

令和元年6月6日現在

機関番号：11301

研究種目：基盤研究(A) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16H02311

研究課題名(和文) プラズマ電荷刺激の生成輸送制御による細胞応答誘導機構

研究課題名(英文) Cell Responses Induction Mechanism by Control of Generation and Transport of Plasma Charge Stimuli

研究代表者

佐藤 岳彦 (SATO, TAKEHIKO)

東北大学・流体科学研究所・教授

研究者番号：10302225

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 34,400,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、電荷を生成輸送制御する装置の作製と電位計測システムの構築、等価回路を用いた電荷移動シミュレーションにより、水中の電荷輸送機構の解明を行い、電荷が形成する電位が水中を伝播する様子を明らかにした。また水中プラズマにより生成した帯電微細気泡が電界により50 m/s以上の速度で移動することを発見し、気泡帯電量の計測に成功した。さらに化学種の影響を除去した電荷のみの刺激を細胞に与える装置を開発し、電荷刺激により細胞の運動能が亢進することを明らかにした。細胞への電荷注入を目指した指向性マイクロジェット生成や負極性の微小ストリーマの進展機構も微小圧力可視化法を開発することで明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

研究成果の学術的意義は、プラズマ医療で利用されている化学刺激では考慮されていなかったプラズマ固有の電荷刺激のみを細胞に与える手法の開発により、細胞の運動能が亢進することを明らかにし、プラズマが有する細胞活性化機能を電荷が担っている可能性があることを示した点にある。社会的意義は、水中の電荷輸送現象の計測・解析手法の構築や輸送機構の解明、水中の帯電気泡の挙動の解明や指向性マイクロジェット形成法の開発により、次世代の革新的医療技術につながる電荷刺激を細胞に与える手法の提案をした。これにより、電荷と細胞の相互作用を体系的に解明する基礎を築いた。

研究成果の概要(英文)：The charge transport mechanism in water was clarified by constructing a measurement system of the electric potential and by analyzing an equivalent circuit model proposed in this study. Also, it was clarified that the micro bubbles generated by underwater plasma moved with the velocity of higher than 50 m/s by the electric field, and its electrical charge quantity of the bubbles was estimated. Furthermore, a device which gives only electrical charge stimuli without chemical stimuli to the cells was developed and it was clarified that the actin filaments in the cells were elongated by the charged stimuli. Also, we clarified the generation mechanism of the directional microjet aiming at injecting charges to the inside of the cells and propagation mechanism of the negative streamer, by developing the visualization method of the small pressure.

研究分野：プラズマ流体工学

キーワード：バイオ流体工学 電荷細胞学 プラズマ流 細胞応答 電荷輸送

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

プラズマの医療応用において、プラズマが生成する低温の反応性化学種を刺激とした研究が幅広く進められている中、電荷の影響も含まれているにも関わらず、電荷そのものの生体に対する影響については未だ研究がなされていなかった。一方、細胞は、膜電位を検知することで膜貫通タンパク質の機能や細胞内カルシウム濃度を変化させ、様々な細胞応答を発現させることが知られている。そこで、膜電位や細胞内電荷量を精密に制御することで、任意の細胞応答を誘導できれば、電荷を利用した革新的な細胞応答誘導法を開発することが可能であると考えた。

2. 研究の目的

プラズマが生成する電荷刺激による細胞応答を明らかにすることで、電荷と細胞の相互作用機構を明らかにする。細胞の膜電位を電荷輸送により任意に制御し細胞応答を誘導するだけでなく、細胞に電荷を輸送する手法の開発に向けた水中の電荷輸送機構の解明を行う。これにより、電荷と細胞の相互作用の新しい学理：電荷細胞学を提言し、がん治療に向けたアポトーシス誘導、再生医療に向けた細胞分化誘導や増殖促進、ナノスケール細胞操作技術などの次世代医療基盤技術の創成、ならびに、細菌や酵母などの創薬や製薬に不可欠な細胞の高速増殖技術への展開を図る。

