

パルス磁界の脳腫瘍細胞への影響と渦電流解析

Effect of a Pulsed Magnetic Field on Brain Tumor Cells (RGC-6), and Eddy Current Analysis

内川義則・小林宏一郎・内田靖浩・杉山 聡*・宮下 収

東京電機大学理工学部, 埼玉県比企郡鳩山町石坂 (〒350-0394)

*埼玉医科大学脳神経外科, 埼玉県入間郡毛呂山町毛呂本郷 38 (〒350-0451)

Y. Uchikawa, K. Kobayashi, Y. Uchida, S. Sugiyama,* and O. Miyashita

Faculty of Science and Engineering, Tokyo Denki University, Ishizaka, Hatoyama-cho, Hiki-gun, Saitama 350-0394

*Department of Neurosurgery, Saitama Medical School, 38 Moro-hongo, Moroyama-cho, Iruma-gun, Saitama 350-0451

This paper describes eddy current analysis and magnetic stimulation of organic tissues such as brain tumor cells (RGC-6). First, eddy current analysis was performed, both by calculation and experimentally, to confirm whether a constant gradient distribution of the induced electric field (IEF) generated by a magnetic field could be obtained in a sample area in which circular glass vessels filled with saline water were located. The calculated IEF was agreed with the measured value within an average error of 4.3%. Next, promotion of DNA synthesis was experimentally observed by applying pulsed magnetic stimulation (2.0 mT, 200 Hz) to RGC-6. A decrease in RGC-6 was observed as a result of combined application of an anticancer agent and a pulsed magnetic field.

Key words: magnetic stimulation, pulsed magnetic field, eddy current, induced electric field, Helmholtz coil, brain tumor (RGC-6)

1. はじめに

悪性脳腫瘍に対する治療は、手術、放射線、化学免疫療法などの集学的治療が行われてきた。これらの方法は有効ではあるが、限界も明らかとなり、全く異なったアプローチでの治療法が求められている。

近年、生体にパルス磁界を印加すると電磁誘導により生体内に渦電流が発生し、この電流は生体への刺激になることから大脳皮質運動野への刺激などに応用されている^{1,2)}。また、パルス磁界が細胞のDNA合成に与える影響についても検討がされており³⁾、Omoteらは、5.0 mT, 200 Hzのパルス磁界を癌細胞（降管の腺癌）に印加すると、DNAの合成が促進され、抗癌剤の作用が増加することを示唆した⁴⁾。Takahashiらは、20.0 μ T, 100 Hzのパルス磁界を印加した場合、トリチウムチミジン (³H-thymidine) の取り込みが増加し、その結果DNA合成が促進されたことを示唆した⁵⁾。また、Goodmanらは、ショウジョウバエ (*Drosophila*) のだ液腺に変動磁場を照射すると、mRNAの転写に影響を与える可能性を示唆し、トリチウムウリジン (³H-uridine) の取り込みについて検討した⁶⁾。しかし、それらのパルス磁界影響のメカニズムについては明らかにされていない。

筆者らは、パルス磁界が培養細胞のDNA合成に与える影響に着目し、パルス磁界と放射線や化学療法を併用することで、

それらの単独効果より相乗効果が得られることを期待し、これらの実証のため、パルス磁界発生装置の試作を行った⁷⁾。

本論文では、試作したパルス磁界発生装置を用いた複数サンプルの対照実験および動物実験への有効性を渦電流解析より実証し、また本装置を用いたパルス磁界印加実験より、パルス磁界の脳腫瘍細胞への影響を検討した。

2. パルス磁界発生装置

試作したパルス磁界発生装置は、脳腫瘍細胞に最も効果の大きい最適なパルス磁界を実験的に求めるため、磁界強度を均一分布で0.0~10.0 mT、繰り返し周波数をDC~200 Hzの範囲で可変とし、さらにデューティ比も可変可能なものとした。また、磁界印加用コイルは、複数サンプルの対照実験のため、ある適当な広さの空間に同一磁界を印加したいこと、小動物に対しては動き回っても同一磁界が印加できるようにしたいことから、約2400 cm³の限られた空間内において均一な磁界が得られるようにヘルムホルツコイル型のコイル配置を用いた。

