

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 4 年 6 月 17 日現在

機関番号：34310

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19H04498

研究課題名(和文) 中出力超音波照射による生物の発生と成長への影響とその安全性評価

研究課題名(英文) Effects of biological tissue exposed to medium-power ultrasound on the development and growth of organisms and their safety evaluation

研究代表者

秋山 いわき (Akiyama, Iwaki)

同志社大学・生命医科学部・教授

研究者番号：80192912

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 12,500,000円

研究成果の概要(和文)：中出力超音波照射による生物の発生と成長への影響を検討するために、超音波照射メダカ胚のプロテオーム解析とラット超音波照射によるアプローチを行った。1つのメダカ胚にピンポイントで超音波を照射することのできる実験系の作成及び、照射によるタンパク質の総体の変化を解析する手法を考案した。二次元電気泳動法及び、SWATH解析を用いた結果から、超音波照射により影響を及ぼすタンパク質を見出した。超音波照射ラットによるアプローチでは、低強度の超音波を週に数回、1分程度照射するだけで生体内の抗酸化力が向上する可能性が示唆された。超音波の強度を変化させることで直接筋細胞を増強できる可能性がある。

研究成果の学術的意義や社会的意義

メダカ胚1個におけるタンパク質のプロファイルの取得及び、超音波照射により影響を及ぼすタンパク質を見出し、安全な照射条件の定量的評価の目安となるバイオマーカーとなるタンパク質を報告した。SWATH-MS法では、メダカにおけるプロテオミクスは非常に少ないこともあり、貴重なプロファイルが得られた。今後寝たきりやリハビリ中の患者など激しい運動の出来ない方々に向けて新しい手段を提供出来る可能性がある。健康な方々に向けても抗酸化力の向上は様々な疾患の予防となることから、超音波は新たなデバイスとして社会の健康寿命増進にも一役担う事ができると考える。

研究成果の概要(英文)：In order to investigate the effects of medium-power ultrasonic exposure on the development and growth of organisms, a proteome analysis of medaka embryos exposed to ultrasound and an approach using rat exposed to ultrasound were carried out.

An experimental system that one medaka embryo exposed to pinpoint ultrasonic waves was constructed, and a method to analyze changes in the total amount of protein exposed to ultrasound was proposed. From the results of two-dimensional electrophoresis and SWATH analysis, it is found that a protein is affected by ultrasonic exposure.

It was suggested that the approach using rats exposed to ultrasound may improve the antioxidant power in the living body exposed to low-intensity ultrasonic waves several times a week for about 1 minute. It may be possible to directly enhance muscle cells growth.

研究分野：超音波医科学

キーワード：超音波照射メダカ胚 超音波照射ラット プロテオーム解析 SWATH MULTIS法 筋管細胞 ウェスタンブロッティング 二次元電気泳動

## 1. 研究開始当初の背景

臨床診断における超音波は年々重要度が増大して、現在では様々な疾患や病変の診断に用いられている。それは、放射線に比較して高い安全性によるところが大きい。しかし、超音波出力が高くなると生体作用が顕著になるため、国内を含め主要各国においては超音波出力に対する規制値が設けられている。この規制値は、超音波照射による生体作用に関する従来の考え方に基づいて決められている。すなわち、超音波の生物作用様式は熱作用と非熱作用に分類され、後者はキャビテーション作用と非キャビテーション作用に分けられる。しかし、最近ではこれらの2つの作用では説明のできない生体作用が報告されている。例えば骨折治療に用いられる低出力超音波パルス(LIPUS: Low Intensity Pulsed Ultrasound)や、アルツハイマー型認知症の治療に効果があったという報告もある。このように温度上昇がほとんどなく、キャビテーションも発生しない中程度の出力による超音波照射が生体へどのような影響を与えるかについてはその発生機序を含めて未解明である。特に、生物の発生および成長における超音波照射が与える影響については、医学的かつ生物学的に重要であることは言うまでもなく、超音波診断が広く普及している現在の臨床診断における喫緊の課題といえる。

