

平成 30 年 5 月 15 日現在

機関番号：13301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K01328

研究課題名(和文) 交流磁場によるがん標的化学療法の開発

研究課題名(英文) Impact evaluation of magnetic fields toward a target chemotherapy

研究代表者

柿川 真紀子 (Kakikawa, Makiko)

金沢大学・電子情報学系・准教授

研究者番号：10359713

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：本研究ではヒト細胞を培養しながら交流磁場を96時間まで連続曝露できるシステムを構築し、薬剤作用における交流磁場影響の曝露時間の依存性を検討した。その結果、ヒト肺がん細胞において24～96時間よりも0.5～4時間の短時間の交流磁場曝露が、非曝露群より有意に薬剤作用の増強することが明らかとなった。また、肺がん細胞だけでなく、ヒト肝がん細胞でも検討したところ、同様に交流磁場曝露による抗がん剤の作用増強が認められた。

研究成果の概要(英文)：We have constructed a magnetic fields exposure system for long-term experiments with human cells, and investigated the time dependence of magnetic fields exposure influence on drug potency. The results indicated that the potency of anticancer drug, cisplatin to human lung cancer cells was increased significantly by exposure to magnetic fields for 0.5～4 h, not for 24 h or more. Furthermore, our results suggested that the magnetic fields enhance the potency of anticancer drugs to not only lung cancer cells but also human hepatoma cells.

研究分野：生体工学

キーワード：交流磁場 がん細胞 薬剤作用

1. 研究開始当初の背景

これまでに交流磁場と変異原性剤など様々な化学物質との併用曝露影響に関する研究が、いくつか報告されている。当研究室では、交流磁場曝露による薬剤作用への影響について、次のような研究結果が得てきた。

(1) 60 Hz 磁場の磁束密度依存的な抗生物質マイトマイシン C (MMC) の作用増強

大腸菌に抗生物質 MMC のみを反応させた場合 (非磁場曝露群) と、磁場曝露下で MMC を大腸菌に反応させた場合 (磁場曝露群) では、磁場曝露群の方が大腸菌の生存率が減少し、MMC 作用が高められている結果が得られた。この増強率は磁束密度 50, 30, 5 mT では、それぞれ 2.4, 1.8, 1.4 倍となり、磁束密度に依存して MMC の作用が高まることが明らかとなっていた。

(2) 7 種の薬剤作用における磁場曝露影響

MMC の他に 6 種の薬剤、アクチノマイシン D、シスプラチン、ダウノルビシン、ミトキサントロン、ブレオマイシン、ジノスタチンにおいて、交流磁場曝露による大腸菌での作用への影響を測定した結果、どの薬剤においても作用増強が認められた。

(3) 交流磁場の周波数による薬剤作用への影響

交流磁場の周波数 6-600 Hz 間で大腸菌における薬剤作用への影響を測定したところ、60 Hz 付近の磁場が最も効果的に薬剤の作用を増強することが明らかとなっていた。

(4) 交流磁場による薬剤の細胞内への取り込み量の増加

細胞培養液に添加した薬剤は、すべてが細胞内に入って反応するわけではなく、いくらか培養液中 (細胞外) に残るため、反応後の培養液中の MMC の活性を測定したところ、磁場曝露群は非曝露群に比べ、MMC 活性が低く、磁場曝露により MMC がより多く細胞内に取り込まれることが示唆された。

(5) ヒト肺がん細胞株での 60 Hz, 50 mT 磁場 24 時間曝露による薬剤作用への影響

ヒト肺がん細胞におけるシスプラチンと 60 Hz, 50 mT 磁場 24 時間曝露ではシスプラチンのみの非曝露群生存率よりも減少することが確認された。

2. 研究の目的

一般的に抗がん剤は、がん細胞だけでなく正常細胞へも攻撃するため、副作用が問題となっている。大腸菌でみられた交流磁場曝露による薬剤作用の増強が、ヒトがん細胞でも確実であれば、固形がんの場合に腫瘍部に磁場を曝露することで、薬剤作用が高めることができ、投薬量を減らし、副作用を抑えられる可能性がある。本研究では、この交流磁場によるがん標的的化学療法が有効であるかどうかを検討するため、ヒトがん細胞での薬剤作用における交流磁場の曝露時間の検討 (磁場曝露装置の改良を含めて) と、複数の薬剤

