

大気圧プラズマ活性培養液の抗腫瘍効果作用機構の解析

A mechanism on antitumor effects of the Plasma-Activated-Medium (PAM)

○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, 水野正明², 竹田圭吾¹,
近藤博基¹, 関根誠¹, 堀勝¹ (1.名大院工、2.名大医、3.富山大)

○Naoyuki Kurake¹, Hiromasa Tanaka¹, Kenji Ishikawa¹, Kae Nakamura², Hiroaki Kajiya², Fumitaka Kikkawa², Takashi Kondo³, Masaaki Mizuno², Keigo Takeda¹, Hiroki Kondo¹, Makoto Sekine, and Masaru Hori¹ (1.Nagoya Univ. Engineering, 2.Nagoya Univ. Medical dep., 3.Toyama Univ.)

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

はじめに プラズマを照射した培養液 (PAM) による卵巣がん細胞や脳腫瘍細胞(グリオーマ)の選択的
死滅効果が報告され、[1,2] プラズマによりもたらされるラジカル・光などの複数の活性粒子による培
養液の化学的変性の機構として、大気中の窒素・酸素とプラズマの相互作用による活性酸素・窒素種
(RONS)の産生が着目されている。[3] 前回、ウシ胎児血清(FBS)添加 PAM 中の NO_2^- , H_2O_2 量と抗腫瘍効
果を報告した。[4] 今回、FBS 無添加の PAM の場合についても調査し、 NO_2^- , H_2O_2 産生機構を考察した。
実験 培養液(DMEM(Sigma))に大気圧 Ar プラズマの照射により作成した PAM 内の H_2O_2 , NO_2^- を、化学
プローブ試薬を用いて定量検出した。また、検出濃度と等量の H_2O_2 (invitrogen)及び NaNO_2 (和光純薬)を
添加した培養液を作成した。U251SP(グリオーマ)を播種し、インキュベータ(37°C, 4.8% CO_2)内で 24 h
培養した後、3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-5-(3-carboxymethoxyphenyl)-2-(4-sulfophenyl)-2H-tetrazolium, inner
salt(MTS)を添加、490 nm 光の吸光度により細胞生存数を定量した。

結果 Fig. 1 に用意した培養液内で 24 h 培養した後の細胞数指標を示す。FBS 無添加 PAM においても
 H_2O_2 が抗腫瘍効果へ寄与する。また、PAM と等量の NO_2^- 添加した培養液では抗腫瘍効果は見られない
が、 H_2O_2 との相乗効果による抗腫瘍効果への寄与について明らかではない。 H_2O_2 のみと PAM とで死滅
効果には差があるため、培養液中に産生する未知化合物の効果は無視できない。次に Fig. 2 に FBS 無
添加の PAM 内で検出される H_2O_2 , NO_2^- 濃度のプラズマ照射時間依存性を示す。180 s 照射時に NO_2^- は
1715 μM 、 H_2O_2 は 59 μM と、 NO_2^- が 30 倍程度の量が産生される。FBS の添加により NO_2^- 量は変化し
ないが、 H_2O_2 量が半分程度に変化する。 H_2O_2 の産生は OH ラジカルを前駆体としていと考えられ、
FBS 添加での H_2O_2 濃度減少は FBS による OH ラジカルスカベンジングに起因すると考えられる。講演
では NO_2^- に着目した液中活性種の生成機構や他のプラズマ源との比較も交えて議論する。

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] W. Tian *et al.*, J. Phys. D: Appl. Phys. **47** (2014) 165201. [4] 倉家ら、第 75 回応物秋 (2014) 20a-S8-11.

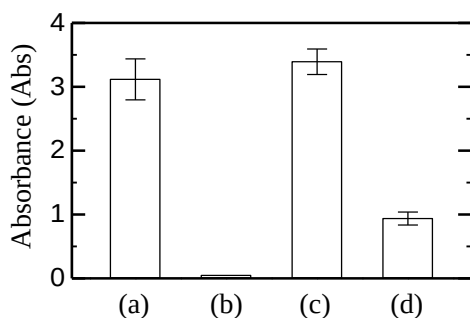


Fig. 1 U251SP proliferation measured MTS assay after 24 h incubation in (a) Initial, (b) 180 s plasma treated PAM, the same concentration as (b) of (c) NaNO_2 added and (d) H_2O_2 added.

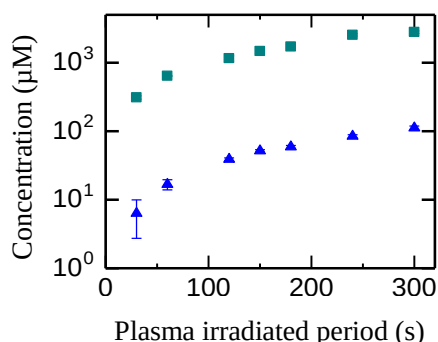


Fig. 2 NO_2^- (square dots) and H_2O_2 (triangle dots) concentrations in cell-growth medium after atmospheric pressure Ar plasma.