

Title	マイクロゲルビーズを用いたMHz帯超音波によるオンデマンド薬剤徐放システム
Sub Title	On-demand drug release system using MHz ultrasound with hydrogel microbeads
Author	尾上, 弘晃(Onoe, Hiroaki)
Publisher	慶應義塾大学
Publication year	2023
Jtitle	学事振興資金研究成果実績報告書 (2021.)
JaLC DOI	
Abstract	<p>本年度の実験では、内耳に遺伝子導入することを最終目標として下記の2つの実験を実行した。</p> <p>(1) 超音波照射によるAAVの徐放 AAVをハイドロゲルマイクロビーズ内に含有し、超音波を照射して徐放したのちに細胞に遺伝子導入ができるかどうかを96ウェルプレートを用いたin vitro試験により観察した。その結果、超音波によりAAVが徐放され、細胞に遺伝子導入できることを確認した。一方で、AAVの徐放を促すタングステン粒子の有無による遺伝子導入率に優位な差はなかった。これはナノ粒子と比較してAAVはハイドロゲルから徐放しやすいことが要因として考えられた。このため、AAVの漏れを防ぐために、ハイドロゲルマイクロビーズ自体のゲル化をより強固にすること、さらに本実験で使用したホモジナイザーよりも低出力のランジュバン型振動子を設計・製作し、これを用いた低出力超音波によるAAV照射実験をこれから実施する。</p> <p>(2) パラボラ型振動子の製作 内視鏡による視野を確保しながら正円窓近傍でMHz帯の超音波を照射するため、小型で超音波の照射出力を高めることができる圧電素子にアルミ製のパラボラ板を取り付けたパラボラ型振動子を設計し、製作した。製作した超音波振動子は直径2.5 mmで、焦点距離2 mmのパラボラ板を0.5 mmの厚さの圧電素子に圧着して製作した。さらに、感電を防ぐために電極をエポキシ樹脂でシーリングすることで電極を被覆した。なお、製作したパラボラ型振動子は視野確保できる大きさを考えて、最大直径を3 mm以下とするように製作した。</p> <p>In this year's experiments, the following two experiments were performed with the ultimate goal of gene transfer to the inner ear.</p> <p>(1) Sustained release of AAV by ultrasonic irradiation We contained AAV in hydrogel microbeads, irradiated them with ultrasound and released them slowly, and then observed whether gene transfer to cells could be achieved by in vitro testing using 96-well plates. As a result, it was confirmed that AAV was released slowly by ultrasound and that gene transfer to cells was possible. On the other hand, there was no significant difference in the gene transfer rate between the presence and absence of tungsten particles that promote the sustained release of AAV. This may be due to the fact that AAV is more easily released from the hydrogel than nanoparticles. In order to prevent leakage of AAV, we will make the gelation of the hydrogel microbeads themselves stronger, and design and fabricate a Langevin-type transducer with lower power than the homogenizer used in this experiment, and conduct AAV irradiation experiments using this transducer with low-power ultrasound.</p> <p>(2) Fabrication of parabolic transducers In order to irradiate MHz-band ultrasonic waves near the regular window while maintaining the endoscopic field of view, a parabolic transducer was designed and fabricated by attaching an aluminum parabolic plate to a piezoelectric element, which is compact and can increase the ultrasonic irradiation output. The ultrasonic transducer is 2.5 mm in diameter with a focal length of 2 mm. The parabolic plate is piezoelectrically bonded to a 0.5 mm thick piezoelectric element. In addition, the electrodes were covered with epoxy resin sealing to prevent electric shock. The parabolic transducer was fabricated so that its maximum diameter was less than 3 mm, considering the size of the field of view.</p>
Notes	
Genre	Research Paper
URL	https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=2021000005-20210007

研究代表者	所属	理工学部	職名	教授	補助額	1,050 千円
	氏名	尾上 弘晃	氏名（英語）	Hiroaki Onoe		
研究課題（日本語）						
マイクロゲルビーズを用いた MHz 帯超音波によるオンデマンド薬剤徐放システム						
研究課題（英訳）						
On-demand drug release system using MHz ultrasound with hydrogel microbeads						
研究組織						
