



低濃度RNSで細胞周期を整える：抗老化・抗フレイルに繋がる疲労ストレスと老化指標の可逆制御

木下 草一郎^{1*}, Farhana Begum², Md Jahangir Alam², Mahedi Hasan³,
Abubakar Hamza Sadiq³, Jaroslav Kristof³, 清水 一男^{1,2,3*}

¹ 静岡大学大学院総合科学技術研究科

² 静岡大学大学院光医工学研究科

³ 静岡大学創造科学技術大学院

*E-mail: Kinoshita.Soichiro.19@shizuoka.ac.jp & shimizu.kazuo@shizuoka.ac.jp

序論

低温マイクロプラズマは、細胞のレドックス状態を変化させる活性酸素種および活性窒素種（RONS）を生成する。このプラズマは、電子・イオン・励起種を含むイオン化ガスであり、生体分子と相互作用する。

軽度のプラズマ照射は細胞の適応的ストレス応答を活性化する一方で、過度の照射は酸化ストレスを引き起こす。

本研究では、*Saccharomyces cerevisiae*（酵母）および哺乳類細胞（HL-60、bEnd.3）におけるこれらの影響を解析し、抗老化・抗フレイルに繋がる、プラズマ誘導レドックス感受性を定量的に示す指標として Redox Sensitivity Index (RSI) を提案する。

