

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 17 日現在

機関番号：32678

研究種目：基盤研究(B)

研究期間：2011～2013

課題番号：23340180

研究課題名(和文)大気圧プラズマ吸入による生体作用と治療医学への応用

研究課題名(英文)A living body action and the application to medical treatment by inhalation of atmospheric pressure plasma flow

研究代表者

森 晃 (Mori, Akira)

東京都市大学・工学部・教授

研究者番号：60219996

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,200,000円、(間接経費) 1,260,000円

研究成果の概要(和文)：プラズマ吸入治療の効果を肺、脳障害動物モデルで検討した。肺高血圧症の治療評価では、ヤギ(n=3)あるいはミニブタ(n=3)を使用し、低酸素負荷により肺高血圧の病態を作成後、プラズマフローによる吸入治療を施行した。吸入後から最高約15～20%までの血圧低下を確認した。脳障害に対するプラズマ吸入治療評価では、日齢3日目の新生児期ラットを使用し左総頸動脈結紮後、1時間の6%低酸素負荷により虚血性の脳障害を発症させ、24時間後からプラズマ吸入治療(90秒間)を1日1回、15日間継続できた6例と治療しない6例を比較検討した。プラズマ吸入治療群では、虚血部位の有意な血管新生を認めた。

研究成果の概要(英文)：We carried out the experiments about the direct inhalation to animal model (pulmonary hypertension of goat or mini-pig and neonatal hypoxia/ischemia rat). The use of inhaled plasma, generated by the atmospheric-pressure plasmas reactor, resulted in increased saturation pulse oxygen in the pulmonary hypertension of animals. Additionally, the blood pressure decreased during plasma inhalation. Nitric oxide (NO) concentrations in the arteries increased after 20 seconds of plasma inhalation, reaching a maximum value at about 160 s and gradually decreased. The NO generated by this device was highly concentrated, reaching a maximum of approximately 10nmol. Moreover, the infarct areas treated with plasma inhalation (15days, 90sec inhalation/day) were evaluated in the neonatal hypoxic/ischemic rat model. Each plasma inhalation-treated group (n=6) demonstrated significant increase of new blood vessels compared with the no treated group (n=6).

研究分野：数物系科学

科研費の分科・細目：プラズマ科学・プラズマ科学

キーワード：プラズマ吸入

大気圧プラズマ吸入による生体作用と治療医学への応用

1. 研究開始当初の背景

プラズマを用いた研究及び応用は、国内外の大学や民間研究所の化学・固体物理・ナノ材料分野で盛んに行われてきている。特に、大気圧放電プラズマは、滅菌・殺菌や細胞への遺伝子導入などに応用されてきている。近年、プラズマイオンを用いた皮膚の改質、再生治療に応用され、正常細胞には影響を与えずに、メラノーマの増殖を抑制するといった効果も示されている。

プラズマ中には、数多くの中性分子、イオン種、ラジカル種が存在する。特に大気を用いた場合、酸化窒素化合物が生成される。中でも一酸化窒素 (Nitric Oxide, NO) は、窒素と酸素からなる無機化合物であり、不対電子を有するフリーラジカル、半減期は3~6秒程度、常温で無色・無臭、水に溶けにくいという性質を有する。一方、過剰なNOの産生は、自己免疫疾患、リウマチ性関節炎、糖尿病、心臓血管系虚血、脳虚血等の様々な疾病を誘発する恐れもあることが明らかになっている。近年注目されているNO吸入療法は、薬物治療や呼吸管理などの従来治療法では救命が困難である重症呼吸不全に対して劇的な効果を示す新しい治療法である。「血流調整因子」である内皮細胞由来弛緩因子(EDRF)の主要物質がNOであることが1987年に判明し、生体内で起こる様々な現象にNOが重要な役割を果たしていることが明らかにされてきた。1991年、肺高血圧の羊を対象とした実験でNO吸入が選択的に肺動脈の血管平滑筋を弛緩させ、肺血管を拡張する作用のあることが証明され、「NO吸入療法」の臨床応用が開始された。この手法は、新生児の新生児遷延性肺高血圧や、開心術後の心臓の負荷軽減、原発性肺高血圧症の治療などに利用されている。

