

レビュー

## マイクロ波照射による細胞への影響とその応用

### Microwave Effects on Cells and Applications to Cancer Therapy

平田 桃<sup>1</sup>、川内 敬子<sup>1</sup>、西方 敬人<sup>1,2</sup>、中西 伸浩<sup>2,3</sup>、臼井 健二<sup>1,2\*</sup>  
Momo Hirata, Keiko Kawauchi, Takahito Nishikata, Nobuhiro Nakanishi, Kenji Usui

1. 甲南大学フロンティアサイエンス研究科 (FIRST)、
  2. 非電離放射線生態環境総合研究所 (RINNIR)、
  3. 株式会社ディーエスピーリサーチ
- 1, 2. 〒650-0047 兵庫県神戸市中央区港島南町 7-1-20、  
3. 〒650-0047 兵庫県神戸市中央区港島南町 1-4-3

1. Graduate School of Frontiers of Innovative Research in Science and Technology (FIRST),
2. Research Institute for Nanobio-environment and Non-Ionizing Radiation (RINNIR),  
Konan University, 7-1-20, Minatojima Minamimachi, Chuo-ku, Kobe, Hyogo 650-0047 Japan
3. DSP Research, Inc., 1-4-3, Minatojima Minamimachi, Chuo-ku, Kobe, Hyogo 650-0047 Japan

corresponding author\*, e-mail address : kusui@konan-u.ac.jp

キーワード: アポトーシス、がん治療、細胞、細胞膜透過、免疫、マイクロ波

Keywords: Apoptosis, Cancer therapy, Cell, Cell penetration, Immunity, Microwave

#### Abstract

Microwaves (MW) are applied to a variety of situations including daily life, industry, and medical care. In addition, the biological effects of MW are attracting more attention than ever before. Various researches of MW effects on life phenomena has been conducted. However, detailed mechanisms of such effects have been rarely investigated based on biology and chemistry. In the last two decades, it has been reported to improve cellular functions or to have negative effects on cells. Very recently, cellular researches have been conducted with the aim of applying MW to cancer treatment. Hyperthermia has already been in practical use, and other methods are now under investigation. This review summarizes some researches about effect of MW on cells and show some applied researches on cancer treatment. These studies could contribute to various applications including medical treatment.

#### 1. 緒言

マイクロ波 (MW) はテレビの衛星放送や、無線、電子レンジなど日常生活の中で様々な用途で用いられており、現代社会において必要不可欠なものである。また、

日常以外でも工業生産などの産業や医療の場面などで様々な応用が行われており広く注目されている。産業の場面で MW は、局所的または急速な加熱により反応

時間の短縮や収率の増加といった利点があるため、有機化合物やペプチドおよび無機化合物・材料などの合成・作製<sup>1-10</sup>など多くの分野で用いられている。MWは、熱的効果だけではなく非熱的と考えられる効果（例えば、極性を持つ反応種へのエネルギーの供給や反応中間体の直接的な活性化）により化学反応を促進すると考えられている<sup>8,9</sup>。しかし、そのメカニズムについては明らかとなっていない部分も多い。また近年では、5G（第5世代移動通信システム）の普及など日常生活の中でMWによる無線技術が広く浸透してきている。

以上のようなMWの様々な場面での活用にともない、従来よりもMWによる生体への影響に注目が集まっている。しかし、現状では生体へのMWの影響やその詳しいメカニズムは明らかとなっておらず、人体への安全性に懸念を示す声もある。そこでMWの安全な使用を普及させるために、MWが生体に与える影響について様々な評価やそのメカニズムの解明が行われている。我々（甲南大 FIRST バイオ計測化学研究室（臼井ら）および RINNIR）もこれまで、生命科学現象の一例として歯や骨などを形成するバイオミネラリゼーションを題材に、ペプチドを用いたミネラリゼーション（無機物沈殿）におけるMWの分子レベルの影響調査を行ってきた<sup>11</sup>。しかしながら、より様々なMWの生体への

影響を調査するためには、分子レベルの現象の一例だけでは不十分であり、細胞レベルでの種々の影響調査も必要不可欠である。また最近、MW特有の効果による細胞の機能向上についての研究や、疾患の治療への応用を目指した研究も行われ始めている<sup>12,13</sup>。そこで本レビューでは、特に細胞について着目し、これまで明らかになっているMWが及ぼす細胞への影響について第2章で概説する。次に第3章で特にがん治療への応用について最新の研究を紹介する。

## 2. 細胞レベルでの MW の影響

### 2-1. はじめに

本章では現在報告されている様々な細胞に対するMWの影響を紹介する。Table 1には近年発表されたMWの細胞への影響についての論文をまとめた。詳細に入る前にここで、生体に対するMW照射時には、熱作用を評価する量として比吸収率（SAR：Specific absorption rate）と呼ばれる値が良く用いられることを紹介しておく。SARは、生体にMWを照射することによって単位質量当たりの組織に単位時間に吸収されるエネルギー量でありW/kgの単位で表される。また、体表面の単位面積当たりに吸収されるエネルギー量はmW/cm<sup>2</sup>（またはW/cm<sup>2</sup>）の単位で表される<sup>14,15</sup>。

