

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の影響評価

遠藤裕哉、松居大輔、山田外史、柿川真紀子
(金沢大学)

Effects of magnetic fields on anticancer drug potency and
drug uptake to multidrug-resistant cancer cells

Y. Endo, D. Matsui, S. Yamada, M. Kakikawa.

(Kanazawa University)

はじめに

大腸菌における先行研究において、交流磁界曝露により薬剤の作用が増強された。また、その薬剤作用増強が、薬剤取り込み量増加によりもたらされていることが確認されている。以上を受け、現在、臨床において問題視されている、多剤耐性のがん細胞に対し、交流磁界を曝露することにより、抗がん剤の作用が増強されるか検証する。さらに、その作用増強は、薬剤取り込み量増加に起因するものか検証することを目的とし、交流磁界曝露下でのがん細胞に対する、抗がん剤作用への影響評価を行ったので報告する。

実験材料および実験方法

本実験で使用した細胞株は、ヒト子宮肉腫細胞株 MES-SA/Dx5 と呼ばれる多剤耐性細胞株である。この細胞株は、本実験で使用した 90 mm ディッシュに接着して増殖する。実験で使用した抗がん剤は、先行研究において、交流磁界存在下で細胞株 A549 に対し、作用増強が確認された、シスプラチンと呼ばれるプラチナ製剤を使用した。実験では、FBS を 10% 含む培地中に細胞を播種した後、シスプラチンを添加し、交流磁界 (60 Hz, 50 mT) を曝露しながらシスプラチンを反応させることにより、使用した細胞株に対するシスプラチン作用への交流磁界の影響を評価した。抗がん剤取り込み量に関しては、細胞内に取り込まれなかったシスプラチン、つまり、培養液中に残るシスプラチンの薬剤作用を細胞生存率から評価した。

蛍光(excitation : 485 nm、emission : 590 nm)を持つ抗がん剤ドキシソルビシンを、ヒト子宮肉腫細胞株 MES-SA/Dx5 に反応させたときに、マイクロプレートリーダーで測定することで、細胞内に取り込まれた薬剤の量を直接測定した。

実験結果および考察

Fig.1 は、ヒト子宮肉腫細胞株 MES-SA/Dx5 に対し、交流磁界存在下で、抗がん剤シスプラチンを反応させたときの細胞生存率を示す。この図から、交流磁界曝露群の方が非曝露群よりも、細胞生存率が約 60% 減少していることが読み取れる。この結果から、交流磁界を曝露することにより、ヒト子宮肉腫細胞株 MES-SA/Dx5 において、抗がん剤シスプラチンの作用が増強されることが確認された。図には示していないが、培養液中に残るシスプラチン量に関して磁界曝露群と非曝露群の両者の間に、有意な差は見られなかった。この結果より、抗がん剤の取り込み量に関しては、交流磁界の影響は確認されなかった。

今回の実験では、多剤耐性ヒトがん細胞 MES-SA/Dx5 において、交流磁界を曝露することにより、抗がん剤シスプラチンの作用が増強されることが確認された。しかし、その作用増強の要因は細胞内への薬剤取り込み量の増加ではなかった。

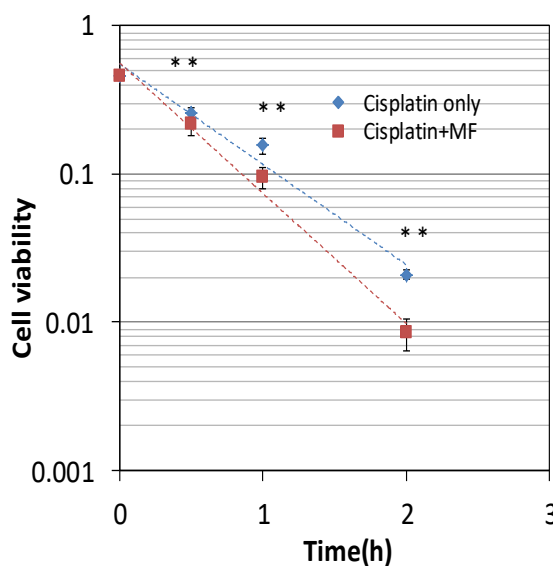


Fig.1 Effect of magnetic fields on cisplatin potency to multidrug-resistant cancer cells (**P<0.01)

