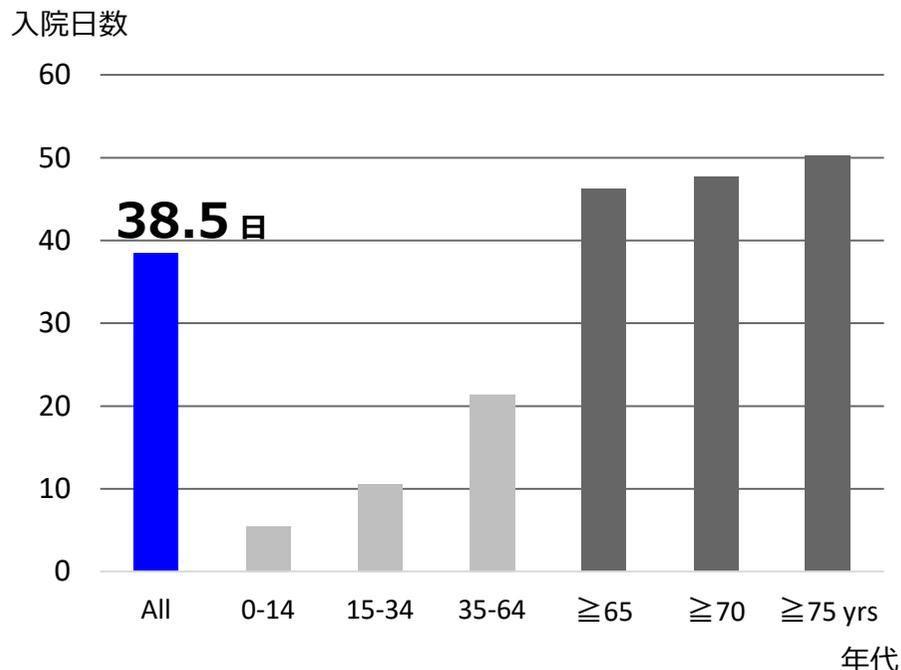


# 低温大気圧プラズマを利用した 骨再生および腱再生促進装置

大阪公立大学 医学部 大学院医学研究科  
整形外科学・総合医学教育学  
准教授 豊田 宏光

2023年10月31日

# 骨再生促進技術の開発



- 平成29年(2017) /令和2年(2020)患者調査の概況(厚生労働省)によると、本邦における骨折患者数は**677,000人**と試算されており、人口1万人あたり53.43人、60歳以上が66.3%、**介護が必要となった要因の12.5%**を占めている
- また、入院治療が必要となった場合の平均治療期間は38.5日であり、高齢になるほど、平均入院期間は長くなっている

- **超高齢社会**の到来に伴い、**運動器疾患は増加**の一途をたどっており、それに対する手術件数も増加している。
- 年齢にかかわらず、部位にかかわらず、骨折治療の主目的は骨癒合させることである。
- 骨癒合の促進は、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**に多いに貢献する

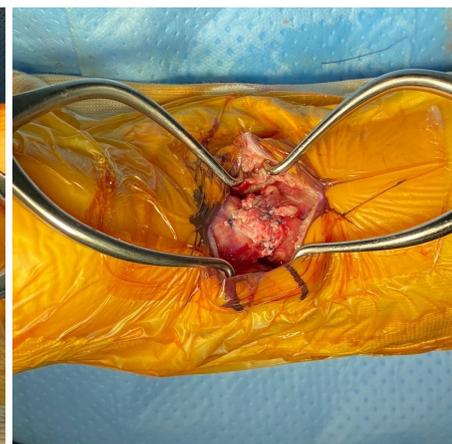
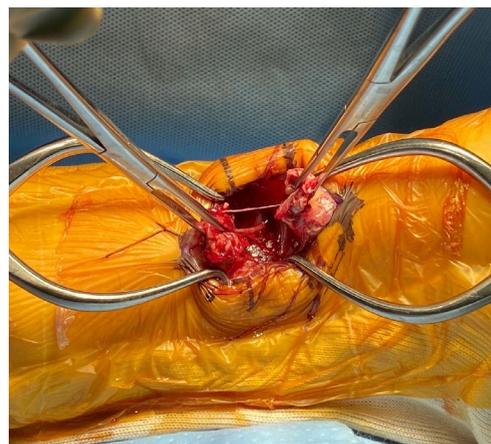