繰り返しパルス磁界発生回路は、Fig. 1に示すような磁界印加用ヘルムホルツコイル（自己インダクタンス L_1 、相互インダクタンス M 、巻線抵抗 r_1 ）を他の枝路のインダクタンス L_2 とのフリップフロップ回路構成とし、スイッチング素子として用いているサイリスタ Th_1 , Th_2 を制御することで、パルス磁界を発生させる。

ヘルムホルツコイルを流れるパルス電流の1例をFig. 2に示す。Fig. 2は、繰り返し周波数200 Hz、デューティ比

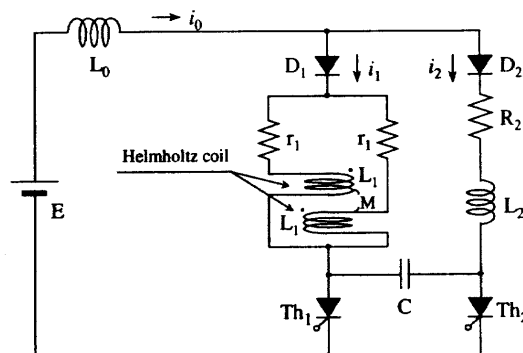


Fig. 1 Circuit diagram of the pulsed magnetic field generator.

50% とした場合の結果で、パルスの立ち上がり時間は 0.4 ms となる。

磁界印加用ヘルムホルツコイルより発生する磁界分布の 1 例を Fig. 3 に示す。コイルの形状は、それぞれ直径 40.0 cm, 10 層, 105 巻 (計 1050 巻) の円形コイルを 6.3 cm の間隔で配置し、電流 0.5 A を流した場合のコイルの中間平面での結果である。

3. 渦電流解析

Fig. 3 の結果より、試作したパルス磁界発生装置において、一定の空間内に均一なパルス磁界を発生できることが確認できた。本装置を用いて脳腫瘍細胞へのパルス磁界印加実験を行うに当たり、細胞に影響を与えるパルス磁界により生じる渦電流について理論解析、および生理食塩水を満たしたシャーレを用いたモデル実験から検討した。

3.1 理論解析

生体などの導体に変動磁界を与えると、電磁誘導により導体内にはその磁界を打ち消す方向に起電力が生じる。このとき、起電力により電流の回転が存在する。この電流を渦電流と呼び、変動磁界 B によって導体内 (導電率 σ) に生じる誘導電界の強さを E 、電流密度を J とすると、次式が成立する。

$$J = \sigma E \quad (1)$$

$$\text{rot } E = - \frac{\partial B}{\partial t} \quad (2)$$

また、磁界 B はベクトルポテンシャル A が与えられているとき、式 (2) は次のような、すなわち、

$$B = \text{rot } A \quad (3)$$

$$\text{rot } E = - \text{rot } \frac{\partial A}{\partial t} \quad (4)$$

したがって、スカラーポテンシャル ϕ を用いて、誘導電界 E は次のように表すことができる。

$$E = - \frac{\partial A}{\partial t} - \text{grad } \phi \quad (5)$$

スカラーポテンシャル ϕ は、境界条件に従って、ラプラス方程式を解くことで求めることができる。境界条件には、式 (6) に示す第 2 境界条件 (Neumann 条件) を使用した。

$$\hat{n} \cdot \left(\text{grad } \phi + \frac{\partial A}{\partial t} \right) = 0 \quad (6)$$

