

## 低温大気圧プラズマを用いた骨再生促進デバイスの開発

大阪市立大学 整形外科学

堀 悠介

### 1.緒言

骨折は、小児期から高齢期、全ての年齢層における健康上の大きな問題の1つである。平成25年厚生労働省のデータによると、65歳以上の要介護の原因のうち、転倒／骨折が12.2%を占め、脳血管疾患、高齢による衰弱に次いで高いリスクとなっている。また、国内のデータは存在しないが、スウェーデンの大規模調査では0～16歳までに男性で42%、女性で27%が骨折を経験していると報告されている<sup>1)</sup>。骨再生を促進させる次世代型骨再生医療技術の開発は、高齢者の寝たきりの防止や若い世代の一日も早い社会復帰に多に貢献するものと考えられる。

骨再生医療における新しい治療戦略の創出にあたり、申請者が注目したのは低温大気圧プラズマ技術の活用である。プラズマとは活性粒子（電子、イオン、分子、ラジカル、光）の集合体であり、気体に高音加熱や電氣的衝撃などの高エネルギーを加えることで分子の解離や原子の電離を生じさせてプラズマを発生させている。プラズマを発生させるためには減圧もしくは超高温環境が必要であったが、近年の理論／技術の革新により大気圧、低温化環境下、さらには溶液中での発生が可能となり、幅広い分野での応用されるようになった。医療分野においては、医療材料の表面改質・表面処理や滅菌技術などに用いられてきたが、近年注目されている分野は生体組織への直接照射である。生体組織に直接プラズマを照射することにより、がん細胞のアポトーシス誘導<sup>2)</sup>や皮膚疾患の治癒・再生が促進された<sup>3)</sup>との報告が出されるようになり革新的医療技術としての期待が高まってきている。プラズマが生成する活性酸素種・窒素種に起因すると考えられているが、生きた細胞に一定以上照射すると細胞が不活化し、照射量が少ないときには細胞に逆に刺激を与え、その増殖が促進される可能性が示されつつある。

本研究の目的は、申請者が所属する大学の工学部（電子物理）と医工連携を行い、生体への熱的、電磁的ダメージが極めて低い低温大気圧プラズマジェット技術を活用した次世代骨癒合促進技術の創出である。骨折部や骨欠損部に直接照射することによって、骨癒合期間を短縮させることが可能なのか、短縮されるとすれば最適なプロトコルや照射設定はどのようなようになるのか、骨補填材料を用いた骨再生にどのような変化をもたらすのか等に関する基礎実験を行い、本領域における技術革新を行う予定である。

## 2.方法

ウサギ尺骨欠損モデルにおけるプラズマ直接照射の有効性の評価

日本白色家兎を全身麻酔下にて使用し、尺骨骨幹部に1 cmの骨欠損を作製した。

低温大気圧プラズマの照射の有無によって照射群と非照射群を作製し、術後2週、4週、6週、8週で骨癒合について評価を行う。照射群は5分、10分、15分照射群の3群に分けて評価した。骨癒合の評価は経時的な単純X線像と、 $\mu$ CT、脱灰標本における組織学的評価を実施した。 $\mu$ CT、組織学的評価は術後8週の屠殺後に行った。

## 3.結果

### 3-1) ペンシルタイプの低温大気圧プラズマ発生装置の開発

当施設ではプラズマを専門とする大阪市立大学工学研究科の白藤らと医工連携し、骨欠損部位に照射可能なハンディタイプの低温大気圧プラズマ装置を開発した (Fig.1,2)。本装置を用いることで、骨欠損部への安定的な照射、至適照射条件の探索が可能となった。

### 3-2) ウサギ尺骨欠損モデルにおけるプラズマ直接照射の有効性の評価

コントロール群、低温大気圧プラズマ照射群を作製した。照射群は5分照射、10分照射、15分照射群を作製した。4群それぞれを $n=5$ で作製するため、白色家兎の両側尺骨欠損モデルを10匹、20肢を使用した。術後8週のX線評価ではコントロール群で骨欠損が新生骨で埋まった例はなかったが、プラズマ照射群では欠損部が新生骨により連続しているものが数例みられた。術後8週の $\mu$ CTの結果を用いて画像解析ソフトで新生骨の体積を測定、比較した所、プラズマ10分、15分照射群が統計学的有意にコントロールよりも体積が大きかった ( $P=0.009$ 、 $0.028$ ) (Figure 3)。