# 骨再生促進技術の開発

骨移植	<ul style="list-style-type: none"> <li>自家骨</li> <li>同種骨</li> <li>DBM : demineralized bone matrix</li> <li>人工骨</li> </ul>	現状、広く用いられている
		骨採取部への追加侵襲、疼痛 量に制限がある 同種骨、人工骨には骨形成能がない 同種骨移植には抗原性、感染の問題
サイトカイン療法	局所 <ul style="list-style-type: none"> <li>BMP : bone morphogenetic protein</li> <li>IGF : insulin-like growth factor</li> <li>EP4 : prostaglandin E2 receptor 4</li> <li>VEGF : vascular endothelial growth factor</li> <li>FGF : fibroblast growth factor</li> <li>PRP : platelet-rich plasma</li> </ul> 全身 (骨粗鬆症治療薬) <ul style="list-style-type: none"> <li>PTH : parathyroid hormone</li> <li>Humanized monoclonal anti-sclerostin</li> <li>Anti-Dickkopf-related protein 1 antibodies (DKK1)</li> </ul>	骨芽細胞分化促進、骨細胞への誘導 軟骨細胞の分化 内軟骨性・膜性骨化の促成 血管新生 局所と全身の相乗効果
		Burst release に関連した炎症 長期包埋によるサイトカインの変性 反応や骨形成の空間的制御困難 Drug delivery system (DDS) の開発
培養細胞移植	<ul style="list-style-type: none"> <li>骨髄由来間葉系細胞(bone marrow stem cells : BMSC)</li> <li>脂肪由来幹細胞(adipose derived stem cells : ADSC)</li> <li>血管内皮前駆細胞(endothelial progenitor cell)</li> <li>iPS細胞(induced pluripotent stem cells)</li> </ul>	細胞数の増加 骨芽細胞系への分化誘導
		移植局所での細胞生存 移植に必要な細胞を確保するために要する時間およびコストやドナーによる細胞活性の差異
遺伝子治療	<ul style="list-style-type: none"> <li>BMP</li> <li>PDGF : platelet-derived growth factor</li> <li>IGF</li> <li>Shh : sonic hedgehog</li> </ul>	必要期間に安定した遺伝子発現
		遺伝子導入効率 ホストDNA への組み込みによる各種副作用
生物物理学的アプローチ	<ul style="list-style-type: none"> <li>低出力超音波パルス (Low-intensity pulsed ultrasonography : LIPUS)</li> <li>電磁場刺激療法</li> </ul>	超音波の高い周波数の音圧の波動(脈波)が骨折部位へ到達し、治癒を促進する 骨改変のいずれの細胞性事象も促進する
		広く臨床で使用されているが、近年否定的な見解もある
その他	<ul style="list-style-type: none"> <li>高圧酸素療法</li> <li>炭酸ガス経皮的吸収</li> </ul>	局所血流の増加

# 靭帯再生促進技術の開発

- アキレス腱損傷や肩腱板断裂、膝や肘関節の靭帯損傷などが生じた場合、保存治療であれば装具などによる固定、手術加療であれば縫合術や再建術を行う。
- 現状の治療技術では手術を施行したとしても損傷部の回復までの期間は腱、靭帯に内在する再生能力に依存し、3～8週間の安静期間や3～6カ月間のリハビリテーション期間を必要するため、患者のQOLが低下していた。
- 日本整形外科学会の報告では、50歳以上の年齢層において約1/4の症例に腱板断裂が生じていると報告されており、その手術件数は12,000件/年と年々増加してきている



