酸化窒素ラジカル活性乳酸リンゲル液によるメラノーマ細胞の不活化

Inactivation of Melanoma Cells by Nitrogen-Oxide-Radical-Activated Lactate Ringer Solution

名城大[1]，名古屋大[2]，○(M1)堀侑己[1]，村田富保[1]，堀勝[2]，伊藤昌文[1]

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

(1.Meijo Univ., 2.Nagoya Univ.)

E-mail: 193427024@ccmailg.meijo-u.ac.jp

1. はじめに

近年、プラズマを用いた農業・医療分野への応用技術が盛んに研究されている。プラズマ活性化乳酸リンゲル液（PAL）は正常細胞に影響を与えず、様々な癌細胞を選択的に不活化し得ることが報告されている。 [1]しかしながら、プラズマのどの因子が癌細胞に影響を与えるのかは明らかにされていない。そこで、我々は電気的に中性のラジカルに焦点を当て、中性ラジカルのみをサンプルに照射すことができるラジカル源を開発した。以前の研究では、酸化窒素ラジカル活性化培地（NORAM）を用いてメラノーマ細胞 B16-F10 を不活化することに成功した。本研究では、酸化窒素ラジカルを乳酸リンゲル液に照射して、酸化窒素ラジカル活性化乳酸リンゲル液（NORAL）を調整し、メラノーマ細胞 B16-F10 の不活化の調査を行った。

2. 実験手法

研究対象であるメラノーマ細胞に対して酸化窒素ラジカルの照射を行った。培養したメラノーマ細胞に対してトリプシン処理を行い培養ディッシュから剥がし、96well プレートに 1 well あたりの細胞数を 5,000 個、液量を 200 µl として播種した。細胞を播種して温度 37 ℃、CO_2 濃度 5 %のインキュベータで 24 時間培養後 NORAL と置換する。NORAL 調整条件は 35 mm ディッシュに乳酸リンゲル液を液量 3 ml 入れ、流量比 Ar : O_2 : N_2＝1.4 : 0.51 : 0.09, 総流量 : 2 slm, 照射距離 20 m, 照射時間 4 min とした。NORAL 置換後、二時間培養を行った後、再度培養液に置換した。その後 24 時間培養し、MTS アッセイを用いて、細胞生存活性の評価を行なった。

3. 実験結果

図 1 に NORAL の希釈倍率と細胞生存性の関係を示す。

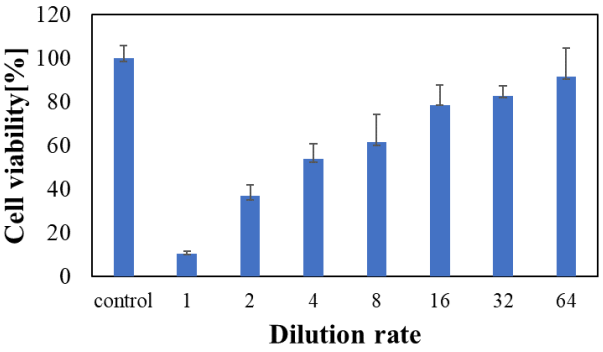

図 1 NORAL concentration dependence of cell viability

横軸は NORAL の希釈倍率、縦軸は未照射の乳酸リンゲル液で培養した細胞（Control）の細胞生存性を 100%とした時の比を示している。原液では 10%未満となり 64 倍希釈では 90%以上となった。

これらの結果から、NORAL 処理したメラノーマ細胞は不活性化されることが検証された。今後は正常細胞に対する選択性や不活性化機序について調査する予定である。

謝辞

この研究の一部は、私立大学戦略的研究基盤形成事業（S1511021）の助成を受けて行われた。

参考文献

[1] H. Tanaka, *et al.*, Sci. Rep., **6**, 36282 2016.

© 2019年 応用物理学会