

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 7 日現在

機関番号：14501

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2014～2015

課題番号：26670382

研究課題名(和文) 大気圧低温プラズマの医療応用

研究課題名(英文) Medical application of atmospheric nonthermal plasmas.

研究代表者

東 健 (AZUMA, Takeshi)

神戸大学・医学(系)研究科(研究院)・教授

研究者番号：60221040

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,800,000円

研究成果の概要(和文)：プラズマの殺菌効果を経内視鏡的に効果的に発揮するために、プラズマをバブル状にして水中に導入したプラズマ機能水の効果を検討した。酸素、二酸化炭素、アルゴン、窒素、又は空気をを用いたプラズマの中で、酸素を含んだプラズマ機能水で106の大腸菌を殺菌することが出来た。酸素プラズマ機能水の殺菌効果を黄色ブドウ球菌、緑膿菌、セラチア菌、カンジタで検討したところ、4菌種とも10分以内に殺菌効果が確認された。内視鏡下に使用するために、超小型大気圧低温プラズマプローブを3Dプリンターにより作製した。今回、開発した超小型大気圧低温プラズマプローブのプラズマ照射による、胆管及び肝組織に傷害は認めなかった。

研究成果の概要(英文)：Various gas atmospheric nonthermal plasmas were generated using a multigas plasma jet to treat E.coli suspensions. Oxygen plasma had high sterilization effects, killed >6 log of E. coli. The liquid phase induced by oxygen plasma jet also had microbial inactivation against S. aureus, P. aeruginosa, C. albicans, and A. niger. We developed the plasma probe for the endoscopy treatment by 3D printer. The diameter of the probe was 3.7mm. We checked the effect of plasma exposure on the porcine bile duct and liver using the probe. The plasma exposure did not induce tissue damage.

研究分野：医歯薬学

キーワード：プラズマ 医用応用 殺菌作用

1. 研究開始当初の背景

従来、プラズマはガラスや金属の容器内の低気圧下で生成され、利用されてきた。これは主に、低気圧がプラズマ生成に適しているという理由によっている。しかし、今世紀に入り、大気圧下で生成されたプラズマが注目を集めている。大気圧プラズマは気圧の調整が不要であるため、放電で生成したプラズマを処理対象物に直接照射して処理することが可能である。しかし、従来はプラズマの温度が数千度と高かったため、廃棄物処理、ガス分解、溶射などに応用先が限られていたが、ここ数年、大気圧プラズマの研究と応用が注目を集めている。これは、室温に近い低温な大気圧プラズマが生成できるようになってきたためである。このため、様々な物質に自由にプラズマを照射する事が可能となった。ここ 10 年ほどの間に多数の大気圧プラズマ装置が研究され、国内外の企業から市販されている。しかし、多くの大気圧プラズマ装置では、安定なプラズマを生成しやすいヘリウムやアルゴンをプラズマガスに用いたもの、もしくは、特定のガスの利用に絞った装置になっている。そこで我々は、特定のガスだけでなく、各種のガスや様々な混合ガスを自由に大気圧プラズマ化できるマルチガスプラズマを開発してきた。さらに、プラズマの医療分野への応用に必須である、温度を自由かつ精密に制御できるプラズマ装置の開発に世界で初めて成功した。そこで、これまで考慮されてきたプラズマの殺菌効果を基に、大気圧低温プラズマの医療応用を検討することとした。

2. 研究の目的

大気圧低温プラズマの医療応用として、低温プラズマの殺菌効果を検証し、臨床上治療に難渋している化膿性細胆管炎、化膿性膵嚢胞への治療応用のため、内視鏡下の使用機器を開発することを目的として次のことを検討する。

- 1) 大気圧低温プラズマの殺菌効果のガス条件設定
- 2) 大気圧低温プラズマの内視鏡利用に対するデバイス開発
- 3) 生体ブタ胆管・膵管閉塞疾患モデルを用いた大気圧プラズマの胆管、膵管及び肝、膵組織への影響検討