氏 名 Name		所属・学科・職名 Affiliation, department, and position				
尾上弘晃 (Hiroaki Onoe)		理工学部・機械工学科・教授				
藤岡正人 (Masato Fujioka)		医学部・耳鼻咽喉科・専任講師				
1. 研究成果実績の概要						
<p>本年度の実験では、内耳に遺伝子導入することを最終目標として下記の 2 つの実験を実行した。</p> <p>(1) 超音波照射による AAV の徐放 AAV をハイドロゲルマイクロビーズ内に含有し、超音波を照射して徐放したのちに細胞に遺伝子導入ができるかどうかを 96 ウェルプレートを用いた in vitro 試験により観察した。その結果、超音波により AAV が徐放され、細胞に遺伝子導入できることを確認した。一方で、AAV の徐放を促すタングステン粒子の有無による遺伝子導入率に優位な差はなかった。これはナノ粒子と比較して AAV はハイドロゲルから徐放しやすいことが要因として考えられた。このため、AAV の漏れを防ぐために、ハイドロゲルマイクロビーズ自体のゲル化をより強固にすること、さらに本実験で使用したホモジナイザーよりも低出力のランジュバン型振動子を設計・製作し、これを用いた低出力超音波による AAV 照射実験をこれから実施する。</p> <p>(2) パラボラ型振動子の製作 内視鏡による視野を確保しながら正円窓近傍で MHz 帯の超音波を照射するため、小型で超音波の照射出力を高めることができる圧電素子にアルミ製のパラボラ板を取り付けたパラボラ型振動子を設計し、製作した。製作した超音波振動子は直径 2.5 mm で、焦点距離 2 mm のパラボラ板を 0.5 mm の厚さの圧電素子に圧着して製作した。さらに、感電を防ぐために電極をエポキシ樹脂でシーリングすることで電極を被覆した。なお、製作したパラボラ型振動子は視野確保できる大きさを考えて、最大直径を 3 mm 以下とするように製作した。</p>						
2. 研究成果実績の概要（英訳）						
<p>In this year's experiments, the following two experiments were performed with the ultimate goal of gene transfer to the inner ear.</p> <p>(1) Sustained release of AAV by ultrasonic irradiation We contained AAV in hydrogel microbeads, irradiated them with ultrasound and released them slowly, and then observed whether gene transfer to cells could be achieved by in vitro testing using 96-well plates. As a result, it was confirmed that AAV was released slowly by ultrasound and that gene transfer to cells was possible. On the other hand, there was no significant difference in the gene transfer rate between the presence and absence of tungsten particles that promote the sustained release of AAV. This may be due to the fact that AAV is more easily released from the hydrogel than nanoparticles. In order to prevent leakage of AAV, we will make the gelation of the hydrogel microbeads themselves stronger, and design and fabricate a Langevin-type transducer with lower power than the homogenizer used in this experiment, and conduct AAV irradiation experiments using this transducer with low-power ultrasound.</p> <p>(2) Fabrication of parabolic transducers In order to irradiate MHz-band ultrasonic waves near the regular window while maintaining the endoscopic field of view, a parabolic transducer was designed and fabricated by attaching an aluminum parabolic plate to a piezoelectric element, which is compact and can increase the ultrasonic irradiation output. The ultrasonic transducer is 2.5 mm in diameter with a focal length of 2 mm. The parabolic plate is piezoelectrically bonded to a 0.5 mm thick piezoelectric element. In addition, the electrodes were covered with epoxy resin sealing to prevent electric shock. The parabolic transducer was fabricated so that its maximum diameter was less than 3 mm, considering the size of the field of view.</p>						
3. 本研究課題に関する発表						
発表者氏名 (著者・講演者)	発表課題名 (著書名・演題)	発表学術誌名 (著書発行所・講演学会)	学術誌発行年月 (著書発行年月・講演年月)			
Shuhei Takatsuka, Takechi Kubota, Yuta Kurashina, Hiroaki Onoe	Ultrasound triggered on-demand adeno-associated-virus release from hydrogel microbeads for gene therapy	The 25th International Conference on Miniaturized Systems for Chemistry and Life Science (microTAS)	Oct. 10-14, 2021			