これらの式を用いることで、導体内部に流れる渦電流の計算を行うことができる^{8~12)}。

Fig. 4 は、以下に述べる生理食塩水を満たした円形シャーレを用いたモデル実験を想定して、直径 10.0 cm の円形導体モデルにおける誘導電界 (式 (5)) の計算結果例である。このとき、印加したパルス磁界は DNA の合成が促進された報告^{3~6)}を参考に、本装置において磁界強度 2.0 mT、繰り返し周波数 200 Hz、デューティ比 50%、立ち上がり時間 0.4 ms のパルス磁界印加を想定して行った。また、式 (5) の計算に当たり、円形導体をメッシュ状に分割 (接点数: 110) し、差分法¹³⁾にて行った。Fig. 4(a) は、誘導電界のベクトル図であり、計算位置の間隔は 1.0 cm とし、境界付近では 0.5 cm とした。同図 (b) は、導体中心からの距離に対する誘導電界の大きさを

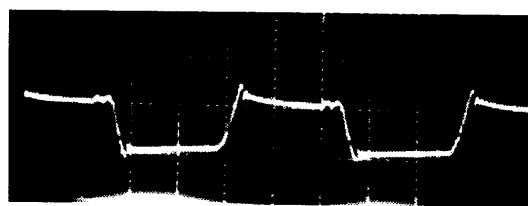


Fig. 2 Output current waveform of the Helmholtz coil.

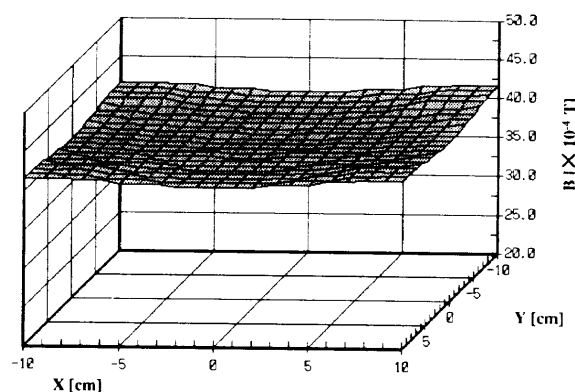


Fig. 3 Magnetic field distribution measured at the central plane between the Helmholtz coils.

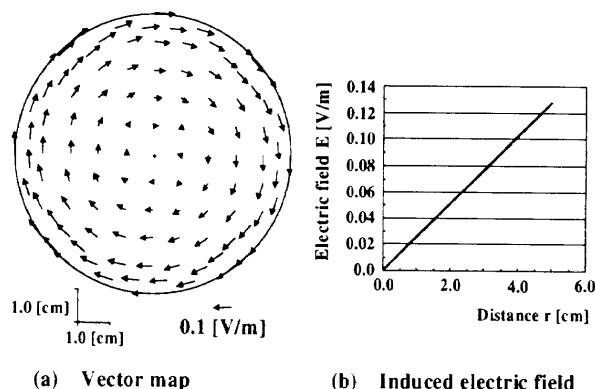


Fig. 4 Calculation of the induced electric field in a circular conductor model.

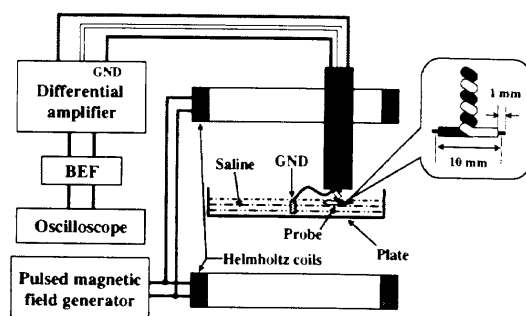


Fig. 5 Experimental set-up for measuring the induced electric field.

