



# 等离子体医学

熊紫兰<sup>①</sup>, 卢新培<sup>①\*</sup>, 曹颖光<sup>②</sup>

① 华中科技大学强电磁工程与新技术国家重点实验室, 武汉 430074;

② 华中科技大学同济医学院附属医院, 武汉 430030

\* E-mail: luxinpei@hust.edu.cn

收稿日期: 2011-06-18; 接受日期: 2011-08-02

国家自然科学基金(批准号: 10875048, 51077063)、高等学校博士学科点专项科研基金(RFDP)(批准号: 20100142110005)和长江学者计划资助项目

**摘要** 近年来, 等离子体医学研究受到了极大的关注, 人们尝试着使用等离子体来取代或者辅助药物和传统的医疗手段来达到更好的治疗效果, 这样不仅可以避免药物对人体造成的副作用, 如化疗手段等给人们带来巨大的伤害, 而且更加快速高效, 不会对人体产生明显伤害. 国际上许多课题组在等离子体医学的诸多应用方向, 如凝血、慢性伤口愈合、癌细胞处理、牙齿根管治疗等方面进行了相关研究, 并取得了一定的研究成果. 本文主要从等离子体医学入手, 首先介绍几种典型的用于等离子体医学的大气压低温等离子体源, 然后简要介绍了大气压低温等离子体与生物体相互作用的机制、国际上等离子体医学的几个研究方向(病菌的灭活、癌细胞处理、正常细胞的处理、凝血等), 及等离子体医学的临床应用研究情况, 文章最后简要分析了等离子体医学目前的机遇和挑战, 并对等离子体医学的未来研究进行了展望.

## 关键词

等离子体医学  
等离子体源  
大气压等离子体  
低温等离子体  
医疗应用

## 1 引言

大气压非平衡等离子体(APNP)是近年来兴起的一个新兴的研究领域. 由于其不需要真空系统, 大气压非平衡等离子体在航天、环境、生物医疗、材料的表面处理、食品杀菌、废水处理等方面的应用受到了诸多的关注<sup>[1~15]</sup>. 此外, 人们还在不断地探索研究 APNP 的潜在新兴应用, 试图将其推广到更多的应用中. 等离子体医学就是最近几年兴起的一个具有重大应用前景的研究方向. 国际上已经有许多课题组开始了这方面的研究工作, 并在多个应用领域, 如病菌的灭活、血液凝结、皮肤病治疗、口腔临床应用、癌细胞处理等取得了一些可喜的成果<sup>[16~20]</sup>. 研究表

明 APNP 具有安全高效、无毒无副作用等优点. 用 APNP 取代或者辅助药物用于临床治疗, 它可以获得更好的治病效果, 这对人类来说无疑是极大的诱惑. 正因为如此, 等离子体医学从其诞生的那天开始就受到了人们的极大关注, 且这些年来人们对其研究的热情仍在不断地增加.

自从 1996 年美国的 Laroussi 博士<sup>[21]</sup>在 IEEE Trans Plasma Sci 上发表第一篇关于大 APNP 应用于灭菌方面的文章以来, APNP 在生物学、医学和环境科学方面的应用越来越受到人们的重视. 在 1998 年 IEEE International Conference On Plasma Science(ICOPS)上只有 3 篇关于该研究领域的论文. 而到了 2010 年的 ICOPS 上大气压等离子体在生物学、医学和环境科学

方面应用的分会收到的论文达到约 70 篇, 是 ICOPS 最大的分会. 其他一些国际会议, 如 IEEE International Pulsed Power Conference (PPC), IEEE International Power Modulator Conference (PMC), Bioelectromagnetics Annual Meeting (BEMS), International Conference on Plasma Medicine (ICPM) 等国际会议都相继增加了 APNP 在生物学、医学和环境科学方面应用的分会 (其中 ICPM 则是专门针对该研究领域而举行的国际会议). IEEE Trans Plasma Sci 期刊还从 2000 年开始每隔一年出一期大气压等离子体在生物学、医学和环境科学方面应用的专刊. 此外, 其他一些期刊, 如 Plasma Processes and Polymers, Journal of Physics D: Applied Physics, New Journal of Physics 等国际期刊也相继出版专刊报道大气压等离子体在生物学、医学和环境科学方面应用的最新研究成果. 以“等离子体医学”命名的期刊也于最近诞生了. 由此可见大气压等离子体在生物学、医学和环境科学方面应用——“等离子体医学”这个新兴的学科已引起国际上的重大关注.

特别是最近几年, 大气压低温、甚至是常温等离子体射流的出现, 它大大促进了人们对等离子体医学应用的研究. 因为 APNP 射流能够在周围大气中产生, 不需要真空设备, 且可直接与活体相接触而不会出现热感或电击感. 这就使得等离子体直接处理活体组织变为现实. 不过现在大多数的 APNP 射流都采用惰性气体(He, Ar 等)或者惰性气体混有少量活性气体如 He/O<sub>2</sub> 作为工作气体, 这就又使得它的应用受到了一定的限制. 可喜的是, 由于研究者的不断努力, 使得直接使用空气作为工作气体也能产生 APNP 射流, 这就使得其应用更加方便, 且降低了应用成本.

APNP 射流在生物医学方面的应用是利用其所产生的各种自由基、带电粒子、紫外线等的共同作用

来达到处理效果的. 现在人们对等离子体医学的应用研究主要集中在辅助伤口治疗、血液凝结、牙齿根管治疗、杀灭癌细胞、消毒等.

本文主要介绍国内外 APNP 在医学方面的应用. 文章首先介绍了几种典型的 APNP 等离子体射流装置. 第二部分着重介绍了国内外在等离子体医学各应用领域(病菌的灭活、癌细胞的处理、正常细胞的处理、凝血、质粒 DNA 及蛋白质处理等)的研究成果. 文章最后对等离子体医学的未来发展进行了展望.

## 2 几个典型的 APNP 射流源

由于受到等离子体医学及其他 APNP 射流应用的驱使, 人们研制出了多种多样的 APNP 射流源. 我们这里就不对其做一一介绍了, 感兴趣的读者可参见文献[22~31]. 下面仅介绍几种典型的 APNP 射流源.

### 2.1 单电极等离子体装置

这类装置只有一个电极, 能够直接或间接在周围大气中产生等离子体, 如图 1 所示. 这个装置称之为单电极悬浮 DBD 装置<sup>[22]</sup>, 它使用皮肤或者其他的活体组织作为另一个电极, 当人体接近高压电极时, 间隙被击穿产生等离子体. 该等离子体装置由于本质上是一种 DBD 放电装置, 因此它只能用交流取得. 此外, 由于它采用的是平板电极, 因而不存在场致增强效应, 所以该装置的放电间隙通常在毫米量级. 由于其上述特点, 它对于面积较大的平滑表面的处理比较有利. 图 2 给出了一种直流驱动空气等离子体针装置. 该装置采用直流电源驱动, 不仅价格低廉, 且直接使用周围空气作为工作气体, 当放电间隙达 2 cm 时也可以放电<sup>[23]</sup>. 由于这个显著的优点,

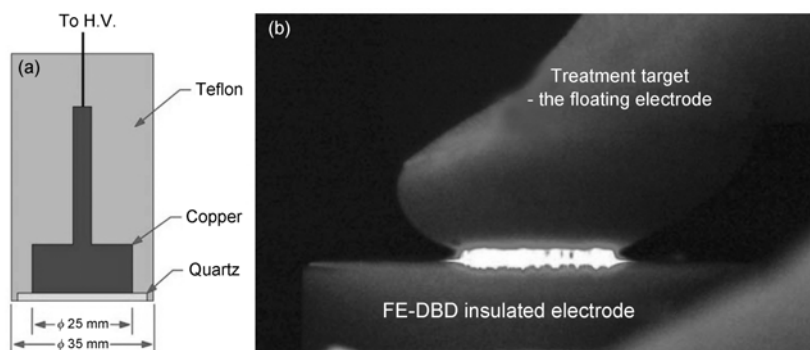
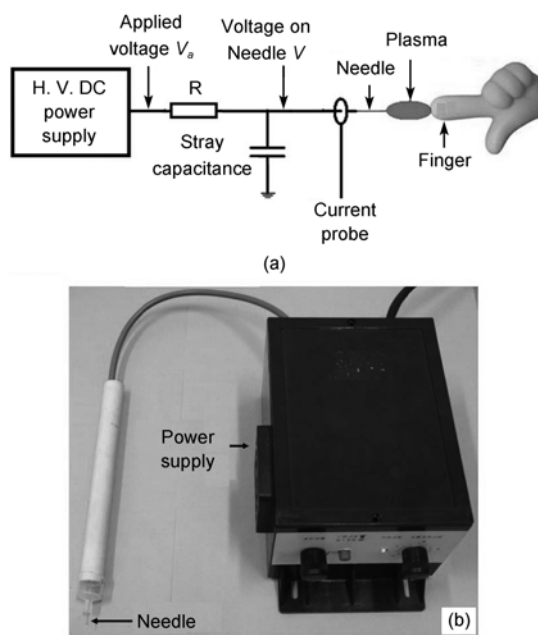


图 1 (a) 单电极悬浮 DBD 装置结构示意图; (b) 人手接触产生等离子体的照片<sup>[22]</sup>

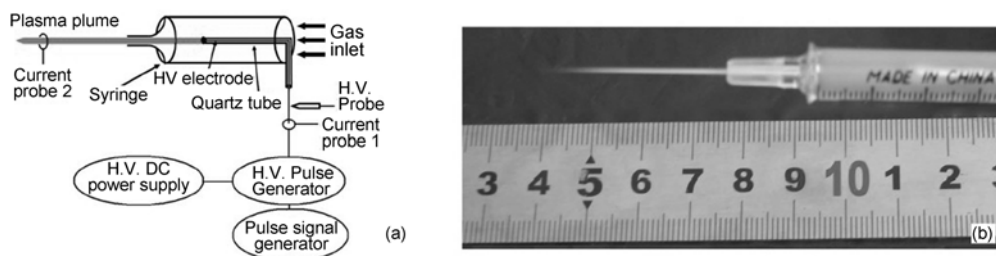
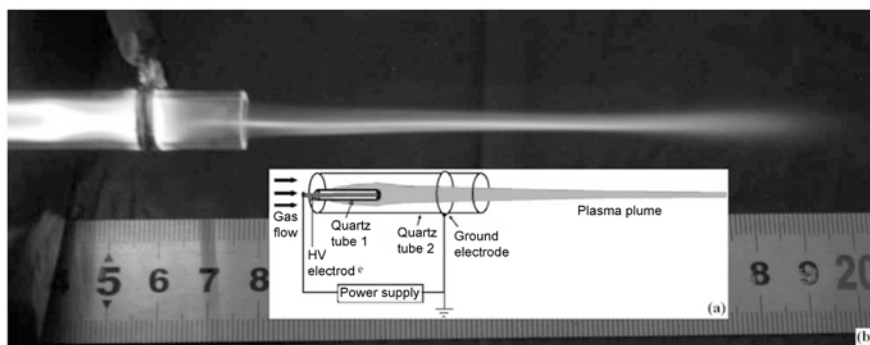
图 2 直流空气等离子体针<sup>[23]</sup>

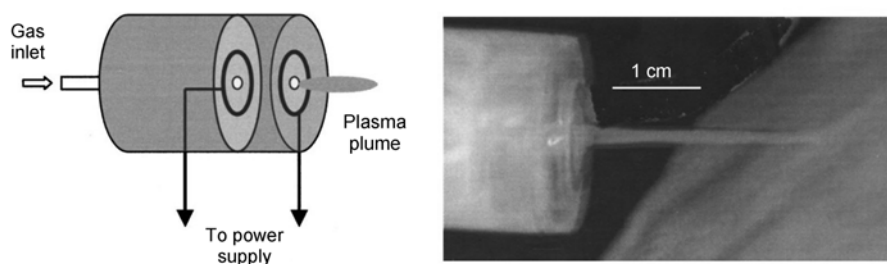
该装置对于局部处理,特别是三维不规则表面的处理就有其特有的优势.此外,该装置也可以采用空心电极,从而可以人为控制工作气体.图 3 给出了另一

种典型的单电极等离子体装置<sup>[24]</sup>,该等离子体装置用惰性气体作为工作气体,它可以产生几个厘米长的常温等离子体射流.由于射流较长,因此其操作非常方便.此外,由于它的工作气体是可控的,因此对于有些研究,如研究等离子体与细胞相互作用机理时,研究者希望精确控制工作条件,利用这种装置就非常合适.

