

交流磁界曝露による細胞への抗がん剤取り込み量および細胞生存率への影響

松居大輔、柿川真紀子、山田外史
(金沢大学)

Effect of magnetic fields on anticancer drug uptake to human cells and cell viability

D. Matsui, M. Kakikawa, S. Yamada

(Kanazawa University)

はじめに

磁界曝露により大腸菌において薬剤作用が増強されたことをうけて、ヒトのがん病巣に磁場曝露することにより標的部位の薬剤作用を高め、投薬量の減少が可能となれば、副作用も抑えられ、磁場によるがん標的薬剤療法の確立が期待できる。また、大腸菌の場合には、磁場曝露により薬剤の細胞内への取り込み量が増加し、その結果として薬剤作用が高まったことが実験的に示唆されている。本研究ではヒト細胞への薬剤作用への交流磁界の影響メカニズムの解明を目的とし、抗がん剤の取り込み量と細胞生存率への磁場影響評価を行ったので報告する。

磁界発生装置および実験方法

今回、実験対象としてヒト細胞 A549 株 を使用した。A549 は付着細胞でディッシュに付着して増殖を繰り返すことから、細胞生存率の交流磁界影響の評価方法にはコロニーアッセイ法を用いた。

細胞内への薬剤取り込み量の測定については、抗がん剤ドキソルビシンの場合、蛍光(excitation : 485 nm、emission : 590 nm)を有しているため、培地へドキソルビシン添加、反応後、磁場曝露群および非曝露群それぞれの培養液(細胞外に残るドキソルビシン含む)を取り出し、細胞内に入ったドキソルビシンの蛍光をプレートリーダーで計測する。一方、抗がん剤シスプラチンはドキソルビシンのような蛍光特徴を持たないため、細胞内への取り込み量を物質質量として計測するのではなく、細胞内に入った薬剤の作用および細胞外(培養液)に残る薬剤作用を細胞生存率から測定した。具体的には細胞ディッシュの培養液にシスプラチンを添加し、反応後、磁場曝露群および非曝露群それぞれの培養液を取り出し、細胞はそのディッシュ上でコロニーアッセイを行い(細胞内へ取り込まれたシスプラチンによる生存率)、取り出した培養液は別の新しい細胞ディッシュに添加し、反応後(どちらの群も非曝露で)その細胞の生存率を測定し、細胞外に残るシスプラチンを測定した。

実験結果および考察

ヒト肺がん細胞 A549 株に抗がん剤シスプラチンを 10 $\mu\text{g/mL}$ 添加したときの磁場曝露群および非曝露群の 0~4 時間反応の生存率(細胞内に入ったシスプラチンによる)を Fig.1 に示す。Fig.1 より抗がん剤シスプラチンを添加すると同時に交流磁界を曝露することで細胞生存率は減少し、4 時間反応では曝露群は非曝露群に比べ細胞生存率は 70%減少し、薬剤作用が増強されていることがわかる。

今回、ヒト肺がん細胞株 A549 において反応時間により交流磁界影響が異なることが確認できた。しかし、現在なぜ交流磁界曝露により抗がん剤作用が増強されるか不明な点が多い。今後、細胞内に取り込まれた薬剤量について検討を行う。

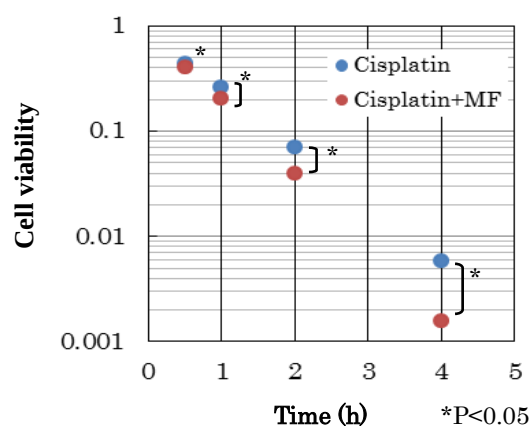


Fig.1 Effect of magnetic fields on Cisplatin potency (intra cellular)