実験方法

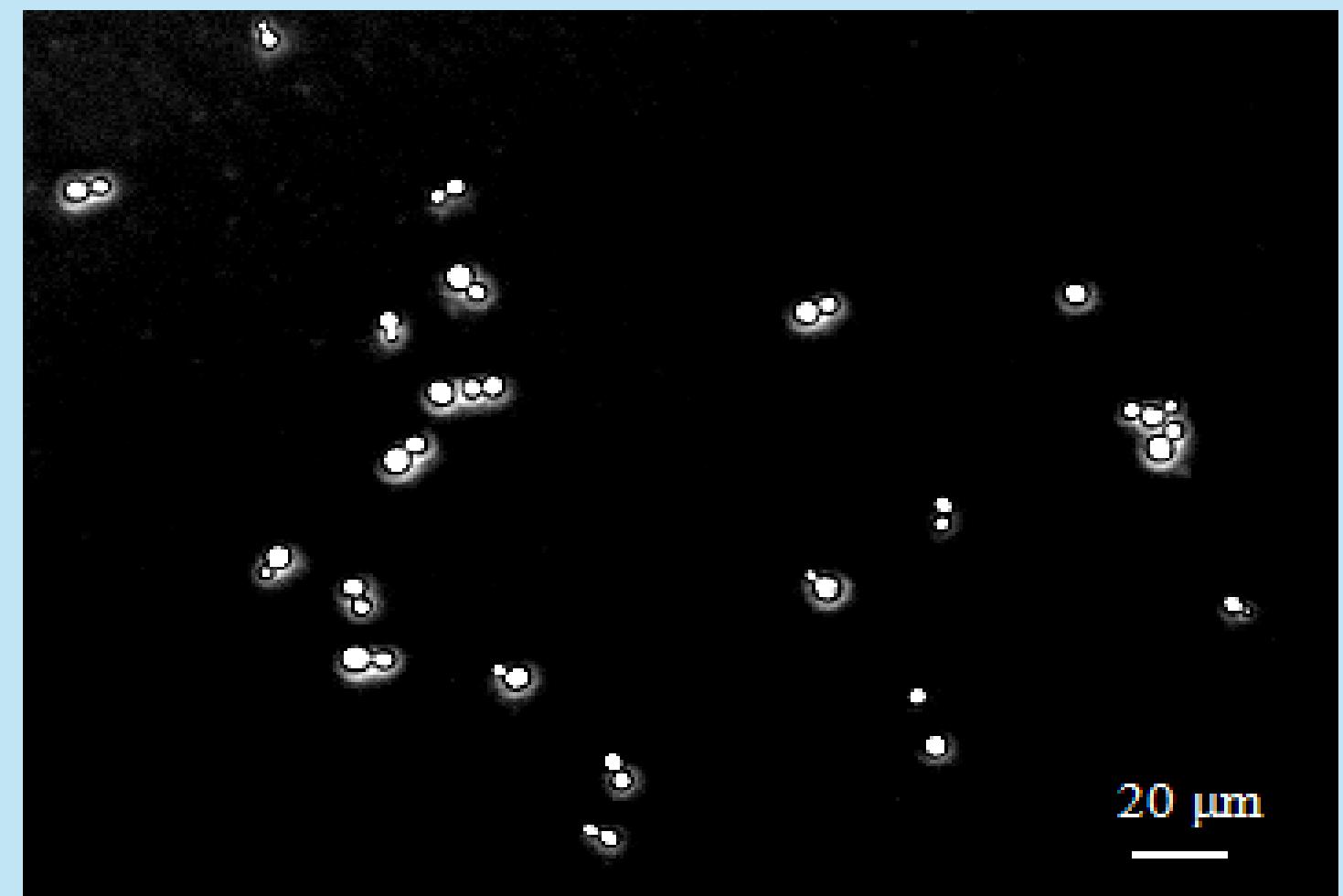


図1 YPD培地中の *Saccharomyces cerevisiae* 細胞。

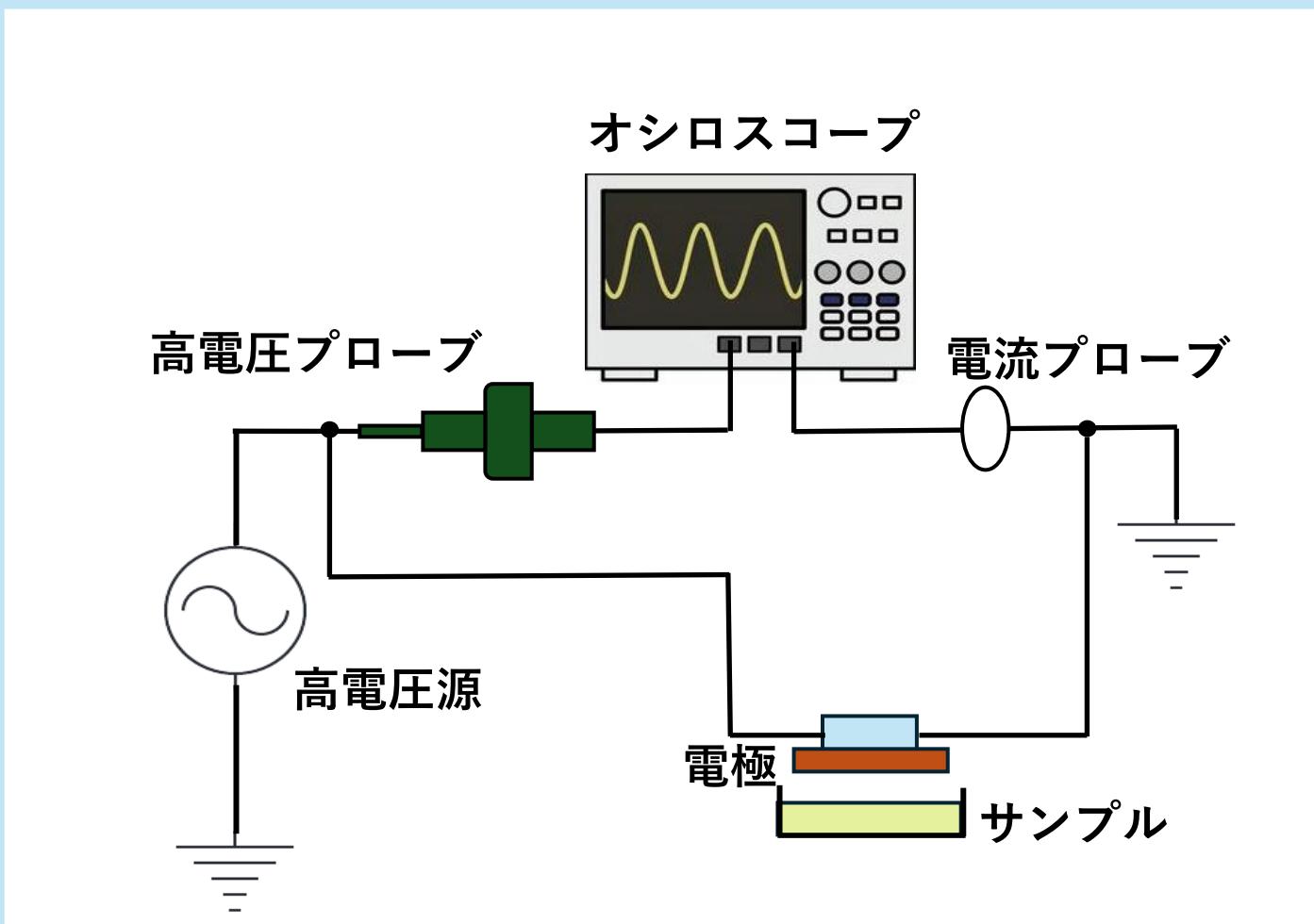


図2 マイクロプラズマ処理の実験装置の模式図

プラズマ照射後、細胞は以下の方法で解析した：

- Fun-1 アッセイ：代謝活性（赤色蛍光）の評価
