

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24 年 4 月 3 日現在

機関番号：17401

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2010～2011

課題番号：22700511

研究課題名（和文）高周波高電界パルスがん治療に関する基礎研究

研究課題名（英文） Basic research on high-frequency pulsed electric field cancer treatment

研究代表者

安部 恵祐 (ABE KEISUKE)

熊本大学・大学院自然科学研究科・COE リサーチ・アソシエイト

研究者番号：10535652

研究成果の概要（和文）：本研究において、ナノ秒パルス高電界(nsPEF)によって引き起こされる細胞死がアポトーシス様細胞死であることがわかった。120ns 幅の nsPEF により Ca^{2+} イオンが細胞内に流入し細胞膜上で Ceramide を形成し、小胞体ストレス経路を介しアポトーシスを引き起こすことが示唆された。また、3-10MHz のバースト高周波電界(IBSEF)では、細胞膜への損傷は少なく、ある程度のエネルギー値において細胞を活性化する働きがあることを示唆した。

研究成果の概要（英文）：In this study, we found that nanosecond pulsed electric field (nsPEF) caused apoptosis like death to cancer cells. nsPEF (120ns width) promoted Ca^{2+} influx to cytoplasm, and Ceramide was expressed on cell membrane. These factors activated endoplasmic reticulum stress signal and caused apoptosis. Moreover, Intense Burst Sinusoidal Electric Field (3-10MHz) cannot damaged cell membrane. In case of a certain low energy, it activated cell proliferation.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010 年度	1,600,000	480,000	2,080,000
2011 年度	1,400,000	420,000	1,820,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,000,000	900,000	3,900,000

研究分野：総合領域

科研費の分科・細目：人間医工学、医用システム

キーワード：臓器保存・治療システム・高周波高電界パルスがん治療

1. 研究開始当初の背景

研究当初、nsPEF により細胞死が起きる事はわかっていたがどのようなメカニズムで起きるのがわかっていなかった。細胞内部への影響と考えられていた。

また、IBSEF は作製されたばかりで、細胞内部へエネルギーを送る事ができるが、どのような影響がでるかはわかっていなかった。

2. 研究の目的

①nsPEF による細胞死のメカニズム解析とがん治療への応用。

②IBSEF の生体への影響解析

3. 研究の方法

①細胞に電界を処理した後、realtime PCR や FACS を用いて、mRNA やタンパク質の発現、リン酸化を解析する。

②細胞に電界を印加した後、細胞の形態や増殖活性をモニターする。

③上記より得られた結果をもとに、シグナル経路を絞り込む。

4. 研究成果

①120ns 幅の nsPEF は Ca^{2+} 流入を引き起こし細胞膜上で Ceramide を作り小胞体ストレス経路の apoptosis を引き起こす。さらにミトコンドリアの崩壊なども引き起こし、2 重の apoptosis 経路が働く。

②ASK1 シグナル由来の apoptosis 経路を用いるため正常細胞との選択治療が可能になることを示唆した。

③3-10MHz 帯の IBSEF をあるエネルギー量細胞に暴露すると細胞の増殖が活性化される。エネルギーが少ない時ミトコンドリアを刺激し、多くなると小胞体を刺激し始めることがわかった。

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 3 件)

① (著者名) Mitsutake K. Satoh, A. Mine, S. Abe, K. Katsuki, S. Akiyama, H. (論文標題) Effect of Pulsing Sequence of Nanosecond Pulsed Electric Fields on Viability of HeLa S3 Cells. (雑誌名) IEEE Transactions on Dielectrics and Electrical Insulation. 査読有、19 巻、2012、337-342

② (著者名) Yano, M. Abe, K. Akiyama, H. Katsuki, S. (論文標題) Enhancement of Proliferation Activity of Mammalian Cells by Intense Burst Sinusoidal Electric Fields. (雑誌名) IEEE Transactions on Dielectrics and Electrical Insulation. 査読有、19 巻、2012、331-336

③ (著者名) 勝木淳, 矢野正彦, 光武和典, 諸富桂子, 安部恵祐, 矢野憲一, 秋山秀典 (論文標題) パルス高電界の生体作用と先端的医療応用 (雑誌名) J Journal of Plasma and Fusion Research、査読有、19 巻、2011、710-714

[学会発表] (計 21 件)

