

プラズマ照射緩衝液中で活性化されるラジカル連鎖反応の解明
**Investigation on Radical Chain Reaction Activated
 in Plasma-exposed Organic Buffer**

佐々木 渉太¹, 鄭 悦星¹, 本田 竜介¹, 高島 圭介¹, 神崎 展², 金子 俊郎¹
 Shota Sasaki¹, Yuexing Zheng¹, Ryosuke Honda¹, Keisuke Takashima¹,
 Makoto Kanzaki², Toshiro Kaneko¹

¹東北大院工, ²東北大院医工

¹ Grad. Sch. of Eng., Tohoku Univ., ² Grad. Sch. of Bio. Eng., Tohoku Univ.

近年、生体組織への直接照射が可能な非平衡大気圧プラズマの医療応用に関する研究が盛んに行われ、様々な治療効果が報告されている。数あるプラズマ医療応用の中に薬剤（遺伝子、抗がん剤）の細胞内導入がある。外来分子を細胞内に導入する技術は、iPS細胞作製等をはじめとして生物学分野で欠かせない基礎技術であるとともに、高効率薬剤送達（ドラッグデリバリーシステム：DDS）の根幹技術である。しかしながら、従来開発されてきた電気穿孔法やリポソーム法においては、細胞膜損傷や異物の残存によって高効率導入と高細胞生存率の両立が困難であった。筆者らはこれまで、非平衡大気圧プラズマを培養細胞に直接照射することで、高効率導入と高細胞生存率の両立が可能であること、空間選択的な分子導入が可能であることを実証してきた [1-3]。一方で、プラズマの作用は非常に複合的（衝撃波・電界・数十を超える活性種）であるが故に、作用機序の解明は困難を極めており、実用化に向けた大きな障害となっている。今回、プラズマ促進分子導入の機序解明に向けて、プラズマ照射生理食塩水中に生成する活性種反応系を調べたので報告する。

実験は、非平衡大気圧プラズマジェットを用いて行った。また、細胞はマウス線維芽細胞を用いた。ヘリウムを原料ガスとし、周波数 $f \approx 9$ kHz, 電圧 $V_{p-p} \approx 10$ kVの低周波電源を用いて放電させ、薬剤を模擬した蛍光物質であるYOYO-1（分子量：1270程度）をあらかじめ混合したHEPES緩衝生理食塩水（HBS; pH 7.4）に対してプラズマ照射を行い、細胞もしくは化学プローブに滴下する。この際、プラズマ照射から細胞（化学プローブ NiSPY-3）に滴下するまで、37°Cで置く時間を保持時間（ t_r ）と定義した。さらに、照射溶液滴下30分後のYOYO-1導入量（YOYO-1 Uptake）を計測した。

図1(a)に、ONOO⁻生成能の保持時間依存性を示す。ONOO⁻の半減期は、環境（濃度・温度・pH等）によっても大きく変わるが、生理的環境下（37°C, pH 7.4）でおよそ1.9秒程度とされている [3]。それに比べ、プラズマ照射HBSでは、1分以上保持した後もONOO⁻生成が検出された。このことは、ONOO⁻を持続生成する反応系が作り出されていることを示唆している。さらに、薬剤模擬分子YOYO-1の導入量も、保持時間の増加に伴い減少していくことが明らかとなった [図1(b)]。従って、ONOO⁻そのもの、もしくは副生成活性種が、薬剤導入促進の主要因子であることが示唆される。

講演では、様々な活性種計測に基づいて得られた、活性種反応系のモデルについて議論する。

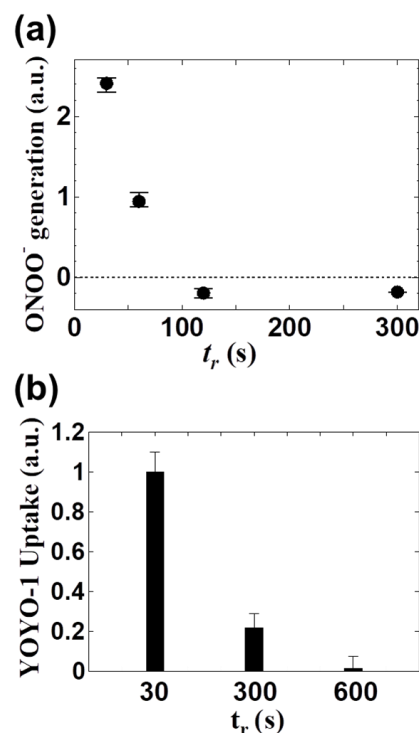


図 1. (a) ONOO⁻生成量と(b) YOYO-1 導入量の保持時間（ t_r ）依存性。

- [1] S. Sasaki, M. Kanzaki, and T. Kaneko, *Appl. Phys. Express* **7**, 026202 (2014).
 [2] S. Sasaki et al., *J. Phys. D: Appl. Phys.* **49**, 334002 (2016).
 [3] S. Sasaki et al., *Plasma Process. Polym.* **15**, e1700077 (2018).
 [4] J.S. Beckman et al., *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **87**, 1620 (1990).