### がん治療を目的とした

## 高周波バーストパルスががん細胞へ与える影響の調査

佐藤 浩美\*, 安 啓太\*, 南谷 靖史\*.<sup>1</sup>, 大西 伸明\*\*, 藤原 裕介\*\*, 松林 恭平\*\*, 宮川 大輝\*\*, 勝木 淳\*\*

(2017年9月11日受付; 2018年1月22日受理)

# Investigation of Effect on Cancer Cell by High Frequency Burst Pulse for Cancer Treatment

Hiromi SATO\*, Keita YASU\*, Yasushi MINAMITANI\*,

Nobuaki OHNISHI\*\*, Yusuke FUJIWARA\*\*, Kyohei MATSUBAYASHI\*\*,

Daiki MIYAKAWA\*\* and Sunao KATSUKI\*\*

(Received September 11, 2017; Accepted January 22, 2018)

Recently, it has been shown that cancer is able to be treated by the nanosecond pulsed high electric field. We have studied the cancer treatment applying electric field by electromagnetic wave. In this study, we have investigated effect on cancer cell by a high frequency and high intensity burst pulse. The burst pulse has advantage of high efficiency for emission of the electromagnetic wave. In this paper, it has been shown that there is possibility that the burst pulse more causes apoptosis to HeLa-S3 cancer cell than the single pulse. DNA fragmentation by apoptosis has been observed at applying 200 shots of the burst pulse train with 5 pulses of the frequency of 130 MHz with the electric field strength of 50 kV/cm. However, it hasn't been observed at applying the single pulse of same condition.

#### 1. はじめに

現在,日本人の死因第1位を占めているのはがんであり、全体の約30%を占めている<sup>1</sup>. 人間の身体を構成する数十兆の細胞は日々分裂、増殖、アポトーシス(異常をきたした細胞が自己の所属する生体を守るために起こす自殺現象)を繰り返している。ところが、遺伝子に突然変異が生じると身体が必要としていない場合でも細胞分裂を起こして増殖したり、死滅すべき細胞が死滅しなくなったりする(アポトーシス機能の喪失). このようにして生じた過剰な細胞のうち、生命を脅かすものをがんと呼ぶ<sup>2</sup>.

現在,がんの治療方法として外科治療,化学療法,放射 線療法が行われているが,脱毛,食欲不振,嘔吐,疲労

**キーワード**:がん治療, 高周波, バーストパルス, アポ トーシス, HeLa-S3

\* 山形大学

(〒992-8510 山形県米沢市城南 4-3-16) Graduate school of Science and Engineering, Yamagata University, 4-3-16, Jonan, Yonezawa-shi, Yamagata, 992-8150, Japan

\*\* 熊本大学

(〒860-8555 熊本県熊本市黒髪 2-39-1) Graduate school of Science and Technology, Kumamoto University, 2-39-1, Kurokami, Kumamoto-shi, Kumamoto, 860-8555, Japan

<sup>1</sup> minami@yz.yamagata-u.ac.jp

感などの副作用を伴い、人体に対する負担が大きいため問題となっている。そこで、副作用が軽い可能性があるがん治療としてパルスパワーを用いることが注目されている<sup>3</sup>.

パルスパワーを用いたがん治療法では細胞に印加する 電界の周波数が重要な要素である。高等生物を成す真核 細胞は、細胞膜で覆われた細胞質中に核があり、核は核 質が核膜で覆われている。そして、核質中に DNA がある 構造となっている。細胞膜と核膜は電気抵抗が大きく、 細胞質と核質は電解質であるため、真核細胞全体を簡単 な電気等価回路で表すと、細胞膜と核膜は誘電体、細胞 質と核質は導体としての性質を持ち、図1のようにそれぞ れコンデンサ、抵抗とみなせる<sup>4)</sup>。したがって、細胞に交 流電圧を印加したとき、細胞の各部分にかかる電圧の大 きさは周波数によって異なることになる。我々が動物細胞 と同様の真核細胞である酵母細胞に対して図1のような

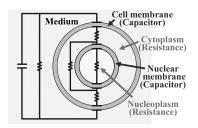


図1 細胞の等価回路

Fig.1 The electric equivalent circuit of a cell.

