

プラズマ活性乳酸リンゲル液による正常細胞のマイトファジー誘導評価

Evaluation of plasma-activated lactate Ringer's solution for induction of mitophagy

in normal cells

名大院工¹, 名大² ○(M2)森 皓平¹, 石川 健治², 田中 宏昌², 堀 勝²

Nagoya Univ. Eng¹, Nagoya Univ.², °Mori Kohei¹, Kenji Ishikawa², Hiromasa Tanaka²,

and Masaru Hori²

E-mail: mori.kohei.a7@s.mail.nagoya-u.ac.jp

はじめに 近年、長寿命化に伴いアルツハイマー病を始めとした老化関連疾患の患者数が増加している。これらの疾患は、細胞老化に伴うミトコンドリアの機能不全によって誘発されることから、機能不全となったミトコンドリア(不良ミトコンドリア)の適切な除去が、これら疾患の予防や治療において重要である。そのため、不良ミトコンドリアを除去する機構であるマイトファジーを適切に誘導する必要がある。そこで私はプラズマ活性乳酸リンゲル液(PAL)によるマイトファジー誘導促進への応用を着想した。点滴液(乳酸リンゲル液)への非平衡大気圧プラズマ照射にて作製される PAL は、ミトコンドリアに酸化ストレスを与える活性酸素窒素種(RONS)^[1]を含む。本発表では、PAL 処理した正常細胞におけるマイトファジー誘導条件を調査し、細胞生存率の結果から考察したので報告する。

実験方法 印加電圧 9 kV、周波数 60 Hz の開放系プラズマ源に流量 2 slm で Ar を供給してプラズマを生成した。乳酸リンゲル液 3 ml を入れた 35 mm ディッシュをプラズマ噴出口と液面間距離を 13 mm とし、プラズマを 20~120 秒の 20 秒間隔で照射して PAL を作製した。

各照射時間で作製した PAL を MCF-10A(正常細胞)に 1 時間処理した。その後、細胞培養液に再置換し、2 時間後に蛍光強度分析(試薬：Mitophagy Dye, 左軸)と細胞生存率測定(MTS assay, 右軸)を行った。

実験結果 プラズマ未照射の点滴液(Ctrl)を基準として、プラズマ 20~120 秒照射した PAL で処理した際の蛍光強度比を Fig. 1 に示す。PAL で処理された全条件で、Mitophagy Dye の蛍光強度が有意に増加した。特に、プラズマ 60~100 秒照射した PAL では蛍光強度が約 2 倍まで増加した。これまでの研究結果より、プラズマ 60 秒照射以上の PAL では細胞生存率が 80%程度まで減少することが分かっている。したがって、この細胞死条件における蛍光強度の増加は、PAL 内の RONS によってミトコンドリア損傷が生じたため、プラズマ照射 40 秒以下の細胞生存条件と比較して強くマイトファジーが誘導されたためと考えられる。

参考文献

[1] Swerdlow. N. S, *et al.*, Int. J. Mol. Sci. 21, 9661 (2020).

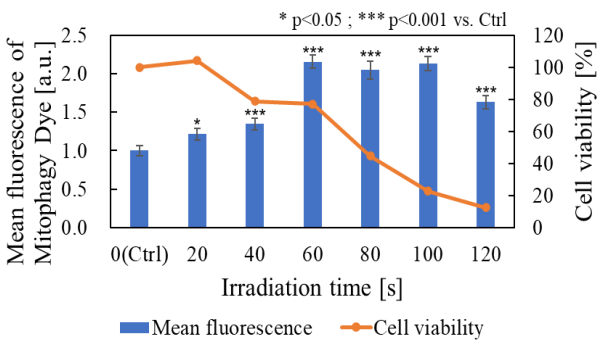


Fig.1 Mean fluorescence of MCF-10A treated by PAL