

抗がん剤効能増強を目的とした変動磁場応用に関する研究

北海道大学大学院 ○帖佐 洋平, 村林 俊, 三田村 好矩

要旨

磁場の医療への新たな応用分野を目的とし変動磁場が抗癌剤効能に及ぼす影響を調べた。対象細胞としてA549、抗癌剤として daunorubicin と bleomycin の 2 種類を用いて、in vitro において実験を行った。変動磁場印加による細胞数の変化を SRB 法で測定した。変動磁場の種類として正弦波と矩形波を用い効能の変化に差が生じるかどうかを合わせて実験を行ったところ、矩形波の方のみに増強効果が確認された。

1. 背景

近年、科学技術の発展により日常生活の中で生体が電磁界に曝される機会が多くなった。これにより、磁場の生体への影響が改めて問われ、磁場の安全性に関する研究がさかんになった。

一方、磁場が生体に影響を及ぼすのならば、これを積極的に医療に応用しようとすることも考えられており、骨折時における骨形成の促進療法として、すでに磁場が使われている。

本研究においては、磁場の医療への新たな応用分野として、癌の化学療法に着目した。癌は、1980 年代から死亡率の第 1 位であり、現在でも増加の一途をたどっている。癌治療の方法のひとつである抗癌剤による治療には常に副作用が問題となっている。変動磁場により、抗癌剤効能の増強が可能であれば、標的部位に磁場を印加し、特定部位にのみ薬剤効能を増強させることで、病変部の有効治療と副作用の軽減を行うことができ、磁場という新たな医療分野が開かれる可能性があると考えている。

そこで本研究では変動磁場による抗癌剤効能の増強の可能性を、in vitro 細胞培養実験により検証した。

2. 実験手法

対象細胞として、抗癌剤のスクリーニングに使用する肺腫瘍由来の細胞 A549 を使用した。抗癌剤には daunorubicin と bleomycin の 2 種類を使用した。磁場を発生させる装置として、当研究室で作成したヘルムホ

ルツコイルを使用した。ヘルムホルツコイルは内径 267 mm、内幅 40 mm で 270 回巻きのコイルを二つ 50 mm の間隔を空けて配置し、インキュベーター内で用いて、磁場をかけながら培養できるようにした。周波数は 25 Hz であり、最大磁界強度は 24 G であった。

実験操作として、0.02 μ M、0.2 μ M、2 μ M、20 μ M、200 μ M の濃度に調整した抗癌剤を、100 μ l ずつ 3 枚のマルチウェルプレート(コントロール用、1 時間印加用、24 時間印加用)へ分注した。細胞濃度を 3×10^4 cell/ml に調整した浮遊液を、ウェルへ 100 μ l ずつ分注した。その後、速やかにコントロール(磁場非印加)インキュベーター、磁場印加インキュベーターへそれぞれ静置し、印加時間も含め 72 時間培養した。

培養後の抗癌剤効能変化の指標として、SRB(sulfo-rhodamine B)法を用い細胞数の変化を測定した。SRB 法とは、アメリカ NCI で使用されている一般的な方法で、細胞タンパク質に結合させ染色し、その色素を溶出して吸光度を測定する方法である。