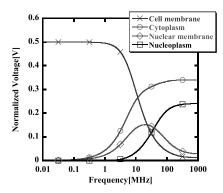


図2 細胞等価回路の周波数特性例

Fig.2 The example of the frequency characteristic of the electric equivalent circuit of a cell.

等価回路をあてはめ、細胞各部分の周波数特性を計算した例を図2に示す。パルスパワーを用いた技術では、時間幅が数ナノ程度の、数百 MHz の周波数成分を持つ極短パルス電界を細胞に印加することも可能なので、細胞質、核質に直接電界を作用させることができ、これにより細胞にアポトーシスを誘発できていると考えられている。最近の研究により、がん細胞にナノ秒のパルスパワーによって数十 kV/cm 程度の高電界を印加することで、アポトーシスを引き起こすことができることが明らかになっている。

このような高周波高電界を患部に印加するには針電極を身体に直接さす方法があるが、臓器など複雑な部位への電界供給は難しい。そこで、複数の集束アンテナを身体の周囲に置き、患部に電界を集束し、重ね合わせることで高電界をかける方法が提案されている<sup>7</sup>。我々の研究室でもこの方法での電界印加を研究している<sup>8</sup>.

この方法では、電磁波の放射効率を考えると供給波形は方形波や減衰波ではなく、単一周波数の複数の振動パルスが連続するバーストパルスを供給する方が望ましい。また、バーストパルスにすることにより細胞に与えるエネルギーも増し、効果的と考えられる。しかし、10 kV/cm を超えるような高電界の高周波バーストパルスでの実験は行われていない。

そこで、我々は数十 kV/cm の高電界の高周波バーストパルスの有効性を確認するため、実際に人の子宮頸がん細胞である HeLa-S3 細胞へバーストパルスの振動の数を変えて印加し、HeLa 細胞へのアポトーシス誘導の影響を調査した結果について報告する.

#### 2. 実験装置および実験方法

#### 2.1 実験装置

図3に実験装置の概略を示す. バーストパルスの発生は磁気スイッチ型非線形伝送線路 (NLTL: Nonlinear transmission line) により行っている 100. この装置は線路

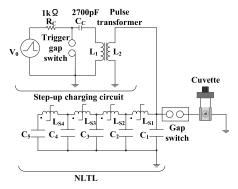


図 3 磁気スイッチ型非線形伝送線路バーストパルス発生装置 Fig.3 The burst pulse generator with magnetic switch type nonlinear transmission line.

のLC 段数分連続した振動を持つパルス, すなわちバーストパルスを出力することが可能である。NLTL を用いた高周波バーストパルス発生装置の回路は, NLTL 本体と負荷, 負荷へ電圧を印加するギャップスイッチ, および NLTL の昇圧充電回路から成っている。通常のパルス形成線路は各コンデンサによる周期が短い出力パルスが重なり合って方形波を形成する回路であるが, 磁気スイッチ型 NLTL は強磁性体の持つ飽和特性を利用し, 各コンデンサで生成された振動パルスを独立した状態で連続出力することを可能にしている。

本実験では細胞内部の細胞質、核質にバーストパルス電界を作用させた場合の影響を調べたい。図2に示す交流電界印加時の細胞各部の電界強度の周波数依存性の結果より、100 MHz 以上になると細胞質および核質に印加される電圧がほぼ最大となる "". 加えて、細胞膜にかかる電圧が10分の1以下になり、ほぼ細胞内部に電圧がかかるようになる. したがって、100 MHz 以上のバーストパルスを印加すると細胞内部に多くの電圧が印加された場合の影響がわかる. そこで、本実験では130 MHzの周波数のバーストパルスに対する影響を調べた. 比較するバーストパルスの振動の数は、現在の実験装置で出せる最大数である5. および最小の1に設定した.

