

メラノーマ細胞に対するラジカル活性培養液の ストレス応答 MAPK 活性誘導

Induction of stress-responsive MAPK activity by radical-activated medium for melanoma cells

名城大¹, 名大² ◯(M2)小川 和馬¹, 堀 侑己¹, 田中 美紀¹, 村田 富保¹,
田中 宏昌², 堀 勝², 伊藤 昌文¹

Meijo Univ.¹, Nagoya Univ.², ◯Kazuma Ogawa¹, Yuki Hori¹, Miki Tanaka¹, Tomiyasu Murata¹,
Hiromasa Tanaka², Masaru Hori², and Masafumi Ito¹

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(PAM)はがん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。^[1,2] 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、ラジカル活性培養液(RAM)を用いて皮膚がん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。^[3]

本研究では、メラノーマ細胞に対する RAM のストレス応答 MAPK 活性誘導を検証する。

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 3.5 cm ディッシュに播種した。無血清培養液へのラジカル照射では、Ar/O₂/N₂ の混合ガスの総流量を 5 slm、酸素ガス流量比 O₂/(Ar+O₂+N₂)を 0.6 %、窒素ガス流量比 N₂/(Ar+O₂+N₂)を 70 %と設定した。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、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、メラノーマ細胞を処理した。12 時間後ウェスタンブロッティングを用いて MAPK のうち p38 と JNK

の発現変化を検証した。また、それぞれの阻害剤を用いて、p38 と JNK 活性と細胞死の相関性を MTS アッセイで評価した。

3. 実験結果

Figure 1 は p38 と JNK の発現変化を示す。この結果から、Ar/O₂/N₂ 混合ガスで調製した RAM は p38 と JNK を活性化させることが判明した。また Figure 2 は各阻害剤による細胞死の抑制効果の結果を示す。Ar/O₂/N₂ 混合ガスで調製した RAM において、JNK 阻害剤による細胞死の抑制が確認できた。したがって、RAM による細胞死誘導は JNK 活性経路が重要であることが明らかとなった。

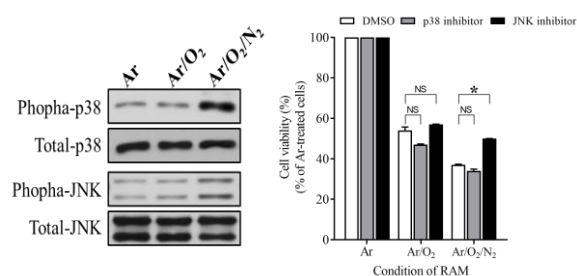


Fig. 1 Effect of RAM on kinase activity in melanoma cells.

Fig. 2 Suppression of cell death by p38 inhibitor and JNK inhibitor.

謝辞

この研究は、文部科学省が支援する私立大学戦略研究財団プログラム (S1511021) および JSPS 科研費 19H01889 および 19H05462 によって支援された。

参考文献

- [1] Iseki S et al., Appl Phys Lett. 100:113702, 2012.
- [2] H. Tanaka, et al., Biological chemistry, 400 (2018) 87-91.
- [3] Hashizume H et al., Appl. Phys. Lett., 103, 153708, 2013.