# 靱帯再生促進技術の開発

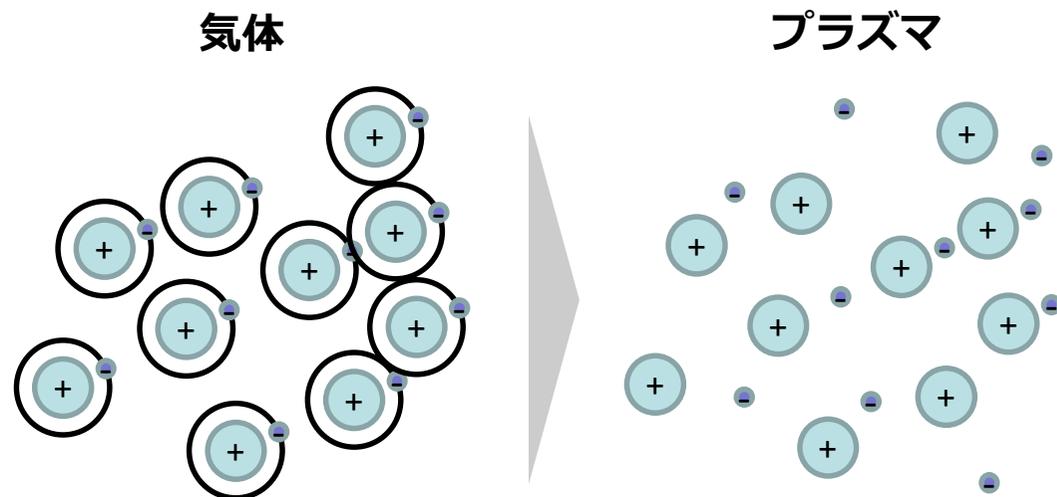
<p><b>靱帯移植</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>自家腱移植</li> <li>ポリヒドロキシアルカノエート</li> <li>他家無細胞性真皮移植材料</li> <li>豚小腸粘膜下組織</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>再建材料として自家腱移植は広く用いられている</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>採取部の機能低下、疼痛</li> <li>同種組織や異種組織には抗原性、感染の問題</li> <li>拒絶反応のリスクやアレルギー反応</li> <li>腱再生促進作用はない</li> <li>再建材料、医療材料であり、部分断裂や損傷などの治療には用いられず、本発明と直接競合するものではない</li> </ul>
<p><b>サイトカイン療法</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>多血小板血漿療法</li> <li>自家多血小板血漿</li> <li>多血小板血漿クロット</li> <li>自己蛋白質溶液</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>軟部組織の再生促進に用いられている</li> <li>患者の血液成分から細胞に対して分化、増殖、細胞外基質の産生を促進する成分を抽出する</li> <li>比較的安価に作成できる</li> <li>海外ではすでに様々なランダム化比較試験（RCT）が行われて有効性に関する検証が行われている</li> <li>PRPを凍結乾燥させたものを使用するPRP-FD療法も存在する</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>PRPに含まれる成長因子の濃度は個体差が大きい</li> <li>精製方法により細胞数やサイトカインの濃度が異なる サイトカイン濃度の差異が結果に影響を与える可能性がある</li> <li>PRPの効果は論文により異なり、エビデンスにまだ乏しい</li> <li>後療法短縮までには至っていない</li> <li>穿刺部位の疼痛や炎症、神経障害、反応性の関節炎、筋や腱の断裂といった合併症が報告されている</li> <li>細胞加工設備の設置やその維持費、特定細胞加工物の製造許可の取得申請が必要</li> </ul>
<p><b>培養細胞移植</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>骨髄穿刺濃縮細胞液</li> <li>間葉系幹細胞</li> <li>脂肪由来再生細胞</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>患者自身もしくは他者からの細胞を培養・加工し移植する治療</li> <li>移植細胞自体が生着、残存し修復組織を構成する</li> <li>移植細胞が増殖因子を分泌し修復を刺激する</li> <li>細胞数の増加</li> <li>分化誘導が促進</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>移植に必要な細胞を確保するためにそれなりの時間を要する（通常数週間を要する）</li> <li>ドナーによる細胞活性の差異がある</li> <li>増幅培養により間葉系細胞の増殖能、分化能が低下することが知られている</li> <li>細胞加工設備の設置やその維持費、特定細胞加工物の製造許可の取得申請が必要</li> <li>作業量が膨大であり、かつ煩雑 品質管理が重要だが煩雑</li> <li>移植には、スキャフォールド（細胞の足場素材）、人工培地、サイトカインが必要。</li> <li>実施施設は細胞調製室を備える必要がある</li> <li>生体外で培養したMSCを損傷部に移植するため感染、汚染のリスクがある</li> <li>他者の細胞を使用した場合は抗原性、免疫反応、腫瘍原性の問題がある</li> <li>靱帯や腱付着部の修復への報告はほとんどない</li> <li>穿刺部位の疼痛や炎症、神経障害、反応性の関節炎、筋や腱の断裂といった合併症が報告されている</li> </ul>
<p><b>生物物理学的アプローチ</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>低周波電気刺激</li> <li>体外衝撃波治療</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>電気刺激を与えることラットのアキレス腱損傷モデルの治癒促進が得られたという研究報告がある</li> <li>コラーゲン合成の増加、血管新生の増加がもたらされたと報告されている</li> <li>体外衝撃波治療は腱付着部の疼痛治療機器として承認されている 衝撃波による力学的刺激が組織の活性、関連する成長因子の産生を促進すると報告されている</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>電氣的刺激による疼痛</li> <li>低周波電気刺激を用いた腱損傷治療に関する基礎、臨床研究はほとんどない</li> <li>体外衝撃波治療の重篤な合併症は少ないが、骨折を起こした症例や骨頭壊死、腱断裂をもたらしたとの報告がある</li> <li>効果に関するエビデンスは限定的とされている。疼痛に関する限定的なエビデンスはあるが、損傷部の治癒促進をもたらしたというエビデンスはない</li> </ul>