表している。

3.2 渦電流の測定

3.1 節で得られた誘導電界の解析結果を検証するために、

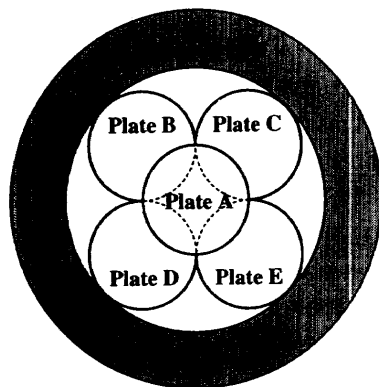


Fig. 6 Plate position in the Helmholtz coils.

Fig. 5 に示す実験装置を用いて誘導電界の測定を行い検討した。円形導体モデルには、生理食塩水を満たした直径 10.0 cm のシャーレを用い、本装置を用いて理論解析時と同様の磁界強度 2.0 mT、繰り返し周波数 200 Hz、デューティ比 50% のパルス磁界を印加した。また、シャーレは、Fig. 6 に示すように、コイルの中心 (Plate A)、コイル内の角 (Plate B, C, D, E) の計 5 カ所にそれぞれ 1 個ずつ配置した。電界の測定に当たっては、Fig. 5 に示すように、被覆導線 (直径 0.7 mm) を用いて作製し、電極間距離 1.0 cm の電位差を測定した^{8)~12)}。

Fig. 7 および Fig. 8 に誘導電界の測定結果例を示す。Fig. 7 はコイルの中心に置いたシャーレ (Plate A)、Fig. 8 はコイル内の角に置いたシャーレ (Plate B) の結果である。Fig. 4 の理論計算結果と同様に Fig. 7(a)、Fig. 8(a) は、測定電位差から求めた誘導電界のベクトル図であり、測定の間隔は 1.0 cm とし、境界付近では電界分布の変化を考慮して 0.5 cm とした。また、同図 (b) は、導体中心 (各シャーレの中心) を基準とした、距離に対する誘導電界を示す。黒丸 (●) は測定値、実線は理論値であり、理論値とはほぼ一致していることがわかる。その他の位置 (Plate C, D, E) における誘導電界の測定も同様な結果が得られた。

Fig. 9 に、Fig. 6 に示した各位置におけるシャーレ内の測定値と理論値の誘導電界を示す。最大誤差は、Plate C 内での 8.0%、最小誤差は Plate B 内での 0.5%、各シャーレ内での平均誤差は 4.3% となり、理論計算と同様な結果となっている。

このことから、各シャーレ内において同様な誘導電界分布を得ることが可能であるため、複数サンプルを用いた対照実験への有効性が確認できた。

4. 脳腫瘍細胞へのパルス磁界印加実験

4.1 細胞の DNA 合成への影響

本装置を用いて、パルス磁界による脳腫瘍細胞の DNA 合成に対する影響について実験を行った。20.0 μ T ~ 5.0 mT、10 ~ 250 Hz のパルス磁界によって細胞の DNA 合成が促進されるとの報告^{3)~6)}を参考に、環境磁場 (地磁気: 約 50.0 μ T、数 Hz 以下) に対して大きく上回っているパルス磁界に着目し、磁界強度 2.0 mT、繰り返し周波数 200 Hz、デューティ比 50%、立ち上がり時間 0.4 ms のパルス磁界を印加した。また、このパルス磁界は、熱的作用の生じる高周波電磁界 (数 MHz) に

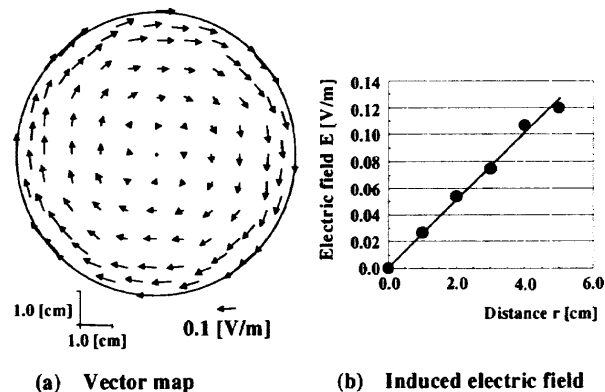


Fig. 7 Induced electric field measured in plate A filled with saline water.