3. 研究の方法

本研究では、プラズマが生成する電荷の刺激のみを細胞に与え細胞応答を明らかにすることを目的とする。また、電荷輸送機構の解明を行う。研究は、電荷を生成・輸送・制御する装置の作製、電荷輸送装置による電位の制御の検証と電荷輸送機構の検討、電位の変化に対する細胞応答の解析、ナノスケールジェット生成機構の計算モデルの構築、プラズマナノバブルの細胞表面への配列、ナノスケールジェットのサイズ・方向制御を行う装置の作製、装置の性能検証とナノバブル安定性、ジェット方向制御機構の解明、ナノスケールジェットによる細胞への電荷注入と細胞内電荷移動の解析を行う。

4. 研究成果

本研究は、電荷刺激の生成・輸送機構ならびにその手法の開発と電荷に対する細胞応答と作用機構を明らかにすることを目的とした。

電荷を生成・輸送・制御する装置の作製とその輸送機構の解明により、水中の電位が供給電荷量の最大値と強い線形相関を示すことや、電位と電位の伝搬速度が線形の相関を有していることを明らかにした。深さ方向に対しての伝搬速度や電位は概ね変化しないことを示した。また、水中の電荷の輸送機構を誘電分極の視点から解析し、電荷輸送時の等価回路モデルを作成した。モデル作成に当たっては、実験結果と等価回路の数値解析結果を比較することで、水の静電容量と抵抗を決定した。また、この数値モデルを利用して、放電時の電極直下の電位の推測を行い、実験では困難であった電荷供給場所の電位の予測に成功した。さらに、電位計測時に容器壁の影響による遅れ時間の変化があることを発見し、その機構について検証した。

電荷刺激輸送に向けたプラズマ生成帯電微細気泡の研究において、帯電量の計測に成功し、一気泡当たり $10E-14$ C 程度の帯電量があることを明らかにし、気泡安定化因子の示唆を得た。さらに、超音波造影剤を用いたマイクロジェット発生法の研究から、ジェット長が気泡径に依存するものの、ジェットの速度は気泡径に依存しないことなども明らかにした。

これらの成果を基に、化学種の影響を排除したプラズマ電荷刺激を細胞に与える装置を新たに作製した。これにより、細胞活性化を低下させることなく、細胞膜に微小孔が形成されることを明らかにした。また、電荷刺激を模擬した、パルス状電流刺激をプラズマ発生用のパルス電源を改良し与えた。この装置では、電流の立ち下がりをも早めるためにバイパス抵抗と保護抵抗の比を変更した。電荷刺激は電流パルスとして与え、最大電流 200-220 mA で印加時間は 200 ns 程度、100 Hz、印加電圧 1kV の条件で与えた。塩橋を介することで化学種の影響を排除し、電荷刺激印加中の pH 値と温度は、電流パルスを印加しない場合と概ね同じ値となることを確認した。細胞応答については、形状、生存率、遊走性、増殖性について検討した。電荷刺激による生存率の変化は見られなかったが、細胞形状が大きくなる現象が観察された。運動能を確認するために、細胞骨格を担うアクチンフィラメントとチューブリンの状態を蛍光染色により観察したところ、アクチンフィラメントのみが伸長するなど、運動能が亢進することを明らかにした。

これらの成果は、プラズマが生成する電荷がどのように輸送され、どのように細胞に刺激を与えるのかを明らかにするだけでなく、電荷刺激が細胞の運動能亢進を促進する機能を有することを明らかにした世界で初めての重要な知見である。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計6件)

Chia-Hsing Chang, Ken-ichi Yano, Takamasa Okumura and Takehiko Sato, Effect of

plasma-generator-supplied nanosecond pulsed current on cell response, Journal of Physics D: Applied Physics, Vol. 52, No. 18 (2019), pp.185402/1-185402/8, 査読有.