Table 1 Various effects of MW on cells

細胞への効果	細胞種	MW 周波数 (GHz)	MWの強さ	Ref.
アポトーシスの誘導	ラット副腎髄質褐色細胞PC12	2.856	30 mW/cm <sup>2</sup> ~	18
細胞死	マウスB16メラノーマ細胞	2.45	2 kW	19
遺伝毒性	ラット	0.9	6 W/kg	20
	マウス	1.9	10 W/kg	
DNAの損傷	ラット	2.1	39.57 mW/kg	21
細胞増殖の促進	<i>Serratia marcescens</i> (グラム陰性菌)	2.45	90 W	24
	<i>Chromobacterium violaceum</i> (グラム陰性菌)			
	<i>Staphylococcus aureus</i> (グラム陽性菌)			
免疫活性の向上	ヒト末梢血単核細胞	0.9	0.024 W/kg	25
物質取り込み能の向上	<i>Escherichia coli</i> (グラム陰性菌)	18	— ※1	28
	<i>Staphylococcus aureus</i> (グラム陽性菌)	18	— ※1	29
	<i>Staphylococcus</i> (グラム陽性菌)			
	<i>Pacificibacter maritimus</i> (グラム陰性菌)			
	ウサギ赤血球	18	— ※1	30
	ラット副腎髄質褐色細胞PC12	18	— ※1	31
<i>Escherichia coli</i> (グラム陰性菌)	2.45	400~2000 W	35	
カルシウムチャンネルの活性化	マウス胚性がん細胞 P19	0.7~1.1	0.5 W/kg	33

※1 モデリングでの予測により、ペトリ皿中央のMWの強さは約20 kW/m<sup>3</sup>程度であると推測される。

Table 1 に話を戻すと、MW が細胞に悪影響を及ぼすという報告がある一方、生体反応の活性化など様々な効果をもたらすという報告もあった。今回は Table 1 には挙げていないが、MW の熱的な効果により細胞を死滅させることは以前から既に報告されており、がん細胞の温熱療法などに応用されている。この温熱療法については第 3 章で紹介することとし、本章では、温熱療法のような MW の直接的な熱効果による細胞死は除外し、それ以外の細胞に与える効果・影響についての報告をまとめた。それら報告の中では、細胞毒性に関する研究は多く行われているが、細胞の機能の向上に関する研究はまだ報告が少ないことがわかった。以下、種々の細胞種に対するこれら様々な影響の詳細について述べる。

## 2-2. MW が細胞の生存に与える影響

2004 年に M. Capri らが行ったヒト末梢血単核細胞への 0.9 GHz、76 mW/kg の MW による影響を調査した報告<sup>16</sup>および G. J. Hook らが行ったヒトリンパ芽球様細胞 Molt-4T に 0.813~0.836 GHz、26 mW/kg の MW を照射した報告<sup>17</sup>によると、MW によってアポトーシスは誘導されず、生存に影響を与えないという結果が示されていた。これらの報告のように 2000 年代初頭では、MW の熱以外の効果は細胞に影響を与えない見解が大半であった。しかし、2010 年以降、MW の熱以外の効果が細胞に何らかの影響を与えることが示唆されはじめ、様々な調査が現在も行われている。以下、それらについてさらに詳細に述べる。

### 2-2-1. 細胞への悪影響

まず、MW の加熱以外の影響により DNA の損傷および細胞死が起こった事例についていくつかの報告を紹介する。2014 年、H. Zuo らが、2.856 GHz の MW におけるラット副腎髄質褐色細胞 PC12 への影響を調査したところ、ミトコンドリアの膜電位の低下や DNA の断片化を引き起こすことで Caspase-3 を活性化し、アポトーシスを引き起こす細胞が増加することを示した<sup>18</sup>。このアポトーシス誘導の増加は MW の出力が 30 mW/cm<sup>2</sup>以上の条件で確認された。また、2018 年、A. Rosin らはマウス B16メラノーマ細胞に対する MW の

影響を調査した<sup>19</sup>。その結果、MW 非照射の加熱条件では細胞死が起こった割合が全体の 12%未満であったが、2.45 GHz、2 kW の MW を照射することで全体の 70%以上の細胞が死滅することが明らかとなった。さらに、MW 照射後に多孔質様の細胞膜が観察されたことから細胞膜の損傷が起こっていることが明らかとなった。この細胞膜の損傷は MW 非照射の同程度の加熱条件では観察されず、MW の熱以外の影響により腫瘍細胞を死滅させることが示唆された。さらに、2020 年、S. L. Smith-Roe らによって行われた遺伝毒性を評価した研究では、ラットに 0.9 GHz、マウスに 1.9 GHz、1.5~10 W/kg の MW を 14 週間、24 時間当たり 550 分ずつ照射することにより、雄ラットの海馬、雄マウスの前頭皮質、雌マウスの白血球においてダメージを受けた DNA が確認された<sup>20</sup>。このことから、組織依存적ではあるが MW 照射によって DNA 損傷を優位に増加させることが明らかとなり、遺伝毒性を有することが示唆された。この DNA の損傷は MW の出力が高くなると増加することが確認された。また 2019 年、M. E. Alkis らは、ラットに 0.9 GHz、0.0845 W/kg、1.8 GHz、0.04563 W/kg、2.1 GHz、0.03957 W/kg の MW を 24 週間、一日 120 分ずつ照射したところ、周波数の上昇に伴い DNA 損傷と酸化ストレス指標が増加することを明らかにした<sup>21</sup>。これらの結果から、特に高周波数の MW 照射により酸化ストレスの原因となる活性酸素を増加させていることが示唆された。この活性酸素は、放射線照射などによる物理的な要因や、薬物や生体物質などの酸化や酵素反応などにより生成し、DNA 損傷の原因になることが知られている<sup>22, 23</sup>。そのため、MW 照射による物理的な要因や、これら酸化や酵素反応の促進により、活性酸素を増加させ、DNA に損傷を与えることで細胞のアポトーシスを誘導したと考えられる。

