

口腔がん細胞への大気圧 He/O₂ プラズマ照射による不活化効果

Inactivation Effect of Atmospheric Pressure He/O₂ Plasma Irradiation on Oral Cancer Cells

九大総理工¹ ○(M2) 西田 和貴¹, 林 信哉¹

Kyushu Univ.¹, °Kazuki Nishida¹, Nobuya Hayashi¹

E-mail: kazuki.nishida.389@s.kyushu-u.ac.jp

1. 研究背景及び目的

近年、細胞への酸素プラズマ照射によるアポトーシス誘導に関する報告がなされており、大気圧非熱平衡プラズマの照射が新たながん治療法として注目されている[1]。しかし、プラズマにより生成される酸素活性種による細胞の応答機構についてはまだ解明されていないことも多い。本研究では希ガスで希釈した酸素プラズマを口腔がん細胞 HSC3 に照射した。酸素の希釈には低電力で安定したグロー放電を生成可能な He を用いた。He は長寿命な準安定励起準位を持つため、低い電圧で放電維持が可能であり、酸素の中性活性種生成に適している。更に、培地を除去した状態での細胞へのプラズマ直接照射に関する報告は少ない。そこで本研究では、接着細胞であり、かつがん細胞の中でも乾燥に強いとされる口腔がん細胞 HSC3 を用いて、培地を除去した直接プラズマ照射を行った。なお本研究では、希ガスで希釈した酸素プラズマによる細胞不活化において、細胞に影響を与える活性種の同定及び不活化メカニズムを解明することを目的とする。

2. 実験方法

本研究ではトーチ型 DBD プラズマ源を用いた。本装置は長さ 100 mm、外径 4 mm、内径 3 mm のガラス管内に高压電極としてステンレスメッシュを挿入し、外側に接地電極として銅テープを巻いたものである。管内に He ガス(流量 1.0 L/min)と O₂ ガス(流量 10 sccm)の混合ガスを流入し、高周波電圧をメッシュ電極に印加することでプラズマを生成した。印加電圧を 4-5.5 kV、プラズマ照射時間を 10 s とした。トーチ先端から 96-well plate 底までの距離を 12-17 mm まで変化させた。また、10 秒間のプラズマ照射により細胞の位置での温度が 37 °C を超えないことを確認した。各ウェル内にがん細胞を 5000 個/well の濃度で撒いた後、インキュベータ内で 24 時間培養し、培地を除去した状態でプラズマを照射した。その後新たな培地を入れて再び 24 時間培養し、生残細胞数を試薬 Cell-Counting-Kit-8 にて測定した。ま

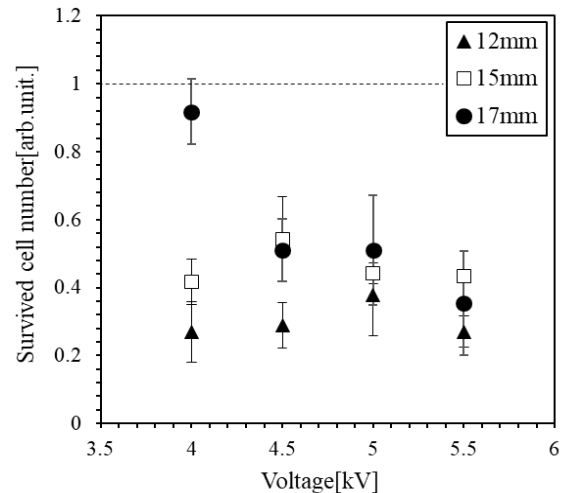


Fig.1 各印加電圧及び各照射距離における 24 時間後の生残細胞数

た、プラズマ照射によるアポトーシス誘導を確認するため、試薬 CellEvent™ Caspase-3/7 Green Detection Reagent を用いて caspase-3/7 の活性有無を検証した。

3. 結果と考察

がん細胞にプラズマを照射した結果を Fig.1 に示す。照射距離が短くなるに従って、24 時間後の生残細胞数は減少した。しかし照射距離 12 mm の場合、細胞数は顕著に減少しているものの印加電圧依存性やアポトーシス誘導などは確認できなかった。プラズマ照射後の細胞の損傷が激しく、He* の衝突などによる物理的刺激が過多であったためネクロシスが生じたと推察される。一方で照射距離 17 mm のプラズマ照射では印加電圧上昇に伴う細胞数減少が見られ、またアポトーシス誘導に関するタンパク質である caspase-3/7 の活性が確認できた。プラズマ中で生成された He* により混合した酸素が解離・励起され酸素活性種となり、がん細胞の不活化に作用したと考えられる。

参考文献

- (1) N Hayashi, Y Miyamaru, R Aijima, and Y Yamashita, IEEE TPS, VOL,47, No.2, (2019)