図4に本実験で印加したバーストパルス波形とその周波数スペクトルを示す。図4(a)は、130 MHz の周波数で1段のLC 段を組み、1周期分のパルスを出力した場合の出力電圧波形で、図4(b)にその周波数スペクトルを示す。図4(c)は、130 MHz の周波数で5段のLC 段を組み、5周期分のパルスを出力した場合の出力電圧波形で、図4(d)にその周波数スペクトルを示す。LC 段の充電電圧は34kVである。バーストパルスの出力電圧の測定には高電圧プローブ(Tektronix、P6015: 1000:1)を使用した。この回路の出力波形は、図4からわかるように振動波形にオフセット電圧が加わったような1-cosotの形となっている。

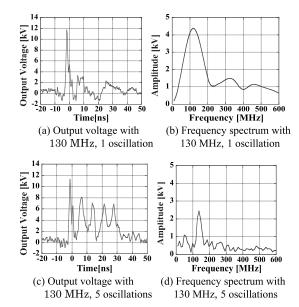


図4 バーストパルス発生装置の出力電圧波形及びその周波 数スペクトル

Fig.4 The output voltage waveform and its frequency spectra from the burst pulse generator.

#### 2.2 実験方法

細胞へのパルス電界の印加には、図3に示すエレクトロポレーション用電極付き容器 (キュベット) を用いた.電極間隔は1 mm で、試料の容量は100  $\mu$ L である。電極間の試料のインピーダンスは使用した培地の導電率で決まり10 $\Omega$  である。

実験ではヒト子宮頸がんの亜種である HeLa-S3(ATCC, CCL-2.2:住商ファーマインターナショナル)を供試細胞とした  $^{12}$ . 供試細胞は、培地に MEM $\alpha$ (和光純薬工業:135-15175)+ 10 % FBS(ウシ胎児血清、Fetal Bovine Serum)(Sigma-Aldrich:172012-500ML)+ 1 % Penicillin/ Streptomycin(和光純薬工業:168-23191)を使用し、3 $^{\circ}$ C、CO2 5 %(残りは空気)の環境下のインキュベータ(培養器)内で 48~72 時間培養したものを使用した、パルス印加時の細胞濃度は  $1.0 \times 10^{\circ}$  cells/mL とし、1 mm 間隔電極付きキュベット内の全細胞数は  $1.0 \times 10^{\circ}$  cells とした。また、パルス電界印加時における培地にも上記の培地を使用した.

実験は、最初にアポトーシス誘導を確認するバーストパルスの電界強度と印加回数を決定するため、電界印加時の細胞死の割合を観測した。印加した電界は、電界強度 50 kV/cm で印加回数 200 shots と、電界強度 100 kV/cm で印加回数 500 shots の 2 つである 。電界強度 100 kV/cm は、用いた 1 mm キュベット内で、目視により放電が起こらない範囲として設定した。印加条件をまとめたものを表 1 に示す 。その後、この 2 点より アポトーシ ス誘導を確認するための電界強度、印加回数を決定し、アポトーシスの誘導の有無を確認した。

表 1 印加条件

Table 1 The applied condition to the cancer cell.

Electric field intensity [ kV/cm ]	50	100
The number of applying pulses [shots]	200	500
The pulse repetition rate [pps]	1	3
The oscillation number of the burst pulse	1, 5	1, 5

細胞死の観測はPI染色法を用いて行った。PI染色液には-Cellstain-PI solution(同仁化学研究所、P378)を用いた。PI染色法の原理及び測定手順を次に記す。PIは分子量 668.39 の比較的大きな蛍光色素であり、通常では細胞内に入ることはない。しかし、細胞膜にPIが通過できるほどの穴(ナノポア)が出来ると細胞内に入り核を赤く染める。染色された細胞は細胞膜に欠陥ができているため死細胞であると判断できる。

実験は、パルス電界を印加直後の0時間後と、印加して12時間後の細胞の様子を観測した。これは、電界が細胞膜に直接作用することで細胞膜に絶縁破壊を起こして穴が開く場合は、電界印加直後にPI染色液が細胞に入り込むが、アポトーシスによる細胞死のようなシグナル伝達を介して細胞の生存率が低下する場合には、パルス電界を細胞へ印加してから数時間経過した後に細胞膜が劣化して穴が開きPI染色液が入り込むからである<sup>13)</sup>.