## 2.2 双电极等离子体装置

这类装置有 2 个电极.几种典型的装置如图 4, 5 所示<sup>[25, 26]</sup>.图 4 所示的装置也是一种变形的 DBD 放电装置.不过这种装置的电极结构设计使射流外部也具有较高的电场,这对于产生长射流是非常有利的.这也是为什么该装置可以产生如此长的大气压常温等离子体射流的一个重要原因.此外,该装置所产生的等离子体人体可以任意触摸,因此它非常适合于等离子体医学方面的应用研究.图 5 所示的装置也是类似于 DBD 放电装置,但它有一个显著的缺点就是,当被处理物体离喷嘴太近时,就可能从内电极与被处理物体之间直接放电,这是在应用时必须注意的.

图 3 (a) 实验装置示意图; (b) 等离子体照片<sup>[24]</sup>图 4 (a) 实验装置示意图; (b) 电压为 5 kV, 频率 40 kHz, 氮气流速为 15 L/min 时产生的等离子体喷流照片<sup>[25]</sup>

图5 等离子体喷流装置结构示意图以及与人体皮肤相接触的照片<sup>[26]</sup>

### 3 等离子体的各种活性成分及其各自所起的作用

APNP 中含有多种不同的活性成分, 如紫外线(UV), 带电粒子(电子、正负离子等), 化学活性粒子(ROS 和 RNS 等)等. 依其使用的工作气体及等离子体源的不同, 其成分和含量也各不相同<sup>[32-39]</sup>. 在等离子体与生物体相互作用过程中, 这些成分都可能起到一定的作用, 下面我们对这些成分的影响效果进行简要的介绍和分析.

#### 3.1 紫外线

目前, 人们对紫外线对生物体的作用从分子水平、细胞水平和生物体水平分别进行了研究, 研究表明紫外线的波长和剂量决定了其作用效果. 相关研究表明, UVC(200~290 nm)是造成伤害最大的紫外波段, 其主要作用于生物体的 DNA 和蛋白质, 可以使 DNA 的遗传特性发生改变, 使蛋白质(骨架蛋白、酶等)变性, 从而失活生物体<sup>[40]</sup>. 而 Soloshenko 等人<sup>[41]</sup>的研究则表明在低气压下 160~220 nm 的紫外线在杀菌过程中起到了主要作用.

#### 3.2 带电粒子

等离子体中的带电粒子包括电子和各种正负离子. 相关研究表明, 这些带电粒子对病菌都有灭活作用. Dobrynin 等人<sup>[42]</sup>对正负离子的杀菌效果进行了对比, 研究表明正负离子的杀菌效率相差不超过 10%~15%. 此外, 不同的工作气体所产生的带电粒子各不相同. 如当使用 He/N<sub>2</sub> 作为工作气体时, 主要的离子为 He<sup>+</sup>, He<sub>2</sub><sup>+</sup>, 或 N<sub>2</sub><sup>+</sup>; 而当使用 He/O<sub>2</sub> 作为工作气体时, 除了 He<sup>+</sup>, He<sub>2</sub><sup>+</sup>, O<sub>2</sub><sup>+</sup>和电子, 还有 O<sub>2</sub><sup>-</sup>离子, 且 O<sub>2</sub><sup>-</sup>在杀菌中起到了重要作用<sup>[43]</sup>. 再者, 当使用空气作为工作气体时, 除了电子和氧的各种离子(O<sup>+</sup>, O<sub>2</sub><sup>+</sup>, O<sup>-</sup>,

O<sub>2</sub><sup>-</sup>等)外, 还含有大量氮的离子(N<sub>2</sub><sup>+</sup>, N<sup>+</sup>等)和 N 的氧化物离子(NO<sup>+</sup>等). 而这些离子在杀菌消毒、凝血、材料表面除垢(如牙齿美白<sup>[44]</sup>)等方面起到了重要的作用. 但值得注意的是, 一般来说, 氮的氧化物对人体是有害的, 在临床应用的时候要避免产生过量的 NO<sub>x</sub>, 以免对人体造成危害.

#### 3.3 活性氧粒子(ROS)

通常, 等离子体中所谓的活性粒子包括活性氮粒子 RNS 和活性氧粒子 ROS, 但一般认为活性氧粒子对生物体作用时起着最重要的作用. 不同的工作气体所产生的 ROS 的种类和粒子浓度都不一样. 相关研究表明, 氧原子和含氧的活性粒子(O, OH, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>等)在杀菌过程中起到了主要的作用. 当工作气体中混有少量的 O<sub>2</sub> 时, 灭菌效果会大大地提高<sup>[43]</sup>. 当处理物或工作气体中含有水分子时, 等离子体就会产生一定量的 OH, OH 具有较高的活性. 此外, 当 2 个 OH 相结合时将产生 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, 它能穿过细胞膜进入细胞内部引起一些致命的效应, 例如破坏细胞内部的 DNA 分子等<sup>[45, 46]</sup>.

#### 3.4 等离子体能量密度的影响效果

在等离子体的实际应用中, 等离子体的能量密度与处理的目的有很大的关系. 一些研究表明: 低能量密度的等离子体(<1 J cm<sup>-2</sup>), 能够有效地灭活细菌, 但此时对正常细胞影响较小; 中等能量密度的等离子体(2~6 J cm<sup>-2</sup>)能够导致细胞生长因子的释放, 促进细胞增殖率和细胞迁移, 并能够促进癌细胞的凋亡; 而高能量密度的等离子体(>7 J cm<sup>-2</sup>)则导致正常细胞的死亡; 当等离子体的能量密度特别高时(>10 J cm<sup>-2</sup>)会引起细胞坏死<sup>[42]</sup>. 在低温等离子体的实际应用中, 应该根据不同的应用目的, 选择恰当的等离子体能量密度, 从而达到处理的目的. 例如进行皮肤灭菌处理

时, 就应当选择较低的能量密度; 而进行癌细胞处理时则要选择相对较大的能量密度以达到促进癌细胞凋亡的目的。

等离子体是通过它的活性成分对生物体的综合作用, 从而使得细胞骨架的微观结构或者蛋白质等大分子物质、遗传物质(DNA, RNA 等)的结构或性质、微生物体内的细胞质体等发生变化, 从而使微生物失活或者使其遗传性状发生改变, 或者通过促使相关的酶活性发生改变, 使活体组织的新陈代谢发生改变, 从而达到相关的目的(如血液凝结、灭活病菌等)。APNP 在生物医学上的应用就是利用它们所产生的各类活性成分的综合作用来实现的。下面我们就从以下几个方面: 等离子体灭菌(包括细菌和真菌); 处理癌细胞; 处理正常细胞; 血液凝结; 质粒 DNA 及蛋白质处理等, 对国内外的主要研究成果进行综述。

#### 4 等离子体医学的国内外研究现状

在等离子体医学的诸多研究方向上, 起初人们的研究主要集中在等离子体杀菌、以及细菌被膜灭菌方面。国内外研究者在这方面都进行了大量的研究工作。美国 Old Dominion 大学的 Laroussi 课题组是世界上首先将大气压非平衡等离子体应用到灭菌方面的研究团队, 从此开创了等离子体医学的先河。国际上, 在等离子体医学方面做了比较多工作的课题组还有美国 Drexel 大学的 Fridman 课题组, 荷兰埃因霍温技术大学的 Stoffels 课题组, 英国拉夫堡大学的 Kong 课题组, 加拿大魁北克蒙特利尔麦吉尔大学的 Coulombe 课题组等。国内也有多所高校和研究所, 如华中科技大学、中国科学技术大学、大连理工大学、中国科学院物理所、中国科学院等离子体物理所、西

安交通大学、复旦大学、清华大学、东华大学等, 在大气压非平衡等离子体灭菌消毒的机理方面作了一些很好的基础性研究。下面我们对研究者在等离子体医学各个应用领域所取得的研究成果分别进行论述。

##### 4.1 等离子体对病菌的灭活及相关机理研究

将等离子体应用到医学领域最初的工作是等离子体对细菌的灭活研究, 这也是迄今为止等离子体在医学上应用及研究最多的方面, 如医疗器械的除垢消毒、皮肤病的治疗、牙齿根管治疗、手术伤口消毒等。在不同的应用中, 需要用到不同的等离子体源以及不同的处理条件。研究结果表明, 等离子体对于病菌(革兰阴性菌、革兰阳性菌、细菌孢子、细菌生物膜、真菌等)都具有灭活能力。

1996 年 Laroussi 使用射频电源(RF)驱动的 DBD 装置, 通过通入 He 气在大气压下产生等离子体并进行了相关的杀菌实验, 其所用的装置如图 6(a)所示<sup>[21]</sup>。这是第一篇关于 APNP 灭菌方面的论文。等离子体在 DBD 的两极板之间产生, 将涂满细菌浓度为  $4 \times 10^6$  mL 的荧光假单胞菌培养皿放置在下极板, 在 10 min 之内就杀死了全部的细菌。同时, 该论文与其他的杀菌方法如焚化法、紫外照射法、电子束放射法、以及过滤法进行了比较, 最后提出了利用大气压等离子体进行生物医学应用所亟待解决的一系列问题, 如哪种等离子体放电模式具有最好的效果(均匀放电或者丝状放电)? 能够杀死微生物的最小的等离子体功率密度? 哪种物理过程在灭活过程中起到了主导作用? 什么生化过程诱导了细胞的死亡? 在特定的应用中应使用何种工作气体? 这些关键问题的提出为后来的研究者指明了

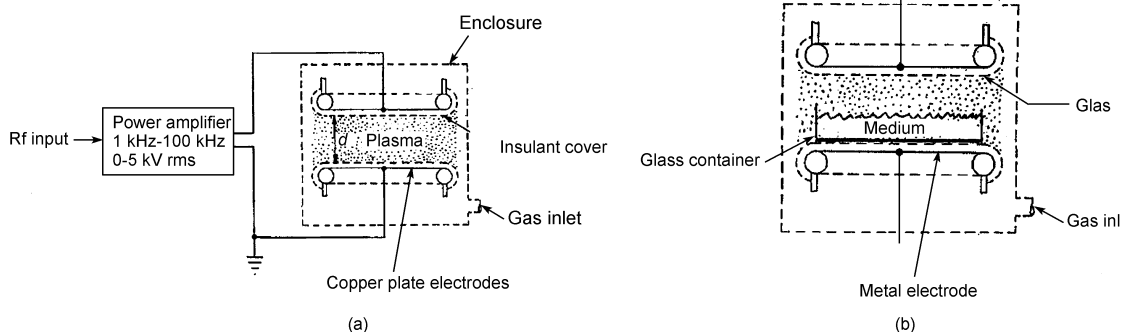


图 6 (a) 大气压辉光放电装置; (b) 处理污染物示意图<sup>[21]</sup>

研究方向. 随后他们进一步的从灭菌的物理机制以及对微生物的形态学影响等方面研究了等离子体的灭活机制<sup>[47]</sup>. 研究表明, 等离子体对细菌的形态学产生了一定的影响, 但对革兰阳氏和阴氏细菌的影响是不相同的. 为了进一步研究等离子体对细菌的作用机制和细菌抵制等离子体的作用机制, Laroussi 课题组还研究了等离子体对细菌孢子的作用效果. 他们发现细菌孢子荚膜上的蛋白质的完整性在抵制等离子体灭活的过程中起到了主要的作用, 且发现经一定剂量等离子体照射后仍存活的细胞, 其新陈代谢发生了变化<sup>[48]</sup>.

Fridman 等人<sup>[49]</sup>使用了一种空气 DBD 装置, 比较了大气压非热等离子体对细菌的直接和间接作用的影响, 结果表明等离子体的直接作用的灭活率比间接作用的灭活率要快, 由此他们推断带电粒子在细菌的灭活过程中起到了关键作用.

