

# PlasmaBio Map プラズマバイオの現状と課題

## 概略

プラズマとは物質が陽イオンと電子に電離した状態であり、固体・液体・気体に続く第4の物質の状態です。プラズマには、電子・陽イオンの両方が高温である高温プラズマと、電子のみが高温である低温プラズマがあります。

高温プラズマは、溶接・切断などに利用されているほか、核融合発電を目指した高温プラズマの研究が、日本をはじめ世界中で進められています。

一方、低温プラズマは、気体に外部電場や磁場を与えることにより生成されます。気体粒子や陽イオンはほぼ常温ですが、電子は大きなエネルギーを持ち高い反応性を有しています。低温プラズマはVLSI(超大規模集積回路)のナノ加工等で広く用いられています。

これまでに低温プラズマを動植物に照射する試みが様々な分野で行われてきました。殺菌・滅菌、動物・植物の成長促進、食用作物の高品質化、創傷の治癒促進、がん細胞の細胞死誘導など興味ある現象が報告され、実用化が期待されています。

## 現在の課題と未来

生物は数十億年の進化の過程で、過度に活性の高い分子を処理する能力を獲得してきました。低温プラズマはそのような状況を作る刺激方法とも考えられ、今まで隠されていた生物の危機処理・環境適応能力を見つけ出すことができるかもしれません。このマップに示されているように、プラズマバイオ研究では数多くの興味深い、また実用化の可能性のある現象が発見されています。しかし実験の再現が困難であったり分子レベルでの現象が未解明であるなど、今後取り組むべき課題も多くあります。この課題の解決のためには、プラズマ基礎科学と生命科学をはじめとする異分野連携研究が不可欠です。名古屋大学・九州大学・東北大学・自然科学研究機構で構成しているプラズマバイオコンソーシアムでは、全国の大学の研究者とともに異分野連携研究を積極的に進められています。そうすることで、未来の新しい医療、食糧難の解決などSDGsの達成に貢献できると期待されます。



文部科学省 新学術領域「プラズマ医療科学の創成」(代表 堀 勝)の研究成果をまとめた英文論文集 "Plasma Medical Science" (Academic Press発行) が2018年7月に出版されました。

## 5 プラズマ医療 Medicine

大気圧下で生体に照射可能なほど低温なプラズマを生成する技術が発展すると、まずは医療器具の滅菌などの応用が検討され実用化されてきました。その後、人体へ直接低温プラズマを照射するアプローチが報告されるようになり、火傷の治療、止血、創傷治癒などにおいて低温プラズマによる画期的な治療効果が報告されるようになりました。歯科治療や美容などへの低温プラズマの応用も検討されています。更には低温プラズマによるがん治療への応用研究が行われるようになり、プラズマに照射した溶液による抗腫瘍効果や低温プラズマによる免疫原性細胞死の誘導などが報告されるようになりました。ドイツや米国などでは低温プラズマによる医療応用のための臨床試験も次々と進められています。今後、低温プラズマの臨床応用に向けて作用機序の解明や安全性・有効性の検討が必要です。

### PAMIによる腹腔腫瘍がんの治療

卵巣癌腹腔腫瘍のマウスモデルをES2細胞を用いて作成し、PAMの治療効果を検討した。PAM腹腔内投与により、腫瘍形成は抑制され、マウスの生存期間が顕著に延長した。PAMIは、転移に関与するMMP-9を減少させ、JNK1/2およびp38 MAPKを阻害する。

(Nakamura et al. Sci Rep. 2017)

### 低温プラズマは免疫系を活性化し細胞死を誘導する

低温プラズマは免疫系を活性化することによりがんを殺傷する可能性が示された。

(Mizuno et al. J. Phys. D: Appl. Phys., 2017)

### PAMとPALは異なる機序で細胞死を起こす

プラズマを照射した培地(PAM)および乳酸リンゲル液(PAL)は、異なる機序で培養グリオーマ細胞を細胞死に導く。PAMは酸化的ストレスによる細胞死を起こすのに対して、PALは生存・増殖のシグナルの低下を抑える。

(Tanaka et al. Sci Rep. 2019)

### プラズマによる止血で組織の障害・炎症を軽減

マウスの肝臓を切開し、熱焼灼(TO)または低温プラズマ照射(NTP)により止血した。組織変化を術後5日、15日で検討した結果、熱焼灼に比較してプラズマ照射は、ネクロシス部分が小さくまた炎症細胞の集積を軽減であった。

(Ueda et al. Plasma Process Polym. 2015)

### PAMIはがん細胞選択的に細胞死を誘導する

プラズマ照射培養液(Plasma-activated medium)は、アストロサイト正常細胞にはほとんど影響を与えず、グリオーマ脳腫瘍培養細胞を選択的にcaspase依存的に障害する。

(Tanaka et al. Plasma Med. 2013)