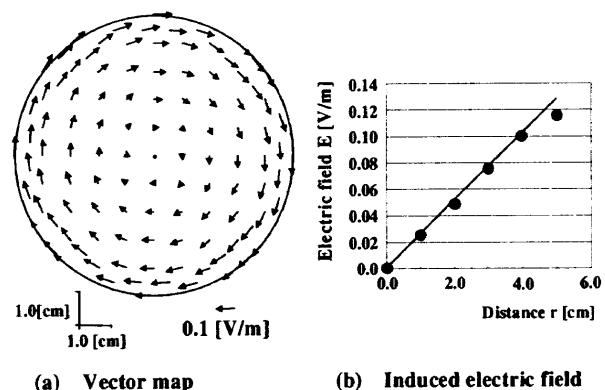


Fig. 8 Induced electric field measured in plate B filled with saline water.

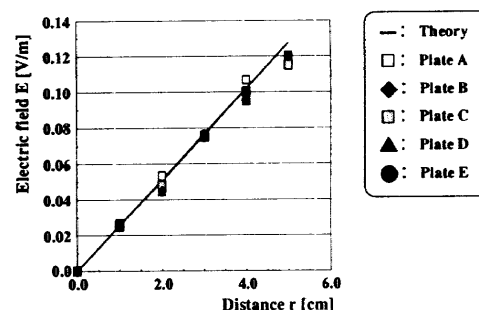


Fig. 9 Induced electric field vs. the distance from center of each plate.

比べて 50/60 Hz の非熱的作用電磁界に属し、細胞の温度上昇などの熱的作用は生じないと考えられる。本実験では、シャーレに入れた脳腫瘍細胞 (RGC-6) を 37°C 一定に保ちパルス磁界を連続して与え、4 時間ごとに採取し DNA の合成率測定を行った。その結果から求めた細胞周期 (細胞の分裂時間) を Fig. 10 に示す。白い四角 (□) は通常の脳腫瘍細胞の細胞周期、黒い四角 (■) はパルス磁界を印加した脳腫瘍細胞の細胞周期を示している。この結果より、パルス磁界を印加することで、脳腫瘍細胞の細胞周期が約 3 時間短縮される傾向があり、DNA の合成率が促進されることが示された。

4.2 抗癌剤との組み合わせによる細胞の生存率への影響

パルス磁界と抗癌剤を組み合わせることにより、脳腫瘍細胞の生存率の影響を検討するため、細胞周期の実験と同様なパル

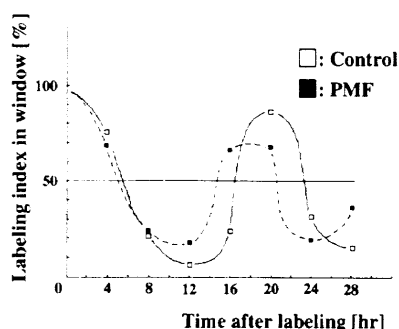


Fig. 10 FLSm (Fraction of labeled cells in the mid-S phase) curves of the control sample (□) and the PMF-applied sample (■).

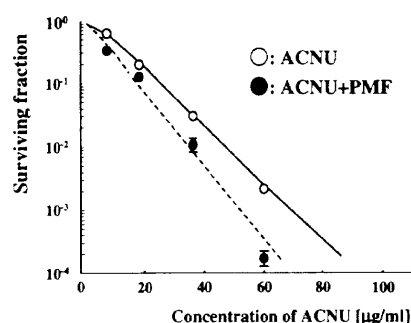


Fig. 11 Dose-survival curves for cells treated by ACNU alone (○) or with a PMF prior to ACNU (●).