Stoffels 课题组使用一个由射频电源驱动小尺寸 (1 mm) 的大气压等离子体针, 以生长在琼脂培养皿上的大肠杆菌生物膜为模型, 通过改变等离子体功率、处理时间及针尖距样本的距离研究了灭菌的最优条件<sup>[50]</sup>. 结果表明, 经过 10 s 的处理后就可以杀死  $10^4 \sim 10^5$  个菌落. 此外, 他们还研究了温度升高对大肠杆菌生存的影响, 并与等离子体的热效应进行了相关对比. 在高功率和短处理距离的条件下, 样本表面温度可高达  $60^\circ\text{C}$ , 而在低功率条件下, 热效应可以忽略不计.

Kong 课题组研究了 2 种亚微秒量级的脉冲放电

对大肠杆菌突变体的影响效果<sup>[51]</sup>. 研究发现 32 ns 脉冲驱动放电等离子体对细菌细胞的失活不是由于细胞膜的不可逆击穿导致的, 而是由于细胞内的成分 (如 DNA) 降解引起的. 而在文献[52, 53]两篇文章中, 他们对非热等离子体对芽孢杆菌孢子失活的物理机制进行了相关研究. 分析了等离子体组分如活性氧粒子 (氧原子和 OH 等)、UV 射线、热、带电粒子以及电场等对生物体的作用效果.

Lu 课题组<sup>[24]</sup>采用一种单电极室温等离子体射流装置对金黄色葡萄球菌进行了灭菌机理研究. 他们通过改变各种参数 (气体组分、处理距离、是否与样本接触等), 分析了带电粒子, 激发态的  $\text{N}_2^*$ ,  $\text{N}_2^{+*}$  和  $\text{He}^*$  粒子, 活性氧粒子, 温度, UV 等因素在细菌灭活中起到的作用. 结果表明当使用 He/ $\text{N}_2$  作为工作气体时, 带电粒子在灭活过程中并没有起到显著作用, 而使用 He/ $\text{O}_2$  为工作气体的时候, 带电粒子起到了明显的作用, 从而推断出  $\text{O}_2^-$  在灭活过程中扮演着重要的角色. 同时, 活性氧粒子, 包括  $\text{O}_3$ , 亚稳态的  $\text{O}_2$  和 O 原子等在灭活的过程中也起着重要的作用<sup>[43]</sup>. 同时还采用该等离子体射流装置对最常见的致病真菌白色念珠菌做了相关的灭活研究<sup>[54]</sup>. 并比较了在培养皿上加盖与否的灭菌效果, 发现在培养皿上加盖的灭菌效果要远远好于不加盖的效果, 结果如图 7 所示. 通过分析, 他们认为这是由于一些寿命较长的活性氧粒子的扩散作用导致的, 从而进一步证实文献[43]一文中得出的结论.

Cheng 等人<sup>[55]</sup>使用等离子体射流装置对大肠杆

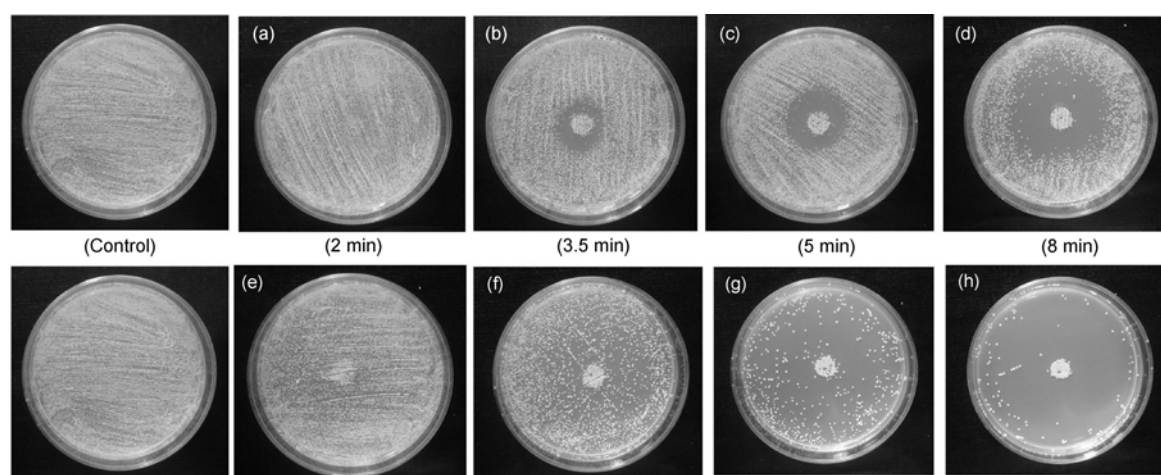


图 7 白色念珠菌培养皿加盖/不加盖的灭菌效果对比<sup>[54]</sup>

菌和枯草芽孢杆菌进行了灭菌实验. 采用紫外吸收光谱仪对实验中的臭氧产量进行了监测, 并测量了发射光谱, 发现带电粒子和活性粒子在灭活病菌中起到的作用大于臭氧. Shi 等人<sup>[56]</sup>使用大气压 DBD 装置对白色念珠菌进行了灭活实验和相关的机理研究. 通过透视电镜以及对细胞外液中蛋白质、核酸和  $K^+$  的检测结果表明等离子体破坏了白色念珠菌的外部结构, 细胞质外漏导致白色念珠菌的死亡. 认为电场的作用可以忽略, 带电粒子和活性粒子在破坏真菌的外部结构中起到了主要作用.

在实际的临床医疗应用中, 许多疾病的引发均是病菌的日渐积累导致的, 病菌都是以生物膜的形式存在于生物体中的. 由于生物膜比研究者通常所处理的病菌样本致密, 因此对生物膜的处理比一般的病菌失活要更加的困难. 可喜的是, 实验研究结果表明, APNP 对病菌的生物膜也具有很好的灭菌效果<sup>[57]</sup>. Abramzon 等人<sup>[58]</sup>使用一种射频大气压低温等离子体对培养了 4 天的紫色杆菌生物膜进行了处理, 在 10 min 内就几乎可以杀死所有的病菌. Lee 等人<sup>[59]</sup>则是在大气压下使用微波诱导氩气等离子体对生物膜进行灭活实验, 发现革兰阴式和革兰阳氏细菌生物膜都能在不到 20 s 的时间内被灭活.

当然, 使用 APNP 来处理病菌的研究还有很多, 这里就不一一介绍了, 详情请参见文献[60~69].

## 4.2 等离子体处理癌细胞

既然等离子体能够灭活致病菌, 人们也自然地想到使用 APNP 对癌细胞进行处理. 使用 APNP 对癌细胞进行处理是近年来兴起的一个热门话题. 大气压低温等离子体能有效地灭活癌细胞, 并对人体不会造成伤害和疼痛感, 从而可以避免药物治疗对人体造成的副作用. 因此, 许多课题组都进行了相关的研究工作, 研究结果表明, 适量的等离子体处理能够促进癌细胞凋亡, 且不会对周围的正常细胞产生明显的伤害. 细胞坏死通常伴随产生胞内酶的快速释放和细胞破例的产物, 这些都会导致周围的正常细胞发生炎症, 不利于临床应用. 而细胞凋亡即细胞的程序性死亡. 在细胞凋亡过程中, 细胞的细胞膜保持完整, 因此不会泄露导致细胞发生炎症的胞内物质, 也就不会对周围的正常细胞组织造成伤害.

Fridman 课题组<sup>[70]</sup>使用一种悬浮的单电极 DBD 装置对皮肤癌细胞进行了处理, 发现少剂量的等离

子体能促进癌细胞的凋亡, 且不会杀死周围的正常细胞. Kim 等人<sup>[71]</sup>使用等离子体射流对仓鼠肿瘤细胞、仓鼠正常细胞、仓鼠纤维原细胞分别进行处理并作了相关对比, 得到相似的结论. 结果表明大气压等离子体射流可以诱导仓鼠细胞的凋亡, 但是与等离子体的剂量相关, 且仓鼠肿瘤细胞对于大气压等离子体射流更加的敏感. Stoffels 等人<sup>[72]</sup>对等离子体处理人肺癌细胞和中国仓鼠卵巢细胞进行了相关研究, 结果发现细胞-细胞之间以及细胞-基底之间是由细胞黏附分子(CAM), 即钙粘蛋白和整合蛋白粘合在一起的. 等离子体处理破坏了细胞黏附分子, 使得细胞可以从基底脱落或者细胞之间的黏附丧失. 短时间的等离子体处理并不会使细胞坏死, 被破坏的 CAM 会在几个小时之内重新生成. 而由于细胞之间的黏附力较强, 细胞-细胞之间比细胞-基底更加容易重新粘合在一起. 他们认为这可能是由活性氮粒子和活性氧粒子(RNS/ROS:  $O$ ,  $O_2^-$ ,  $O_3$ ,  $OH$ ,  $NO$  和  $H_2O_2$ ) 的作用引起的. Zhang 等人<sup>[73]</sup>使用等离子体针对人体肝癌细胞进行研究, 发现肝癌细胞的杀死效果与氧气/氩气混合浓度有很大关系, 且紫外线,  $O$ ,  $OH$ , 和  $Ar$  原子能够渗透到溶液底部直接作用于 HCC 细胞. Kim 等人<sup>[74]</sup>研究了等离子体的气体成分及功率对直肠癌细胞的处理效果, 结果表明氧气的加入和高的等离子体功率增强了等离子体对癌细胞的作用效果. Lee 等人<sup>[75]</sup>使用射频大气压等离子体射流研究了等离子体对 G361 黑色素瘤细胞黏附分子的处理效果. 结果表明等离子体处理可以导致细胞从基底脱落, 诱导黑色素瘤细胞的死亡、抑制整合蛋白 $\alpha_2$ ,  $\alpha_4$ , 以及细胞表面 FAK 的表达, 并使得肌动蛋白纤维成为扩散状.

Yan 等人<sup>[76]</sup>通过使用大气压等离子体对各种癌细胞的发现, 大气压等离子体射流能有效地抑制癌细胞的增殖. 图 8 给出了等离子体对人肝癌细胞和黑色素瘤细胞的增殖抑制曲线. 从图 8 中可以看到随着处理时间的增加, 等离子体对癌细胞增殖的效果越明显. 经 640 s 的处理, 对癌细胞的增值率抑制达到约 90%. 为了获得大气压低温等离子体灭活癌细胞的机制, 对处理后的细胞进行了各种检测分析, 如细胞周期的变化、细胞凋亡相关基因的变化、及各凋亡基因所表达的蛋白量的变化、细胞内部环境的变化进行了实验. 流式细胞术检测结果表明, 等离子体处理后, 癌细胞的周期被抑制在 G2/M 期, 且这部分细胞随培养时间的增加会发生凋亡(图 9). 这可能是

