

悪性黒色腫に対するGHz帯マイクロ波による がん温熱療法の *in vivo* における検討

In vivo study of hyperthermia with GHz band microwave
in malignant melanoma

○岸和寿¹、永根大幹²、金井詠一¹、和田崇彦²、柴田悠貴²、中村靖彦³、山下匡²、山田一孝¹

¹麻布大学 獣医学部 獣医放射線学研究室、²生化学研究室、³シュナイドテック株式会社

INTRODUCTION

イヌやヒトに生じる悪性黒色腫は悪性度の高い腫瘍性疾患であり、外科切除と共に化学療法および放射線療法が適用される。しかし、現在の治療法では悪性黒色腫の完治は難しく、副作用の少ない補助療法が求められている。

がん温熱療法とは熱を利用した癌治療法であり、細胞は42.5℃以上の加温によって急速に死滅するという原理を応用した治療法である。

現在、ヒトのがん治療では8 MHzの電磁波を用いた温熱療法が臨床適用されている。このMHz帯による温熱治療では60-90分間の加温が必要となるため、不動化に全身麻酔を要する獣医領域においてその臨床応用は難しい。

<解決方策>

周波数が高いGHz帯マイクロ波を用いた外部加温方法を開発し、無麻酔下で実施可能な温熱療法を確立する

OBJECTIVE

無麻酔下で急速な加温を可能にするGHz帯マイクロ波による外部加温装置を用いて、*in vivo*における温熱療法の抗腫瘍効果および獣医領域における臨床応用の可能性について検討

温熱療法を用いたがん治療戦略の基盤を構築

MATERIALS & METHODS

- 使用細胞：マウス黒色腫B16F10細胞
- 使用動物：C57BL/6Nマウス(メス、n=24、6-8 wks)
B16F10細胞を右後肢の足底部に $1 \times 10^6/30\mu\text{L}$ 接種することで移植腫瘍モデルマウスを作製 (Fig 1)
温熱治療後の腫瘍成長抑制作用について解析
- 温熱療法：①温浴法：43℃の温浴
②2.45 GHzマイクロ波照射装置 (シュナイドテック株式会社製) 腫瘍サイズ100-200mm³の時点で温熱治療を実施

治療プロトコル

温浴(WB)：43℃温浴に63秒間浸漬 (Fig 2)
マイクロ波(MW)：7秒照射3秒休止=1回照射とし、9回(63秒間)照射 (Fig 3)

- アポトーシスの評価：免疫組織化学染色(cleaved caspase-3)

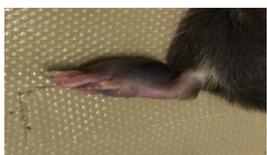


Fig 1. 足底部へのB16F10移植腫瘍

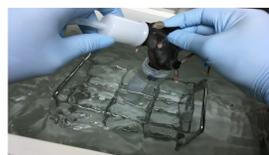


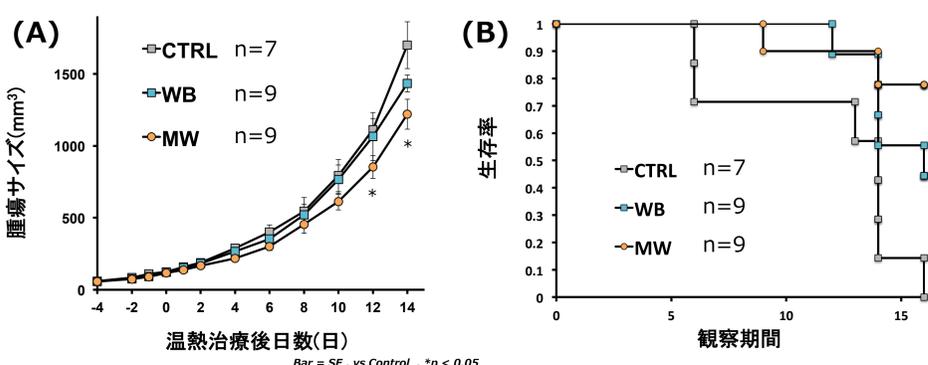
Fig 2. 43℃に加温した温浴を用いた温熱療法



Fig 3. マイクロ波照射装置を用いた温熱療法

RESULTS

Fig 5. B16F10移植腫瘍に対する温熱療法の腫瘍成長抑制作用



(A)腫瘍成長抑制試験、(B)Kaplan Meier法による生存率の解析

マイクロ波加温(MW)はB16F10移植腫瘍の成長を有意に抑制した。
温浴群(WB)では移植腫瘍の成長に対する有意な抑制作用は認められなかった。
温熱治療日は0日目とした。CTRL：無治療群、WB：温浴群、MW：マイクロ波群