DOI: 10.1088/1361-6463/ab0733

Takehiko Sato, Satoshi Uehara, Ryo Kumagai, Takashi Miyahara, Masanobu Oizumi, Tatsuyuki Nakatani, Shiroh Ochiai, Takamichi Miyazaki, Hidemasa Fujita, Seiji Kanazawa, Kiyonobu Ohtani, Atsuki Komiya, Toshiro Kaneko, Tomoki Nakajima, Marc Tinguely, and Mohamed Farhat, Formation of Fine Bubbles by Plasma in Water, International Journal of Plasma Environmental Science & Technology, Vol. 12, No. 2 (2019), pp.44-48, 査読有. (Review Paper)

Outi Supponen, Takahito Akimura, Tomoya Minami, Tomoki Nakajima, Satoshi Uehara, Kiyonobu Ohtani, Toshiro Kaneko, Mohamed Farhat, and Takehiko Sato, Jetting from Cavitation Bubbles due to Multiple Shockwaves, Applied Physics Letters, Vol. 113, Issue 19 (2018), 193703/1-193703/4, 査読有.

DOI: 10.1063/1.5060645

Ryo Kumagai, Seiji Kanazawa, Kiyonobu Ohtani, Atsuki Komiya, Toshiro Kaneko, Tomoki Nakajima, and Takehiko Sato, Propagation and Branching Process of Negative Streamers in Water, Journal of Applied Physics, Vol. 124, Issue 16 (2018), pp.163301/1-163301/7, 査読有.

DOI: 10.1063/1.5025376

Takamasa Okumura, Chaoyi Zhou, Eijiro Kubo, Tetsuji Shimizu, Tomoki Nakajima, and Takehiko Sato, Electric potential developed by single pulse needle-water discharge, Applied Physics Express, Vol.11 (2018), pp.016201/1-016201/4, 査読有.

DOI: 10.7567/APEX.11.016201

佐藤岳彦, 大気圧プラズマが誘起する気体・液体中の熱流動場及び放電進展機構に関する研究の進展, プラズマ・核融合学会誌, Vol. 93, No. 12 (2017), pp.573-579, 査読有.

URL: http://www.jspf.or.jp/Journal/PDF_JSPF/jspf2017_12/jspf2017_12-573.pdf

[学会発表](計39件)

多田隼都, 張家興, 上原聡司, 中嶋智樹, 矢野憲一, 佐藤岳彦, 電界刺激による細胞応答のタイムラプス観察, 日本機械学会東北支部第54期総会・講演会 (2019).

上原聡司, 佐藤旭, 清水鉄司, 佐藤岳彦, 表面電位計を用いた放電に伴う水中電荷量計測, 2019年度静電気学会春期講演会 (2019).

Takehiko Sato, Ryo Kumagai, Takashi Miyahara, Masanobu Oizumi, Tatsuyuki Nakatani, Shiroh Ochiai, Takamichi Miyazaki, Hidemasa Fujita, Seiji Kanazawa, Kiyonobu Ohtani, Atsuki Komiya, Toshiro Kaneko, Tomoki Nakajima, Marc Tinguely, and Mohamed Farhat, Generation of Fine Bubbles by Underwater Plasma Discharge, 28th Annual Meeting of MRS-Japan 2018 (2018). (招待講演)

Akira Sato, Satoshi Uehara, Tomoki Nakajima, and Takehiko Sato, Development of non-contact measurement on charge behavior in water associated with needle-water discharge, 5th Taiwan-Japan Workshop on Plasma Life Science and Technology (TJPL2018) (2018).

Chia-Hsing Chang, Kenichi Yano, and Takehiko Sato, Effect of exposure to electrical pulse current on cell response, 5th Taiwan-Japan Workshop on Plasma Life Science and Technology (TJPL2018) (2018).

Satoshi Uehara, Akira Sato, and Takehiko Sato, Surface potential and charge transfer of needle-water discharge for different applied voltage, 5th Taiwan-Japan Workshop on Plasma Life Science and Technology (TJPL2018) (2018).

Ryo Kumagai, Seiji Kanazawa, Kiyonobu Ohtani, Atsuki Komiya, Toshiro Kaneko, Tomoki Nakajima, and Takehiko Sato, Propagation process of underwater negative streamer, 5th Taiwan-Japan Workshop on Plasma Life Science and Technology (TJPL2018), (2018).