アポトーシス誘導の有無の確認には TUNEL 法を用いた。 TUNEL 試薬にはフローサイトメトリーアポトーシス検出キット FlowTACS<sup>™</sup>(コスモバイオ、4817-60-K)を用いた。 TUNEL 法とは、細胞がアポトーシスを起こす過程で断片化する DNA に分子プローブを反応させ、染色を行う方法である。 つまり、アポトーシスが起きているかどうかが、染色しているかどうかで分かる方法である。 測定はフローサイトメータを用いて行った。

TUNEL 法での測定手順は以下のとおりである. パルス電界印加後 PI 実験と同様の手順で処理を行い, 0時間のものはすぐに, 12時間後のものは12時間培養後に,シャーレ内の培地をマイクロチューブへ移し, そのシャーレにリン酸緩衝生理食塩水 (PBS) を500 μL 入れ,

それもまたマイクロチューブに移す。また先ほどのシャーレに 1 mM のエチレンジアミン四酢酸(EDTA)を  $200 \mu \text{L}$  入れ,1分後 EDTA をさらにマイクロチューブに移す。マイクロチューブの懸濁液をシャーレに戻し,ピペッティング(ピペット内に懸濁液を出し入れすることでかき混ぜること)で細胞をはがす.

次に、マイクロチューブにピペッティングした懸濁液を入れ、2000 G、25℃で3分間遠心にかける。その後上清を抜き、4%パラホルムアルデヒドを500  $\mu$ L 入れ、再度ピペッティングする。パラホルムアルデヒドを入れたことで固定された細胞を2000 G、25℃で3分遠心し上清を抜き、マイクロチューブに PBS を1  $\mu$ L 加えて2000 G、25℃で3分遠心する。遠心後上清を抜き、膜透過性試薬(Cytonin)を100  $\mu$ L 加えて細胞膜を融解させる。その後10分ごとにタッピングしながら60分間、37℃でインキュベートする。

その後、2000 G、25℃で3分遠心して TACS ヌクレアーゼなどのキット同封の酵素を投薬し、1時間インキュベートする。そして、インキュベート後フルオレセインイソチオシアネート(FITC)による染色を40分、常温暗室で行う。この溶液をフローサイトメータ(FACS Calibur™, AS ONE)で測定する。

#### 3. HeLa細胞への印加実験結果

#### 3.1 印加強度の違いによる細胞死の観測

図5にパルス電界を印加した場合の細胞のPI 蛍光染色写真の例を示す。電界強度50 kV/cm, 印加回数200 shots の条件の図5 (a), (b) では印加後12時間, 電界強度100 kV/cm, 印加回数500 shots の条件の図5(c), (d) では印加後すぐに測定したものを示している。図5(c), (d) では印加直後に, ほとんどの細胞がPI 染色されてしまっていることがわかる。つまり, 電界強度100 kV/cmで印加回数500 shotsの印加強度では, 印加直後にパルス電界によってほとんどの細胞が死んでいることを示している。この結果の確認のため, 生細胞数測定試薬(同仁化学研究所: Cell Counting Kit-8) でも測定を行ったが生細胞は確認されなかった。この結果より電界強度100 kV/cmで印加回数500 shotsの印加強度では, 12時間後にシグナル伝達で染色される細胞はほとんど残っていないと考えられたので12時間後のPI測定は省略した<sup>5</sup>.

一方,電界強度 50 kV/cm で印加回数 200 shots の条件の測定では、印加直後の顕微鏡観察では様子に変化のある細胞は少なかったので、細胞内シグナル伝達により細胞死が増える 12 時間後に PI 染色を行い、死んでいる細胞を確認した.

