

## 日本超音波医学会平成 22 年度第 1 回超音波分子診断治療研究会抄録

代 表：立花克郎（福岡大学医学部解剖学教室）  
日 時：平成 22 年 8 月 6 日（金）  
場 所：北海道大学（札幌市）

共 催：日本超音波医学会基礎技術研究会  
第 2 回基礎技術研究会共催の為、「超音波医学」38 卷 3 号に掲載  
されていますので、ご参照下さい。

## 日本超音波医学会平成 22 年度第 2 回超音波分子診断治療研究会抄録

代 表：立花克郎（福岡大学医学部解剖学教室）  
日 時：平成 23 年 1 月 22 日（土）  
場 所：慶応大学日吉キャンパス来往舎シンポジウムスペース（東  
京都）  
共 催：第 3 回超音波とマイクロバブルの相互作用に関するシン  
ポジウム

### 1) 微小気泡のふるまいの高速度顕微鏡観察システム

工藤信樹（北海道大学大学院情報科学研究科）

To develop advanced applications of microbubbles that can be introduced into the body, it is essential to gain better understanding of the nature of microbubble dynamics under exposure to ultrasound. A high-speed observation, which directly visualizes behavior of bubbles in various condition, is a very useful method for elucidating dynamics of microbubbles. Several groups, including us, have developed high-speed observation systems combined with a light microscope and reported the results of observations. This paper introduces the details of our observing system and also discusses the recent progress in the other high-speed observation systems and peripheral techniques.

### 2) バブルリポソーム併用超音波遺伝子デリバリーシステムの疾患治療への応用

根岸洋一（東京薬科大学薬学部薬物送達学教室）

We previously developed the polyethyleneglycol (PEG)-modified liposomes entrapping echo-contrast gas (C3F8), "Bubble liposomes" (BL), which can function as a novel gene delivery too 1 by applying them with ultrasound (US) exposure. In this study, to assess the feasibility and the effectiveness of BL for the gene therapy of various disorders, we developed a safe and efficient local gene delivery system into skeletal muscle, joint, and oral tissues using the combination of BL and US exposure. In the group of plasmid DNA+BL+US, higher luciferase gene expression in each tissue could be observed compared to the group of plasmid DNA injection alone. We further delivered bFGF-expressing plasmid DNA into skeletal muscle in hindlimb ischemic model mice through the combination of BL+US. As a result, the blood flow in the treated groups with BLs and US-mediated the bFGF gene transfer was quickly recovered compared to other treatment groups (non-treated, bFGF alone, or bFGF+US). Thus, this US-mediated BLs technique for gene transfer many provide an effective method for gene therapy for non-muscle disorders.

### 3) マイクロバブルから作る中空マイクロカプセル

幕田寿典（山形大学大学院理工学研究科機械システム工学分野）

A fabrication method for hollow melamine-formaldehyde microcapsules from microbubble templates is presented. This method is based on the direct encapsulation of microbubbles, and thus does not require a liquid-or solid-core decomposition process. This study determined the conditions for controlling the surface morphology of hollow microcapsules. Results showed that the surface morphology of these hollow microcapsules depended on the reaction time, glycine concentration (pH of aqueous continuous phase) and pre-polymer concentration. The encapsulation yield of microbubbles depended on the reaction speed controlled by glycine concentration. This method could be useful for mass fabrication of hollow microcapsules.

### 4) 殻付きバブルの破壊および相互作用

安井久一（産業技術総合研究所先進製造プロセス研究部門）

Numerical simulations of destruction of encapsulated microbubbles have been performed taking into account the effect of the bubble-bubble interaction under the condition of the experiment by Chang et al. [IEEE trans. Ultrason.Ferroelectr.Freq.Control 48, 161 (2001)]. It has been revealed that the threshold acoustic pressure for the destruction of encapsulated microbubbles increases as the bubble number density increases because of the stronger bubble-bubble interaction. The bubble-bubble interaction suppresses the bubble expansion resulting in weaker bubble pulsation. Furthermore, the resonance frequency of a microbubble strongly decreases as the bubble number density increases due to the stronger bubble-bubble-interaction.