### プラズマで組織の熱損傷なしに止血

手術時の止血には電気焼灼が用いられるが、熱による組織損傷を伴う。プラズマ照射により、熱損傷なしに血液を凝固させることができる。凝血中には、赤血球はなく好酸性的に染まる膜構造が観察される。

(Ishihara et al. J Photopolym Sci Technol. 2013)

### 低温プラズマによる創傷治癒

ドイツで行われた感染慢性創傷の臨床試験により低温プラズマの有効性と忍容性が示された。

(Heinlin et al., J. German Soc. Dermatol., Sci., 2010)

### 低温プラズマ治療によるがん治療

ドイツで頭頸部がん患者に対して低温プラズマ治療が行われた。

(Metelmann et al. Int. Clin. Plas. Med., 2017)

## 1 プラズマ発生装置 Physics/Engineering

プラズマを発生させる装置は、形状や印加する電圧により分類されます。大気圧下のプラズマは容易に熱プラズマに進展します。これを防ぎ、生体へのプラズマ照射を実現するため様々な方法でプラズマの低温化がはかられます。プラズマバイオ応用研究で一般的に用いられているジェット型誘電体バリア放電では、誘電体表面の帯電による電流制限により低温化をはかっています。その他、コロナ放電では針電極近傍の電界形状(不平等電界という)、ホローカソード放電では陰極に現れるグロー放電、マイクロ波放電では高周波電場に捕捉された電子の運動、グライディングアーク放電ではガス流を活用しています。

### 誘電体を用いた大気圧グロー放電の安定生成

大気圧放電における課題であった熱化抑制については、誘電体挿入、印加電圧の高周波数、電極形状などの観点から検討し、数センチ離れた電極間で安定したグロー放電の生成に成功した。大気圧低温プラズマの幕開けである記念論議。

(Kanazawa et al. J. Phys. D: Appl. Phys., 1988)

### ジェット型誘電体バリア放電

誘電体の帯電で電流を制限する放電方式。液面への接触/非接触は液中の活性種生成に影響する。

(Teschke et al. IEEE Trans Plasma Sci. 2005, Uchida et al. J. Appl. Phys. 2016)

### マイクロ波放電

マイクロ波放電では電子の電界による振動振幅が十分に小さいため放電領域内に捕捉される。ドイツでは皮膚病などの治療装置として開発されている。

(Shimizu et al. Plasma Process Polym. 2008)

### コロナ放電

不平等電界(局所的な高電界領域が存在する電界)により放電空間的に制限する放電方式。概観から名称が分かれる。概観から名称が分かれる。概観から名称が分かれる。概観から名称が分かれる。

(Chang et al. IEEE Trans Plasma Sci. 1991)

### グライディングアーク放電

比較的低電圧で高密度プラズマを生成可能。他の放電方式に比べ投入電力範囲が数十Wから数千Wと広い。対向電極間で生成したアーク放電がガス流により下流へと輸送されて、低温化する。

(Moreau et al. Appl Environ Microbiol. 2007)

### ホローカソード放電

発光を伴う定常放電であるグロー放電を大気圧下で維持する方法のひとつ。2つの陰極に現れるグロー放電を合体させることで、放電維持電圧低下、電流密度増加、高エネルギー電子増加などのホローカソード効果が生じる。

(Yokoyama et al. J Phys D: Appl Phys. 2005)

## 4 プラズマと植物 Agriculture

プラズマと植物の関係は、古代農耕文化にまで遡ることができます。雷の多い年は豊作であるという言い伝えがありますが、雷は自然界のプラズマの典型例であり、人類はプラズマが植物生理に影響を与えることを古代からおぼろげながら認識していたのかもしれません。

プラズマを植物栽培に応用する検討が行われる中で、植物に対するプラズマの作用を学術として捉える契機となったのは、高電圧パルスパワーによるキノコの増殖を見出したことです。その後種子へのプラズマ照射による発芽から収穫までの生育特性改善や、育成中の植物へのプラズマ活性による病原菌殺菌、プラズマ活性投与による生育特性改善などの様々な植物へのプラズマ照射効果が次々に報告されています。加えて畜産、農水産への応用展開についても検討されています。

近年、植物へのプラズマ照射効果の分子機序を解明しようとする動きも活発になっており、学術研究の発展が期待されています。

### 種子へのプラズマ照射による収穫量改善

シロイヌナズナの種子にプラズマ照射することにより収穫量が改善されることが発見された。

(Koga et al. APEX. 2016)

### イネへのプラズマ照射による成長・収穫・品質改善

圃場栽培中のイネへの直接または間接プラズマ照射において、適切な照射量により、成長促進・収穫量増加とともにコメの品質向上を示すことを明らかにした。

(Hashizume et al. Plasma Proc. Poly. 2020)

### 高電圧パルスパワーを用いたキノコの増産

原木栽培シイタケに高電圧パルスパワー刺激を与えることによりシイタケの増産に成功。

(Takaki et al. IJPEST. 2010)