## 2. 研究の目的

近年の分子生物学やマイクロバブル製剤技術の発展と共に、造影超音波や超音波による遺伝子導入の応用が期待されている。超音波の主な生体作用について、低出力の超音波でも遺伝子発現が変化することから、分子レベルの現象に基づく治療展開が期待されている。超音波は安全性の高い物理的因子で、診断上、必須の技術として発展してきたが、本研究課題の成果によって、生態学的知見、生化学的知見、分子生物学的知見を基盤として分子診断及び治療応用へと道が拓かれるという波及効果が期待される。また、これら知見により、超音波生物学・医学領域の新たな展開も期待できる。本研究の目的は温度上昇が小さく、キャビテーションを発生しない中程度の超音波出力照射が生体へ与える影響を動物実験によって明らかにすることである。本研究課題では、このような超音波照射によって生物の発生と成長へ与える影響を明らかにする点を特徴としている。発生と成長における超音波照射についての研究はまだ明らかになっていない点が多い。本研究の学術的独自性は、超音波照射されたメダカ胚に対するプロテオーム解析によって生物発生への影響を、超音波照射によるラットの成長への影響を明らかにする点である。したがって、本研究の目的は学術的問いである中出力超音波照射による生体への影響を明らかにすることの中でも特に「生物の発生と成長へ与える影響を明らかにすること」である。具体的には、メダカ胚とラットを用いて中出力超音波照射の影響を調べる。

## 3. 研究の方法

本研究では目的を達成するために、次の2つのアプローチによって構成される。第1は超音波照射メダカ胚のプロテオーム解析によるアプローチであり、第2はラット超音波照射によるアプローチである。

### (1) 超音波照射メダカ胚のプロテオーム解析によるアプローチ

Fig.1 のようなメダカ胚用超音波照射システムを構築した。このシステムでは寒天ゲル中に設けられた内径2mmの孔の中にメダカ胚を配置して、凹面振動子の焦点となるように振動子を固定してから超音波照射を行う。

超音波照射用の凹面振動子(ジャパンプローブ株式会社, 1Z401 R50, 口径40mm, 焦点距離50mm)の焦点部の音圧をハイドロフォン(ONDA, HNR0500)により、測定を行った。その結果、100 kPa, 500 kPa, 1.0 MPaを照射音圧とした。それぞれの超音波強度は $I_{spta}=330 \text{ mW/cm}^2, 8.3 \text{ W/cm}^2, 33 \text{ W/cm}^2$ である。本実験で使用した凹面振動子の音場を測定し、焦点位置におけるビーム幅は約2mmであり、直径が1.2mmのメダカ胚全体に照射されることを確認した。

実験動物は、大学共同利用機関法人自然科学研究機構基礎生物学研究所から提供されたメダカ(OK-Cab)から採卵した受精4日目のメダカ胚を4個に照射した。

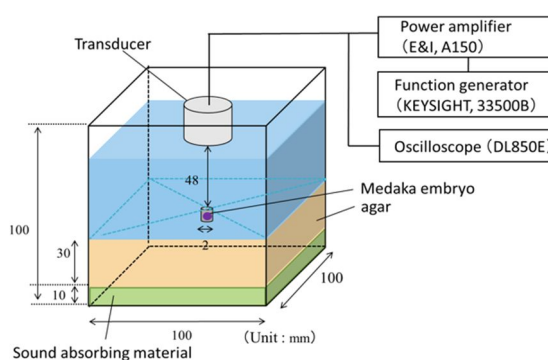


Fig.1

### 二次元電気泳動法 (BN/SDS 2D PAGE)

一般的な二次元電気泳動法では、細胞全タンパク質を数千以上にも及ぶスポットに分離するこ

とができる。新たな電気泳動法, BN/SDS 2D PAGE を用いた。本研究で用いた BN/SDS 2D PAGE は, 一次元目の BN (Blue Native) - PAGE で, クマシーブルー染色液を用いてタンパク質を染色し, タンパク質の高次構造や複合構造を保持した還元されていないネイティブ状態のまま, 分子の大きさに従って分離する。さらに, 還元剤を用いた二次元目の電気泳動 (SDS - PAGE) を行った。