### 5) 超音波とマイクロバブルの併用によるプロセス強化の可能性

小林大祐（東京理科大学）

The advantages of ultrasound in chemical processes are the possibility of lower reaction temperature; increased kinetic reaction rates; higher yields and selectivity. In this study, indirect ultrasonic irradiation method was applied to polymerization process of styrene and degradation process of phenol. We focused on the effects of the relationship between irradiation distance on kinetic reaction rate and radical generation inside the reactor. In polymerization process, polymer yield and molecular weight were influenced by reactor's position. In addition, the proposed dynamic process operational method by changing irradiation conditions with the progress of the

polymerization was efficient for intensification of emulsion polymerization process. In degradation process, degradation rate of phenol was also influenced by reactor's position. And, the effect of reactor's position on the degradation rate overlapped with its effects on chemical efficiency estimated by KI oxidation dosimetry. The degradation rate of phenol was improved by TiO<sub>2</sub> particle addition. On the other hand, the reactor's position influenced the degree of the improvement of the decomposition conversion by particle addition. It is supposed that the dispersion condition of TiO<sub>2</sub> particles in the sample solution is influenced by reactor's position.

#### 6) 凝集体形成を利用した微小気泡の流体内制御とその評価

榎田晃司 (東京農工大学大学院生物システム応用科学府)

We developed a method to control behavior of microbubbles in flow using an artificial blood vessel with multiple ultrasound sources. Microbubbles are propelled in flow owing to a primary Bjerknes force, which is a physical phenomenon where an acoustic wave pushes an obstacle along its direction of propagation. Also they form aggregation when they are put into an ultrasound field because of secondary Bjerknes force, which acts attractive or repulsive between neighboring microbubbles. Thus we consider that forming aggregations of bubbles is effective to be propelled before entering into an ultrasound field to receive more primary Bjerknes force. We have investigated the phenomenon of forming aggregations of bubbles and observed variation of diameter and density of aggregations under various conditions of ultrasound exposure. As the result, when ultrasound was emitted to form aggregation, the induction index was confirmed to improve more than the attempt without forming aggregation. Here if an aggregation of bubbles can be regarded as a larger bubble, they would be propelled by less primary Bjerknes force. For further analysis, we are going to realize active control the aggregations of bubbles *in vivo*.

#### 7) 衝撃波を利用した気泡内包マイクロカプセルの破壊

玉川雅章 (九州工業大学大学院生命体工学研究科)

We have proposed drug delivery systems (DDS) using shock waves to apply micro/nano technology in the fields of biomedical engineering. In this system, a microcapsule including a gas bubble is flown in the blood vessel, and finally broken by shock induced microjet, then drug is reached to the affected part in the body as same as traditional DDA. It is necessary to optimize the design of microcapsule including gas bubbles even if their complicated mechanism of capsule disintegration. In our previous investigations, the prototype of microcapsules including gas bubbles were made.

In this paper, after reviewing the prototype of microcapsule, the results of disintegration experiment to make microcapsules including a gas by polymer material and liposome material is discussed. In addition to this, to understand the fundamental phenomena, deformation process of a bubble in a microcapsule is observed by pressure waves to analyze the behavior of the bubble collapsing the microcapsule. It is found that by selecting the proper parameters, there are possibilities to make the large deformation of bubble to disintegrate.