- DCFH-DA アッセイ：細胞内 ROS の測定
- PIアッセイ：細胞周期解析
- 多変量解析：酵母、HL-60、bEnd.3 のデータを統合し RSI を算出

結果・考察

（1）酵母における各解析結果

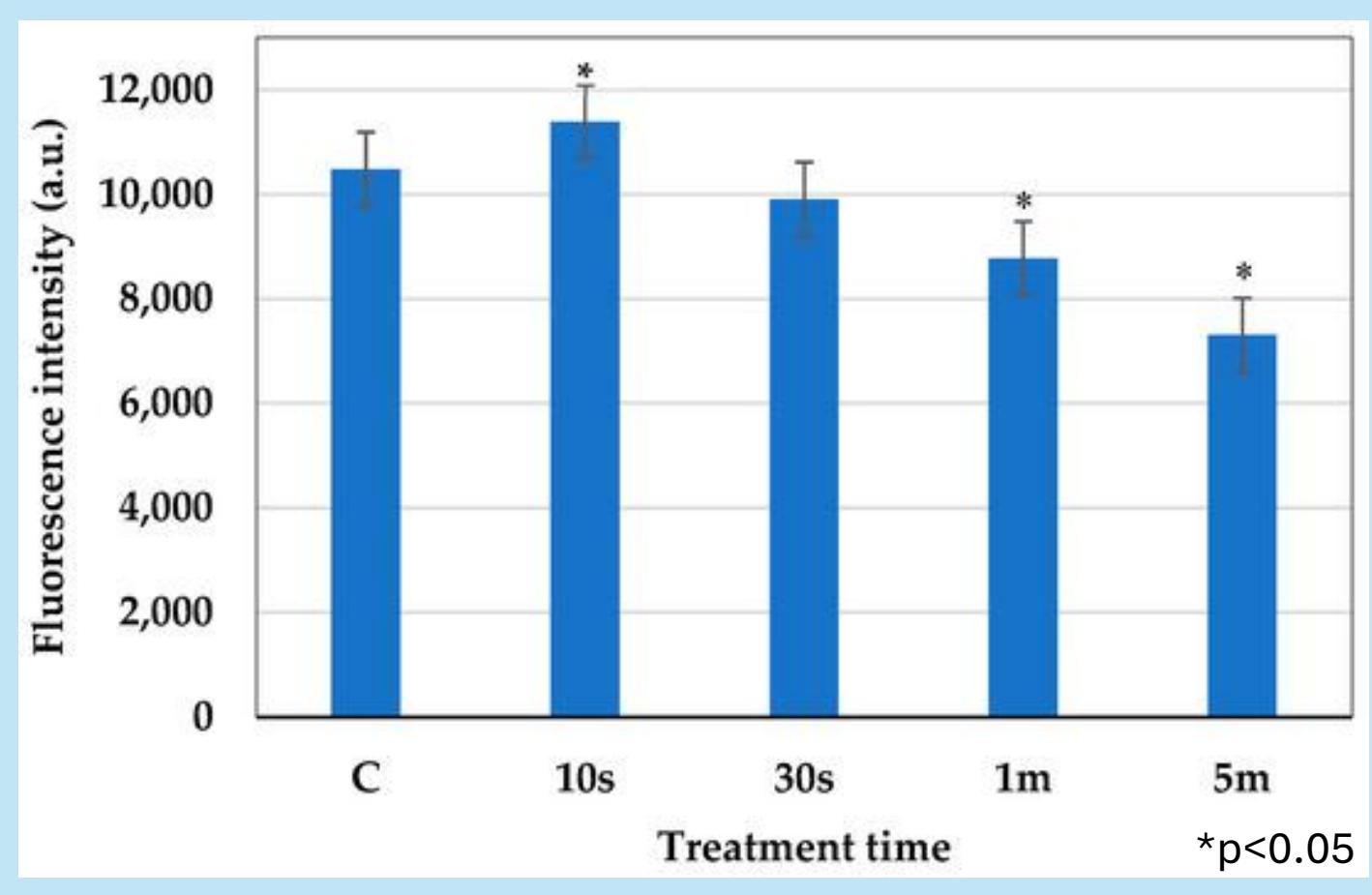


図3 代謝活性細胞の蛍光強度
(照射条件: 2.5kV_{0-p}, 1kHz, 空気)

