

機関番号：32682

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2008～2010

課題番号：20500428

研究課題名(和文) マルチプローブ型顕微超音波照射システムの開発

研究課題名(英文) Development of multi-probe sono-irradiation system on microscopy

研究代表者

平岡 和佳子 (HIRAOKA WAKAKO)

明治大学・理工学部・教授

研究者番号：00212168

研究成果の概要(和文)：

マルチプローブ型顕微超音波照射システムは超音波医学における新しい治療・診断技法の開発を目指した研究の一環であり、マルチプローブを備えることで、超音波による新しい生体機能の検出・診断システムを兼ね備えた診断・治療法開発装置である。本装置を用いて、新しいドラッグデリバリーシステムの開発、超音波照射と併せた微量診断システムの開発に成功した。

研究成果の概要(英文)：

Development of multi-probe sono-irradiation system on microscopy is a part of the research that aims at the development of new treatment and the diagnosis technique in sonomedicine. It is a diagnosis and treatment method development device that has both detection and the diagnostic system of biological function by sono-irradiation in providing with the multi probe. It succeeded in developing of a new drug delivery system and developing of a micro-scaling diagnostic system in tissues with this device.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	2,800,000	840,000	3,640,000
2009年度	500,000	150,000	650,000
2010年度	500,000	150,000	650,000
年度			
年度			
総計	3,800,000	1,140,000	4,940,000

研究分野：生物物理学・放射線生物学

科研費の分科・細目：人間医工学・医用生体工学・生体材料学

キーワード：超音波・マルチプローブ・ドラッグデリバリーシステム・ケージド化合物・ソノケミカル反応・ソノダイナミック反応・安全性・MHz超音波

1. 研究開始当初の背景

(1) 研究の全体構想と本研究の位置づけ
「マルチプローブ型顕微超音波照射システムの開発」は超音波医学における新しい治療・診断技法の開発を目指した研究の一環であり、本研究助成を受けることにより、これまで開発をおこなってきたスポット照射型

の超音波照射システムをベースに、図1のような多機能の観測が可能になるような検出システムを組み込むことによる、新たな医療応用技術の開発に重点を置いたものである。

(2) 研究の学術的背景

生物・医学応用分野における超音波技術の利用は多岐に渡り、特に超音波エコー診断技

術・機器の開発進歩により医学へ果たしている役割は大きい。このような超音波機器技術の進歩にあわせて、近年では、音響化学効果を用いた抗ガン治療への応用(N. Yumita et al. Jpn. J. Cancer Res. (1989), 219)、遺伝子導入法(D.L. Miller et al. Ultrasound Med Biol. (1999), 143)など幅広く研究開発が進められている。以上のような新しい超音波の利用方法を開発・評価する技術の一つとして、本研究は位置づけることができる。

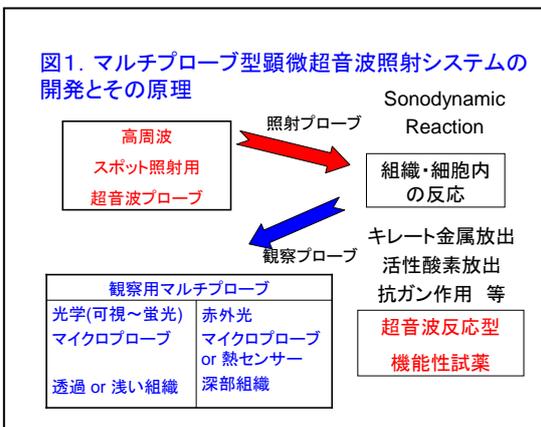
2. 研究の目的

本研究で作成するシステムでは、培養細胞から組織、個体レベルまで幅広い対象への応用性を目指している。従来のシステムでは、顕微鏡下の観察視野内で超音波のスポット照射を目指してきたが、これをさらに拡張して系全体を顕微鏡ステージから解放し、オープンステージ上で、集束超音波照射と試料の各種観測を実施し、細胞内・組織内の超音波の効果照射と同時に複数のリアルタイムで観察することを目指している。