#### SWATH-MS

SWATH-MS (Sequential Window Acquisition of all Theoretical fragment ion spectra Mass Spectrometry) 法は, 新しい定量プロテオミクス手法である (Ludwig, Christina, et al, Molecular systems biology, 14, 347-355, (2018))。SWATH-MS は SWATH 測定データで一度得られた MSMS スペクトルと同じ保持時間かつ同じ質量範囲に該当するライブラリーと照合することで複雑なスペクトルから同定可能としている。これにより, 定量可能なタンパク質は約 5,000 ~ 10,000 種類と非常に多くのタンパク質を高感度で検出することが可能となる。

## (2) 超音波照射ラットによるアプローチ

超音波照射が「酸化ストレス」を介した機序でどのような影響を生体に及ぼすかを明らかにするために, 以下に示すような 6 つの in vitro および in vivo の手法を用いた実験を行った。動物実験としては, ラット (日本クレア, Tokyo, Japan) への超音波照射によって生体内での  $\cdot\text{OH}$ ,  $1\text{O}_2$ ,  $\text{O}_2\cdot-$ ,  $t\text{-BuOO}\cdot$ ,  $t\text{-BuO}\cdot$ ,  $\text{CH}_3\cdot$  の 6 種の ROS の変動について MULTIS (Multiple Free-Radical Scavenging) 法を用いて計測した。超音波照射条件を 6 つの実験についてまとめたものを表 1 に示す。超音波強度は超音波医学会に定められた超音波診断装置の安全基準 ( $I_{\text{spta}} = 720[\text{W}/\text{cm}^2]$ ,  $\text{MI} < 1.9$ ) を満たしている。

表 1 超音波照射条件

	No.1	No.2			No.3	No.4	No.5		No.6	
		(a)	(b)	(c)			(a)	(b)		
US Output Setting	Frequency [MHz]	2.0			2.0	2.0	2.0		2.0	
	PRT [ms]	1.0			1.0	1.0	1.0		1.0	
	Cycles	200	6	60	200	60	80	40	80	80
	PD [ms]	0.10	0	0.03	0.1	0.03	0.04	0.02	0.04	0.04
	Duty Ratio	0.10	0	0.03	0.1	0.03	0.04	0.02	0.04	0.04
Negative Sound Pressure [MPa]	0.40	0.33			0.33	0.59	0.4	0.59	0.59	
Water Temperature [°C]	37	37			37	37	25	25	37	
Exposure Period [s]	60	60			60	600	600		600	
Ispta [ $\text{W}/\text{cm}^2$ ]	0.52	0.01	0.11	0.36	0.11	0.47	0.11	0.47	0.47	
Mechanical Index (MI)	0.28	0.23			0.23	0.42	0.28	0.42	0.42	

### 超音波照射による抗酸化能の時間変動

15 週齢の雄性 Wistar Rat を Control 群, 10 分後採血群, 30 分後採血群, 60 分後採血群にランダムに分ける ( $n=6$ )。各検体には超音波照射の 10 分前にセボフレン吸入麻酔を行い, その後 25% ウレタン麻酔 1[mL] を腹腔内に注射する (テルモ注射針 26G, 東京硝子器械, Tokyo, Japan)。麻酔が効き始めたラットの背中に PROJELLY (ジェックス, Japan) を塗布し, 超音波照射面が水面に接するように網を張ったアクリルベッドに寝かせ, 超音波照射を行った。Control 群は 1 分間水ベッドに寝かせたあと 10 分後, 超音波照射群は 1 分間超音波照射後, 各群それぞれ 10 分後, 30 分後, 60 分後に開腹し腹腔大動脈よりヘパリン Na 注 5 千単位/5mL (持田製薬, Tokyo, Japan) を通した採血を行った。