磁気ハイパーサーミア用発熱体としての金めっき球体 LSMC ペロブスカイト試料の作製および発熱評価

小林正幸, 藤田健司, 赤井勇樹, 中川貴, 清野智史, 山本孝夫
(大阪大学工学研究科)

Preparation and heat evaluation of gold-plated LSMC perovskite sphere samples for magnetic hyperthermia

M. Kobayashi, K. Fujita, Y. Akai, T. Nakagawa, S. Seino, T. A. Yamamoto

(Osaka University Graduate School of Engineering)

1. 研究背景

磁気ハイパーサーミアとは、交流磁場により発熱する発熱体を体内に集積あるいは挿入して、体外からの磁場印加により発熱体周辺のみを選択的に加温し、がん組織を効果的に殺傷する治療法である。先行研究^[1]で、 $(\text{La,Sr})(\text{Mn,Cu})\text{O}_3$ (以下, LSMC)が磁気ハイパーサーミア用発熱体として有望であることを報告した。この LSMC は、キュリー点付近で自己温度制御性を示した。さらに、金めっきを施すことで生体適合性を付与している。また、金の渦電流損失による発熱も利用することで、低磁場での十分な発熱を確認している。しかし、金めっきに必要な下地ニッケル含有層による磁化が共存し、LSMC のキュリー温度以上でも発熱が残った。また、金の渦電流損による影響が大きく、キュリー温度による自己温度制御性がそこなわれた。本研究では、金めっき LSMC 球状試料にアニール処理を行い、ニッケルの磁化の影響を除去することを試みた。

2. 実験

LSMC 試料は、均一な組成の試料を得るために、錯体重合法を用いて作製した。得られた試料の組成と構造をプラズマ発光分光分析, X 線回折により評価した。磁化温度曲線を、振動試料型磁力計を用いて測定した。直径約 1 mm の球状試料に無電解ニッケルボロンめっきを行った後、金の電解めっきを行った。さらに、この金めっき球形試料を 900 °C で 24 時間アニール処理した。球状試料の温度磁化曲線(DC 500 Oe)と交流磁場中(AC 50 Oe)での昇温挙動を測定した。がん腫瘍に模した PAG(1 ml) 中に球状試料(300 mg)を挿入し、1 MHz の交流磁場を印加してゲルに光ファイバー温度計を挿入して测温し、昇温後に到達し安定した温度を観察した。

3. 結果と考察

Fig. 1 に LSMC 球状試料の磁化温度曲線を、Fig.2 に到達した温度の磁場強度依存性を示す。Fig.1 より、金めっき後はニッケルの磁化の影響が見られるが、アニール後はキュリー点付近で急激に磁化が減少し、ニッケルに起因する磁化を除去できたことがわかる。また、Fig.2 より、アニール後の試料の到達温度はキュリー温度を超えて一定となった。これは、試料のキュリー点以上でも金の渦電流損失による発熱が大きいためであると考えられる。

参考文献

[1] 赤井勇樹 他, 第 39 回日本磁気学会学術講演会, 9aE-2, 名古屋, 2015 年 9 月。

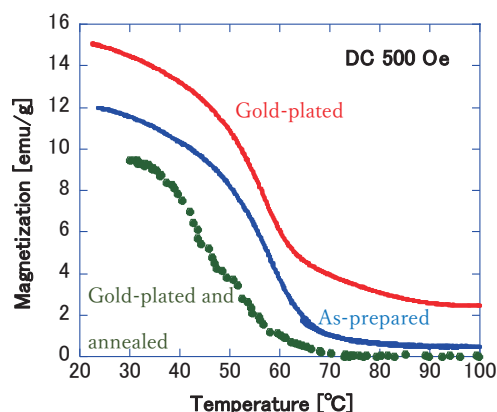


Fig.1 Magnetization-temperature curves of spherical LSMC.