図5で示したようなPI染色の写真データを基にして、

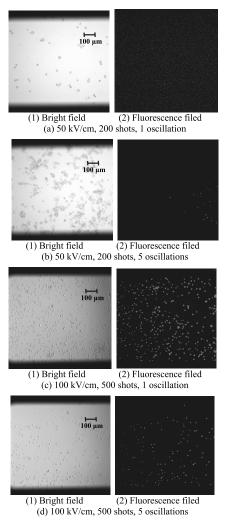


図 5 PI 蛍光染色による細胞死の様子(× 10倍) Fig.5 The appearance of the cell death by PI fluorescent stain.(× 10 magnified)

パルス電界を細胞へ印加した場合の細胞死の割合を算出したものを図6に示す。図にはパルス電界を印加しない以外は同様の操作を行ったネガティブコントロールの割合も表している。図において、100 kV/cm、500 shots の条件にはエラーバーがないが、これはこの実験がアポトーシス誘導を確認するバーストパルスの電界強度と印加回数を決定することが目的だったため、どのくらいの値を示すかがわかればよく、エラーバーが必要ではなかったので、本実験自体を1回しか実施していないためである。ただし、100 kV/cm、500 shots の結果はアポトーシス誘導の確認に適さなかったので1回しか測定していないが、電界強度50 kV/cm、印加回数200 shots の条件およびネガティブコントロールは、後のアポトーシス誘導の有無の確認時にPI 染色を確認したデータも図6に入れたため複数のデータ(3回)がありエラーバーが記載されている。

図より、50 kV/cm、200 shots での細胞死の割合は、振動の数1のバーストパルスでは2.69%とコントロールと

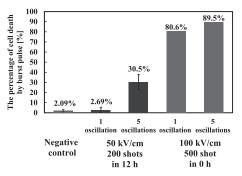


図 6 振動の数 1 と 5 のバーストパルスを印加時の細胞の死 亡率

Fig.6 The ratios of the cell death applying the burst pulses with 1 oscillation and 5 oscillations.

差がなく細胞に影響を与えていないことがわかる. 振動 の数5のバーストパルスでは30.5%と約3分の1の細胞 が細胞死した. 一方, 100 kV/cm, 500 shots では振動の数 1及び5でそれぞれ80.6%,89.5%と、細胞死の割合が高 くなった. この印加強度では、電界印加直後に細胞のほ とんどに細胞膜破壊による細胞死を与えてしまっている ことがわかる. したがって, 電界印加時に起こる細胞膜(コ ンデンサとみなせる)への電荷蓄積により細胞膜に絶縁 破壊が発生し、ネクローシス(壊死)による細胞死であ ると推測される<sup>14)</sup>. これは、130 MHz では相対的に細胞 内部に比べて細胞膜へかかる電圧は低下するが、印加し た電界強度が 100 kV/cm では大きすぎたため、細胞膜へ 印加された電圧が細胞膜を絶縁破壊するのに十分な程大 きかったことを示している。この場合、アポトーシスに 進む前に細胞死が起こるため、アポトーシスによる細胞 死は観測されない5.一方、我々の文献5)の結果より、 細胞が十数パーセント死ぬ条件であればアポトーシス誘 導が確認できることがわかっている. したがって、アポ トーシス誘導の有無の確認は電界強度の大きさを半分に した 50 kV/cm, 200 shots の印加条件にて行うこととした.

#### 3.2 アポトーシス誘導の有無の確認

図7にTUNEL法により観測したコントロールにおける各蛍光強度での細胞数を示す.図7(a)には、パルス電界を印加していない場合の細胞の蛍光強度と細胞数の関係の測定結果であるネガティブコントロールを示す、パルス電界を印加していない場合は多くの細胞が細胞死を起こしていないため蛍光色素は発光せず、蛍光強度が数十以上の高いところの細胞数は少なく、数十以下の低いところの細胞数が多い。図7(b)には、直接 DNA 鎖を切る試薬(TACS-Nuclease、TANEL 試薬に同梱)により強制的にすべての細胞に DNA の断片化を起こしたポジティブコントロールを示す、パルス電界印加によりアポトーシスを起こした細胞は、蛍光色素と反応し図7(a)の蛍光

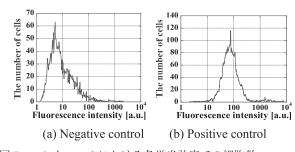


図 7 コントロールにおける各蛍光強度での細胞数 Fig.7 The number of the cell at each fluorescence intensity for controls.

