パテントナビ株式会社
代表取締役 浅田 健三 殿

研 究 報 告 書 第 2 報 （ 完 結 版 ）

X線照射によるリンパ細胞死に対する水素水の防御効果

計14頁

県立広島大学 名誉教授、大阪物療大学 保健医療学部 教授、
日本水素医療美容科学会 理事長、日本水素水振興協会 理事、NPO法人 日本老化
防御医科学センター 理事長 薬学博士 三羽 信比古

2014-3-3改訂版

（追記2頁、追加3～5,10,14頁）

実験Protocol

- 細胞：ヒト リンパ球HEV0082 cell
- X線照射装置：日立X線照射装置 MBR-1520R-3
- X線量：1.5 Gy
- 培養パターン：
  - A、細胞seed+新鮮水素水→X Ray→3日間培養→Cell viability（Aramar blue assay）、活性酸素（ROS Orange reagent）測定
  - B、細胞seed+新鮮純水→X Ray→3日間培養→Cell viability、活性酸素測定
  - C、細胞seed+新鮮純水→No X Ray→3日間培養→Cell viability、活性酸素測定

CellROX® Oxidative Stress Reagents (Orange reagent)

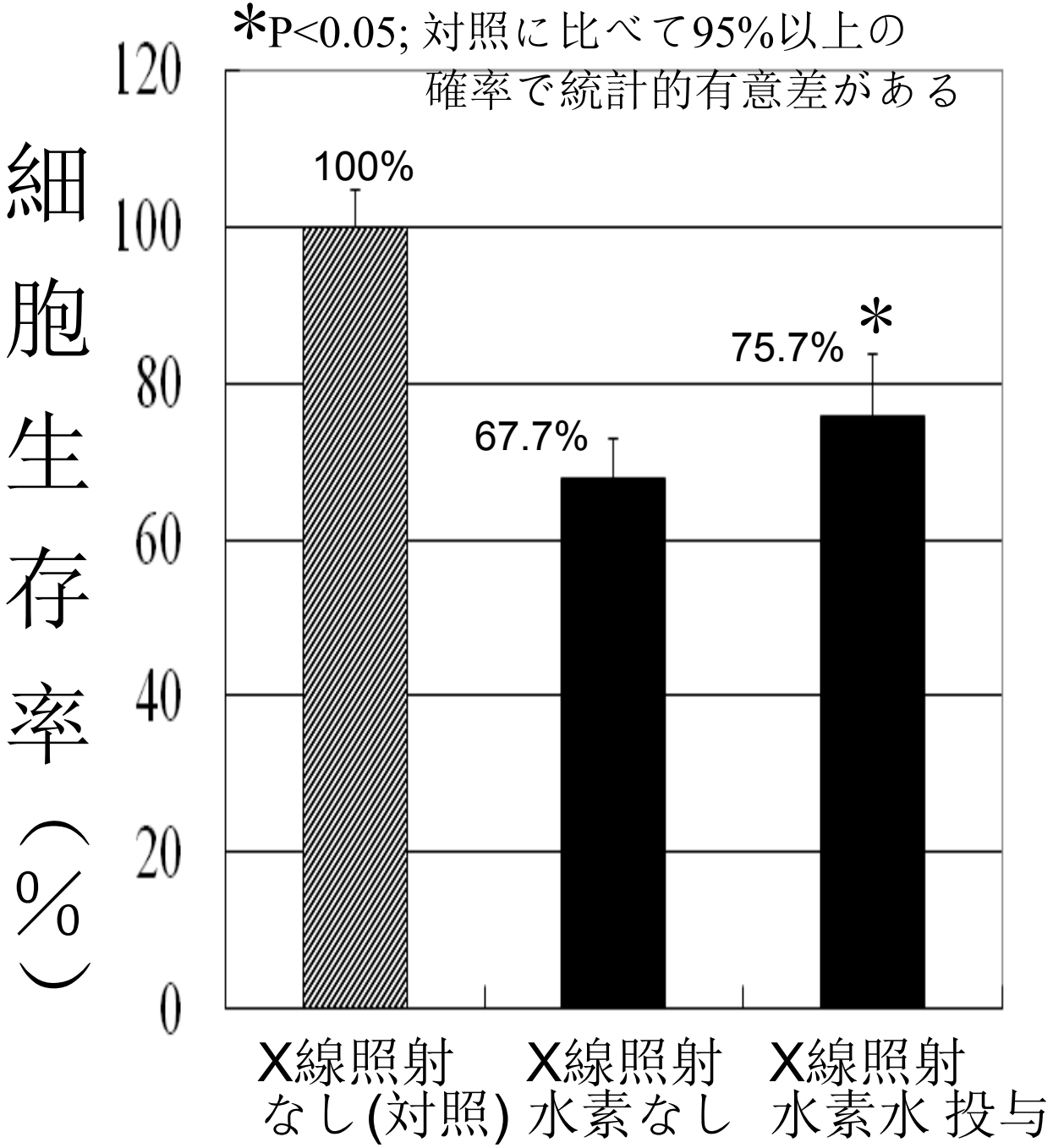
- CellROX® Oxidative Stress Orange Reagentは生細胞内活性酸素を測定する試薬である。
- この試薬は細胞膜を浸透し、細胞質に局在する。
- 活性酸素の存在下強いオレンジ色の蛍光を発する。

CellROX® Oxidative Stress Reagents (Organge reagent)

- CellROX® Oxidative Stress Reagents are fluorogenic probes designed to reliably measure reactive oxygen species (ROS) in live cells. The cell-permeable reagents are non-fluorescent or very weakly fluorescent while in a reduced state and upon oxidation exhibit strong fluorogenic signal. The signals from CellROX® Orange Reagents are localized in the cytoplasm. The fluorescence resulting from CellROX® Oxidative Stress Reagents can be measured using traditional fluorescence microscopy, high-content imaging and analysis, microplate fluorometry, or flow cytometry.