Takehiko Sato, Propagation mechanism of underwater streamer and formation of fine bubbles, Lecture at National Chiao Tung University (2018). (招待講演)

Takehiko Sato, Atmospheric Pressure Plasma Flow for Bio-medical Applications, Technical Workshop of Biomedical Sensor and Network Project in International Joint Research Laboratory between NCTU and Tohoku Univ (2018). (招待講演)

Chia-Hsing Chang, Ken-ichi Yano, and Takehiko Sato, HT-1080 Cell Response to Nanosecond Pulsed Current Modeled after Atmospheric Pressure Plasma, 15th International Conference on Flow Dynamics (ICFD2018) (2018).

Takahito Akimura, Tomoya Minami, Outi Supponen, Tomoki Nakajima, Satoshi Uehara, Kiyonobu Ohtani, Toshiro Kaneko, Mohamed Farhat, and Takehiko Sato, Directional control of micro-jets from cavitation bubbles subject to multiple pressure

waves, 18th International Symposium on Advanced Fluid Information (AFI-2018) (2018).

Ryo Kumagai, Seiji Kanazawa, Kiyonobu Ohtani, Atsuki Komiya, Toshiro Kaneko, Tomoki Nakajima, and Takehiko Sato, Mechanism of propagation of underwater negative streamer, 18th International Symposium on Advanced Fluid Information (AFI-2018) (2018).

上原聡司, 佐藤旭, 清水鉄司, 佐藤岳彦, 針 - 水面放電に伴う水中電荷移動計測, 2018 年度第 42 回静電気学会全国大会 (2018).

Chia-Hsing Chang, Ken-ichi Yano, Takamasa Okumura, and Takehiko Sato, Cell Response to Pulsed Current Modeled after Atmospheric Pressure Plasma, 7th International Conference on Plasma Medicine (ICPM-7) (2018).

熊谷諒, 金澤誠司, 大谷清伸, 小宮敦樹, 金子俊郎, 中嶋智樹, 佐藤岳彦, 水中負ストリーマの進展過程の可視化解析, 放電/プラズマ・パルスパワー合同研究会 (2018).

Akira Sato, Kazuyuki Ueno, and Takehiko Sato, Numerical Analysis on Charge Transfer and Potential Change in Water after Single Pulsed Discharge to the Water Surface, International Symposium on Application of High-voltage, Plasmas & Micro/Nano Bubbles (Fine Bubbles) to Agriculture and Aquaculture (ISHPMNB2018) (2018).

Takehiko Sato, Ryo Kumagai, Takashi Miyahara, Masanobu Oizumi, Tatsuyuki Nakatani, Shiroh Ochiai, Takamichi Miyazaki, Hidemasa Fujita, Seiji Kanazawa, Kiyonobu Ohtani, Atsuki Komiya, Toshiro Kaneko, Tomoki Nakajima, Marc Tinguely, and Mohamed Farhat, Formation process of fine bubbles by plasma in water, International Symposium on Application of High-voltage, Plasmas & Micro/Nano Bubbles (Fine Bubbles) to Agriculture and Aquaculture (ISHPMNB2018) (2018). (招待講演)

秋村隆仁, 南共哉, 中嶋智樹, 大谷清伸, 金子俊郎, Mohamed Farhat, Outi Supponen, 佐藤岳彦, 水中圧力波により生成されたキャビテーション気泡およびマイクロジェットの挙動の解析, 日本機械学会東北支部第 53 期総会・講演会 (2018).

秋村隆仁, 南共哉, 中嶋智樹, 大谷清伸, 金子俊郎, Outi Supponen, Mohamed Farhat, 佐藤岳彦, マイクロジェット生成方向に対する水中圧力波の影響, 平成 29 年度衝撃波シンポジウム (2018).