作用における磁場曝露の影響を検討することを目的とした。

3. 研究の方法

(1) ヒト肺がん細胞での抗がん剤シスプラチン作用における交流磁場曝露の曝露時間の影響測定

細胞増殖の速い大腸菌の実験系では、0.5 から 6 時間までの磁場曝露影響を評価していたため、細胞分裂に約 1 日かかるヒト肺がん細胞 A549 での磁場曝露影響の測定に向けて、60 Hz, 50 mT 磁場装置にフロリナート液 (電気絶縁性、熱化学的に安定な不活性液体) を鉄心、コイル部分に循環させて 96 時間まで温度を安定に連続曝露できるように改良した。その後、60 Hz, 50 mT 磁場曝露下あるいは非曝露下で、それぞれヒト肺がん細胞に抗がん剤シスプラチンを 0.5, 1, 2, 4, 24, 48, 72, 96 時間反応させ、細胞のコロニー形成能から薬剤作用を評価した。

(2) 交流磁場曝露によるヒト肺がん細胞内への薬剤取り込み量への影響測定

ヒト肺がん細胞への抗がん剤作用の測定では、細胞培養液に薬剤を添加するが、すべての薬剤が細胞内に取り込まれるわけではなく、一部は培養液に残る。この培養液中 (細胞外) に残る薬剤活性を測定することにより、薬剤の細胞内への取り込み量における磁場影響を測定した。実際にはまず、同数のヒト肺がん細胞 A549 を播いた培養ディッシュ 2 セットにそれぞれシスプラチンを添加し、一方を交流磁場曝露用インキュベータに、他方を非曝露のインキュベータに設置し反応させる。その後、細胞に取り込まれずに残った薬剤を含む培養液を回収し、新しい A549 細胞ディッシュに加え、その生存率から培養液中に残る薬剤活性を測定した。

(3) ヒト肝がん細胞での薬剤作用における 60 Hz, 50 mT 磁場曝露の影響測定

ヒト肺がん細胞での結果をもとに、60 Hz, 50 mT 磁場の短時間 (4 時間まで) 曝露条件によるヒト肝がん細胞 HepG2 での抗がん剤シスプラチン、マイトマイシン C およびドキシルビシン作用への影響を、各反応後の細胞のコロニー形成能から測定した。

4. 研究成果

(1) ヒト肺がん細胞での抗がん剤シスプラチン作用における交流磁場曝露の曝露時間の影響評価

これまでにヒト肺がん細胞におけるシスプラチン作用への 60 Hz, 50 mT 磁場の影響として、24 時間曝露のデータを得ていたが、以前の大腸菌細胞の実験系においては世代時間 0.5 時間に対し、薬剤の活性が高い 6 時間までの磁場影響を測定していたことから、世代時間が約 1 日のヒト肺がん細胞 A549 では 96 時間までの磁場曝露による影響を測定した。

シスプラチン反応時間を 0.5, 1, 2, 4, 24, 48, 72, 96 時間として、それぞれ非曝露群と 60 Hz, 50 mT 磁場曝露群で細胞生存率を比較したところ、24 時間以上の長時間よりも、4 時間以内の短時間において、磁場曝露群と非曝露群との生存率に違いが見られた。その結果を図 1 に示す。シスプラチン作用により反応時間に依存して、細胞生存率は減少するが、縦軸はシスプラチンのみの生存率に対するシスプラチンと磁場の併用曝露による細胞生存率の相対比を示している。反応時間 1 時間以降において相対日は 1 以下を示し、反応時間 2, 4 時間では磁場曝露群は非曝露群に比べて生存率が 40%減少していることがわかる。この磁場曝露群と非曝露群の生存率の差について、統計処理を行ったところ、反応時間 1, 2, 4 時間において、いずれも $p < 0.005$ となり、有意差が認められた。この結果より、ヒト肺がん細胞において、60 Hz, 50 mT 磁場は 4 時間ほどの反応で、抗がん剤シスプラチン作用を高め、細胞生存率は非曝露群に比べて 40%減少させることが明らかとなった。

