

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 24 日現在

機関番号：37111

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2012～2014

課題番号：24650303

研究課題名(和文)電磁波の生体への有効利用の研究

研究課題名(英文)The mechanism of apoptosis induction by composite electromagnetic waves.

研究代表者

内田 俊毅 (UCHIDA, Toshiki)

福岡大学・医学部・講師

研究者番号：00330910

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：神経細胞にアポトーシスを誘導した電磁波は、FFT解析によって数種類の高周波の複合波形であったことが分かった。そしてアポトーシス誘導のメカニズムは、細胞内小器官の傷害で引き起こされていることが確認された。さらに電磁波が水晶体の細胞構造を崩壊させ、白内障を引き起こしていることが、豚眼の実験で証明されたため、白内障を防止する方法が将来見つかるかもしれない。また正常細胞と癌細胞での電磁波の感受性を比較解析したが、正常細胞は細胞増殖が阻害されたが、癌細胞では逆に細胞増殖が増大した。これより癌細胞の細胞内小器官が強い抗酸化作用を有していることが示唆され、将来の癌治療に貢献できると思われる。

研究成果の概要(英文)：FFT analysis demonstrated that the electromagnetic waves that induced apoptosis in neurons were complex waveforms with various high frequencies. It was also confirmed that the mechanism for electromagnetic wave apoptosis induction was caused by damage of intracellular organelles. Furthermore, the fact that an experiment using porcine eyes proved that electromagnetic waves cause collapse of the crystalline lens cellular structure, leading to cataracts, revealed possibilities for finding a method of preventing cataracts in modern society, in which many electromagnetic waves abound. We also analyzed electromagnetic wave sensitivity in a comparison of healthy and cancer cells. Electromagnetic radiation impeded cell proliferation in healthy cells but actually increased cell proliferation in cancer cells. This suggests that the intracellular organelles of cancer cells have strong antioxidant action, and this finding could contribute to cancer treatment in the future.

研究分野：超音波癌治療、電磁波作用、生理学、血液学

キーワード：apoptosis 電磁波作用 電磁場 白内障 抗酸化作用 音響化学療法 光線力学的治療 超音波

1. 研究開始当初の背景

電磁波の決定的な報告のない中、J. Schimmelpfengらの神経細胞の形質変化を誘導した報告(2005)や、A.Sodaらの骨芽細胞のコラーゲン産生が高まる報告(2008)など、細胞増殖や生存、形質変化、アポトーシス、血管新生、転移、浸潤に関連するERKやPI3KやP38などのpathwayの解析の論文が序々にではあるが報告されてきた。しかし、電磁波の細胞・生体への効果に関して、ブレークスルーとなるような決定的な報告は未だない。

我々は、以前より、光感受性物質を超音波で励起し、殺細胞効果を得る実験について、Lancet(1997、1999)等の学術誌に発表してきた。さらに、白血病移植マウスを用いたin vivoの実験によって、音響化学療法が有意に生存率を延長させることを証明した(2005)。

超音波による光感受性物質の励起については、光より極端にエネルギー準位の低い超音波で、なぜ光感受性物質が励起されるのか、キャビテーション崩壊時のhot spotによる影響の可能性等のSuslick(1992)を始め諸説あるが、未だ明確な結論に至っていない。

我々は、超音波によって生成されたキャビテーションが二次的に電磁波を発生しているのではないかと考え、白血病細胞にテスラコイルを使ったメガヘルツレベルの電磁波照射実験を行ったところ、電磁波のみで殺細胞効果を非常に弱いながらも確認したため、細胞に対して電磁波によるアポトーシスを含めた何らかの影響が存在するのではないかと考え、実験を開始した。そして今回、我々は、trail and errorの末、劇的とも言える強力な変化を呈する電磁波発生装置の作製に成功したため、アポトーシスを誘導する原因波形を解析し、そのメカニズムを解明することを試みた。

2. 研究の目的

我々は、今回、微弱な電磁波で容

易に細胞へアポトーシスを引き起こすパイロット実験に、世界で初めて成功することができた。今までこれほど劇的な結果が導き出された報告はなく、今後の電磁波の細胞・生体への効果に関する新たな知見となると考え、そのメカニズムを解明すべく、実験目標を策定した。

まず、アポトーシスを誘導する電磁波がどういう成分周波数を発生しているのかをFFT測定器で解析し、さらに、成分周波数をセパレートして、アポトーシス誘導の原因周波数を特定する。

