

科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）研究成果報告書

平成 25 年 4 月 22 日現在

機関番号： 14101
 研究種目： 若手研究（B）
 研究期間： 2011～2012
 課題番号： 23791633
 研究課題名（和文） 薬物療法と交流電磁波暴露を組み合わせた交流電磁場下化学療法の新規治療開発
 研究課題名（英文） New treatment for musculoskeletal sarcoma using chemotherapy combined with electromagnetic field

 研究代表者
 中村 知樹（NAKAMURA TOMOKI）
 三重大学・医学部附属病院・助教
 研究者番号： 50467362

研究成果の概要（和文）：骨肉腫細胞株(LM8)を用いて電磁場暴露下における化学療法の効果を検討した。現時点では In vivo, In vitro とともに化学療法単独群に比べて電磁場暴露下化学療法を行った群が有意な抗腫瘍効果は得られていない。In vivo ではアドリアマイシンの濃度設定を、In vivo ではアドリアマイシン投与後の電磁場暴露の至適なタイミングを現在検討中である。

研究成果の概要（英文）： We investigated experimental efficacy of chemotherapy combined with electromagnetic field using osteosarcoma cell line (LM8). There was not statistically significance between the efficacy of chemotherapy and that of chemotherapy combined with electromagnetic field in vivo and in vitro. We now investigate the cause of these results and now try to do the adjustment for the dose of adriamycin and timing of exposing to electromagnetic field.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
交付決定額	3,400,000	1,020,000	4,420,000

研究分野：整形外科

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・整形外科学

キーワード：骨・軟部腫瘍学 骨肉腫 アドリアマイシン 電磁場

1. 研究開始当初の背景

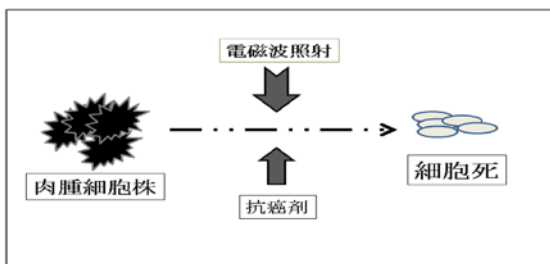
骨肉腫などの悪性骨腫瘍では近年、外科的手技、化学療法などの進歩によりその治療成績は向上してきているが、依然として肺転移をきたす予後不良症例が約30%存在する。高悪性度成人軟部肉腫の予後は、化学療法に抵抗性であるために、更に悪く、stage IIB以上

の症例の5年生存率は40%に満たない。最大の予後因子である遠隔転移に対しては外科的治療のみが現在のところ有効であるが、切除後も60%ほどの症例で再度転移を生じており、肺転移後の中央生存期間は12-18ヶ月と非常に不良である。近年悪性骨軟部腫瘍の遠隔転移に対してラジオ波焼灼術による治療もおこなわれてきており、低侵襲で外科的治療に劣

らない方法が応用されているが、基本的にはこれらの治療は局所療法であり他の転移巣や今後の転移の予防効果は期待できない。そのため、全身補助療法の更なる開発が必要である。

2. 研究の目的

近年、抗腫瘍薬を電子パルスや磁場の影響下で使用すると抗腫瘍効果が増強されるとの報告がされている。さらにはがん細胞を電磁場に暴露した際に、細胞膜に脱分極が生じ、腫瘍細胞への抗腫瘍薬の取り込みが増強することも報告されている。実際に臨床では、Barbaultらが固形癌(乳癌や子宮癌)に対して電磁場暴露下に化学療法を行っており、画像上約35%でStable Disease以上の効果を認めたと報告している(Barbault et al. J Exp Clin Cancer Res 28, 51. 2009)。これらの結果を踏まえて、従来行われてきた悪性骨軟部腫瘍に対する全身化学療法に電磁場照射を併用することでさらなる治療効果が期待できると考えた。本研究の目的は、悪性骨軟部腫瘍の治療成績向上をめざして、薬物療法と交流電磁波暴露を組み合わせた“交流電磁場下化学療法”の新規治療開発を行うことである。

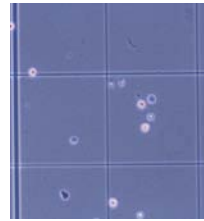


3. 研究の方法

1) In Vitroにおける交流電磁場下薬物療法の治療効果の検討

骨肉腫細胞株(LM8)をFBSで培養を行い、①

無処置群②抗腫瘍薬投与群③電磁場暴露群④抗腫瘍薬投与+電磁場暴露群の4群に分け処理を行い、交流電磁場暴露による抗腫瘍効果を検討した。抗腫瘍薬はアドリアマイシンを使用した。評価はMTS assayを行い、上記処置後生細胞数の評価を行った。またトリパンブルー染色を用いて顕微鏡的評価も行った。



↑トリパンブルー染色による評価

2) マウスを用いた In Vivo での実験系において交流電磁場下薬物療法の効果を検討する。

C3H マウスに LM-8 を背部皮下に移植し、腫瘍サイズが長径 10 mm を超えたところで①無処置群 ②抗腫瘍薬投与群③電磁場暴露群④抗腫瘍薬投与+電磁場暴露群の4群に分け処理を行い、交流電磁場暴露による抗腫瘍効果を検討した。抗腫瘍薬はアドリアマイシンを使用した。

