intensity-Modulated, Focused Ultrasound

** Responses for ultrasonic treatments of breast cancer. Ultrasound alone: 2(2) / 9.

*** Responses for ultrasonic treatments of head and neck lesions.

VI. 結 語

1) In vitro の実験では超音波の作用を区別して考えることができ、定量性の点でも優れているが、実験を行う際には音響学的条件、照射容器の材質と形状、温度、溶存気体等の条件に注意する必要がある。また in vitro で得られた結果を in vivo に外挿するには十分な注意が要求される。一般に培養液中の単一細胞の方が組織中の細胞よりも遙かに非熱的作用の影響を受けやすい。さらに、水と組織とでは超音波吸収の程度も異なるた

め熱的作用も同一に働くことはない。超音波照射による組織(細胞)中での微視的な温度勾配の影響の検討も必要と思われる。

2) 超音波の生物作用は吸収された全エネルギー量よりも超音波強度に強く依存する傾向があり、特にキャビテーション発生はしきい値以上の強度が必要とされる。キャビテーションの生物学的影響の解明は今後も重要な問題として残されている。

3) 超音波の熱的作用は既に知られているように電離放射線や制癌剤による殺細胞効果を増強する。いわゆるキャビテーション作用による殺細胞効果はその機械的作用に大きく依存しており、温熱、放射線、あるいは制癌剤との併用で見られる増強効果は相加的である可能性が高いと思われる。非熱的非キャビテーション的作用は温熱、あるいは制癌剤との同時併用時に殺細胞効果の増強に寄与すると考えられる。一方、放射線に対しては著者らの同時併用の実験結果から、殺細胞効果の増強に関する両者の相互作用の可能性は小さいと思われる。

4) 超音波を臨床に適用する場合には避けられない制約があるが、エネルギーの局在化を必要とする部位の選択、より効果的な modality の開発、それに関係する技術の進歩等が必要であると言えよう。

文 献

- 1) Kremkau, F. W. : Cancer therapy with ultrasound : A historical review. *J. Clin. Ultrasound* 7 : 287-300, 1979.
- 2) Hahn, G. M., Li, G. C., Marmor, J. B. and Pound, D. W. : Thermal and nonthermal effects of ultrasound. In *Radiation Biology in Cancer Research*. ed. by Meyn, R. E. and Withers, H. R., Raven Press, New York, pp. 623-636, 1980.
- 3) NCRP report No. 74 : Physical mechanisms for biological effects of ultrasound. In *Biological Effects of Ultrasound : Mechanisms and Implications*, National Council on Radiation Protection and Measurements, Bethesda, pp. 70-93, 1983.
- 4) Nyborg, W. L. : Mechanisms. In *Biological Effects of Ultrasound*, ed. by Nyborg, W. L. and Ziskin, M. C. : Churchill Livingstone, New York, pp. 23-33, 1985.
- 5) Goss, S. A. Frizzell, L. A. and Dunn, F. : Ultrasonic absorption and attenuation in mammalian tissues. *Ultrasound Med. Biol.*, 5 : 181-186, 1979.
- 6) Nyborg, W. L. : Sonically generated heat. In *Physical Mechanisms for Biological Effects of Ultrasound*. DHEW 78-8062, U. S. Government Printing Office, Washington, D. C., pp. 2-9, 1977.
- 7) Williams, A. R. : Thermal effects of ultrasound. In *Ultrasound : Biological Effects and Potential Hazards*. Academic Press, London, pp. 83-125, 1983.
- 8) Henglein, A. : Sonochemistry : Historical developments and modern aspects. *Ultrasonics* 25 : 6-15, 1986.
- 9) Makino, K., Mossoba, M. M. and Riesz, P. : Chemical effect of ultrasound on aqueous solutions. Formation of hydroxyl radicals and hydrogen atoms. *J. Phys. Chem.* 87 : 1369-1377, 1983.
- 10) Kondo, T., Murali Krishna, C. and Riesz, P. : Sonolysis of concentrated aqueous solutions of nonvolatile solutes : Spin-trapping evidence for free radicals formed by pyrolysis. *Radiat. Res.* 118 : 211-229, 1989.
- 11) Suslick, K. S., Hammerton, D. A. and Cline, Jr. R. E. : The sonochemical hot spot. *J. Am. Chem. Soc.* 108 : 5641-5642, 1986.
- 12) Riesz, P., Kondo, T. and Murali Krishna, C. : Free radical formation by ultrasound in aqueous solutions. A spin trapping study. *Free Radical Res. Commun.* In press.
- 13) Kondo, T. and Kano, E. : Effect of free radicals induced by ultrasonic cavitation on cell killing. *Int. J. Radiat. Biol.* 54 : 475-486, 1988.
- 14) Kondo, T., Fukushima, Y., Kon, H. and Riesz, P. : Effect of shear stress and free radicals induced by ultrasound on eryth-