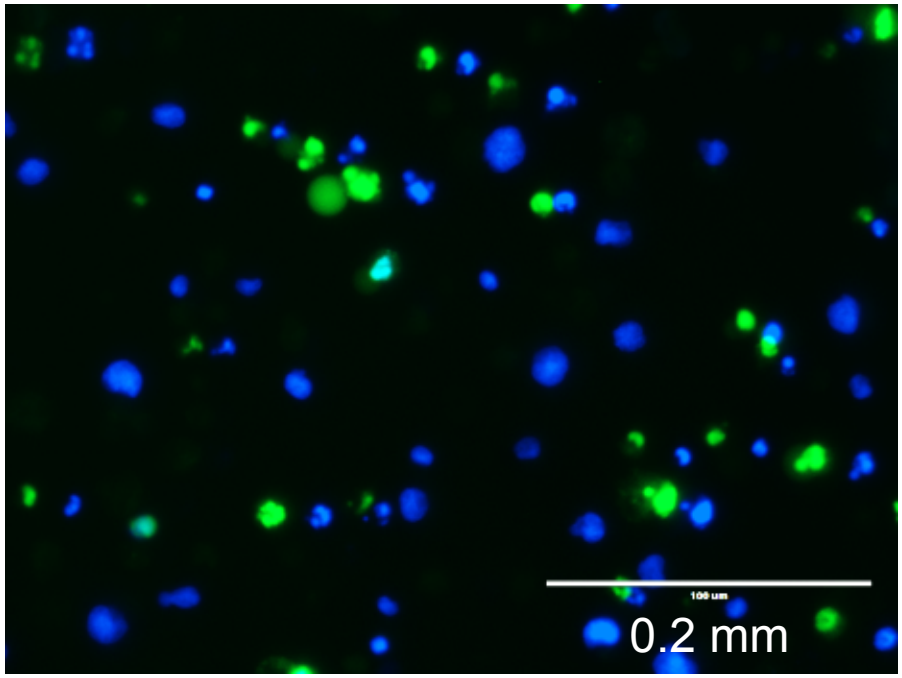
重要

水素水は、ヒトリンパ球（HEV008細胞）へのX線照射による細胞生存率低下を防御する

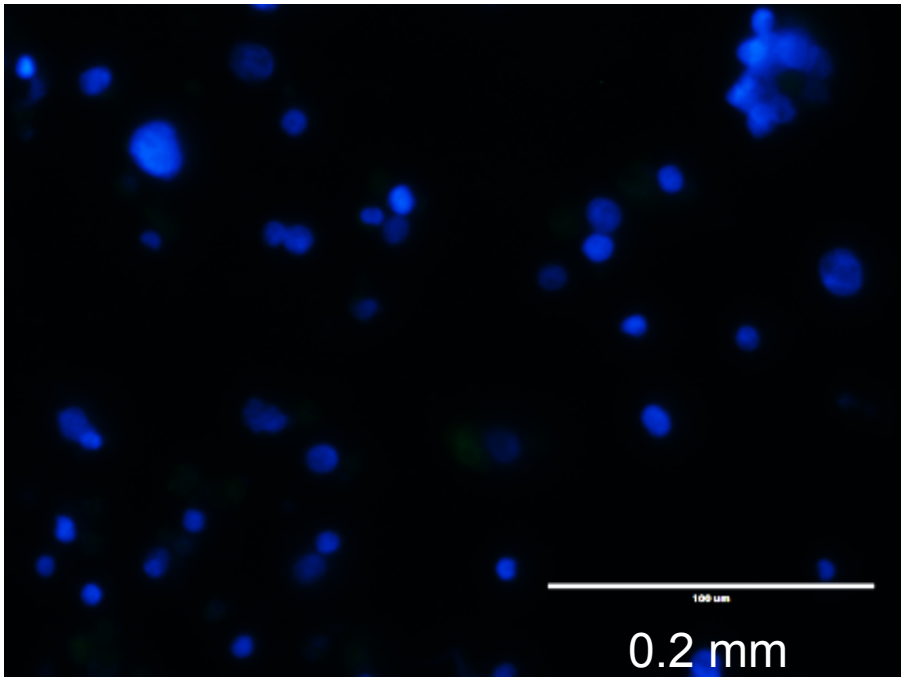


水素水はヒトリンパ球（HEV008細胞）へのX線照射による細胞死執行酵素を抑制する

純水の中でX線照射（線量 1.5 Gy）した細胞---細胞死を引き起こすカスパーゼ３／７活性化（緑色）が生じた。



