

大気圧プラズマによる破骨前駆細胞の分化抑制効果

Suppression of Differentiation to Osteoclast Precursor Cells using DBD Plasma

九大院総理工¹, 九大院歯² 井上裕基¹, ○林 信哉¹, 久本由香里², 久木田敏夫²

Kyushu Univ.^{1,2} Yuki Inoue¹, ○Nobuya Hayashi¹, Yukari Kyumoto², Toshio Kukita²

E-mail: hayashin@ees.kyushu-u.ac.jp

1. はじめに

骨粗鬆症は破骨細胞の骨吸収機能が過剰に亢進することで発症する。近年、大気圧非熱平衡プラズマによる様々な細胞応答が報告されている。大気圧プラズマで破骨細胞による骨吸収を制御できれば、様々な骨疾患治療に応用できる可能性がある。本研究では、大気圧プラズマの骨組織への影響を調べるために、大気圧プラズマ中の活性種を破骨前駆細胞へ照射し、細胞の増殖および分化への影響を明らかにすることを目的とする。

2. 実験装置および方法

プラズマ源として内径 4mm のトーチ型 DBD 電極を用いた。原料ガスは酸素 (1.0 L/min)、放電電極への印加電圧は 6.0 kV_{PP} とし酸素プラズマを生成した。破骨前駆細胞 (RawD) を 96 穴マイクロプレートに播種し、24 時間後に酸素プラズマを 10~120 秒間照射した。破骨前駆細胞から破骨細胞への分化誘導因子である RANKL (Receptor Activator NF- κ B Ligand) を添加した。細胞をプラズマ照射後 3 日間培養し破骨細胞 (3 つ以上の核を有する) 数を測定した。プラズマ照射と RANKL のタイミング等を変え、以下の 3 つの条件で実験を行った。

- RANKL を添加した後に酸素プラズマを照射し 3 日間培養する。
- 酸素プラズマ照射後に培養液を交換し、RANKL を添加した後 3 日間培養する。
- 条件 B と同様の実験順序でプラズマ照射直前に培養液量を B の 1/3 にする。

3. 実験結果および考察

Fig.1 に (a) 典型的な破骨細胞と (b) 条件 A の細胞の様子を示す。(b) では破骨細胞へ分化していないことが分かる。Fig.2 に破骨細胞数の酸素プラズマ照射時間依存性を示す。条件 A, C では時間依存的に破骨細胞数の減少が見られた。120 秒間照射の場合の破骨細胞数は、プラズマ未照射に対して条件 A では 87%, 条件 C では 58% となった。条件 A では活性酸素種によ

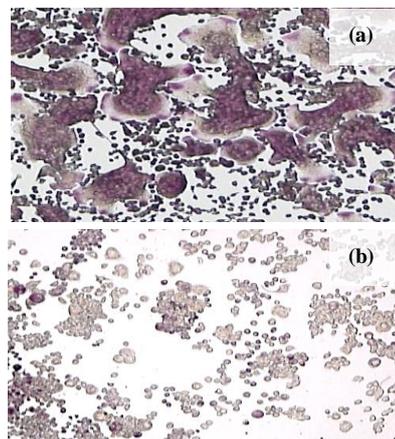


Fig.1 Osteoclast cells (a) and undifferentiated cells (b).

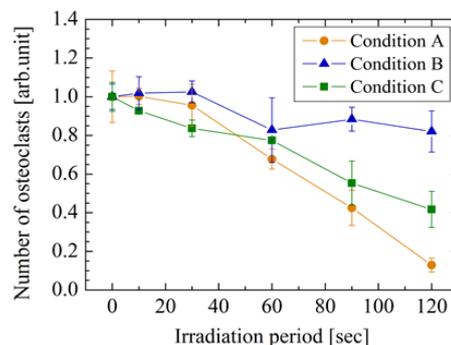


Fig.2 Irradiation period dependence of osteoclasts number in oxygen plasma.

る分化誘導因子 RANKL の不活化により分化が抑制され、条件 C では、条件 B と比較してより高濃度の培養液中活性酸素種による破骨前駆細胞の不活化が破骨細胞数減少の要因として考えられる。

4. まとめ

破骨細胞への分化抑制の要因として、活性酸素種による RANKL への影響および活性酸素種の濃度上昇による分化機能への影響が考えられる。今後は、酸素プラズマによる分化誘導因子及び骨吸収に関する遺伝子への影響を調査する予定である。