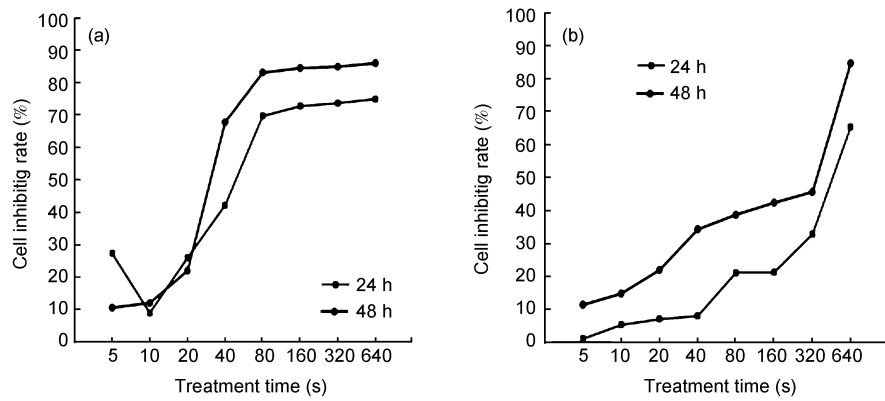


图 8 (a) 等离子体对人肝癌细胞的增殖抑制; (b) 等离子体对黑色素瘤细胞的增殖抑制

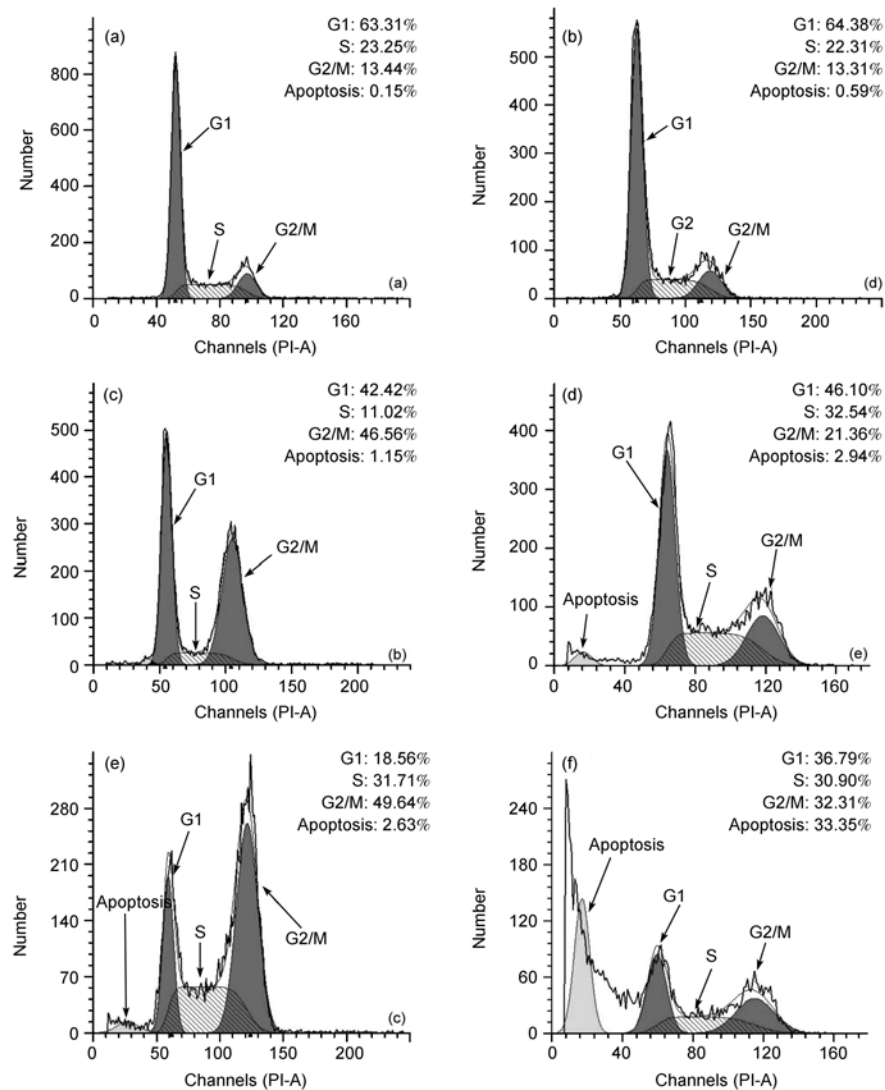


图 9 细胞 DNA 内容直方图(a)~(c)细胞分别被处理 0, 240 和 480 s, 然后培养 24 h; (d)~(f)细胞分别被处理 0, 240 和 480 s, 然后培养 48 h<sup>[76]</sup>



由于等离子体使得细胞内外的环境发生改变导致的。Kim 等人<sup>[77]</sup>研究发现等离子体诱发癌细胞的凋亡并导致 DNA 破坏和 Mitochondria 的功能紊乱。还发现等离子体处理活化了促进细胞凋亡的蛋白质, 即细胞凋亡蛋白-3。且处理过后的细胞积累了 gamma-H2AX(DNA 双链裂解的标志)以及相应地出现了 p53 肿瘤消除基因。其分析测试结果如图 10 所示。

Vandamme 等人<sup>[78]</sup>使用等离子体对 U87 神经胶质瘤在小鼠身上作了活体试验。在处理过程中, 小鼠皮下温度升高而皮肤的 PH 值降低。等离子体处理 5 天后小鼠身上的瘤细胞数剧烈下降。研究得出造成此效应的 3 种重要参数分别是电场的存在、粒子的扩散导致的皮下 PH 值下降、以及温度的少量升高。

### 4.3 等离子体作用于正常细胞

等离子体对正常细胞的影响也是等离子体医学上的一个重要研究方面, 它涉及到等离子体的生物安全性问题。在实际的临床应用中一方面希望等离子体处理能达到所需的处理效果, 另一方面要求等离子体处理不能对正常细胞产生致命的伤害。如处理人体癌细胞就希望等离子体处理导致癌细胞大量死亡, 同时对周围的正常细胞不产生显著的伤害。许多研究小组在这些方面也进行了相关的研究工作, 并取得了一定的研究成果。

Fridman 课题组<sup>[79]</sup>对猪主动脉内皮细胞进行了等离子体处理。研究发现, 少剂量的等离子体(处理时间小于 30 s 或者功率密度小于  $4 \text{ J cm}^{-2}$ )对于猪主

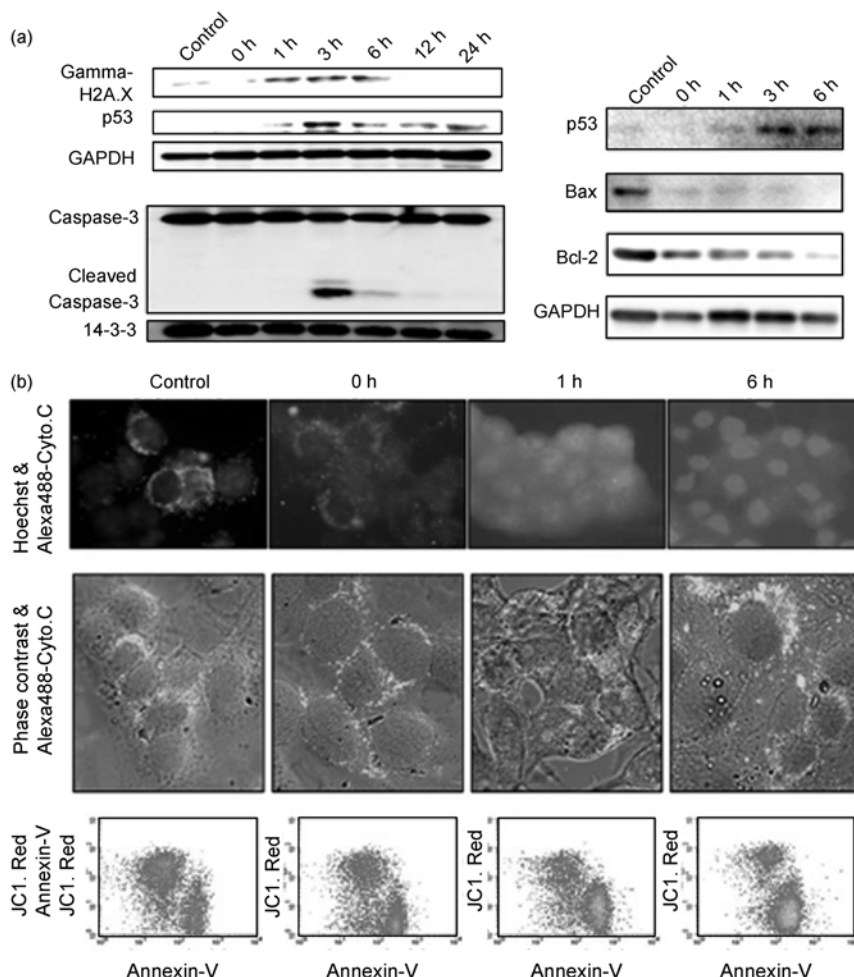


图 10 (a) 蛋白质印迹; (b) cytochrome C 释放的细胞图片以及 FACS 分析<sup>[77]</sup>

动脉的内皮细胞没有毒害, 而处理时间高于 60 s 或者功率密度大于  $8 \text{ J cm}^{-2}$  则会导致细胞死亡. 有趣的是, 他们发现处理 30 s 的内皮细胞的增殖率比未经等离子体处理的细胞的增殖率要高出 1 倍. 纤维母细胞生长因子 FGF2 在等离子体处理后 3 h 达到峰值, 低剂量等离子体处理促进 FGF2 的释放, 从而加速了内皮细胞的增殖. 他们还对等离子体处理后的聚乙烯支架上的成骨细胞的黏附效应和细胞增殖进行了研究, 发现等离子体促进了细胞的黏附和增值<sup>[80]</sup>.

为了研究等离子体处理后的细胞脱附和重新黏附的行为, Stoffels 课题组研究了非热等离子体对中国仓鼠卵巢细胞的影响<sup>[81]</sup>. 经等离子体处理之后, 细胞立即从基底上脱落, 且细胞与细胞之间的相互作用减弱, 脱落的细胞仍然是存活的. 而在所有的实验中, 等离子体对细胞的影响仅仅局限于亚毫米(所产生的等离子体尺寸)的区域内, 但对周围的细胞没有任何影响. 图 11 为等离子体处理典型照片, 结果表明经等离子体处理后丧失生存能力的细胞仍然保持原有的形状结构, 但是细胞核内的 DNA 分布却出现了变化. 文中还对细胞脱落后长期行为做了相关研究, 结果如图 12 所示. 还发现经处理后的细胞会在几小时之后重新附着到基底上, 且细胞之间的相互作用也恢复了<sup>[82]</sup>. 由此得出等离子体作用仅仅只是局限于细胞表面, 等离子体仅仅只破坏了细胞粘附分子, 即钙黏蛋白和整合蛋白. 而导致细胞分离的可能机制也许就是等离子体破坏了钙黏蛋白和整合蛋白. 同时还对等离子体处理活的哺乳动物细胞进行了相关研究<sup>[83]</sup>, 他们对哺乳动物的内皮和平滑肌细胞进行了处理, 并对处理之后的脱落和坏死的一些参数(细胞表面液体厚度、处理时间、输入电压等)进行了测试. 结果表明 10 s 的等离子体处理就足以使细胞脱落, 但在高剂量的等离子体作用下会导致细胞坏死. 研究还发现细胞表面的液体厚度是一个非常重要的因素. 要想在短时间处理内使得细胞脱落, 液体层的厚度需远小于 1 mm. 但是太薄的液面层则会由于细胞脱水而导致细胞坏死.

Stoffels 等人<sup>[84]</sup>还研究了等离子体中的带电粒子以及它们与细胞、生物组织的相互作用. 研究表明, 等离子体可以有效地灭活细菌, 且修复非炎症组织, 因而可以应用到伤口愈合、皮肤疾病处理、及蛀牙处理等医学领域上. 图 13 给出了经等离子体处理后的细胞在形态学上的变化, 细胞从处理前的瘦长的贴

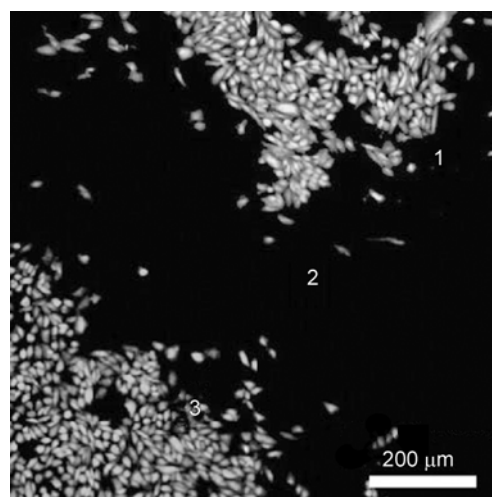


图 11 较高等离子体剂量(导致细胞坏死)处理后的典型照片. 实验中使用了双染, “1”代表细胞坏死区域; “2”代表等离子体处理后的空白区域; “3”代表活细胞区域. 一部分活细胞从基底脱落下来<sup>[81]</sup>

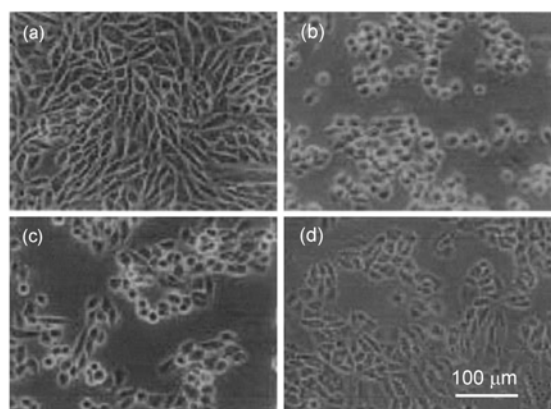


图 12 0.1 W 等离子体处理后的细胞相差显微镜照片. 数小时之后的观测发现脱落细胞发生重新附着<sup>[81]</sup>

(a) 处理前; (b) 处理后 15 min; (c) 处理后 1 h; (d) 处理后 4 h

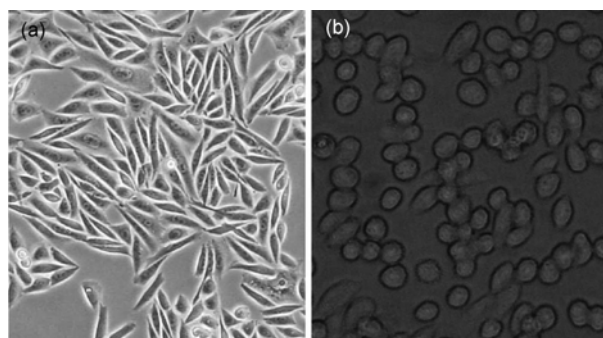


图 13 CAP 短时间照射后的细胞分离的形态学变化图示 (a) 没有处理的样本, 细胞为瘦长的贴壁细胞; (b) 处理过后的样本, 细胞表现为不贴壁的椭圆形细胞<sup>[84]</sup>

壁状态变为椭圆的不贴壁细胞. 处理过后, 细胞对基底表面粘附力丧失, 可以很容易地从基底上将细胞洗下来, 短时间的等离子体处理并不会影响细胞的繁殖能力.