3. 研究の方法

- 1) 大気圧低温プラズマの殺菌効果のガス条件設定

酸素、二酸化炭素、アルゴン、窒素、空気を用いたプラズマを用い、プラズマをバブル状にして水中に導入したプラズマ機能水の殺菌効果を大腸菌で検討した。

- 2) 大気圧低温プラズマの内視鏡利用に対するデバイス開発

内視鏡下に使用出来るように、直径 3.7mm

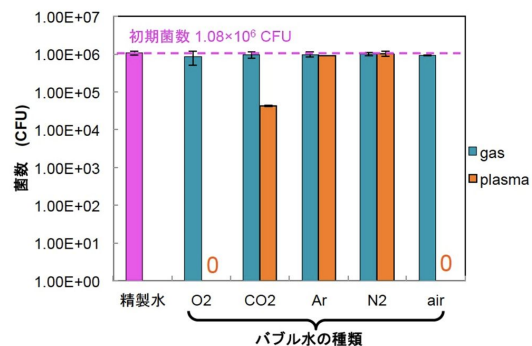
の超小型大気圧低温プラズマプローブを 3D プリンターにより作製した。

- 3) プラズマの胆管、膵管及び肝、膵組織への影響:我々はこれまでに、開発した胆管・膵管閉塞疾患モデルを用い、開発したプラズマプローブをドレナージチューブから挿入し、胆管、膵管及び肝、膵組織への影響を病理学的に検討した。

4. 研究成果

- 1) 大気圧低温プラズマの殺菌効果の温度・ガス条件設定

プラズマの殺菌効果を経内視鏡的に効果的に発揮するために、プラズマをバブル状にして水中に導入したプラズマ機能水の効果を検討した。酸素、二酸化炭素、アルゴン、窒素、空気を用いたプラズマを用いたところ、酸素を含んだプラズマ機能水では 900 μL、100 秒で 10⁶ の大腸菌を殺菌することが出来



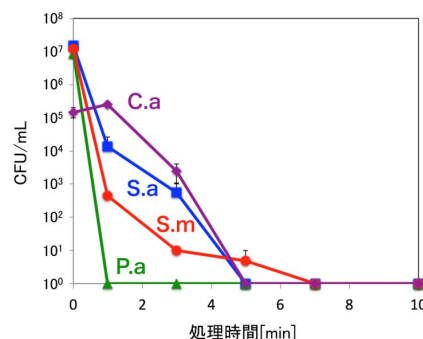
た (図 1)。

図 1 プラズマ機能水による大腸菌の殺菌

そこで、酸素プラズマ機能水の殺菌効果を黄色ブドウ球菌、緑膿菌、セラチア菌、カンジダの 4 菌株で検討した。今回ケラミフィルタを用い、プラズマをバブリングする装置を考案した。電源にオゾン発生用電源 5kV, 10mA を用いた。溶液は生理食塩水として 100 mL をガラスビーカーに入れ、ガス種は酸素、ガス流量 3L/min でプラズマを生成してバブリングを行った。4 菌種とも 10 分以内に 5log ~7log の殺菌効果が確認された(図 2)。

図 2 プラズマ機能水の殺菌作用

S.a:黄色ブドウ球菌、P.a;緑膿菌、S.m:セラチア菌、C.a:カンジダ菌



2)大気圧低温プラズマの内視鏡利用に対するデバイス開発

現在使用されているアルゴンプラズマ(高温)の内視鏡プローブを改良することとした。プラズマヘッド部内部の電極に 10kHz ~ 40MHz の高周波を印加してプラズマを生成する。プローブ外套を接地電位にしておくことで、二次放電が生じず安全にプラズマを照射することができる。本研究で、設定された混合ガスと温度において、内視鏡用のデバイスを作製し安全性について検討した。

今回、我々は、超小型大気圧低温プラズマプローブを3Dプリンターにより作製した。3DプリンターはCADの設計により、継ぎ目のない鎖や複雑な水路、切削加工では不可能な微小な構造などが金属や樹脂で精密に造形できる。3Dプリンターは小型の放電電極の中に微細な水冷チャンネルを配置するなどの自由な加工が出来るため、放電部の小型化とプラズマの高強度化を両立できる。また用途に合わせたプラズマ生成部の構造を短時間かつ安価に設計・作製できるため、表面処理などの産業応用のみならず、医療用機器としての利用も期待できる。従来の機械加工では作製が困難な直径 3.7mm、重さ 3.5g のチタン製の超小型大気圧低温プラズマプローブを造形し、高強度なプラズマを安定的に生成することを確認した。図3は作製した超小型大気圧低温プラズマプローブを示す。



図3 3Dプリンターで作製した超小型大気圧低温プラズマプローブ

3)生体ブタ胆管・膵管閉塞疾患モデルを用いた大気圧プラズマの胆管、膵管及び肝、膵組織への影響

我々はこれまでに、外科的に胆管、膵管の十二指腸開口部からドレナージチューブを挿入し、胆管・膵管閉塞疾患モデルを作製してきた。今回、開発した超小型大気圧低温プラズマプローブの照射による、肝組織への影響を病理学的に検討した。低温窒素プラズマ(約 40°C)を 120 秒照射しても胆管及び肝組織に傷害は認めなかった。

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1件)

1. Takamatsu T, Miyahara H, Azuma T, Okino A. Decomposition of tetrodotoxin using multi-gas plasma

jet. J Toxicol Sci 39:281-284, 2014.