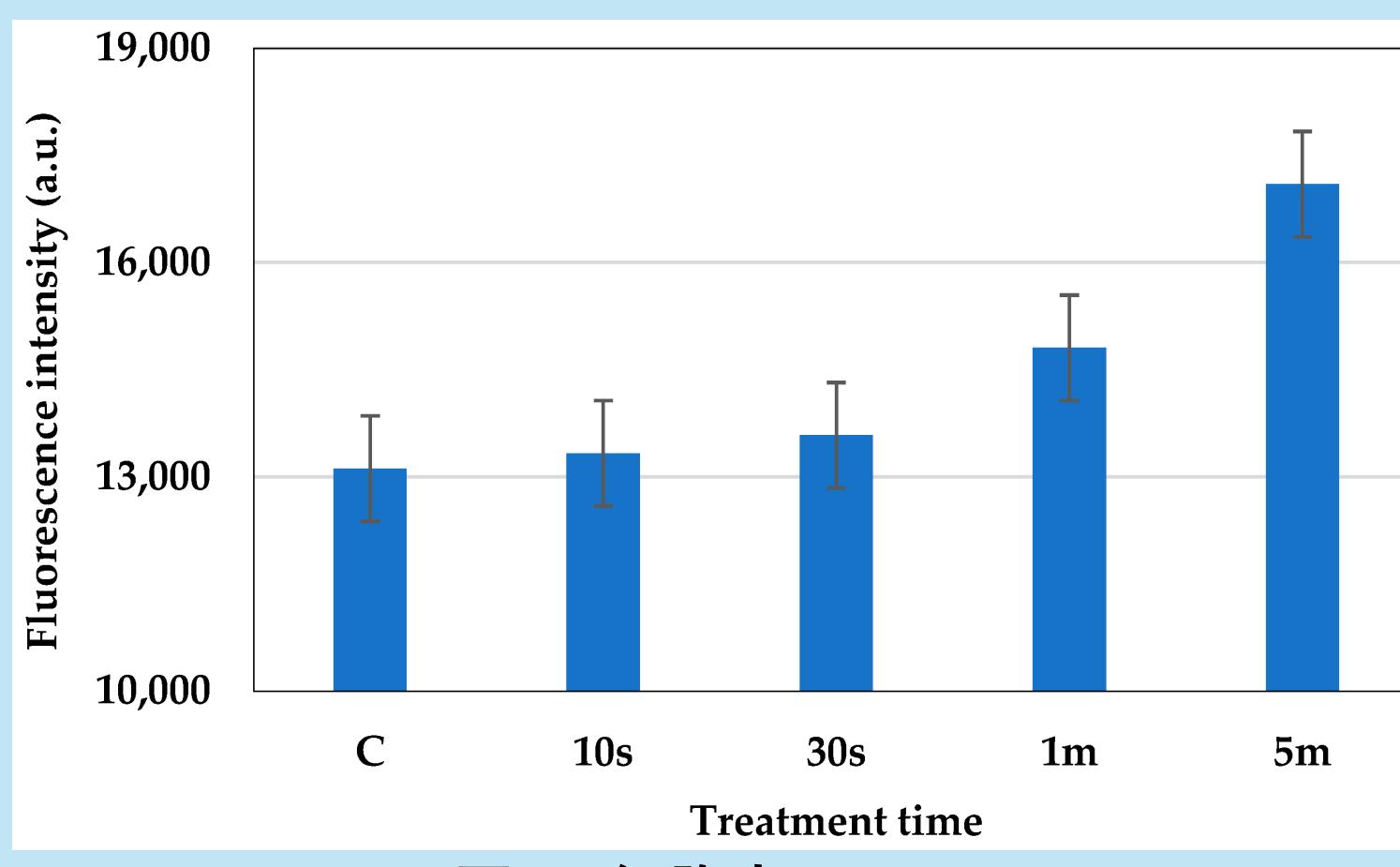


図4 細胞内 ROS レベル
(照射条件: 2.5kV_{0-p}, 1kHz, 空気)