Stoffels 等人<sup>[85]</sup>还对低温等离子体处理过后的血管细胞(内皮细胞和平滑肌细胞)的长期行为进行了相关研究. 为了模拟静脉内的血管, 他们在处理的细胞样本上覆盖了一层透气的薄膜, 如图 14 所示, 细胞培养好后, 被转移到一个处理腔中进行处理, 此处理腔为一个 2 mm 厚的长方体, 两端均覆盖一层 75  $\mu\text{m}$  厚的透气膜(能透过气体和等离子体粒子, 但是不能透过大分子如细菌). 进行等离子体处理时, 针尖距膜的距离为 1 mm. 通过改变处理时间, 研究了抗氧化剂添加物对于细胞的影响效果, 培养基中富含总浓度  $3 \times 10^{-3}$  M 的 L-抗坏血酸维生素 C. 细胞在此培养基上孵育 15 min 以充分吸收抗氧化剂. 经等离子体处理后立即将一部分样本置于显微镜下, 而另一部分样本则经 PI 染色后置于激光共聚焦显微镜下检测细胞的坏死情况(图 15). 处理过后的细胞经几小时的培养后对其生物学形态进行周期性的检测. 经等离子体处理后的血管细胞、纤维母细胞、和黑素瘤细胞具有不同的特征. 在低剂量的等离子体下, 平滑肌细胞呈现出典型的细胞凋亡现象. 试验中, 观察到在所有类型的细胞中, 细胞脱附都是即刻发生的, 当等离子体的照射时间很短(小于 5 s)时, 细胞不会受到伤害且可以重新粘附到一起. 这说明(i)细胞的脱附是物理过程而不是生物过程; (ii)这是由某些寿命很短的毒性不高的等离子体粒子引起的.

#### 4.4 等离子体对血液凝结的影响及作用机理

热平衡等离子体在血液凝结上的应用早已用于临床. 这种等离子体的凝血机制是通过高温使得组织的蛋白质变性和使血液干燥, 从而达到凝血的目的.

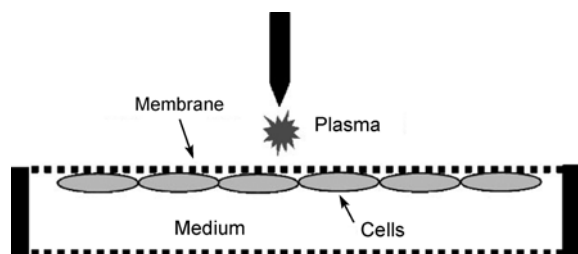


图 14 细胞处理示意图<sup>[85]</sup>

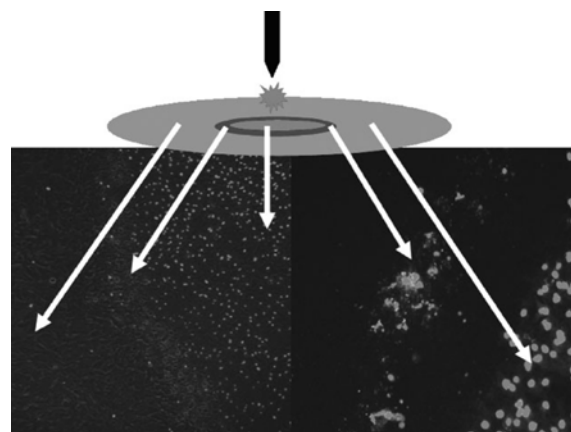


图 15 等离子体处理 20 s 后的 A7r5 细胞的形态学变化, 处理后 10 h 观察所得. 上: 全部细胞样本和处理区域示意图, 显示等离子体针的位置、细胞坏死区和周围的凋亡细胞. 左: 没有渗透的样本, 显示受影响区域的边缘. 右: 渗透的样本, 显示凋亡细胞中的 DNA 分裂. 图中箭头表示照片区域在实际总样本上的近似位置<sup>[85]</sup>

的. 然而使用高温等离子体来进行临床应用存在很多不安全机制, 且高温显然会对人体产生烧痛感. 近年来相关的大气压低温等离子体在血液凝结上的研究表明低温等离子体也能快速地促进血液的凝结, 而等离子体对正常细胞的作用研究也使得低温等离子体在临床凝血上的应用成为可能.

Fridman 等人<sup>[22]</sup>使用一种悬浮的单电极 DBD 装置进行凝血实验和对活体组织进行消毒, 发现只需几秒钟的等离子体处理就能使血液迅速地凝结, 减少了血液凝结所需的时间. 这种单电极悬浮 DBD 装置产生的等离子体能在几秒钟之内完全杀死皮肤菌群, 且相关研究表明短时间(几分钟)的等离子体直接处理对皮肤活体组织没有明显伤害. 图 16 给出了凝血处理装置结构示意图和处理结果图. 图 16(b)为等离子体处理后的凝血血块, 图 16(c)为正常的自然凝结的血滴, 图 16(d)为活体动物实验对比照片. 从图中可以看到, 在相同的时间内, 经等离子体处理过后的血滴迅速凝结, 而正常血液此时并没有完全凝结. 在活体实验中, 相同凝血时间下, 没有用等离子体处理的伤口仍有血液不断地涌出, 而使用等离子体处理后的伤口逐渐愈合, 没有血液继续涌出, 说明伤口已经凝结, 等离子体对伤口愈合有促进作用. 为了进一步的研究凝血机制, 还研究了不同处理时间 5, 15, 30 和 60 s 对于血液凝结的影响, 测定了等离子体处理后的血液 pH 值和  $\text{Ca}^{2+}$  离子的浓度. 研究了等离子

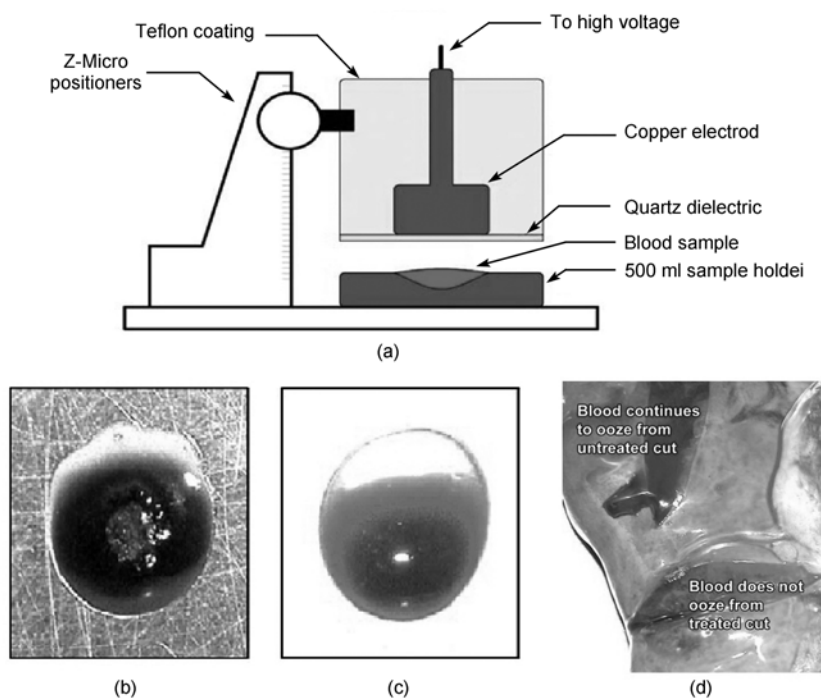


图 16 (a) FDB 装置处理血液示意图; (b), (c), (d) 分别为等离子体处理后的血滴、自然凝结的血滴、动物的活体试验<sup>[22]</sup>

体对白蛋白和纤维蛋白原的影响、等离子体处理时电场对血液凝结的影响、和等离子体处理的平均热量对于凝血的影响。还进行了血液凝结层形态学变化的观测<sup>[86]</sup>。通过检测处理过后样本的 PH 值和  $\text{Ca}^{2+}$  的浓度, 发现这些参数并没有改变, 且热效应和电场效应均可以被忽略不计, 而通过对人体纤维蛋白原缓冲液的处理发现等离子体加速了纤维蛋白原的聚集, 由此推断出等离子体把纤维蛋白原直接转换成纤维蛋白可能是大气压等离子体的凝血机制之一。

#### 4.5 等离子体作用于 DNA 质粒及蛋白质

Deng 等人<sup>[87]</sup>研究了大气压辉光放电对于附着于基底表面的传染性蛋白质的破坏和去除效果。使用扫描电子显微镜、激光诱导荧光显微镜等手段清晰地看到了等离子体对蛋白质的去除和破坏效果。结果表明, 经等离子体处理过后基底表面的蛋白质数量大大地减少了。Yan 等人<sup>[88]</sup>研究发现大气压低温等离子体可以使 DNA 结构发生改变, 大部分 DNA 分子会变为线性和开环构象, 而当等离子体的处理时间增加到一定程度时, 质粒 DNA 则会断裂成碎片, 结果如图 17 所示。进一步采用 PCR 技术分析表明在适宜的条件下大气压等离子体射流不会影响质粒 DNA 的

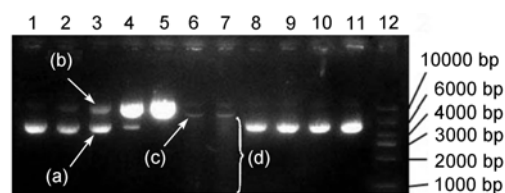


图 17 等离子体处理后的 DNA 分子电泳结果

(a) 超螺旋构象; (b) 开环构象; (c) 线性构象; (d) 碎片构象<sup>[88]</sup>

基因。Li 等人<sup>[89]</sup>研究得出化学活性粒子而不是热、紫外、电场、或带电粒子使得 DNA 双链裂解。Yasuda 等人<sup>[90]</sup>使用大气压 DBD 装置对 DNA 进行处理, 认为等离子体对 DNA 的破坏对灭活几乎没有任何贡献。

## 5 等离子体应用于临床医疗

以上对国际上等离子体医学的基础研究工作做了回顾。低温等离子体最终成功地应用到实际的临床上才是终极目标。实际应用需要考虑到临床上的各个方面, 比单一的上述研究情况要复杂的多。国际上多个课题组已经在实际应用, 如口腔医学、皮肤处理、伤口愈合等临床上作了相关的研究工作。下面我们就简要地对这些研究成果进行回顾。

### 5.1 等离子体应用于口腔临床

最早将等离子体应用到口腔医学领域的文章之一参见文献[91], 从此, 低温等离子体在口腔医学中的应用受到了越来越多的关注. 此文中, Stoffels 等人<sup>[92]</sup>研究了等离子体对牙齿组织的作用, 发现此装置对大肠杆菌有很高的灭活能力. 随后又使用大气压低温等离子体成功高效地灭活了对口腔内造成龋齿的变异链球菌.

