プラズマ照射溶液で培養した HeLa 細胞の観察

Observation of HeLa cells incubated in plasma treated solutions

名大工　°(M)前田 昌吾，(M)細井 祐吾，石川健治，橋爪博司，田中宏昌，堀勝

Nagoya Univ. °Shogo Maeda, Yugo Hosoi, Hiroshi Hashizume, Hiromasa Tanaka, Masaru Hori

E-mail: ishikawa.kenji@nagoya-u.jp

はじめに　大気圧プラズマを乳酸リンゲル液（ラクテック）点滴液に照射したプラズマ活性ラクテック（PAL）で細胞培養した際、正常細胞は殺傷されず、がん細胞のみが殺傷される選択的殺傷効果が報告した[1]。プラズマに大気雰囲気が巻き込み、活性窒素酸素種（RONS）が生成され、液相の H_2O_2 や NO_2^- といった RONS が抗腫瘍効果に関連することも報告された[2]。細胞内の代謝プロファイルからがん細胞の選択的殺傷効果について解析が進んだ[3]。また、PAL の有機物活性種が引き起こす抗腫瘍効果が指摘され[4]、PAL 培養時の細胞応答メカニズムの解明が望まれる。今回、ヒト子宮頸がん（HeLa）細胞の PAL 培養下の細胞について調べたので報告する。

実験方法　ラクテック（3 ml）を 35 mm シャーレに入れ、大気圧 Ar プラズマ（60 Hz、9 kV、2 slm、照射距離 13 mm、時間 120 s）で照射し、PAL を作製した。PAL 内の H_2O_2 濃度は化学プローブ法で測定し、放置により H_2O_2 を取り除いた。HeLa 細胞を播種し 24 h 培養後、各サンプルで培養した後、再び培養液（DMEM）に置換し培養した。細胞生存率計測を MTS アッセイで定量し、細胞内 ROS の経時変化を CM-H_2DCFDA（OxiVision green）を用いて染色し計測した。また、細胞の形態について、レーザー顕微鏡で実時間計測した。

結果と考察　各種溶液で培養してから細胞生存率は経時的に変化する。H_2O_2 添加ラクテックと H_2O_2 抜き PAL（－）で培養した場合の細胞内 ROS 染色時の蛍光強度の経時変化を比較した。また、プラズマ照射溶液で処理した HeLa 細胞の形態を実時間で観察した。上記より、H_2O_2 以外の遅効性のプラズマ活性物質が係わる細胞死メカニズムの関与が示唆された。

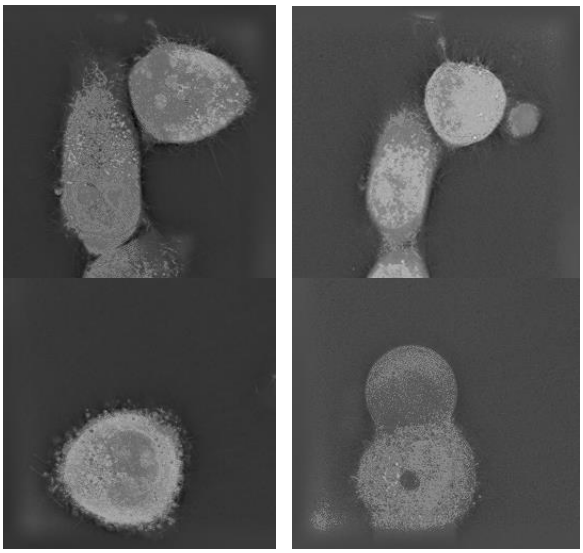

Fig. 1　Real time holotomographic images of HeLa cells incubated in medium. (left) before and (right) after immersion of the plasma-activated solutions.

謝辞　本研究は KAKEN 17H02805 の助成を受けた．顕微鏡観察の実施に際し加藤拓海氏，森田一二夫氏に感謝の意を表する．

参考文献　[1] H. Tanaka et al., Sci. Rep. 6, 36282 (2016). [2] N. Kurake et al., Arch. Biochem. Biophys. 605, 102 (2016). [3] N. Kurake et al., Arch. Biochem. Biophys. 662, 83 (2018). [4] 前田ら　第 79 回応物秋 21a-144-12 (2018).

© 2019年 応用物理学会