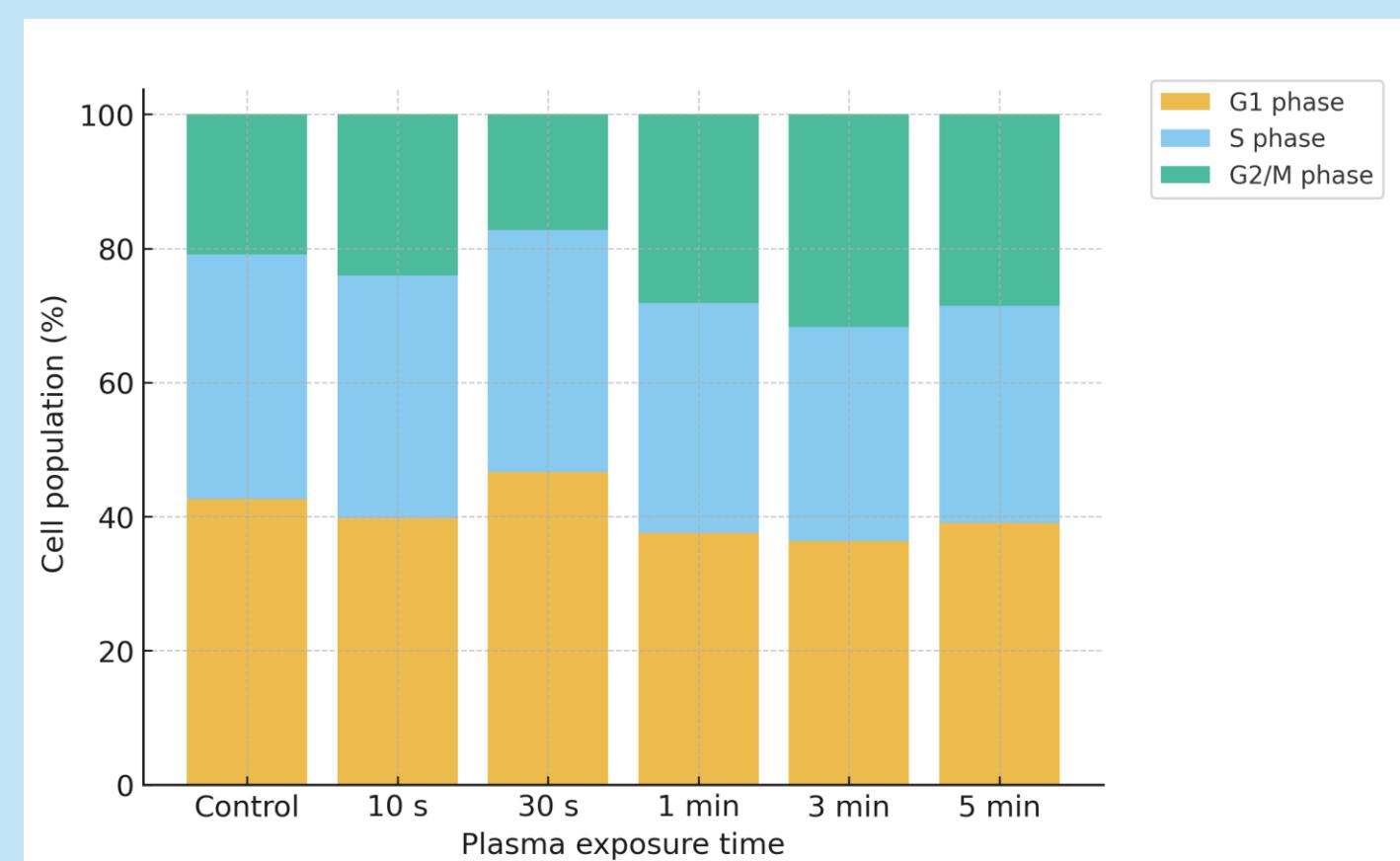


図5 プラズマ照射後の酵母細胞における
細胞周期分布
(照射条件: 2.0kV_{0-p}, 1kHz, N2ガス)

