

令和 6 年 9 月 18 日現在

機関番号：12608
研究種目：挑戦的研究（萌芽）
研究期間：2022～2023
課題番号：22K19044
研究課題名（和文）生体組織深部の薬剤を高空間分解能でリアルタイム分析する注射プラズマプローブの開発
研究課題名（英文）Development of plasma injection probe for in vivo and high spacial resolution drug measurement in living organisms
研究代表者
沖野 晃俊（Okino, Akitoshi）
東京工業大学・科学技術創成研究院・准教授
研究者番号：60262276
交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 4,900,000円

研究成果の概要（和文）：ヘリウムプラズマを生成可能な直径約0.70 mmの超小型プラズマジェットを16 G, 20 mmの注射針に内蔵した注射プラズマプローブを作製した。4-イソプロピルアンチピリンを寒天に均一に混合させた生体模擬試料に注射プラズマプローブを15 mm挿入し、試料内部でプラズマを生成して質量分析を行った。その結果、薬剤由来の質量信号を確認でき、試料内部での薬剤を分析可能であることを実証した。次に、薬剤の濃度が深度ごとに異なる生体模擬試料に対して分析を行い、深さ方向の位置分解能は約0.4 mmであった。以上のように、生体中の薬剤を高い空間分解能かつ高感度で質量分析できる可能性を示すことに成功した。

研究成果の学術的意義や社会的意義
抗がん剤等の薬剤が十分な効果を発揮するためには、治療対象となる組織に適切な濃度で薬剤が到達する必要がある。しかし現在は、薬剤にRIなどのタグを付与して生体内の分布を測定したり、動物実験で摘出した組織を分析するなどの方法が用いられている。本研究で開発した注射プラズマプローブでは、低侵襲でありながら高空間分解能かつリアルタイムな生体内薬剤分析を実現できる可能性を示せた。
また、直径700ミクロンの大気圧低温プラズマジェットを開発して注射針内でプラズマを生成できたため、生体内での焼灼、殺菌、洗浄など他の多くの医療・生命関連応用が期待できる。さらに、超小型プラズマジェットは、工業的にも利用価値が大きい。

研究成果の概要（英文）：A plasma injection probe with a small plasma jet of about 0.70 mm in diameter capable of producing helium plasma was fabricated and integrated into a 16 G, 20 mm injection needle. 15 mm of the plasma injection probe was inserted into a bio-simulated sample of 4-isopropylantipyrine homogeneously mixed in agar, and plasma was generated inside the sample. The probe was inserted 15 mm into the sample and plasma was generated inside the sample for mass analysis. As a result, a drug-derived mass signal was confirmed, demonstrating that the drug inside the sample could be analyzed. Next, analysis was performed on a simulated biological sample with different drug concentrations at different depths, and the position resolution in the depth direction was about 0.4 mm. As described above, we succeeded in demonstrating the possibility of mass spectrometry of drugs in living organisms with high spatial resolution and high sensitivity.

研究分野：大気圧プラズマ工学

キーワード：大気圧プラズマ 薬剤分析 質量分析 注射プラズマプローブ

1. 研究開始当初の背景

抗がん剤などが十分な効果を発揮するためには、治療対象となる腫瘍等の組織に適切な濃度の薬剤が到達している事が重要である。しかし、これを実際の患者で確認する手段はなく、動物実験で摘出した検体のホモジナイズや組織切断面をマッピングして質量分析する事などで基礎研究が行われている状況である。また、瞬時に分解される代謝物も多く存在するため、リアルタイムにサンプリングして分析する事が望ましい。近年、高感度な薬剤の分析やバイオマーカー探索などに質量分析が使用され、医療分野で欠かせない強力な分析ツールとなっている。これは、質量分析の感度が極めて高いことに起因している。

我々はこれまでに、低温の触れるプラズマを用いて生体表面に付着した薬剤の高感度分析を行う手法と装置の開発を行ってきた。室温程度のプラズマであってもその中には多くの活性種が含まれるため、プラズマを照射すると、物質の表面に付着した分子は分子間力に逆らってソフトに脱離され、さらにプラズマ中のプロトンが付着することでソフトにイオン化される。これを質量分析することで、非接触かつ高感度な薬剤の分析を実現している。このプラズマの温度が低い場合、生体にも照射する事ができるため、我々はこの手法を生体付着薬剤の分析に応用してきた。申請者らは、プラズマの温度を零下から高温まで1程度の精度で精密に制御する技術と特許を有しているため、人体にも適切な温度で安全にプラズマを照射する事ができている。プラズマの温度を低くすると、付着した薬剤の分子をフラグメント化することなく、シンプルな質量スペクトルで分析できるという長所も確認している。