- rocytes. Arch. Biochem. Biophys. 269 : 381–389, 1989.
- 15) Hill, C. R. : Ultrasonic exposure thresholds for changes in cells and tissues. J. Acoust. Soc. Am. 52 : 667–672, 1972.
 - 16) ter Haar, G. R. : Ultrasonic biophysics. In Physical Principles of Medical Ultrasonics. ed. by Hill, C. R., Ellis Horwood Limited, Chichester, pp. 378–435, 1986.
 - 17) Vaughan, P. W. : Graham, E., and Leeman, S. : The effect of dissolved gases on the dynamics of acoustic emission and sonoluminescence from cavitating liquids. Appl. Sci. Res. 38 : 45–52, 1982.
 - 18) Gross, B. R., Miller, D. L. and Williams, A. R. : A search for ultrasonic cavitation within the canine cardio-vascular system. Ultrasound Med. Biol. 11 : 85–97, 1985.
 - 19) Sommer, F. G. and Pound, O. : Transient cavitation in tissues during ultrasonically induced hyperthermia. Med. Phys. 9 : 1–3, 1982.
 - 20) ter Haar, G. R., Daniels, S. and Morton, K. : Evidence for acoustic cavitation in vivo : thresholds for bubble formation with 0.75-MHz continuous wave and pulsed beams. IEEE Trans. Ultrason. Ferroelec. Freq. Cont. UFFC-33 : 162–164, 1986.
 - 21) ter Haar, G. R. : Interaction mechanism : nonthermal, non-cavitation effects. In Ultrasound Medical Applications, Biological Effects, and Hazard Potential. ed. by Repacholi, M. H., Grandolfo, M., and Rindi, A., Plenum Press, New York, pp. 105–116, 1987.
 - 22) Li, G. C., Hahn, G. M. and Tolmach, L. J. : Cellular inactivation by ultrasound. Nature 267 : 163–165, 1977.
 - 23) ter Haar, G. R., Stratford, I. J., and Hill, C. R. : Ultrasonic irradiation of mammalian cells in vitro at hyperthermic temperatures. Brit. J. Radiol. 53 : 784–789, 1980.
 - 24) Anderson, R. L., Leeman, S., Parker, R., Hedges, M. J., Vaughan, P. W. and Field, S. B. : Attachment of fibroblasts following hyperthermia and ultrasound. Int. J. Radiat. Biol. 46 : 399–407, 1984.
 - 25) Kondo, T. and Kano, E. : Enhancement of hyperthermic cell killing by non-thermal effect of ultrasound. Int. J. Radiat. Biol. 51 : 157–166, 1987.
 - 26) ter Haar, G. R., Walling, J., Loverock, P. and Townsend, S. : The effect of combined heat and ultrasound on multicellular tumor spheroid. Int. J. Radiat. Biol. 53 : 813–827, 1988.
 - 27) Dunn, F. : Cellular inactivation by heat and shear. Radiat. Environ. Biophys. 24 : 131–139, 1985.
 - 28) Kondo, T., Kuwabara, M., Sato, F. and Kano, E. : Influence of dissolved gases on chemical and biological effect of ultrasound. Ultrasound Med. Biol. 12 : 151–155, 1986.
 - 29) Hahn, G. M. : Mechanism of heat action. In Hyperthermia and Cancer, Plenum Press, New York, pp. 87–130, 1982.
 - 30) Ellwart, J. W., Brettel, H., and Kober, L. O. : Cell membrane damage by ultrasound at different cell concentrations. Ultrasound Med. Biol. 14 : 43–50, 1988.
 - 31) Pinamonti, S., Caruso, A., Mazzeo, V., Zebini, E. and Rossi, A. : DNA damage from pulsed sonication of human leukocytes in vitro. IEEE Trans. Ultrason. Ferroelec. Freq. Cont. UFFC-33 : 179–185, 1986.
 - 32) Edmonds, P. and Ross, P. : Protein synthesis by neuroblastoma cells is enhanced