① (発表者名) 田中 展子, 矢野 正彦, 松本 千春, 安部 恵祐, 勝木 淳, 秋山 秀典 (発表標題) バースト AC 高電界印加後のヒト細胞の増殖活性に関する遺伝子解析 (学会名) パルスパワー研究会 (発表年月日) 2012 年 3 月 8 日 (発表場所) 熊本大学 (熊本県)

② (発表者名) 安部 恵祐 (発表標題) パルス高電界を用いた医療技術開発のための研究 (学会名) 衝撃エネルギー産業化コンソー

シアム熊本大学産学連携シンポジウム 2012 (発表年月日) 2012 年 3 月 7 日 (発表場所) 熊本大学 (熊本県)

③ (発表者名) Keisuke Abe (発表標題) Analysis of Ion Influx and Expression of CERAMIDE in HeLa S3 cells Subjected to Nanosecond Pulsed Electric Fields (学会名) International COE Forum on Pulsed Power Engineering (発表年月日) 2011 年 9 月 12 日 (発表場所) 阿蘇白雲山荘 (熊本県)

④ (発表者名) 矢野美沙子, 矢野正彦, 安部恵祐, 勝木 淳, 秋山秀典 (発表標題) ナノ秒パルス高電界に対するヒト子宮頸がん細胞の応答解析 (学会名) パルスパワー放電 合同研究会 (発表年月日) 2011 年 8 月 5 日 (発表場所) 愛媛大学 (愛媛県)

⑤ (発表者名) 安部 恵祐 (発表標題) ナノ秒高電界パルスを用いた新規がん治療法 (学会名) 九州横断 4 県合同 (大分・熊本・佐賀・長崎) 新技術説明会 (招待講演) (発表年月日) 2011 年 7 月 22 日 (発表場所) 科学技術振興機構 JST ホール (東京都)

⑥ (発表者名) K. Mitsutake, S. Moriyama, K. Abe, S. Katsuki, H. Akiyama, T. Shuto, H. Kai (発表標題) Response of HeLa Cells to Transient Thermal Shock (学会名) 18th IEEE International Pulsed Power Conference (発表年月日) 2011 年 6 月 23 日 (発表場所) Hyatt Regency, McCormick Place (Chicago USA)

⑦ (発表者名) M. Yano, C. Matsumoto, N. Tanaka, T. Oide, K. Abe, S. Katsuki, H. Akiyama (発表標題) Gene Analysis of HeLa Cells Subjected to Intense Burst Sinusoidal Electric Fields (学会名) 18th IEEE International Pulsed Power Conference (発表年月日) 2011 年 6 月 22 日 (発表場所) Hyatt Regency, McCormick Place (Chicago USA)

⑧ (発表者名) M. Yano, M. Yano, K. Abe, S. Katsuki, H. Akiyama (発表標題) Gene Expression Analysis of Apoptosis Pathway in HeLa S3 Cells Subjected to Nanosecond Pulsed Electric Fields (学会名) 18th IEEE International Pulsed Power Conference (発表年月日) 2011 年 6 月 22 日 (発表場所) Hyatt Regency, McCormick Place (Chicago USA)

⑨ (発表者名) Keisuke Abe, Masahiko Yano, Kazunori Mitsutake, Misako Yano, Sunao Katsuki, Hidenori Akiyama and Shin-ichi Abe (発表標題) Analysis of Ion Influx and Expression of CERAMIDE in HeLa S3 Cells Subjected to Nanosecond Pulsed Electric Fields (学会名) 2011 International Bioelectrics Symposium (発表年月日) 2011年5月5日 (発表場所) CNRS/Toulouse III-Paul Sabatier University(Toulouse, France)

⑩ (発表者名) 安部 恵祐 (発表標題) ナノ秒パルス高電界によるヒトがん細胞へのアポトーシス誘導機構 (学会名) バイオエレクトリクス 2011 シンポジウム (招待講演) (発表年月日) 2011年3月10日 (発表場所) 熊本大学 (熊本県)

⑪ (発表者名) 安部 恵祐 (発表標題) パルス高電界を用いた医療技術開発のための研究 (学会名) 衝撃エネルギー産業化コンソーシアム熊本大学産学連携シンポジウム 2010 (発表年月日) 2010年3月9日 (発表場所) 熊本大学 (熊本県)

