

大気圧プラズマジェットによるHeLa細胞不活性化におけるH₂O₂の影響 Effects of H₂O₂ on Inactivation of HeLa Cells by Atmospheric-Pressure Plasma Jet

渡辺 謙¹⁾, 鈴木 雄大¹⁾, 王 斗艶²⁾, 浪平 隆男²⁾
WATANABE Ken¹⁾, SUZUKI Yudai¹⁾, DOUYAN Wang²⁾, NAMIHIRA Takao²⁾

¹⁾熊本大学大学院自然科学教育科, ²⁾パルスパワー科学研究所

¹⁾Graduate School of Science and Technology and ²⁾Institute of Pulsed Power Science, Kumamoto University

1. はじめに

近年大気圧プラズマジェットを用いた創傷治療や殺菌などのバイオ・医療応用に関する研究が盛んに行われている。特に医療応用の観点からは、プラズマジェットの照射により活性酸素種(Reactive Oxygen Species: ROS)や活性窒素種(Reactive Nitrogen Species: RNS)が気相中で生成され、これらROSやRNSが血液や体液、培地などの液相中に溶け込むことで、細胞や菌などの増殖・殺菌・滅菌に寄与していると考えられている。本研究では、プラズマジェットによって引き起こされる細胞不活性化のメカニズムを調査することを目的とし、プラズマジェットにより液相中に生成されるH₂O₂に着目し、その影響を検討した。

2. 実験方法

大気圧ミストプラズマジェット(MPJ)を無血清培地溶液に照射し、硫酸チタニル法を用いて培地中のH₂O₂生成量を測定した。その後、図1(a)MPJを培地中のHeLa細胞へ直接的に照射した場合、(b)MPJ照射後の培地を細胞に添加した場合、(c)MPJ照射によって培地中に生成される量と同じ量のH₂O₂を添加した場合について、それぞれがHeLa細胞へ与える影響にどのような違いが生じるのか、生死判定、およびホログラフィック顕微鏡を用いた死亡様相の経過を観察し比較を行った。

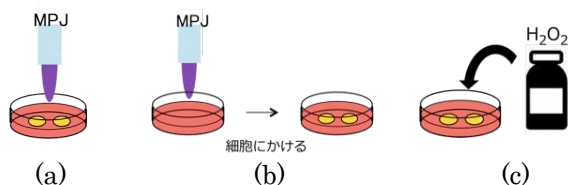


図1. 実験条件

3. 実験結果

HeLa細胞の24時間後生存率のH₂O₂の濃度依存性を測定した結果、図1(b)と(c)の条件において類似した傾向を示した。これはMPJ照射が細胞に与える二次的ストレスにおいて、H₂O₂の影響が大きいことを示す。また図1(a)においては、(b)と(c)に比べ、より細胞生存率の低下が観られた。これは(a)において、MPJ照射により培地中に誘導されるH₂O₂に加え、

UV光や短寿命の活性種などが細胞死に影響を与えた結果と考えられる。

次にホログラフィック顕微鏡を用いて、図1(a)-(c)の3つの条件における細胞の死亡様相の経過を観察した。図3に図1(c)においてH₂O₂濃度1100[μM]の培地を添加した際の経過観察結果を示す。この結果から、図1(a)-(c)のどの条件においても、AとBという異なる2種類の死亡様相が観察された。死亡様相Aにおいては、核の拡散、ブレbbing、水泡の放出などの細胞内部の様々な変化が確認され、また死亡様相Bにおいては細胞膜の破綻や内容物の流出が確認された。

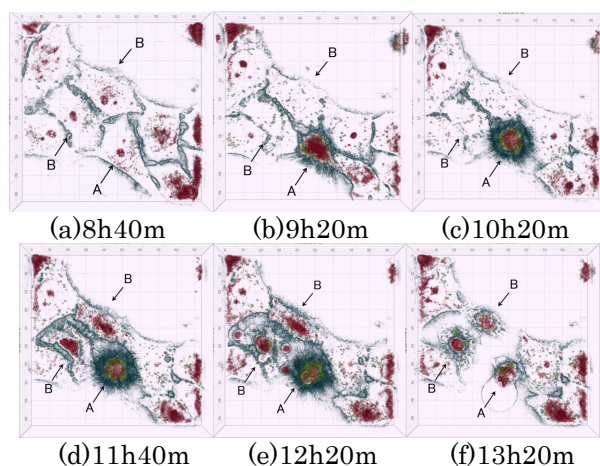


図3. HeLa細胞の死亡様相の観察結果
(H₂O₂濃度1100[μM]の培地を添加後の経過)

4. 結論

図1(b)と(c)の条件における細胞生存率が同じ傾向を示すこと、またMPJ照射とH₂O₂添加のいずれの場合も同様に2つの異なる死亡様相が観測されたことから、MPJ照射により誘導されるHeLa細胞の細胞死にはH₂O₂が特に大きな影響を及ぼしていると考えられる。

5. 参考文献

- [1] Takeshi Sato et al 2011 J. Phys. D: Appl. Phys.44 372001 "A key inactivation factor of HeLa cell viability by a plasma flow"
- [2] Ahmed ALI et al Analytical Sciences Feb 2016, Vol. 32 "Quantitative Live Single-cell Mass Spectrometry with Spatial Evaluation by Three-Dimensional Holographic and Tomographic Laser Microscopy"