

## 乳腺由来細胞を用いたプラズマ照射培養液による選択的細胞死の検討

### Investigation of selective cell death derived from mammary with plasma-activated medium

名古屋大<sup>1</sup>, NU eco<sup>2</sup>

橋爪博司<sup>1</sup>, 田中宏昌<sup>1</sup>, 中村香江<sup>1</sup>, 吉川史隆<sup>1</sup>, 石川健治<sup>1</sup>, 加納裕之<sup>2</sup>, 水野正明<sup>1</sup>, 堀 勝<sup>1</sup>

Nagoya Univ.<sup>1</sup>, NU eco<sup>2</sup>

Hiroshi Hashizume<sup>1</sup>, Hiromasa Tanaka<sup>1</sup>, Kae Nakamura<sup>1</sup>, Fumitaka Kikkawa<sup>1</sup>, Kenji Ishikawa<sup>1</sup>,

Hiroyuki Kano<sup>2</sup>, Masaaki Mizuno<sup>1</sup>, Masaru Hori<sup>1</sup>

E-mail: hashizume@plasma.engg.nagoya-u.ac.jp

#### 1. はじめに

近年、非平衡大気圧プラズマを用いた医療や農業、水産業などバイオ分野への応用のための研究開発が注目されている。これまでに当グループの開発したプラズマ源を用いて、我々はプラズマ照射により悪性の卵巣がん細胞にのみ選択的に作用し細胞死を誘導することを明らかとした。<sup>1,2)</sup> さらに、細胞へプラズマを直接照射するだけでなく、プラズマ照射した培養液を脳腫瘍細胞に処理することでも同様の結果が得られることを見出した。<sup>3)</sup> すなわち、プラズマ照射培養液 (Plasma-activated medium, PAM) が細胞内シグナル伝達系の AKT を抑制し、アポトーシスを誘導することを明らかとしている。しかしながら、PAM による細胞死の選択的効果については詳細な解析が行われていない。本検討では乳腺由来する正常および悪性の細胞株 MCF10A と MCF7 を用いて検討した。

#### 2. 実験方法

乳腺上皮細胞MCF10Aおよび乳腺由来がん細胞MCF7を96ウェルプレートに1ウェルあたり5,000細胞播種し、一晚培養した。栄養培地Dulbecco's modified Eagle Medium (DMEM)をシャーレに分注し、プラズマを照射してPAMを作製した後、これを培養中の細胞の栄養培地と交換して24時間処理した。3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-5-(3-carboxymethoxyphenyl)-2-(4-sulfophenyl)-2H-tetrazolium (MTS)アッセイを行い細胞の増殖および生死について判定した。

#### 3. 実験結果および考察

図1にMCF10AおよびMCF7細胞に強度の異なるPAMを24時間処理した後、MTSアッセイを行った結果を示す。対照としてプラズマ未照射のDMEM培地で処理した細胞の吸光度を100%とし、規格化して表記した。強度の強いPAM (PAM(++))では、MCF7, MCF10Aとも細胞死となった。その一方で、弱いPAM (PAM(+))の処理によって、MCF7は細胞死する一方でMCF10Aは対照とほぼ同数の生存がみられ、異なる結果となった。以上より、PAMの強度を変化することによってがん細胞にのみ選択的に細胞死を誘導することが示唆された。

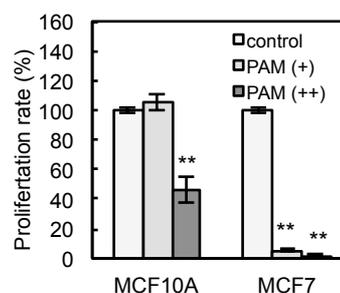


図1 PAM処理を行ったMCF10A, MCF7細胞のMTSアッセイの結果。t検定による有意差 \*\* $p < 0.01$ を示す。

1) M. Iwasaki et al., Appl. Phys. Lett., **92**, 081503 (2008).

2) S. Iseki, et al., Appl. Phys. Lett., **100**, 113702 (2012).

3) H. Tanaka, et al., Plasma Med., **103**, 265 (2011).