⑫ (発表者名) 安部 恵祐 (発表標題) ナノ秒パルス高電界を用いた HeLaS3 細胞のアポトーシス誘導機構の解明と応用 (学会名) 第2回 MANE 研究会 (発表年月日) 2010年3月8日 (発表場所) 熊本大学薬学部 (熊本県)

⑬ (発表者名) 矢野正彦, 松本千春, 大井出達哉, 田中展子, 安部恵祐, 勝木 淳, 秋山秀典 (発表標題) パースト AC 高電界による動物細胞の増殖活性変化 (学会名) プラズマパルスパワー合同研究会 (発表年月日) 2010年12月17日 (発表場所) 東京工業大学 (東京都)

⑭ (発表者名) 光武和典, 佐藤彰充, 森山新哉, 安部恵祐, 勝木 淳, 秋山秀典 (発表標題) PCRを用いたパルス高電界による細胞死のメカニズム解析 (学会名) プラズマパルスパワー合同研究会 (発表年月日) 2010年12月17日 (発表場所) 東京工業大学 (東京都)

⑮ (発表者名) 安部 恵祐 (発表標題) パルスパワーによる生体物理刺激と生体活性制御 (学会名) イノベーションジャパン 2010-大学見本市 (発表年月日) 2010年9月29日-10月1日 (発表場所) 東京国際フォーラム (東京都)

⑯ (発表者名) 安部 恵祐 (発表標題) Effect

of Nanosecond Pulsed Electric Fields on HeLa S3 cells (学会名) International COE Forum on Pulsed Power Engineering (発表年月日) 2010年9月28日 (発表場所) 霧島観光ホテル (鹿児島県)

⑰ (発表者名) 勝木 淳, 矢野正彦, 安部恵祐, 秋山秀典 (発表標題) 非加熱的パーストAC高電界に対する動物細胞の生体反応 (学会名) プラズマパルスパワー合同研究会 (発表年月日) 2010年8月5日 (発表場所) Sheraton Princess Kaiulani Hotel (Honolulu, USA)

⑱ (発表者名) Keisuke Abe (発表標題) Effect of Pulsing Sequence of Nanosecond Pulsed Electric Fields on HeLa S3 Cells and Mature Fat Cells (学会名) BIOELECTRICS2010, 7th International Bioelectrics Symposium (発表年月日) 2010年6月26日 (発表場所) Old Dominion University (Norfolk, USA)

⑲ (発表者名) K. Abe (発表標題) Effect of Pulsing Sequence of Nanosecond Pulsed Electric Fields on HeLa S3 Cells (学会名) 37th IEEE International Conference on Plasma Science (発表年月日) 2010年6月21日 (発表場所) Waterside Marriott (Norfolk, USA)

⑳ (発表者名) T. Dan, T. Okamo, K. Abe, T. Sakugawa, S. Katsuki, H. Akiyama (発表標題) STUDY OF PROTEIN ACTIVITY IN HELA CELLS SUBJECTED TO NANOSECOND PULSED ELECTRIC FIELDS (学会名) 37th IEEE International Conference on Plasma Science (発表年月日) 2010年6月21日 (発表場所) Waterside Marriott (Norfolk, USA)

㉑ (発表者名) 矢野正彦, 松本 千春, 安部恵祐, 勝木 淳, 秋山秀典 (発表標題) パースト AC 高電界に対する動物細胞の反応解析 (学会名) パルスパワー放電合同研究会 (発表年月日) 2010年5月14日 (発表場所) 長岡技術科学大学 (新潟県)

[産業財産権]
○出願状況 (計1件)

名称: ナノ秒パルス電界を用いたアポトーシス誘導方法
発明者: 安部 恵祐
権利者: 熊本大学
種類: 特許
番号: 特願 2011-47162
出願年月日: 平成 23 年 3 月 4 日
国内外の別: 国内

[その他]
ホームページ等
<http://jstshingi.jp/abst/p/11/1120/9o226.pdf> (特許関連 J S T 招待講演 P D F)

<http://ppe.coe.kumamoto-u.ac.jp/> (熊本大学GCOEのホームページ)

http://ppe.coe.kumamoto-u.ac.jp/pdf/newsletter_no13_jp.pdf (申請者一部著の広報レターURL)

<http://www.berc.kumamoto-u.ac.jp/> (熊本大学バイオエレクトロクスセンターURL)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

安部 恵祐 (ABE KEISUKE)
熊本大学・大学院自然科学研究科・COE リサーチ・アソシエイト
研究者番号：10535652