- by exposure to burst-mode ultrasound cavitation. *Ultrasound Med. Biol.* 14 : 219–223, 1988.
- 33) Ben-Hur, E. and Green, M. : Temperature dependence of ultrasound-induced cell killing : The role of membrane fluidity. *Bioelectromagnetics* 3 : 247–251, 1982.
 - 34) Fry, F. J. and Johnson, L. K. : Tumor irradiation with intense ultrasound. *Ultrasound Med. Biol.* 4 : 337–341, 1978.
 - 35) Elkon, D., Fechner, R. E., Homzie, M. J., Baker, D. G. and Constable, W. C. : Response of mouse kidney to hyperthermia. Pathology and temperature-dependence of injury. *Arch. Pathol. Lab. Med.* 104, 153–158, 1980.
 - 36) Britt, R. H., Lyons, B. E., Pound, D. W., and Prionas, S. D. : Feasibility of ultrasound hyperthermia in the treatment of malignant brain tumors. *Med. Instrum.* 17 : 172–177, 1983.
 - 37) Lyons, B. E., Obana, W. G., Borcich, J. K., Kleinman, R., Singh, D. and Britt, R. H. : Chronic histological effects of ultrasonic hyperthermia on normal feline brain tissue. *Radiat. Res.* 106 : 234–251, 1986.
 - 38) Lizzi, F. L., and Ostromogilsky, M. : Analytical modelling of ultrasonically induced tissue heating. *Ultrasound Med. Biol.* 13 : 607–618, 1987.
 - 39) Smachlo, K., Fridd, C. W., Child, S. Z., Hare, J. D., Linke, C. A. and Carstensen, E. L. : Ultrasonic treatment of tumors : I. Absence of metastases following treatment of a hamster fibrosarcoma. *Ultrasound Med. Biol.* 5 : 45–49, 1979.
 - 40) Child, S. Z., Vives, B., Fridd, C. W., Hare, J. D., Linke, C. A., Davis, H. T. and Carstensen, E. L. : Ultrasonic treatment of tumors II. Moderate hyperthermia. *Ultrasound Med. Biol.* 6 : 341–344, 1980.
 - 41) Child, S. Z., Vives, B., Smachlo, K., Fridd, C. W., Hare, J. D., Linke, C. A., Davis, H. T. and Carstensen, E. L. : Ultrasonic treatment of tumors III. High intensity, low frequency exposures. *Ultrasound Med. Biol.* 8 : 41–44, 1982.
 - 42) Repacholi, M. H. : Electrophoretic mobility of tumour cells exposed to ultrasound and ionizing radiation. *Nature* 227 : 166–167, 1970.
 - 43) Clarke, P. R., Hill, C. R. and Adams, K. : Synergism between ultrasound and X rays in tumour therapy. *Brit. J. Radiol.* 43 : 97–99, 1970.
 - 44) Todd, P. and Schroy, C. B. : X-ray inactivation of cultured mammalian cells : enhancement by ultrasound. *Radiology* 113 : 445–447, 1974.
 - 45) Martins, B. I., Raju, M. R., Hayes, T. L. and Tobias, C. A. : Survival of cultured mammalian cells exposed to ultrasound. *Radiat. Environ. Biophys.* 18 : 45–55, 1977.
 - 46) 石垣武男, 牧野直樹, 水谷弘和, 藤田勝三, 佐久間貞行 : 超音波の放射線効果に及ぼす影響(第4報), 移植腫瘍の増殖に対する効果の検討. *日医放誌*, 38 : 1137–1144, 1978.
 - 47) Harkányi, Z., Szollár, J. and Vigvári, Z. : A search for an effect of ultrasound alone and in combination with X rays on chromosomes in vivo. *Brit. J. Radiol.* 51 : 46–49, 1978.
 - 48) Witcofski, R. L. and Kremkau, F. W. : Ultrasonic enhancement of cancer radiotherapy. *Radiology* 127 : 793–797, 1978.
 - 49) Burr, J. G., Wald, N., Pan, S. and Preston Jr., K. : The synergistic effect of ultrasound and ionizing radiation on human

