

令和 4 年 4 月 11 日現在

機関番号：12601

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2021

課題番号：19K20662

研究課題名（和文）高速歪み計測による超音波メカノトランスダクション機構の解明

研究課題名（英文）Research on a mechanism of ultrasonic mechanotransduction by high-speed strain measurement

研究代表者

石島 歩 (Ishijima, Ayumu)

東京大学・大学院工学系研究科（工学部）・特任助教

研究者番号：80822676

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000円

研究成果の概要（和文）：近年では超音波ニューロモデュレーションの有効性が示されつつある一方で、超音波によるメカノトランスダクションが何故引き起こされるのかは明らかでない。本研究では、その発生機構の解明を目指すために、超音波により目標とする生命現象を惹起する適切な印加物理量を明らかにすることを研究目的とした。研究成果として、サブMHz領域における超音波刺激の音響周波数依存性の物理メカニズムを明らかにした。低周波領域の超音波刺激において、キャビテーションが培養神経細胞の活動を誘発することを明らかにした。一方、高周波領域では顕著なキャビテーション活動は検出されず、音響放射力によって神経応答を誘発している可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

近年、超音波による非侵襲的な神経活動の操作が注目を集めている。一方で、何故そのような現象が引き起こされるのかは明らかでない。そこで本研究では、その発生機構の解明を目指すために、超音波により、目標とする生命現象を惹起する適切な印加物理量を明らかにすることを研究目的とした。研究成果として、神経活動操作に用いる超音波の周波数によって、神経活動誘発の物理的作用機序が異なることが明らかになった。低周波と高周波領域の超音波刺激において、キャビテーションと音響放射力がそれぞれ神経活動を誘発していることが示唆された。これにより、作用機序に基づいた超音波物理パラメータの最適化が可能となることが考えられる。

研究成果の概要（英文）：While the effectiveness of ultrasonic neuromodulation has been demonstrated in recent years, it is not clear why ultrasound induces mechanotransduction. The main motivation of this study was to clarify the appropriate physical quantities to induce the target biological phenomenon by ultrasound in order to elucidate the mechanism of ultrasonic neuromodulation. As a result of the research, the physical mechanism of the acoustic frequency dependence of ultrasonic stimulation in the sub-MHz region was clarified. In the low-frequency range of ultrasonic stimulation, we found that cavitation evoked cultured neuron cells activity. On the other hand, no significant cavitation activity was detected in the high-frequency range, suggesting that the acoustic radiation force may evoke neural activity.

研究分野：超音波

キーワード：超音波ニューロモデュレーション キャビテーション 音響放射力

1. 研究開始当初の背景

メカノバイオロジー分野では、*in vitro*で細胞を引張るなどの単純作用で得られた知見に基づき、生体応答や制御機構がどのように働くかを解明し、多くの成果を生み出した。生体内部に非侵襲的に機械刺激を作用させることを考えると、超音波は標的空間分解能や必要な装置のコスト等における観点で他の刺激モダリティより優れている。近年では、超音波ニューロモデュレーションの有効性は多くの論文等で報告がなされており、その注目度は極めて高い。一方で、超音波によって、メカノトランスダクションが何故引き起こされるのかは明らかでない。ここで、超音波エネルギーが生体組織に伝達される機序としては、熱的効果と機械的効果の2つが主として考えられている。超音波による神経調節の作用因子として、キャビテーションや音響放射力に由来した機械的効果による脂質二重膜の透過性変化、膜の静電容量変化、機械感受性イオンチャネルの変化が報告されている。ここで、キャビテーションと放射力の双方に音響周波数依存性があることを考慮する必要があるが、音響周波数が神経調節の効果に及ぼす影響については、包括的理解は得られていない。MHz以下の超音波を用いた*in vivo*での研究では、音響周波数の低下に伴って神経応答が増加することが報告されているが、10 MHzの超音波を用いた*in vitro*の研究では、音響周波数が高くなるにつれて神経応答が増加することが示されている。超音波ニューロモデュレーションの作用機序を明らかにするためには、これらの相反する現象を説明することが特に求められている。

2. 研究の目的

本研究では、超音波によるメカノトランスダクション機構の解明を目指すために、超音波により、目標とする生命現象を惹起する適切な印加物理量を明らかにすることを研究目的とした。さらに、超音波刺激負荷システムとライブセルイメージングを可能とする実験系を構築することにより、広く音波の生体作用を解明するための基盤技術を確認する。具体的な研究目標として、低強度超音波の細胞機能に対する影響解明、低強度超音波の細胞機能制御、を掲げた。