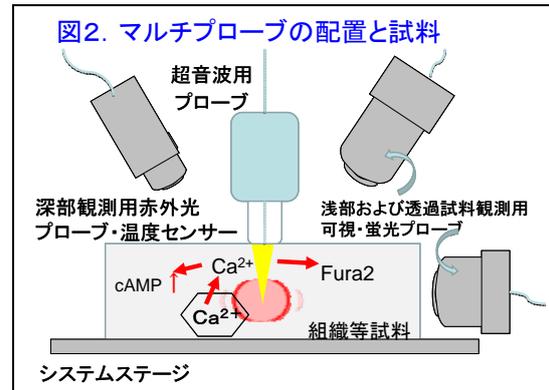
次に本研究で作成する機器の概要を記載する。図2は、実際の装置の配置と、使用試薬例を示したものである。研究期間内前半には、マルチプローブシステムの組み立てとファントムを用いた評価を行い、後期においては、各種試薬を用いて患部局所における薬物の活性化や温度上昇等治療効果の評価および、組織への安全性の評価などを実施する。

3. 研究の方法

研究の具体的目的は、以下の3点となる。(1)集束型高周波超音波プローブの設計と作成、(2)集束型高周波超音波照射領域の測定、(3)超音波反応試薬の活性化と超音波安全性の評価、である。これを達成するために、まずこれまで開発をおこなってきたスポット照射型の超音波照射システムをベースに、図1のような多機能の観測が可能になるような検出システムを組み込んだ。



次に本研究で作成した機器の概要を記載する。図2は、実際の装置の配置と、使用試薬例を示したものである。



研究期間内前半には、マルチプローブシステムの組み立てとファントムを用いた評価を行い、後期においては、各種試薬を用いて患部局所における薬物の活性化や温度上昇等治療効果の評価および、組織への安全性の評価などを実施した。

4. 研究成果

本研究では、実際の生体内での治療・診断環境を実現するために、やや厚みのある組織の深部にも到達可能な集束型の超音波発生プローブを用意した。まず、治療と診断に必要な1 MHz~10 MHzの領域の連続波、バースト波、パルス波を、任意の深さに到達させるために必要な各種プローブを設計、作成した。市販のP Z T素子を取り付けた振動子音源から、集束用に設計されたクォーツレンズを取り付けたプローブを作製した。測定対象のファントムを作成し、水中とファントム中での超音波強度分布を比較した。測定には、市販のハイドロフォンによる音圧の空間分布測定とあわせて、透明ゲル状ファントム中での音波集束状態の可視化を試みた。KIとデンブンを含むゲルへの超音波照射では、発色を得ることができ、超音波の集束カ所を可視化することに成功した。また、フィルムを用いて、収束箇所の分布を可視化することにも成功した。

また、集束型超音波照射と試料の温熱観測・各種光学観測プローブを備えたマルチプローブ型顕微超音波システムを作成し、これを用いて実際に細胞や組織を用いたドラッグデリバリーシステムへの応用を試みた。温熱上昇の観測には、カロリメトリー測定用プローブを応用し、データロガー、PCの測定システムを作成した。顕微観測には、カールツァイス倒立型アキシオパート35M顕微

鏡筒体を利用し、蛍光観測システムと高感度観測用の電子冷却CCDを取りつけ、ステージ上にはオープンシステムとして集束型超音波照射プローブと温熱観測プローブを組み込んだ。以上の改良したシステムを用いて、細胞内・組織内の超音波の効果について照射と同時にリアルタイムでの観察に成功し、実際に研究への応用を実施した。

ドラッグデリバリーへの応用としては、超音波に反応して活性化するケージド化合物の発見と、その詳細な反応メカニズムの研究を行った。各種金属や機能性薬物を包含したケージド化合物に超音波を照射することで、それらの分子を放出させる機構については現在研究が進行中である。さらに、これらのケージド化合物を実際に細胞内に取り込ませ、細胞への損傷の少ない超音波強度において、薬物活性化を確認した。これらの薬物の発見は、今後の新しいドラッグデリバリーへの可能性を示している。さらにこのシステムを用いることにより、活性酸素の発生や、細胞への照射強度を明確化し、細胞へのダメージを詳細に検討した結果(図3)、1-10 MHz領域の超音波の安全性の見積もりが可能となった。