- lymphocytes. In *Mutagen-Induced Chromosome Damage in Man*. ed. by Evans, H. J. and Lloyd, D. C., University Press, Edinburgh, pp. 120–128, 1978.
- 50) Abadir, R., Harman, J. and Fahim, M. : Enhancement of ionizing radiation effect on the testis of rats by microwave or ultrasound-induced hyperthermia. *J. Med.* 10 : 1–12, 1979.
 - 51) Kunze-Mühl, E. : Observation on the effect of X-ray alone and in combination with ultrasound on human chromosomes. *Hum. Genet.* 57 : 257–260, 1981.
 - 52) Baker, D. G., Sager, H. T., Elkon, D., Constable, W., Rinehart, L., Will, M., Savory, J. and Lacher, D. : The response of kidney to ionizing radiation combined with hyperthermia induced by ultrasound. *Radiology* 145 : 515–519, 1982.
 - 53) Baker, D., Constable, W., Sager, H. and Elkon, D. : The effect of ultrasound-induced hyperthermia and irradiation on skin. *Radiat. Res.* 96 : 359–366, 1983.
 - 54) Baker, D. G., Sager, H., Constable, W. and Goodchild, N. : The response of previously irradiated skin to combinations of radiation and ultrasound-induced hyperthermia. *Radiat. Res.* 96 : 367–373, 1983.
 - 55) Kondo, T. and Kano, E. : Absence of synergistic enhancement of non-thermal effects of ultrasound on cell killing induced by ionizing radiation. *Int. J. Radiat. Biol.* 52 : 627–633, 1987.
 - 56) Harrison, G. H. and Balcer-Kubiczek, E. K. : Continuous-wave ultrasound and neoplastic transformation in vitro. *Ultrasound Med. Biol.* 15 : 335–340, 1989.
 - 57) Ben-Hur, E., Elkind, M. M. and Bronk, B. V. : Thermally enhanced radiosensitivity of cultured Chinese hamster cells. *Nature New Biol.* 238 : 209–210, 1972.
 - 58) Petin, V. G., Komarov, V. P. and Skvortzov, V. G. : Combined action of ultrasound and ionizing radiation on yeast cells. *Radiat. Environ. Biophys.* 18 : 45–55, 1980.
 - 59) Toombs, B. D., Kolodny, G. M., Strandberg, M. W. P. : Synergistic biological effects of ultrasound and ionizing radiations evaluated in vitro. *Radiology* 132 : 731–734, 1979.
 - 60) Kuwabara, Y., Matsubara, S., Yoshimatsu, S. and Suzuki, S. : Combined effects of ultrasound and ionizing radiation on lymphocyte chromosomes. *Acta Radiol. Oncol.* 25 : 291–294, 1986.
 - 61) Goss, S. A. : Sister chromatid exchange and ultrasound. *J. Ultrasound Med.* 3 : 463–470, 1984.
 - 62) Miller, M. W. : Does ultrasound induce sister chromatid exchanges ? *Ultrasound Med. Biol.* 11 : 561–570, 1985.
 - 63) Heimburger, R. F., Fry, F. J., Franklin, T. D. and Eggleton, R. C. : Ultrasound potentiation of chemotherapy for brain malignancy. In *Ultrasound in Medicine* vol. 1. ed. by White, D., Plenum Press, New York, pp. 273–281, 1975.
 - 64) Kremkau, F. W., Kaufmann, J. S., Walker, M. M., Burch, P. G. and Spurr, C. L. : Ultrasonic enhancement of nitrogen mustard cytotoxicity in mouse leukemia. *Cancer* 37 : 1643–1647, 1976.
 - 65) Elkon, D., Lacher, D. A., Rinehart, L., Wills, M. R., Savory, J., Constable, W. C. and Baker, D. G. : Effect of ultrasound-induced hyperthermia and cis-diaminedichloride platinum II on murine renal function. *Cancer* 49 : 25–29, 1982.
 - 66) Tacker, J. R. and Anderson, R. U. : Deliv-