#### 8) 超音波を用いた非侵襲的皮膚分子プロファイリングと経皮的薬物送達

小倉 誠 (久光製薬株式会社研究開発本部 TDDS 研究所)

Quantitative molecular information generated by the emerging technologies such as high-throughput gene and proteomic expression profiling has been useful in assessing and understanding the disease state in dermatological research. To bring this information to clinical practice, a minimally-invasive method for sampling skin molecules is a prerequisite. To meet this need, we have successfully demonstrated an ultrasound-assisted sampling technique can recover a wide variety of biomolecules from skin in a minimally-invasive manner and build a unique molecular signature of skin. Verification of this technique was made by investigating change in skin conditions due to acute chemical insult and chronic dermatitis such as atopic dermatitis and psoriasis using animal models. These experiments showed a brief exposure to ultrasound retrieved nearly all major tissue constituents, including protein (cytokines, chemokines, etc.), lipids (polar- and non-polar lipids), and nucleic acids (DNA and RNA), which enabled us to quantitatively assess molecular changes in skin. Our technique coupled with an appropriate molecular test can help physicians arrive at accurate diagnosis by combining with conventional diagnostics such as visual examination of skin. Additionally, we evaluated this technique as a delivery method of drug, and demonstrated ultrasound facilitated the passage of drugs into skin.

#### 9) クラミジア感染細胞に対する抗生剤と超音波の併用効果

壇辻百合香 (北里大学生命科学研究所抗感染症薬研究センター)

To investigate whether or not the combined ultrasound and antibiotic treatment is effective against chlamydial infection, a new ultrasound exposure system was designed to treat *Chlamydia*-infected cells. Infected cultures were treated with antibiotics then sonicated at intensity of 0.15 or 0.44 W/cm<sup>2</sup> with or without Bubble liposomes. After 48 or 72 h after infection, chlamydial inclusions were stained and examined by fluorescence microscopy. The internalization of dextran-fluorescein conjugates by ultrasound irradiation with Bubble liposomes were observed by fluorescence microscopy. The results showed that application of nanobubble-enhanced ultrasound caused no significant effect on cell viability and chlamydial infectivity. However, Doxycycline (1/2 MIC) or CZX (1.0 μg/ml) in combination with nanobubble-enhanced ultrasound dramatically reduced the number of inclusions compared with that administered with antibiotics only. Bubble dose-dependent synergy was also observed. After ultrasound irradiation at intensity of 0.44 W/cm<sup>2</sup> on the presence of Bubble liposomes, 10% of HeLa cells were observed to have internalized the dextran molecules. This study suggests the possibility of using nanobubble-enhanced ultrasound to deliver antibiotic molecules into cells to eradicate intracellular bacteria such as chlamydiae without causing much damage to the cells itself.

#### 10) 分子標的ナノ粒子と超音波技術の医療応用

清水宣明 (金沢大学)

Our previous study demonstrated that the titanium dioxide (TiO<sub>2</sub>) could catalyze production of hydroxyl (OH) radicals by ultrasound

(U.S.) irradiation even without any photo-excitation, and that this sonocatalytic facilitation of OH radical generation could be applied to disinfection of *Ligionella pneumophila* in the presence of TiO<sub>2</sub> particles. To extend the applicability of our "TiO<sub>2</sub>/U.S. system" to drug delivery systems for cancer therapy, surface of TiO<sub>2</sub> nanoparticles was modified with molecules recognizing specific type of cells. Specificity of the surface-modified TiO<sub>2</sub> toward target cells was assayed, and subsequently the sonocatalytic cytotoxicity was evaluated. Liver and colon cancer cell lines, HepG2 and WiDr were used. PreS1/S2 protein, which is components of Hepatitis B virus and recognizes hepatocyte, was used as a model molecule for targeting HepG2 cells. To evaluate the sonocatalytic cytotoxicity of HepG2 cells with incorporation of preS1/S2-TiO<sub>2</sub>, the culture dish was irradiated with U.S. at low frequency of 1 MHz and with output power of 0.3 W/m<sup>2</sup> for 30 sec (50% Duty). Compared to the control condition without preS1/S2-TiO<sub>2</sub> incorporation and/or U.S. irradiation, the growth of HepG2 cells was restrained with both the preS1/S2-TiO<sub>2</sub> incorporation and the U.S. irradiation at initial time of culture, suggesting our "TiO<sub>2</sub>/U.S. system" could be promising tool for cancer therapy.

