酸素ラジカル照射培養液を用いたメラノーマ細胞におけるアポトーシス誘導因子 caspase-9 の活性化

Activation of apoptosis-inducing factor caspase-9 in melanoma cells treated with radical-irradiated medium

名城大 [1], 名大 [2] ○(M1) 小泉貴義 [1], 村田富保 [1], 堀勝 [2], 伊藤昌文 [1]

1.Meijo Univ., 2.Nagoya Univ.

°Takayoshi Koizumi[1], Tomiyasu Murata[1], Masaru Hori[2], Masafumi Ito[1]

E-mail: 163433013@ccalumni.meijo-u.ac.jp

1. はじめに

近年、大気圧プラズマは医療分野への様々な応用が期待されている。特に、プラズマ活性培養液（PAM）はがん細胞に対しての特異的な抗腫瘍効果を持つことが報告されている。[1] これまでに我々は、プラズマ中の電気的に中性な活性種を選択的に照射することのできるラジカル源を開発し、生体の殺菌や細胞増殖に対する酸素ラジカルの効果を検証してきた。[2]

本研究では大気圧ラジカル源を用いて、細胞培養液に対して酸素ラジカルを照射した後、ラジカル照射培養液でメラノーマ細胞を処理した後、細胞生存活性および細胞死誘導因子 caspase 活性について検討を行った。

2. 実験方法

10%ウシ胎仔血清(FBS)を含む DMEM を用いてメラノーマ細胞を継代培養し、細胞を 24 ウェルプレートに播種した。 細胞培養メディウムへのラジカル照射実験では、Ar ガス存在下でラジカル照射した細胞培養液をコントロール培養液とした。一方、Ar/O_2 混合ガス存在下（流量比 $O_2/(Ar+O_2)$:0.6%）でラジカル照射を行い、酸素ラジカル照射培養液を調製した。次いで、ラジカル照射後に終濃度が 10%になるように FBS を添加し、ラジカル照射培養液をメラノーマ細胞に一定時間作用させ、3 時間ごとに caspase-9 の活性を測定した。

3. 実験結果

メラノーマ細胞を Ar/O_2 ラジカル照射培養液で処理すると、コントロール培養液とは異なり、細胞死が認められた。また、図 1 に示すように、コントロール培養液を用いた場合と比較して、Ar/O_2 ラジカル照射培養液を用いた場合では、caspase-9 活性は時間依存的に有意に上昇していることが認められた。この結果から、酸素ラジカル照射培養液の処理により、メラノーマ細胞において caspase-9 の活性化を介したアポトーシスが誘導されることが示唆された。

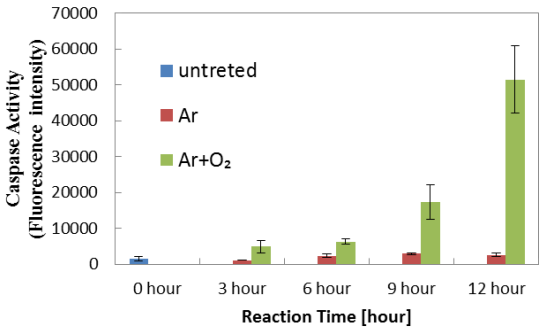

Fig.1 Caspase-9 activity in B16-F10 melanoma cells treated with oxygen radial- irradiated medium

謝辞

この研究の一部は、科学研究費補助金（課題番号 26286072）と名城大学研究センター推進事業費の支援により行われた。

参考文献

[1] H. Tanaka et al., Clinical Plasma Medicine 3, 72–76, (2015)

[2] H. Hashizume et al., Appl. Phys. Lett., 103, 153708, (2013)