### 2-2-2. 細胞への好影響

一方で、MW 照射により増殖が促進した事例を紹介する。前述の H. Zuo らにより細胞への悪影響が発表された同じ年である 2014 年、S. Raval らが、2.45 GHz、90 W の MW が 2 種類のグラム陰性菌 (*Serratia marcescens*, *Chromobacterium violaceum*) と 1 種類のグラム陽性菌 (*Staphylococcus aureus*) の増殖に及

ぼす影響を調査したところ、*Chormobacterium violaceum* と *Staphylococcus aureus* においては、条件にもよるが、MW の照射により増殖が促進することが示された<sup>24</sup>。この研究では、MW 照射と同時にサンプルを氷冷しており、温度の上昇が抑制されていたことから、MW の熱以外の効果が細胞の増殖を促進したと考えられている。しかし、その詳細なメカニズムについては明らかとなっていない。

以上のようにヒトの細胞に対しては 0.9 GHz 以下の低周波数の MW は生存に影響を与えないが、2.45 GHz 以上の比較的に高い周波数の MW を照射することでアポトーシスを誘導することが示唆される。細菌細胞においては 2.45 GHz の MW により増殖促進効果が示されており、細胞種により MW の影響が異なると考えられる。これは、各細胞の膜構造の違いによる影響が大きいのではないかと考えられる。

### 2-3. 免疫細胞の活性の向上

MW 照射が免疫機能の向上にも影響を与えることが報告されている。2020 年、Ł. Szymański らが、ヒトの血液から分離した T 細胞、単球などを含む PBMC (末梢血単核細胞) に 0.9 GHz、0.024 W/kg の MW を 2 回照射し免疫調節に対する MW の影響を調査した<sup>25</sup>。その結果、1 回目の照射後において単球の免疫応答性が MW 非照射条件と比較して向上することが明らかとなった。また、MW 照射により免疫細胞の一種である T 細胞の免疫応答性も向上することが示された。この単球と T 細胞の応答性は 2 回目の照射後には 1 回目の照射後と比較して低下することが示された。さらに 2 回目の照射後において、受容体に対する IL-2 の結合量が向上することが明らかとなった。このことから、T 細胞を分化・増殖させる働きを持つサイトカインである IL-2 の分泌量が増加していることが示唆された。これらの結果から、0.9 GHz の MW 照射は T 細胞を活性化させることが示唆され、免疫調節に影響を与えると考えられる。

### 2-4. 細胞膜への影響

#### 2-4-1. 細胞外からの物質の取り込みの向上

2-2-1 に示したように MW 照射により細胞膜に損傷を与える可能性が示唆されており、細胞膜への影響に焦点を当てた研究も多く報告されている。細菌の細胞外皮は細胞膜と細胞壁から構成されており、細胞膜はリン脂質二重層であり、物質の輸送は制限されている<sup>26</sup>。真核生物は細胞壁を持たず、リン脂質二重膜で構成されている細胞膜を持ち、細菌の細胞膜と同様に細胞膜を介した物質の取り込みには選択性がある。そのため、細胞膜を透過できる物質は厳密に制御されている<sup>27</sup>。

*Escherichia coli* を用いた研究では、細胞の形態が一時的に変化し、加熱処理では細胞に取り込まれないデキストラン (15.9 nm) が 18 GHz の MW を 9 分間照射することにより細胞内に取り込まれていることが示された<sup>28</sup>。また、グラム陽性球菌 (*Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*) およびグラム陰性菌 (*Pacificibacter maritimus*) を用いた研究では、18 GHz の MW を同様に照射したところ 23.5 nm のシリカナノ粒子の内在化が見られた<sup>29</sup>。これらの報告によると加熱条件では細孔の形成が確認されなかったことから、MW の加熱による影響ではなく MW の特有の非熱的な効果により可逆的な細孔が形成され透過性が誘発されたと考えられる。

また、細菌に限らず、ウサギの赤血球およびラット副腎髄質褐色細胞 PC12 を用いた研究においても 18 GHz の MW を照射することで、従来透過能を持たないナノ粒子 (23.5 nm) の取り込みが向上することが明らかとなっており<sup>30,31</sup>、いずれにおいても細胞の生存に影響を与えないことが示されている。また、これらの実験<sup>28-31</sup>では半導体型の MW 発振装置を使用している。2-2 では、高周波数の MW は細胞死を誘導することを示唆してきたが、このような細胞膜に対する影響の報告では、照射時間が短いため、MW による損傷が細胞内まで進行せず、細胞膜への影響に留まっているのではないかと考えられる。

#### 2-4-2. 分子メカニズム

以上の報告をまとめると、細胞膜透過効率の向上は MW 照射により細胞膜に細孔の形成などの形状の変化や、膜の脱分極が生じたためであると考えられている。

また、MW がイオンチャネルの開閉速度の変化、チャネルを介したイオン流出に直接影響を与えることで膜構造を変化させ、最終的に  $\text{Ca}^{2+}$  などのイオンや小分子への浸透性の変化を引き起こすことが示唆されている（半導体型 MW 発振装置を使用）<sup>32</sup>。

実際に 2008 年、V. S. Rao らのマウス胚性がん細胞 P19 を用いた研究により、0.7~1.1 GHz、0.5 W/kg の MW 照射により電位依存性カルシウムチャネル (VGCC) が活性化することが明らかとなっている<sup>33</sup>。この現象は、原形質膜の電圧配向が変化することによって引き起こされると考えられている。話は少し変わるが、後にこの現象を利用した研究も行われている。A. A. Pilla により、MW 照射直後に VGCC の刺激により細胞内の  $\text{Ca}^{2+}$  が増加し、一酸化窒素合成酵素 (NOS) を活性化し、一酸化窒素 (NO) を約 2 倍増加させることが明らかとなった<sup>34</sup>。NOS は細胞内の  $\text{Ca}^{2+}$  濃度が上昇すると活性化され、NO を合成する酵素であり、MW 照射による電位依存性カルシウムチャネルの活性化により最終的に NO の合成を促進することが示唆されている。NO は血管拡張物質であるため、NO の合成を促進することで動脈硬化などの治療に応用できると考えられる。

