

酸素ラジカル活性化 L-トリプトファン溶液中に生成された キヌレニンによる線維芽細胞の増殖促進効果

Proliferation-promoting effect of kynurenine

generated in oxygen-radical L-tryptophan solution on fibroblast cells

名城大学¹, 名古屋大学²

○(M1)福井 公輝¹, 田島 慶人¹, 石川 健治², 田中 宏昌², 堀 勝², 伊藤 昌文¹

Meijo Univ.¹, Nagoya Univ.²

Koki Fukui¹, Keito Tajima¹, Kenji Ishikawa², Hiromasa Tanaka², Masaru Hori², Masafumi Ito¹,

E-mail: 243427031@cmailg.meijo-u.ac.jp

1. はじめに

近年、非平衡大気圧プラズマ(NEAPP)に含まれる荷電粒子、電気的中性ラジカルなどの化学的に活性の高い種を用いた産業、農業、医療応用が注目を集めている。これまでに我々は、L-Trp 溶液に酸素ラジカル処理した酸素ラジカル活性化 L-Trp 溶液により線維芽細胞の増殖促進効果を確認した。また、L-Trp 溶液に酸素ラジカル処理することでキヌレニン (KYN) や N¹-ホルミルキヌレニン (NFK) が生成されることが報告されている。^[1] そこで、本研究ではどの物質が線維芽細胞の増殖促進に関わっているかを確かめるため、酸素ラジカル活性化 L-Trp 溶液の主な生成物である KYN による増殖促進効果を調査した。

2. 実験手順

最初に、研究対象である線維芽細胞を 96well プレートに 1well あたり 2.5×10^4 個として播種した。細胞を播種し温度 37 °C、CO₂濃度 5 % のインキュベーターで 24 時間インキュベートした。50 mM のトリプトファン溶液を大気圧ラジカル源 (Tough plasma, FPA10, Fuji Co., Ltd.) を用いてラジカル処理した。ラジカル処理条件は、総ガス流量を 5 slm、ガス流量比 O₂ / (Ar + O₂) を 0.6 %、照射距離は 10 mm、照射時間は 5 分とした。その後、酸素ラジカル活性化 L-Trp 溶液から HPLC で KYN を分取した。分取した KYN をダルベッコ変法イーグル培地 (DMEM) で 100, 300, 500, 700, 1000, 1200, 1400, 1600, 1800, 2000 μM に希釈し KYN 添加培地を作製した。96well プレートの培地を KYN 添加培地と交換し、37 °C、CO₂濃度 5 % で 24 時間培養した。最後に、MTS アッセイで細胞生存率を測定した。

3. 結果と考察

図 1 に KYN 溶液を DMEM に添加した際の、線維芽細胞の増殖促進率を示す。DMEM に添加した KYN 溶液濃度が 100~1200 μM までは、無添加 (control) と比較して増殖促進が増加傾向にあった。また、添加濃度が 1200 μM となる DMEM では最も高い増殖率 212.7 % が得られた。これらの結果から酸素ラジカル活性化 L-Trp 溶液に含まれている KYN で増殖促進効果があることが示唆される。

今後、もう一つの主な生成物である NFK による増殖促進効果を調査し、どのようなメカニズムで線維芽細胞の増殖促進効果に影響を与えているか解析などで調査する予定である。

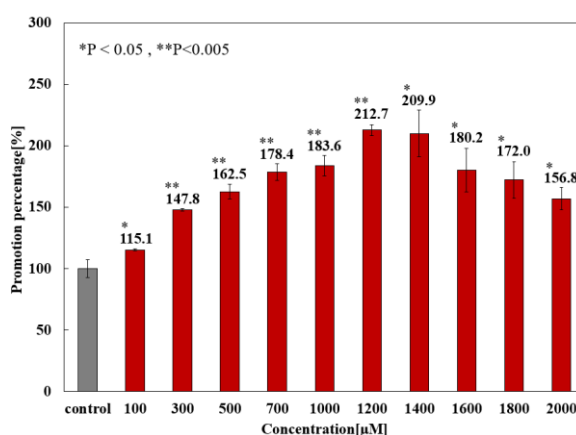


Fig.1 Changes in cell proliferation rate depending on the concentration of KYN.

謝辞: 本研究の一部は、JSPS 科研費(19H05462, 22H01213, 24H02254)の支援を受けて実施された。

参考文献

- [1] N. Iwata, et al., Environmental Technology & Innovation. Volume 33, February 2024, 103496.
[2] Y. Mori, et al., 2023 Jpn. J. Appl. Phys. 62, SL1016.