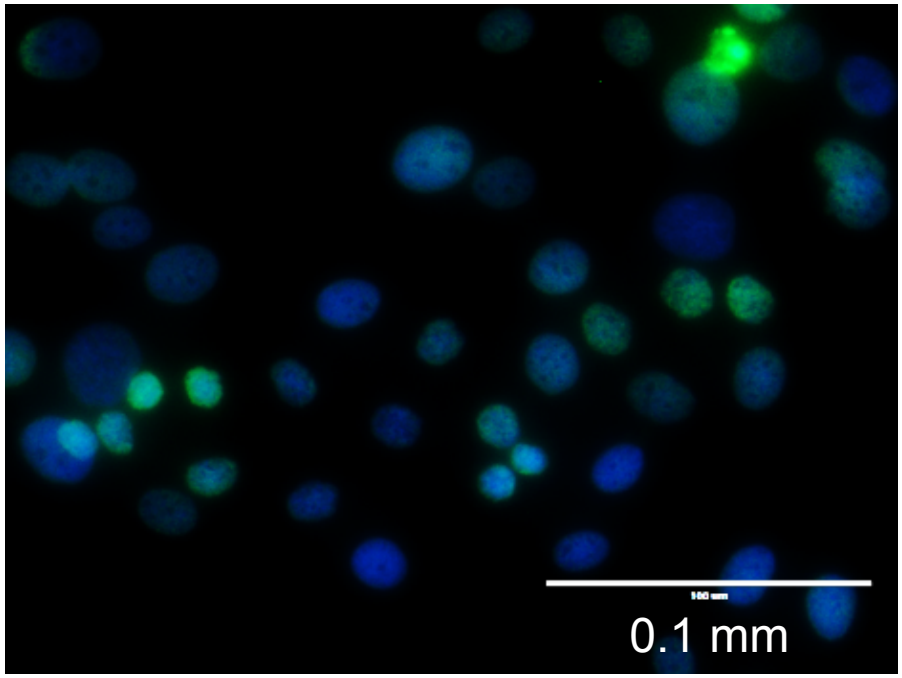
水素水の中でX線照射（線量 1.5 Gy）した細胞---細胞死を引き起こすカスパーゼ３／７活性化が抑制された。 核は青色に染色した。



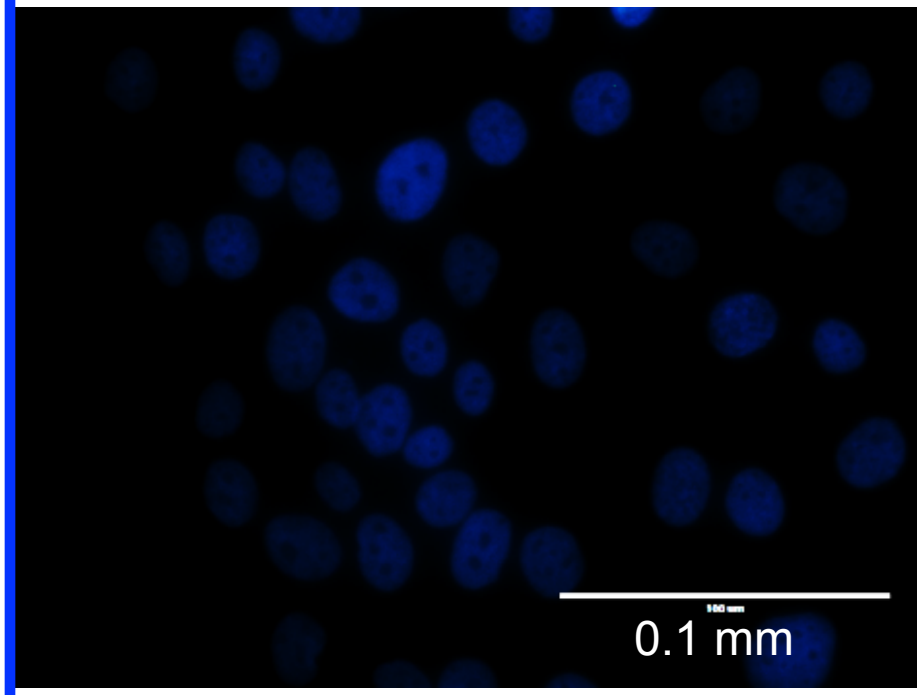
水素水の添加により、X線照射によるアポトーシス（細胞自殺）型の細胞死（Caspase 3/7活性化；緑色）が抑制された。青色：染色された細胞核