[学会発表](計22件)

1. Toshihiro Takamatsu*, Kodai Uehara, Yota Sasaki, Hidekazu Miyahara, Yuriko Matsumura, Atsuo Iwasawa, Takeshi Azuma*, Masahiro Kohno, Akitoshi Okino. Investigation of Bacterial Inactivation by Reactive Species using Various Gas Plasmas. 5th Euro-Asian Pulsed Power Conference 2014, 2014年9月8日~12日、熊本大学(熊本県)
2. Hiroaki Kawano, Takaya Oshita, Toshihiro Takamatsu*, Yuriko Matsumura, Hidekazu Miyahara, Atsuo Iwasawa, Takeshi Azuma*, Akitoshi Okino. Influence of Plasma Gas Temperature on Sterilizing Effect and Active-Species Generation. 5th Euro-Asian Pulsed Power Conference 2014, 2014年9月8日~12日、熊本大学(熊本県)
3. 高松利寛*, 上原広大, 佐々木洋太, 松村有里子, 岩澤篤郎, 宮原秀一, 河野雅弘, 東健*, 沖野晃俊, 様々なガス種の低温プラズマによる殺菌及び毒素の分解効果の検証, 日本防菌防黴学会第41回年次大会, 2014年9月24日25日, きゅりあん(東京都)
4. 小林智裕, 渡辺洋輔, 大下貴也, 高松利寛*, 松村有里子, 宮原秀一, 岩澤篤郎, 東健*, 沖野晃俊, 各種ガスのプラズマを導入した水による一般細菌の殺菌効果検証, 日本防菌防黴学会第41回年次大会, 2014年9月24日25日, きゅりあん(東京都)
5. 佐々木洋太, 高松利寛*, 上原広大, 大下貴也, 宮原秀一, 岩澤篤郎, 松村有里子, 東健*, 河野雅弘, 沖野晃俊, 各種ガスプラズマ照射で生成される液中活性酸素種の ESR 測定, 日本防菌防黴学会第41回年次大会, 2014年9月24日25日, きゅりあん(東京都)
6. 川野浩明, 大下貴也, 高松利寛*, 松村有里子, 宮原秀一, 岩澤篤郎, 東健*, 沖野晃俊, プラズマガス温度が殺菌効果および活性種生成量に与える影響, 日本防菌防黴学会, 2014年9月24日25日, きゅりあん(東京都)
7. 渡辺洋輔, 大下貴也, 高松利寛*, 松村有里子, 宮原秀一, 岩澤篤郎, 東健*, 沖野晃俊, プラズマバブリングによる活性酸素種の水中導入と各種細菌の不活化, 日本防菌防黴学会第41回年次大会, 2014年9月24日25日, きゅりあん(東京都)
8. 川野浩明, 大下貴也, 高松利寛*, 松村有里子, 宮原秀一, 岩澤篤郎, 東健*, 沖野晃俊, 殺菌効果および活性種生成量のプラズマガス温度依存性の調

