課題番号 :F-19-NU-0055

利用形態 :共同研究

利用課題名(日本語) :プラズマ医療科学にかかわるラジカル解析

Program Title (English) : Analyses of radicals in plasma medical science

利用者名(日本語) :<u>水野正明</u>
Username (English) :<u>M. Mizuno</u>

所属名(日本語) :名古屋大学附属病院

Affiliation (English) : Nagoya University Hospital

キーワード/Keyword:大気圧プラズマ発生装置、癌、プラズマ活性溶液、分析

1. 概要(Summary)

我々は大気圧プラズマ装置を照射した溶液が脳腫瘍細胞に対してプログラム細胞死として知られるアポトーシスを誘導することを発見した。この溶液をプラズマ活性溶液(Plasma-activated medium, PAM)と名付けた。本研究では超高密度大気圧プラズマ装置を利用してプラズマ活性溶液を作成し、細胞に投与し細胞に対する効果を顕微鏡等を用いて調べたり、活性溶液中の活性種をIn-situ電子スピン共鳴法を用いて解析する。

2. 実験(Experimental)

【利用した主な装置】

超高密度大気圧プラズマ装置、In-situ 電子スピン共鳴(ESR)

【実験方法】

超高密度大気圧プラズマ装置を用いて培養液および乳酸リンゲル液に対してプラズマ照射を行い、プラズマ活性培養液 (PAM) およびプラズマ活性乳酸リンゲル液 (PAL)を作製した。PAM と PAL を脳腫瘍培養細胞に投与し、遺伝子発現の違いを調べた。

3. 結果と考察(Results and Discussion)

PAM を投与した脳腫瘍培養細胞のマイクロアレイ解析を行ったところ、コントロール (未照射培養液)に対して 2 倍以上に遺伝子発現が上昇する遺伝子が 61 見つかった。それらの中には GADD45 シグナリングに関わる遺伝子が 複数含まれることが分かった (論文・学会発表[1])。この結果について更に検証するために、同条件で作製した PAMとPALを投与した脳腫瘍培養細胞において、リアルタイム PCR 法によりそれらの遺伝子発現のタイムコースを調べた。その結果、PAM では GADD45 シグナリングに関わる遺伝子発現が上昇するのに対し、PAL ではそれらの遺伝子発現の上昇は見られなかった。GADD45 シグナリングは活性酸素などのストレスに応答して細胞死を導

くことが知られており、PAM は PAL よりも脳腫瘍培養細胞に細胞内活性酸素を多く誘導することとも合致する。

4. その他・特記事項(Others)

·共同研究者:近藤博基 准教授(名古屋大学大学院工学研究科)

5. 論文·学会発表(Publication/Presentation)

- [1] H. Tanaka, M. Mizuno, Y. Katsumata, K. Ishikawa, H. Kondo, H. Hashizume, Y. Okazaki, S. Toyokuni, K. Nakamura, N. Yoshikawa, H. Kajiyama, F. Kikkawa, M. Hori, Oxidative stress-dependent and -independent death of glioblastoma cells induced by non-thermal plasma-exposed solutions, Sci Rep, 9 (2019) 13657.
- [2] T. Ichikawa, H. Kondo, K. Ishikawa, T. Tsutsumi, H. Tanaka, M. Sekine, M. Hori, Gene expression of osteoblast-like cells on carbon-nanowall as scaffolds during incubation with electrical stimulation, ACS Applied Materials, in press (2019).
- [3] S. Yamaoka, H. Kondo, H. Hashizume, K. Ishikawa, H. Tanaka, M. Hori, Plasma-activated solution alters the morphological dynamics of supported lipid bilayers observed by high-speed atomic force microscopy, Appl Phys Express, 12 (2019) 066001.

6. 関連特許(Patent)

なし。