2. 研究の目的

本研究では、注射針に低温プラズマとレーザーを内蔵する注射プラズマプローブを開発し、生体組織深部の薬剤を高い空間分解能でリアルタイム分析することを目的とする。

3. 研究の方法

本研究では、我々が開発してきた、低温プラズマによる薬剤の分析技術を生体の皮膚ではなく、生体組織深部の薬剤の分析に適用する。

この手法を用いるためには、生体組織深部にプラズマやレーザーを導入せねばならない。そこで本研究では、注射針にデバイスを組み込むことを発案した。注射針であれば生体への侵襲度は高くなく、将来的に実用化できる可能性も高いと考えられる。輸血用程度の太めの注射針に極細のプラズマ照射部を配置し、ガスを送り込みながら生体組織内でプラズマを生成する。プラズマを照射すると、その部位の組織中の薬剤の一部がガス中に脱離される。このガスを体外に送り、質量分析する。プラズマガスには、生体吸収性がよく、血栓を生じない二酸化炭素を中心に検討する。また、ガス流およびガス圧と、血液が排出されないための血圧の関係について検討を行う。

注射針を使用する事で、生体内の特定の位置の薬剤の分析を、高い空間分解能で実施する事ができる。また、針を留置した状態で薬剤の投与を行えば、特定部位にどの程度の時間で薬剤が到達し、その薬剤や代謝物がどのような時間経過で減衰するかなどを、リアルタイムで分析する事も実現できる。この手法が確立されることによって腫瘍組織における抗がん剤などの到達性や分布が調査できれば、抗がん剤等の開発の重要なツールになるだけでなく、患者に合わせて適切な薬剤や投与量を決定できると期待できる。

4. 研究成果

4.1 注射プラズマプローブの開発

薬剤が十分な効果を発揮するためには、治療対象組織に適切な濃度で到達する必要がある。しかし、生体内の薬剤濃度や分布を直接確認することは現状困難である。そこで我々のグループでは、注射針を患部に挿入することで生体内の特定位置の薬剤濃度をリアルタイム分析する注射プラズマプローブの開発を行っている。この装置では、図1で示すように、大気圧低温プラズマを生成可能な超小型プラズマジェットとプラズマガス吸引チューブを注射針に内蔵する。

分析時は、低温のプラズマを組織に照射することで薬剤分子を気化させ、プラズマガス吸引チューブを用いて体外に取り出して質量分析を行う。

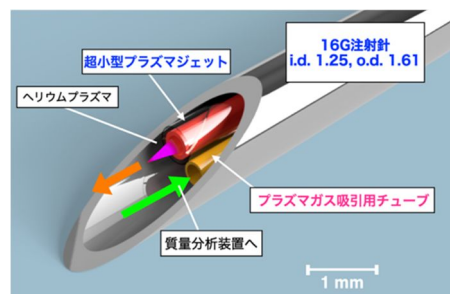


図1 注射プラズマプローブの概略図

注射プラズマプローブの実現に向けて、16 Gの注射針に内蔵可能なプラズマ生成装置である、超小型プラズマジェットの実験を行った。この装置は、図2に示すように、中空光ファイバの周りに2つの銅電極が対極となるように螺旋状に巻きつけて、熱収縮チューブで圧着することで作製し、直径は700 μmとなった。この超小型プラズマジェットに300 mL/minでヘリウムガスを流し、銅電極に9 kV、16kHzの交流電圧を印加することで、図2の写真のようにプラズマを生成可能であることを確認した。

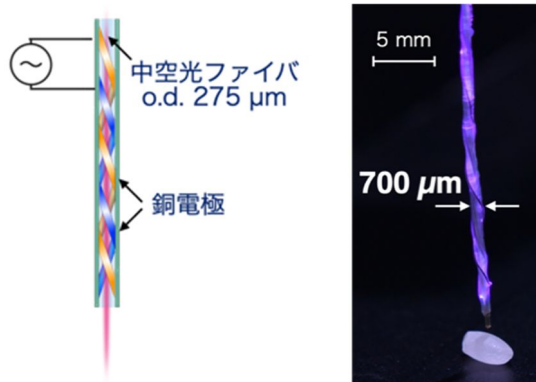


図2 超小型プラズマジェットの概略図(左)と写真(右)

