

Effect of ELF magnetic fields exposure on the potency of anticancer drugs, mitomycin C and cisplatin

メタデータ	言語: jpn 出版者: 公開日: 2017-10-05 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/2297/30174

抗がん剤マイトマイシン C とシスプラチンの作用における交流磁界曝露影響

平井雄一郎, 柿川真紀子, 山田外史
環日本海域環境研究センター 生体機能計測研究部門
Y. Hirai, M. Kakikawa, S. Yamada

Effect of ELF magnetic fields exposure on the potency of anticancer drugs, mitomycin C and cisplatin

1. はじめに

これまでに磁界による生体への影響に関する様々な研究がなされており、磁界を化学物質や放射線などと併用した場合、化学物質や放射線の生体への作用が変化するという報告がある。例えば、ELF (Extremely low frequency : 極低周波) 磁界曝露を併用することで、X 線照射による染色体異常が磁束密度依存的に増加したという報告^[1]がある。本研究で扱う抗がん剤 MMC (マイトマイシン C) についても次のような報告がある。MMC に 60 Hz, 45 mT の交流磁界曝露を併用した結果、2 倍程度 DNA 損傷作用が高まったという報告^[2]で、このことから、交流磁界曝露を併用した場合における MMC の抗がん効果の向上が期待でき、その他の抗がん剤についても抗がん効果を向上できる可能性がある。抗がん剤を投与し、患部に交流磁界を曝露することで患部における抗がん効果が向上すれば、抗がん剤の投与量を抑えることができ、副作用を軽減できるかもしれない。

現段階ではどの抗がん剤に磁界曝露の影響があるのか、どの磁界条件 (磁束密度, 磁界曝露時間, 周波数) が効果的なのかなど不明な点が多い。抗がん剤と交流磁界の併用療法を実現するためにも、どの抗がん剤にどの程度磁界曝露の影響があるのかを評価して効果的な磁界条件を明確にする必要がある。そこで本研究では、抗がん剤の作用への効果的な磁界条件や抗がん剤の濃度への依存性を検討し、抗がん剤ごとの交流磁界曝露の影響度合を比較することを目的とし、抗がん剤 MMC およびシスプラチンへの交流磁界曝露の併用効果に関する研究を行った。

2. 交流磁界曝露影響の評価方法

2.1. 交流磁界発生装置

本研究で使用した 60 Hz 交流磁界発生装置 (Exposure 側) を図 1 に示す。磁界発生装置は、U 字型鉄心を用いその鉄心の頭頂部に立方形のギャップを設け、アクリルケースを設置して実験領域とした。回路にはコンデンサ ($C=1000 \cdot F$ ($500 \cdot F \times 2$)) を用い、共振回路を構成し入力インピーダンスを大きくすることで入力電流を小さく抑えられるように考慮されており、実験領域において周波数 60 Hz の交流磁界を得られる。またアクリルケース内部にはコイルによって発生する熱の影響を避けるため、恒温装置で一定温度の水を循環させた。

2.2. 抗がん剤

本研究ではマイトマイシン C (MMC) およびシスプラチンという 2 種類の抗がん剤を使用した。

2.2.1 マイトマイシン C (Mitomycin C)

マイトマイシン C は日本で見出され発展した抗腫瘍抗生物質であり、現在ではがん治療上重要な薬と認められ、世界中の多くの国で使われている抗がん剤である^{[3][4]}。

マイトマイシン C は細胞の二重螺旋構造をとっている DNA の二本鎖にそれぞれ結合し、二重鎖 DNA への架橋結合を形成する。そのため二本鎖 DNA が完全にほどけることができなくなり DNA の複製を阻害し、細胞の分裂・増殖を抑制する。これによりがん細胞の増殖を抑制することで、抗がん効果を得られる。

2.2.2 シスプラチン

シスプラチンはプラチナ化合物であり、プラチナ化合物はがん治療において広く使われている。その中でもシスプラチンは最も広く使われている抗がん剤の一種である^[5]。

シスプラチンも MMC と同様に、DNA に結合して DNA の複製を阻害することでがん細胞の増殖を抑制、ひいてはがん細胞を死滅させるタイプ

の抗がん剤である。

シスプラチンは DNA 鎖に架橋結合することで、DNA の複製を阻害する。また、プラチナが架橋結合して DNA の構造が歪曲することにより、さらに DNA の複製が阻害される。