次に、電磁波照射によってアポトーシスを誘導するメカニズムを、細胞内小器官、シグナル伝達経路について解明する。

そして、電磁波照射に対する正常細胞や癌細胞の、感受性や影響について実験し、癌細胞への効果や癌増殖のメカニズムについて検討する。

最終的に、アポトーシスと細胞増殖は相互にバランス関係にあるため、両者をコントロールすることで、将来、癌増殖抑制や癌細胞の正常細胞への分化誘導などの癌治療、万能細胞の分化誘導による臓器再生、細胞分裂増強効果などによる臓器、神経・骨・皮膚の組織再生、及び創傷治癒促進効果など、将来、応用できる可能性が高いため、臨床応用を前提とした電磁波照射装置を開発する。

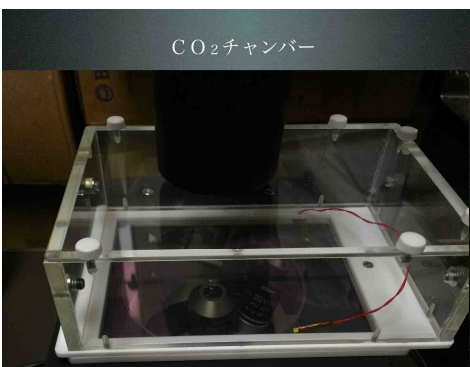
3. 研究の方法

電磁波照射装置の電磁波成分を解析し、電磁波のどの成分が細胞にアポトーシスやネクローシスを引き起こしているのか、さらにviabilityや細胞内小器官の活性について、Annexin Vやpropidium iodide、trypan blueや蛍光染色法を使用して解析する。またシグナル伝達系の阻害剤を用いて、そのpathwayを解析する。

タイムラプス撮影による経時的形態学的変化や、電子顕微鏡による細胞内変化を捉える。



専用顕微鏡と CO₂ チャンバー
専用撮影カメラ



温度調節機能付き CO₂ チャンバー



装置全体
ガス微量調節弁、CO₂ チャンバー
チャンバー内温度調節器等

正常細胞や癌細胞の電磁波に対する感受性の違いを確認し、アポトーシス、細胞増殖、および細胞分化に関して、どのような pathway が働いているのかを解析し、その役割を探索する。

主に神経細胞 (PC-12)、ヒトグリオーマ細胞 (U-87MG、ヒトの悪性の脳腫瘍)、胃癌 (MKN-45)、大腸癌

(Colon26)、その他を使用し、接着細胞はコラーゲンタイプIをコーティングした直径 3.5cm のシャーレに培養。浮遊細胞は、単層培養して同シャーレ内の培養液に浮遊させて電磁波を照射してコントロールと比較検討する。

これらシャーレをインキュベーター内の電磁波発生装置の四角 (2 × 5cm) のコイル上、または照射装置の横に静置し、同インキュベーター内で電磁波を照射する。照射時間は0、24、48、72時間とする。



電磁波発生装置と培養シャーレ

実験中に発症した実験者の原因不明の急性白内障の電磁波誘因の可能性について、豚眼の水晶体単体に対する電磁波照射の影響を、経時的に確認する。

4. 研究成果

我々の開発した、アポトーシスを誘導する電磁波発生装置から放射されている電磁波成分について、まず、X線、γ線、β線レベルの電磁波が出ていないことを確認した。

放射線レベル？



アロカTCS-161

γ線(X線も含む)

back groundと変わらず



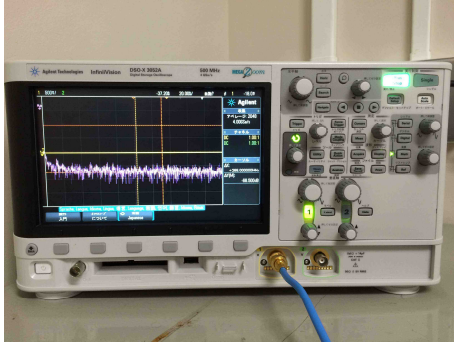
アロカTGS-136

β線

back groundと変わらず

さらに、オゾンの発生の有無に関して、シャーレ内培養液中の溶存オゾン濃度の測定を行ったが、電磁波照射72時間後においても、オゾンは検出できず、オゾンの関連性はないと思われる。

最終的に、高速フーリエ変換によって、電磁波の構成成分を分離することが可能なFFT測定器で電磁波の成分分析を行った。



使用したFFT(高速フーリエ変換)測定器



使用した各種アンテナ

測定の結果、数種類の高周波の複合電磁波が、細胞にアポトーシスを誘導していることを確認した。

しかし、成分解析した周波数を、フィルターを介してセパレートすることができず、直接、装置を使用して、成分分離した照射実験をすることができないことがわかった。



銅製ネットを用いたfilterの一例

また、実験者の白内障発生もあり、照射実験は専用の実験室で行っていたが、実験者が照射実験を遠隔操作することができず、そのため実験者の周囲や背後に回り込む電磁波をまったくプロテクトできない困難な状況に向き合う事となった。