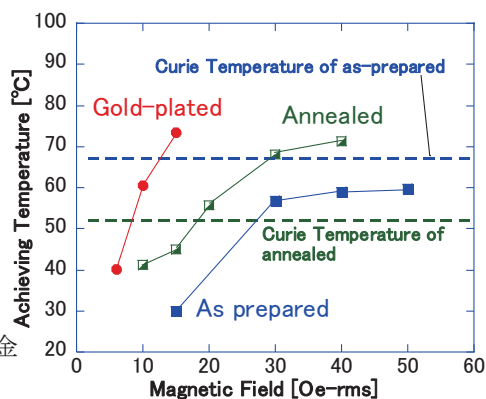


Fig.2 Dependence of achieving temperature on applied magnetic field.

磁性 PIC 会合体の液中分散と交流磁化特性の評価

史冠男¹, トリスナント・スコバグース¹, 中井啓太², 遊佐真一², 山田努¹, 大多哲史³, 竹村泰司¹
(¹横浜国立大学, ²兵庫県立大学, ³静岡大学)

Evaluation of liquid-dispersion and AC magnetization property of magnetic PIC aggregate

G. Shi¹, S. B. Trisnanto¹, K. Nakai², S. Yusa², T. Yamada¹, S. Ota³, Y. Takemura¹

(¹Yokohama National University, ²University of Hyogo, ³Shizuoka University)

はじめに

がん細胞は腫瘍細胞増殖が速く、血管が未発達であるなどの理由により冷却能力が低いため、約 42.5℃で死滅する。この特徴を利用して体外から交流磁場を印加して磁性体を発熱させ、がん細胞を死滅させる磁気ハイパーサーミア（がん温熱治療）という治療法が注目されている。PMPC₁₀₀-*b*-PMAPTAC₁₀₀(P₁₀₀M₁₀₀)はカチオン性モノマー(MAPTAC)とベタインモノマーの(MPC)で合成したジブロック共重合体である。PMPC は生体膜の親水部と同じ構造のホスホリルコリン基を側鎖結合したポリマーなので、抗血栓性を示す生体適合性有機材料として知られている¹⁾。本研究ではカチオン性の P₁₀₀M₁₀₀ で、表面がアニオン性の Fe₃O₄ ナノ粒子 (M-300：株式会社シグマハイケミカル製)を静電的にコーティングした磁性ポリオンコンプレックス(PIC)会合体(M-300/P₁₀₀M₁₀₀)の交流磁化特性の測定を行い、その結果から、発熱効率 ILP(Intrinsic loss power)を算出した。その後、未修飾の M-300 との比較を行った²⁾。

実験方法・結果

磁性 PIC 会合体(Fe₃O₄ の濃度：6.79 g/L、コア粒径：9.1±1.6 nm、二次粒径：47.8 nm)を、純水中に分散させた試料および、粒子自体の回転を妨げるためにエポキシ樹脂で固定した試料を作製し、直流磁化特性および交流磁化特性(最大磁場 4 kA/m、周波数 1-100 kHz)の測定を行った。また、交流磁化曲線から発熱効率を見積もった。

Fig. 1 に液中分散試料の 4 kA/m における直流磁化曲線を示す。M-300 に比べて磁性 PIC 会合体の磁化が小さいことが確認されたのに対して、固定試料では両者は同じ磁化が得られた。これは M-300 は磁性 PIC 会合体に比べて分散性が良く、相互作用が小さいためであると考えられる。Fig. 2 に 10 kHz における各液中分散試料の交流磁化曲線を示す。液中では高分子ミセルでコートによる液中における状態の変化から、磁性 PIC 会合体の磁化が M-300 より小さいことが確認された。発熱効率等の詳細は当日発表する。

謝辞

本研究の一部は、科研費 15H05764、17H03275 により実施した。

参考文献

- 1) K. Nakai, M. Nishiuchi, M. Inoue, K. Ishihara, Y. Sanada, K. Sakurai, and S. Yusa: *Langmuir* 2013, 29 9651-9661.
- 2) S. Ota, T. Yamada, Y. Takemura: *J. Appl. Phys.*, 117, 17D713 (2015).

