

## 学位論文内容の要旨

Hyperthermia generated with ferucarbotran (Resovist®)  
in an alternating magnetic field enhances cisplatin-induced apoptosis  
of cultured human oral cancer cells

(口腔癌における温熱療法の応用)

Itaru Sato

佐藤 格

Department of Oral and Maxillofacial Surgery  
Yokohama City University Graduate School of Medicine  
横浜市立大学 大学院医学研究科 医科学専攻  
顎顔面口腔機能制御学

(Doctoral Supervisor : Iwai Tohnai, Professor)

(指導教員：藤内 祝 教授)

## 学位論文内容の要旨

### Hyperthermia generated with ferucarbotran (Resovist®) in an alternating magnetic field enhances cisplatin-induced apoptosis of cultured human oral cancer cells

(口腔癌における温熱療法の応用)

.....

#### 1. 序論

頭頸部癌のなかでもとりわけ口腔癌は、手術療法によって顔面の変形による審美障害、口腔機能低下による摂食・嚥下障害、構音障害が著明である。また、進行癌や再発症例においては化学放射線療法に対して抵抗性を示すものがある。そこで、手術回避、また放射性治療や化学療法に対して抵抗性を示す症例に対し、温熱療法を治療法の選択肢の1つとして着目している。癌細胞に熱を加えた場合、42.5℃を過ぎると急激に死滅するようになる。また、正常組織より癌の組織が熱に弱いことが示されており、この性質を利用し正常細胞にはダメージを与えず癌細胞のみを選択的に死滅させるのが温熱療法の考え方である(van der Zee 2002)。近年、温熱療法は癌治療の補助療法として研究や臨床の場で進歩を遂げてきた。そして、その抗腫瘍効果は大きな成果をあげている。温熱療法は、Radio Frequency(以下 RF)誘電加温装置やマイクロ波加温装置を用いた外部加温法が一般的である。口腔癌の原発巣への温熱療法は、従来の RF 誘導加温装置ではアプリケーションの装置が原発巣へは解剖的に使用出来ないことより、きわめて困難な部位とされていた。そこで、磁性体を用いた磁場誘導組織内加温法が考案され、臨床的にも試みられた(Tohnai et al. 1996)。しかし、磁性体を用いた組織内加温法は腫瘍内への刺入方向により安定した温度が得られないため、磁性微粒子を用いた組織内加温法に注目した(Hamaguchi S, et al. 2003, Matsuno H, et al. 2001)。

われわれはその1つとして MRI 造影剤であるフェルカルボトランを用いた温熱療法の抗腫瘍効果、およびフェルカルボトランを用いた温熱療法とシスプラチンとの併用療法について検討を行ったので報告する。

## 2. 実験材料と方法

細胞はヒト由来扁平上皮癌細胞 (OSC-19 細胞, HSC-3 細胞)、抗癌剤はシスプラチンを用いた。温熱療法は、交流磁場下において発熱するフェルカルボトランを用いた。抗腫瘍効果は、細胞毒性試験である 2,3-bis(2-methoxy-4-nitro-5-sulfophenyl)-5-[(phenylamino)-carbonyl]-2H-tetrazolium inner salt (以下 XTT) アッセイを用いて評価した。抗癌剤や温熱によって増強される活性酸素 Reactive Oxygen Species (以下 ROS) の産生を fluorescent dye 2', 7'-dichlorodihydrofluorescein diacetate を用いた ROS アッセイで測定した。アポトーシスの評価は、Annexin V と 7-amino-actinomycin D (以下 7-AAD)にて染色し、フローサイトメトリーを用いて測定した。細胞周期は、細胞を propidium iodide (PI)で染色し、フローサイトメトリーで測定した。温度測定はサーモグラフィーとサーモメーターを使用した。交流磁場発生装置は、HOT SHOT で 周波数 308 kHz 電流 250A の条件下で行った。

## 3. 結果

XTT アッセイにおいて、シスプラチンは OSC-19 細胞と HSC-3 細胞に対して濃度依存的に抗腫瘍効果を示した。シスプラチンに 42.5℃の温熱療法を併用することで抗腫瘍効果の増強を示した。ROS の産生も同様に、シスプラチン単独に比べて温熱を加えることで明かに増加した。交流磁場下で培養細胞に添加したフェルカルボトランは、42℃以上まで温度上昇を示した。シスプラチンに交流磁場を用いてフェルカルボトランを発熱させることで得られる温熱作用を併用することでアポトーシスは増強したが、細胞周期に関しては、大きな変化は認められなかった。

## 4. 考察

磁性体であるフェルカルボトランは、交流磁場下で発熱し温熱療法として応用が可能である。また、シスプラチンと併用することで抗腫瘍効果の作用を増強させ新しい口腔癌の治療法となることが示唆された。

## 5. 引用文献

Hamaguchi S, et al. (2003) Selective hyperthermia using magnetoliposomes to target cervical lymph node metastasis in a rabbit tongue tumor model. *Cancer Sci.* 94(9):834-839.

Matsuno H, et al, (2001) Interstitial hyperthermia using magnetic cationic liposomes inhibit to tumor growth of VX7 transplanted tumor in rabbit tongue. *Jpn. J. Hyperthermic Oncol.* 17: 141-150.

Tohnai I, et al. (1996) Preoperative thermochemotherapy of oral cancer using magnetic induction hyperthermia (Implant Heating System: IHS). *Int. J. Hyperthermia* 12(1):37-47.

Van der Zee J (2002) Heating the patient: a promising approach? *Ann. Oncol.* 13(8):1173-1184.

## 6. 論文目録

### I. 主論文

Itaru Sato, Masanari Umemura, Kenji Mitsudo, Mitomu Kioi, Hideyuki Nakashima, Toshinori Iwai, Takayuki Fujita, Utako Yokoyama, Satoshi Okumura, Xianfeng Feng, Kayoko Ito, Akiyoshi Miyajima, Ayako Makino, Maki Iwai, Haruki Eguchi, Iwai Tohnai, Yoshihiro Ishikawa (2014) Hyperthermia generated with ferucarbotran (Resovist®) in an alternating magnetic field enhances cisplatin-induced apoptosis of cultured human oral cancer cells. *J. Physiol. Sci.* (in press)

### II. 副論文

なし

### III. 参考論文

Hisashi Oshiro, Hidenobu Fukumura, Kiyotaka Nagahama, Itaru Sato, Kei Sugiura, Hiroaki Iobe, Emi Okiyama, Toshitaka Nagao, Yoji Nagashima, Ichiro Aoki, Shoji Yamanaka, Ayumi Murakami, Jiro Maegawa, Takashi Chishima, Yasushi Ichikawa, Yoshihiro Ishikawa, Takeshi Nagai, Masaharu Nomura, Kenichi Ohashi, Koji Okudela (2013) Establishment of Successively Transplantable Rabbit VX2 Cancer Cells That Express Enhanced Green Fluorescent Protein. *Med. Mol. Morphol.* (in press)