奥村賢直, 周超一, 清水鉄司, 中嶋智樹, 佐藤岳彦, 針 - 水面単一パルス放電による水中電位形成, 第 19 回静電気学会春期講演会 (2018).

- 21 Takahito Akimura, Tomoya Minami, Tomoki Nakajima, Kiyonobu Ohtani, Toshiro Kaneko, Outi Supponen, Mohamed Farhat, and Takehiko Sato, Micro-jets from microbubble clouds under the effect of traveling pressure waves, The 10th Asia-Pacific International Symposium on the Basics and Applications of Plasma Technology (APSPT 2017) (2017).
- 22 Chia-Hsing Chang, Kenichi Yano, Takamasa Okumura, and Takehiko Sato, Effect of Pulsed Current on Cell Activity, The 10th Asia-Pacific International Symposium on the Basics and Applications of Plasma Technology (APSPT 2017) (2017).
- 23 Takamasa Okumura, Chaoyi Zhou, Eijiro Kubo, Tetsuji Shimizu, Tomoki Nakajima, and Takehiko Sato, Formation of Electric Potential in Liquid by Needle-Water Discharge, The 10th Asia-Pacific International Symposium on the Basics and Applications of Plasma Technology (APSPT 2017) (2017).
- 24 Takehiko Sato, Marc Tinguely, Masanobu Oizumi, and Mohamed Farhat, Hydrogen gas generation in plasma-induced cavitation bubbles, The 10th Asia-Pacific International Symposium on the Basics and Applications of Plasma Technology (APSPT 2017) (2017).
- 25 Takehiko Sato, Naoya Kishimoto, Yutaka Iwafuchi, Gregor E. Morfill, and Tetsuji Shimizu, Reactive Flow Dynamics of Atmospheric Pressure Plasma, Plasma Conference 2017 (PLASMA2017) (2017). (招待講演)
- 26 Takahito Akimura, Tomoya Minami, Tomoki Nakajima, Kiyonobu Ohtani, Toshiro Kaneko, Outi Supponen, Mohamed Farhat, and Takehiko Sato, Pressure Measurement of Traveling Pressure Waves for Cavitation Bubble Generation, 17th International Symposium on Advanced Fluid Information (AFI-2017) (2017).
- 27 Ryo Kumagai, Seiji Kanazawa, Kiyonobu Ohtani, Atsuki Komiya, Toshiro Kaneko, Tomoki Nakajima, and Takehiko Sato, Visualization of Pressure Field of Negative Discharge in Water, 17th International Symposium on Advanced Fluid Information (AFI-2017) (2017).
- 28 Takehiko Sato, Yohei Nagasawa, Tomoki Nakajima, Kiyonobu Ohtani, Takashi Miyahara, and Tatsuyuki Nakatani, Development of Bubble Measurement Method Using Pressure Wave, 17th International Symposium on Advanced Fluid Information