次に、超小型プラズマジェットおよび薬剤吸引用のシリコンチューブを注射針に内蔵して注射プラズマプローブを作製し、表面付着物の分析を行った。試料は、4 イソプロピルアンチピリンを100 ppmとなるようにメタノール溶媒で溶かし、その溶液0.5 μLをスライドガラスに滴下して気化させ、作製した。実験では、注射プラズマプローブに内蔵したプラズマジェットから生成されるヘリウムプラズマを試料に照射し、質量分析を行った。

その結果、図3で示すように、4 イソプロピルアンチピリン由来の質量信号を確認できた。ま

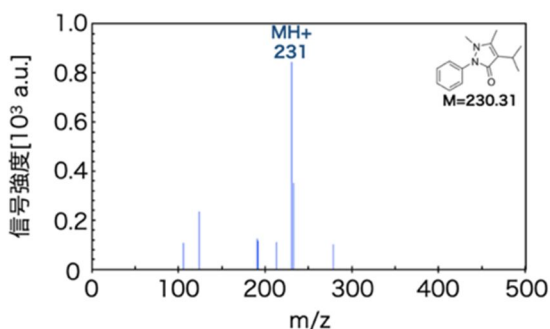


図3 表面付着物分析の結果

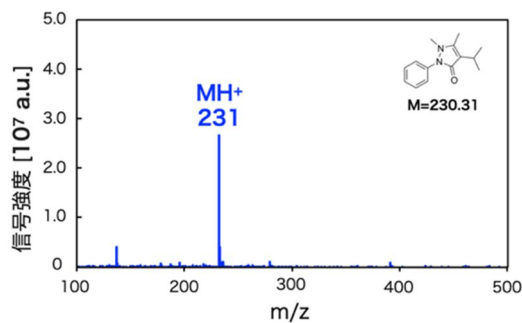


図4 高感度化を行った表面分析の結果

た、高感度分析に向けて、プラズマ生成用ガスに水素を2%添加し、質量分析装置への導入前にもう一つのプラズマジェットを配置して試料にプロトンを再付与する手法を用いた。その結果、

図4のように信号強度が約450倍に増加した。

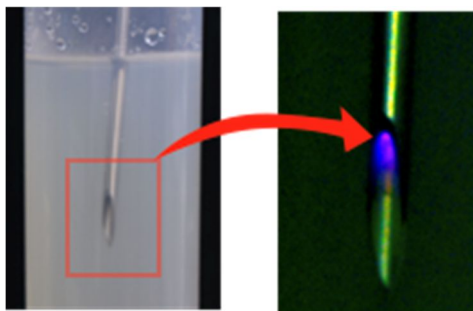


図5 生体模擬試料内部でのプラズマ生成

次に、生体内部の薬剤分析に向けて、1000 ppmの4 イソプロピルアンチピリン水溶液に寒天を加えて固めた生体模擬試料を作製し、試料内部での薬剤分析を行った。まず、注射プラズマプローブを生体模擬試料に40 mm挿入し、プラズマを生成可能か調べたところ、図5のように試料内部でプラズマが生成可能であることを確認した。実験では、生体模擬試料に注射プラズマプローブを15 mm挿入し、試料内部でプラズマを照射して分析を行った。その結果、

図6のように4 イソプロピルアンチピリン由来の質量信号を確認した。

さらに、生体内の特定位置の薬剤濃度を分析することを目指し、注射プラズマジェットの深さ方向の位置分解能を測定した。図7に示すように、4 イソプロピルアンチピリンの濃度が1000 ppmの生体模擬試料の上に薬剤を含まない層を作製して、2層の境界面から上下1 mmの範囲で、注射プラズマプローブを移動させ、分析を行った。その結果、4 イソプロピルアンチピリン由来の質量信号の強度は図8のようになり、作製した注射プラズマプローブの深さ方向の位置分解能は約0.4 mmである事が明らかとなった。