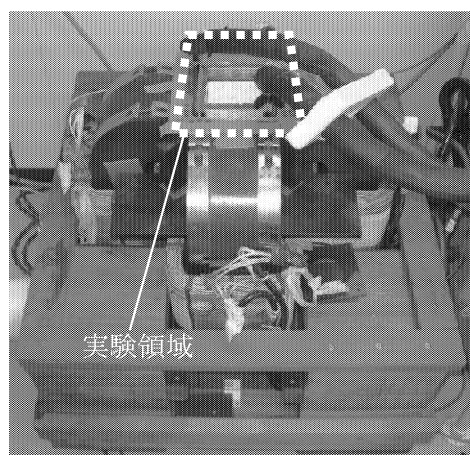


図 1 60 Hz 交流磁界発生装置
(磁界曝露側: Exposure)

2.3 大腸菌

抗がん剤の殺ガン細胞効果は、微生物の殺菌作用と相関が認められていることから、本研究では、ヒト細胞と同様に抗がん剤の DNA 損傷を受ける細胞であり、遺伝情報が解明されており、細胞の増殖サイクルが非常に早い図 2 に示すような大腸菌を実験対象として用いた。その中でも野生株である W3110 と変異株 JE5595 *recA1* を用いた。

2.3.1 大腸菌 W3110

大腸菌の K12 株の W3110 という系統名の大腸菌で、W3110 はその特徴として、野生株で病原性がない。また、大腸菌細胞中にはアミノ酸やタンパク質、DNA などが存在している。

2.3.1 大腸菌 JE5595 *recA1*

JE5595 *recA1* も大腸菌の一種である。自己修復遺伝子の 1 つ *recA1* を機能しないようにしてある変異株で、DNA ダメージに対して感受性が高い。

2.4 交流磁界曝露影響の評価方法：コロニーアッセイ法

抗がん剤の作用に対する交流磁界曝露の影響を評価するために、抗がん剤と交流磁界曝露を併用した場合 (Exposure) と抗がん剤のみで交流磁界曝露を併用しない場合 (Control) とで大腸菌の生菌数を比較する。生菌数が少なければ抗がん剤の効果が高いということになり、これにより交流磁界曝露の併用が抗がん効果を高めるかどうかを評価することができる。生菌数を定量化する方法として、本研究ではコロニーアッセイ法を用いた。コロニーアッセイ法の簡略図を図 3 に示す。

3. 抗がん剤の作用における交流磁界曝露の影響測定結果

3.1 大腸菌 W3110 に対する抗がん剤 MMC の作用における 60 Hz, 50 mT の交流磁界曝露の影響測定結果

磁界曝露時間 0 時間、2 時間、4 時間、6 時間、24 時間において、W3110 に対して MMC 濃度 0 $\mu\text{g/ml}$ 、1 $\mu\text{g/ml}$ 、2 $\mu\text{g/ml}$ 、3 $\mu\text{g/ml}$ で、交流磁界曝露の影響を評価した。MMC と 50 mT 交流磁界曝露の併用結果を図 4 に示す。横軸を磁界曝露時間(非磁界曝露では培養時間)、縦軸を対数表示で生菌数としている。M は MMC のみでの生菌数、ME は MMC と交流磁界曝露を併用したときの生菌数である。

MMC 濃度 0 $\mu\text{g/ml}$ の結果から MMC を加えずに交流磁界曝露のみの影響を評価すると、生菌数は同じとなっており、交流磁界曝露のみでは増殖能力への影響はみられなかった。

反応 2 時間で比較すると、非磁界曝露に比べて磁界曝露の生菌数は 1 $\mu\text{g/ml}$ では 0.28 倍、2 $\mu\text{g/ml}$ では 0.17 倍、3 $\mu\text{g/ml}$ では 0.053 倍となった。4 時間においては、生菌数が 1 $\mu\text{g/ml}$ で 0.13 倍、2 $\mu\text{g/ml}$ で 0.023 倍、3 $\mu\text{g/ml}$ で 0.0041 倍、6 時間では 1 $\mu\text{g/ml}$ で 0.12 倍、2 $\mu\text{g/ml}$ で 0.016 倍、3 $\mu\text{g/ml}$ で 0.0044 倍となっており、非常に大きな生菌数の減少がみられた。

