

# 線維芽細胞増殖促進における大気圧プラズマ中の重要中性活性種の同定

## Identification of key neutral reactive species in atmospheric-pressure plasma for promoting proliferation of fibroblast cells

名城大<sup>1</sup>名古屋大<sup>2</sup> 大阪市大<sup>3</sup> (M1)西田大河<sup>1</sup>, 堀脩己<sup>1</sup>, 岩田直幸<sup>2</sup>, 吳準席<sup>3</sup>, 村田富保<sup>1</sup>,  
堀勝<sup>2</sup>, 伊藤昌文<sup>1</sup>

°Taiga Nishida<sup>1</sup>, Yuki Hori<sup>1</sup>, Naoyuki Iwata<sup>2</sup>, Jun-Seok Oh<sup>3</sup>, Tomiyasu Murata<sup>1</sup>,  
Masaru Hori<sup>2</sup>, Masafumi Ito<sup>1</sup>

(1.Meijo Univ., 2.Nagoya Univ., 3, Osaka City Univ.)

E-mail: 213427023@ccmailg.meijo-u.ac.jp

### 1. はじめに

近年、プラズマを用いた農業・医療分野への応用が盛んに研究されている。中でも、線維芽細胞は様々な生物の修復機構に重要な役割を果たしており、線維芽細胞を増殖させることは創傷治癒に関する研究を大幅に向上させることにつながる。実際に大気圧プラズマを用いた線維芽細胞の増殖は報告されているが、プラズマ中の促進因子については特定されていない。[1]

そこで本研究では、我々は電氣的に中性のラジカルのみをサンプルに照射することができるラジカル源を用いて、マウス線維芽細胞 (NIH3T3) を処理したところ、酸化窒素ラジカル (NO $\cdot$ ) が増殖促進に寄与することを発見した。

### 2. 実験手法

培養した線維芽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、血球計算盤にて濃度を  $3.0 \times 10^5/\text{ml}$  となるよう細胞懸濁液を作成し、この懸濁液(3ml)を 38ml ディッシュに分注し、ラジカル照射を行った。照射条件は総流量 5slm とし、Ar の流量は 4slm で固定、N $_2$ /(N $_2$ +O $_2$ )を 1slm 内で変化させ、照射距離は 10mm とした。照射後、処理した線維芽細胞を再懸濁し、96well プレートに 200 $\mu\text{l}$  ずつ播種した。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。また、ラジカル源から照射される中性活性種(NO $\cdot$ )

の照射量は、四重極型質量分析計 (HPR-60-EQP300, Hidden Analytical 社) と閾値イオン化質量分析法を用いて算出した。

### 3. 実験結果

図 1 に中性活性種(NO $\cdot$ )の照射量と増殖促進率の関係を示す。

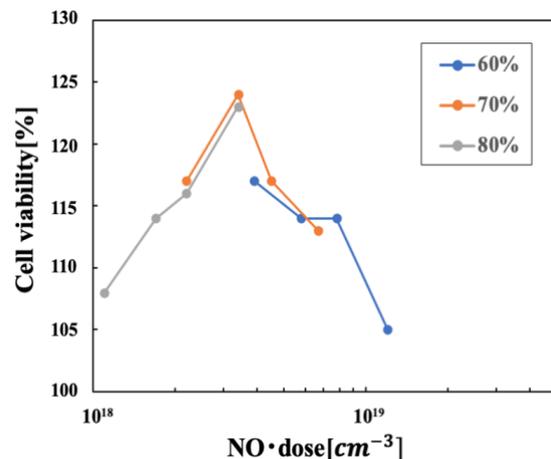


図 1 Dependence of cell viability on NO $\cdot$  doses.

図 1 より、NO $\cdot$ の照射量と増殖促進率の間には明らかな相関が確認され、その他の主要因子である NO $_2\cdot$  や O $_3$  などとは全く相関がみられなかった。また、照射距離依存性についても調査し、距離の依存性がないことが確認された。これらの結果から、大気圧プラズマ中の NO $\cdot$  が線維芽細胞の増殖促進に寄与することが示唆された。

#### 謝辞

この研究の一部は、JSPS 科研費(19H05462, 19H01889)の支援を受けた。

#### 参考文献

[1] G.-M. Xu, et al., Wound Rep. Reg. 23, 878-884 (2015)