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

大野洋靖, 柿川真紀子, 山田外史
(金沢大学)

Effect of magnetic field on anticancer drug in multidrug-resistant cancer cells

H. Ohno, M. Kakikawa, S. Yamada
(Kanazawa University)

はじめに

これまで当研究室では、大腸菌およびヒトがん細胞に対する薬剤作用が交流磁界影響によって増強されることを確認した。また、薬剤作用の増強度は細胞によって異なることも確認され、その増強度は大腸菌が大きかった。大腸菌とヒトがん細胞では細胞膜の構造が異なることが知られている。一方、臨床では、多くの抗がん剤が効かなくなるがん細胞が出てくるケースがあり、これらは薬剤を排出する膜タンパク質を含め、細胞膜構造やその機能の変化が原因といわれている。本研究では、多剤耐性を獲得したヒトがん細胞における薬剤作用への交流磁界影響を検討した。また、膜タンパク質は細胞の膜電位によって制御されていると考えられているため、交流磁界が細胞膜電位に与える影響についても調べた。

交流磁界影響の評価方法

まず本研究では抗がん剤の投与により多剤耐性を獲得したヒト子宮頸がん細胞 MES-SA/Dx5 を使用した。MES-SA/Dx5 はヒト子宮頸がん細胞 MES-SA に抗がん剤 Doxorubicin を投与し耐性を持つようになった細胞である。抗がん剤作用に対する交流磁界影響の評価では MES-SA/Dx5 に抗がん剤 Cisplatin を投与し実験を行った。抗がん剤を投与した細胞を曝露群、非曝露群に分け、曝露群では、37°C、5%CO₂ の環境で交流磁界(周波数 60Hz、磁束密度 50mT)を曝露し、非曝露群では、同環境下で磁界を曝露せず反応させた。MES-SA/Dx5 は接着性の細胞でありコロニーアッセイによる細胞の生存率評価が可能のため、反応後、抗がん剤を除去しコロニーアッセイにより抗がん剤作用に対する交流磁界影響を検討した。交流磁界による膜電位変化の評価方法には、同細胞 MES-SA/Dx5 に膜電位感受性色素 DiBAC₄(3)を用いた。DiBAC₄(3)は膜電位に応じて細胞膜内外に分布し、細胞内に取り込まれると蛍光強度増強を起こす。その蛍光強度の変化を測定することで交流磁界による膜電位変化を測定した。抗がん剤作用に対する交流磁界影響の評価方法と同様に、細胞を曝露群、非曝露群に分け、曝露群では同条件の交流磁界を曝露し、非曝露群では磁界を曝露せず細胞を培養した。細胞培養後、マイクロプレートリーダーにより膜電位感受性色素による蛍光強度を測定し、曝露群、非曝露群で比較することにより交流磁界影響による膜電位変化を検討した。

交流磁界影響の結果

多剤耐性細胞 MES-SA/Dx5 に抗がん剤 Cisplatin を投与した反応後の細胞生存率について、非曝露群に対する曝露群の生細胞数の相対比を Fig.1 に示す。すべての薬剤濃度で相対比が 1 より小さいことから、磁界により薬剤作用が増強されることが明らかとなった。また、薬剤濃度が大きくなるほど交流磁界影響が大きくなる傾向が確認できた。現在、交流磁界による膜電位変化について検討している。

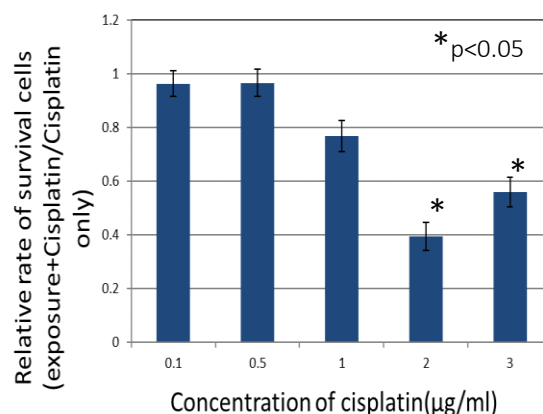


Fig.1 Effect of magnetic fields on cisplatin in multidrug resistant cells

MgFe₂O₄ ナノ粒子の合成と交流磁場下での発熱による ヒト乳がん細胞の死滅誘導

金津真帆, 松田翔風, 中西卓也, 柏俣佑果, 門間聰之, 逢坂哲彌
(早稲田大学)