- ery of antitumor drug to bladder cancer by use of phase transition liposome and hyperthermia. *J. Urol.* 127 : 1211-1214, 1982.
- 67) Senapati, N., Houchen, D., Ovejera, A., Beard, R. and Nines, R. : Ultrasonic hyperthermia and drugs as therapy for human tumor xenografts. *Cancer Treat. Rep.* 66 : 1635-1639, 1982.
- 68) Longo, F. W., Tomashefsky, P., Rivin, B. D. and Tannenbaum, M. : Interaction of ultrasonic hyperthermia with two alkylating agents in a murine bladder tumor. *Cancer Res.* 43 : 3231-3235, 1983.
- 69) 秋本亮一 : 超音波の抗癌剤の効果増強に関する実験的検討 (第1報). *日本癌治誌*, 20 : 562-570, 1985.
- 70) Yumita, N., Okumura, A., Nishigaki, R., Umemura, K. and Umemura, S. : The combination treatment of ultrasound and antitumor drugs on Yoshida sarcoma. *Jpn. Hyperthermic Oncol.* 3 : 175-182, 1987.
- 71) ter Haar, G. R. and Loverock, P. : The effect of continuous wave ultrasound on the cytotoxicity of adriamycin in vitro. *J. Ultrasound Med.* 7 : S 54 (abstract), 1988.
- 72) Yumita, N., Nishigaki, R., Umemura, K. and Umemura, S. : Hematoporphyrin as a sensitizer of cell-damage effect of ultrasound. *Jpn. J. Cancer Res.* 80 : 219-222, 1989.
- 73) Saad, A. H. and Hahn, G. M. : Ultrasound enhanced drug toxicity on Chinese hamster ovary cells in vitro. *Cancer Res.* 49 : 5931-5934, 1989.
- 74) Russo, P., Stephenson, R. A., Mies, C., Huryk, R., Heston, W. D. W., Melamed, M. R. and Fair, W. R. : High energy shock waves suppress tumor growth in vitro and in vivo. *J. Urol.* 135 : 626-628, 1986.
- 75) Russo, P., Mies, C., Huryk, R., Heston, W. D. W. and Fair, W. R. : Histopathologic and ultrastructural correlates of tumor growth suppression by high energy shock waves. *J. Urol.* 137 : 338-341, 1987.
- 76) Wilmer, A., Gambihler, S., Delius, M. and Brendel, W. : Shock wave enhance the cytotoxicity of cisplatin but not of adriamycin. A preliminary report. *Eur. Surg. Res.* 20 : 89-90, 1988.
- 77) Fahnestock, M., Rimer, V. G., Yamawaki, R. M., Ross, P. and Edmond, P. : Effect of ultrasound exposure in vitro on neuroblastoma cell membrane. *Ultrasound Med. Biol.* 15 : 133-144, 1989.
- 78) Mortimer, A. J. and Dyson, M. : The effect of therapeutic ultrasound on calcium uptake in fibroblasts. *Ultrasound. Med. Biol.* 14 : 499-506, 1988.
- 79) Julian, T. N. and Zenther, G. M. : Ultrasonically mediated solute permeation through polymer barriers. *J. Pharm. Pharmacol.* 38 : 871-877, 1986.
- 80) Fechheimer, M., Denny, C., Murphy, R. F. and Taylor, D. L. : Measurement of cytoplasmic pH in Dictyostelium discoideum by using a new method for introducing macromolecules into living cells. *Eur. J. Cell. Biol.* 40 : 242-247, 1986.
- 81) Fechheimer, M., Boylan, J. F., Parker, S., Siskin, J. E., Fatel, G. L. and Zimmer, S. G. : Transfection of mammalian cells with plasmid DNA by scrape loading and sonication loading. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 84 : 8463-8467, 1987.
- 82) Libary, R. P. and Magin, R. L. : Microwave-stimulated drug release from liposomes. *Radiat. Res.* 103 : 266-275, 1985.
- 83) 菊地 真 : 超音波加温. *放射線医学大系特別巻3 ハイパーサーミア*. pp. 77-80, 中山

