

プラズマ照射培地によるプリオン感染細胞の細胞死誘導

Induction of cell death to prion-infected cells by plasma-activated medium

岡山理科大学¹, 琉球大学², 佐賀大学³ ◦作道 章一^{1,2}, 山城 梨沙², 三沢 達也³

Okayama Univ. Sci.¹, Univ. Ryukyus², Saga Univ.³, ◦Akikazu Sakudo^{1,2}, Risa Yamashiro²,

Tatsuya Misawa³

E-mail: akikazusakudo@gmail.com

現在のところ、プリオン病に有効な治療法はない。近年、プラズマ照射培地(PAM: Plasma-activated medium)によるがん細胞への細胞死誘導など、PAM の治療応用が注目されている。そこで、本研究では PAM を用いたプリオン感染細胞除去の可能性について基礎的検討を行った。

絶縁体である筒状のセラミックスの周囲を銅板で覆い、筒内部に金属のメッシュを配置したプラズマトーチを用いた(Sakudo et al., *Chemosphere* 200:366-372, 2018)。銅板とメッシュ間に電圧 10 kV, 周波数 10 kHz の高周波パルス印加し、誘電体バリア放電(DBD)によるプラズマを発生させた。無血清 Opti-MEM 培地に対して 5 種類的气体 (Air, O₂, N₂, CO₂, Ar) を用いてトーチの先端部分から培地の液面までの距離を 10 mm に保持してプラズマ照射を行って PAM を作製した。そして、プリオン感染神経細胞 ScN2a と非感染神経細胞 N2a を PAM で一晩培養した。

PAM により誘導されるアポトーシス量を見積もるため、Cell Death Detection ELISA(Enzyme-linked immunosorbent assay) PLUS を利用して、細胞質内に存在するヒストン断片化 DNA 複合体を定量した。実験の結果、Air, O₂, N₂, CO₂, Ar を 1 分以上照射した培地の場合、ScN2a は N2a と比べて、ヒストン断片化 DNA 複合体を示す吸光度が有意に高かった。さらに、プラズマ照射 1 分における N2a

の吸光度に対する ScN2a の吸光度の割合 (ScN2a 吸光度/N2a 吸光度) を算出したところ、Air の場合は 1.70 ± 0.01 倍、O₂ の場合は 2.38 ± 0.09 倍、N₂ の場合は 4.30 ± 0.20 倍、CO₂ の場合は 2.05 ± 0.18 倍、Ar の場合は 1.44 ± 0.06 倍であったため、N₂ プラズマ由来 PAM が最も ScN2a 特異的にアポトーシスを誘導することが示唆された。

さらに、ラジカルスカベンジャー(Superoxide dismutase (SOD), Catalase, Uric Acid, Dimethyl sulfoxide (DMSO), 2-(4-Carboxyphenyl)-4,4,5,5-tetramethylimidazole-1-oxyl-3-oxide (Carboxy-PTIO)) を PAM に添加し、ScN2a と N2a の 2 種の細胞に対して細胞死誘導に関与するプラズマ中の活性種を比較した。その実験結果において、それぞれの活性種に注目すると、 $\cdot\text{OH}$, $\cdot\text{NO}$, $\cdot\text{O}_2$ は ScN2a と N2a どちらの細胞においてもアポトーシス誘導への貢献が大きかったが、ONOO \cdot は O₂ と CO₂ を除く 3 種類的气体において ScN2a へのアポトーシス誘導のみに主に関与することが示されたことから、ONOO \cdot は N2a にあまり影響を与えずに ScN2a に対して特異的に細胞死を誘導するのに大きく関わっていることが示唆された。一方、ONOO \cdot を消去時の ScN2a のアポトーシス減少率は 10-35% であったことから、ONOO \cdot 以外の活性種もアポトーシス誘導に関与しているものと考えられた。