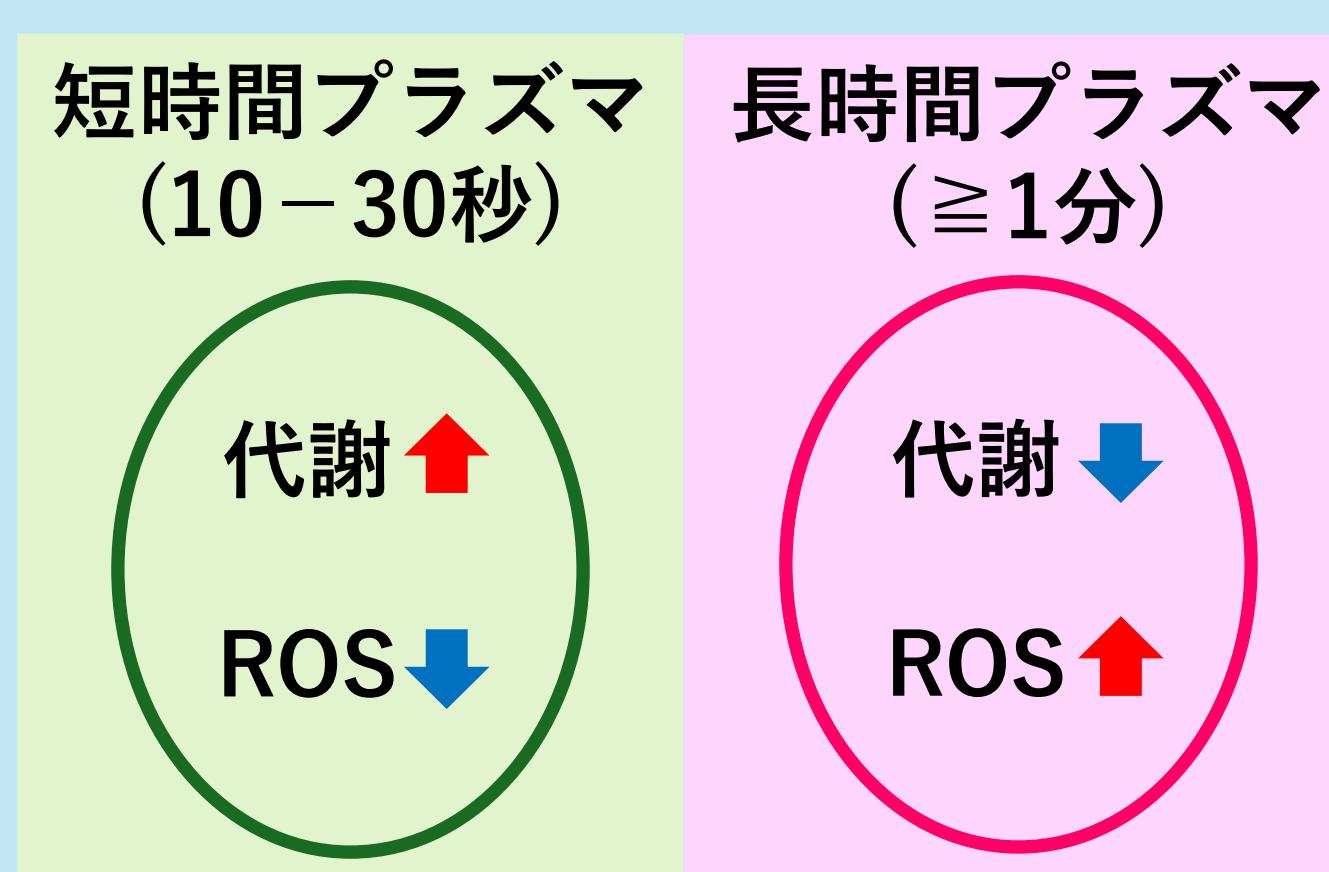


図6 酵母に対する短時間プラズマ照射と
長時間プラズマ照射の比較

二相性効果：軽度のストレスは適応応答を活性化し、過度のストレスは老化を誘導する。[1]

また、長時間照射によりG₂/M期の蓄積が見られ、DNA損傷チェックポイントの活性化が示唆された。

（2）細胞種間の多変量解析比較

- 短時間のプラズマ照射は酵母の寿命を維持した。
- 生存率には細胞種特異的な感受性がみられた：
 - 酵母 (Yeast) : 時間依存的に低下
 - HL-60 : 軽度の減少
 - bEnd.3 : 電圧依存的に低下