我々は、火傷の場合、プラズマ照射により皮膚の再生を促進させることを動物実験で確認しているが、そのメカニズムについてはまだ解明されていない。さらに、皮膚障害以外の各臓器障害では、体表からのプラズマ直接照射治療には無理がある。そこで投与経路が簡単で末梢組織にまで効果が到達するのが

吸入経路である。そのため、生体への直接吸入が可能なプラズマ装置の開発が重要であると考えた。具体的には、無侵襲型を考慮し、吹き出し口をマイクロスポットにしさらに、シリコンチューブを連結すれば、実際の医療現場で使用されている気管内チューブに挿入できるので効果的な適応(肺胞までプラズマフローが到達)が可能ではないかと考えた。具体的には、大気圧プラズマ吸入による呼吸、循環障害及び障害組織再生に適応できる新しい治療法が開発可能ではないかと考えた。

2. 研究の目的

周産期(妊娠、分娩、新生児期)の低酸素障害による、重症呼吸不全(肺高血圧症)や虚血性脳症は、成人期までに影響する重篤な疾患である。特に、低酸素性虚血性脳症は、脳神経細胞死を引き起こし脳性麻痺の主たる原因であり、この神経細胞死に対する有効な治療法がないのが現状である。そのため、プラズマフロー吸入の生体への影響を検討し、プラズマ医学による肺、脳障害治療法を確立することが目的である。

3. 研究の方法

プラズマ吸入装置としては、大気圧ペンシルプラズマの構造を基に、絶縁円筒の中心にプラズマ生成用電極(直径0.5~1.0mmのタンタル線)を通した同軸構造の大気圧プラズマ生成部を作製する。ガラスキャピラリー(プラズマ発生部の内径:8mm、先端部の内径:1mm)内にタングステン線(直径:1mm)を導入し、外部に筒状グランド電極を設置した同軸構造とする。さらにそのキャピラリー先端に50cmのシリコンチューブを装着する。高電圧は、外部制御型高電圧電源装置により発生させる。プラズマ発生条件は、印加電圧:5-9kV、周波数:1-3kHzであり、ヘリウム(He)ガス流量:1L/min、プラズマ吸入時間:90秒である。

重症呼吸不全モデルでは、実験に用いた動物はミニブタ(性別:メスn=3)とヤギ(性別:メスn=3)であり、ガス麻酔による無意識下状態にて実験を行った。大腿動脈から腹部大動脈にかけて血管カテーテルを挿入した後(右側)、反対の左大腿動脈からは、血液中NO濃度測定用NOセンサーを挿入した。さら

に、右頸静脈から右肺動脈にカテーテルを挿入した。この作業は血管造影を行いながら施行した。低酸素（10%酸素）負荷（1日2 - 3回1時間）により正常肺動脈圧の約20%増加(95-110/60-70mmHg)の肺高血圧病態を作製した。肺高血圧状態下で、プラズマを直接肺に吸入した時の血圧及び血中NO濃度を同時に測定した（図1）。さらにHeのみの吸入も試みた。

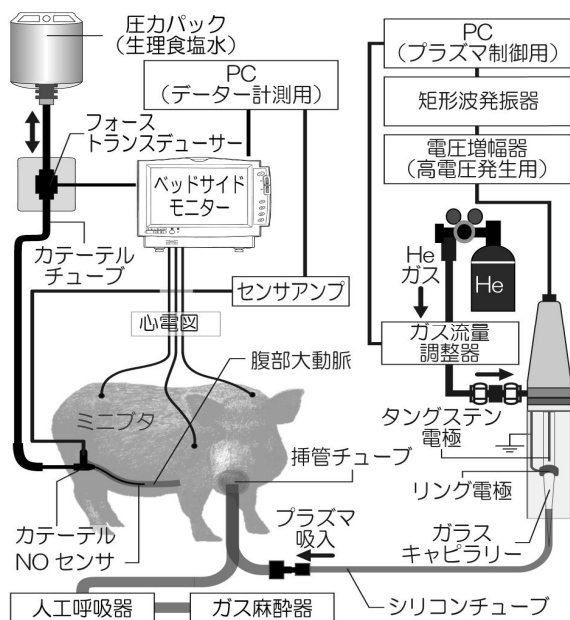


図1 プラズマ吸入実験概要図

脳障害に対するプラズマ吸入治療評価では、日齢3日目の新生児期ラットを使用し左総頸動脈結紮後、1時間の6%低酸素負荷により脳障害を発症させた。24時間後からプラズマ吸入治療を（90秒間）を1日1回、15日間継続できた6例とプラズマ吸入治療しない6例と比較検討した。虚血後15日目に脳切片を作成し、虚血辺縁部の血管数を測定した。機能血管数計測のため、灌流固定5分前にトマトレクチンを心腔内投与した。組織観察は蛍光抗体法を用い、共焦点レーザー顕微鏡下に行った。