各濃度間で比較すると、反応 2 時間においては、磁界曝露の MMC 1 $\mu\text{g/ml}$ の作用は非磁界曝露の 2 $\mu\text{g/ml}$ より強く、非曝露の 3 $\mu\text{g/ml}$ に近い作用を示し、また、磁界曝露の MMC 2 $\mu\text{g/ml}$ は非曝露の 3 $\mu\text{g/ml}$ より強い作用を示した。4 時間と 6 時間では、磁界曝露の MMC 1 $\mu\text{g/ml}$ の作用は非磁界曝露の 2 $\mu\text{g/ml}$ より強く、磁界曝露の 2 $\mu\text{g/ml}$ は非曝露の 3 $\mu\text{g/ml}$ より強い作用が認められた。

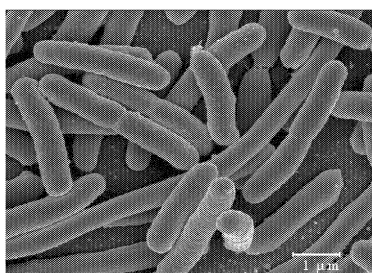


図 2 大腸菌

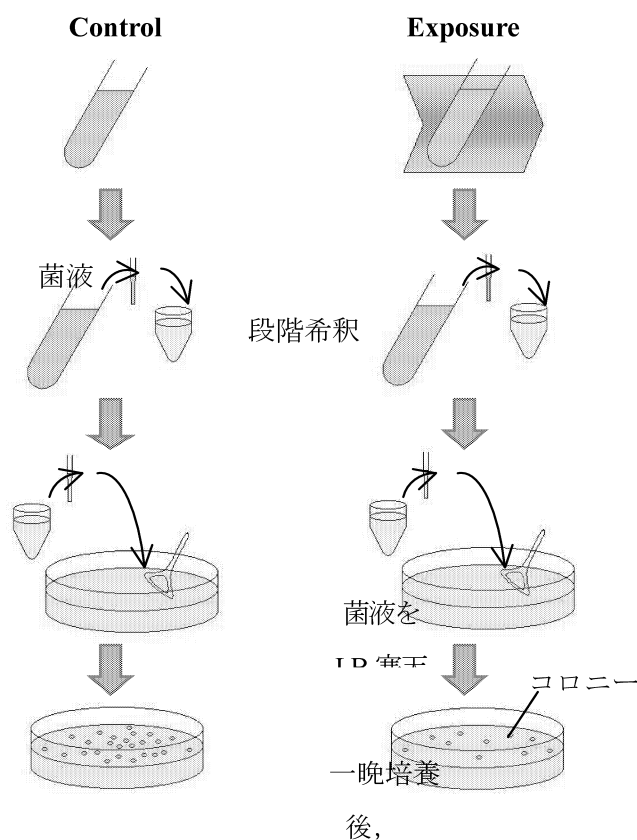


図 3 コロニーアッセイ法の概略図

60 Hz 50 mT の交流磁界曝露を併用すると、6 時間において各 MMC 濃度で作用が約 2.3 倍に大きく増強された。30 mT の交流磁界曝露を併用した場合は、各 MMC 濃度で約 1.8 倍、5 mT の交流磁界曝露を併用した場合は約 1.3 倍となり MMC 作用の増強が認められた。60 Hz 交流磁界曝露によって W3110 に対する MMC の作用が高まることがわかった。

3.2 大腸菌 W3110 に対する抗がん剤シスプラチンの作用における 60 Hz, 50 mT の交流磁界曝露の影響測定結果

シスプラチン濃度 0 $\mu\text{g/ml}$, 40 $\mu\text{g/ml}$ で、交流磁界曝露の影響を評価した。シスプラチンと 50 mT 交流磁界曝露併用の結果を図 5 に示す。C はシスプラチンのみでの生菌数、CE はシスプラチンと交流磁界曝露を併用したときの生菌数である。反応 4 時間において非磁界曝露に比べて磁界曝露の生菌数が 0.25 倍となっており、6 時間においては 0.16 倍となるという結果を得られた。