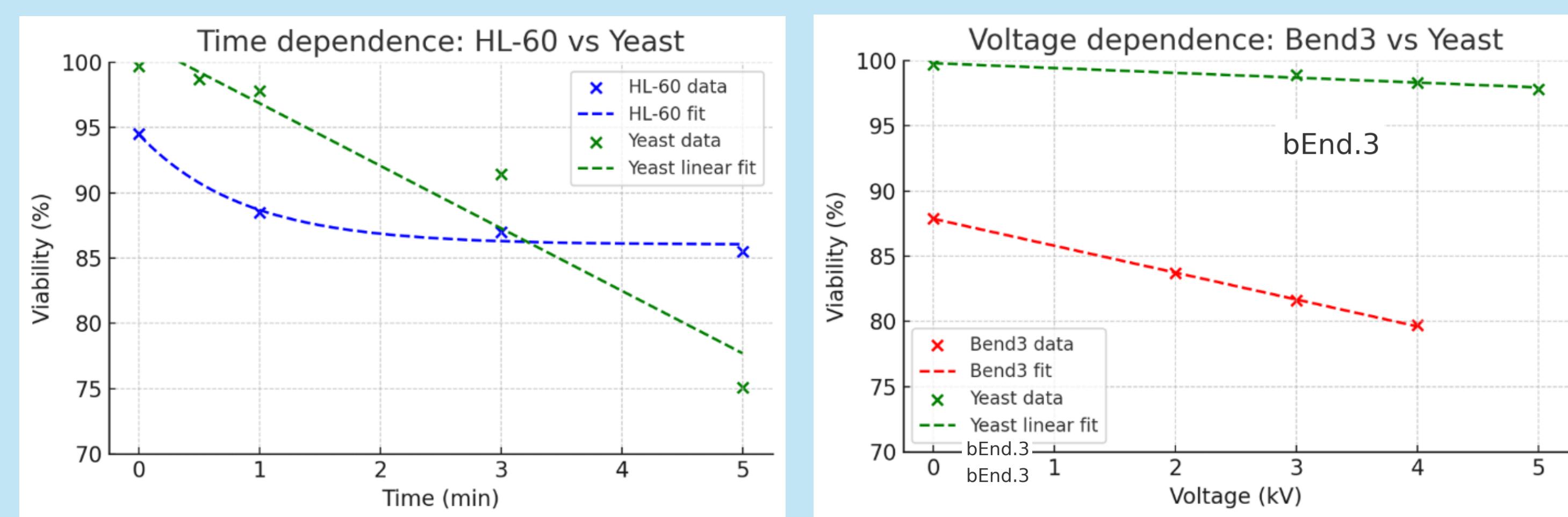


図7 時間依存の細胞生存率 (HL-60 vs. 酵母) および電圧依存の細胞生存率 (bEnd.3 vs. 酵母)

これらのデータセットを統合することで、私たちは Redox Sensitivity Index (RSI) を定義した。RSI は、プラズマによって引き起こされるレドックス変動に対して細胞種・生物種が異なっても “**刺激に対する反応の出やすさ(感受性)**” を同じ物差しで比較できる指標である。

RSI は以下のようないパラメータで構成される：

- ΔE : レドックス変化の振幅
- EC₅₀ : 半最大応答に達する時間または電圧
- AUC : レドックス応答の積分値
(定義) $RSI \propto \Delta E \times AUC / EC_{50}$