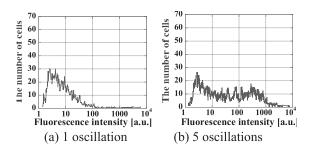


図8 各蛍光強度における細胞数 (電界強度 50 kV/cm, 130 MHz のパルス電界を 200 shots 印加した直後)

Fig. 8 The number of the cell at each fluorescence intensity. (0 hour after applying pulses of 130 MHz, 50 kV/cm, 200 shots)

強度の位置から図7(b)のような蛍光強度の位置に移動するため、蛍光強度が数十以下の低いところの細胞数が少なくなり、数十以上の高いところの細胞数が多くなる.

図8(a) に、印加後0hのバーストパルスの振動の数1の条件下における蛍光強度と細胞数の関係を示す。図8(a) は図7(a) のネガティブコントロールと同様に、蛍光強度が数十以上の高いところの細胞数は少なく、数十以下の低いところの細胞数が多いためアポトーシスを起こしていない。

一方、図8(b)には、印加後0hのバーストパルスの振動の数を5とした条件下における蛍光強度と細胞数の関係を示す。図8(b)では、蛍光強度が数十以上の細胞数が増え、蛍光強度が数十以下の細胞と同等の数となっている。振動の数が5のバーストパルスを印加すると、パルス電界印加直後からアポトーシスを起こした細胞が存在することが観測された。

図9に、図8のフローサイトメトリーの結果を DNA の断片化の割合で数値化したものを示す。断片化の閾値は図7(a),(b)の細胞数を規格化して比べ、線の交わった蛍光強度、37とした。バーストパルスの振動の数1では DNA が断片化した細胞の割合はネガティブコントロールと同じでありアポトーシスは誘導されていないことが示される。一方、バーストパルスの振動の数5の方は約半分の細胞が DNA の断片化を起こしており、パルス電界印

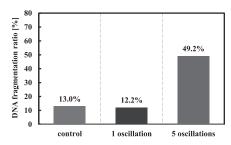


図 9 50 kV/cm で 130 MHz のパルス電界を 200 shots 印加し 0 h 後の DNA 断片化の割合

Fig.9 The ratio of DNA fragmentation applying pulse electric field with 130 MHz. (0h after applying pulses of 50 kV/cm, 200 shots)

加直後からアポトーシスが誘導されていることがわかる.

バーストパルスの振動の数 1 と 5 の比較では、加えたエネルギー値に振動の数分の 5 倍の差があるため当初の狙い通り DNA の断片化、すなわちアポトーシス誘導に差異が生じたと考えられる。130 MHz、50 kV/cm、200 shots の条件ではアポトーシス誘導の閾値はバーストパルスの振動の数 1 から 5 の間にあることが示された。

以上のことから、細胞に印加するパルスをバーストパルスにして振動の数を増やすとアポトーシスを起こすことが容易になることが示された。今後この間の振動の数を調べ、アポトーシスを誘導できる閾値の振動の数を明らかにする。さらに、バーストパルスに優位性があるかを明らかにするため、バーストパルスの振動の数1のパルス電界の繰り返し周波数と印加ショット数を5倍にして、同じ時間内にバーストパルスの振動の数5のパルス電界と同じエネルギーを細胞に加えたとき、アポトーシス誘導に差異があるか調べる。

#### 4. おわりに

周波数 130 MHz のバーストのパルス電界を HeLa 細胞へ印加し、その影響を調べた。電界強度 50 kV/cm のバーストパルスの振動の数 1 のパルス電界ではアポトーシスを起こせなかったが、バーストパルスの振動の数 5 のパルス電界を印加した場合は印加直後から DNA の断片化が見られたことから、アポトーシスが効率よく起きることが確認された。電界強度 100 kV、印加回数 500 shots の条件においては、印加直後に細胞がほとんど死亡していることから、アポトーシスではなく細胞膜の破壊によるネクローシスによって細胞死したと考えられる。以上より、今後はこの間の印加条件を詳しく調べることで、がん細胞にアポトーシスを引き起こす印加条件を明らかにすることが出来ると考えられる。

本研究の一部は科学研究費補助金(基盤研究(C) 26420220)の助成により行われた.