60 Hz 50 mT の交流磁界曝露によって W3110 に対するシスプラチンの作用が高まることがわかった。

3.3 大腸菌 JE5595 recA1 に対する抗がん剤シスプラチンの作用における 60 Hz, 50 mT の交流磁界曝露の影響測定結果

シスプラチン濃度 0, 2.5, 5, 7.5 $\mu\text{g/ml}$ で、交流磁界曝露の影響を評価した。シスプラチンと 50 mT 交流磁界曝露併用の結果を図 6 に示す。

反応 2 時間で比較すると、非磁界曝露に比べて磁界曝露の生菌数が 5 $\mu\text{g/ml}$ で 0.20 倍、7.5 $\mu\text{g/ml}$ で 0.18 倍となった。

4 時間においては、

生菌数が 2.5 $\mu\text{g/ml}$ で 0.43 倍、5 $\mu\text{g/ml}$ で 0.10 倍、7.5 $\mu\text{g/ml}$ で 0.081 倍、6 時間では 2.5 $\mu\text{g/ml}$ で 0.22 倍、5 $\mu\text{g/ml}$ で 0.139 倍、7.5 $\mu\text{g/ml}$ で 0.22 倍となる減少が認められた。

各濃度間で比較すると、反応 4 時間と 6 時間において、磁界曝露のシスプラチン 5 $\mu\text{g/ml}$ と非曝露の 7.5 $\mu\text{g/ml}$ で同程度のシスプラチン作用を示した。

60 Hz 50 mT の交流磁界曝露を併用すると、6 時間において各シスプラチン濃度で作用が約 1.4 倍に増強された。30 mT の交流磁界曝露を併用した場合は、各シスプラチン濃度で約 1.1 倍のシスプラチン作用が認められた。60 Hz 交流磁界曝露によって JE5595 recA1 に対するシスプラチンの作用が高まることがわかった。

4. まとめと今後の課題

大腸菌 W3110 または JE5595 recA1 に対する抗がん剤 MMC またはシスプラチンの作用が、60 Hz の交流磁界の曝露により高まるか、またどの程度高まるかを評価する実験を行った。本研究で行った実験条件では、シスプラチンの作用への交流磁界の影響より MMC の作用への交流磁界の影響の方が大きいことがわかった。しかし、大腸菌と抗がん剤のどの組み合わせでも、磁束密度が大きいほど交流磁界曝露の影響が強い、つまり磁束密度依存的に抗がん剤の作用が高まる結果が得られた。

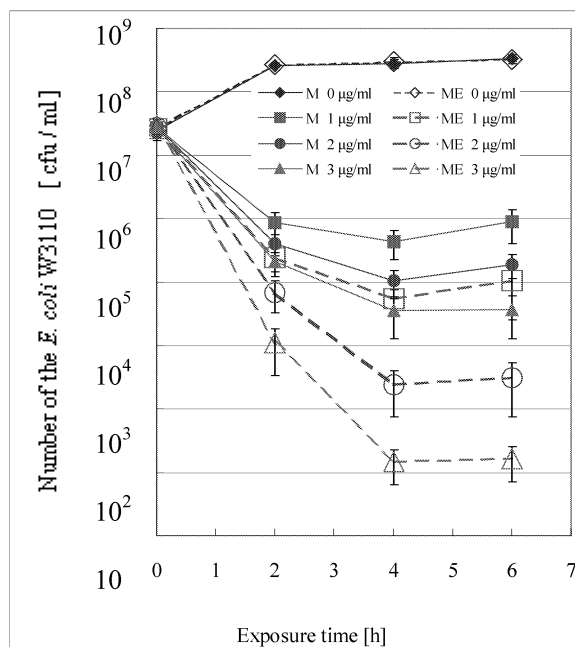


図 4 W3110 に対する MMC と 60 Hz, 50 mT 交流磁界曝露の併用効果 (M : MMC only, ME : MMC+MF)