この指標により、異なる生物種間での比較が可能となり、細胞の状態を非侵襲的に制御するアプローチを可能にする。

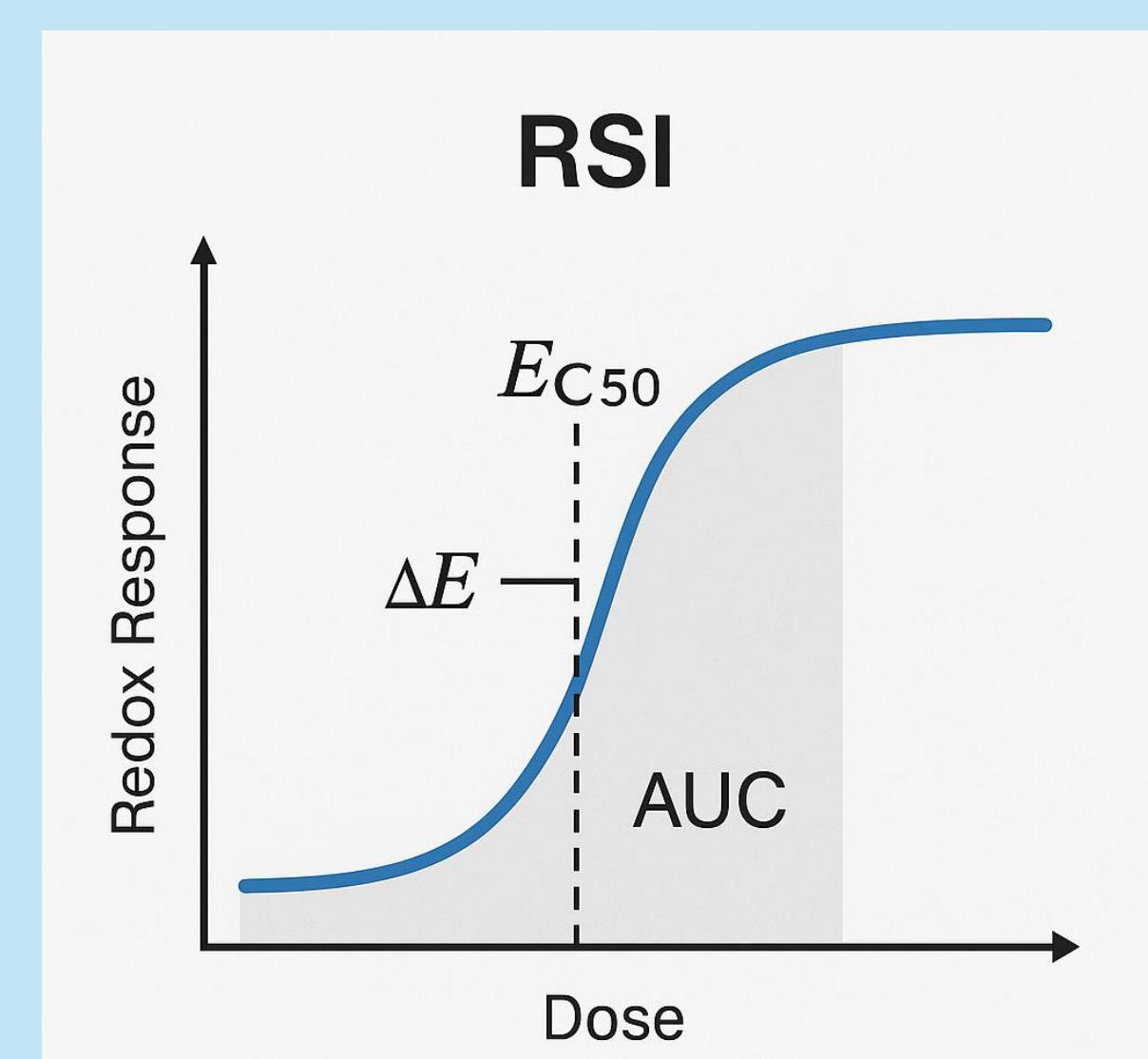


図8 Redox Sensitivity Index (RSI) の概念モデル

結論

- 短時間のプラズマ照射では、ROS が過剰に増加することなく、代謝の発現が上昇する。反対に、長時間照射では酸化ストレスが増加し、代謝活性が低下する。
- 細胞周期解析では、長時間照射でG₂/M期の蓄積が見られ、DNA損傷チェックポイントの活性化が示唆された。
- 細胞系をまたいだ比較により、細胞種ごとのプラズマ感受性の違いが明らかとなった。
- RSI は、物理的プラズマ刺激と生物学的レドックス応答を結びつけ、抗老化・抗フレイルに繋がる新しい感受性指標として機能する。

将来展開（用途例）

- 食品素材・発酵上清のスクリーニング：RSIで“応答が出る素材”をランクイン
- ロット差/QC：同一素材が同じRSIを出すか
- 製法最適化：製造条件変更がRSI/窓をどう動かすか

参考文献

- [1] F. Begum, J. Kristof, M. J. Alam, A. H. Sadiq, M. Hasan, S. Kinoshita, and K. Shimizu, “Exploring the Role of Microplasma for Controlling Cellular Senescence in *Saccharomyces cerevisiae*,” *Molecules*, 30, 9, 1970 (April 2025)