# 低温大気圧プラズマ技術の応用

## プラズマとは

- 物質は通常、電子が原子核の周りを動き回り電気的には中性の状態が存在している。
- しかし、気体の状態になっている物質の温度をさらに上げ、およそ数千℃という非常に高いエネルギーの状態にまでもっていくと、原子核の周りを回っていた電子が原子から離れ(電離され)、不安定な状態になる。この状態がプラズマである。
- プラズマとは、固体、液体、気体に次ぐ物質の第4の状態と言われ、概念的には気体よりもさらにエネルギーが高い“状態”を指す。
- 太陽表面で発生するプロミネンスや地球の大気中に発生するオーロラや雷などはプラズマによる自然現象であり、蛍光灯やろうそくなど身近なところにもプラズマの応用例がある。



# 低温大気圧プラズマ技術の応用



近年は、真空環境にしなくても、室温と変わらない温度でもプラズマを発生させることが可能となり、プラスチックなど熱に弱い素材の表面加工にも用いられるようになり、応用範囲が広がっている。

## 原理

## 特徴

真空プラズマ	原理	特徴
大気圧プラズマ	<ul style="list-style-type: none"> <li>密閉された装置内で圧力を下げ、約100Pa(1mbar)の付近になるとプラズマは室温で生成・維持させることができる。</li> <li>低温プラズマ、非平衡プラズマと呼ばれるが、電子エネルギーは7~8000Kの温度に相当し、媒体(プロセスガス)に高い反応性を与える</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>少量のガスでも処理を行える。</li> <li>低電圧でもプラズマを生成できる</li> <li>容積あたりの粒子数が少ないため、分子間の衝突が起きる回数は少なくプラズマにとって適度な状態が保ちやすい。</li> </ul>
熱平衡プラズマ	<ul style="list-style-type: none"> <li>1対の電極に窒素や希ガスなどのガスを流し、高周波・高電圧を印加することにより、大気圧状態でプラズマを発生させる</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>大気圧状態で放電させるため、連続的に処理することが可能</li> <li>真空ポンプや大型チャンバー等の真空設備が不要</li> <li>液体にも使用可能</li> </ul>
非(熱)平衡プラズマ	<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ 高温を発生 数千~数万度</li> <li>✓ 電子、イオン、中性粒子のすべての温度が非常に高い</li> <li>粒子間の衝突頻度が高い大気圧下では、電子やイオンから中性粒子へのエネルギー移動が進み、電子、イオン、中性粒子の温度が近くなり、熱的に平衡な状態のプラズマになる</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ 低温での運用が可能 室温~数千度前後</li> <li>✓ 電子のみ高く、イオンや中性粒子の温度は低い</li> <li>プラズマが高温になるためにはミリ秒といった比較的長い時間が必要となる。この時間スケールの差を利用して低温プラズマを生成する</li> <li>荷電粒子や活性種が多いにもかかわらずガス温度が低くなる</li> <li>①印加する電界を時間的に区切る、②放電電流を短時間で断つ、③ガス流を用いて放熱することで、加熱を軽減する</li> <li>誘電体バリア放電とパルス放電がある。</li> </ul>