また、18 GHz の MW のみならず 2.45 GHz の MW においても 400~2000 W の出力の MW を *Escherichia Coli* に照射することで膜の完全性がわずかに損失することが明らかとなった<sup>35</sup>。しかし、その非熱的な効果の詳細なメカニズムは明らかとなっていない。以上より、現在、考えられているメカニズムとしては、膜電位が閾値に達すると、膜の分子構造の再配向が起こり、細孔が形成され、結果としてイオンおよび分子に対する細胞膜透過性が向上するというものである。

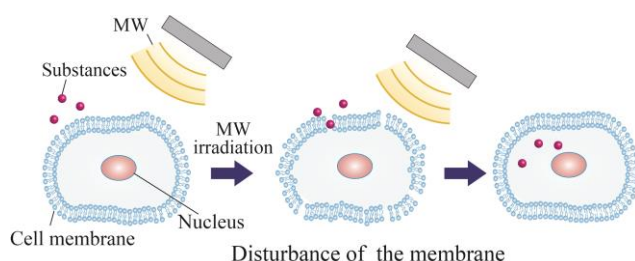


Fig. 1 Substance uptake by MW irradiation.

さらに、細胞膜への詳細な影響を調査した報告も紹介する。A. Beneduci らは生体膜を模倣したホスファチジルコリンのベシクルに 53.57 GHz、5~20  $\mu\text{W}$  の MW を照射し MW の影響を調査した<sup>36</sup>。その結果、MW の非熱的な影響により膜の界面で相転移温度が上昇することで、相転移領域 (リップル相領域) の増大が引き起こされることが示された (Fig. 1, 中央)。このことは、MW を照射すると膜の損傷は抑えられたまま膜の流動性と透過性が増加し、ナノ粒子などの取り込み効率が上昇するというこれまでの結果を裏付けている (Fig. 1)。

### 2-4-3. 応用に向けて

これらの報告を参考に、我々 (甲南大 FIRST バイオ計測化学研究室 (臼井ら) および RINNIR) も細胞膜を透過するペプチド (CPP: Cell penetration peptide) について MW の影響調査を行い始めている。具体的にはまず、CPP の一つであるアルギニンリッチペプチド<sup>37</sup> の細胞導入を題材に、アルギニン残基数の異なる蛍光色素付きペプチドを合成した。それらを細胞に添加し、2.45 GHz、10 W の MW 照射下で 30 分間、37°C で 90 分間インキュベートした。その後、蛍光測定によるペプチド量の定量と共焦点顕微鏡観察により MW 照

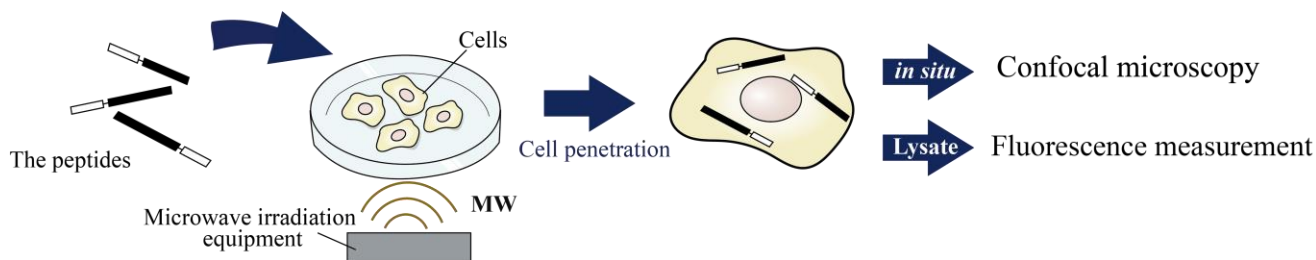


Fig. 2 Scheme of our study.

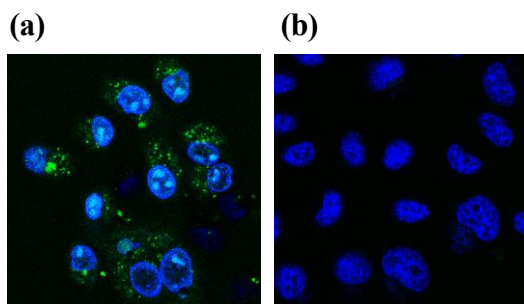


Fig. 3 Confocal microscopy Z-stack images. Cellular uptake of Hoechst33342 (blue) and an arginine-rich peptide conjugated with carboxy-fluorescein. (green) (a) with MW irradiation (b) without MW irradiation.