11) マイクロバブルを用いた診断・治療, -過去・現在・未来-  
立花克郎 (福岡大学)

The use of targeted contrast enhanced ultrasound imaging for malignant tumor is increasingly being recognized as a powerful imaging tool. This technique of modifying ultrasound contrast agents (specially designed microbubbles/ nanobubbles) can make possible the detection and quantification of tumor angiogenesis at the molecular level. Furthermore, combining diagnostic ultrasound with higher intensity ultrasound have recently shown to be have very efficient outcome for cancer therapy. Ultrasound can be used both to see a tumor's blood perfusion and then to treat it with a continuous wave of high intensity ultrasound for therapy. Peptides can be conjugated to the surface of microbubbles and used for targeted contrast-enhanced ultrasound imaging of tumor angiogenesis. Preliminary results have shown that microbubbles conjugated to small peptide-targeting ligands provide imaging signals higher than those provided by a large antibody molecule. The microbubbles maybe designed to encapsulate anticancer agents that could be locally released by high intensity focused ultrasound. This "find and cure" approach could become an ideal treatment for cancer in the future.

## 日本超音波医学会平成 22 年度第 3 回超音波分子診断治療研究会抄録

代 表 : 立花克郎 (福岡大学医学部解剖学教室)

日 時 : 平成 23 年 3 月 5 日 (土)

場 所 : 福岡大学 (福岡市)

【招待講演】 座長 立花克郎 (福岡大学医学部解剖学教室)

### 1) Bioelectrics and Medical Application of Nonlinear Ultrasound (Shock Waves)

Hamid Hosseini (Bioelectrics Research Center, Kumamoto University)

Results of research on biomedical application of pulsed electric field and shock waves are presented. In order to exploit systems for shock wave therapy, we have been working for the development of clinical devices that are based on the concept of shock waves or related phenomena. The talk describes new therapeutic devices designed for the minimally invasive approach to vascular thrombolysis, selective dissection of tissues, and drug or DNA delivery. To investigate the response of cells to shock loading, a precise method of shock waves generation has been developed. This method has been studied for application in cardiovascular therapy, cancer treatment, and cranioplasty in close vicinity of the brain. A laser ablation shock wave assisted particle acceleration device has been developed for delivering drug and DNA into soft tissue targets. The penetration depth of micro-particles observed in the experimental targets is believed to be sufficient for pharmacological treatments. In order to achieve an efficient method for rapid revascularization of cerebral thrombosis, a laser shock wave induced liquid jet system has been developed. The micro-liquid jet system has been further

improved and successfully applied for selective dissection of soft tissue preserving nerve and blood vessels.

### 2) 超音波の生物作用に関する最近の知見 : DNA 損傷, アポトーシスそして遺伝子発現変化

近藤 隆<sup>1</sup>, 古澤之裕<sup>1,2</sup>, Mariame Ali Hassan<sup>1</sup>, Qing-Li Zhao<sup>1</sup>, 小川良平<sup>1</sup>, 高崎一朗<sup>2</sup>, 田淵圭章<sup>2</sup> (<sup>1</sup>富山大学大学院医学薬学 研究部 (医学) 放射線基礎医学講座, <sup>2</sup>富山大学生命科学先端 研究センター)

放射線や磁場とならび画像診断に必須の手段として発達してきた超音波であるが, 近年の分子生物学やマイクロバブル製剤技術の発展とともに, 分子診断や分子標的治療に向けた新たな視点から超音波の応用が期待されようになってきた. 超音波の主な生体作用について, キャビテーション作用を中心に

1) 細胞膜透過性の亢進, 2) 細胞膜の小孔形成, 3) 超音波誘発細胞死 (アポトーシス) 4) 遺伝子導入, 5) 遺伝子発現の変化, 5) 遺伝子損傷とそのメカニズムについて, 当教室で得られた知見をもとに概説した.

超音波の生体作用は照射条件による多様性を有するが, 目的に沿った設定により効率的な治療応用が可能となる.