# 低温大気圧プラズマ技術の応用

## 【工業的アプローチ】

洗浄

親水化

接着性の改善

## 【生物学的アプローチ】

インプラントの改質、Drug deliveryの応用

Theapsak S et al: ACS Appl Mater Interfaces 2012 Moriguchi Y et al: PLOS ONE 2018 Tan F et al: Acta Biomater. 2020

微生物学 バイオフィルム除去と殺菌効果

Fridman A et al: Plasma Medicine; JohnWiley & Sons 2013  
Gilmore BF: Trends Biotechnol. 2018 Tabares FI et al: Molecules 2021 Lv Xet al: Molecules 2022

皮膚科 創傷治癒の促進、皮膚のアンチエイジング効果

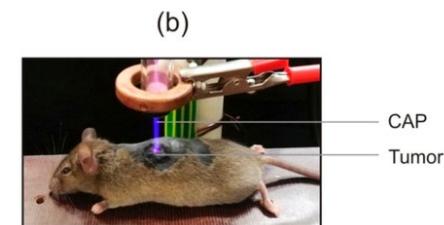
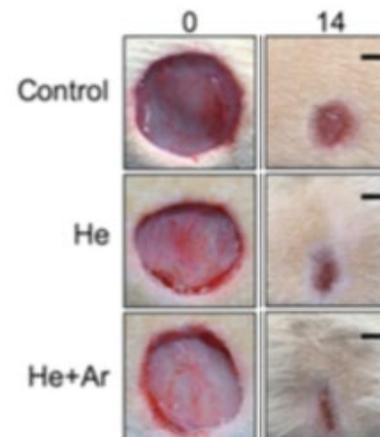
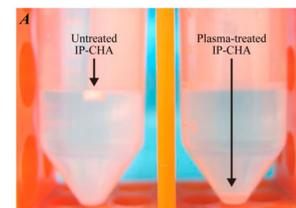
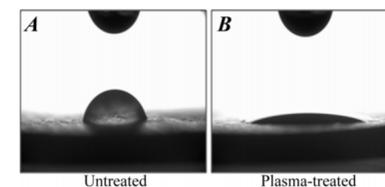
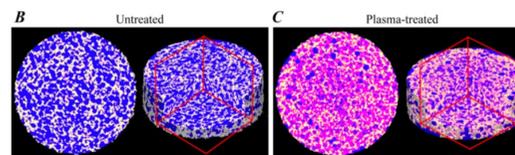
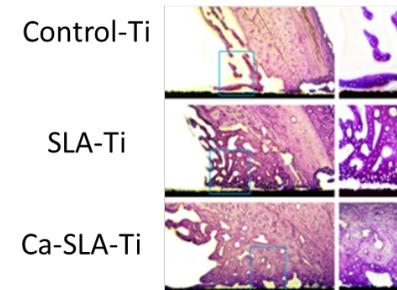
Dobrynin D et al: New J Phys 2009 Heinlin et al., J. German Soc. Dermatol. . Sci., 2010 Reuter S et al: Plasma Sci. 2012 Shahbazi RZ et al: Phys Eng Sci Med 2018 Weishaupt C et al: Clin. Plasma Med 2018 Bernhardt T: Oxid Med Cell Longev. 2019

腫瘍 癌細胞選択的な細胞死の促進

Hirst AM: Tumor Biology. 2016 Mizuno K et al: J Phy D Appl Phys 2017 Metelmann HR et al: Int Clin Plas Med 2017 Yan D et al: Sci Rep 2018 Tanaka H et al: Sci Rep 2019

植物 発芽から収穫までの生育特性の改善

Koga et al, APEX, 2016 Hashizume et al, Plasma Proc. Poly. 2020



# 低温大気圧プラズマのヒトへの応用

Isbary G, et al. A first prospective randomized controlled trial to decrease bacterial load using cold atmospheric argon plasma on chronic wounds in patients. *Br J Dermatol.* 2010

Isbary G, et al. Successful and safe use of 2 min cold atmospheric argon plasma in chronic wounds: results of a randomized controlled trial. *Br J Dermatol.* 2012