以上の過程を 1 回の実験とし、正弦波について 5 回、矩形波について 4 回おこなった。

評価の方法として、

$$(\text{生存率}) = \frac{\text{各照射条件での抗癌剤あり } 0. D}{\text{各照射条件での抗癌剤なし } 0. D}$$

を定義し、すべての実験結果について計算し変動磁場の効果について、そして正弦波と矩形波について比較・評価をおこなった。

3. 結果と考察

3.1 daunorubicin について

Fig.1は正弦波についての実験5回を総合した結果であり、Fig.2は矩形波についての実験4回を総合した結果である。

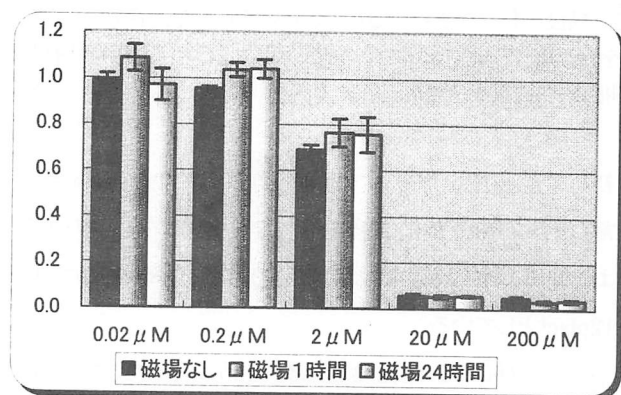


Fig.1

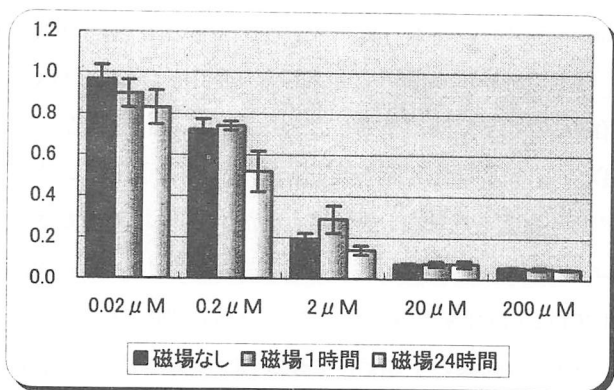


Fig.2

正弦波の磁場を印加した場合、どの濃度においても磁場による効能の増加は確認できなかった。

一方、矩形波の磁場を印加した場合、薬剤濃度が $0.02 \mu\text{M}$ 、 $0.2 \mu\text{M}$ 、 $2 \mu\text{M}$ で磁場に対して薬剤効能が増強している傾向が見られた。その効果は24時間磁場を印加することによりさらに顕著であった。細胞内の daunorubicin 濃度を測定したところ、磁場印加により細胞内の薬剤濃度は上昇していた。そのため、磁場効果は daunorubicin の取り込みを増加させたと考えられる。

$20 \mu\text{M}$ と $200 \mu\text{M}$ では、磁場効果は見られなかった。その条件では薬剤の取り込み量が多く、磁場印加にかかわらず、細胞増殖が抑えられたものと考えられる。

3.2 bleomycin について

Fig.3は正弦波についての実験5回を総合した結果であり、Fig.4が矩形波についての実験4回を総合した結果である。

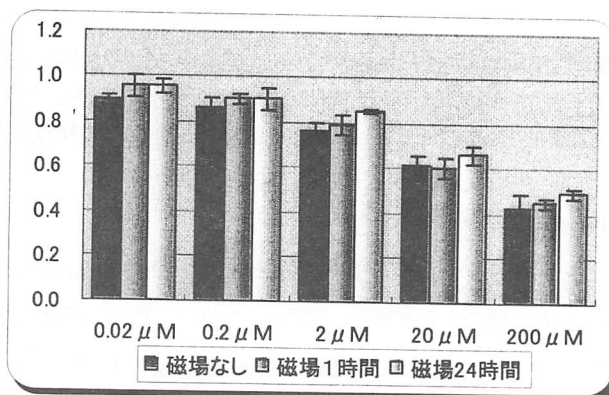


Fig.3

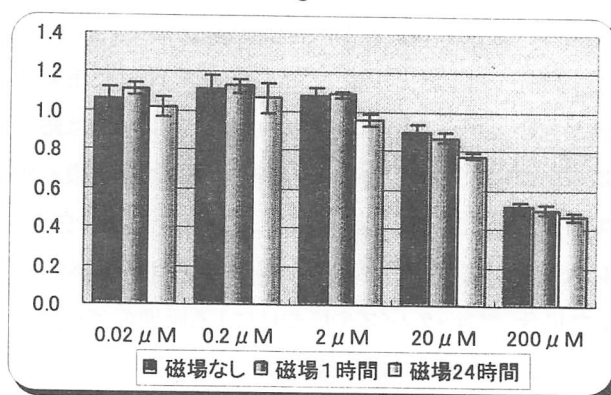


Fig.4

daunorubicin の時と同様に、正弦波の磁場を印加した場合は、各濃度で磁場による薬剤増強効果は確認できなかった。

一方、矩形波の磁場を印加した場合では、抗癌剤の効能が増強していることが確認できた。bleomycin は daunorubicin よりも分子量が大きく、細胞内に取り込まれにくいことが知られている。本実験でも濃度の高いところで磁場による効能増強効果が確認できた。

4. 結論

変動磁場によって抗癌剤の効能が増強されたことが示された。また、正弦波ではなく矩形波にのみ、増強効果が現れることが確認できた。磁場の波形により効果に差があることにより、変動磁場による抗癌剤増強効果の機序を考える上で有用な知見が得られた。