牙科器械的表面清洁包含了朊病毒的灭活、有机物的移除、以及病菌的灭活和移除等. Whittaker 等人<sup>[93]</sup>使用等离子体对牙科器械进行了清洁, 并使用扫描电镜等手段来确定等离子体处理前后的器械表面清洁度. 研究表明, 器械表面的有机物被降低到仪器能够检测到的极限值.

Lu 课题组<sup>[94]</sup>在口腔医学应用领域做了大量的研究工作, 如牙齿根管治疗、种植体周围炎治疗等. 在临床上, 传统的根管治疗手段(机械清洁、药物冲洗、激光冲洗、超声波振荡、以及使用一些抗菌药物等)并不能完全地杀死引起根管疾病的致病菌, 90%以上的根管治疗失败都是因为残留在根管内的病菌重新感染而导致的. 针对牙齿的根管治疗问题, 该课题组依照牙齿根管的結構特点, 研制了一种可以直接在牙齿根管内放电的大气压等离子体针装置, 如图 18 所示. 此装置由脉冲电源驱动, 依次串联一个 36 pF 的电容和 80 k $\Omega$  的电阻, 而放电电极则为医用不锈钢针头, 将其直接放入根管内放电, 所产生的等离子体温度为室温. 这样直接在根管内部放电, 就使得寿命较短的活性粒子(如 ROS)也能起到杀菌效果, 从而大大增强了灭菌效率. 且该装置放电时不会对人体产生任何热或电击的伤害. 最近, 他们还对该装置做了进一步的改进(图 19), 改进后的装置可以直接利用周围大气作为工作气体, 这就使得操作更加方便, 它能在几十秒钟的时间内杀死粪肠球菌(导致牙齿根管治疗的最常见的致病菌)<sup>[95]</sup>.

使用这些自主研制的等离子体源, 该课题组口腔医学的相关应用作了大量的实验研究. 首先, 针对牙齿的根管治疗, 使用这些等离子体装置对导致根管治疗失败的典型病菌进行了灭活试验, 获得了很好的灭菌效果. 为了进一步地应用于临床, 课题组与华中科技大学同济医学院口腔科合作, 对根管治疗临床进行了实际研究. 如图 20 所示, 图 20(a)为大

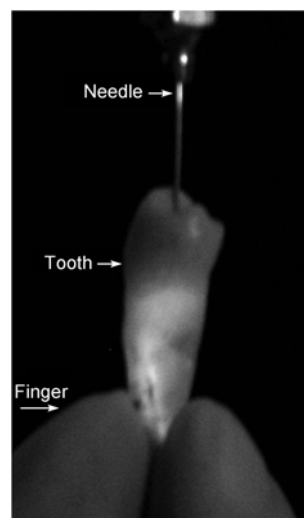


图 18 在牙齿根管内产生等离子体的实物图<sup>[94]</sup>

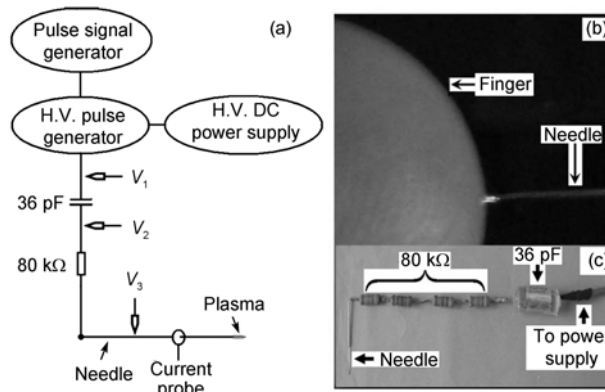
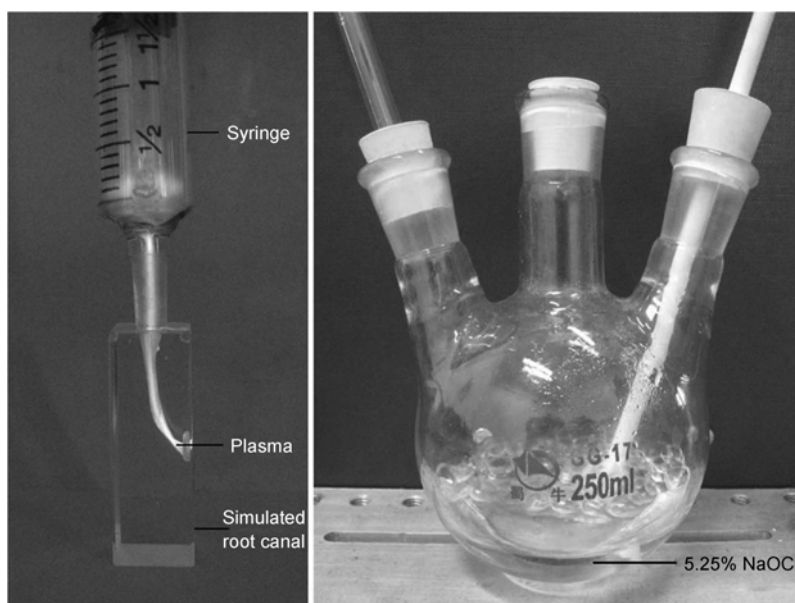


图 19 (a) 实验装置示意图; (b) 人手直接接触空气等离子体照片, 距离约为 1 mm; (c) 实验装置的实物照片<sup>[95]</sup>

气压等离子体射流装置处理牙齿根管模型, 根管内部已接种培养了 3 天的粪肠球菌生物膜样本; 图 20(b) 为工作气体通过 NaClO 溶液的照片. 在此实验中, 为了找到更好的根管治疗的条件, 将等离子体直接处理和载药等离子体处理牙齿根管作了比较. 实验结果证明, 当工作气体中载有 5.25% 的 NaClO 时, 只需 12 min 就可以杀死牙齿根管内全部的粪肠球菌, 说明等离子体和药物的共同作用具有最好的杀菌效果, 两者之间有相互促进的作用<sup>[96]</sup>. 为了验证此试验的可靠性, 使用同样的等离子体射流装置和条件, 对培养在玻片上的粪肠球菌生物膜进行了等离子体处理, 处理后将样本染色, 并使用激光共聚焦显微镜进行观察, 结果与根管模型所得结果一致.

图 20 大气压等离子体射流处理牙齿根管模型<sup>[96]</sup>

当进行口腔处理时, 还需要关注的一个问题就是等离子体对于口腔正常皮肤的作用效果. 许多研究证明, 使用合适的等离子体源和恰当的等离子体剂量, 不管在体外还是在活体上直接进行等离子体处理, 都不会对正常的人体组织造成伤害. 我们也进行了相关的试验研究, 结果如图 21 所示. 该图为大气压等离子体射流处理成骨细胞的照片、及激光共聚焦显微镜拍照结果. 图 21(a)为等离子体射流处理人体成骨细胞实验照片, 细胞生长在 96 孔板底部. 图 21(b)和(c)分别为处理前和处理后细胞的荧光跟踪激光共聚焦显微镜拍照照片, 绿色表示正常存活细胞. 试验组和对照组几乎都为正常的存活细胞. 因此可以认为正常细胞经合适的等离子体处理不会死亡. 相应

地, 对动物的活体试验也进行了研究. 图 22 给出的是处理家兔口腔舌粘膜的实验照片. 处理前, 家兔已被适量的麻醉剂麻醉, 处理时间为 20 min. 处理后按分组继续培养 1 和 5 天, 取经等离子体处理位置的粘膜作病理切片, 并拍照进行观察. 可以看出试验组与对照组上皮组织均正常, 仅见少数几个炎症细胞, 这说明等离子体对于口腔皮肤几乎没有损害. 以上的各项实验表明, 大气压低温等离子体能够有效地灭活口腔内的典型致病菌, 但对口腔皮肤和人体不会产生伤害.

在牙齿的美白应用中, Lee 等人<sup>[44]</sup>进行了相关的研究. 他们将  $H_2O_2$  的处理效果和等离子体处理过后牙齿的美白效果进行了对比, 并使用扫描电镜观察了牙齿处理前后的表面蛋白的去除度. 研究发现, 与

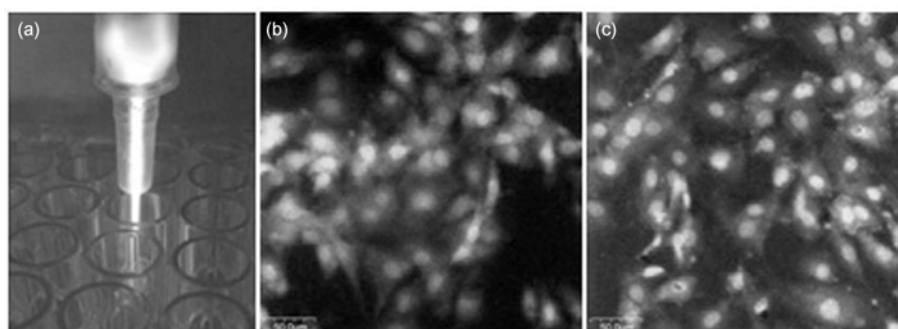


图 21 大气压等离子体射流处理正常成骨细胞

(a) 实验示意图; (b) 正常细胞 CLSM 图; (c) 加一层 DMEM 等离子体处理 30 s 的细胞 CLSM 图

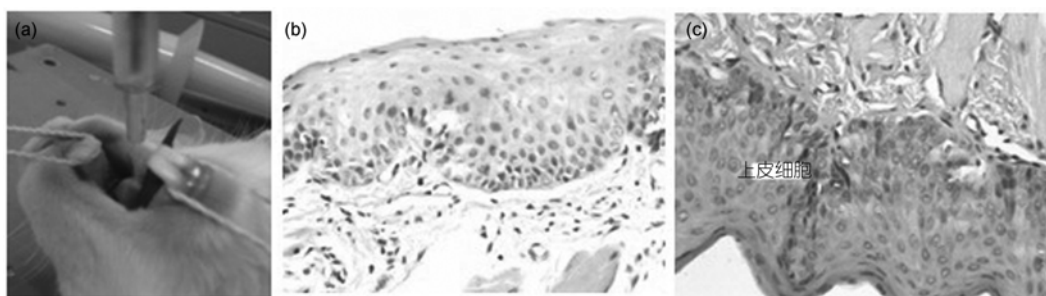


图 22 (a) 实验拍照, 家兔经麻药麻醉, 处理时间 20 min; (b) 正常家兔舌粘膜病毒切片, 对照; (c) 经等离子体处理后的家兔舌粘膜病理切片

仅使用  $\text{H}_2\text{O}_2$  对比, 将等离子体与  $\text{H}_2\text{O}_2$  相结合时美白效果提高了 3 倍, 且牙齿表面的蛋白被明显移除, 实验结果如图 23 所示. 他们推断等离子对牙齿美白的促进作用是由于等离子体去除了牙齿表面的蛋白以及增强了  $\text{OH}$  的产量导致的.

总之, 大气压低温等离子体在口腔医学应用领域有着极大的应用前景. 但仍需解决的问题包括设计更加高效的低温等离子源、研究最佳的处理方法、已经作用机理等. 此外, 还可对口腔医学其他的一些应用开展试探性的研究, 如口腔日常护理、种植体周

围炎治疗等.

## 5.2 等离子体应用于皮肤治疗及伤口愈合

等离子体在皮肤病治疗和伤口愈合方面也有相关的临床研究. 皮肤病的处理结合了皮肤表面病菌的灭活、对正常细胞的作用效果、以及血液凝结等方面<sup>[97~101]</sup>.

当然, 等离子体的医学应用还有很多, 而且人们不断提出一些新的潜在应用, 有兴趣的读者可参见文献<sup>[102~106]</sup>.

