

機関番号：37111

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2008～2010

課題番号：20500432

研究課題名（和文）低エネルギー超音波を利用した新しい非侵襲的癌治療システムの確立

研究課題名（英文）LOW-INTENSITY ULTRASOUND FOR CANCER THERAPY

研究代表者

ロリト B フェリル (LORETO B. FERIL)

福岡大学・医学部・講師

研究者番号：10435109

研究成果の概要（和文）：1. がん細胞と正常細胞の成長に対する very low-intensity 超音波の影響、2. メラノーマ細胞内への遺伝子の sonotransfection 効果。3. ソノポレーション法における細胞膜への影響を検討した。メラノーマ細胞における反復的な超音波照射により、細胞の成長と増殖に影響が認められ、Gene-chip 解析、Cell cycle assay でもこれを裏付けるデータが得られた。また、ソノポレーション法によりインターフェロン γ を誘導して細胞増殖の抑制に成功した。ソノポレーション法における細胞膜への損傷はその後の薬物の細胞内への流入に影響することを定量的な実験方法で証明でき、動物実験でも同様の実験結果が得られた。

研究成果の概要（英文）：Overall, this 3-year project underscores three major outcomes that may have significant impact contributing to the eventual use of low-intensity ultrasound for therapy, particularly cancer therapy. One is the successful sonotransfection resulting in growth inhibition of cancer cells in vitro and tumor growth in vivo. Another is sonodynamic therapy resulting in growth inhibition of cancer cells in vitro and tumor growth in vivo. In combination with antibiotic, sonodynamic therapy also enhanced antimicrobial effects. The other is the use of prolonged and repetitive exposure to low-intensity ultrasound, which resulted in inhibition of melanoma growth.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2008 年度	1,400,000	420,000	1,820,000
2009 年度	1,100,000	330,000	1,430,000
2010 年度	1,000,000	300,000	1,300,000
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：総合領域

科研費の分科・細目：人間医工学

キーワード：Ultrasound, Sonotransfection, Cancer Therapy, Sonoporation, Bioeffect

1. 研究開始当初の背景

我々は以前から超音波の生体反応について研究してきた。主に低強度の超音波（超音波診断装置レベルの超音波強度を含む）の生体へ

の影響を検討する上で、アポトーシスの誘発、遺伝子導入、癌細胞の増殖抑制など、多岐にわたり研究をしてきた。また、実験するにあたり、超音波の照射方法や生体反応の観察に

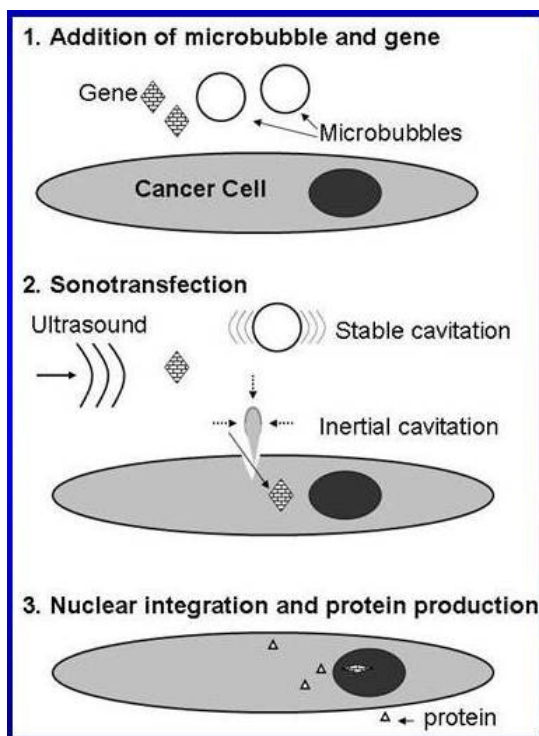
関する技術も重要な要素であり、これらのことを含めて実験を遂行した。

2. 研究の目的

- (1) がん細胞と正常細胞の成長に対する very low-intensity 超音波の影響
- (2) メラノーマ細胞内への遺伝子の sonotransfection 効果。
- (3) ソノポレーション法における細胞膜への影響の検討した。

3. 研究の方法

- (1) GFP の遺伝子を用いて腫瘍における遺伝子導入を評価した。また超音波の条件を変えて最適を図った。腫瘍抑制効果にはインタフェロンベータとガンマを利用した。