Synthesis of magnesium ferrite nanoparticles and their induction of cell death in human breast cancer cells at elevated temperature under alternating magnetic field

M. Kanazu, S. Matsuda, T. Nakanishi, Y. Kashimata, T. Momma, T. Osaka
(Waseda Univ.)

はじめに

MgFe₂O₄ は、粉体において他のフェライトより高い発熱効率が報告され^{1,2)}、生体に対し安全性の高い元素のみで構成されているため、磁気ハイパーサーミアの発熱体として期待できる。MgFe₂O₄ ナノ粒子の合成にはゾル-ゲル法や燃焼合成法等による報告例が数多く存在し、磁気ハイパーサーミアへの応用も検討されているが、MgFe₂O₄ ナノ粒子ががん細胞に及ぼす影響を議論している報告は少ない。本検討では、MgFe₂O₄ ナノ粒子を合成し、ヒト乳がん細胞を用いて磁気ハイパーサーミアの発熱体としての可能性を評価した。

実験方法

モル比 1:2 で混合した MgCl₂·6H₂O と FeCl₃·6H₂O を含む水溶液を NaOH と反応させて得られた前駆体を、大気雰囲気下で熱処理 (800 °C, 保持時間 10 分) することで MgFe₂O₄ ナノ粒子を作製した。熱処理は、昇温速度約 20 °C/min・降温速度約 6 °C/min の条件と急速加熱 (約 260 °C/min)・急速冷却 (約 140 °C/min) 条件で行った。得られた粒子を添加した培地でヒト乳がん細胞 MCF-7 を 24 時間培養した後、粒子添加に伴う死滅率と粒子を取り込んだ細胞の割合を、フローサイトメトリーによりそれぞれ評価した。また、1 細胞あたりの粒子取り込み量を鉄錯イオンの吸光度測定により評価した。粒子発熱の効果の評価は、粒子を取り込んだ細胞のみを磁気分離し、交流磁場 (磁場強度約 500 Oe, 周波数 325 kHz) を 20 分間印加した際の細胞懸濁液の温度変化および細胞死滅率を測定した。

実験結果

XRD パターンおよび TEM 像よりいずれの熱処理条件でも一次粒径が約 40 nm である MgFe₂O₄ ナノ粒子の生成が示されたが、急熱急冷処理で得た粒子のほうが 70 kOe における磁化が高く (Fig. 1)、粒子分散溶液の交流磁場下での到達温度も高くなった。これは急冷により A サイトに占める Mg²⁺の割合が上昇したため³⁾だと考えられる。この急熱急冷粒子を用いて細胞実験を行ったところ、粒子添加 (磁場印加なし) に伴う MCF-7 の細胞死滅率は、添加量の増加に伴い若干増加する傾向にあるものの 10 %未満であった。また、粒子 5 mg 添加時には、1 細胞あたり 3 ng の粒子が取り込まれ、交流磁場下での粒子発熱に伴う 53 °C までの温度上昇により約 90 %の細胞死滅率が得られた (Fig. 2)。以上より、急熱急冷処理による発熱効率の高い MgFe₂O₄ ナノ粒子合成と、それらを取り込んだ MCF-7 への交流磁場印加による効率的な細胞死滅の誘導が示された。

参考文献

- 1) T. Maehara et al., *J. Mater. Sci.* 40 (2005) 135-138.
- 2) M. Jeun et al., *Appl. Phys. Lett.*, 95 (2009) 082501.
- 3) Y. Ichiyanagi et al., *J. Magn. Magn. Mater.* 310 (2007) 2378-2380.