4. 研究成果

重症呼吸不全モデルでは、プラズマ吸入により血圧測定の結果では、図2(a)に示すように、Heガス吸入の場合には血圧に変化がみられなかったが、プラズマ吸入では血圧の降下（最高/最低：110/65 mmHg → 90/40 mmHg）がみられた[図2(b)]。さらに、

血液中のNO濃度測定においても、NOが検出されたのみならず、血圧降下と同様の時間変化をすることが判明した。特に、プラズマ吸入における大気中NO濃度が5~10 ppmと低く、医療用高濃度NOガスの濃度（50~100 ppm）に比べて非常に低いことから、肺から吸収されたNOではなく、肺胞内の肺上皮細胞もしくは血管内皮細胞で産出されたNO（細胞内に存在するNO合成酵素から産出されたNO）の可能性が大きいと考えている。また、ヤギでも同様な結果を得た。従って、実験にて得られたNOに起因した血管拡張による血圧降下は、高濃度NOガスを使用せずに狭心症や心筋梗塞などの心疾患、並びに原発性肺高血圧症や新生児遷延性肺高血圧などの呼吸器疾患の治療に有効であるのみならず、低酸素脳症を含む脳疾患の治療にも有効である可能性があると考えている。

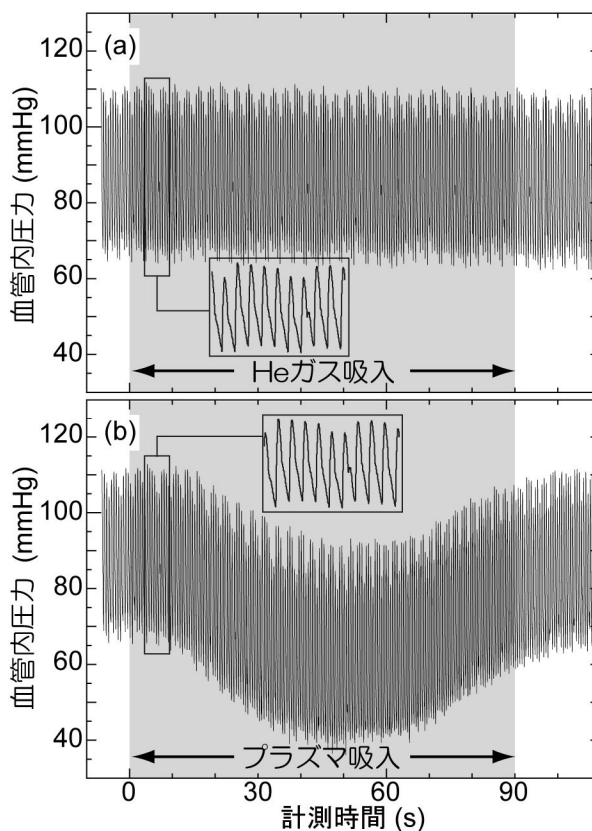


図2 肺動脈圧の計測結果(a) Heガス吸入、(b) プラズマ吸入

ラット脳障害に対するプラズマ吸入治療評価では、未治療群では、虚血後の機能血管数には有意な変化はなかったが、治療群では、虚血後15日目で有意な増加を示した。したがって、

プラズマ吸入により虚血辺縁部の機能血管数増加が観察され、神経再生促進に関連することが考えられた。

まとめ

プラズマによる生体作用への影響は、多角的な生体組織及び生体への吸入実験による基礎データの構築と、プラズマ理工学、分子生物学、シグナル制御を含む異なる分野間を横断的に網羅した学術的取り組みが重要である。特に、この分野の基盤確立は、日本における再生医療を含めた医学産業の現状を活性化して国際競争力強化に直結する新産業創出の可能性を秘めているといえる。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)
〔雑誌論文〕(計9件)

(1) Treatment of cardiac disease by inhalation of atmospheric pressure plasma.