- (2) メルファランなどの抗腫瘍薬も超音波の生体反応を見る上で使用した。



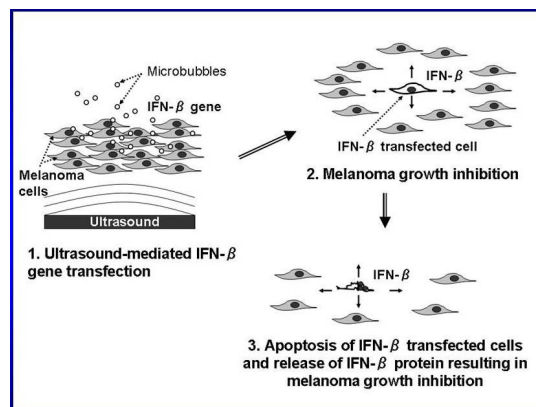
- (3) 超音波の照射方法には生体の条件に近い音響環境（超音波吸収材、照射方法など）を試みた。

4. 研究成果

- (1) 腫瘍（細胞実験、動物実験）における超音波遺伝子導入に成功した。また、その結果、腫瘍細胞の細胞死、アポトーシスが認められ、その増殖抑制効果も確認することができた。



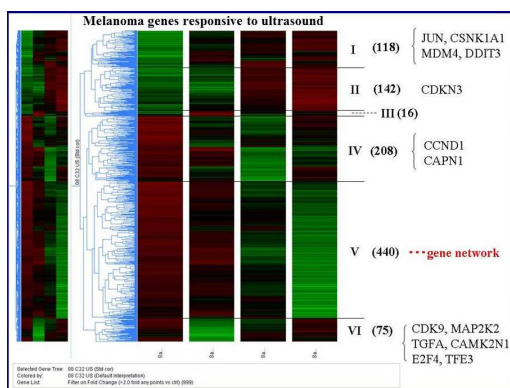
我々の実験による超音波照射で遺伝子導入率の効率化に成功し、インタフェロンベータとガンマの因子で使用する増殖抑制が得られた。使用された腫瘍の種類は神経線維腫と悪性黒色種(C32)であった。これらの実験結果（腫瘍抑制蛋白を確認）により今後の新しい超音波治療方法として可能性が見いだされた。



- (2) 超音波照射により、上記以外の薬物でも実験は行われた。メルファランと超音波を併用することで腫瘍細胞内への薬物流入量の増加が確認でき、抗腫瘍効果の亢進が認められた。また、動物実験でも腫瘍に超音波を直接照射することでメルファランの抗腫瘍効果が促進された。一方、クラミディアにたいする抗菌作用

を持つ抗生剤を超音波と併用すること
 試みでは、超音波照射群の方が有意に殺
 菌効果が高かったことがわかった。これ
 らの結果から、低強度の超音波照射でも
 生体になんらかな反応があることが示
 唆された。

- (3) 低強度の超音波のみの腫瘍に対する反
 応実験では、悪性黒色腫細胞 (C32)
 の腫瘍抑制効果は認められた。超音波の
 反復照射によりアポトーシスは確認で
 きなかったが遺伝子レベルで調べた所、
 いくつかの抑制遺伝子を確認するこ
 とができた。超音波照射の遅延的な影響も
 考えられた。しかし、調べた遺伝子の数
 から超音波作用メカニズムや全体像を
 することは困難であるため、今後、さら
 に詳しく調べる必要がある。



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 18 件)

1. Synergistic inhibition of malignant melanoma proliferation by melphalan combined with ultrasound and microbubbles. Matsuo M, Yamaguchi K, Feril LB Jr, Endo H, Ogawa K, Tachibana K, Nakayama J. *Ultrasonics Sonochemistry* 2011 **18**: 1218-1224. (査読有)
2. Synergistic Effect of Ultrasound and Antibiotics against *Chlamydia trachomatis*-infected Human Epithelial cells in vitro. Ikeda-Dantsuji Y,

Feril LB Jr, Tachibana K, Ogawa K, Endo H, Harada Y, Suzuki R, Maruyama K. *Ultrasonics Sonochemistry* 2011 **18** (1): 425-430. (査読有)