### 周期的な超音波照射による抗酸化能の変動と $I_{\text{spta}}$ の影響

9 週齢の雄性 Wistar Rat (日本クレア, Tokyo, Japan) を Control 群,  $0.01[\text{W}/\text{cm}^2]$  群,  $0.11[\text{W}/\text{cm}^2]$  群,  $0.36[\text{W}/\text{cm}^2]$  群にランダムに分ける ( $n=6$ )。 (採血時は 10 週齢)。各検体は 3 匹ずつ 1 つのケージに入れ, 十分な水分と餌を与え, 湿度や室温を管理された飼育部屋で飼育する。超音波照射群のラットは, 振動子一体型水槽に入れ, ラットの腹部の下方に振動子を配置するように調整した。ラットの腹部まで脱気水で満たされていることを確認した。Control 群のラットは超音波照射はせず, 1 分後にケージに戻した。一連の作業を 48 時間毎 (隔日) に 4 回行い, 4 回目照射完了の 24 時間後に開腹, 及び腹腔大動脈より採血を行なった。

### 長期的な超音波照射における照射頻度の検討

5 週齢の雄性 Wistar Rat を Control 群, 隔日照射群, 4 日毎照射群, 8 日毎照射群にランダムに分けた ( $n=6$ ) (採血時は 10 週齢)。各検体は 3 匹ずつ 1 つのケージに入れた。超音波照射は各群でそれぞれ, 約 48 時間毎 (隔日), 約 96 時間毎 (4 日毎), 約 192 時間毎 (8 日毎) に行なった。超音波照射のない群のラットも同じ状態で 1 分間保ち, 体表の水分を拭きケージに戻した。超音波照射を隔日群は 17 回, 4 日毎群は 9 回, 8 日毎群は 5 回行い, 各群の最終照射が重なる実験開始から 33 日目最終照射の 24 時間後に開腹, 及び腹腔大動脈より採血を行う。採血の 10 分前にセボフレン吸入麻酔を行い, その後 25% ウレタン麻酔 1[mL] を腹腔内に注射することで麻酔をかけた。

### TNF- を用いた筋萎縮モデルに対する超音波照射の影響

マウス骨格筋芽細胞 (C2C12, ATCC, American Type Culture Collection, USA) を 3.5 cm ディッシュ (VTC-D35, アズワン, Osaka, Japan) で培養後, 筋管細胞へ分化誘導したものを対象細胞とした. 筋管細胞の育った 3.5 cm ディッシュを Control 群, TNF 群, US 群, TNFUS 群の 4 群に分け, それぞれ操作を行った. まず Control 群は古い培地から新しい分化誘導用培地に交換する. TNF 群では古い培地から, 100 µg/mL TNF- $\alpha$  を分化誘導用培地で 5,000 倍希釈した 20ng/mL final concentration の TNF- $\alpha$  含有培地に交換する. US 群は古い培地から新しい分化誘導培地に交換し, 30 分後超音波を照射する. その後, 24 時間後にも再度照射を行った. 各群, 培地交換後すぐに細胞の様子を写真に撮り, 培地交換後 48 時間後にも写真を撮る. その後, RIPA Buffer (n=4) と 0.5% Triton X-100 (n=4) それぞれで細胞の回収を行った. 撮影した写真は筋管直径を測定し, 実験前後の筋管直径を比較した. RIPA Buffer で回収した各サンプルは, タンパク定量と SDS 化を行い, 10well で作製したポリアクリルアミドゲルを用いて Western blotting を行った.