感染した創部に使用することで有効性を示した (RCTドイツ)

Heinlin J, et al: Randomized placebo-controlled human pilot study of cold atmospheric argon plasma on skin graft donor sites. *Wound Repair Regen.* 2013

感染していない創部に使用しても有効、安全であることを示した (RCTドイツ)

Ulrich C et al: Clinical use of cold atmospheric pressure argon plasma in chronic leg ulcers: A pilot study. *J Wound Care.* 2015

感染を伴う下腿潰瘍に対して使用 通常の治療と非劣勢 (ドイツ)

Kisch T, et al: Improvement of cutaneous microcirculation by cold atmospheric plasma (CAP): Results of a controlled, prospective cohort study. *Microvasc Res.* 2016

Kisch T, et al: The repetitive use of non-thermal dielectric barrier discharge plasma boosts cutaneous microcirculatory effects. *Microvasc Res.* 2016

健康人の皮膚に低温大気圧プラズマを照射することで微小循環血流量が上昇 (ドイツ)

Hartwig S et al: Treatment of Wound Healing Disorders of Radial Forearm Free Flap Donor Sites Using Cold Atmospheric Plasma: A Proof of Concept. *J Oral Maxillofac Surg.* 2017

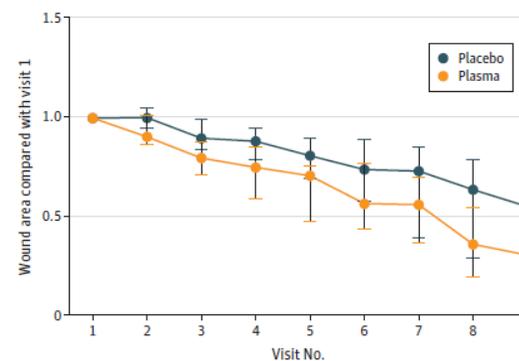
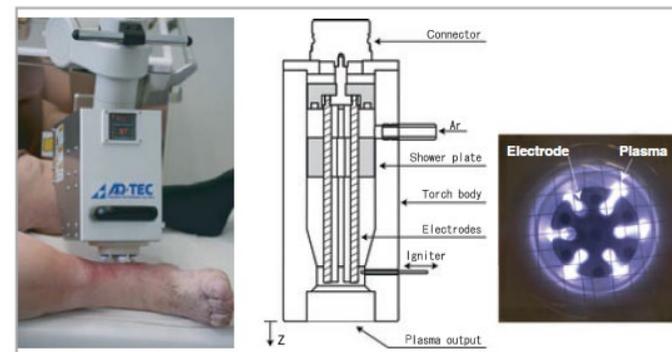
皮弁による再建術が必要な皮膚、軟部組織欠損部に使用し良好な経過 (ドイツ)

Mirpour S, et al: Cold atmospheric plasma as an effective method to treat diabetic foot ulcers: A randomized clinical trial. *Sci Rep.* 2020

糖尿病性足趾潰瘍の治療に使用し有効性を示した (RCT オランダ、イラン)

Stratmann B, et al: Effect of Cold Atmospheric Plasma Therapy vs Standard Therapy Placebo on Wound Healing in Patients With Diabetic Foot Ulcers: A Randomized Clinical Trial. *JAMA Netw Open.* 2020

糖尿病性足趾潰瘍の治療に使用し有効性を示した (RCTドイツ)