射条件と単純加熱 (MW 非照射) におけるペプチドの細胞導入量の変化を調べた (Fig. 2)。その結果、アルギニン残基数の少ない配列において MW 照射により細胞導入効率が向上することが示された (Fig. 3)。これにより、透過能の違いにより MW の影響の受けやすさが異なることが示唆された。また、本研究では MW 照射による細胞生存率への影響はないことが示されている。今後、ペプチドの配列や MW 照射の周波数、出力を検討することで、より効率的に標的物質を細胞に送達することを目指す。このような細胞膜に対する MW の影響の調査を進めることで、これまでに紹介した様々な生体反応への影響の理解が進むのではないかと期待される。

### 3. MW のがん治療への応用

現在、MW を用いたがんの治療法として主に温熱療法と音響療法によりがん細胞を死滅させる手法が研究されている。温熱療法は一般的な治療法としてすでに

普及しているが、音響療法は未だ研究段階であり、実用には至っていない。また、がんの治療に多く用いられている化学療法の効果を増強する手段として間接的に MW を用いる手法も研究されている (Table 2)。

#### 3-1. 温熱療法

温熱療法は、がん細胞が正常細胞と比べて熱に弱いという性質を利用したがんの治療法 (ハイパーサーミア療法) であり、MW による発熱を利用した治療である<sup>38</sup>。熱による細胞致死効果によりがん細胞の増殖を抑制する効果があり、患者への負担が少ない低侵襲療法として注目されている。しかし、温熱療法単独の使用では抗がん剤や放射線を用いた治療法に比べてがんの抑制効果が低いため、近年では、化学療法や放射線治療と併用して使用されている<sup>39</sup>。温熱療法と化学療法を併用することでより治療効果を高め、抗がん剤の使用量を減らし、副作用の少ない治療を行うことが可能になる。

また、研究段階ではあるが、ナノ粒子などの物質と MW を組み合わせることでより効果的にがん細胞を死滅させる手法が開発されている。これらの治療法では、マイクロ波増感剤としてナノ粒子を用いることで、細胞内で局所的に MW のエネルギーを熱に変換する。2-2 で述べたように高出力で MW を照射すると、MW のみで細胞を死滅させることができるが、細胞選択性がなく、広範囲の細胞に損傷を与えてしまうという問題点がある。そこで MW 増感剤を用いることで低出力の MW で選択的に細胞死を誘導することができる。2016 年、水溶性物質でカプセル化されたフラーレンをヒト前立腺がん細胞 PC-3 に添加し 2.7 GHz、1.26 W の

Table 2 Cancer treatments using MW

	直接的な効果		間接的な効果
	1. 温熱療法	2. 音響療法	3. 化学療法の増強
Ref.	38, 39	42-44	45, 46
メリット	副作用がほとんどない 既に実用化されている	薬剤を使用せずに増殖を抑制することが可能	治療効果が高い
デメリット	単独の使用では治療効果が低く、化学療法や放射線治療との併用が一般的	がん細胞への特異性に課題が残る	薬剤を使用するため、副作用がある

MW を照射したところ、MW を使用しない一般的な加熱と比較して高効率で死滅させることが可能であると報告された<sup>40</sup>。また 2018 年には、ミトコンドリア送達分子を修飾した MW 増感剤(ジルコニア複合ナノ粒子)を用いることで MW 照射によりミトコンドリアで特異的に熱を発生させることができ、MW 増感剤を使用しないコントロールと比較してヒト肝がん細胞 HepG2 の増殖抑制に効果的であると報告された<sup>41</sup>。このように MW 加熱による温熱療法と MW 増感剤を用いる治療法は、温熱療法のみでは死滅させることが難しかったがん細胞を低侵襲的に治療する新たな手法として期待されている。

### 3-2. 音響療法

近年では MW による熱的な効果だけではなく、非熱的な効果に着目した新しい治療法が研究されている。マイクロ波励起音響腫瘍療法 (TA 療法: Thermoacoustic therapy) は、超磁性酸化鉄ナノ粒子などの磁性を持つ物質や双極子を持つ物質が 6 GHz のパルス MW により細胞内で振動し、熱音響衝撃波と呼ばれる微細な衝撃波を生成し、この衝撃波により細胞に損傷を与える治療法であり、薬剤を使用しないがんの治療に有望である<sup>42</sup>。さらに、ミトコンドリアを標的とする単層カーボンナノチューブ<sup>43</sup> およびポリアルギニンプローブ<sup>44</sup> を用いた TA 療法では、MW 照射によりミトコンドリアを選択的に破壊する。このミトコンドリアの破壊によりアポトーシスを誘導することが報告され、がん細胞の 77.5% が死滅し、高い腫瘍抑制効果が示された。これらの効果は、2-4-2 で述べた MW による細胞の膜電位の変化もアポトーシスの誘導に影響を与えていると考えられる。しかし、がん細胞で特異的に熱音響衝撃波を発生させる必要があり、現在、その課題の解決と実用化に向けて研究が進められている。

### 3-3. 化学療法の増強

第 2 章で示された細胞膜への影響を応用し、2.45 GHz、10 W の MW 照射によりヒト乳がん細胞 MCF-7 およびヒト肺がん細胞 PC-3 において抗がん剤の取り込みが増加することが示された<sup>45</sup>。MW 照射のみでは細胞毒性はないが、MW 照射により抗がん剤を高効

率で細胞内に導入することにより生存率が優位に低下した。また、この際エンドサイトーシス阻害剤を添加しても抗がん剤の取り込みに影響を与えず、MW による効果はエンドサイトーシスの促進ではなく、細胞膜の透過性の向上または細胞膜の破壊により、細胞外分子の取り込みを促進することが示唆された。また、PC-3 細胞において 2.45 GHz、10 W の MW 照射により BODIPY の細胞膜への取り込みが促進された<sup>46</sup>。これらの結果から生存率に影響を与えず、膜の特性を変化させていることが示唆された。このように MW により薬剤の細胞への取り込みを向上させることで従来の化学療法の治療効果を増強することができると考えられる。