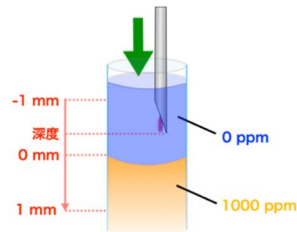


図6 深さ方向の位置分解能の測定法

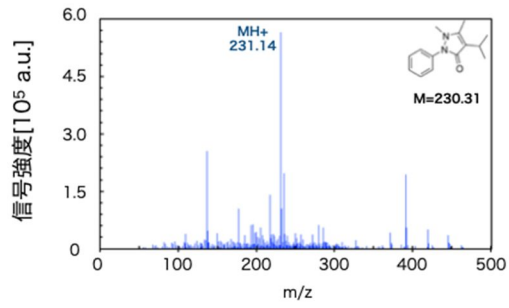


図7 生体模擬試料内部の分析結果

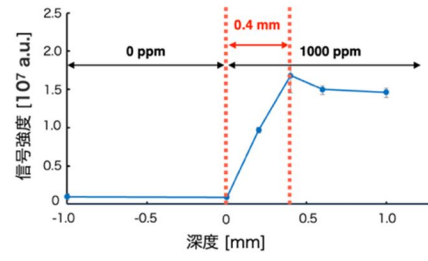


図8 深さ方向の薬剤分析の結果

以上のように，生体中の薬剤を高い空間分解能かつ高感度で質量分析できる可能性を実証することに成功した。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計24件（うち招待講演 5件 / うち国際学会 5件）