### 超音波照射による筋管細胞のタンパク質合成速度への影響

SUnSET 法を用いてタンパク合成速度を比較する. (2) と同様に C2C12 を 48 時間分化誘導した筋管細胞を用いた. PBS (-) 1[mL] で 2 回洗浄した後, 10[mM] puromycin を分化誘導用培地で 10,000 倍希釈した 1[µM] final concentration の puromycin 含有 DMEM を 2[mL] 添加した. Control 群は 10 分間ディッシュ底面を同じ温度の脱気水に浸けた. 実験操作終了後すぐに dish 底面と側面をアルコールで拭き, 37 °C, 5% CO<sub>2</sub> の条件下で 30 分間インキュベートした. 各サンプルのタンパク定量と SDS 化を行い, 15well で作製したポリアクリルアミドゲルを用いて Western blotting を行った.

### 超音波照射による細胞内一重項酸素の変化

C2C12 細胞を 48 時間分化誘導した筋管細胞を用いる. HBSS (-) 1[mL] で 2 回洗浄した後, 100 µM Si-DMA を HBSS (-) で 1,000 倍希釈した 100[nM] final concentration の Si-DMA 含有 HBSS (-) を 1[mL] 添加し, 37 °C, 5% CO<sub>2</sub> の条件下で 45 分間インキュベートする. 細胞に十分 Si-DMA を取り込ませた後, HBSS (-) 1[mL] で 2 回洗浄し, HBSS (-) 1[mL] を添加した後, 再度 37 °C, 5% CO<sub>2</sub> の条件下で 30 分間インキュベートした. Control 群は 10 分間ディッシュ底面を同じ温度の脱気水に浸ける. 実験操作終了後すぐに共焦点顕微鏡 LSM900 (Carl Zeiss, Germany) で観察した.

## 4. 研究成果

### (1) 超音波照射メダカ胚のプロテオーム解析によるアプローチ

#### 二次元電気泳動法 (BN/SDS 2D PAGE)

凍結保存されていた試料は, 氷上 (0 °C) で Lysis Buffer を用いて解凍した. 細胞内部のタンパク質も溶解させるため, 破砕器を用いて組織・細胞構造を破砕し可溶性タンパク質を回収した. その後, タンパク質の抽出溶液を一次元目の BN-PAGE を用いて分離し, さらに二次元目の SDS - PAGE を行い, 銀染色により染色像を得た. 銀染色後の各音圧のゲルから特徴的な領域を挙げる. 分子量が約 50,000 ~ 60,000 をもつタンパク質が 0, 100k, 500k, 1000kPa に近づくにつれて発現量が増加していると考えられる.

#### SWATH-MS 法

特定されたタンパク質は 754 種類, ペプチドは 7654 種類であった. 超音波診断装置の超音波出力の規制値である  $I_{spta} = 720 \text{ mW/cm}^2$  以下とそれを超える場合について 2 つに分けて, マン・ホイットニー-u 検定で比較したところ発現量が有意に変動したタンパク質は表 2 に示す通りである.

表 2 発現量が変動したタンパク質

発現量増加		発現量減少	
hemoglobin subunit beta-1-like	IF rod domain-containing protein	LDLR chaperone MESD	UBC core domain-containing protein
histone H4	nephrosin	RAB1A, member RAS oncogene family a	BRO1 domain-containing protein
hemoglobin embryonic subunit alpha-like	Abhydrolase 2 domain-containing protein	Dihydropyrimidinase-related protein 2	Uncharacterized protein
ribosomal protein S7	Ribonucleoprotein	Phosvitin	Uncharacterized protein
protease(1ce)	DNA helicase	AP complex subunit beta	keratin, type I cytoskeletal 13-like
crystallin beta B1	Uncharacterized protein	Lysine-tRNA ligase	Uncharacterized protein
60S ribosomal protein L35a	pre-mRNA processing factor 19	Uncharacterized protein	ribosomal protein L34
Glutathione transferase	LRRcap domain-containing protein	Acyl-CoA dehydrogenase family, member 9	Nucleolin
Glyceroldehyde-3-phosphate dehydrogenase	ADP/ATP translocase	Uncharacterized protein	60S ribosomal protein L7a
Methionine aminopeptidase 2	Calpain 2 (m/III) large subunit b	C-type lectin domain-containing protein	60S ribosomal protein L17
ribosomal protein S19	Alpha-1,4-glucan phosphorylase	60S ribosomal protein L6	keratin, type I cytoskeletal 13-like
Uncharacterized protein	GOLD domain-containing protein	40S ribosomal protein S30	choriogenin H
Uncharacterized protein	Procollagen-proline 4-hydroxylase		
beta-crystallin A1-like	hemoglobin subunit beta-like		
40S ribosomal protein SA	Uncharacterized protein		
Complex I-B17	Uncharacterized protein		
Uncharacterized protein	MPN domain-containing protein		
	Aldolase II domain-containing protein		