さらに、2-2-1 で述べたような MW のがん細胞への毒性・増殖抑制効果を化学療法と併用することも考えられる。7 種類のがん細胞および 1 種類の正常細胞(ヒト乳腺細胞 MCF-12A) に半導体発振装置を使用し、2.45 GHz、20 W の MW を照射したところ、がん細胞のみが死滅することが示された<sup>47</sup>。この報告では、MW 照射時と同じ温度での MW 非照射加熱条件ではがん細胞の増殖抑制効果が見られなかったことから、MW の熱以外の効果のがんの増殖抑制に影響を与えていることが示唆された。さらに、ヒト乳がん細胞 HL-60 を含む 7 種類のがん細胞の増殖抑制効果が見られたが、正常細胞である乳腺細胞の生存率には影響を与えず、がん細胞を効果的に死滅させることが明らかとなった。このことから、2-2 で述べたように細胞の種類によって MW のエネルギーを吸収する能力に差があり、特にがん細胞は MW の効果を受けやすいことが示唆された。

このようながん細胞のみを死滅させる効果に加え、抗がん剤の取り込み量を増強できる MW 照射の最適条件を確定することができれば、化学療法と MW を組み合わせた副作用の少ない治療法の確立につながる。現在、我々(甲南大 FIRST 腫瘍分子生物学研究室(川内ら))はこの治療法の創出に向けて、種々の抗がん剤の効果を最大限に引き出せる MW の条件を検討している。

## 4. 結言

MW の影響は照射する出力により、DNA の損傷や細胞膜の損傷により細胞のアポトーシスを誘導すると

いった報告がある。しかし、これらの報告は電磁波利用の国際的なガイドラインで定められている安全基準である  $2 \text{ W/kg}$  または  $2 \text{ mW/cm}^2$  以上の出力の MW によるものがほとんどであった。一方で、この基準以下の使用では、細胞死を誘導しないことが示唆され、毒性の有無は照射する出力に依存すると考えられる。本レビューで紹介した細菌、ヒトの細胞、さらにマウスおよびラットを用いた研究により MW 照射が免疫活性や細胞膜の物質取り込み能の向上、また、電位依存性カルシウムチャネルの活性化など生体反応を促進させる効果を持つことが明らかとなった。特に、細胞膜への影響については多数の報告があり、MW 照射により細胞膜が乱れることで透過能が向上することが明らかとなっている。さらに、近年では MW の特有の効果を利用したがんの治療への応用が盛んに行われており、MW 温熱療法の治療効果の向上や、薬剤を使用せず MW の波による振動でがん細胞を死滅させる音響療法、また、細胞膜の物質取り込み能の向上による薬剤の効率的な送達など、様々な低侵襲的な治療法の開発が行われている。

MW が細胞に与える影響や効果については明らかとなりつつある一方、そのメカニズムについては未解明の部分が多い。その理由として、MW の影響は出力や照射方法により大きく異なると考えられるが、実際に照射部分に届く MW の強度を測定している研究は少ないことや、MW を照射しながらの観察が難しいことなどが挙げられる。そのため、実際に細胞に当たる MW の電界・磁界強度を測定することや、MW を照射しながらリアルタイムで観察することなどができれば、より詳細に細胞に与える MW の影響を解明することができると考えられる。

以上の知見が得られれば、MW 特有の細胞への熱的および非熱的な効果を利用することで特に医療分野での新たな治療法開発などの応用が期待できる。また、今後、細胞レベルにおける詳細研究のみならず、組織レベルや個体レベルでの影響・効果についての研究も進めることで、生命科学の分野での MW の応用展開がますます加速すると考えられる。

## 引用文献

1. C. O. Kappe, Microwave dielectric heating in synthetic organic chemistry. *Chem. Soc. Rev.*, **37**, 1127-1139 (2008).
2. R. Gedye, F. Smith, K. Westaway, H. Ali, L. Baldisera, L. Laberge and J. Rousell, The use of microwave ovens for rapid organic synthesis. *Tetrahedron Lett.*, **27**, 279-282 (1986).
3. R. J. Giguere, T. L. Bray, S. M. Duncan and G. Majetich, Application of commercial microwave ovens to organic synthesis. *Tetrahedron Lett.*, **27**, 4945-4948 (1986).
4. H. Yin, T. Yamamoto, Y. Wada and S. Yanagida, Large-scale and size-controlled synthesis of silver nanoparticles under microwave irradiation. *Mater. Chem. Phys.*, **83**, 66-70 (2004).
5. J. Fukushima, S. Takayama, H. Goto, M. Sato and H. Takizawa, In situ analysis of reaction kinetics of reduction promotion of  $\text{NiMn}_2\text{O}_4$  under microwave H-field irradiation. *Phys. Chem. Chem. Phys.*, **19**, 17904-17908 (2017).
6. S. Horikoshi, H. Abe, T. Sumi, K. Torigoe, H. Sakai, N. Serpone and M. Abe, Microwave frequency effect in the formation of Au nanocolloids in polar and non-polar solvents. *Nanoscale*, **3**, 1692-1702 (2011).
7. S. L. Pedersen, A. P. Tofteng, L. Malik and K. J. Jensen, Microwave heating in solid-phase peptide synthesis. *Chem. Soc. Rev.*, **41**, 1826-1844 (2012).
8. J. Fukushima, K. Kashimura, S. Takayama, M. Sato, S. Sano, Y. Hayashi and H. Takizawa, In-situ kinetic study on non-thermal reduction reaction of CuO during microwave heating.