Chihiro Tsutsui¹, Minjoo Lee, Genu Takahashi, Shigeru Murata, Takamichi Hirata, Takao Kanai, and Akira Mori

Japanese Journal of Applied Physics (JJAP)54,2014(accepted)

(2) Healing Burns Using Atmospheric Pressure Plasma Irradiation」

T. Hirata, Takumi Kishimoto, Chihiro Tsutsui, Takao Kanai, Akira Mori

Japanese Journal of Applied Physics (JJAP)53, 010302, 2013

(3) The effect of plasma inhalation for the cardiovascular system by rat.

S. Murata, A. Mori, M. Watada, T. Hirata, C. Tsutsui, T. A. Kondo, G Takahashi

Journal of the Applied Electromagnetics and Mechanics(AEM), Vol. 21, pp 260-265, 2013

(4) NOセンサーを利用したプラズマ吸入療法中の血中NO濃度変化の検討

高橋玄宇、村田茂、和多田雅哉、山崎慶子、米川侑希、平田孝道、筒井千尋、森晃、Clinical Engineering Vol.24, pp714-715.2013

(5) プラズマ照射治療に使用するプラズマ吸入がラットの下行大動脈圧に与える影響の検討

村田茂、森晃、和多田雅哉、平田孝道、筒井千尋、

山崎慶子、米川侑希 Clinical Engineering, Vol23, pp652-653.2012

(6) マイクロスポット大気圧プラズマ源による細胞の活性化

筒井千尋、平田孝道、秋谷昌宏、田口亮、小町俊文、岸本拓巳、秋谷昌宏、山本俊昭、森晃、静電気学会誌 Vol.35, pp20-24,2011

(7) Fat liquefaction of adipose tissue using atmospheric-pressure plasma irradiation

T. Hirata, C. Tsutsui, T. Kishimoto, A. Mori, M. Akiya, T. Yamamoto, and A. Taguchi; Japanese Journal of Applied Physics, Vol.50, No.8, pp.080217-1-080217-3, 2011.

(8) Measurement of Contractile Activity in Small Animal's Digestive Organ by Carbon Nanotube-Based Force Transducer

T. Hirata, N. Takeda, C. Tsutsui, K. Koike, Y. Shimatani, T. Sakai, A. Mori, and A. Taguchi; Japanese Journal of Applied Physics, Vol. 50, No.3, pp.030210,-1-030210-3, 2011.

(9) Tissue and Cell Activation Using Micro-Spot Atmospheric Pressure Plasma Source

C. Tsutsui, T. Hirata, T. Komachi, T. Kishimoto, A. Mori, M. Akiya, T. Yamamoto, and A. Taguchi, Journal of Institute of Electrostatic Japan, 35, pp.20-24 (2011)

〔学会発表〕(計3件)

(1) Attempt of Relaxation Therapy of Lung, Brain, and Heart Disorders by Plasma-Ion Inhalation

T. Hirata, C. Tsutsui, and A. Mori; 26th Symposium on Plasma Science for Materials, 2013 (Invited Talk)

(2) Disease Treatments Specializing in the Regenerative Medicine Using Biomedical Plasma Techniques

T. Hirata, C. Tsutsui, and A. Mori; JSAP-MRS Joint Symposia for 2013 JSAP Autumn Meeting, 2013 (Invited Talk)

(3) Uteroplacental circulation and maternal abdominal aortic stiffness in normal and compromised pregnancy: its therapy by the atmospheric pressure plasma.

A. Mori, S. Murata, T. Hirata, Y. Kudo, M. Iwashita

International Federation of Placenta Associations Meeting. 2012.

〔図書〕(計1件)

先端医療を支える工学—生体医工学への誘い 2014
年 153 ページ

6 . 研究組織

(1)研究代表者

森 晃(Mori Akira)

東京都市大学、工学部、教授

研究者番号：60219996

(2)研究分担者

平田孝道(Hirata Takamichi)

東京都市大学、工学部、教授

研究者番号：80260420

(3)連携研究者

工藤美樹(Kudo Yoshiki)

広島大学、医学部、教授

研究者番号：80241082

岩下光利 (Iwashita Mitsutoshi)

杏林大学、医学部、教授

研究者番号：30124936