水素水はヒトリンパ球（HEV008細胞）へのX線照射による細胞死執行酵素を抑制する

純水の中でX線照射（線量 1.5 Gy）した細胞---細胞死を引き起こすカスパーゼ３／７活性化（緑色）が生じた。



水素水の中でX線照射（線量 1.5 Gy）した細胞---細胞死を引き起こすカスパーゼ３／７活性化が抑制された。 核は青色に染色した。

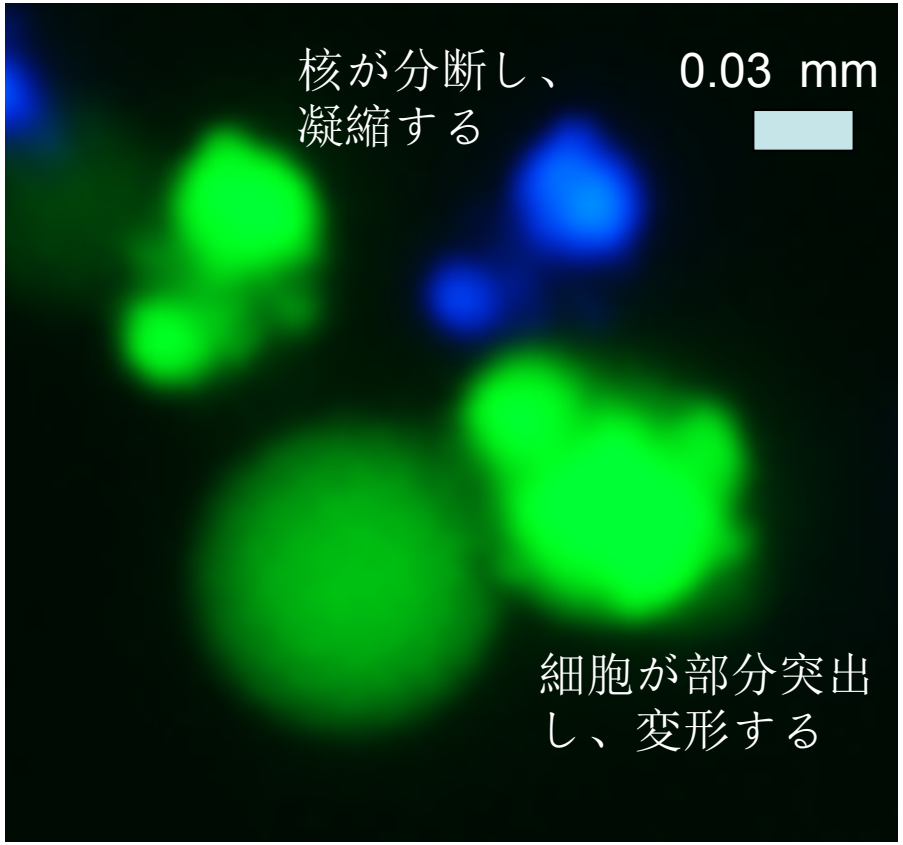


水素水の添加により、X線照射によるアポトーシス（細胞自殺）型の細胞死（Caspase 3/7活性化；緑色）が抑制された。青色：染色された細胞核

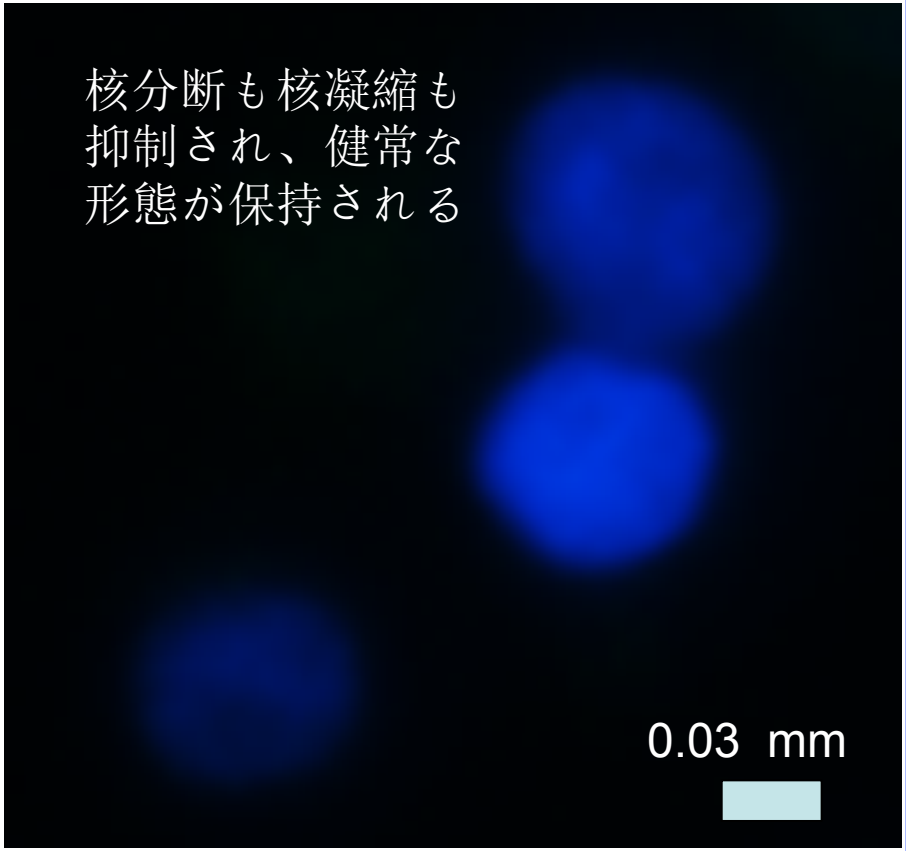
水素水はヒトリンパ球（HEV008細胞）へのX線照射による細胞死執行酵素を抑制する

