S5-3 生体組織と構成分子の荷電(帯電)をプラズマ技術で制御する
Controlling the electrical charge of biological tissue and biomolecules by plasma

池原　譲[1) 2)]、榊田　創[1)]、池原早苗[2)]、馬場恒明[3)]、堀　勝[4)]
Yuzuru Ikehara, Hajime Sakakita, Sanae Ikehara, Koumei Baba, Masaru Hori

1)産業技術総合研究所、2)千葉大学、3)DLC研究所、4)名古屋大学
1) AIST, 2) Chiba Univ., 3) DLC Res. Inst., LLC, 4) Nagoya Univ.

本　文

「ヒトの体重の 60%は水分である」と表現されるように、生体分子は程度の差こそあれ、何らかの形で水溶する。水溶した生体分子は、会合してヒトのカラダを構成する組織や器官（実質）を構成するほか、血液を介して離れたところに存在する分子とも会合する。このような生体分子の会合は荷電を介して生じる。つまり、生理的応答と病的状態は、荷電を介する生体分子の会合へ介入することで、調節可能であるといえる。

我々はこの仮説に基づき、プラズマ処理によって生体分子の荷電状態を変化させることを目標として、**1）血液を凝固させる**ことのできるプラズマ処理を確立してきた[1, 2]。さらに、**2)プラズマからの電荷供給とタンパク質凝集**を研究したことで[3]、プラズマは液体中に分散したタンパク質へ作用して静電斥力を打ち消してタンパク質の凝集を生じさせること、そして凝集の成長によりタンパク質膜へと至るプロセスを発見している[4]。その後、これを基本原理とするプラズマを使用した低侵襲止血装置の開発が進み、実用化に向けた試作品が作られて評価が進められた[5, 6]。さらに、国際規格が作成されたことにより[7]、プラズマ止血の社会実装の扉は開かれたと考えている。一方で、プラズマからの電荷供給技術について、生体組織の荷電を変化させるために用いるとの発想のもとで、**3)病理診断技術への展開**を進めてきた。シンポジウムではこれら３つのトピックについて紹介する。

1）血液を凝固させる止血の意味すること

プラズマ処理では、プラズマより供給される荷電によって、凝固膜形成から血管破綻部の被覆が生じて、出血が止まる[6, 7]。対して高周波凝固処置である電気メスやレーザーは、血管破綻部を含む周囲組織を焼灼して水分を蒸発させ、組織の収縮により血管の開口部を狭くすることで、血液の漏出を止めるというものである[7]。このため処置による熱傷発生が避けられないだけでなく、熱の放散を制御することが難しく、視野に露出されてない血管や神経・リンパ管を損傷することが起こりうる。熱傷をうけた組織や血管は障害され、腸閉塞や神経機能障害、リンパ管浮腫、術後に突然の大出血をするなどの原因になることがある。ゆえに、プラズマ処置により血液を凝固させる止血は、これまでに指摘されてきた術後障害の発生を解決できる技術であるといえる。

2)プラズマからの電荷供給とタンパク質凝集

プラズマ供与では、塩の投入や pH 変化を行わなくても、タンパク質凝集を惹起する。この意味することは、タンパク質がポリマーやナノチューブのように、構造材として加工製造に利用可能となることである。私の研究テーマは、癌関連糖鎖抗原を合成する糖転移酵素遺伝子の発見に始まり、糖鎖機能を利用したドラッグデリバリー技術、糖鎖バイオマーカーの開発へと進んできた。プラズマ技術への期待は、糖鎖修飾の担う生物機能への介入である。具体的には、荷電秩序の崩れた病的組織へのプラズマ処理でその修復を行い、病的状態が解消されるかどうかを見極めていきたいと考えている。

3)病理技術への展開

病理組織診断は通常、ホルマリン固定・パラフィン包埋（FFPE)薄切標本を対象に、スライドガラス上で染色して実施する。しかしながら走査電子顕微鏡(SEM)観察はこの工程に対応していないため、SEM 解析を通じて、診療上必要な情報を取

得することは困難である。しかも、炭素材料の二次電子放出係数は小さいため、炭素を主成分とする生体組織の SEM 観察では、二次電子散乱の検出画像化が困難であることから、透過電顕(TEM)で観察するレベルの解像度での観察も難しい。以上の問題を解決すべく、我々は材料の表面改質に用いられてきたプラズマ技術を活用・深化させて、スライドガラス上の FFPE 薄切標本の加工技術を実現した[8 9 10]。この手法を SARS-CoV2 感染患者の病理解剖組織標本の解析に用いて、二次電子信号の検出・画像化を行い、重症化につながる組織障害の発生とSARS-CoV2粒子の広がりの関係を明らかにしている[11]。結果、抗体をプローブに用いた SEM での元素イメージングや、集束イオンビーム(FIB)での切削(面だし加工)後観察も可能になった。

