

## 酸素・窒素ラジカル活性培養液の抗腫瘍効果

### Antitumor effects of medium activated with oxygen and nitrogen radicals

名城大<sup>1</sup>, 名大<sup>2</sup> (M1)小川 和馬<sup>1</sup>, 水野 貴仁<sup>1</sup> 村田 富保<sup>1</sup>, 堀 勝<sup>2</sup>, 伊藤昌文<sup>1</sup>

Meijo Univ.<sup>1</sup>, Nagoya Univ.<sup>2</sup>, °Kazuma Ogawa<sup>1</sup>, Takahito Mizuno<sup>1</sup>, Tomiyasu Murata<sup>1</sup>,

Masaru Hori<sup>2</sup>, Masafumi Ito<sup>1</sup>

E-mail: 183427004@ccmailg.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は癌細胞に対してアポトーシスを誘導することが報告されている。<sup>[1][2]</sup> これまでに我々は、プラズマ中の電氣的に中性な活性種を選択的に照射することのできる大気圧ラジカル源を開発し、酸素ラジカルを照射した細胞培養液を用いて皮膚癌細胞であるメラノーマ細胞 B16-F10 への効果を検証してきた。<sup>[3]</sup>

本研究では、酸素ラジカル照射条件時の Ar ガスを徐々に窒素に置換し照射することで、窒素系のラジカルによるラジカル活性培養液 (RAM: Radical-Activated Medium) のメラノーマ細胞に対する抗腫瘍効果を検証した。

#### 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 96well プレートに播種した。無血清培養液へのラジカル照射では、Ar / O<sub>2</sub> / N<sub>2</sub> の混合ガスの総流量を 5 slm (Ar: (4.96-x) slm, O<sub>2</sub>: 0.03 slm, N<sub>2</sub>: x slm)、酸素ガス流量比 O<sub>2</sub> / (Ar+O<sub>2</sub>+N<sub>2</sub>) を 0.6 % で固定し、窒素ガス流量比 N<sub>2</sub> / (Ar+O<sub>2</sub>+N<sub>2</sub>) を 0~70 % と変化させて照射を行った。なお、照射時における大気との反応を防ぐため、Ar ガスを用いてパージを行った。次いで、照射した培養液を新鮮な無血清培養液で希釈(2, 4 倍希釈)し、終濃度が 10% になるように FBS を添加

し、RAM を調製したのちに、メラノーマ細胞に作用させた。そして、24 時間後に MTS 試薬を用いて細胞生存率を測定した。

#### 3. 実験結果

Figure 1 より、4 倍希釈した RAM におけるメラノーマ細胞生存率を比較すると、窒素ガス流量比 0% では 79% であるのに対して、窒素ガス流量比 70% では 52% であることから、窒素ガス流量比に依存してメラノーマ細胞生存率は低下することが分かった。この結果から、窒素が供給されることで酸素ラジカルと窒素系ラジカルの相乗効果で RAM の抗腫瘍効果が向上したことが考えられる。

今後は、ラジカル源から無血清培養液へ照射される活性種の定量とその効果の検証を行う。

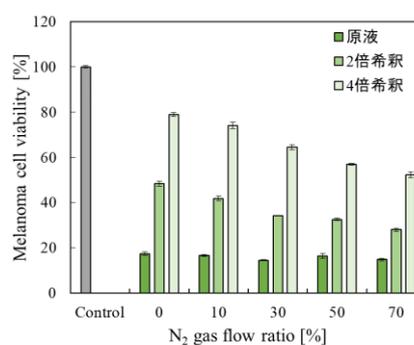


Fig.1 Melanoma-cell viability in diluted RAM as a function N<sub>2</sub> gas flow ratio

#### 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) の支援により行われた。

#### 参考文献

- [1] S. Iseki, et al., Appl. Phys. Lett., 100, 113702. 2012.
- [2] H. Tanaka et al., Clinical Plasma Medicine 3, 72–76, 2015
- [3] H. Hashizume et al., Appl. Phys. Lett., 103, 153708, 2013.