さらに実験開始当初、想定していた周波数よりも2-3桁周波数が高周波であったため、解析した波形データから造波するための装置を新たに準備する必要が生じてしまった。しかし、造波装置が数百万円以上の高額で、且つ、また汎用性のない特殊な装置であったため、造波して成分周波数を用いた実験を継続することは、實際上、不可能となってしまった。

そのため、以後の電磁波照射実験は、複合電磁波としての効果を、解析、継続することとした。

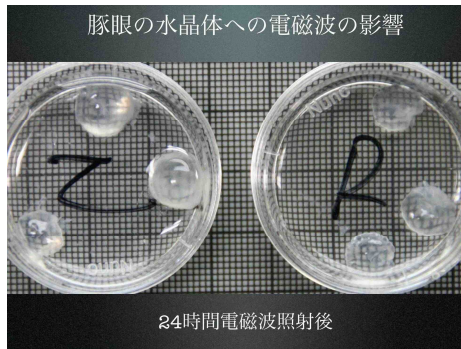
最終的に、複合周波数の電磁波によるアポトーシスのメカニズムについては、細胞内小器官への酸化による傷害を引き起こしてアポトーシスを誘発していることが、福岡大学理学部塩路先生との共同実験で確認された。

また、今回の電磁波照射によって、正常神経細胞株の細胞増殖は抑制されたが、神経芽細胞株(癌細胞)では、細胞増殖が亢進した。このことは、癌細胞が正常細胞よりも細胞内小器官の抗酸化作用が強力である可能性が示唆され、今後の癌治療への応用が期待される。

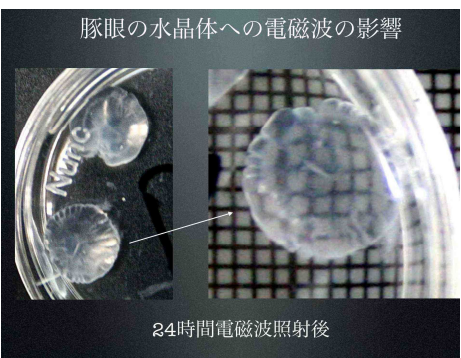
さらに今回、実験者の急性白内障の発症から、水晶体への電磁波の影響について、豚眼の水晶体を用いて検討した。

豚眼の水晶体単体を、培養液を入れたシャーレ内に静置し、電磁波照射を行った。

電磁波照射24時間後には、著明にコントロールとの差が生じ、水晶体は内部組織構造の変性によって、軟化、扁平となった。

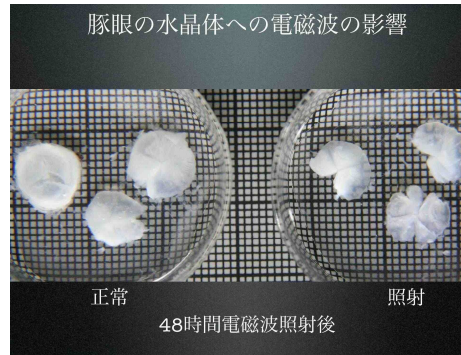


左側がコントロール群
右側が電磁波照射群
(培養液を PBS に置換して撮影)



電磁波照射群の拡大

48時間後には、電磁波照射群で水晶体の核に当たる中心部に混濁を生じ、摘むと容易に細かく分離してしまった。



電磁波照射によって、豚眼での水晶体の組織構造の変性、及び白内障誘発を強く引き起こしていることが確認された。このことは、多くの電磁波が飛び交っている現代社会において、白内障の発症原因を究明する上で、検討すべき現象と思われる。

これまでの実験結果より、複合電磁波が、細胞にアポトーシスを誘導することや、そのメカニズムを解明できた。今後、さらに、詳細な pathway、及び電磁波効果をコントロールすることが可能となるべく、実験を推し進めていく予定である。

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 0 件)

〔学会発表〕(計 0 件)

〔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：
出願年月日：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等 なし。

6. 研究組織

(1) 研究代表者

内田 俊毅 (UCHIDA Toshiki)

福岡大学医学部講師

研究者番号： 00330910

(2) 研究分担者

立花 克郎 (TACHIBANA Katsuro)

福岡大学医学部教授

研究者番号： 40271605

(3) 連携研究者

小川 皓一 (OGAWA Koichi)

福岡大学医学部准教授

研究者番号： 60078780