DISCUSSION

1. マイクロ波照射による副作用は認められなかった

- 7秒照射3秒休止の照射プロトコルは適切であったことが示唆された
- 正常細胞とがん細胞における血管拡張能力の差を利用し、熱放散によって正常細胞は傷つけることなく選択的にがん細胞を加温したことが示唆された

2. 温浴を用いた温熱療法の臨床応用は難しいことが示唆された

- 水の熱伝導率は高く、アポトーシス細胞の増加が認められたが、温浴への浸漬が必要な加温方法であり、臨床において様々な部位に発生する腫瘍に適用する治療法としては適切でないことが示唆された

CONCLUSION

GHz帯マイクロ波は短時間の加温で腫瘍細胞にアポトーシスを誘導し、腫瘍成長を抑制する



GHz帯のマイクロ波を使用することで
獣医療に適した温熱治療が可能となると考えられた

<今後の課題>

- 深部腫瘍を対象にした研究
- カルボプラチン併用による抗腫瘍効果増強の解析
- 照射回数を増やした治療プロトコルの検討

GHz帯マイクロ波は発熱効率が高く、*in vitro*においてマウス黒色腫B16F10細胞の生存率を短時間で顕著に低下させたという研究成果がある(Fig 4)。移植腫瘍モデルマウスを用いた *in vivo* 試験は、臨床応用における安全性や治療プロトコルの検討においても重要である。

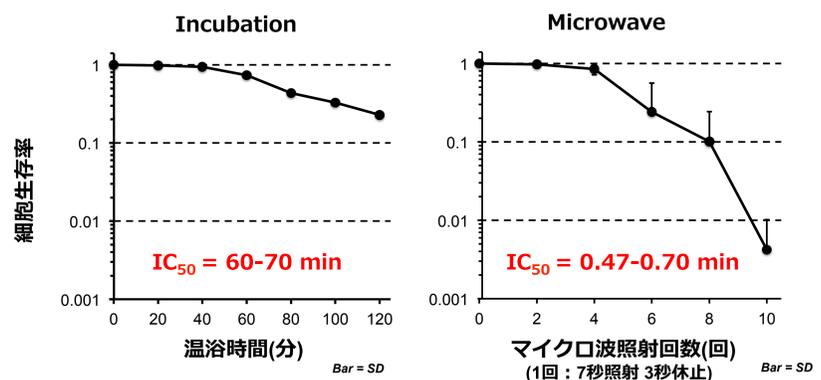
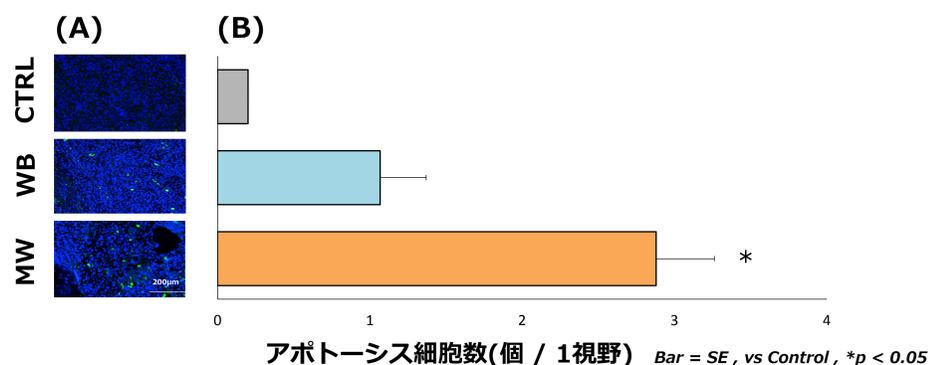


Fig 4. マイクロ波加温は細胞生存率を短時間で顕著に低下させた

(出典：和田崇彦、永根大幹「コロニー形成試験によるB16F10細胞生存率の解析」2017.1.17 成果報告)
左：43℃インキュベーター 右：2.45 GHz帯マイクロ波

Fig 6. 温熱療法による腫瘍細胞のアポトーシス誘導



(A)免疫組織化学染色、(B)アポトーシス細胞数の評価

マイクロ波加温(MW)は腫瘍塊のアポトーシス細胞数を有意に増加させた。
アポトーシス細胞数は蛍光顕微鏡を用いて200倍で5視野を観察し、1視野当たりの細胞数を算出した。