3. 研究の方法

超音波刺激負荷システムとライブセルイメージングを可能とする実験系を構築した。

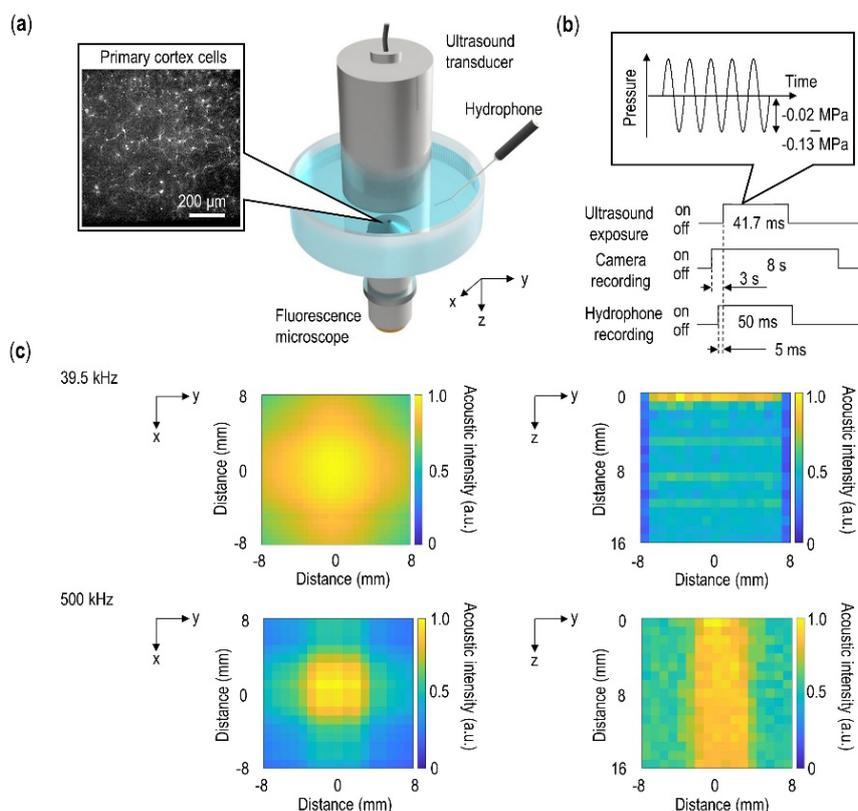


図1. 培養神経細胞に対する超音波刺激を実現する実験系. (a)実験系の模式図. (b)タイミングチャート. (c)超音波トランスデューサから発生される超音波の空間プロファイル.

この実験系により、二つの異なる周波数の超音波を培養神経細胞に照射することが可能である。

また、超音波刺激に応じた細胞応答を光学的に観察することができる。

4. 研究成果

超音波ニューロモデュレーションの物理的作用機序における音響周波数依存性を示し、キャビテーションと音響放射力が、それぞれ低周波と高周波における神経活動誘発因子として働いていることが明らかになった。キャビテーションの過程では、気泡の振動やマイクロストリーミングによって細胞膜が変形することが報告されている。音響放射力においても、細胞や組織を変形させることが示されている。どちらも音響周波数に依存しており、キャビテーションの発生確率は周波数が高くなると減少し、音響放射力は周波数が高くなると増加する。そこで、ラット大脳皮質から摘出した神経細胞群に対して、39.5 kHz と 500 kHz の二種類の異なる音響周波数でそれぞれ刺激を与え、細胞応答の周波数依存性を調べた。ここでは、細胞内のカルシウムイオン濃度を蛍光計測すると同時に、キャビテーションの発生有無をハイドロフォンにより音響計測した。その結果、音響周波数 39.5 kHz ではキャビテーション発生により神経細胞の活動を誘発していることが明らかになった。一方で、500 kHz では神経細胞の活動誘発が確認されたが、キャビテーションの発生は確認されなかった。これらの結果は、超音波ニューロモデュレーションの作用機序が音響周波数依存性を有することを示すものであり、低周波と高周波で異なる物理的効果が神経活動を活性化することを明らかにした。

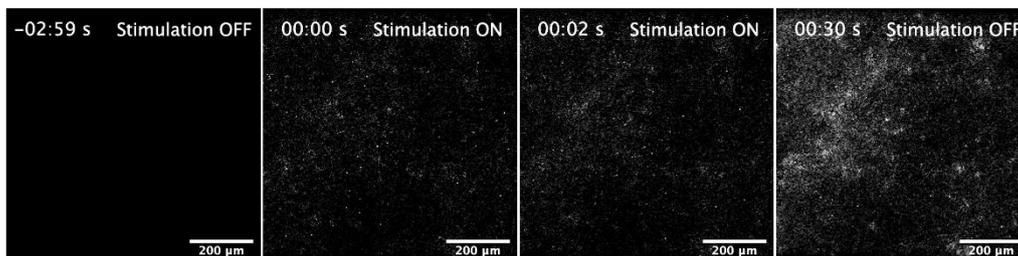


図 2. 超音波刺激 (39.5 kHz, 0.33 W/cm², 41.7 ms) に対する神経細胞群のカルシウム応答計測結果.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計5件（うち招待講演 1件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 石島歩, 範海嘯, 榛葉健太, 東隆, 神保泰彦, 高木周
2. 発表標題 サブMHz 超音波による神経細胞刺激の物理作用機序
3. 学会等名 キャピテーションに関するシンポジウム
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Ayumu Ishijima, Satoshi Yamaguchi, Takashi Azuma, Etsuko Kobayashi, Kazuhiro Kakimi, Yoshikazu Shibasaki, Teruyuki Nagamune, Ichiro Sakuma
2. 発表標題 Immunogenic cell death induced by selective intracellular vaporization in vitro
3. 学会等名 Proceedings of the IFMBE 11th Asian Pacific Conference on Medical and Biological Engineering (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 石島歩, Stefan Wunderl, 中川桂一
2. 発表標題 音響波による生体試料中の光伝播操作
3. 学会等名 レーザー学会学術講演会第41回年次大会（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 笹岡憲也, 高橋毅, 榛葉健太, 石島歩, 佐久間一郎, 東隆, 神保泰彦, 高木周
2. 発表標題 脳神経系培養細胞の超音波刺激に関する力学的作用機序の検討
3. 学会等名 第18回日本超音波治療研究会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 高鶴蒙, 石島歩, 佐伯峻生, 塚本哲, 中川桂一, 佐久間一郎
2. 発表標題 細胞応答の圧力波長依存性を調査するレーザー干渉圧力波発生システムの開発
3. 学会等名 2019年度衝撃波シンポジウム
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

石島歩 https://sites.google.com/view/ayumuishijima/talks?authuser=0
--

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

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
---------	---------