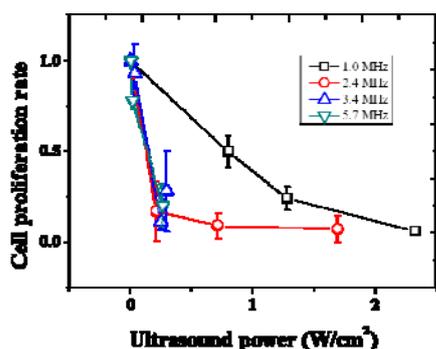


図3. 各周波数における細胞増殖率への影響

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計6件)

- ① S. Hatanaka, S. Hayashi, and P.-K. Choi
Sonoluminescence of Alkali-Metal Atoms in Sulfuric Acid: Comparison with That in Water
Jpn. J. Appl. Phys. 49/7. 2010, 07HE01-05. 査読有
- ② Y. Sawada, Y. Takeuchi, P.-K. Choi,
Multibubble sonoluminescence pulse from Na atom in viscous liquid
Proc. 20th Inter. Congress on Acoustics,

- (Sydney, 2010/08), 2010, 540-543. 査読有
- ③ Y. Hayashi and P.-K. Choi
Effects of rare gases on MBSL spectrum of K atom emission
Proc. 20th Inter. Congress on Acoustics, (Sydney, 2010/08), 2010, 248-251. 査読有
 - ④ S. Hatanaka, S. Hayashi and P.-K. Choi,
Frequency Effects on Sonoluminescence of Alkali-Metal Atoms in Sulfuric Acid.
Proc. 20th Inter. Congress on Acoustics, (Sydney, 2010/08), 2010, 816-820. 査読有
 - ⑤ Y. Watanabe, W. Hiraoka, M. Igarashi, K. Ito, Y. Shimoyama, M. Horiuchi, T. Yamamori, H. Yasui, M. Kuwabara and O. Inanami.
A novel copper(II) coordination at His186 in full-length murine prion protein
Biochem Biophys Res Commun., 394, 522-528. 2010. 査読有
 - ⑥ W. Hiraoka and A. Kato
Effects of phytic acid on cell proliferation and apoptosis
Free Radicals, Health and Lifestyle, International Proceedings from The Europe Meeting of the Society for Free Radical Research, 2009, 65-67. 査読有

[学会発表] (計24件)

- ① W. Hiraoka, A. Kato, Y. Hirakawa, Y. Inomata and M. Aizawa Effect of inositol hexaphosphate and its apatite cements on ROS and its biological implication on PLB-985 cells
Asia-Pacific EPR/ESR Symposium 2010 2010, Oct 10-14 Jeju, Republic of Korea
- ② O. Inanami, Y. Watanabe, M. Igarashi, K. Ito, T. Yamamori, H. Yasui and W. Hiraoka Identification of a novel Cu(II) binding site in full-length murine prionprotein by using ESR/SDSL technique
Asia-Pacific EPR/ESR Symposium 2010 2010, Oct 10-14 Jeju, Republic of Korea
- ③ A. Kato, Y. Hirakawa, Y. Inomata, M. Aizawa and W. Hiraoka Inositol hexaphosphate and its apatite cements-induced ROS generation and their biological effects on human cells
第48回日本生物物理学会年会 2010, Sep 20-22. 仙台市
- ④ T. Sato, Y. Miura, Y. Sakuai, W. Hiraoka and T. Endo. Effect of O-linked N-acetylglucosamine (O-GlcNAc) modification on oxidative stress-induced apoptosis
第48回日本生物物理学会年会 2010, Sep 20-22. 仙台市

⑤ K. Kubota, T. Imaki and W. Hiraoka Cu²⁺ binding ability of His96 and His111 in human prion protein 第48回日本生物物理学会年会 2010, Sep 20-22. 仙台市

⑥ 佐藤貴俊、三浦ゆり、櫻井洋子、平岡和佳子、遠藤玉夫 酸化ストレス応答に及ぼすO-結合型N-アセチルグルコサミン修飾の影響. 第63回日本酸化ストレス学会 2010, June 24 横浜市

