

強電界パルスの生体インパクト Primary Impact of Intense Electrical Pulses on Biological Target

勝木 淳
Sunao Katsuki

熊本大学パルスパワー科学研究所
Institute of Pulsed Power Science, Kumamoto University

1. はじめに

生体を強い電界にさらすとジュール加熱や誘電損によって温度が上昇するが、電界をパルス化して作用時間を極めて短くすると、温度はほとんど上昇せず非熱的作用が顕著になる。この強電界の非熱的作用をがん治療などの医療¹⁾や農漁業・食品加工²⁾に利用する試みが日米欧で盛んに進められており、この分野を総じてバイオエレクトリクスと呼ぶ³⁾。物理刺激を用いて生体にある種の制御をしようとする場合、二つの過程を考えなければならない(図1)。外部からの刺激は、生体に対して何らかの環境の変化、場合によっては生体の機能や構造の変化をもたらす。その結果として、ホメオスタシス(生体恒常性維持機構)によって生存または死につながる様々な生化学反応が連鎖的に惹起される。前者は一次(直接的)作用、後者は二次的(間接的)作用として区別される。パルスを印加する短い時間では、生化学反応はほとんど進まないのので生体を物理対象としてみなすことができる。すなわち、電界の一次作用は、主として生体を構成する多様な誘電物質に対する静電・誘電現象である。一方、二次生体応答は、ストレス応答⁴⁾、プログラム細胞死^{5,6)}、タンパク質合成の停止⁵⁾、活性酸素種発生¹⁾、増殖活性化⁷⁾など、多様な生体現象として現れる。本節では、生体インパクトとしての強電界パルスの非熱的な一次作用について概説する。

2. 細胞は誘電物質の集合体

生体の最小単位である細胞は、生体膜、ミトコンドリアや小胞体などのオルガネラ、核酸やタンパク質、アミノ酸などの低分子、およびこれらの媒質として様々なイオンが含まれる細胞内外の基質から成る。これらはすべて誘電体であり、細胞はいわば誘電体の集合体とみなされる。各部はそれぞれに固有の誘電的性質(誘電緩和)を有するので、立上り時間やパルス幅などの波形の違いによって、電界の作用部位が異なり、結果的に個体としての細胞へのストレスが変わることになる。電界の一次作用は、大別すると生体膜の充電・分極、イオン流動および生体分子へのストレスの三つである。

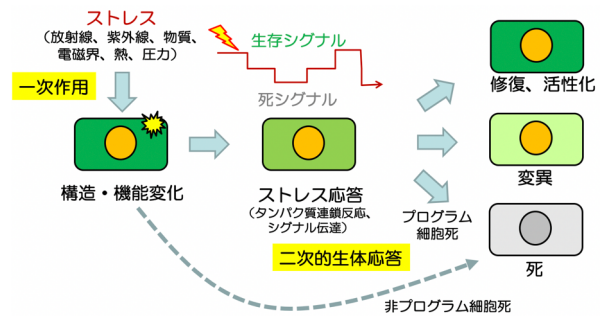


図1 外部刺激（ストレス）の生体作用

外部刺激の生体作用は、直接的（物理的）に作用し、生体の構造、機能や環境の変化をもたらす一次作用と、その後ゆっくり進む生理現象としての二次的生体応答に分けられる。

3. 生体膜への作用

細胞構成要素のうち厚さ5～8 nmのリン脂質が二重に配列した生体膜の電氣的・誘電的性質は極めて特異的であり、パルスに対しては誘電体膜とみなしてよい。この細胞膜の電位差が1 V(電界強度約1.5 MV/cmに相当)を超えると、電子的破壊または応力によって細胞膜の完全性が損なわれる⁷⁾。さらに、膜タンパク質の機能にも影響すると考えられ、通常自律的に制御されている細胞内外のイオンバランスを崩壊させる。誘電膜である生体膜のインピーダンスは外部電界の周波数に反比例する。100 kHz程度以下では外部電流は細胞膜で遮断され、細胞内にはほとんど入らない。この時、細胞膜の電界は外部電界の1000倍に達する。周波数を大きくすると、膜のインピーダンスが減少して細胞内に電流が流れこむようになり、10 MHz程度以上では細胞内電界は細胞外と同程度になる^{3,9)}。電界の波形として単極性パルスを用いる場合もパルス幅を周波数の逆数として考えると上と同様の議論となる。