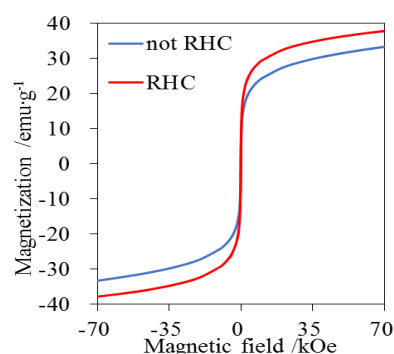


Fig. 1 Magnetization curve of synthesized MgFe₂O₄ nanoparticles. RHC: Rapid heating and cooling.

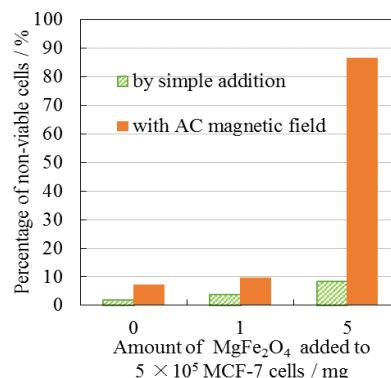


Fig. 2 Percentage of non-viable MCF-7 cells at various doses of RHC MgFe₂O₄ nanoparticles before (shaded) and after (filled) AC magnetic field application.

充電式心臓ペースメーカを想定した矩形波ワイヤレス電力伝送の検討

佐藤拓, 伊藤敦弥*, 加藤立太*, 轡田拓也*

(仙台高専 電気システム工学科, *仙台高専 専攻科)

A Study of the Wireless Power Transmission Used Square Wave Supply For Rechargeable Cardiac Pacemaker

Taku Sato, Atsuya Ito*, Ryuta Kato* and Takuya Kutsuwada*

(Department of Electrical Engineering, National Institute of Technology, Sendai College,

*Advanced Course Production System and Design Engineering, National Institute of Technology, Sendai College)

1. はじめに

徐脈性不整脈の治療として絶大な治療効果をもたらす臓ペースメーカは体内植込機器として有名であるが、電池消耗に伴って外科手術により本体ごと取り替える必要がある。そこで我々は電磁誘導によるワイヤレス給電を採用した電池交換不要のペースメーカを開発し、電池残量を体外から計測するシステムを提案している^[1]。本稿では新たな試みとして、交流波形として正弦波ではなく矩形波を用いた場合のワイヤレス電力伝送について考察したので報告する。

2. 実験方法

2.1 正弦波および矩形波でのワイヤレス電力伝送の比較

Fig.1の実験回路において、ファンクションジェネレータ(FG-281)により 10kHz の正弦波、矩形波(duty 比 10-90%)を生成してアンプで増幅し、送電コイルへ印加する。そのときの伝送効率 η 、力率 λ_1 、受電電圧 V_2 、受電電力 P_2 を測定し比較する。また、同様の実験を 1 次および 2 次側共振コンデンサ C_1 、 C_2 有無の条件で行う。測定にはパワーアナライザ(PZ 4000)を用いた。

2.2 RLC 直列共振回路での挙動

矩形波を用いたワイヤレス電力伝送の挙動がワイヤレス給電に特有な現象であるかを確認するために、RLC 直列共振回路を構成し、10kHz 矩形波(Duty 比 10-90%)を印加した場合に各測定パラメータがどのような特性を示すかを確認する。実験装置は 2.1 と同じである。

3. 結果および考察

3.1 正弦波および矩形波でのワイヤレス電力伝送の比較

Fig.2 に測定結果を示す。矩形波において効率は duty によらずほぼ一定であり、力率 λ_1 と受電電圧 V_2 、受電電力 P_2 は Duty 比 50% を極大としてそこから離れるにつれ減少する特徴的な傾向が確認された。

共振コンデンサ有無でのワイヤレス給電において、 C_1 の有無により伝送特性が大きく異なることが分かった。 C_1 有では Fig.2 と同様の傾向を示すが、 C_2 無しでは Duty を変えても受電電力は一定のままであった。

