

科学研究費助成事業（特別推進研究）公表用資料
〔令和3（2021）年度 中間評価用〕

令和元年度採択分
令和3年3月31日現在

プラズマ誘起生体活性物質による超バイオ機能の展開

Development of "super-bio-functions"
by plasma-activated biological substances

課題番号：19H05462

堀 勝（HORI Masaru）

名古屋大学・低温プラズマ科学研究センター・教授



研究の概要（4行以内）

プラズマによって誘起された生体活性物質の分子構造と物性を突き止め、該物質と生体との相互作用を解明することによって、がんの選択死滅、中枢神経細胞の増殖と分化や植物の驚異的成長促進などの超バイオ機能発現の本質を明らかにする。これらの知見を体系化することで、プラズマ生命科学を切り拓き、難病治療や食糧不足などを解決するイノベーションを産み出す。

研究分野：プラズマ応用科学

キーワード：プラズマ、低温大気圧プラズマ、プラズマ医療、プラズマ農業

1. 研究開始当初の背景

プラズマは、高速電子と気体分子の衝突による電離や解離から生成され、化学反応性に富んだ集団〔イオン、ラジカル、電子、光の集合体〕から成る。プラズマ技術は、材料の超微細加工など、大規模集積回路製造工程の70%以上で使われるなど、ほぼ全ての最先端産業を支える基幹科学技術である。真空中（減圧下）では、気体の温度が電子温度よりも極めて低い、「低温プラズマ」が生成される。一方、大気圧では、多数の粒子の衝突により、ガスの温度が5000以上まで加熱され「熱プラズマ」となる。しかし、この15年間で、室温程度の「低温大気圧プラズマ」が開発され、生物組織に直接プラズマ照射が可能になった。その結果、低温プラズマ照射によって、がん細胞の死滅や創傷治癒への有効性を示す画期的な成果が、2007年のプラズマ医療国際会議を皮切りに、世界中で報告され、プラズマ医療研究が急速に勃興した。

細胞および動植物実験により、我々は、プラズマを照射した生体液もしくは生体適用液（以降、活性液）が、多様ながんの高選択アポトーシス死滅、再生が不可能であった中枢神経細胞の増殖と分化、及び植物の驚異的成長促進などの超バイオ現象を引き起こすことを見出し、プラズマバイオ領域を世界的に先導している。

また、プラズマ科学を医科学、分子生物学へ展開して、プラズマによる活性液が生体系（遺伝子、代謝、免疫、シグナル伝達）に与える影響について組織的に解析してきたが、

その核心となる活性物質の特定や超バイオ現象の機構の解明には至っていない。

2. 研究の目的

本研究では、プラズマによって誘起された物質と生体との相互作用を解明することによって、生体活性物質の分子構造と物性を突き止め、超バイオ機能発現の本質を明らかにする。また、活性物質による細胞死、増殖、分化などの真核生物に普遍的な現象の分子機構を解明する。その成果を基盤にして、プラズマ医療、農業という未来産業を拓く羅針盤となる、学術基盤『プラズマ生命科学』を切り拓き、地球規模の課題である、難病治療や食糧不足などを解決するイノベーションを産み出す。

3. 研究の方法

本研究では、プラズマと生体液もしくは生体適用液との相互作用から生じる活性物質の分子構造やその物性の解明に焦点を絞り込む。生体活性物質と動植物細胞との相互反応によって生じる選択死滅と再生・増殖現象に対して、活性物質と生体との分子反応（シグナル伝達、遺伝子発現、代謝、免疫、ホルモン）を細胞レベルで網羅的・統一的に解明する。動物（マウス、ラット）・植物系（シロイヌナズナ、イチゴ、イネ）で、そのトランスクリプトーム（網羅的遺伝子発現）やメタボローム解析により、その死滅、再生、成長の機構、活性物質に対する生物応答の本質を解明し、その分子機構を体系化する。

研究は、主として、連携研究によって、生物普遍的な分子機構の解明に研究を深化させ、基礎研究を強化した体制で研究を継続的に発展させている。特に、自然科学研究機構、名古屋大学、九州大学、東北大学との「プラズマバイオコンソーシアム」(2019年創設)の枠組みも活用して、名大プラズマ科学プラットフォームを共有して、名大生命農学研究科、名大医学研究科、名大附属病院先端医療・臨床研究支援センター、名大農場、名城大プラズマバイオ科学技術センターと理化学研究所分子イメージング科学研究センター及び九大プラズマナノ界面工学センターを有機的に連携することで、研究を推進している。