評価は以下の方法で行った。

a. マクロ評価

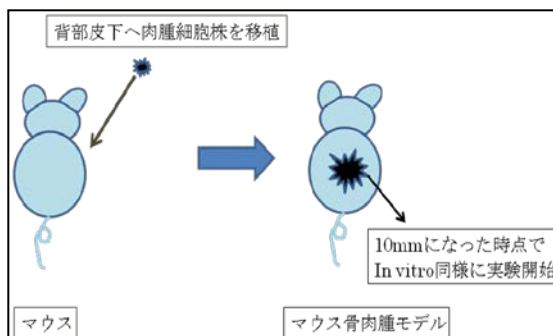
腫瘍サイズを経時的に測定する。

b. 顕微鏡的評価

マウスを屠殺後、背部病巣部の壊死率など病理組織学的検討を行った。また骨肉腫は肺への転移が約 90% と占めていることから、肺転移の各群間における個数のカウントを行うことにより、肺転移への抑制効果も合わせて検討を行った。

c. マウスの生存率を改善するかどうかの検討

マウス背部皮下に移植した腫瘍にそれぞれの処置を行った後、そのままマウスを生存させ、抗腫瘍薬投与+電磁場暴露群において生命予後の改善が得られるのかどうかを検討する。



4. 研究成果

1) In Vitro における交流電磁場下薬物療法の治療効果の検討

MTS assay では無処置群と比較して、電磁場暴露群では cell viability に有意差を認めなかったが、アドリアマイシン投与群と、交流磁場暴露下アドリアマイシン投与群で有意に低下した。しかしアドリアマイシンを投与したこれら2群間に有意差は認めなかった。アドリアマイシン濃度を現在 $0.1\mu\text{M}$ から $3\mu\text{M}$ までの濃度設定を行い、各濃度で電磁場暴露による効果がどのように影響するのかを検討中である。

2) マウスを用いた In Vivo での交流磁場下薬物療法の効果

背部に移植した腫瘍の増大率は In vitro と同様にアドリアマイシン投与群と、交流磁場暴露下アドリアマイシン投与群で有意に低下した。しかしアドリアマイシンを投与したこれら2群間に有意差は認めなかった。ア

ドリアマイシンは当初 $10\mu\text{g/g. b. w}$ を腹腔内投与したが、上記結果を受けて、濃度設定を $4\mu\text{g/g. b. w}$ から $12\mu\text{g/g. b. w}$ と変更して行ったが同様の結果であった。そこで現在電磁場の暴露のタイミングを考慮中である。上記の手技はアドリアマイシン投与後1時間で磁場を発生させている。投与の手技と電磁場発生のための準備のため、若干のタイムラグが生じるが、できる限りこの間隔を短くする、つまりほぼ同時にアドリアマイシンと電磁場暴露を行うことで相乗効果が期待できるものと考え、現在効果を確認中である。相乗効果が得られた段階で、長期にマウスを生存させ、生命予後に対する影響を検討していく予定である。

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1件)

• A novel hyperthermia treatment for bone metastases using magnetic materials.
Matsumine A, Takegami K, Asanuma K, Matsubara T, Nakamura T, Uchida A, Sudo A.
Int J Clin Oncol 2011;16(2):101-108.

査読あり

[学会発表] (計4件)

1. A minimally invasive surgery for bone metastases using photodynamic therapy with acridine orange. Takao Matsubara, Katsuyuki Kusuzaki, Akihiko Matsumine, Kunihiro Asanuma, Tomoki Nakamura, Astumasa Uchida, Akihiro Sudo.
International Society for photon

dynamics in cancer 3rd symposium Oct
12-13 2012 Kyoto, Japan.

2. A minimally invasive surgery for bone metastases using the combination of photodynamic therapy and hyperthermia treatment. Takao Matsubara, Katsuyuki Kusuzaki, Akihiko Matsumine, Kunihiro Asanuma, Tomoki Nakamura, Astumasa Uchida, Akihiro Sudo. Connective tissue oncology society meeting. Nov 14-17, 2012, Prague Czech.
3. 緩和的治療としての転移性骨腫瘍に対する
アクリジンオレンジ療法および磁性体温熱
併用療法 松原孝夫 楠崎克之 松峯昭彦
浅沼邦洋 中村知樹 須藤啓広 第120回中
部日本整形外科学会 2012年4月
6-7日 大阪
4. 転移性骨腫瘍の治療 良好な成績を得るた
めに 磁性体温熱療法による骨転移治療
松峯昭彦 浅沼邦洋 松原孝夫 中村知樹
内田淳正 須藤啓広、第120回中部日本整
形外科学会 2012年4月6-7日
大阪

6. 研究組織

(1) 研究代表者

中村 知樹 (NAKAMURA TOMOKI)

三重大学・医学部附属病院・助教

研究者番号： 50467362