1. 発表者名 清水祐哉, 太原誠也, 八井田朱音, 守岩友紀子, 森岡和大, 高松利寛, 東海林敦, 沖野晃俊
2. 発表標題 生体内薬剤分析用注射プラズマプローブの開発
3. 学会等名 生体医歯工学共同研究拠点成果報告会
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 清水祐哉, 太原誠也, 八井田朱音, 守岩友紀子, 高松利寛, 東海林敦, 沖野晃俊
2. 発表標題 生体内薬剤分析用注射プラズマプローブの開発および薬剤濃度の位置分解能の評価
3. 学会等名 The 41st Symposium on Plasma Processing
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 太原誠也, 吉田大輝, 清水祐哉, 守岩友紀子, 高松利寛, 東海林敦, 沖野晃俊
2. 発表標題 注射プラズマプローブを用いた生体模擬試料中薬剤の分析
3. 学会等名 日本分析化学会第72年会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 太原誠也, 吉田大輝, 清水祐哉, 八井田朱音, 守岩友紀子, 高松利寛, 東海林敦, 沖野晃俊
2. 発表標題 注射プラズマプローブを用いた薬剤分析の高感度化の検討
3. 学会等名 プラズマ分光分析研究会若手会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 太原誠也, 吉田大輝, 清水祐哉, 八井田朱音, 守岩友紀子, 高松利寛, 東海林敦, 沖野晃俊
2. 発表標題 注射プラズマプローブを用いた生体模擬試料中の薬剤分析
3. 学会等名 プラズマ分光分析研究会 2023筑波セミナー
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 福山陽平, 吉田大輝, 清水祐哉, 守岩友紀子, 高松利寛, 東海林敦, 沖野晃俊
2. 発表標題 超小型プラズマジェットを用いた注射プラズマプローブにおける試料脱離/イオン化条件の調査
3. 学会等名 第83分析化学討論会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 高松利寛, 吉田大輝, 沖野晃俊, 守岩友紀子, 東海林敦
2. 発表標題 組織深部の有機質量分析を目的とした注射プラズマプローブの開発
3. 学会等名 生体医歯工学共同研究拠点成果報告会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Akitoshi Okino
2. 発表標題 Development of brand-new atmospheric low temperature plasmas and its application to materials and medical fields
3. 学会等名 2023 Tokyo Tech Research Showcase (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 高松利寛, 吉田大輝, 沖野晃俊, 守岩 友紀子, 東海林敦
2. 発表標題 組織深部の有機質量分析を目的とした注射プラズマプローブの開発
3. 学会等名 令和4年度生体医歯工学共同研究拠点成果報告会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 守岩友紀子, 東海林敦, 沖野晃俊
2. 発表標題 大気圧プラズマソフトアブレーション法による単一粒子に吸着させた化合物の計測
3. 学会等名 令和4年度生体医歯工学共同研究拠点成果報告会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 沖野晃俊
2. 発表標題 新しい大気圧プラズマ装置の開発と医療関連応用
3. 学会等名 東京医科歯科大-東工大 第2回meetup
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Akitoshi OKINO
2. 発表標題 Life Science Applications of Atmospheric Low/High Temperature Plasmas
3. 学会等名 Nanophotonics Symposium 2022 in Nasu (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 沖野晃俊, 清水祐哉
2. 発表標題 インバータを用いた強度変調プラズマ
3. 学会等名 第2回生体分子ナノ解析・イメージング研究会 (招待講演)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 吉田大輝, 清水祐哉, 守岩友紀子, 高松利寛, 東海林敦, 沖野晃俊
2. 発表標題 注射プラズマプローブ用超小型プラズマジェットを用いた抗がん剤の質量分析
3. 学会等名 日本分析化学会第71年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Taiki Osawa, Chishi Ryu, Kai Fukuchi, Yohei Fukuyama, Yuriko Matsumura, Atsuo Iwasawa, Akitoshi Okino
2. 発表標題 Low-temperature Plasma Source Capable of Generating Various Reactive Species and Irradiating Living Organisms
3. 学会等名 The 8th International Symposium on Metallomics (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Daiki Yoshida, Yuya Shimizu, Yukiko Moriiwa, Toshihiro Takamatsu, Takahiro Iwai, Atsushi Shoji, AKITOSHI OKINO.
2. 発表標題 Development of micromini plasma jet for plasma injection probe to in vivo drug measurement in living organisms
3. 学会等名 The 8th International Symposium on Metallomics (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Yuya Shimizu, Yuta Ishikawa, Yusaku Yanagii, Daiki Yoshida, Takashi Ohta, Motohide Aoki, Tomonari Umemura, AKITOSHI OKINO
2. 発表標題 Inverter-modulated microplasma excitation source for high sensitive analysis of various elements
3. 学会等名 The 8th International Symposium on Metallomics (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 清水祐哉, 吉田大輝, 福智魁, 太田高志, 青木元秀, 梅村知也, 沖野晃俊
2. 発表標題 複数条件での連続的な発光分光分析に向けた 3段階強度変調プラズマの生成
3. 学会等名 プラズマ分光分析研究会 第117回講演会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 清水祐哉, 吉田大輝, 福智魁, 太田高志, 青木元秀, 梅村知也, 沖野晃俊
2. 発表標題 複数元素の高感度分析のための 強度変調マイクロプラズマの特性測定
3. 学会等名 プラズマ分光分析研究会若手会第2回講演会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 福山陽平, 吉田大輝, 清水祐哉, 守岩友紀子, 高松利寛, 東海林敦, 沖野晃俊
2. 発表標題 注射プラズマプローブ用超小型プラズマジェットの製作とプラズマ生成条件の検討
3. 学会等名 プラズマ分光分析研究会第2回若手会講演会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 沖野晃俊
2. 発表標題 大気圧低温プラズマを用いた分析手法の開発
3. 学会等名 分析技術研究会 第141回講演会（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 福山陽平, 吉田大輝, 清水祐哉, 守岩友紀子, 高松利寛, 東海林敦, 沖野晃俊
2. 発表標題 生体内薬剤分析用注射プラズマプローブのための超小型プラズマジェットの開発
3. 学会等名 プラズマ分光分析研究会2022筑波セミナー
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 清水祐哉, 吉田大輝, 福智魁, 太田高志, 青木元秀, 梅村知也, 沖野晃俊
2. 発表標題 複数元素の高感度分析に向けた3段階強度変調マイクロプラズマ
3. 学会等名 プラズマ分光分析研究会2022筑波セミナー
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 沖野晃俊
2. 発表標題 表面処理/表面付着物分析のための大気圧温度制御プラズマの開発
3. 学会等名 日本分析化学会 ものづくり技術講演会（招待講演）
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 Yuma Suenaga, Toshihiro Takamatsu, Toshiki Aizawa, Shohei Moriya, Yuriko Matsumura, Atsuo Iwasawa, Akitoshi Okino, Bogdan-George Rusu (Ed.)	4. 発行年 2023年
2. 出版社 MDPI books	5. 総ページ数 162
3. 書名 Recent Advances in Atmospheric-Pressure Plasma Technology	

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	高松 利寛 (Takamatsu Toshihiro) (10734949)	東京理科大学・研究推進機構生命医科学研究所・講師 (32660)	
研究分担者	東海林 敦 (Shoji Atsushi) (90459850)	東京薬科大学・薬学部・准教授 (32659)	
研究分担者	守岩 友紀子 (Mori iwa Yukiko) (80881515)	東京薬科大学・薬学部・助教 (32659)	
研究分担者	八井田 朱音 (Yaida Akane) (50978608)	東京工業大学・科学技術創成研究院・特任助教 (12608)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------