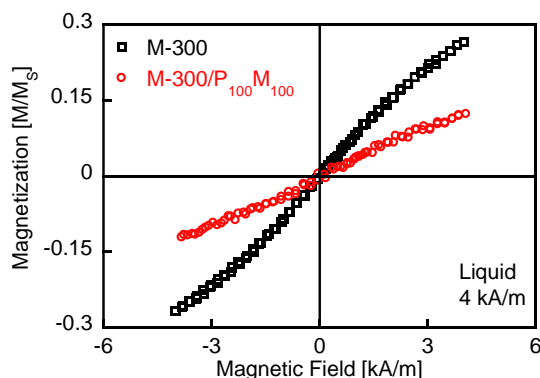


Fig. 1 DC hysteresis loops of M-300 and M-300/P₁₀₀M₁₀₀.

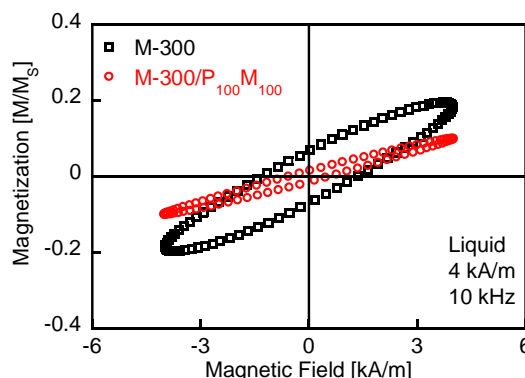


Fig. 2 AC hysteresis loops of M-300 and M-300/P₁₀₀M₁₀₀.

交流磁界による小麦の発芽影響

野瀬 幹生、大上 伸治、八田 貴、林 周*、平田 恵啓**
(岡山理科大学、*株式会社フォレストック、**北海学園大学)

Alternative magnetic fields might affect germination of wheat

T. Nose, S. Oue, T. Hatta, *A. Hayashi, **Y. Hirata

(Okayama University of Science., *Forestec Co. Ltd., **Hokkai-Gakuen Univ.)

はじめに

地球上の生物は常に地磁気に晒されており、50 μT 程度の直流磁界は生物にはまったく影響を及ぼさないと考えられている。一方で、高強度の直流磁界や交流磁界の暴露実験では生体影響や植物の発芽育成への影響が報告¹⁾されている。我々はこれまで変動磁界と植物の発芽影響に焦点をあて、どのような要因が影響を及ぼすのかを調査してきた²⁾。本報では小麦の発芽影響について報告する。

実験方法

試料には小麦(農林 61 号)の種子を用いた。種子は寒天培地を入れたシャーレ内に複数並べ、湿度 100 %を保つため密閉封入した直後に小型インキュベータ内のヘルムホルツコイルの中心に配置した。磁界は250回巻きのヘルムホルツコイルと電流制御回路で発生させ、振幅 20 μT 、周波数 1、10、100 Hz の矩形波交流磁界を暴露した。磁界の印可方向をそろえるため、シャーレは照射光の光源に赤色 LED を使い、同一の光量となるように定電流で駆動した。発芽の様子はインキュベータ内に設置した Web カメラを用いて 15 分間隔で撮影し、得られた画像から発芽に要した時間を求めた。なお発芽は根が 1 mm となった時点とした(Fig. 1)。各周波数につき 30 個の小麦の発芽観測を 6 回行った。