### 3) 新規超音波感受性物質を用いたがん超音波力学療法におけるヒドロキシラジカル産生と抗腫瘍効果

芝口浩智<sup>1</sup>, 水流弘文<sup>1</sup>, 黒木 求<sup>2</sup>, 黒木政秀<sup>1</sup> (<sup>1</sup>福岡大学医学部生化学, <sup>2</sup>福岡大学医学部看護学科)

低強度の超音波と超音波感受性物質を用いた超音波力学療法 (SDT) は, 超音波の非侵襲性や生体深部にまで到達できる特性, また, 取り扱いが簡便なことなどから非常に有望ながん治療法と考えられる. これまで SDT で用いられてきた超音波感受性物質

は光感受性物質でもあり、したがって光過敏症などの副作用が問題となる。この問題を解決するために新規ポルフィリン誘導体 DEG について、超音波感受性物質としての性状解析と *in vitro* と *in vivo* における有用性を、その作用機序とともに検討したので報告する。

#### 4) 反射波存在下での連続超音波音場の可視化に関する基礎的検討

工藤信樹, 小原浩貴, 清水孝一 (北海道大学大学院情報科学研究科)

医用超音波の研究において、超音波の強さを正しく計測することは、欠かすことのできない基本技術である。超音波診断装置の音圧測定には、メンブレンハイドロホンが広く用いられているが、治療用超音波装置が発生する強力な超音波の測定には利用できない。我々は、水中における超音波の音場を光学的な手法で可視化する手法、画像差分型シュリーレン法を新たに提案し、その有用性を検証してきた。本発表では、培養細胞への超音波照射に多く用いられているシャーレを観察対象とし、シャーレ内の水中を伝わる超音波が水面で反射し複雑な音場を形成する様子を可視化した結果について述べる。

#### 5) 低出力超音波が破骨細胞系細胞に及ぼす影響

渡辺敏之<sup>1</sup>, 立花克郎<sup>2</sup>, 城戸瑞穂<sup>1</sup>, 久木田敏夫<sup>1</sup> (<sup>1</sup>九州大学歯学研究科口腔常態制御学講座分子口腔解剖学分野, <sup>2</sup>福岡大学医学部解剖学講座)

これまで30mW/cm<sup>2</sup>程度の出力の低主力パルス超音波 (LIPUS) が骨芽細胞の機能を促進することが知られている。本研究ではさらに微弱な1mW/cm<sup>2</sup>以下のLIPUSの作用について破骨細胞系細胞株であるRAW 264 D Cloneを用い、*In vivo*における増殖・分化に及ぼす作用について検討した。その結果、この強度のLIPUSは骨芽細胞系細胞株であるMC3T3-E1に対しては影響を及ぼさなかったが、破骨前駆細胞系細胞の増殖を促進し、破骨細胞様細胞の形成を促進した。またRAW 264 N CloneおよびJ774といった血球系細胞株の増殖も促進した。これらの結果から、骨芽細胞系細胞には影響を及ぼさない極めて低出力のLIPUSによって、破骨細胞の制御に応用できる可能性が示唆された。

#### 6) 水中衝撃波による内皮細胞増殖機構解明のための細胞内応力・歪み波の数値解析

石松憲和, 玉川雅章 (九州工業大学大学院生命理工学研究科)

本研究では、水中衝撃波を作用させたときに増殖に関連すると考えられる機械的刺激の1つである細胞内部の応力の伝播と分布を明らかにするため、水中の付着および浮遊状態細胞に衝撃波が伝播する様子を、有限要素法によって解析した。その結果、底面への付着の状態や細胞の物性や形状によっても異なるが、衝撃波が作用することで細胞膜に von Mises 応力の変動成分が生じることがわかった。また、細胞に作用させる衝撃波の立ち上がりが鋭くなると、細胞膜内に発生する von Mises 応力の膜内での変動成分が大きくなることがわかった。一方で、細胞作用の実験を行った結果、同様の傾向となり、数値計算の結果に対応することがわかった。

#### 7) フルオラスケミストリーに基づいた新規バブルリポソームの試作

丸山一雄 (帝京大学薬学部生物薬剤学教室)