一方、この各反応後に細胞に取り込まれずに残るシスプラチンを含んだ培養液（細胞外）を新しい細胞に加え、細胞の生存率から、薬剤活性を測定した結果を図 2 に示す。この結果から反応時間 2, 4 時間の磁場曝露群の培養液による新しい細胞の生存率は 1.1, 1.3 と 1 より高い、つまり培養液中に残る薬剤活性は非曝露群よりも低いことがわかる。この反応時間 2, 4 時間の値については、統計処理から有意差 ($p < 0.005$) も認められた。この結果は、磁場曝露群では非曝露群よりも、培養液中に残るシスプラチンが少ないことを示し、細胞内には多く薬剤が取り込まれたことを示唆する。

以上の結果より、ヒト肺がん細胞 A549 において、抗がん剤シスプラチンと 60 Hz, 50 mT 磁場の併用曝露により、シスプラチンの殺細胞作用が増強されること、この現象は反応時間 2~4 時間で有意に検出され、薬剤のみの細胞生存率に比べ、磁場曝露により、さらに 40%減少させることが明らかとなった。また、この現象の要因として、磁場曝露が細胞膜に影響を与えて、細胞内へシスプラチンが取り込まれる量が増加し、結果としてシスプラチンの殺細胞作用が増強されることが示唆された。

また、肺がん細胞以外のがん細胞においても交流磁場による薬剤作用の効果があるかどうかを明らかにするため、ヒト肝がん細胞株 HepG2 における抗がん剤シスプラチン、マイトマイシン C, ドキソルビシン作用への磁場曝露 (60 Hz, 50 mT, 0~4 時間) の影響を測定した。その結果、シスプラチン作用による肝がん細胞の生細胞数の減少は交流磁場曝露 4 時間では非曝露群よりさらに 40%減少した。また、マイトマイシン C の場合には、交流磁場曝露 2 時間で非曝露群よりさらに生存率が 40%減、ドキソルビシン作用において