- 書店, 東京, 1987.
- 84) Hunt, J. W. : Applications of microwaves, ultrasound, radiofrequency heating. National Cancer Institute Monograph 61 : 447-456, 1982.
 - 85) Abe, M. and Hiraoka, M. : Localized hyperthermia and radiation in cancer therapy. Int. J. Radiat. Biol. 47 : 347-359, 1985.
 - 86) 加藤博和, 古川雅彦, 石田哲哉 : 加温装置と測温装置の現状と問題点について, 日本ハイパーサーミア誌 2 : 114-131, 1986.
 - 87) Hynynen, K. and Deyoung, D. : Temperature elevation at muscle-bone interface during scanned, focused ultrasound hyperthermia. Int. J. Hyperthermia 4 : 267-279, 1988.
 - 88) Marmor, J. B. and Hahn, G. M. : Combined radiation and hyperthermia in superficial human tumors. Cancer 46 : 1986-1991, 1980.
 - 89) Marmor, J. B. : Cancer therapy by ultrasound. In Advances in Radiation Biology vol. 10 ed. by Lett, J. T., Ehmann, U. and Cox, A. B., Academic Press, New York, pp. 105-133, 1983.
 - 90) Meyer, J. L. : Ultrasound hyperthermia-The stanford experience. Front. Radiat. Ther. Oncol. 18 : 126-135, 1984.
 - 91) Fessenden, P., Lee, E. R., Anderson, T. L., Strolbehn, J. W., Meyer, J. L., Samulski, T. V. and Marmor, J. B. : Experience with multitransducer ultrasound system for localized hyperthermia of deep tissues. IEEE Trans. Biomed. Eng. BME-31 : 126-135, 1984.
 - 92) Corry, P. M., Barlogie, B., Tilchen, E. J. and Armour, E. P. : Ultrasound-induced hyperthermia for the treatment of human superficial tumors. Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys. 8 : 1225-1229, 1982.
 - 93) Corry, P. M., Spanos, W. J., Tilchen, E. J., Barloque, B., Barkley, H. T. and Armour, E. P. : Combined ultrasound and radiation therapy treatment of human superficial tumors. Radiology 145 : 165-169, 1982.
 - 94) Corry, P. M., Jabboury, K., Armour, E. P. and Kong, J. S. : Human cancer treatment with ultrasound. IEEE Trans. Sonics Ultrason. SU-31 : 444-456, 1984.
 - 95) Lele, P. P. : Physical aspects and clinical studies with ultrasonic hyperthermia. In Hyperthermia and Cancer Therapy, ed. by Storm, F. K., G. K. Hall Medical Publishers, Boston, pp. 333-367, 1983.
 - 96) Lele, P. P. : Local hyperthermia for advanced squamous carcinoma of the head and neck. In Head and Neck Oncology, ed. by Wolf, G. T., Martinus Nijhoff, Boston, pp. 249-264, 1984.
 - 97) Lele, P. P. : Advanced ultrasonic techniques for local tumor hyperthermia. Radiologic Clinic of North America 27 : 559-575, 1989.
 - 98) Marchal, C., Bey, P., Hoffstetter, S. and Robert, J. : Ultrasound and microwave hyperthermia in the treatment of superficial human cancerous tumors. In Hyperthermia in Cancer Treatment, vol. II ed. by Anghileri, L. J. and Robert, J., CRC Press, Boca Raton, pp. 211-265, 1986.
 - 99) Shimm, D. S., Hynynen, K. H., Anhalt, D. P., Roemer, R. B. and Cassady, J. R. : Scanned focused ultrasound hyperthermia : initial clinical results. Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys. 15 : 1203-1208, 1988.
 - 100) Coleman, D. J., Lizzi, F. L., Burgess, S. E. P., Silverman, R. H., Smith, M. E., Driller, J., Rosado, A., Ellsworth, R. M., Haik, B. G., Abramson, D. H. and McCormick, B. :