### (2) ラット超音波照射によるアプローチ

#### 超音波照射による抗酸化能の時間変動

超音波照射によって血漿内抗酸化能が一時的に向上する事が分かった。抗酸化能を恒常的に増加させるためには、複数回周期的に超音波を照射する必要があると予想し、次の実験では周期的に超音波を照射することで抗酸化力が維持されるか、また最適な照射頻度を検討した。

#### 周期的な超音波照射による抗酸化能の変動と $I_{\text{spTa}}$ の影響

隔日で超音波を照射することで 60 分後に基底値に戻りつつあった抗酸化能が超音波照射から 24 時間経った後でも維持されていることが分かった。また、超音波強度の指標である  $I_{\text{spTa}}$  の強度と抗酸化能上昇の度合いの比較について、 $0.01[\text{W}/\text{cm}^2]$  では  $t\text{-BuO}\cdot$ 、 $1\Delta\text{O}_2$  消去活性がそれぞれ 158%と 125%で有意に上昇した。 $0.11[\text{W}/\text{cm}^2]$  では、 $t\text{-BuOO}\cdot$  を除く 5 種のラジカルについて、それぞれ  $\cdot\text{OH}$  消去活性は 351%、 $\text{O}_2\cdot^-$  消去活性は 178%、 $t\text{-BuO}\cdot$  消去活性は 158%、 $\text{CH}_3\cdot$  消去活性は 201%、 $1\Delta\text{O}_2$  消去活性は 170%と有意に上昇した。 $0.36[\text{W}/\text{cm}^2]$  では  $\cdot\text{OH}$  消去活性は 240%、 $\text{O}_2\cdot^-$  消去活性は 234%、 $t\text{-BuO}\cdot$  消去活性は 138%、 $1\Delta\text{O}_2$  消去活性は 159%と有意に上昇した。

#### 長期的な超音波照射における照射頻度の検討

(2) と同じ超音波照射頻度で約 1 ヶ月照射した結果、 $\cdot\text{OH}$  消去活性は 181%、 $t\text{-BuO}\cdot$  消去活性は 125%、 $1\Delta\text{O}_2$  消去活性は 125%まで有意に向上した。約 1 週間の照射では  $\cdot\text{OH}$  消去活性は 351%、 $\text{O}_2\cdot^-$  消去活性は 178%、 $t\text{-BuO}\cdot$  消去活性は 158%、 $\text{CH}_3\cdot$  消去活性は 201%、 $1\Delta\text{O}_2$  消去活性は 170%の上昇であったことから、1 ヶ月間隔日で照射してしまうと、抗酸化能は維持されない可能性があることが示唆された。4 日毎の照射では  $\cdot\text{OH}$  消去活性は 224%、 $t\text{-BuO}\cdot$  消去活性は 146%と有意に上昇した。8 日毎の照射では  $\cdot\text{OH}$  消去活性は 186%と有意に上昇した。