結果

Fig. 2 に 20 μT_{pp} 、100 Hz 矩形波の交流磁界を暴露し得られた発芽率の時間推移を示す。磁界の有無によらず実験開始から 15 時間以降で発芽が確認され、35 時間で発芽率はほぼ 100 %になった。磁界を印可しない場合 24 時間で発芽率がほぼ 50.0 %になるのに対して、磁界印可時発芽率は 28.8 %、26.5 時間では 72.6 %に対して 50.8 %の発芽率となった。これらは 1、10、100 Hz と周波数を変えても、同様の結果を示した。これらより、2.5 時間程度ではあるが交流磁界の印可により、小麦の発芽が抑制されることが確認できた。

参考文献

- 1) Massimo E. Maffei: Front. Plant Sci., 04 September 2014 | <https://doi.org/10.3389/fpls.2014.00445>
- 2) A. Hayashi *et al.*, The 39th Annual Conference on MAGNETICS in Japan | <http://www.magnetics.jp/kouenkai/2015/>

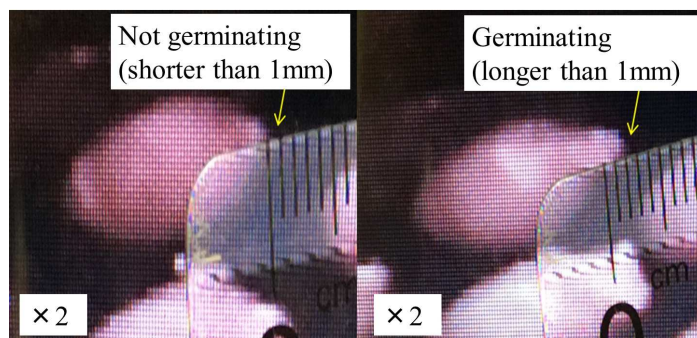


Fig.1 Photographs of the germination.

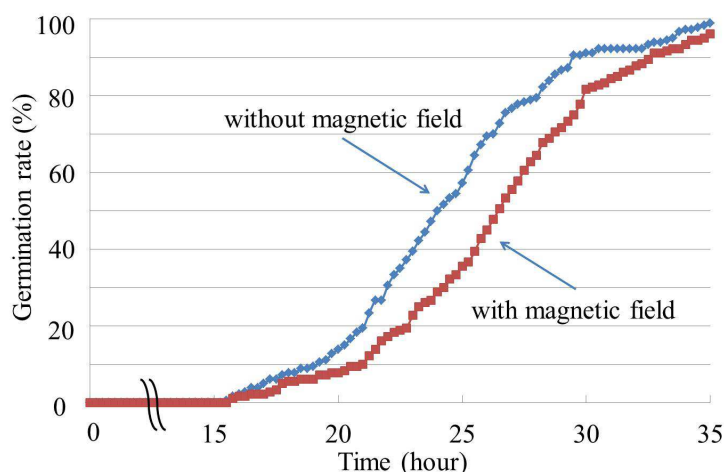


Fig.2 Effects of the magnetic field (100Hz).

空隙 50 mm の磁気ハイパーサーミア用 磁気回路型磁場発生装置の作製と磁場特性評価

長谷川 諒, 佐藤 暢彦, 中川 貴, 清野 智史, 山本 孝夫
(大阪大学大学院 工学研究科)

Fabrication and magnetic property estimation of
the 50-mm gap magnetic circuit type magnetic field generator for magnetic hyperthermia
R.Hasegawa, N.Sato, T.Nakagawa, S.Seino, T.A.Yamamoto
(Osaka University Graduate School of Engineering)