- Mater. Lett.*, **91**, 252-254 (2013).
9. A. de la Hoz, A. D. Ortiz, and A. Moreno,  
Microwaves in organic synthesis. Thermal and non-thermal microwave effects.  
*Chem. Soc. Rev.*, **34**, 164-178 (2005).
  10. X. Zhang, K. Rajagopalan, H. Lei, R. Ruan and B. K. Sharma,  
An overview of a novel concept in biomass pyrolysis: microwave irradiation.  
*Sustain. Energy Fuels*, **1**, 1664-1699 (2017).
  11. 白井 健二、富樫 浩行、圓東 那津実、尾崎 誠、有本 米次郎、裏鍛 武史、大沢 隆二、皆木 幸一、中西 伸浩、梅谷 智弘、  
生体分子の挙動解析研究を目的としたマイクロ波照射システムの開発～ペプチドのバイオミネラリゼーションにおけるマイクロ波影響解析をモデルとして～。  
*日本電磁波エネルギー応用学会*, **1**, 17-24 (2017).
  12. N. Trivedi, M. Patadia and V. Kothari,  
Biological applications of microwaves.  
*Int. J. Life Sci. Technol.*, **4**, 37-46 (2011).
  13. H. Imamura, Y. Takami, T. Ryu, Y. Wada, S. Sasaki, H. Ureshino and H. Saitsu,  
Feasibility and safety of surgical microwave ablation for hepatocellular carcinoma in elderly patients: a single center analysis in Japan.  
*Sci. Rep.*, **10**, 14215 (2020).
  14. 総務省電波利用ホームページ「電波保護のための基準の制度化」  
<https://www.tele.soumu.go.jp/j/sys/ele/medical/system/> (最終閲覧日 2021年10月23日)
  15. DSP Research, Inc. 「SAR 試験」  
<http://www.dspr.co.jp/test/> (最終閲覧日 2021年10月23日)
  16. M. Capri, E. Scarcella, C. Fumelli, E. Bianchi, S. Salvioli, P. Mesirca, C. Agostini, A. Antolini, A. Schiavoni, G. Castellani, F. Bersani and C. Franceschi,  
In vitro exposure of human lymphocytes to 900 MHz CW and GSM modulated radiofrequency:  
Studies of proliferation, apoptosis and mitochondrial membrane potential.  
*Radiat. Res.*, **162**, 211-218 (2004).
  17. G. J. Hook, P. Zhang, I. Lagroye, L. Li, R. Higashikubo, E. G. Moros, W. L. Straube, W. F. Pickard, J. D. Baty and J. L. R. Roti  
Measurement of DNA damage and apoptosis in Molt-4 Cells after in vitro exposure to radiofrequency radiation.  
*Radiat. Res.*, **161**, 193-200 (2004).
  18. H. Zuo, T. Lin, D. Wang, R. Peng, S. Wang, Y. Gao, X. Xu, Y. Li, S. Wang, L. Zhao, L. Wang and H. Zhou,  
Neural cell apoptosis induced by microwave exposure through mitochondria-dependent caspase-3 pathway.  
*Int. J. Med. Sci.*, **11**, 426-435 (2014).
  19. A. Rosin, M. Hader, C. Drescher, M. Suntinger, T. Gerdes, M. W. Porada, U. S. Gaipl and B. Frey,  
Comparative study and simulation of tumor cell inactivation by microwave and conventional heating.  
*COMPEL*, **37**, 1893-1904 (2018).
  20. S. L. Smith-Roe, M. E. Wyde, M. D. Stout, J. W. Winters, C. A. Hobbs, K. G. Shepard, A. S. Green, G. E. Kissling, K. P. Shockley, R. R. Tice, J. R. Bucher and K. L. Witt,  
Evaluation of the genotoxicity of cell phone radiofrequency radiation in male and female rats and mice following subchronic exposure.  
*Environ. Mol. Mutagen.*, **61**, 276-290 (2020).
  21. M. E. Alkis, H. M. Bilgin, V. Akpolat, S. Dasdag, K. Yegin, M. C. Yavas and M. Z. Akdag,  
Effect of 900-, 1800-, and 2100-MHz radiofrequency radiation on DNA and oxidative stress in brain.  
*Electromagn. Biol. Med.*, **38**, 32-47 (2019).
  22. S. Oikawa and S. Kawanishi  
Site-specific DNA damage induced by NADH in