- (AFI-2017) (2017).
- 29 Takamasa Okumura, Chaoyi Zhou, Eijiro Kubo, Tomoki Nakajima, Takehiko Sato, and Tetsuji Shimizu, Potential Formation in Water by Cold Atmospheric Plasma, 14th International Conference on Flow Dynamics (ICFD-2017) (2017).
 - 30 Takahito Akimura, Tomoya Minami, Tomoki Nakajima, Kiyonobu Ohtani, Toshiro Kaneko, Outi Supponen, Mohamed Farhat, and Takehiko Sato, Effect of Pressure Wave on Direction of Cavitation Bubble Microjets, The 9th JSME-KSME Thermal and Fluids Engineering Conference (TFEC9) (2017).
 - 31 Ryo Kumagai, Seiji Kanazawa, Kiyonobu Ohtani, Atsuki Komiya, Toshiro Kaneko, Tomoki Nakajima, and Takehiko Sato, Propagation analysis of negative streamer channel in water, 23rd International Symposium on Plasma Chemistry (ISPC23) (2017).
 - 32 Takehiko Sato, Ryo Kumagai, Tomoki Nakajima, Kiyonobu Ohtani, Atsuki Komiya, Toshiro Kaneko, and Seiji Kanazawa, Visualization of inception, propagation and collapse process of underwater positive streamer, 31st International Symposium on Shock Waves (ISSW31) (2017).
 - 33 Takahito Akimura, Tomoya Minami, Tomoki Nakajima, Kiyonobu Ohtani, Toshiro Kaneko, Outi Supponen, Mohamed Farhat, and Takehiko Sato, Directed Jetting from Cavitation Bubbles Subject to Traveling Pressure Wave, 4th Japan-Taiwan Workshop on Plasma Life Science and Technology (2017 JTPL) (2017).
 - 34 Takamasa Okumura, Chaoyi Zhou, Eijiro Kubo, Tetsuji Shimizu, Tomoki Nakajima, and Takehiko Sato, Potential formation in water by plasma discharge between needle and water, 4th Japan-Taiwan Workshop on Plasma Life Science and Technology (2017 JTPL) (2017).
 - 35 Takehiko Sato, Development of Bio-Medical Applications Using Plasma Flow, Opening Ceremony of Liaison Office (National Chiao Tung University) (2017). (招待講演)
 - 36 周超一, 奥村賢直, 清水鉄司, 中嶋智樹, 佐藤岳彦, Study on Charge Transfer in Water after Generation of Single Pulsed Discharge, 日本機械学会東北学生会第47回学生員卒業研究発表講演会 (2017).
 - 37 Ryo Kumagai, Seiji Kanazawa, Atsuki Komiya, Kiyonobu Ohtani, Toshiro Kaneko, Tomoki Nakajima and Takehiko Sato, Precise Analysis of Propagation of Underwater Negative Streamer, International Conference on Plasma Medical Science Innovation 2017 (ICPMSI2017) (2017).
 - 38 佐藤岳彦, 藤田英理, 金澤誠司, 大谷清伸, 小宮敦樹, 金子俊郎, 水中ストリーマ放電の開始・進展機構, 仙台“プラズマフォーラム” (2017). (招待講演)
 - 39 Takehiko Sato, Marc Tinguely, Masanobu Oizumi and Mohamed Farhat, Generation of Microbubbles by Collapse of Plasma-Induced Bubbles, 34th Symposium on Plasma Processing (SPP34) / 29th Symposium on Plasma Science for Materials (SPSM29) (2017).

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕

出願状況(計0件)

取得状況(計0件)

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究分担者

研究分担者氏名：金澤 誠司

ローマ字氏名：(KANAZAWA, seiiji)

所属研究機関名：大分大学

部局名：理工学部

職名：教授

研究者番号(8桁)：70224574

研究分担者氏名：矢野 憲一

ローマ字氏名：(YANO, kenichi)
所属研究機関名：熊本大学
部局名：パルスパワー科学研究所
職名：教授
研究者番号(8桁)：70311230

研究分担者氏名：金子 俊郎
ローマ字氏名：(KANEKO, toshiro)
所属研究機関名：東北大学
部局名：工学研究科
職名：教授
研究者番号(8桁)：30312599

研究分担者氏名：伊賀 由佳
ローマ字氏名：(IGA, yuka)
所属研究機関名：東北大学
部局名：流体科学研究所
職名：教授
研究者番号(8桁)：50375119

研究分担者氏名：宮原 高志
ローマ字氏名：(MIYAHARA, takashi)
所属研究機関名：静岡大学
部局名：工学部
職名：教授
研究者番号(8桁)：70239432

研究分担者氏名：奥村 賢直
ローマ字氏名：(OKUMURA, takamasa)
所属研究機関名：一関工業高等専門学校
部局名：未来創造工学科
職名：助教
研究者番号(8桁)：60801149

(2)研究協力者
研究協力者氏名：FARHAT, Mohamed
ローマ字氏名：(FARHAT, mohamed)

研究協力者氏名：中谷 達行
ローマ字氏名：(NAKATANI, tatsuyuki)

研究協力者氏名：清水 鉄司
ローマ字氏名：(SHIMIZU, tetsuji)

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。