#### 参考文献

- 厚生労働省:人口動態統計の概要 死因簡単分類別にみた性別死亡数・死亡率(2015)
   http://www.mhlw.go.jp/toukei/saikin/hw/jinkou/kakutei14/dl/11 h7.pdf
- 2) 室伏きみ子, 小林哲幸: 細胞の科学, p.260, オーム社 (1999)
- S. J. Beebe, P. M. Fox, L. J. Rec, K. Somers, R. H. Stark, K. H. Schoenbach: Nanosecond Pulsed Electric Field (nsPEF) Effects on Cells and Tissues: Apoptosis Induction and Tumor Growth Inhibition. IEEE Trans. Plasma. Sci. 30, (2002) 286
- 4) K. H. Schoenbach, B. Hargrave, R. P. Joshi, J. F. Kolb, R. Nuccitelli, C. Osgood, A. Pakhomov, M. Stacey, R. J. Swanson, J. A. White, S. Xiao, J. Zhang, S. J. Beebe, P. F. Blackmore, E. S. Buescher: Bioelectric Effects of Intense Nanosecond Pulse. IEEE Trans. Dielectr. Electr. Insul.. 14 (2007) 1088
- R. Kageyama, Yuta Kobayashi, Kenji Tamura, Koki, Saito, Yasushi Minamitani: Difference of Cell Death of Budding Yeast for Frequency Components of Pulsed Electric Field. IEEE Trans. Plasma. Sci. 44, (2016) 877
- R. Nuccitelli, U. Pliquett, X. Chen, W. Ford, R. J. Swanson, S. J. Beebe, J. F. Kolb and K. H. Schoenbach: Nanosecond pulsed electric fields cause melanomas to self-destruct. Biochem. Biophys. Res. Comm., 343 (2006) 351
- K. H. Schoenbach, R. Naccitelli, S. J. Beebe: Extreme Voltage Could be a Surprisingly Delicate Tool in the Fight Against Cancer. IEEE Spectrum, 43 (2006) 20
- Y. Minamitani, T. Ueno, Y. Ohe, S. Kato: Intensity of Electric Field Radiating from High-power Pulsed Electromagnetic Wave Generator for Use in Biological Applications. IEEE Trans. Dielect. Electr. Insul. 17 (2010) 1895
- S. Katsuki, K. Mitsutake, M. Yano, H. Akiyama, H. Kai, T. Shuto: Non-thermal and Transient Thermal Effects of Burst 100 MHz Sinusoidal Electric Fields on Apoptotic Activity in HeLa Cells. IEEE Trans. Dielect. Electr. Insul. 17 (2010) 678
- 10) 安 啓太, 額賀 拳, 南谷靖史:バイオエレクトリクス 応用のための磁気スイッチを用いたバーストパルス発生 装置の開発. 電気学会資料プラズマ・パルスパワー・放 電合同研究会, PST-16-040, PPT-16-040, ED-16-067, 電 気学会 (2016)
- N. Nomura, M. Yano, S. Katsuki, H. Akiyama, K. Abe, S. Abe: Intracellular DNA Damage Induced by Non-thermal, Intense Narrowband Electric Fields. IEEE Trans. Dielect. Electr. Insul. 16 (2009) 1288
- 12) ATCC home page, HeLa S3 (ATCC® CCL-2.2™): https://www.atcc.org/Products/All/CCL-2.2.aspx
- 13) 安達隆太, 畑山翔太, 大西伸明, 勝木 淳, 和田 敏明, 安部恵祐:ナノ秒パルス強電界による細胞死誘導とパルス幅依存性. 電気学会論文誌 A (基礎・材料・共通部門誌) 137 (2017) 320
- U. Zimmermann: Electrical Breakdown, Electropermeabilization and Electrofution. Rev. Physiol. Biochem. Pharmacol, 105 (1986) 176