4. 細胞内イオン流動（特にCaイオン）

Caイオンはセカンドメッセンジャーと呼ばれ、様々な生体反応のトリガー因子としての役割がある。そのため、細胞内の濃度は細胞外の

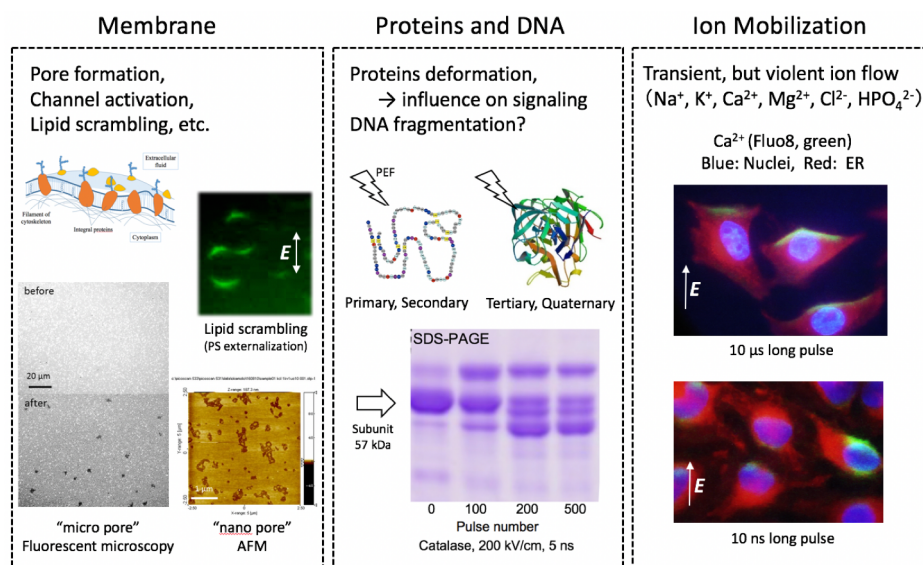


図 2. 強電界パルスの生体一次（物理）作用

電界集中によって膜および膜タンパク質は 1 MV/cm を越える超強電界にさらされ、構造や機能の変化をもたらす。強電界はタンパク質の 3 次・4 次構造に影響する。電界によって駆動されるイオン流動は細胞内におけるイオンの局在化をもたらす。これらの一次作用は周波数などのパルスパラメータに依存する。

1 万分の 1 と低く抑えられており、わずかな濃度変化が様々な生体反応を惹起する。PEF を印加した動物細胞に見られる前出の生体二次応答の上流では Ca イオン濃度の過度な上昇が生じていることが多い¹⁰⁾。筆者らは、高速蛍光顕微鏡を用いてパルス印加直後の細胞内の Ca や Na イオンの挙動を観測し、そのダイナミクスを明らかにしている。

5. タンパク質への影響

10 ns 程度以下のパルス幅（帯域 10 MHz 程度以上）の強電界パルスは細胞内に強電界を生じ、細胞内オルガネラや核酸、タンパク質などの生体高分子への直接的な物理ストレスとなりうる。多くのタンパク質は、アミノ基、カルボキシル基と水分子の相互作用によって正または負の電荷を帯びる。こうした分子が急峻に立ち上がる強電界にさらされると分子全体にはたらく静電気力のほか、分子内の三次・四次構造にもストレスが生じ、分子の構造や機能に影響する。筆者らは、リゾチームやカタラーゼなどの構造的に特徴のある数種のタンパク質に強電界パルスを印加し、その影響の解析を SDS-PAGE 法を用いて進めている。その結果、 50 kV/cm 程度以上の強電界パルスは多量体などある種のタンパク質の三次・四次構造に影響をあたえることが明らかとなっている。このことは、細胞内の生理反応に刺激を与えることとなり、その後の細胞応答の変化につながる可能性がある。

6. おわりに

マイクロ秒、ナノ秒、サブナノ秒の強電界パルス（PEF）を適切に用いることによって、細胞膜ストレス、細胞内イオン流動、膜タンパクの刺激、細胞内タンパク質へのストレスなど、多様な物理インパクトを付与可能であることを示した。本節では、動物細胞に対する事例を述べたが、植物、微生物など対象は違っても共通する作用や生体応答は多く、バイオ、医療、食品、農業、漁業、環境など、生物が関わるあらゆる分野での利用が期待される。

参考文献

- 1) R. Nuccitelli, K. Lui, M. Kreis, B. Athos, P. Nuccitelli, Biochem. Biophys. Res. Comm. Vol. 435, pp.580-586 (2013)
- 2) 高木浩一, “高電圧・プラズマ技術の農業・食品分野への応用”, 伝熱 Vol. 51, No.216, pp.64-69 (2014)
- 3) 勝木淳, 矢野正彦, 光武和典, 諸富桂子, 安部恵祐, 矢野憲一, 秋山秀典, プラズマ・核融合学会, Vol. 87, No. 10, pp.710-716 (2011)
- 4) K. Morotomi-Yano, Y. Uemura, S. Katsuki, H. Akiyama, K-I. Yano, Biochem. Biophys. Res. Comm. Vol. 408, pp.471-476 (2011)
- 5) K. Morotomi-Yano, H. Akiyama, K-I. Yano, Arc. Biochem. Biophys. Vol. 555, pp. 47-54 (2014)
- 6) S. Katsuki, K. Mitsutake, M. Yano, H. Akiyama, H. Kai, T. Shuto, IEEE Trans. Dielectr. Electr. Insulat., Vol. 17, No. 3, pp.678-685 (2010)
- 7) M. Yano, K. Abe, H. Akiyama, S. Katsuki, IEEE Trans. Dielectr. Electr. Insulat. Vol. 19, No. 1, pp.331-338 (2012)
- 8) C.A. Jordan, E. Neumann, A.E. Sowers, Eds., “Electroporation and Electrofusion in Cell Biology”, Springer, 1989, pp.59-164
- 9) N. Nomura, M. Yano, S. Katsuki, H. Akiyama, K. Abe, S.1 Abe, IEEE Trans. Dielectr. Electr. Insulat. Vol. 16, No. 5, pp.1288-1294 (2009)
- 10) I. Semenov, S. Xiao, O-N. Pakhomova, A-G. Pakhomov, Cell Calcium, Vol. 54, pp.145-150 (2013)