#### TNF- $\alpha$ を用いた筋萎縮モデルに対する超音波照射の影響

超音波照射前は 4 群ともほぼ等しい筋管直径であった一方で、操作を始めて 48 時間後では Control 群の成長度と比較して、US 群では有意に筋管直径が延伸していることが分かった。また、筋萎縮を促す TNF- $\alpha$  を添加し培養した TNF 群では Control 群の成長に比べ多少萎縮する傾向にあった一方で、TNFUS 群の TNF- $\alpha$  で培養しつつ US 照射を行った群では Control 群と比べて延伸する傾向にあった。Control 群や TNF 群では細い筋管が散見されるが、US 照射を行った群では太い筋管も見受けられた。細胞内  $\cdot\text{OH}$  消去活性は Control 群から約 300%まで有意に上昇していた。TNF 群では細胞内の MuRF1 の量が Control 群と比較して 237%まで有意に上昇していた。TNFUS 群でも 215%まで上昇する傾向にあった一方で、US 群では 84%まで減少していた。

#### 超音波照射による筋管細胞のタンパク質合成速度への影響

ラットへの超音波照射の最適条件であった  $0.11[\text{W}/\text{cm}^2]$  と、これまで細胞照射で用いてきた  $0.47[\text{W}/\text{cm}^2]$  では全く異なる結果が得られた。 $0.11[\text{W}/\text{cm}^2]$  では Control 群と比較して 76%までタンパク質合成が抑えられている一方で、 $0.47[\text{W}/\text{cm}^2]$  では 193%まで促進されていたことから、超音波の強度によって生体に与える影響が異なっていることが示唆される。

#### 超音波照射による細胞内一重項酸素の変化

Control 群と比較し、US 群ではより発色している事が分かった。これは、超音波照射後に細胞内に  $1\Delta\text{O}_2$  が発生したことを示唆しており、これはミトコンドリア内で ROS が一時的に発生することによってそれに対抗するために ROS 消去活性が上昇するというホルミシス効果が超音波照射によって起こっている可能性が高いことを示していると考えられる。

#### (3) まとめ

本研究課題では、中出力超音波照射による生物の発生と成長への影響を検討するために、超音波照射メダカ胚のプロテオーム解析によるアプローチとラット超音波照射によるアプローチを行った。

1 つのメダカ胚にピンポイントで超音波を照射することのできる実験系の作成及び、照射によるタンパク質の総体の変化を解析する手法を考案した。二次元電気泳動法及び、網羅的プロテオーム解析である SWATH 解析を用いた結果から、メダカ胚 1 個におけるタンパク質のプロファイルの取得及び、超音波照射により影響を及ぼすタンパク質を見出し、安全な照射条件の定量的評価の目安となるバイオマーカーとなるタンパク質を報告した。