- Ultrasonic hyperthermia and radiation in the management of intraocular malignant melanoma. *Am. J. Ophthalmol.* 101 : 635–642, 1986.
- 101) Williams, A. R. : Bioeffect of ultrasound. In *Ultrasound : Biological Effects and Potential Hazards*. Academic Press, London, pp. 177–253, 1983.
 - 102) Hynynen, K., Roemer, R., Anhalt, D., Jonson, C., Xu, Z. X., Swindell, W. and Cetar, T. : A scanned, focused, multiple transducer ultrasonic system for localized hyperthermia treatments. *Int. J. Hyperthermia* 3 : 21–35, 1987.
 - 103) Moros, E. D., Roemer, R. B. and Hynynen, K. : Simulation of scanned focused ultrasound hyperthermia : The effect of scanning speed and pattern on the temperature fluctuations at the focal depth. *IEEE Trans. Ultrason. Ferroelec. Freq. Cont.* UFFC-35 : 552–560, 1988.
 - 104) Hynynen, K., Deyoung, D., Kundrat, M. and Moros, E. : The effect of blood perfusion rate on the temperature distributions induced by multiple, scanned and focused ultrasonic beams in dog's kidneys in vivo. *Int. J. Hyperthermia* 5 : 485–497, 1989.
 - 105) Underwood, H. R., Burdette, E. C., Ocheltree, K. B. and Magin, R. L. : A multi-element ultrasonic hyperthermia applicator with independent element control. *Int. J. Hyperthermia* 3 : 257–267, 1987.
 - 106) Ebbini, E. S., Umemura, S., Ibbini, M. and Cain, C. A. : A cylindrical-section ultrasound phased-array applicator for hyperthermia cancer therapy. *IEEE Trans. Ultrason. Ferroelec. Freq. Cont.* UFFC-35, 561–572, 1988.
 - 107) Cain, C. A. and Umemura, S. : Concentric-ring and sector-vortex phase-array applications for ultrasound hyperthermia. *IEEE Trans. Microwave Theory Tech.* MTT-34 : 542–551, 1986.
 - 108) Umemura, S. and Cain, C. A. : The sector-vortex phased array : Acoustic field synthesis for hyperthermia. *IEEE Trans. Ultrason. Ferroelec. Freq. Cont.* UFFC-36, 249–257, 1989.
 - 109) Roemer, R. B., Swindell, W., Clegg, S. T. and Kress, R. L. : Simulation of focused, scanned ultrasonic heating of deep-seated tumors : The effect of blood perfusion. *IEEE Trans. Sonics Ultrason.* SU-31 : 457–466, 1984.
 - 110) Tobias, J., Hynynen, K., Roemer, R., Guthkelch, A. N., Fleischer, A. S. and Shively, J. : An ultrasound window to perform scanned, focused ultrasound hyperthermia treatments of brain tumors. *Med. Phys.* 14 : 228–234, 1987.
 - 111) Oleson, J. R. and Samulski, T. V. : Improved coupling of ultrasound hyperthermia applicator to patients. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 16 : 609–612, 1989.
 - 112) Hayakawa, Y., Egawa, J., Yoshioka, K. and Wagai, T. : Multifrequency echoscopy for quantitative acoustical characterization of living tissues. *J. Acoust. Soc. Am.* 69 : 1838–1840, 1981.
 - 113) Christensen, D. A. : Thermometry and thermography. In *Hyperthermia Cancer Therapy*, ed. by Storm, F. K., G. K. Hall Medical Publishers, Boston, pp. 223–232, 1983.