重要

純水の中でX線照射（線量 1.5 Gy）した細胞---細胞死を引き起こすカスパーゼ３／７活性化（緑色）が生じた。



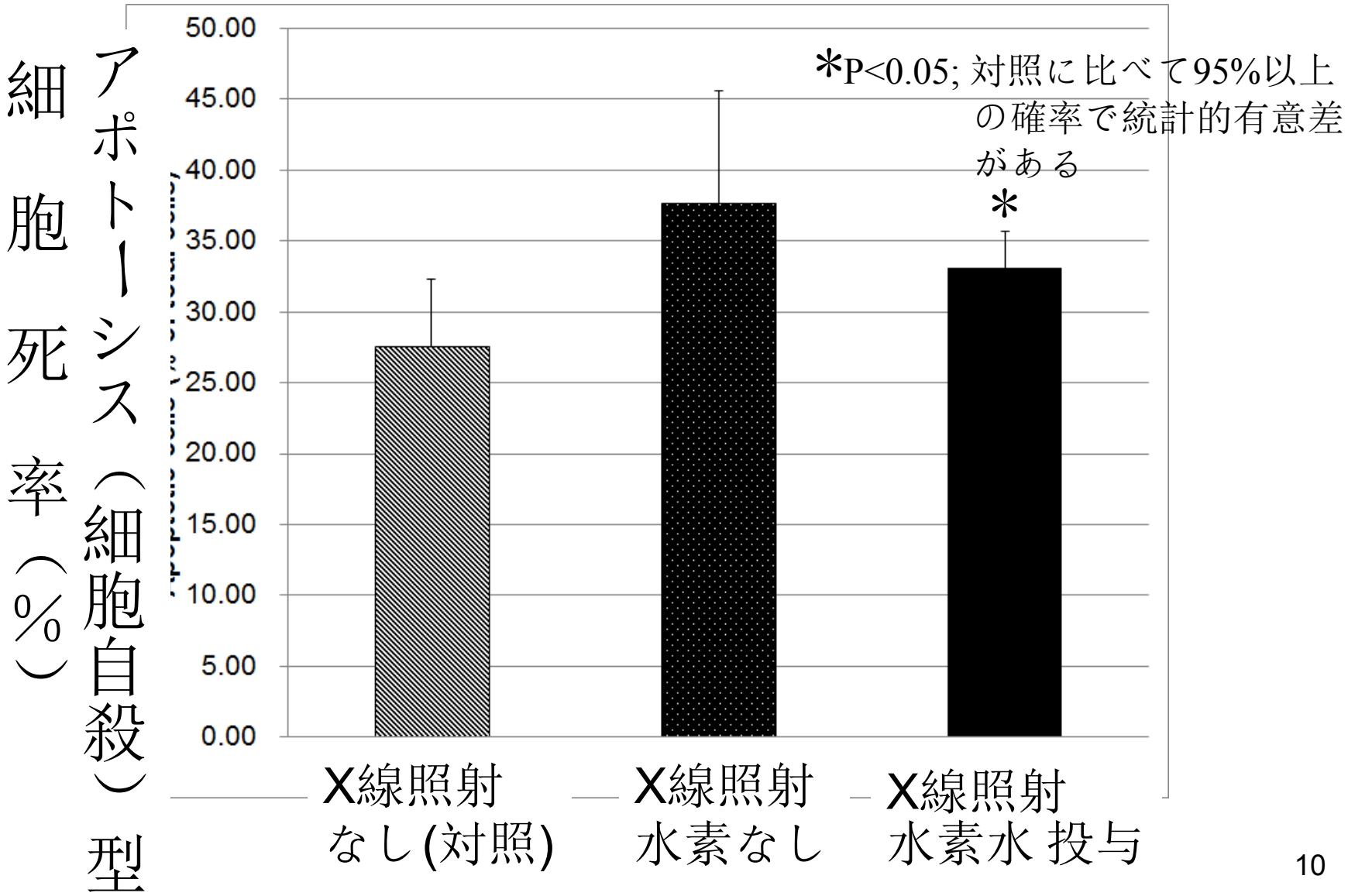
水素水の中でX線照射（線量 1.5 Gy）した細胞---細胞死を引き起こすカスパーゼ３／７活性化が抑制された。 核は青色に染色した。



水素水の添加により、X線照射によるアポトーシス（細胞自殺）型の細胞死（Caspase 3/7活性化；緑色）が抑制された。青色：染色された細胞核

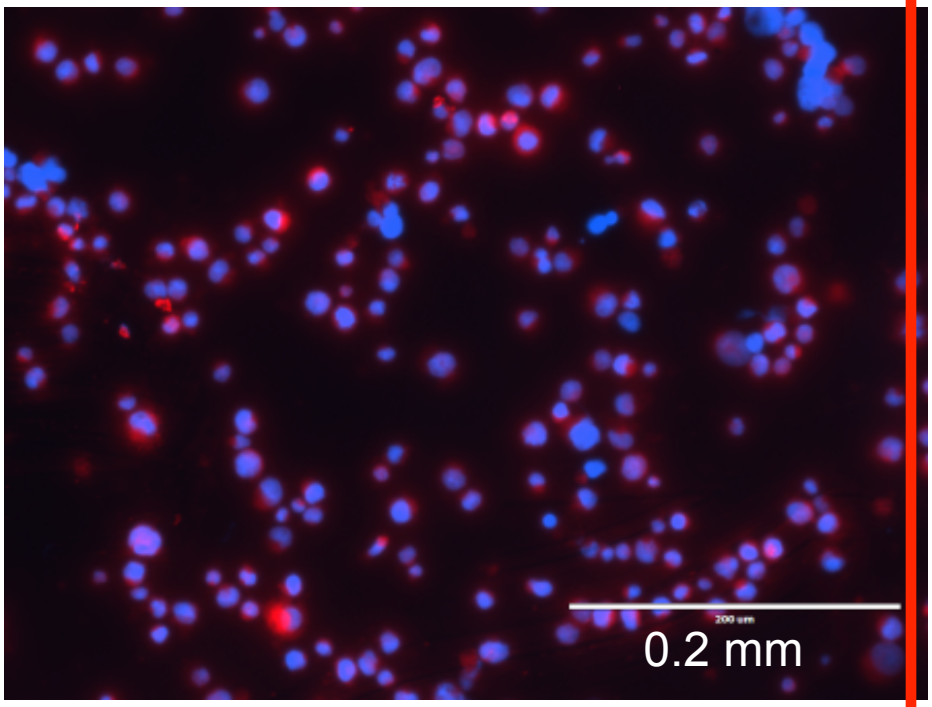
水素水はヒトリンパ球（HEV008細胞）へのX線照射によるアポトーシス（細胞自殺）型 細胞死を抑制する