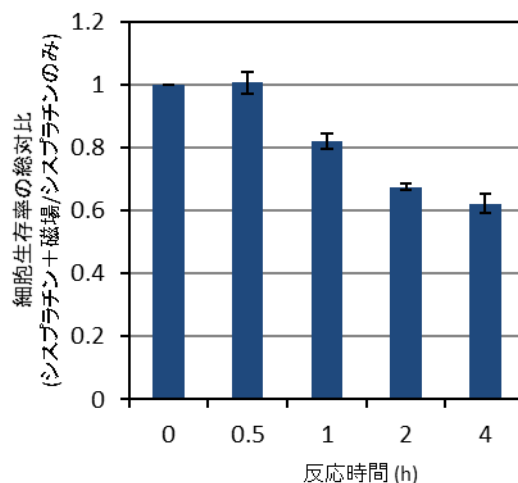


図 1 シスプラチン作用によるヒト肺がん細胞 A549 の生存率に対する 60 Hz, 50 mT 磁場曝露影響

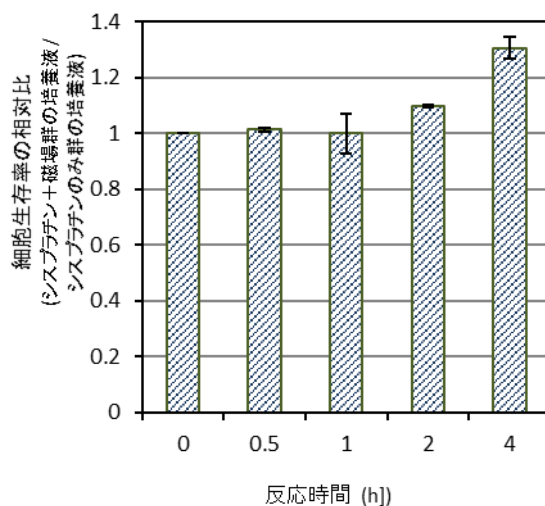


図 2 60 Hz, 50 mT 磁場曝露群と非曝露群の培養液中に残るシスプラチンの活性比

は磁場曝露 0.5 時間で非曝露群より 40%の減少が見られ、いずれも統計処理において有意差が認められた。

これらの結果より 60 Hz, 50 mT 磁場は肝がん細胞においても薬剤作用を増強することが明らかとなった。なお、肝がん細胞での薬剤 3 種に対し、最も影響のみられる磁場曝露の時間が薬剤によって異なる結果となった。この点については、薬剤ごとに反応速度が異なり、ドキソルビシンは肝がん細胞に対して 0.5 時間で最も殺細胞活性が高くなり、生存率の減少が顕著であること、ついでマイトマイシン C は 2 時間付近で活性が高く、シスプラチンは緩やかに反応し、4 時間付近で殺細胞活性が高まっていた。以上の結果より、交流磁場曝露による薬剤作用の増強における効果的な曝露条件は、薬剤の種類によって異なり、これは薬剤の反応速度に関係することが示唆された。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 2 件)

- ① Zhang D, Murata K, Hu W, Yuan H, Matsusaki H, Kakikawa M (2017) Concentration and viability of bacteria aerosols associated with weather in Asian continental outflow: Current understanding, *Aerosol Science and Engineering*, 1, 66-77. DOI 10.1007/s41810-017-0008-y. (査読有)
- ② Yuan H, Zhang D, Shi Y, Li B, Yang J, Yu X, Chen N, Kakikawa M (2017) Cell concentration, viability and culture composition of airborne bacteria during a dust event in Beijing, *Journal of Environmental Sciences*, 55, 33-40. DOI:10.1016/j.jes.2016.03.033. (査読有)

[学会発表] (計 6 件)

- ① 松居大輔, 牛丸透, 萩原章希, 山田外史, 柿川真紀子, 肺がん細胞へのドキシソルビン作用に対する交流磁界曝露影響, 第 39 回日本磁気学会学術講演会, 名古屋大学, 2015 年 9 月 8 日
- ② 松居大輔, 牛丸透, 萩原章希, 山田外史, 柿川真紀子, 交流磁界曝露による抗がん剤ドキシソルビン作用への影響, 平成 27 年電気学会 基礎・材料・共通部門大会, 金沢大学, 2015 年 9 月 18 日
- ③ 松居大輔, 牛丸透, 山田外史, 柿川真紀子, 金沢大学, ヒトがん細胞への抗がん剤取込みにおける交流磁界影響, 平成 28 年電気学会全国大会, 東北大学, 2016 年 3 月 18 日
- ④ 松居大輔, 柿川真紀子, 山田外史, 交流磁界曝露による細胞への抗がん剤取込み量および細胞生存率への影響, 第 40 回日本磁気学会学術講演会, 金沢大学, 2016 年 9 月 8 日
- ⑤ 大野洋靖, 柿川真紀子, 山田外史, 多剤耐性を有するヒトがん細胞への抗がん剤作用に対する交流磁界影響, 第 40 回日本磁気学会学術講演会, 金沢大学, 2016 年 9 月 8 日
- ⑥ 遠藤裕哉, 松居大輔, 山田外史, 柿川真紀子, 多剤耐性がん細胞における抗がん剤作用とその取り込み量への交流磁界影響評価, 第 41 回日本磁気学会学術講演会, 九州大, 2017 年 9 月 20 日

[図書] (計 0 件)

[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

柿川真紀子 ((KAKIKAWA, Makiko)
金沢大学・理工研究域 電子情報学系
准教授
研究者番号：10359713

(2) 研究分担者

山田外史 (YAMADA, Sotoshi)
金沢大学・環日本海域環境研究センター
連携研究員
研究者番号：80019786