- the presence of copper (II): Role of active oxygen species.  
*Biochemistry*, **35**, 4584-4590 (1996).
23. A. Rimessi, M. Previati, F. Nigro, M. R. Wieckowski and P. Pinton  
Mitochondrial reactive oxygen species and inflammation: Molecular mechanisms, diseases and promising therapies.  
*Int. J. Biochem. Cell Biol.*, **81**, 281-293 (2016).
24. S. Raval, V. Chaudhari, H. Gosai and V. Kothari,  
Effect of low power microwave radiation on pigment production in bacteria.  
*Microbiol. Res.*, **5**, 5511 (2014).
25. Ł. Szymański, E. Sobiczewska, A. Cios, P. Szymanski, M. Ciepielak and W. Stankiewicz,  
Immunotropic effects in cultured human blood mononuclear cells exposed to a 900 MHz pulse-modulated microwave field.  
*J. Radiat. Res.*, **61**, 27-33 (2020).
26. 日下巖  
細菌細胞膜  
*化学と生物*, **7**, 701-709 (1969).
27. 照井直人『はじめの一歩のイラスト生理学 改訂第2版』羊土社 (2012).
28. Y. Shamis, A. Taube, N. Mitik-Dineva, R. Croft, R. J. Crawford and E. P. Ivanova,  
Specific electromagnetic effects of microwave radiation on *Escherichia coli*.  
*Appl. Environ. Microbiol.*, **77**, 3017-3023 (2011).
29. T. H. P. Nguyen, Y. Shamis, R. J. Croft, A. Wood, R. L. Crawford and E. P. Ivanova,  
18 GHz electromagnetic field induces permeability of Gram-positive cocci.  
*Sci. Rep.*, **5**, 10980 (2015).
30. T. H. P. Nguyen, V. T. H. Pham, V. Baulin, R. J. Croft, R. J. Crawford and E. P. Ivanova,  
The effect of a high frequency electromagnetic field in the microwave range on red blood cells.  
*Sci. Rep.*, **7**, 10798 (2017).
31. P. G. T Perera, T. H. P. Nguyen, C. Dekiwadia, J. V. Wandiyanto, I. Sbarski, O. Bazaka, K. Bazaka, R. J. Crawford, R. J. Croft and E. P. Ivanava,  
Exposure to high-frequency electromagnetic field triggers rapid uptake of large nanosphere clusters by pheochromocytoma cells.  
*Int. J. Nanomedicine*, **13**, 8429-8442 (2018).
32. G. Palalle, T. Perera, O. Bazaka, K. Bazaka, D. Appadoo, R. J. Croft, R. J. Crawford and E. P. Ivanova,  
Pheochromocytoma (PC 12) as a model cell line for membrane permeabilization studies in the presence of electromagnetic fields (EMFs): recent advances.  
*J. Neurol. Neuromedicine*, **4**, 35-40 (2019).
33. V. S. Rao, I. A. Titushkin, E. G. Moros, W. F. Pickard, H. S. Thatte and M. R. Cho,  
Nonthermal effects of radiofrequency-field exposure on calcium dynamics in stem cell-derived neuronal cells: elucidation of calcium pathways.  
*Radiat. Res.*, **169**, 319-329 (2008).
34. A. A. Pilla,  
Electromagnetic fields instantaneously modulate nitric oxide signaling in challenged biological systems.  
*Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **426**, 330-333 (2012).
35. C. Rougier, A. Prorot, P. Chazal, P. Leveque and P. Leprat,  
Thermal and nonthermal effects of discontinuous microwave exposure (2.45 gigahertz) on the cell membrane of *Escherichia coli*.  
*Appl. Environ. Microbiol.*, **80**, 4832-4841 (2014).
36. A. Beneduci, L. Filippelli, K. Cosentino, M. L. Calabrese, R. Massa and G. Chidichimo,  
Microwave induced shift of the main phase transition in phosphatidylcholine membranes.

- Bioelectrochemistry*, **84**, 18-24 (2012).
37. S. Futaki, T. Suzuki, W. Ohashi, T. Yagami, S. Tanaka, K. Ueda and Y. Sugiura, Arginine-rich Peptides: an abundant source of membrane-permeable peptides having potential as carriers for intracellular protein delivery. *J. Biol. Chem.*, **276**, 5836-5840 (2001).
38. M. Nikfarjam, V. Muralidharan, C. Christophi, Mechanisms of focal heat destruction of liver tumors. *J. Surg. Res.*, **127**, 208-223 (2005).
39. P. Wust, B. Hildebrandt, G. Sreenivasa, B. Rau, J. Gellermann, H. Riess, R. Felix and P. M. Schlag, Hyperthermia in combined treatment of cancer. *Lancet Oncol.*, **3**, 487-497 (2002).
40. M. Sun, A. Kiourti, H. Wang, S. Zhao, G. Zhao, X. Lu, J. L. Volakis and X. He, Enhanced microwave hyperthermia of cancer cells with fullerene. *Mol. Pharm.*, **13**, 2184-2192 (2016).
41. X. Chen, C. Fu, Y. Wang, Q. Wu and K. Xu, Mitochondria-targeting nanoparticles for enhanced microwave ablation of cancer. *Nanoscale*, **10**, 15677-15685 (2018).
42. L. Wen, S. Yang, J. Zhong, Q. Zhou and D. Xing, Thermoacoustic imaging and therapy guidance based on ultra-short pulsed microwave pumped thermoelastic effect induced with superparamagnetic iron oxide nanoparticles. *Theranostics*, **7**, 1976-1989 (2017).
43. L. Wen, W. Ding, S. Yang and D. Xing, Microwave pumped high-efficient thermoacoustic tumor therapy with single wall carbon nanotubes. *Biomaterials*, **75**, 163-173 (2016).
44. S. Zhai, X. Hu, Z. Ji, H. Qin, Z. Wang, Y. Hu and D. Xing, Pulsed microwave-pumped drug-free thermoacoustic therapy by highly biocompatible and safe metabolic polyarginine probes. *Nano lett.*, **19**, 1728-1735 (2019).
45. S. A. Mazinani, J. A. Stuart and H. Yan, Microwave-assisted delivery of an anticancer drug to cancer cells. *RSC Adv.*, **8**, 31465-31470 (2018).
46. S. A. Mazinani, F. Moradi, J. A. Stuart and H. Yan, Microwave irradiation of PC3 cells at constant culture temperature alters the incorporation of BODIPY into cells and reduction of MTT. *ChemistrySelect*, **2**, 7983-7986 (2017).
47. M. Asano, M. Sekiguchi, S. Tanaka, K. Kashimura, T. Mitani, M. Kawase, H. Matsumura, T. Yamaguchi, Y. Fujita and K. Tabuse, Effects of normothermic conditioned microwave irradiation on cultured cells using an irradiation system with semiconductor oscillator and thermo-regulatory applicator. *Sci. Rep.*, **7**, 41244 (2017).

Manuscript received: Sep. 10, 2021

Revised: Oct. 14, 2021

Accepted: Oct. 21, 2021