

PAL 内成分ががん細胞に誘発するオートファジーの評価

Evaluation of autophagy expression in cancer cell using the component in PAL

名大院工¹, 名大² ○(M2) 山川 太嗣¹, 中村 香江², 梶山 広明², 豊國 伸哉², 水野 正明², 石川 健治², 堀 勝², 田中 宏昌²

Nagoya Univ. Eng.¹, Nagoya Univ.², °Taishi Yamakawa¹, Kae Nakamura², Hiroaki Kajiyama², Shinya Toyokuni², Masaaki Mizuno², Kenji Ishikawa², Masaru Hori² and Hiromasa Tanaka²

E-mail: yamakawa.taishi.m3@s.mail.nagoya-u.ac.jp

はじめに 点滴液への大気圧非平衡プラズマ照射にて作製されるプラズマ活性乳酸リングル液 (PAL) が、がん細胞を選択的に殺傷させることが報告^[1]されて以降、その作用機序の解明が行われている。その一つとして PAL 処理後、細胞死からの保護的プロセスとしてオートファジーが作用^[2]し、PAL 処理によるがん細胞殺傷効果を弱めることが分かった。本研究において作製した PAL においても PAL 処理後にオートファジーが誘導されることを前回報告した^[1]。このオートファジー誘発物質を特定すべく PAL 内成分別にがん細胞を処理し、オートファジー誘導の評価を行ったので報告する。

実験方法 電圧 15 kV、周波数 60 Hz のプラズマ源を有する密閉チャンバー内を、酸素濃度が 0.2 % 以下となるまで Ar 10 slm でパージした。乳酸リングル液 10 ml を入れた 60 mm ディッシュをプラズマ噴出口と液面との距離が 4 mm となるよう設置し、プラズマ源に総流量 2.0 slm となるよう、Ar 80 %、O₂ 10 %、N₂ 10 %の比率でガスを供給し、この条件で生成されたプラズマを 5 分間照射して PAL を作製した。PAL は乳酸リングル液で 64 ~ 256 倍に希釈され、MCF-7 を 2 時間処理した。

その後、細胞培養液に再置換し、4 時間後に蛍光観察を行った。

実験結果 PAL 未処理サンプル(ctrl) を基準として、64 ~ 256 倍希釈 PAL、H₂O₂、NO₂のそれぞれで処理した蛍光強度比を図 1 に示す。PAL で処理した結果、希釈倍率の増加に伴い蛍光強度が増強された。一方で、H₂O₂、NO₂のそれぞれで処理すると、PAL 処理にみられた希釈倍率の増加に伴い蛍光強度が増加する傾向は得られなかった。オートファジーは、隔離膜形成を阻害する役割を担う ATG8 が ROS (Reactive Oxygen Species) により不活性化されることで誘導され、ROS がオートファジー誘導に重要な役割を担う^[2]。しかし、PAL 内に含まれる ROS である H₂O₂ と NO₂-それぞれでの処理では、PAL 処理とは異なる傾向が得られたことから、PAL 内の ROS 以外に含まれる有機活性種によるオートファジー誘導への関与が示唆された。

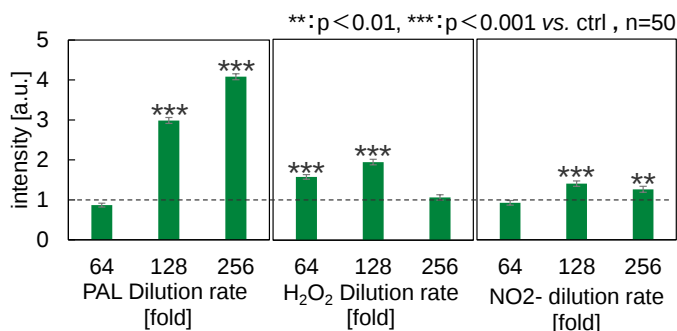


Fig.1 Fluorescence intensity of MCF-7 using PAL and ROS

度が増強された。一方で、H₂O₂、NO₂-のそれぞれで処理すると、PAL 処理にみられた希釈倍率の増加に伴い蛍光強度が増加する傾向は得られなかった。オートファジーは、隔離膜形成を阻害する役割を担う ATG8 が ROS (Reactive Oxygen Species) により不活性化されることで誘導され、ROS がオートファジー誘導に重要な役割を担う^[2]。しかし、PAL 内に含まれる ROS である H₂O₂ と NO₂-それぞれでの処理では、PAL 処理とは異なる傾向が得られたことから、PAL 内の ROS 以外に含まれる有機活性種によるオートファジー誘導への関与が示唆された。

参考文献

[1]山川ら, 第 70 回応物春(2023)17a-A409-6 [2] E E. Essick *et.al.*, *Oxid. Med. Cell. Longev.* **3**, 3(2010)