### 種子へのプラズマ照射による微生物組成変動

ヒマワリ種子へのプラズマ照射は、植物関連微生物の組成変動を示し、根や側方器官の成長を促進することを明らかにした。

(Tamosiune et al. Frontiers in Plant Sci. 2020)

## 2 プラズマの化学 Chemistry

プラズマ中には電子、イオン、ラジカル、光などが存在しますが、大気中の酸素、窒素、水蒸気などと反応して、酸素ラジカル、窒素ラジカル、ヒドロキシルラジカルなどの短寿命ラジカルを生成します。更に溶液中では過酸化水素、亜硝酸イオン、硝酸イオンなどの比較的長寿命な反応生成物を生じることや溶質と反応して新たな化学物質を生成することが知られております。

これらの反応生成物は更に細胞表面の脂質やタンパク質と反応したり、細胞内シグナル伝達等を通して遺伝子発現や代謝にも影響を与え、遺伝子情報を担うDNA、RNAなどの核酸にも影響を与えたと考えられております。細胞内では低温プラズマは酸化ストレスを誘導すると考えられていますが、その他の細胞内化学反応も誘導しており、低温プラズマによる細胞応答の分子機序にはまだ多くの謎が隠されています。

### プラズマと気液界面相互作用

大気圧プラズマは空気中の酸素、窒素、水蒸気などと反応して、液相中に過酸化水素、亜硝酸イオン、硝酸イオンなどを生成する。

(Bruggeman et al. PSST. 2016)

### プラズマ照射蒸留水の殺菌作用を担う分子

プラズマ照射蒸留水は、強力な抗菌殺菌作用を有する。プラズマ照射により生じたペルオキシ硝酸(peroxynitric acid: 過硝酸)は、分解してO<sub>2</sub><sup>-</sup>(スーパーオキシドアニオン)を出し、さらにプロトンと反応して短寿命で殺菌力の高いHO<sup>+</sup>O(ヒドロペルオキシラジカル)を生成する。ペルオキシ硝酸を合成して殺菌に用いる技術が実用化に向けて開発されている。

(Ikawa et al. J Phys D Appl Phys. 2016; 国際特許 WO 2016/035342)

### プラズマ照射は細菌のDNAにダメージを与える

プラズマ照射は、直接的・間接的のいずれの場合でも、細菌の膜透過性が増し、照射時間依存的にDNAにダメージを与える。感受性は最近により異なる。プラズマ照射は滅菌・殺菌に有効な手段である。

(Lu et al. J Appl Microbiol. 2013)

## 3 プラズマの生物学 Biology

低温プラズマが細胞・組織・生体を与える多様な影響が報告されております。まずは低温プラズマの過剰な照射により細胞障害や細胞死が引き起こされることが分かってきました。細胞死の種類としてもこれまでにアポトーシス、ネクローシス、オートファジーなど様々な細胞死を誘導することが報告されています。更には適度なプラズマ照射によつては成長促進作用が見られる場合があることも分かってきました。がん治療研究においては培養細胞を使った実験で、正常細胞に対してがん細胞への選択的な細胞死が報告され、細胞種によってプラズマに対する感受性が異なることも明らかになってきました。

一方で、低温プラズマにより選択的な細胞死を誘導する細胞内分子機序や低温プラズマによる成長促進のメカニズムなどまだ分かっていないことも多く、今後、細胞レベル、組織レベル、個体レベルでの機構解明が必要と考えられます。

### 低温プラズマと酸化ストレス

酸素O<sub>2</sub>が4つの還元反応を経て水となる過程で、特に酸化力が強く反応性が高いOH(ヒドロキシラジカル)が鉄の触媒作用で生成される。生体内では、通常、酵素的にOHの生成を抑えているが、プラズマ照射によりOHが発生することができる。

(Toyokuni. Pathol Int. 2016)

### 培養細胞への低温プラズマの照射

Stoffelsらは、プラズマニードルと呼ばれる低温プラズマ発生装置を製作し、培養細胞にプラズマ照射を行い、細胞がディッシュから剥がれるさまを観察した。

(Stoffels et al., J. Phys. D: Appl. Phys. 2003)

### 過酸化水素と亜硝酸イオンの相乗効果

Bauerらは、過酸化水素と亜硝酸イオンの相乗効果による抗腫瘍効果について1重項酸素によるカタラーゼの機能阻害効果の可能性に注目した理論を展開した。

(Bauer et al. Redox Biology. 2019)

### 低温プラズマによる遺伝子導入

非侵襲かつ高効率に細胞に遺伝子導入する方法が開発された。

(Jinnô et al., JPST. 2014)

### 低温プラズマによる細胞膜輸送促進

細胞への低侵襲かつ高効率な遺伝子導入に重要な役割を果たす細胞膜輸送が、プラズマ照射溶液中の短寿命活性種によって促進される。

(Sasaki, Kanzaki, and Kaneko. Sci. Rep. 2016)

