プラズマ由来液中活性種が誘導する細胞内カルシウム濃度上昇・振動

Increase and Oscillations of Intracellular Calcium Concentration Induced by Plasma-produced Reactive Species in Solution

○佐々木 渉太 [1]，保苅 雄太郎 [1]，神崎 展 [2]，金子 俊郎 [1] (1. 東北大院工，2. 東北大院医工)

°Shota Sasaki[1], Yutaro Hokari[1], Makoto Kanzaki[2], Toshiro Kaneko[1]

(1.Dept. of Electronic Eng., Tohoku Univ. , 2.Dept. of Medical Eng., Tohoku Univ.)

E-mail: sasaki12@ecei.tohoku.ac.jp

近年，生体組織への直接照射が可能な非平衡大気圧プラズマの医療応用に関する研究が注目を集めている．これまで筆者らは，数ある医療応用の中の 1 つである大気圧プラズマ照射を用いた細胞内への遺伝子・薬剤分子導入に関する研究を行い，プラズマ照射由来の液中にて生成される短寿命・長寿命活性種が細胞膜輸送に影響を与える因子の 1 つであることを明らかにしてきた[1, 2]．プラズマ医療応用に関する他の研究においても，プラズマ照射に起因する液中の活性酸素・窒素種 (RONS) は様々な細胞応答を誘発することが報告されているが，具体的にどのような機構により活性種を細胞が感知しているかは明らかにされていない．今回，筆者らは幅広い細胞応答を制御するセカンドメッセンジャーの 1 つである細胞内カルシウムイオン濃度 ($[Ca^{2+}]_i$) に着目し，プラズマ照射由来の液中化学的活性種に対する細胞応答を評価したので報告する．

実験は，ヘリウムを原料ガスとした大気圧プラズマジェット (周波数 $f \simeq 10$ kHz，電圧 $V_{p\text{-}p} \simeq 5$ kV) を用いて行った．また，実験にはマウス繊維芽細胞 (3T3L1)を使用した．細胞内カルシウムイオンの蛍光プローブ試薬である Fluo 4-AM を用いた生細胞イメージングシステムによって，プラズマ照射した生細胞イメージング溶液を注入された後の細胞内カルシウムイオンのタイムラプス映像を撮影した．

プラズマ照射溶液 (10 s) を添加した後の$[Ca^{2+}]_i$ に関して，添加後緩やかな濃度上昇あるいは周期が 100 s 程度のカルシウム振動が観測された．一方，プラズマを 10 s 照射した液中に生成された過酸化水素は 3 μM 程度であり，同等の濃度で調製した過酸化水素溶液を添加した場合は，大きな$[Ca^{2+}]_i$ 変化がみられなかった（図 1）．このことは，$[Ca^{2+}]_i$ 上昇に大きく寄与したプラズマ照射由来の溶液中活性種は，過酸化水素ではないことを示している．

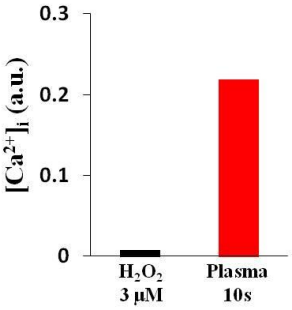

図 1 : H_2O_2 (3μM)，プラズマ処理水(10 s)滴下 120 s 後の細胞内カルシウム濃度 ($[Ca^{2+}]_i$).

講演では，さらに詳細なカルシウムイオン輸送機構に加え，主要な役割を担う液中活性種について評価した結果も合わせて報告する．

[1] S. Sasaki, M. Kanzaki, and T. Kaneko, Appl. Phys. Express **7** (2014) 026202.

[2] T. Kaneko, S. Sasaki, Y. Hokari, S. Horiuchi, R. Honda, and M. Kanzaki, Biointerphases **10** (2015) 029251.

© 2016年 応用物理学会