- 査, 電気学会 プラズマ/パルスパワー/放電 合同研究会, 2014年10月24日~26日, コンパルホール(大分県)
9. Toshihiro Takamatsu*, Yota Sasaki, Hidekazu Miyahara, Yuriko Matsumura, Atsuo Iwasawa, Masahiro Kohno, Takeshi Azuma*, Akitoshi Okino. Investigation of ROS Production Process using Multi-Gas Plasma. THE 21ST INTERNATIONAL SPACC SYMPOSIUM, 2014年10月31日~11月3日, 工学院大学(東京都)
 10. 渡辺 洋輔, 大下 貴也, 高松 利寛*, 小林 智裕, 松原裕樹, 大島悟, 神谷哲, 松村 有里子, 宮原 秀一, 岩澤 篤郎, 東 健*, 沖野 晃俊, Water sterilization and clarification by multi-gas plasma-bubbling, 第24回日本MRS年次大会, 2014年12月10日~12日, 横浜市開港記念会館(神奈川県)
 11. 小林智裕, 渡辺洋輔, 大下貴也, 高松利寛*, 松原裕樹, 大島悟, 神谷哲, 松村有里子, 宮原秀一, 岩澤篤郎, 東健*, 沖野晃俊, 様々なガスを用いたプラズマバブル水の殺菌効果調査, 第24回日本MRS年次大会, 2014年12月10日~12日, 横浜市開港記念会館(神奈川県)
 12. 高松利寛*, 佐々木洋太, 宮原秀一, 岩澤篤郎, 松村有里子, 河野雅弘, 東健*, 沖野晃俊, マルチガスプラズマジェットを用いた殺菌効果に寄与する活性種の調査, 第24回日本MRS年次大会, 2014年12月10日~12日, 横浜市開港記念会館(神奈川県)
 13. 小林智裕, 渡辺洋輔, 大下貴也, 高松利寛*, 松原裕樹, 大島悟, 神谷哲, 松村有里子, 宮原秀一, 岩澤篤郎, 東健*, 沖野晃俊, プラズマバブル水の活性種測定と細菌不活化効果の調査, 平成26年度第4回電気学会東京支部神奈川支部研究会, 2015年2月16日, 横浜国立大学(神奈川県)
 14. 川野浩明, 大下貴也, 高松利寛*, 松村有里子, 宮原秀一, 岩澤篤郎, 東健, 沖野晃俊 温度制御プラズマ装置を用いたプラズマガス温度が殺菌効果に与える影響の調査 第90回日本医療機器学会大会, 2015年5月29日30日, パシフィコ横浜(神奈川県)
 15. 川野浩明, 渡辺洋輔, 佐々木洋太, 高松利寛*, 松村有里子, 宮原秀一, 岩澤篤郎, 東健, 沖野晃俊 各種ガスプラズマによる水中殺菌とESRおよび吸光光度法による活性種測定, 平成27年度日本分光学会年次講演会, 2015年6月1日~3日, 東京工業大学 大岡山キャンパス デジタル多目的ホール(東京都)
 16. 小林智裕, 渡辺洋輔, 大下貴也, 高松利寛*, 松原裕樹, 大島悟, 神谷哲, 松村有里子, 宮原秀一, 岩澤篤郎, 東健, 沖野晃俊 殺菌・洗浄を目的としたプラズマバブル水の活性種測定, 平成27年度日本分光学会年次講演会, 2015年6月1日~3日, 東京工業大学 大岡山キャンパス デジタル多目的ホール(東京都)
 17. H. Kawano, T. Oshita, T. Takamatsu*, Y. Matsumura, H. Miyahara, A. Iwasawa, T. Azuma and A. Okino, Influence of plasma gas temperature on inactivation effect to various bacteria. ISPC22, 2015年7月5日~10日, ベルギー
 18. 高松利寛*, 佐々木洋太, 松村有里子, 岩澤篤郎, 宮原秀一, 河野雅弘, 東健, 沖野晃俊 様々なガス種のプラズマによる殺菌効果と細菌の電子顕微鏡観察 日本防菌防黴学会 第42回年次大会, 2015年9月1日2日, 千里ライフサイエンスセンター(大阪府)
 19. 川野浩明, 堂山英之, 高松利寛*, 松村有里子, 宮原秀一, 岩澤篤郎, 東健, 沖野晃俊 10-80の大気圧プラズマを用いた一般細菌および芽胞形成菌の不活化 日本防菌防黴学会 2015年9月1日2日, 千里ライフサイエンスセンター(大阪府)
 20. 小林智裕, 菅原修馬, 川野浩明, 高松利寛*, 松村有里子, 宮原秀一, 岩澤篤郎, 東健, 沖野晃俊 ガス種及びガス温度がプラズマバブル水中の活性種に与える影響 第76回応用物理学会秋季学術講演会, 2015年9月13日~16日, 名古屋国際会議場(愛知県)
 21. 堂山英之, 川野浩明, 小林智裕, 高松利寛*, 松村有里子, 宮原秀一, 岩澤篤郎, 東健, 沖野晃俊 各種ガスプラズマによる水中殺菌と細菌の電子顕微鏡観察 第76回応用物理学会秋季学術講演会, 2015年9月13日~16日, 名古屋国際会議場(愛知県)
 22. T. Takamatsu*, H. Kawano, H. Miyahara, T. Azuma and A. Okino Development of atmospheric non-thermal mini-plasma jet created by a 3D printer, 第25回日本MRS年次大会, 2015年12月8日~10日, 横浜市開港記念会館(神奈川県)
- 〔その他〕
ホームページ等
6. 研究組織
(1)研究代表者
東 健 (AZUMA, Takeshi)
神戸大学・大学院医学研究科・教授
研究者番号: 60221040

(2)研究分担者

有坂 好史 (ARISAKA, Yoshifumi)
神戸大学・大学院医学研究科・准教授
研究者番号： 50319539

沖野 晃俊 (OKINO, Akitoshi)
東京工業大学・総合理工学研究科・准教授
研究者番号： 60262276

森田 圭紀 (MORITA, Yoshinori)
神戸大学・大学院医学研究科・講師
研究者番号： 60420460