## 4.考察

ハンディタイプ、ペンシルタイプの独自の低温大気圧プラズマ発生装置を開発、用いることで尺骨欠損部への安定的な照射、至適照射条件の探索が可能となり、信頼性のある実験が行える環境となった。プラズマ照射によりウサギ尺骨欠損部の新生骨量の増加がみられた。プラズマ照射による骨表面の親水性の増加、表面元素の置換による性質変化などが考えられるが、さらなる研究を要する。

## 5.結語

ペンシルタイプの低温大気圧プラズマ発生装置を開発した。

プラズマ照射により骨欠損部の新生骨量の増加を確認した。

## 6.文献

1) Landin LA : Fracture patterns in children. Analysis of 8,682 fractures with special reference to incidence, etiology and secular changes in a Swedish urban population 1950-1979. Acta Orthop

Scand (Suppl) 1983;202:1-109.

2) Hiromasa Tanaka : Plasma-Activated Medium Selectively Kills Glioblastoma Brain Tumor Cells by Down-Regulating a Survival Signaling Molecule, AKT Kinase .Plasma Medicine,2011; 1(3-4): 265-277

3) Liebmann J : Biological effects of nitric oxide generated by an atmospheric pressure gas-plasma on human skin cells. Nitric Oxide 2011; 1;24(1):8-16.

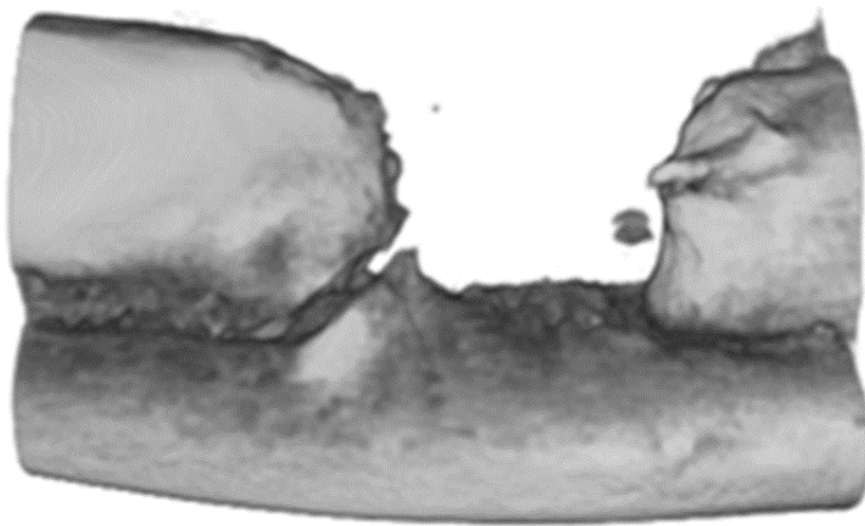
Fig.1



Fig.2

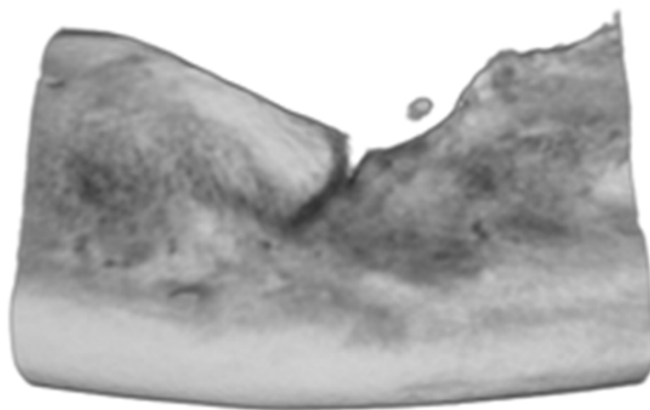


Figure.3 (a)



control

Figure.3 (b)



10 minutes

Figure 3 (c)