近年、我々はバブルリポソームの超音波造影剤としての可能性や遺伝子に関する研究を紹介した。特にバブルリポソームと超音

波の併用による遺伝子導入は、短時間の超音波照射で細胞内に遺伝子導入可能である上、体外からの超音波照射により超音波照射部位のみに遺伝子を送達可能であった。本方法は既存の非ウイルスベクターシステムとは異なり、低侵襲的かつ部位特異的遺伝子導入を可能とする有望な遺伝子導入法として期待される。今回の実験でわれわれはフルオラスケミストリーに基づいた新型のバブルリポソームと pDNA を固形がん組織の腫瘍支配動脈から投与し、固形がん部分に超音波照射することでがん組織特異的に遺伝子を導入することに成功した。

#### 8) ナノバブルを併用した新しい根管洗浄法に関する基礎的研究

辺見浩一<sup>1</sup>, 川島伸之<sup>1</sup>, 須田英明<sup>1,2</sup>, 鈴木孝尚<sup>3</sup>, 山下直也<sup>3</sup>, 立花克郎<sup>4</sup>, 中島美砂子<sup>5</sup> (<sup>1</sup>東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科歯髓生物学分野, <sup>2</sup>東京医科歯科大学 GCOE プログラム“歯と骨の分子疾患科学の国際教育研究拠点--デントメドミクス”のインテリジェントハブ”, <sup>3</sup>ネッパジーン株式会社, <sup>4</sup>福岡大学医学部解剖学教室, <sup>5</sup>国立長寿医療研究センター口腔疾患研究部口腔機能再生研究室)

う蝕の進行により惹起される歯髄炎が放置されると、歯髄は壊死に陥り、根管内に住みついた細菌により根尖周囲の歯槽骨吸収を伴った炎症性病変、すなわち根尖病変が誘発される。歯内療法は、この根管内の細菌を除去することであり、そのために強力な有機質溶解作用を有する次亜塩素酸ナトリウム溶液 (NaClO, 6%) で根管を洗浄する。しかし NaClO が根管外に漏洩した場合、重篤な組織損傷を引き起こす。今回、NaClO とナノバブル (5%) および超音波処理を組み合わせることで、組織損傷を引き起こさない濃度まで希釈された NaClO (0.5%) でも、確実に細菌数を減らすことができることを明らかにした。

#### 9) 肝がんバイオマーカーとしてのソナゾイド® 造影超音波の有用性

杉本勝俊, 本定三季, 佐野隆友, 市村茂輝, 村島英学, 平良淳一, 山田幸太, 古市好宏, 山田昌彦, 今井康晴, 中村郁夫, 森安史典 (東京医科大学消化器内科)

【目的】進行肝細胞癌患者にソラフェニブを投与後、腫瘍部と非腫瘍部の血流変化をソナゾイド® 造影超音波 (CEUS) で経時的に観察を行い、早期治療効果予測の可能性について検討した。

【方法】2009年6月から2010年10月までに、進行肝細胞癌に対しソラフェニブを投与し、かつCEUSにて経時的 (Day0, Day7, Day14, Day28) に腫瘍部と非腫瘍部のモニターが可能であった20症例19結節を対象とした。モニター部位に対し、CEUSで3分間のdynamic imagingを撮像した。解析は東芝社製CHI-Qを使用し、off-lineで腫瘍部と非腫瘍部にそれぞれ関心領域 (ROI) を設定しtime intensity curve (TIC) による解析を行った。また、治療前と開始1カ月後に造影CTを撮像し、2名の放射線科医がRECISTにしたがって奏功レベルを評価した。TICから腫瘍部と非腫瘍部のpeak intensity (PI) ratio (DayX/Day0) を計測し、PI ratioの経時的変化と奏功レベルおよび有害事象との関連について検討した。