重要

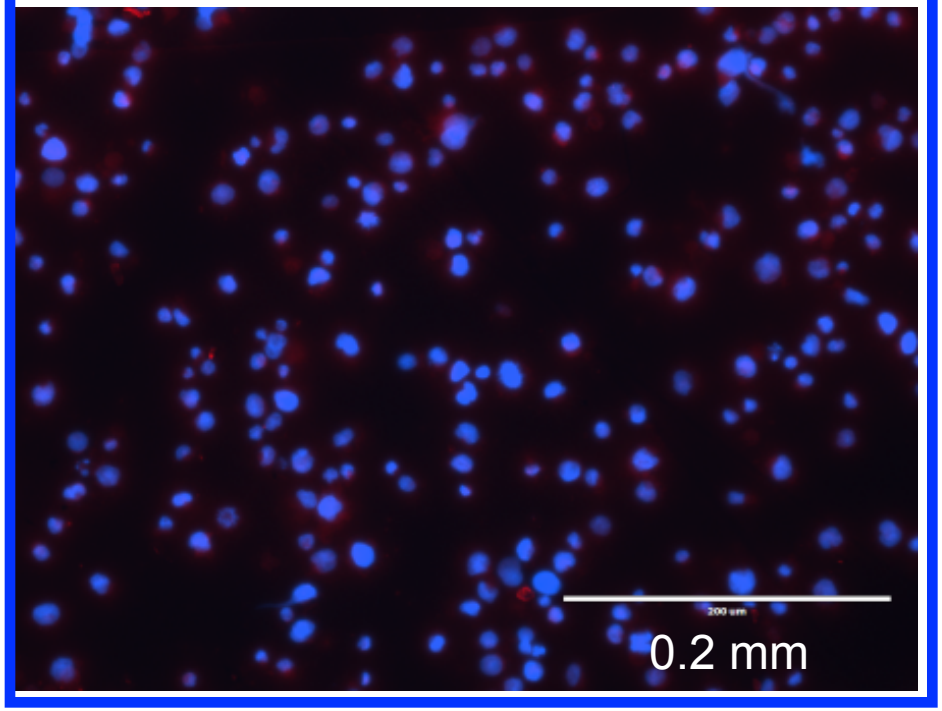


水素水はヒトリンパ球（HEV008細胞）へのX線照射による活性酸素の発生を抑制する

純水の中でX線照射（線量 1.5 Gy）した細胞---活性酸素が多量（赤色）発生した。



水素水中でX線照射（線量 1.5 Gy）した細胞---活性酸素が激減した。核は青色に染色した。

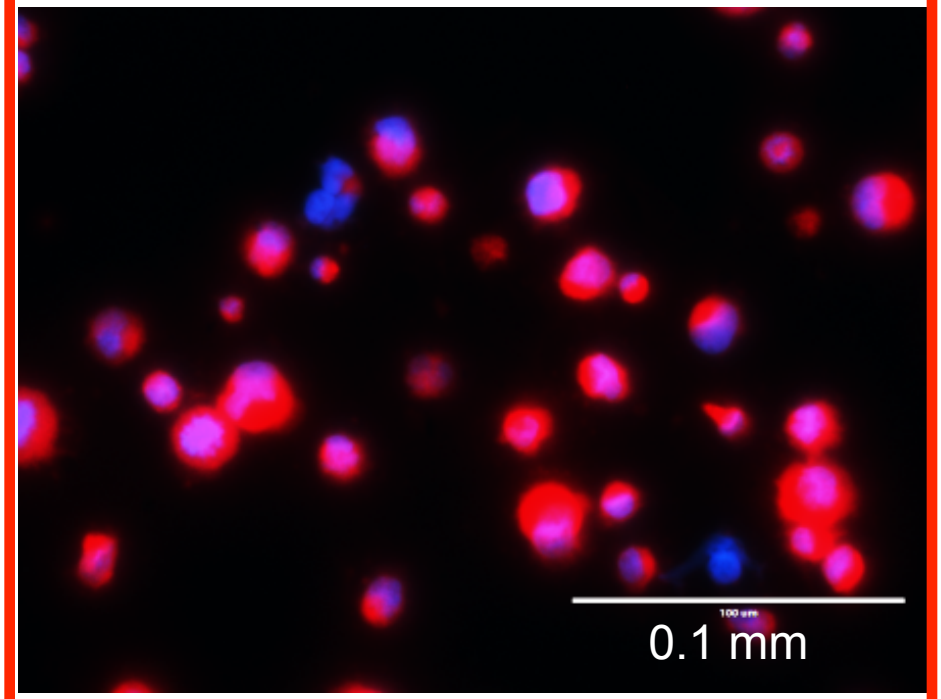


水素水の添加により、X線照射による細胞内活性酸素の発生が抑制された。赤：細胞内活性をOrang 試薬で染色した．濃い赤色ほど活性酸素が多量存在する。青：細胞核

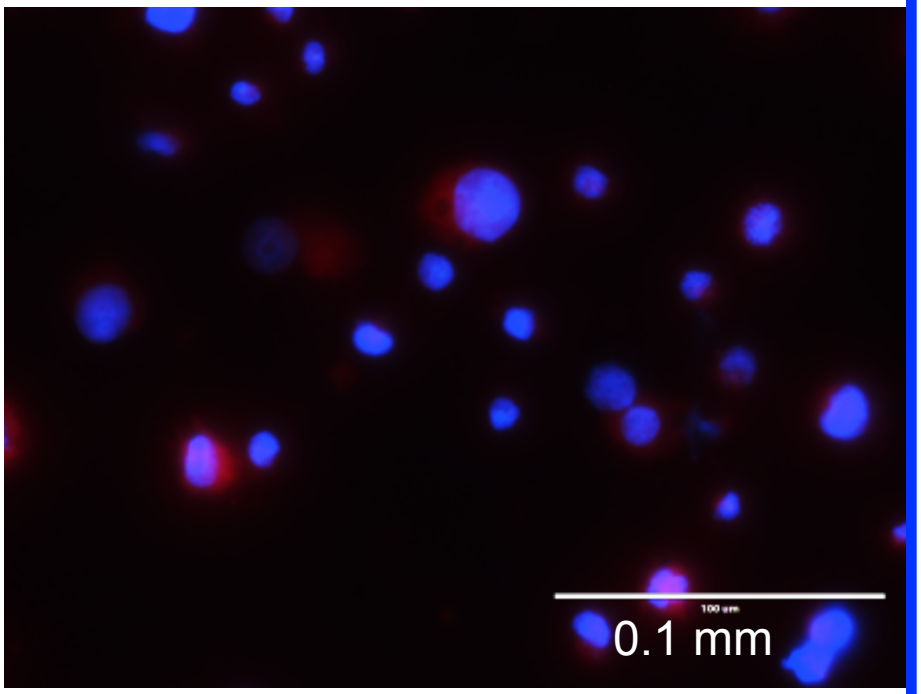