矩形波で電力伝送が可能であった理由として、矩形波はフーリエ級数展開することで様々な正弦波の重ね合わせで再現できるため、電気回路においても正弦波電圧の重ね合わせが成立したと考えられる。

$$f(\theta) = \frac{4}{\pi} \left(\sin\theta + \frac{1}{3}\sin3\theta + \frac{1}{5}\sin5\theta + \dots \right) \quad (1)$$

(1)式は duty50 の矩形波をフーリエ級数展開したものであるが、各高調波成分による受電電力を見積もると、

全受電電力に対して約 4% しか占めていないことが分かった。これはすなわち、高調波の影響が限りなく小さく、基本波でのワイヤレス電力伝送と同等の電力が伝送されたものと考察できる。

3.2 RLC 直列共振回路での挙動

RLC 直列共振回路に矩形波 (Duty 比 10-90%) を印加した結果、Duty 比によらず効率は常に一定で、受電電力と 1 次力率は Duty 比によって変化することが分かり、ワイヤレス電力伝送回路での伝送特性と類似した傾向を示した。この結果より、Fig.2 の特性はワイヤレス電力伝送に特有なものではなく、RLC 共振系に見られる興味深い特性であることが確認された。

謝辞 本研究は JSPS 科研費 26350687 の助成を受けたものである。

参考文献

[1] T. Sato, F. Sato, H. Matsuki, T. Sato, J. Magn. Soc. Jpn., Vol.32, No.1, pp29-35, 2008

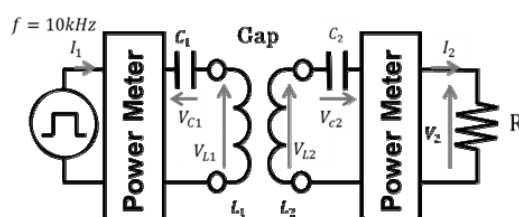


Fig.1 Experiment circuit.

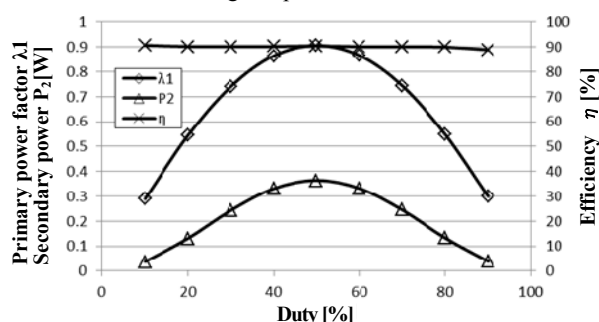


Fig.2 Electrical parameters of wireless power transmission used sine wave supply or square one.

ヒト磁気知覚の可能性と現状

高橋康介
(中京大学)

Feasibility of magnetoreception in human
K. Takahashi
(Chukyo University)

1 ヒト磁気知覚研究の歴史と背景

多くの動物は地磁気を感じナビゲーションなどに利用していると言われるが、ヒトが磁気感覚を有しているかどうかについては結論は出ていない。認知心理学の分野では1980年代にBakerら^{1,2)}がヒトの地磁気利用の可能性を示す実証研究データを公表したものの、その後の検証はなされていない。現在においても、ヒトの磁気知覚の神経生理学的及び認知的メカニズムは、そもそも可能であるのかという点も含め謎のままである。

しかしながら、生物学的研究からはヒト生体で磁気を感じるセンサーの存在が示唆されている。1990年代には脳内マグネタイトの存在を示す報告があった³⁾。また動物の磁覚はフラボタンパク質であるクリプトクロム(CRY)によっても受容されていることが示されているが、ヒトもhCRY2タンパク質を持っており、その発現は網膜に集中している。2000年代以降、遺伝子改変技術によりhCRY2の実効性が確認されている。Foleyら⁴⁾は遺伝子改変によりハエのCRY1を不活化させた。この操作でハエの磁覚は失われたが、その後さらに遺伝子導入を行いハエにhCRY2を発現させたところ磁覚が回復した。この発見はヒトが磁気を受容するセンサーを網膜に大量に有するという事実を端的に示すものである。このようにマイクロレベルでの磁気受容センサーの存在が示唆され、この中でヒト磁気知覚の可能性が(一部のヒト研究者の中で)再燃している。しかし認知心理学的な観点から言えば、センサーを持つことと、センサーが受容するモダリティの情報を主観的に知覚できることは等価ではない。センサーが受容した信号の脳への伝達、及びその信号が持つ情報についての脳内の知覚・認知処理を経て初めて、主観的・意識的な知覚経験が可能となる。たとえ網膜や脳内に磁気受容物質があったとしても、経験的には我々自身は磁気を知覚しているようには感じていない。これには、磁気由来の信号が網膜から脳に到達していない可能性、或いは磁気信号は脳に到達しているが脳が磁気由来情報をノイズとして処理している。可能性、の二通りが考えられる。