3. Ultrasound activation of TiO₂ in melanoma tumors. Harada Y, Ogawa K, Endo H, Feril LB Jr, Uemura T, Tachibana K. *J Control Release* 2011 **149** (2): 190-195. (査読有)
4. Differential Cytotoxicity and sonosensitization by sanazole: Effect of cell type and acoustic parameters. Hassan MA, Furusawa Y, Zhao Q-L, Takasaki I, Feril LB Jr, Tachibana K, Kudo N, Minemura M, Sugiyama T, Kondo T. *J Med Ultrasonics* 2011 **38** (2): 65-72. (査読有)
5. Hypotonia-induced cell swelling enhances ultrasound-induced mechanical damage on cancer cells. Feril LB Jr, Tachibana K, Kondo T, Ogawa R, Zhao QL, Yamaguchi K, Ogawa K, Endo H, Irie Y, Harada Y. *J. Med. Ultrasonics* 2010 **37**: 3-8. (査読有)
6. Therapeutic high intensity focused ultrasound. Feril LB Jr, Tachibana K, Kondo T. *Philippine Physics J.* 2010, **32**, 47-52 (査読有)
7. The sonochemical and biological effects of three clinically-used contrast agents. Hassan MA, Feril LB Jr, Kudo N, Tachibana K, Kondo T and Riesz P. *Japanese Journal of Applied Physics* 2010 **49**: 07HF23 (online) (査読有)
8. Growth inhibition of neurofibroma by ultrasound-mediated interferon gamma transfection. Yamaguchi K, Feril LB Jr, Harada Y, Endo H, Irie Y, Nakayama J, Tachibana K. *J. Medical Ultrasonics* 2009 **36**: 3-8. (査読有)
9. Influence of Changing Pulse Repetition Frequency on Chemical and Biological Effects Induced by Low Intensity Ultrasound In-vitro. Buldakov MA, Hassan MA, Zhao Q-L, Feril LB Jr, Kudo N, Kondo T, Litvyakov NV, Bolshakov MA, Rostov VV, Cherdyntseva NV, Riesz P. *Ultrasonics Sonochemistry* 2009 **16**: 392-7. (査読有)

10. Low-intensity ultrasound adjuvant therapy: The enhancement of doxorubicin-induced cytotoxicity and the acoustic mechanisms involved. Kondo T, Yoshida T, Ogawa R, Hasaan MA, Furusawa Y, Zhao QL, Watanabe A, Morii A, **Feril LB Jr**, Tachibana K, Kitagawa H, Tabuchi Y, Takasaki I, Shehata MH, Kudo N, Tsukada K. *J. Med. Ultrasonics* 2009 **36**:61-68. (査読有)
 11. Gene transfection through microbubble-aided sonication in cancer cells. Moreno DC, **Feril LB Jr**, Tachibana K, Irie Y. *Philippine Physics J.* 2009, **31**, 1-7. (査読有)
 12. Enhancement of artificial promoter activity by ultrasound-induced oxidative stress. Ogawa R, Lee S, Izumi H, Kagiya G, Yoshida T, Watanabe A, Morii A, Kakutani S, Kondo T, **Feril LB Jr**, *Ultrason Sonochem* 2009 **16**: 379-386. (査読有)
 13. Evaluation and comparison of three novel microbubbles: Enhancement of ultrasound-induced cell death and free radicals production. Hassan MA, **Feril LB Jr**, Suzuki K, Kudo N, Tachibana K, Kondo T. *Ultrasonics Sonochemistry* 2009 **16**: 372-8 (査読有)
 14. Sonodynamic therapy. Tachibana K, **Feril LB Jr**, Ikeda-Dantsuji Y. *Ultrasonics* **48**: 253-259, 2008 (査読有)
 15. Genetic networks responsive to low-intensity pulsed ultrasound in human lymphoma U937 cells. Tabuchi Y, Takasaki I, Zhao Q-L, Wada S, Hori T, **Feril LB Jr**, Tachibana K, Nomura T, Kondo T. *Cancer Letters* 2008 **270**(2): 286-94 (査読有)
 16. Dual role of low-dose ionizing radiation. Buldakov AM, **Feril LB Jr**. *Philippine Physics J.* 2008, **30**, 1-6. (査読有)
 17. Therapeutic potential of low-intensity ultrasound (part 1): thermal and sonodynamic effects. **Feril LB Jr**, Tachibana K, Ogawa K, Yamaguchi K, Solano I, Irie Y. *J. Medical Ultrasonics* 2008 **35**: 153-60 (査読有)
 18. Therapeutic potential of low-intensity ultrasound (part 2): biomolecular effects, sonotransfection, and sonoporation. **Feril LB Jr**, Tachibana K, Ikeda-Dantsuji Y, Endo H, Harada Y, Kondo T, Ogawa R. *J. Medical Ultrasonics* 2008 **35**: 161-67. (査読有)
- [学会発表] (計 13 件)
1. Inhibition of melanoma growth when subcultured with melanocytes sonotransfected with interferon-beta gene. **Feril LB Jr.**, Tachibana K, Yamaguchi K, Sonoporation research meeting. Fukuoka University; March 5, 2011.
 2. Biological effects of ultrasound: Potential therapeutic applications and their implications on the safety of diagnostic ultrasound. **Feril LB Jr**, Tachibana K. 6th Asian-Pacific Organization for Cell Biology (APOCB) Congress. EDSA Shangri-La, Manila, Philippines; Feb. 28, 2011.
 3. Low intensity ultrasound inhibits melanoma cell growth in vitro and tumor growth in vivo. **Feril LB Jr.**, Tachibana K, Yamaguchi K, Ikeda-Dantsuji Y, Kondo T, Tabuchi Y, Furusawa Y, Takasaki I. 10th International Symposium on Therapeutic Ultrasound; Tokyo, Japan; June 11, 2010.
 4. HIFU: Updates on Therapeutic Ultrasound, **Feril LB Jr.**, Tachibana K. 8th Annual Convention of the Philippine Society of Ultrasound in Clinical Medicine, Inc. (PSUCMI). Diamond Hotel, Manila, Philippines; March 19, 2010.
 5. Medical education and public health in the Philippines. **Feril LB Jr.** Fukuoka Philippine Friendship Association, Fukuoka City, Japan, Jan. 11, 2010.
 6. Echo-contrast agent, Sonazoid, enhances inhibition of cancer cell growth by ultrasound in vitro, but not in vivo. **Feril LB Jr**, Tachibana K, Yamaguchi K, Ikeda-Dantsuji Y, Kondo T, Tabuchi Y, Furusawa Y, Takasaki I,