重 要

水素水はヒトリンパ球（HEV008細胞）へのX線照射による活性酸素の発生を防御する

純水の中でX線照射（線量 1.5 Gy）した細胞---活性酸素が多量（赤色）発生した。



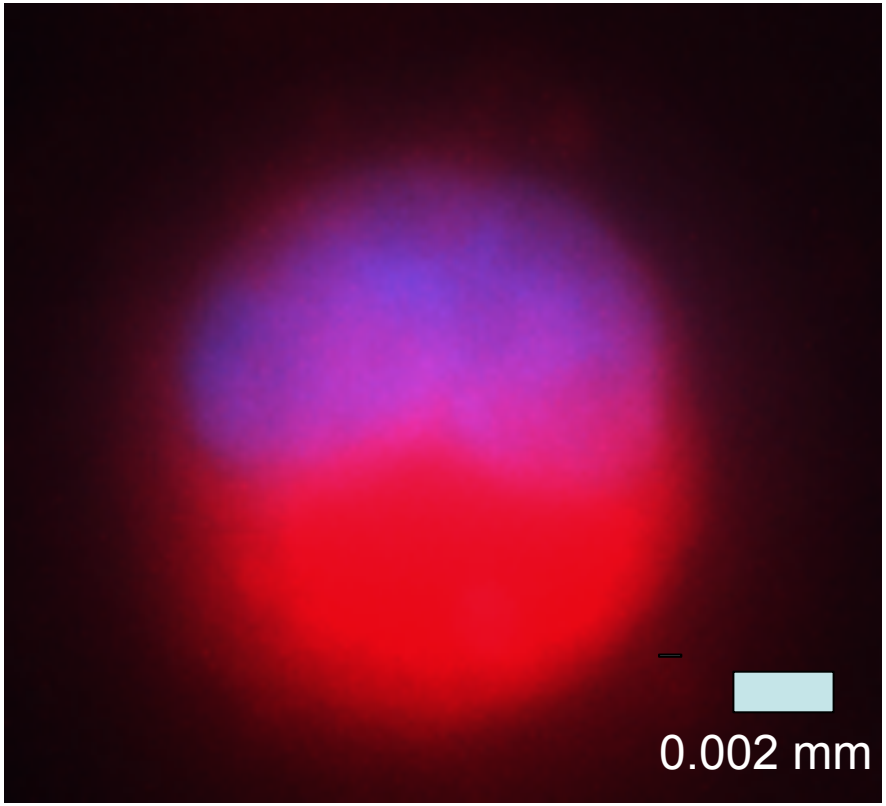
水素水中でX線照射（線量 1.5 Gy）した細胞---活性酸素が激減した。核は青色に染色した。



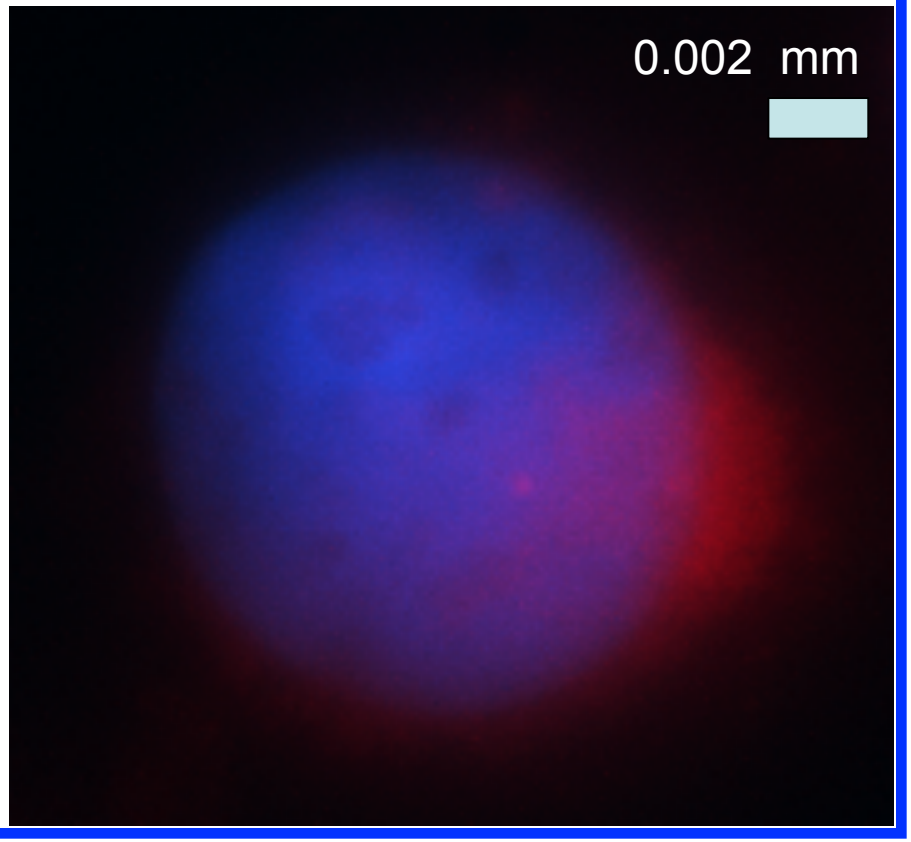
水素水の添加により、X線照射による細胞内活性酸素の発生が抑制された。赤：細胞内活性をOrang 試薬で染色した． 濃い赤色ほど活性酸素が多量存在する。
青：細胞核