超音波照射ラットによるアプローチでは、次のような結論を得た。

低強度の超音波を週に数回、1 分程度照射するだけで生体内の抗酸化力が向上する可能性が示唆された。

超音波の強度を変化させることで直接筋細胞を増強できる可能性がある

超音波照射による抗酸化能増強がホルミシス効果によるものであれば、超音波照射によって簡易に運動と同じ効果(Umeda, Changes in Neutrophil Immune Functions under Different Exercise Stresses, Jpn.J.Hyg., 66, 533-542, 2011.)が得られる可能性がある。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計14件（うち招待講演 1件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 西野嘉晃、池川雅哉、岩崎了教、秋山いわき、高柳真司
2. 発表標題 メダカ胚プロテオーム解析による発生器の超音波照射影響の研究
3. 学会等名 日本超音波医学会第46回関西地方会学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 中村椋介、市川寛、牧田ひかる、氏政かりん、南山幸子、秋山いわき
2. 発表標題 超音波照射下における骨格筋細胞の筋合成に関する研究
3. 学会等名 日本超音波医学会第46回関西地方会学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 池川雅哉
2. 発表標題 メダカ胚を用いた発生期における超音波照射の影響の研究
3. 学会等名 日本超音波医学会第92回学術集会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 氏政かりん、市川寛、古屋元秀、南山幸子、秋山いわき
2. 発表標題 超音波照射下における骨格筋細胞の筋合成活性
3. 学会等名 日本超音波医学会第93回学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 西野嘉晃、葛徳、秋山いわき、池川雅哉、岩崎了教、高柳真司
2. 発表標題 メダカ胚のプロテオーム解析を用いた発生期における超音波照射の影響
3. 学会等名 日本超音波医学会第93回学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 高柳真司 西野嘉晃 池川雅哉 岩崎了教 葛徳 上地貴大 上野智弘 日下部りえ 吉岡正裕 秋山いわき
2. 発表標題 超音波照射メダカ胚のプロテオーム網羅解析
3. 学会等名 日本超音波医学会第94回学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 島田 遥 氏政かりん 中村棕介 永井康伯 市川 寛 秋山いわき
2. 発表標題 超音波照射によるラットの抗酸化能の向上
3. 学会等名 日本超音波医学会第48回関西地方会学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 永井康伯 市川寛 本田海 南山幸子 秋山いわき 山上皓大
2. 発表標題 音波照射によるC.elegansの寿命への影響
3. 学会等名 日本超音波医学会第48回関西地方会学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 松田悠佑 市川寛 福田友理絵 本田海 山上皓大 島田遥 南山幸子 秋山いわき
2. 発表標題 超音波照射による抗酸化能の増強とサルコペニア予防の検討
3. 学会等名 日本超音波医学会第48回関西地方会学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 上地貴大 西野嘉晃 池川雅哉 岩崎了教 葛徳 上野智弘 日下部りえ 吉岡正裕 高柳真司 秋山いわき
2. 発表標題 超音波照射単一メダカ胚のプロテオーム解析 SWATH法による変動タンパク質特定の試みー
3. 学会等名 日本超音波医学会第48回関西地方会学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 丹羽良介, 市川 寛, 松田悠介, 本田 海, 山上皓大, 南山幸子, 秋山いわき
2. 発表標題 ラット後肢テーピングを用いた廃用性筋萎縮に対する超音波照射の予防効果の検討
3. 学会等名 日本超音波医学会第95回学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 上地貴大, 池川雅哉, 岩崎了教, 葛 徳, 堀井 凜, 上野智弘, 日下部りえ, 吉岡正裕, 高柳真司、秋山いわき
2. 発表標題 メダカ胚の発生と単発超音波照射強度の関係
3. 学会等名 日本超音波医学会第95回学術集会
4. 発表年 2022年



1. 発表者名 本田 海, 市川 寛, 松田悠介, 丹羽良介, 山上皓大, 南山幸子, 秋山いわき
2. 発表標題 超音波照射による C.elegans の寿命への影響
3. 学会等名 日本超音波医学会第95回学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 松田悠佑, 市川 寛, 丹羽良介, 本田 海, 山上皓大, 南山幸子, 秋山いわき
2. 発表標題 超音波照射による抗酸化能の増強とサルコペニア予防の検討
3. 学会等名 日本超音波医学会第95回学術集会
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計0件

〔出願〕 計1件

産業財産権の名称 生体への超音波照射方法及び超音波照射装置	発明者 秋山いわき、市川寛	権利者 同志社大学
産業財産権の種類、番号 特許、特願2020-215257	出願年 2020年	国内・外国の別 国内

〔取得〕 計0件

〔その他〕

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	市川 寛  (Ichikawa Hiroshi)  (60336732)	同志社大学・生命医科学部・教授   (34310)	
研究分担者	吉岡 正裕  (Yoshioka Masahiro)  (60358322)	国立研究開発法人産業技術総合研究所・計量標準総合センター・研究グループ長   (82626)	

6. 研究組織（つづき）

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	池川 雅哉  (Ikegawa Masaya)  (60381943)	同志社大学・生命医科学部・教授    (34310)	
研究分担者	千葉 裕介  (Chiba Yusuke)  (40828183)	国立研究開発法人産業技術総合研究所・計量標準総合センター・研究員    (82626)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関