- Matsuo M. 11th International Symposium on Ultrasound Contrast Imaging; and 1st ASIAN Conference on Ultrasound Contrast Imaging; Kunming, China; Dec. 19, 2009.
7. Hypotonia-induced cell swelling enhances ultrasound-induced mechanical damage on cancer cells. **Feril LB Jr.**, Tachibana K., Kondo T, Ogawa R, Zhao QL, Yamaguchi K, Ogawa K, Endo H., Irie Y, Harada Y. 12th Congress of the World Federation for Ultrasound in Medicine and Biology. Sydney, Australia; Sept. 1, 2009.
 8. Updates on Therapeutic Ultrasound, **Feril LB Jr.**, Tachibana K. 7th Annual Convention of the Philippine Society of Ultrasound in Clinical Medicine, Inc. (PSUCMI). Quezon City Sports Club, Philippines; March 21, 2009.
 9. “Dreaming the Impossible Dreams”, **Feril LB Jr.** Saint Theresa College, Tandag, Surigao del Sur. March 15, 2009
 10. Effects of Ultrasound: Its Therapeutic Potential, Feril LB Jr., Tachibana K. Institute of Biology, College of Science, University of the Philippines, Diliman, Quezon City, Philippines; Nov. 24, 2008.
 11. Low-intensity ultrasound inhibits cancer cell growth in vitro and tumor growth in vivo. **Feril LB Jr.**, Tachibana K., Yamaguchi K, Ikeda-Dantsuji Y, Kondo T, Tabuchi Y, Furusawa Y, Takasaki I. 8th International Symposium on Therapeutic Ultrasound. Minneapolis, MN, USA; Sept. 12, 2008.
 12. Basics of Diagnostic and Therapeutic Ultrasound, Feril LB Jr., Tachibana K. College of Sciences, De La Salle University-Manila, Philippines; June 18, 2008.
 13. Low-intensity ultrasound inhibits melanoma growth in vitro and in vivo. **Feril LB Jr.**, Tachibana K., Yamaguchi K 20th International Pigment Cell Conference and 5th International Melanoma Research Congress. Sapporo, Japan; May 11, 2008.

〔図書〕 (計 2 件)

1. Therapeutic ultrasound: mechanisms to applications. 2011, Sonodynamic therapy. 279-295. **Feril LB Jr.**, Tachibana K., Kondo T, Campbell PA. Nova Publishing, Hauppauge NY, USA.
2. Gene Therapy of Cancer [Methods in Molecular Biology 2nd Edition, 2009] Ultrasound-mediated gene transfection: pp 179-194. **Feril LB Jr.** Humana Press, Hatfield, Hertfordshire, AL10 9AB, UK.

〔産業財産権〕

○出願状況 (計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

○取得状況 (計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

ロリト B フェリル (LORETO B. FERIL)
福岡大学・医学部・講師
研究者番号：10435109

(2) 研究分担者

立花 克郎 (TACHIBANA KATSURO)
福岡大学・医学部・教授
研究者番号：40271605

遠藤 日富美 (ENDO HITOMI)
福岡大学・医学部・講師
研究者番号：00435108