【成績】治療1カ月後のRECISTによる評価では、12 (63.2%) 症例がstable disease (SD), 7 (36.8%) 症例がprogressive disease (PD) であった。有害事象でCommon Terminology Criteria for Adverse Events (CTCAE) grade3以上に相当する症例が6例 (30.0%) に認められた。治療1カ月後にSDと判定された群の腫瘍部のDay7 (0.57 ± 0.35) およびDay14 (0.79 ± 0.48) にお

ける PI ratio は、PD と判定された群 (Day7:  $1.39 \pm 0.68$  / Day14:  $2.00 \pm 0.85$ ) と比べ有意に低下していた (Day7:  $p = 0.02$  / Day14:  $p < 0.01$ ). さらに、CTCAE grade3 以上の有害事象が認められた群の非腫瘍部の Day14 における PI ratio ( $0.54 \pm 0.22$ ) は、それ以外の群 ( $2.16 \pm 2.09$ ) と比べ有意に低下していた ( $p = 0.01$ ).

【結論】 ソナゾイド® 造影超音波は、肝細胞癌に対するソラフェニブの早期効果予測や重篤な有害事象の早期予測に有用である.

10) 超音波刺激による血管内皮前駆細胞の血管新生能力増強効果  
佐々木健一郎<sup>1</sup>, 外山康之<sup>1</sup>, 立花克郎<sup>2</sup>, 上野高史<sup>1</sup>, 梶本英美<sup>3</sup>, 大塚昌紀<sup>1</sup>, 小岩屋宏<sup>1</sup>, 仲吉孝晴<sup>1</sup>, 横山晋二<sup>1</sup>, 光武良亮<sup>1</sup>, 板家直樹<sup>1</sup>, 知花英俊<sup>1</sup>, 今泉 勉<sup>1</sup> (<sup>1</sup>久留米大学医学部心臓・血管内科, <sup>2</sup>福岡大学医学部解剖学教室, <sup>3</sup>久留米大学循環器病研究所)

我々は最近、血管内皮前駆細胞 (endothelial progenitor cell: EPC) を臨床応用した「血管新生療法」の重症下肢虚血例に対する治療成績を報告した。閉塞性動脈硬化症例の治療効果は十分と言いき、その動脈硬化危険因子が EPC の血管新生能力を低下させていることが原因の一つと考えられた。今回我々は低強度パルス型超音波刺激 (low intensity pulsed ultrasound stimulation: LIPUS) が EPC の血管新生能力を高め得るか否かについて検討した。ヒト単核球系細胞培養から EPC を獲得する過程で、培養細胞にガス透過型膜を介して LIPUS を加え、その EPC の形成能力、遊走能力、血管新生作動タンパク質の分泌能力、一酸化窒素

合成酵素発現の変化を調べた。さらに下肢虚血動物モデルを用いて、LIPUS 前処置を受けた EPC の血管内投与が虚血下肢にもたらず血管新生効果を評価した。LIPUS は簡便で、培養細胞の生存率に影響を与えず、EPC の血管新生能力を *in vitro* および *in vivo* で高めていた。投与 EPC への LIPUS 前処置は今後の新しい治療戦略の一つとして期待される。

11) Inhibition of melanoma cells when sub-cultured with IF-beta sonotransfected melanocytes

Loreto B. Feril, Jr. (Department of Anatomy, Fukuoka University School of Medicine)

To investigate the effects of low-intensity ultrasound on human malignant melanoma (C-32) cells *in vitro* were exposed to 0.1 - 0.5 W/cm<sup>2</sup> (1.011-MHz) ultrasound. In separate experiments, cells were sonotransfected with the following genes: GFP, IFN-beta, and GFP tagged IFN-beta gene, after micro-bubbles were added. Sonotransfection with IFN-beta resulted in cell killing, apoptosis induction and overall growth inhibition of melanoma. While GFP sonotransfection did not significantly affect cell growth, it was shown that cells transfected with GFP-tagged IFN-beta genes were more likely to undergo apoptosis. In addition, growth of cells sub-cultured with sonotransfected cells was also inhibited. These findings suggest the potential use of low-intensity ultrasound against malignant melanoma including advanced metastatic stages that are the usual causes of death associated with cancer.