1. 研究背景

近年、がんの温熱療法の一つである磁気ハイパーサーミア療法が注目されている。磁気ハイパーサーミア療法は適切な発熱体をごん患部に挿入し、体外から交流磁場を印加することでがん患部を加温する。発熱体を挿入してがん患部だけを局所的に加温することが可能であり、正常部位への影響が少ない低侵襲な治療法である。発熱体として金属製の針や磁性バルク体、磁性流体などが検討されており、これらの多くは発熱量が磁場強度に強く依存する。そこで、発熱体が生体内のどの位置にあっても最適な温度まで上昇させるために、体内の広い領域で均一 ($\pm 5\%$) かつ高強度の交流磁場を発生できる装置が求められている。これまでに我々は、フェライトコアで磁気回路を構成した磁場発生装置の有効性を電磁場解析により示してきた¹⁾。本研究では磁極間距離が 50 mm、磁極面積が 90 mm×90 mm の装置を作製し、実際に装置を駆動させて評価を行うことで磁気回路型磁場発生装置の有効性を示す。

2. 実験

E コアを向かい合わせ中央突起部 (磁極) にコイルを巻き、中央に 50 mm の空隙を持つ磁気回路型磁場発生装置を作製した (Fig. 1)。磁気回路にはフェライト (TDK, PC40) を用いた。励磁電流を 8.2 A-rms とし、空隙中央部に 30 Oe-rms の磁場を発生させ、ピックアップコイル (断面積: 1 cm², 軸長: 1.5 mm) によって磁場強度の空間分布を測定した (Fig. 2)。また、電磁場解析ソフト (ANSYS Maxwell 3D 12) を用いて発生している磁場強度の空間分布を評価した。

3. 実験結果と考察

装置を駆動させた際、フェライトの磁気損失に起因する温度上昇は 30 分間の駆動で 14 度となった。また、フェライトの中央突起部 (磁極) の角周辺はコイルの巻き線近傍であるため磁場強度が大きくなることなど、実測と解析で磁場分布の傾向が一致した (Fig. 2)。そして、実測した磁場強度は設計目標の $\pm 5\%$ 以内の均一性を持つことが分かった。

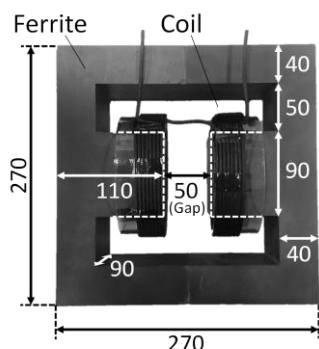


Fig. 1 Magnetic field generator.

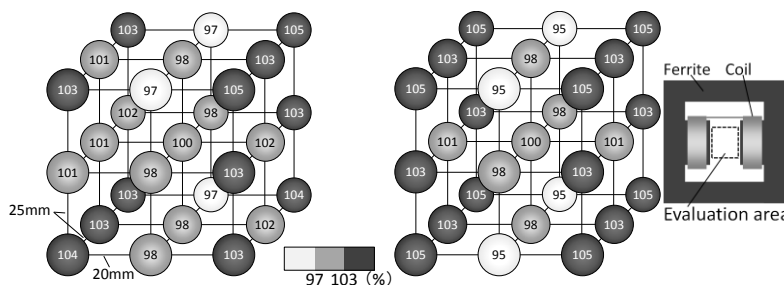


Fig. 2 Distribution of normalized magnetic field strength.
(Left: Experimental value, Right: Analytical value)

参考文献

- 1) M.Takahashi, T.Nakagawa, S.Seino, T.A.Yamamoto, "Design of magnetic circuit for radiofrequency hyperthermia", J. Magn. Soc. Jpn. 38 (2014) 102-106.

ハイパーサーミア用人体サイズコイルの磁場・電場の効果

青戸知広¹、山田努¹、大多哲史²、池畑芳雄³、山田外史³、竹村泰司¹
(横浜国立大学¹、静岡大学²、金沢大学³)

The effect of magnetic and electric fields produced by a human body size applicator for hyperthermia

T. Aoto¹, T. Yamada¹, S. Ota², Y. Ikehata³, S. Yamada³, Y. Takemura¹

(Yokohama National University¹, Shizuoka University², Kanazawa University³)