2 現状と展望

このようなマイクロレベルの生体磁気受容の研究を受けて、現在ではヒト磁気知覚の可能性を検討している研究グループは著者の知る限り世界で2グループある。眞溪、下條、KirschvinkらはHuman Frontier Science Program (HFSP)の支援のもと、マグネタイトに注目しヘルムホルツコイルで発生させた地磁気様の磁気変化に対する脳神経細胞の反応を脳波計により測定し、磁気刺激に相関する脳活動を見出している⁵⁾。一方、高橋はhCRY2に着目し、発現が集中している網膜付近に1から2Hz程度の周期的な磁気刺激を呈示し、ヒトが意識的に磁気存在に気づけるかどうかを検証している。これまで数10名程度の被験者に対して磁気変化への意識的な気づきが生じるかどうかを調べているが今のところ明確に磁気変化に気づいている被験者は存在していない。また、仮に脳が磁気由来情報をノイズとして処理していると仮定すると、何らかの手法でこれをシグナルとして処理させる必要がある。そこで聴覚刺激(音)と磁気刺激の同期した周期変化をヒトに対して呈示して、ヘップ学習様の相互増強を用いた磁気情報の知覚シグナル化を目指した。これも現在のところ少数サンプルであり、主観的磁気知覚の明確な証拠は得られていない。

以上のことから、磁気センサーとなる物質がヒト生体には存在していて、脳神経細胞が磁気刺激に反応している可能性も示されつつある。しかし行動に利用可能なシグナル(例えば警報装置)として磁気刺激が機能しうるか、という点に関しては明確な結論は得られていない、という点が現状であろう。30年前に比べてマイクロレベルでの研究が進められ、またヒト計測の技術も進み、磁気知覚が決して夢物語ではない、ということは(両グループの研究がレビュー付きの公的な研究費の支援により実施されている点を考慮しても)間違いないだろう。ヒト磁気知覚は科学的意義もさることながら、その応用範囲も広い。残された主観的磁気知覚という課題に向けて、磁気の専門家とヒトの専門家の協力体制のもと磁気知覚を可能とする学習手法の開発が切望される。謝辞 本研究は科学研究費補助金(挑戦的萌芽研究 26640006「ヒトにおける磁気感覚の検討」)の補助を受けた。本研究を進めるにあたり有益な議論をしてくださった東京大学工学部眞溪歩准教授に深く感謝いたします。

References

- 1) R. R. Baker, "Goal orientation by blindfolded humans after long-distance displacement: Possible involvement of a magnetic sense," *Science*, vol. 210, no. 4469, pp. 555-557, 1980.
- 2) —, "Human navigation and magnetoreception: the manchester experiments do replicate," *Animal behaviour*, vol. 35, no. 3, pp. 691-704, 1987.
- 3) J. L. Kirschvink, A. Kobayashi-Kirschvink, and B. J. Woodford, "Magnetite biomineralization in the human brain," *Proceedings of the National Academy of Sciences*, vol. 89, no. 16, pp. 7683-7687, 1992.
- 4) L. E. Foley, R. J. Gegear, and S. M. Reppert, "Human cryptochrome exhibits light-dependent magnetosensitivity," *Nature communications*, vol. 2, p. 356, 2011.
- 5) A. Matani, S. Shimojo, and J. L. Kirschvink, "An attempt to physiologically measure human magnetoreception," in *Neuroscience 2015*, 2015.