水素水はヒトリンパ球（HEV008細胞）へのX線照射による活性酸素の発生を抑制する

純水の中でX線照射（線量 1.5 Gy）した細胞---活性酸素が多量（赤色）発生した。



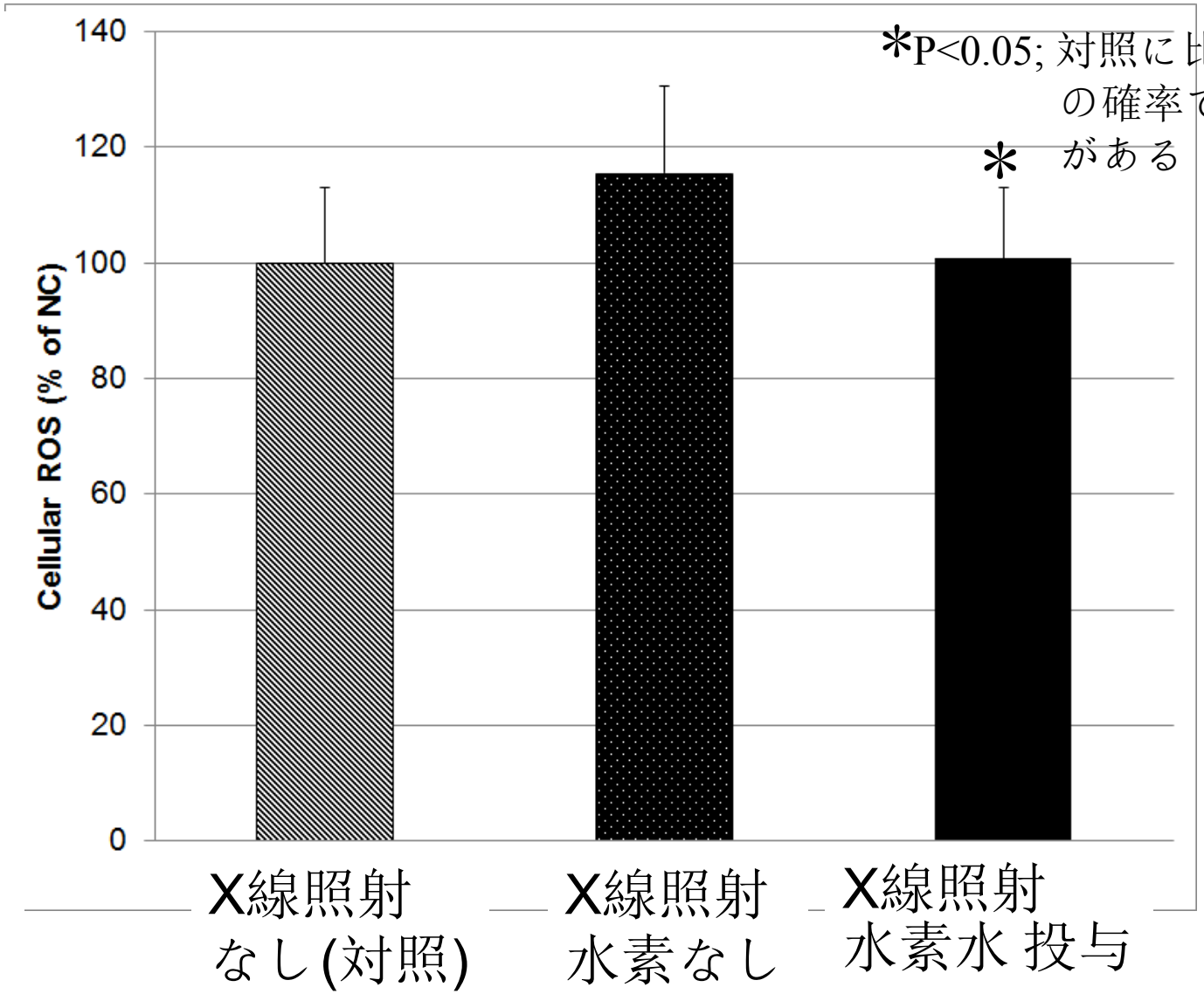
水素水中でX線照射（線量 1.5 Gy）した細胞---活性酸素が激減した。核は青色に染色した。



水素水の添加により、X線照射による細胞内活性酸素の発生が抑制された。赤：細胞内活性をOrang 試薬で染色した．濃い赤色ほど活性酸素が多量存在する。
青：細胞核

水素水はヒトリンパ球（HEV008細胞）へのX線照射による活性酸素の発生を抑制する

細胞内 活性酸素 量（%）



*P<0.05; 対照に比べて95%以上の確率で統計的有意差がある

重要