はじめに

体内に投与した磁性ナノ粒子に体外から交流磁場を印加することで癌を治療する、磁気ハイパーサーミアが研究されている。印加交流磁場が誘導する交流電場により、生体組織へのエネルギー吸収が起こるため、治療の際の患者への悪影響が懸念される。また一方で、TMS(Transcranial magnetic stimulation, 経頭蓋磁気刺激)¹⁾や、TTF(Tumor treating field, 腫瘍治療電場)²⁾といった、交流電場が生体に及ぼす効果を利用した治療法が存在し、研究が進められている。

実験方法

本研究では Fig. 1 に示すような人体サイズのコイル(直径 250 mm)で体内に投与した磁性ナノ粒子を誘導加温する磁気ハイパーサーミアを想定している³⁾。コイル部分は、線径 0.06 mm のリッツ線 250 本の束を 24 束、中空の形状をなすように螺旋状に編み込んだ仕様となっており、さらに冷却用のフッ素系不活性液体で満たされたケースで覆われているため、最大で 400 A_{rms} の大電流を通電することができる。また、周波数は 142 kHz で固定されている⁴⁾。人体深部に実効値で 8 kA/m の磁場を印加することにより、癌を治療するのに十分な磁性ナノ粒子の発熱を誘導することができる。このときの電場強度を評価した。

実験結果

最大磁場強度が 8 kA/m の交流磁化測定の結果に基づき、Resovist® の発熱量に関して SLP(Specific loss power)と ILP(Intrinsic loss power)の 2 つの指標で表したものが Fig. 2 である。これにより、人体サイズコイルの固定周波数である 142 kHz において 37 kW/kg の SLP を示すことがわかり、この発熱量に比例した腫瘍の温度上昇が期待できる⁵⁾。本研究では、コイルがつくり出す交流磁場に加え、それが誘導する交流電場を見積もった。これらの磁場・電場が生体に及ぼす影響を考慮した実験条件を整え、人体サイズコイルによる磁性ナノ粒子の誘導加温を利用した癌温熱治療の実現可能性を検討したので報告する。



Fig. 1. Human body size applicator.

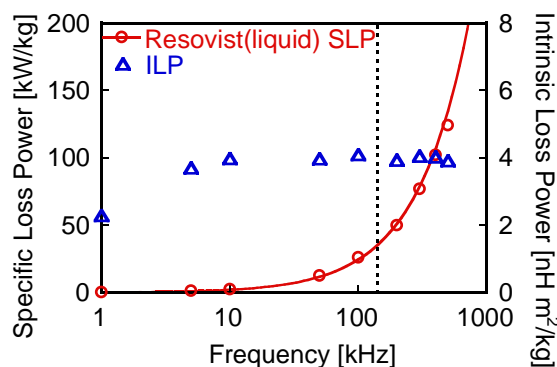


Fig. 2. SLP and ILP of Resovist®
(dotted vertical line indicates 142 kHz).

謝辞：本研究の一部は、科研費 15H05764、17H03275 により実施した。

参考文献

- 1) M. Sekino, and S. Ueno: "Comparison of current distributions in electroconvulsive therapy and transcranial magnetic stimulation.", *J. Appl. Phys.*, **91**(10), 8730-8732, 2002.
- 2) Y. Palti: "Management of recurrent or progressive glioblastoma multiforme with low-intensity, medium-frequency alternating electric fields.", *Eur. Oncol. Dis.*, 88-89, 2007.
- 3) 青戸知広ら: "磁性ナノ粒子の磁気緩和とパンケーキ型コイルを用いた誘導加温", 第 40 回 日本磁気学会学術講演会, 08aD-1, 金沢, 2016 年.
- 4) 山田外史ら: "癌温熱療法のためのダブルパンケーキ形コイルシステムの開発", 電気学会マグネティックス研究会, MAG-15-013, 金沢, 2015 年.
- 5) T. Aoto, et al.: "Specific loss power of magnetic nanoparticles for hyperthermia excited by pancake-type applicator", 電気学会論文誌 A 2017 年 8 月号. (印刷中)