4. これまでの成果

1) 反応性ガスを精密に制御することが可能なプラズマ発生装置を開発し、同装置によって生成したプラズマ活性溶液を用い、卵巣癌細胞に対する死滅効果を検討した結果、反応性ガスの種類や混合比の違いにより、プラズマ活性溶液の抗腫瘍効果が異なることを明らかにした。また、その活性液を用いて腹膜播種モデルマウス実験を行い、腹腔内の洗浄によって、腹膜播種が抑制できることを示し、活性液によるウォッシングセラピーを提唱した。

2) プラズマ活性培養液(PAM)、プラズマ活性乳酸液(PAL)、プラズマ活性酢酸など、多様な活性溶液中の活性物質の分子構造を解析し、活性物質の特定を進めるとともに、PAMはGADD45シグナル伝達経路を介した酸化ストレス依存性のアポトーシスを引き起こすのに対し、PALは脳腫瘍培養細胞において酸化ストレス非依存性の細胞死を引き起こしており、特に代謝系に損傷を与えていることが判明した。その結果、活性液によって、細胞内での機構が異なることを明らかにした。

3) 臨床応用により近づけるためにPAL溶液を使用して、中皮細胞と悪性中皮腫細胞への効果を評価し、腫瘍細胞ではフェロトーシスを誘導することが明らかになった。

4) 環状構造を有するアミノ酸の一種であるL-フェニルアラニン(L-Phe)溶液に酸素ラジカル照射したラジカル活性化アミノ酸溶液を調製すると、大腸菌の殺菌効果だけでなく同時にカイワレダイコンを80%成長促進する効果を有することを明らかにしていた。プラズマ殺菌の報告例の殆どが酸性領域での検討であり、中性領域においてこのような選択的な効果がみられたことは非常に意義深い。さらに、L-Pheに含まれるベンゼン環構造のほか、ピロール環やインドール環といった種々の環状構造に着目して研究を進めたところ、ピロール環構造が殺菌効果に特に重要であることを明らかにした。

5) 植物(イネ)に対して、PAL処理が、苗の生育のほか収穫量や収穫された玄米の品質に効果を示すことを見出した。

5. 今後の計画

完全密閉型で雰囲気ガスを厳密制御可能なプラズマ活性溶液作製装置を活用する。品質安定化したパッケージ活性液を用いて、網羅的に活性物質の特定を進め、研究者間の情報共有を密に取り、超バイオ機能が発現する活性液中の活性物質の生体作用を解析する。

動物系・生体機能の解明においては、活性液が誘引するがんの選択死滅について、遺伝子系、代謝系、シグナル伝達系に加えて、フェロトーシスによる細胞死について、学術的に解明し、新たなシグナル伝達として体系化する。

植物系・生体機能の解明においては、植物生理学の見地から、各種ホルモン(サイトカイン、オーキシンなど)と活性物質の環境ストレス作用として、統一的に細胞間コミュニケーションに着目した植物生理や生化学的な網羅的、遺伝系統的な研究を進める。

得られた結果を総括することで、プラズマ活性液が誘起する超バイオ現象を解明し、その現象をデザインし、制御するための活性液とプラズマとの相互作用を系統的に説明できる学理として、『プラズマ生命科学』を創成する。

6. これまでの発表論文等(受賞等も含む) 発表論文

[1] Nakamura, Toyokuni, Hori, Kikkawa, Kajiyama, et al., "Preclinical Verification of the Efficacy and Safety of Aqueous Plasma for Ovarian Cancer Therapy" *Cancers*, 13, 1141/1-15 (2021).

[2] Hashizume, Sakakibara, Hori, et al., "Improvement of yield and grain quality by periodic cold plasma treatment with rice plants in a paddy field", *Plasma Process Polym*, e2000181/1-10 (2020).

[3] Tanaka, Toyokuni, Kajiyama, Kikkawa, Hori et al., "Oxidative stress-dependent and -independent death of glioblastoma cells induced by non-thermal plasma-exposed solutions", *Sci Rep*, 9 13657/1-12 (2019).

他 114 件

受賞

[1] 堀 勝、2020 AAPPS-DPP Plasma Innovation Prize.

[2] 堀 勝、K-T Rie Award 2019.

他 3 件

7. ホームページ等

<http://horilab.nuee.nagoya-u.ac.jp/>