ス磁界を6時間印加した後、抗癌剤を投与し、2週間放置して脳腫瘍細胞の生存率を測定した。Fig. 11は、抗癌剤の投与量（濃度）に対する脳腫瘍細胞の生存率を示している。白丸（○）は、抗癌剤のみ投与した場合の濃度に対する生存率、黒丸（●）は、パルス磁界を印加した後抗癌剤を投与した場合の濃度に対する生存率を表している。この結果より、パルス磁界と抗癌剤を組み合わせることによって、通常の抗癌剤投与のみの場合に比べて、脳腫瘍細胞の生存率が減少することが確認でき、少ない量の抗癌剤で脳腫瘍への治療が行えることが示唆された。

5. ま と め

試作したパルス磁界発生装置を用いて、脳腫瘍細胞へのパルス磁界印加実験を行うにあたり、渦電流解析から本装置の有効性を検討した。直径10.0 cmのシャーレを用いた導体モデルによる誘導電界測定より、コイル内の任意の場所において、平均誤差4.3%となる理論計算と同様な誘導電界を得ることができた。このことから、複数サンプルを用いたパルス磁界印加

実験に本装置を使用することの有効性が確認できた。

脳腫瘍細胞へのパルス磁界印加実験においては、磁界強度2.0 mT、繰り返し周波数200 Hz、デューティ比50%、立ち上がり時間0.4 msのパルス磁界を印加することで、脳腫瘍細胞の細胞周期が約3時間短縮される傾向が確認でき、このことからDNAの合成率が促進されることが示された。また、パルス磁界と抗癌剤を組み合わせた脳腫瘍細胞の生存率測定実験においては、パルス磁界を6時間印加した後に抗癌剤を投与した場合、抗癌剤のみの場合に比べて細胞の生存率が減少することが確認でき、抗癌剤の少ない投与で脳腫瘍の治療が行えることが示唆された。

現在、分子生物学に磁場の作用を検討中であり、治療応用に向けて、実験を行う必要がある。

謝 辞 本研究の装置作製に当たり多大なご指導をいただいた東京電機大学の大貫俊哉助手に感謝申し上げます。この研究の一部は文部省科学研究費補助金基盤研究(C) 09680867の下で行った。

文 献

- 1) S. Ueno, T. Matsuda, and M. Fujiki: *Advances in Biomagnetism*, p. 529 (1989)
- 2) 志賀 健, 宮本博司, 上野照剛: 磁場の生体への影響 (てらばいあ, 東京, 1991).
- 3) A. R. Liboff, T. Williams, D. M. Strong, and R. Witar: *Science*, **223**, 818 (1984).
- 4) Y. Omote, S. Nakajima, H. Hayashi, K. Oshima, K. Yamazaki, Y. Kubo, and N. Samejima: *Biomagnetism*, p. 530 (1987).
- 5) K. Takahashi, I. Kaneko, M. Date, and E. Fukuda: *Experientia*, **42**, 185 (1986).
- 6) R. Goodman, C. Andrew L. Bassett, and S. Henderson: *Science*, **220**, 1283 (1983).
- 7) 内川義則, 小林宏一郎, 内田靖浩, 杉山 聡, 宮下 収: 日本応用磁気学会誌, **21**, 737 (1997).
- 8) 林 則行, 丸尾和也, 伊坂勝生, 横井良秀: 電気学会放電研究会資料, **ED-93-200**, 19 (1993).
- 9) 湯ノ口万友: 電気学会論文誌 A, **111**(9), 829 (1991).
- 10) 湯ノ口万友, 齊藤正男: 医用電子と生体工学, **32**(3), 206 (1994).
- 11) 山崎健一, 河本 正, 重光 司: 電気学会論文誌 C, **116**(2), 193 (1996).
- 12) K. R. Davey, C. H. Cheng, and C. M. Epstein: *IEEE Trans. Biomed. Eng.*, **38**(5), 418 (1991).
- 13) 戸川隼人: 数値計算 (岩波書店(株), 東京, 1991).

1997年10月28日受理, 1998年2月2日採録