

大気圧プラズマ照射培養液の抗腫瘍効果作用機序の解析

Study of the mechanism of antitumor effect of Plasma-Activated-Medium

名古屋大学工学部¹, 名古屋大学医学部², 富山大学³ ○倉家 尚之¹, 田中 宏昌¹,
石川 健治¹, 中村 香江², 梶山 広明², 吉川 史隆², 近藤 隆³, 関根 誠¹, 堀 勝¹

Nagoya Univ. Engineering¹, Nagoya Univ. Medical dep.², Toyama Univ.³,

°Naoyuki Kurake¹, Hiromasa Tanaka¹, Kenji Ishikawa¹, Kae Nakamura², Hiroaki Kajiyama²,

Fumiaki Kikkawa², Takashi Kondo³, Makoto Sekine, and Masaru Hori¹

E-mail: kurake.naoyuki@f.mbox.nagoya-u.ac.jp

はじめに プラズマを医療応用する研究が世界的に進んでおり、がん治療への応用を目指した研究も盛んに行われている。既に、プラズマを照射した培養液 (PAM) により卵巣がん細胞やグリオーマ(脳腫瘍細胞)の選択死滅効果が示してきた。[1,2] しかしながら、イオン、ラジカルなど複数の活性粒子を含むプラズマによる培養液の変性の化学的な解明ならびに、抗腫瘍効果の原因の究明が求められている。先行研究において、プラズマによって生成される H_2O_2 が抗腫瘍効果を示しているという報告があり[3]、前回、PAM 中の H_2O_2 の検出について報告した。[4] 今回、亜硝酸イオン (NO_2^-)について着目して調査したので報告する。

実験 6 ウェルプレートに培養液 (DMEM(Sigma)+FBS+P/S) 3 ml を入れ、照射口-液面間距離 13 mm で大気圧 Ar プラズマを照射した。

H_2O_2 量は Amplex Red Hydrogen Peroxide/Peroxidase Assay Kit, NO_2^- 量は OxiSelect™ In vitro Nitric Oxide(Nitrite/Nitrate) Assay Kit をそれぞれ用いて試薬反応後の吸光度により定量した。また、96 ウェルプレートに各ウェル 10000 細胞ずつ U251SP(グリオーマ)を播種した。別に、 NO_2^- 検出濃度と同等になるように培養液に NaNO_2 溶液(Cellbiolabs)を 3:1 比で混合した培養液を作成し 24 時間培養した。培養後、3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-5-(3-carboxymethoxyphenyl)-2-(4-sulfophenyl)-2H-tetrazolium, inner salt (MTS)と

の反応後の吸光度により細胞生存数を定量した。

結果 Fig. 1a に PAM 中に産生した H_2O_2 , NO_2^- のプラズマ照射時間依存性を示す。照射時間に比例した生成が見られ、 NO_2^- は H_2O_2 の 80 倍程度もの濃度が見られた。また、Fig. 1b に細胞培養後 MTS アッセーによる細胞増殖の観察結果を示す。 NO_2^- 添加培養液(ii)には細胞の増殖を促す効果がみられた。PAM 内の他の活性種についての計測結果も交えて議論する。

参考文献 [1] F. Utsumi *et al.*, PLoS one **4** (2013) e81576. [2] H. Tanaka *et al.*, Plasma Medicine **3** (2013) 265. [3] T. Sato *et al.*, J. Phys D: Appl. Phys **44**(37) (2011) 1-5. [4] 倉家ら、第 61 回応物春 (2014) 19p-F2-3

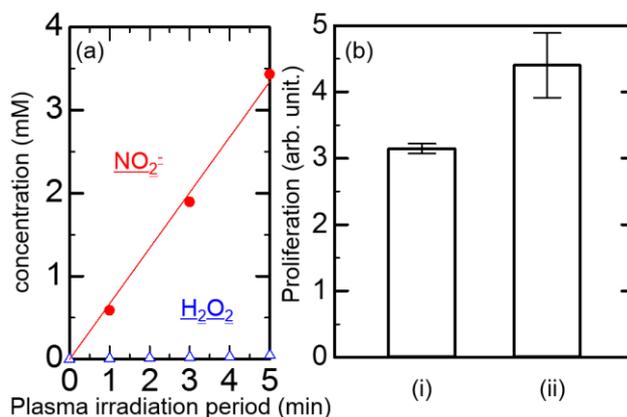


Fig. 1 (a) NO_2^- and H_2O_2 concentration in cell-growth medium after atmospheric pressure Ar plasma. (b) U251SP proliferation measured MTS assay after 24 h incubation in mixed solutions of (i) buffer : 75vol% medium and (ii) NaNO_2 : 75vol% medium (2.5 mM NO_2^-).