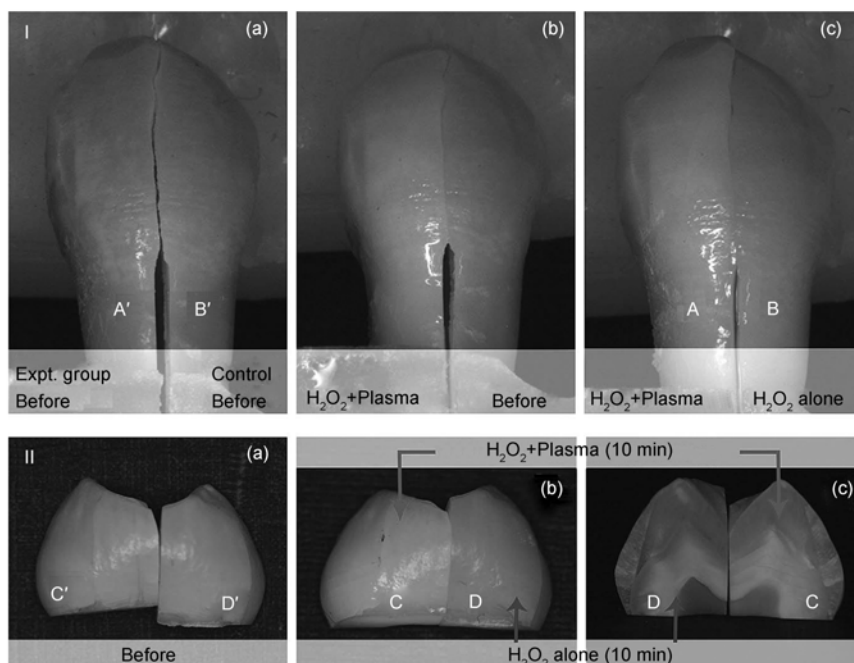


图 23 等离子体+ $\text{H}_2\text{O}_2$  的处理效果与处理前和  $\text{H}_2\text{O}_2$  单独处理效果的对比照<sup>[44]</sup>



## 6 等离子体医学的展望

本文对当前国内外在医学应用领域的研究工作进行了回顾, 包括等离子体与生物体的相互作用机制、皮肤疾病的治疗、凝血、对正常细胞的影响效果以及对癌细胞的诱导凋亡、口腔医学相关应用等。

对于等离子体灭菌, 将来主要应该是从分子生物学角度来研究等离子体是如何实现其灭菌效果的。这个工作具有极大的挑战性, 但走出现在的这种困局, 这方面的工作是必须开展的。在等离子体处理癌细胞的研究方面, 其中的一个非常重要的, 也是最关键的一个工作就是等离子体能穿透多深的癌细胞组织, 这是一个需要迫切解决的问题。事实上这也是关系到等离子体医学应用将来能走多远的一个非常关键的问题。至于等离子体与正常细胞的相互作用, 这是关系到生物安全性的一个重要问题, 我们不仅需要研究被处理的细胞是否受到伤害, 还需要研究其基因是否有所改变, 甚至是其下一代细胞的基因是

否会出现变异等重要科学问题。最后对于等离子体医学在临床方面的应用, 一个最重要的问题就是效率问题, 这就要求我们仍需对现有的等离子体射流装置进行改进, 并同时考虑采用与其他方法结合, 从而显著改善处理效果。

总之, 不论是国内还是国外, 等离子体医学的发展可以说才刚刚起步, 但是已经获得了令人瞩目的成就。不管是对微生物的灭活, 还是与人体组织的相互作用, 使用适当的方法、在合适的条件下都可以达到一定的预期效果。但是迄今为止, 有关等离子体与生物体相互作用的机制仍然没有完全弄清楚, 以至于将等离子体应用于医学临床还存在着一些问题。这就要求研究者们必须进一步地研究等离子体与生物体的作用机制, 并研究适应于各种具体临床应用的等离子体装置、最佳工作条件等, 才能使等离子体真正地在临床医学中得到应用。总的来说, 等离子体医学还有许多问题需要解决, 但其在临床医学上的应用前景是十分光明的。

## 参考文献

- 1 Laroussi M. Low-temperature plasmas for medicine? IEEE Trans Plasma Sci, 2009, 37: 714–725
- 2 Laroussi M. Low temperature plasma-based sterilization: Overview and state-of-the-art. Plasma Process Polym, 2005, 2: 391–400
- 3 Boudam M K, Moisan M, Saoudi B, et al. Bacterial spore inactivation by atmospheric-pressure plasmas in the presence or absence of UV photons as obtained with the same gas mixture. J Phys D: Appl Phys, 2006, 39: 3494–3507
- 4 Nie Q, Ren C S, Wang D Z. Self-organized pattern formation of an atmospheric pressure plasma jet in a dielectric barrier discharge configuration. Appl Phys Lett, 2007, 90: 221504–221504-3
- 5 Walsh J L, Kong M G. Contrasting characteristics of linear-field and cross-field atmospheric plasma jets. Appl Phys Lett, 2008, 93: 111501–111501-3
- 6 Zhang J L, Sun J, Wang D Z, et al. A novel cold plasma jet generated by capillary atmospheric DBD discharge. Thin Solid Film, 2006, 506–507: 404
- 7 Dorai R, Kushner M J. A model for plasma modification of polypropylene using atmospheric pressure discharges. J Phys D: Appl Phys, 2003, 36: 666–685
- 8 Mariotti D. Nonequilibrium and effects of gas mixtures in an atmospheric microplasma. Appl Phys Lett, 2008, 92: 151505–151505-3
- 9 Chu P. Plasma-treated biomaterials. IEEE Trans Plasma Sci, 2007, 35: 181–187
- 10 Dorai R, Kushner M J. A model for plasma modification of polypropylene using atmospheric pressure discharges. J Phys D: Appl Phys, 2003, 36: 666–685
- 11 Chu P. Plasma-treated biomaterials. IEEE Trans Plasma Sci, 2007, 35: 181–187
- 12 Ostrikov K N, Kumar S, Sugai H. Charging and trapping of macroparticles in near-electrode regions of fluorocarbon plasmas with negative ions. Phys Plasmas, 2001, 8: 3490–3497
- 13 Ostrikov K. Colloquium: Reactive plasmas as a versatile nanofabrication tool. Rev Mod Phys, 2005, 77: 489–511
- 14 Babayan S, Jeong J, Tu V. Deposition of silicon dioxide films with an atmospheric-pressure plasma jet. Plasma Sources Sci Technol, 1998, 7: 286–288
- 15 Mariotti D, Svrcek V, Kim D G. Self-organized nanostructures on atmospheric microplasma exposed surfaces. Appl Phys Lett, 2007, 90: 1294



183111–183111-3

- 16 Lee M H, Park B J, Jin S H. Removal and sterilization of biofilms and planktonic bacteria by microwave-induced argon plasma at atmospheric pressure. *New J Phys*, 2009, 11: 115022–115022-11
- 17 Chen C Y, Fan H W, Kuo S P. Blood clotting by low-temperature air plasma. *IEEE Trans Plasma Sci*, 2009, 37: 993–999
- 18 David B, MacNeil H S, Short R D. A cell therapy for chronic wounds based upon a plasma polymer delivery surface. *Plasma Process Polym*, 2006, 3: 419–430
- 19 Monna V, Nguyen C, Kahil M. Sterilization of dental bacteria in a flowing  $N_2$ - $O_2$  postdischarge reactor. *IEEE Trans Plasma Sci*, 2002, 30: 1437–1439
- 20 Kim G C, Kim G J, Park S R. Air plasma coupled with antibody-conjugated nanoparticles: A new weapon against cancer. *J Phys D: Appl Phys*, 2009, 42: 032005
- 21 Laroussi M. Sterilization of contaminated matter with an atmospheric pressure plasma. *IEEE Trans Plasma Sci*, 1996, 24: 1188–1191
- 22 Fridman G, Peddinghaus M, Ayan H, et al. Blood coagulation and living tissue sterilization by floating-electrode dielectric barrier discharge in air. *Plasma Chem Plasma Process*, 2006, 26: 425–442
- 23 Wu S Q, Lu X P, Xiong Z L. A touchable pulsed air plasma plume driven by DC power supply. *IEEE Trans Plasma Sci*, 2010, 38: 3404–3408
- 24 Lu X P, Jiang Z H, Xiong Q. A single electrode room-temperature plasma jet device for biomedical applications. *Appl Phys Lett*, 2008, 92: 151504–151504-3
- 25 Lu X P, Jiang Z H, Xiong Q. An 11 cm long atmospheric pressure cold plasma plume for applications of plasma medicine. *Appl Phys Lett*, 2008, 92: 081502–081502-2
- 26 Laroussi M, Lu X. Room-temperature atmospheric pressure plasma plume for biomedical applications. *Appl Phys Lett*, 2005, 87: 113902–113902-3
- 27 Kolb J F, Mohamed A A H, Price R O. Cold atmospheric pressure air plasma jet for medical applications. *Appl Phys Lett*, 2008, 92: 241501–241501-3
- 28 Honga Y C, Uhm H S. Microplasma jet at atmospheric pressure. *Appl Phys Lett*, 2006, 89: 221504–221504-3
- 29 Xu G M, Ma Y, Zhang G J. DBD plasma jet in atmospheric pressure argon. *IEEE Trans Plasma Sci*, 2008, 36: 1352–1353
- 30 Herrmann H W, Henins I, Park J. Decontamination of chemical and biological warfare (CBW) agents using an atmospheric pressure plasma jet (APPJ). *Phys Plasmas*, 1999, 6: 2284–2289
- 31 Lee M H, Park B J, Jin S C. Removal and sterilization of biofilms and planktonic bacteria by microwave-induced argon plasma at atmospheric pressure. *New J Phys*, 2009, 11: 115022
- 32 Ayan H, Fridman G, Staack D. Heating effect of dielectric barrier discharges for direct medical Treatment. *IEEE Trans Plasma Sci*, 2009, 37: 113–120
- 33 Erofeev M V, Kieft I E, Sosnin E A. UV excimer lamp irradiation of fibroblasts: The influence on antioxidant homeostasis. *IEEE Trans Plasma Sci*, 2006, 34: 1359–1364
- 34 Lerouge S, Wertheimer M R, Yahia L H. Plasma sterilization: A review of parameters, mechanisms, and limitations. *Plasmas Polym*, 2001, 6: 175–188
- 35 Soloshenko I A, Tsiolko V V, Khomich V A, et al. Sterilization of medical products in low-pressure glow discharges. *Plasma Phys Rep*, 2000, 26: 792–800
- 36 Birmingham J G. Mechanisms of bacterial spore deactivation using ambient pressure nonthermal discharges. *IEEE Trans Plasma Sci*, 2004, 32: 1526–1531
- 37 Wang S, Schulz-von der Gathen V, Dobelev H F. Discharge comparison of nonequilibrium atmospheric pressure  $Ar/O_2$  and  $He/O_2$  plasma jets. *Appl Phys Lett*, 2003, 83: 3272–3274
- 38 Hury S, Vidal D R, Desor F, et al. A parametric study of the destruction of *Bacillus* spores in low pressure oxygen-based plasmas. *Lett Appl Microbiol*, 1998, 26: 417–421
- 39 Philip N, Saoudi B, Crevier M, et al. The respective roles of UV photons and oxygen atoms in plasma sterilization at reduced gas pressure: The case of  $N_2$ - $O_2$  mixtures. *IEEE Trans Plasma Sci*, 2002, 30: 1429–1436
- 40 Sosnin E A, Stoffels E, Erofeev M V. The effects of UV irradiation and gas plasma treatment on living mammalian cells and bacteria: A comparative approach. *IEEE Trans Plasma Sci*, 2004, 32: 1544–1550
- 41 Soloshenko I A, Tsiolko V V, Khomich V A. Sterilization of medical products in low-pressure glow discharges. *Plasma Phys Rep*, 2000,