⑦ 加藤あす香、平川裕樹、猪股義彦、相澤守、平岡和佳子 フィチン酸を用いたアパタイトセメントによる活性酸素への影響 第63回日本酸化ストレス学会 2010, June 24 横浜市

⑧ A. Kato, Y. Hirakawa, Y. Inomata, M. Aizawa, W. Hiraoka フィチン酸 (IP6) の活性酸素阻害作用と生物学的効果. 日本生物物理学会第47回年会 2009.10.30-11.1 徳島市

⑨ M. Shibuya, Y. Watanabe, K. Kubota, K. Takahashi, Hi. Nakagawa, N. Miyata, O. Inanami, W. Hiraoka マウスプリオンタンパク質ミュータントの線維形成. 日本生物物理学会第47回年会 2009.10.30-11.1 徳島市

⑩ Y. Odate, P.-K. Choi and W. Hiraoka MHz超音波によるU937細胞における遺伝子発現の誘導. 日本生物物理学会第47回年会 2009.10.30-11.1 徳島市

⑪ Y. Inomata, W. Hiraoka and M. Aizawa A preliminary study on anti-tumorigenesis of chelate-setting hydroxyapatite cements using inositol phosphate Bioceramics 22 2009.10.26-29, Daegu

⑫ 大館祐介, 崔博坤, 平岡和佳子 MHz超音波によるU937細胞におけるシグナルトランスダクションの発現. 第18回ソノケミストリー討論会 2009.10.23-24 長岡市

⑬ 平岡和佳子, 金森茜 ケージドカルシウムキレターの超音波による活性化 第18回ソノケミストリー討論会 2009.10.23-24 長岡市

⑭ 猪股義彦・平岡和佳子・相澤守 イノシトールリン酸を用いたキレート硬化型アパタイトセメントの抗腫瘍効果に関する研究. 日本セラミックス22シンポジウム 2009.9.16-18 松山市

⑮ O. Inanami, Y. Watanabe and W. Hiraoka Redox regulation in radiation-induced apoptosis-related cytochrome c release from mitochondria. SFRR-Europe meeting 2009, 2009.8.26-29, Roma

⑯ W. Hiraoka, A. Kato Effects of phytic acid on cell proliferation and apoptosis. SFRR-Europe meeting 2009 2009.8.26. Roma

⑰ 畑中信一, 林茂雄, 崔博坤 高強度ソノルミネッセンス気泡によるカーボンナノ材料の合成. 日本ソノケミストリー学会 2008年12月6日電気通信大学

⑱ 和久井奈々, 畑中信一, 林茂雄, 崔博坤 非水溶媒中アルカリ金属原子のソノルミネッセンス. 日本ソノケミストリー学会 2008年12月6日電気通信大学

⑲ 崔博坤 アルカリ金属原子からのソノルミネッセンス 日本ソノケミストリー学会 2008年12月6日電気通信大学

⑳ 金森茜, 近藤隆, 平岡和佳子 PLB-985細胞内における光分解性ケージド化合物の超音波による活性化. 日本ソノケミストリー学会 2008年12月5日電気通信大学

㉑ 大館祐介, 崔博坤, 平岡和佳子 低MHz超音波によるU937細胞への生物学的効果. 日本ソノケミストリー学会 2008年12月5日電気通信大学

㉒ 畑中信一, 林茂雄, 崔博坤 硫酸中マルチバブルソノルミネッセンスにおける高強度Na*発光気泡のダイナミクス 日本ソノケミストリー学会. 2008年12月5日電気通信大学

㉓ 金森茜, 近藤隆, 平岡和佳子 超音波照射による光分解性ケージド化合物の活性化. 第46回日本生物物理学会年会 2008年12月3日 福岡

㉔ 大館祐介, 崔博坤, 平岡和佳子 低MHz超音波によるU937細胞への生体影響. 第46回日本生物物理学会年会 2008年12月3日福岡

6. 研究組織

(1) 研究代表者

平岡 和佳子 (HIRAOKA WAKAKO)
明治大学・理工学部・教授
研究者番号：00212168

(2) 研究分担者

崔 博坤 (SAI HIROSHI)
明治大学・理工学部・教授
研究者番号：30143530