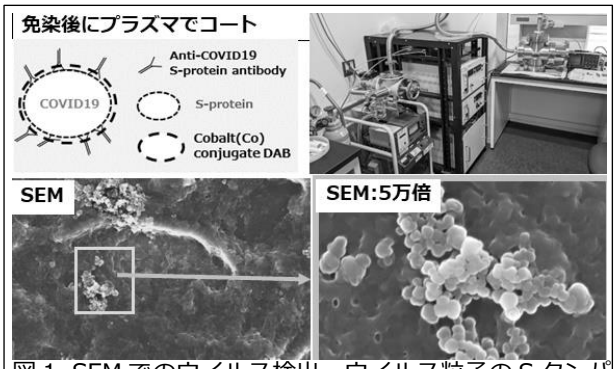

図 1. SEM でのウイルス検出。ウイルス粒子の S タンパクに対する抗体とコバルト標識 DAB を使用。上段左)原理、上段右)プラズマ装置。下段左)と下段右)は、免疫染色したスライドガラスのＳEM 観察で左)は 5 千倍、下段右)は 5 万倍。

謝辞 本研究は、文科省科研費・新学術領域研究「プラズマ医療科学の創成」における研究課題(総括研究：24108001、計画研究：24108006)と、医療分野研究成果展開事業（先端計測分析技術・機器開発プログラム）平成 31 年度採択(JP19hm0102069h001)、AMED-CREST(No. JP20gm1210003)、JST ムーンショット型研究開発事業 (No. JPMJMS2025)の支援を受けた。

References

[1] Sakakita H, Ikehara Y, Kiyama S: WO2012/005132 2012.
[2] Ikehara Y, Sakakita H, Shimizu N, Ikehara S, Nakanishi H: Formation of membrane-like structures in clotted blood by mild plasma treatment during hemostasis. J Photopolym Sci Tehnol 2013, 26(4):555-7.
[3] Miyamoto K, Ikehara Y: A measurement method for determining the correlation between the amount of haemolysis and the electric current in low-temperature plasma treatment. Plasma Processes and Polymers 2019, 16:1800142.
[4] Ikehara S, Sakakita H, Ishikawa K, Akimoto Y, Yamaguchi T, Yamagishi M, Kim J, Ueda M, Ikeda J-i, Nakanishi H, Shimizu N, Hori M, Ikehara Y: Plasma Blood Coagulation Without Involving the Activation of Platelets and Coagulation Factors. Plasma Processes and Polymers 2015, 12:1348-53.
[5] Sakakita H, Yamada H, Shimizu T, Fujiwara M, Kato S, Kim J, Ikehara S, Shimizu N, Ikehara Y: Effects of electric charges on serum protein aggregation induced by a low temperature atmospheric pressure plasma. Journal of Physics D: Applied Physics 2021, 54:215201.
[6] Shimizu T, Ikehara. Y: Benefits of applying low-temperature plasma treatment to wound care and hemostasis from the viewpoints of physics and pathology. Journal of Physics D: Applied Physics 2017, 50 (50):503001.
[7] Sakakita H, Shimizu T, Ikehara Y: Reviews of low-temperature atmospheric pressure plasma for studying hemostasis and international standardization. Japanese Journal of Applied Physics 2021, 60:020502.
[8] Wakai K, Azuma K, Iwamura C, Maimaiti M, Mikami K, Yoneda K, Sakamoto S, Ikehara S, Yamaguchi T, Hirahara K, Ichikawa T, Nakayama T, Ikehara Y: The new preparation method for paraffin-embedded samples applying scanning electron microscopy revealed characteristic features in asthma-induced mice. Sci Rep 2022, 12:9046.
[9] Ogata H, Akita S, Ikehara S, Azuma K, Yamaguchi T, Maimaiti M, Maezawa Y, Kubota Y, Yokote K, Mitsukawa N, Ikehara Y: Calcification in Werner syndrome associated with lymphatic vessels aging. Aging (Albany NY) 2021, 13:25717-28.
[10] Okano M, Hirahara K, Kiuchi M, Onoue M, Iwamura C, Kokubo K, Hishiya T, Morimoto Y, Ikehara Y, Murakami A, Ebihara N, Nakayama T: Interleukin-33-activated neuropeptide CGRP-producing memory Th2 cells cooperate with somatosensory neurons to induce conjunctival itch. Immunity 2022.
[11] Iwamura C, Hirahara K, Kiuchi M, Ikehara S, Azuma K, Shimada T, Kuriyama S, Ohki S, Yamamoto E, Inaba Y, Shiko Y, Aoki A, Kokubo K, Hirasawa R, Hishiya T, Tsuji K, Nagaoka T, Ishikawa S, Kojima A, Mito H, Hase R, Kasahara Y, Kuriyama N, Tsukamoto T, Nakamura S, Urushibara T, Kaneda S, Sakao S, Tobiume M, Suzuki Y, Tsujiwaki M, Kubo T, Hasegawa T, Nakase H, Nishida O, Takahashi K, Baba K, Iizumi Y, Okazaki T, Kimura MY, Yoshino I, Igari H, Nakajima H, Suzuki T, Hanaoka H, Nakada TA, Ikehara Y, Yokote K, Nakayama T: Elevated Myl9 reflects the Myl9-containing microthrombi in SARS-CoV-2-induced lung exudative vasculitis and predicts COVID-19 severity. Proc Natl Acad Sci U S A 2022, 119:e2203437119.