- 26: 792–800
- 42 Dobrynin D, Fridman G, Friedman G. Physical and biological mechanisms of direct plasma interaction with living tissue. *New J Phys*, 2009, 11: 115020
- 43 Lu X P, Ye T, Cao Y G. The roles of the various plasma agents in the inactivation of bacteria. *J Appl Phys*, 2008, 104: 053309–053309-5
- 44 Lee H W, Kim G J. Tooth bleaching with nonthermal atmospheric pressure plasma. *J Endod*, 2009, 35: 587–591
- 45 Imlay J, Chin S, Linn S. Toxic DNA damage by hydrogen peroxide through the Fenton reaction *in vivo* and *in vitro*. *Science*, 1988, 240: 640–642
- 46 Henle E S, Linn S. Formation, prevention, and repair of DNA damage by iron/hydrogen peroxide. *J Biol Chem*, 1997, 272: 19095–19103
- 47 Laroussi M, Richardson J P, Dobbs F C. Effects of nonequilibrium atmospheric pressure plasmas on the heterotrophic pathways of bacteria and on their cell morphology. *Appl Phys Lett*, 2001, 81: 772–774
- 48 Laroussi M, Minayeva O, Dobbs F C. Spores survivability after exposure to low-temperature plasmas. *IEEE Trans Plasma Sci*, 2006, 34: 12531256
- 49 Fridman G, Brooks A D. Comparison of direct and indirect effects of non-thermal atmospheric-pressure plasma on bacteria. *Plasma Process Polym*, 2007, 4: 370–375
- 50 Sladek R E J, Stoffels E. Deactivation of escherichia coli by the plasma needle. *J Phys D: Appl Phys*, 2005, 38: 1716–1721
- 51 Chalise P R, Perni S, Shama G. Lethality mechanisms in escherichia coli induced by intense sub-microsecond electrical pulses. *Appl Phys Lett*, 2006, 89: 153902–153902-3
- 52 Deng X T, Shi J J, Kong M G. Physical mechanisms of inactivation of bacillus subtilis spores using cold atmospheric plasmas. *IEEE Trans Plasma Sci*, 2006, 34: 1310–1316
- 53 Perni S, Deng X T, Shama G. Modeling the inactivation kinetics of bacillus subtilis spores by nonthermal plasmas. *IEEE Trans Plasma Sci*, 2006, 34: 1297–1303
- 54 Xiong Z, Lu X P, Feng A. Highly effective fungal inactivation in He+O<sub>2</sub> atmospheric-pressure nonequilibrium plasmas. *Phys Plasmas*, 2010, 17: 123502–123502-6
- 55 Cheng C, Liu P, Xu L. Development of a new atmospheric pressure cold plasma jet generator and application in sterilization. *Chin Phys Soc*, 2006, 15: 15451549
- 56 Shi X M, Zhang G J, Yuan Y K. Research on the inactivation effect of low-temperature plasma on Candida Albicans. *IEEE Trans Plasma Sci*, 2008, 36: 498–503
- 57 Sladek R E J, Filoche S K, Sissons C H. Treatment of streptococcus mutans biofilms with a nonthermal atmospheric plasma. *Lett Appl Microbiol*, 2007, 45: 318–323
- 58 Abramzon N, Joaquin J C, Bray J. Biofilm destruction by RF high-pressure cold plasma jet. *IEEE Trans Plasma Sci*, 2006, 34: 1304–1309
- 59 Lee M H, Park B J, Jin S C. Removal and sterilization of biofilms and planktonic bacteria by microwave-induced argon plasma at atmospheric pressure. *New J Phys*, 2009, 11: 115022
- 60 Birmingham J G, Hammerstrom D J. Bacterial decontamination using ambient pressure nonthermal discharges. *IEEE Trans Plasma Sci*, 2000, 28: 51–55
- 61 Cvelbar U, Vujčević D, Vratnica Z. The influence of substrate material on bacteria sterilization in an oxygen plasma glow discharge. *J Phys D: Appl Phys*, 2006, 39: 3487–3493
- 62 Boudam M K, Moisan M, Saoudi B. Bacterial spore inactivation by atmospheric-pressure plasmas in the presence or absence of UV photons as obtained with the same gas mixture. *J Phys D: Appl Phys*, 2006, 39: 3494–3507
- 63 Raballand V, Benedikt J, Wunderlich J. Inactivation of Bacillus atrophaeus and of aspergillusniger using beams of argon ions, of oxygen molecules and of oxygen atoms. *J Phys D: Appl Phys*, 2008, 41: 115207
- 64 Kylián O, Rossi F. Sterilization and decontamination of medical instruments by low-pressure plasma discharges: Application of Ar/O<sub>2</sub>/N<sub>2</sub> ternary mixture. *J Phys D: Appl Phys*, 2009, 42: 085207
- 65 Kuo S P, Tarasenko O, Popovic S. Killing of bacterial spores contained in a paper envelope by a microwave plasma torch. *IEEE Trans Plasma Sci*, 2006, 34: 1275–1280
- 66 Goree J, Liu B, Drake D. Killing of S. mutans bacteria using a plasma needle at atmospheric pressure. *IEEE Trans Plasma Sci*, 2006, 34: 1317–1324
- 67 Rice J K, Ewell M. Examination of peak power dependence in the UV inactivation of bacterial spores. *Appl Environ Microbiol*, 2001, 67: 5830–5832

- 68 Xiong Z, Du T, Lu X. How deep can plasma penetrate into a biofilm? *Appl Phys Lett*, 2011, 98: 221503
- 69 Xu L, Zhang R, Liu P. Sterilization of *E. coli* bacterium with an atmospheric pressure surface barrier discharge. *Chin Phys Soc*, 2004, 13: 914–918
- 70 Fridman G, Shereshevsky A. Floating electrode dielectric barrier discharge plasma in air promoting apoptotic behavior in melanoma skin cancer cell lines. *Plasma Chem Plasma Process*, 2007, 27: 163–176
- 71 Kim J Y, Kim Sung-O, Wei Y. A flexible cold microplasma jet using biocompatible dielectric tubes for cancer therapy. *Appl Phys Lett*, 2010, 96: 203701–203701-3
- 72 Stoffels E, Kieft I E, Sladek R E J. Superficial treatment of mammalian cells using plasma needle. *J Phys D: Appl Phys*, 2003, 36: 2908–2913
- 73 Zhang X H, Li M J, Zhou R L. Ablation of liver cancer cells in vitro by a plasma needle. *Appl Phys Lett*, 2008, 93: 021502–021502-3
- 74 Kim Chul-Ho, Kwon S, HoonBahn J. Effects of atmospheric nonthermal plasma on invasion of colorectal cancer cells. *Appl Phys Lett*, 2010, 96: 243701–243701-3
- 75 Lee H J, Shon C H, Kim Y S. Degradation of adhesion molecules of G361 melanoma cells by a non-thermal atmospheric pressure microplasma. *New J Phys*, 2009, 11: 115026
- 76 Yan X, Zou F, Zhao S S. On the mechanism of plasma inducing cell apoptosis. *IEEE Trans Plasma Sci*, 2010, 38: 2451–2457
- 77 Kim G J, Kim W, Kim K T. DNA damage and mitochondria dysfunction in cell apoptosis induced by nonthermal air plasma. *Appl Phys Lett*, 2010, 96: 021502–021502-3
- 78 Vandamme M, Robert E, Pesnel S. Antitumor effect of plasma treatment on U87 glioma xenografts: Preliminary results. *Plasma Process Polym*, 2010, 7: 264–273
- 79 Kalghatgi S, Friedman G, Fridman A. Endothelial cell proliferation is enhanced by low dose non-thermal plasma through fibroblast growth factor-2 release. *Ann Biomed Eng*, 2010, 38: 748–757
- 80 Yildirim E D, Ayan H, Vasilets V N. Effect of dielectric barrier discharge plasma on the attachment and proliferation of osteoblasts cultured over poly( $\epsilon$ -caprolactone) scaffolds. *Plasma Process Polym*, 2008, 5: 58–66
- 81 Kieft I E, Broers J LV, Caubet-Hilloutou V. Electric discharge plasmas influence: Attachment of cultured CHOK1 cells. *Bioelectromagn*, 2004, 25: 362–368
- 82 Kieft I E, Kurdi M, Stoffels E. Reattachment and apoptosis after plasma-needle treatment of cultured cells. *IEEE Trans Plasma Sci*, 2006, 34: 1331–1337
- 83 Kieft I E, Darios D. Plasma treatment of mammalian vascular cells: A quantitative description. *IEEE Trans Plasma Sci*, 2005, 33: 771–775
- 84 Stoffels E, Sakiyama Y, Graves D B. Cold atmospheric plasma: Charged species and their interactions with cells and tissues. *IEEE Trans Plasma Sci*, 2008, 36: 1441–1457
- 85 Stoffels E, Roks A J M, Deelman L E. Delayed effects of cold atmospheric plasma on vascular cells. *Plasma Process Polym*, 2008, 5: 599–605
- 86 Kalghatgi S U, Fridman G, Cooper M. Mechanism of blood coagulation by nonthermal atmospheric pressure dielectric barrier discharge plasma. *IEEE Trans Plasma Sci*, 2007, 35: 1559–1566
- 87 Deng X T, Shi J J, Chen H L. Protein destruction by atmospheric pressure glow discharges. *Appl Phys Lett*, 2007, 90: 013903–013903-3
- 88 Yan X, Zou F, Lu X P. Effect of the atmospheric pressure nonequilibrium plasmas on the conformational changes of plasmid DNA. *Appl Phys Lett*, 2009, 95: 083702–083702-3
- 89 Li G, Li H P, Wang L Y. Genetic effects of radio-frequency, atmospheric-pressure glow discharges with helium. *Appl Phys Lett*, 2008, 92: 221504–221504-3
- 90 Yasuda H, Miura T, Kurita H. Biological evaluation of DNA damage in bacteriophages inactivated by atmospheric pressure cold plasma. *Plasma Process Polym*, 2010, 7: 301–308
- 91 Sladek R E J, Stoffels E, Walraven R. Plasma treatment of dental cavities: A feasibility study. *IEEE Trans Plasma Sci*, 2004, 32: 1540–1543
- 92 Goree J, Liu B, Drake D. Killing of *S. mutans* bacteria using a plasma. *IEEE Trans Plasma Sci*, 2006, 34: 1317–1324
- 93 Whittakera A G, Grahama E M, Baxter R L. Plasma cleaning of dental instruments. *J Hosp Infect*, 2004, 56: 37–41
- 94 Lu X P, Cao Y G, Yang P. An RC plasma device for sterilization of root canal of teeth. *IEEE Trans Plasma Sci*, 2009, 37: 668–673
- 95 Lu X, Xiong Z, Zhao F. A simple atmospheric pressure room-temperature air plasma needle device for biomedical applications. *Appl Phys Lett*, 2009, 95: 181501–181501-3

- 96 Zhou X C, Xiong Z L, Cao Y G. The antimicrobial activity of an atmospheric-pressure room-temperature plasma in a simulated root-canal model infected with enterococcus faecalis. *IEEE Trans Plasma Sci*, 2010, 38: 3370–3374
- 97 Lloyd G, Friedman G, Jafri S. Gas plasma medical uses and developments in wound care. *Plasma Process Polym*, 2010, 7: 194–211
- 98 Nosenko T, Shimizu T, Morfill G E. Designing plasmas for chronic wound disinfection. *New J Phys*, 2009, 11: 115013
- 99 Daeschlein G, Woedtke T, Kindel E. Antibacterial activity of an atmospheric pressure plasma jet against relevant wound pathogens in vitro on a simulated wound environment. *Plasma Process Polym*, 2010, 7: 224–230
- 100 Babaeva N Y, Kushner M J. Intracellular electric fields produced by dielectric barrier discharge treatment of skin. *J Phys D: Appl Phys*, 2010, 43: 185206
- 101 Haddow D B, MacNeil S, Short R D. A cell therapy for chronic wounds based upon a plasma polymer delivery surface. *Plasma Process Polym*, 2006, 3: 419–430
- 102 Lianga H, Shia B, Fairchild A. Applications of plasma coatings in artificial joints: An overview. *Vacuum*, 2004, 73: 317–326
- 103 Gray J E, Norton P R, Griffiths K. Surface modification of a biomedical poly(ether)urethane by a remote air plasma. *Appl Surf Sci*, 2003, 217: 210–222
- 104 Griesser H J, Hartley P G, McArthur S L. Interfacial properties and protein resistance of nano-scale polysaccharide coatings. *Smart Mater Struct*, 2002, 11: 652–661
- 105 Raiser J, Zenker M. Argon plasma coagulation for open surgical and endoscopic applications: State of the art. *J Phys D: Appl Phys*, 2006, 39: 3520–3523
- 106 Baxter Helen C, Campbell G A, Richardson P R. Surgical instrument decontamination: Efficacy of introducing an argon: Oxygen RF gas-plasma cleaning step as part of the cleaning cycle for stainless steel instruments. *IEEE Trans Plasma Sci*, 2006, 34: 1337–1344