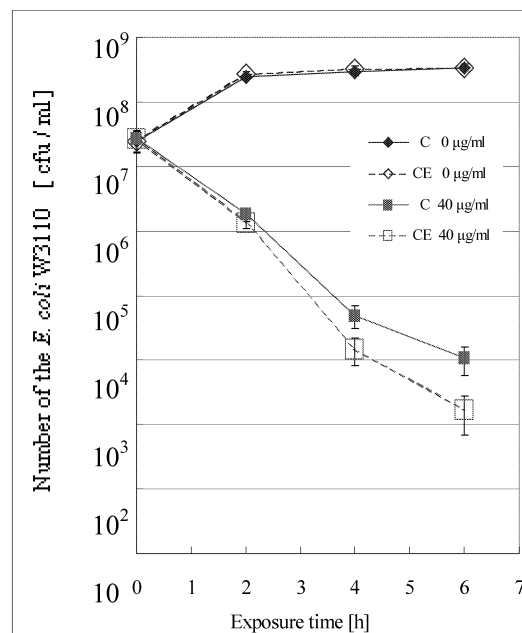


図 5 W3110 に対するシスプラチンと 60 Hz, 50 mT 交流磁界曝露の併用効果 (C : Cisplatin only, CE : Cisplatin+MF)

また、磁束密度を一定にした場合、抗がん剤の濃度に依存せずどの濃度でも一定の増強率で抗がん剤の作用が高まった。このことから、交流磁界曝露を併用することによって、より薄い濃度の抗がん剤でがん治療を行え、副作用を軽減できる可能性を示唆している。

現段階では、抗がん剤の作用に対してどのように交流磁界が影響しているのかはわかっていない。そこで、より磁界影響のある磁界条件下で、より詳細な分子レベルでの解析を進め、抗がん剤の作用における磁界影響のメカニズムを解明していく必要がある。また、本研究では大腸菌を用いて実験を行ったが、交流磁界曝露を実際のがん治療に応用するためにもヒト培養細胞を用いた実験を行う必要がある。

文 献

- [1] Yaguchi H., Yoshida M., Diing D-R., Shing K., Miyakoshi M: *Int. Radiat Biol.*, 76,1677-1684,(2000)
- [2] M.Kakikawa, R.Hosono, S.Hashimoto, M.Iwahara, S.Yamada, *J. of MSJ*, 28, 437-440 (2004).
- [3] 梅田; “常用医薬品の副作用”, 南江堂, 491, 5, U49 (1996)
- [4] 日本標準商品分類番号 874231 取扱い説明書 マイトマイシン C, 協和発酵工業株式会社.
- [5] 日本標準商品分類番号 874291 取扱い説明書 シスプラチン注, マルコ製薬株式会社

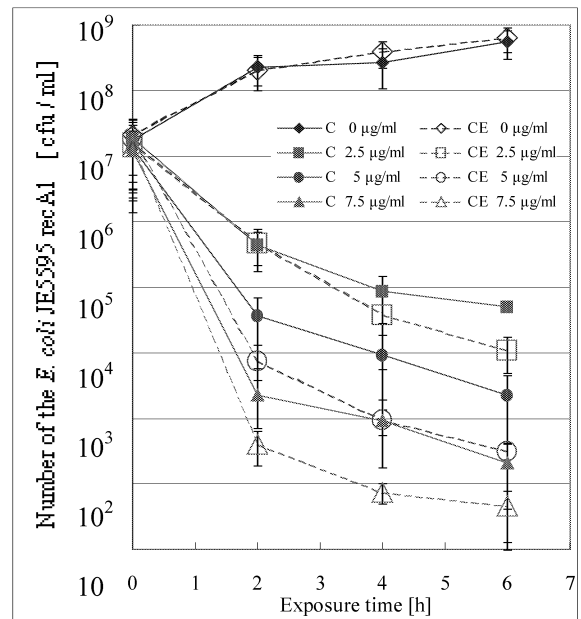


図 6 JE5595 recA1 に対するシスプラチンと 60 Hz, 50 mT 交流磁界曝露の併用効果 (C : Cisplatin only, CE : Cisplatin+MF)