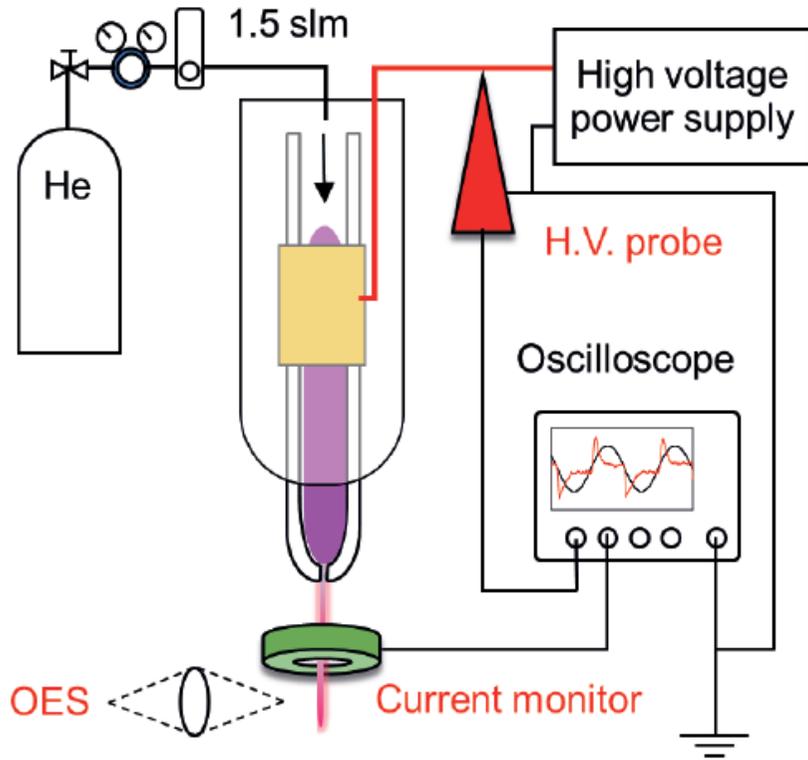
# 新技術の概要

## 低温大気圧プラズマ技術を 運動器再生医療に応用すること

- 本技術は運動器の重要な組織である骨、腱、靭帯、腱骨連結部の組織再生を促進するための方法及び装置に関するものである。発明者らはすでにウサギの骨組織の欠損箇所到低温大気圧プラズマを照射する場合としない場合とで、骨の再生が促進されたと考えられる実験例から、効率的治療が期待できることを見いだしている。
- 本発明が解決しようとする課題は、生体組織に直接照射可能な大気圧低温プラズマを用いて、**骨、腱や靭帯**の損傷部位の再生効率を高める技術を提供することである。

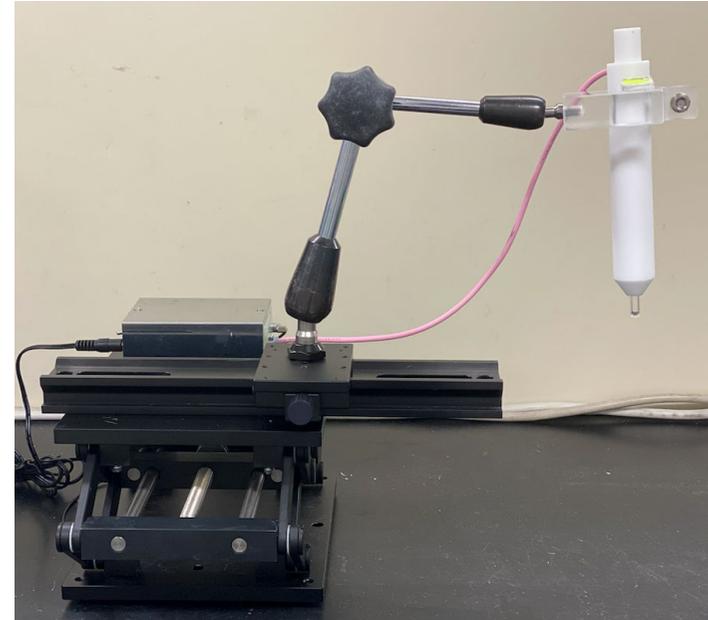
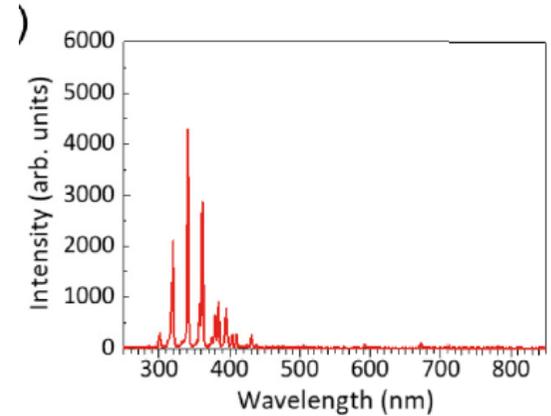
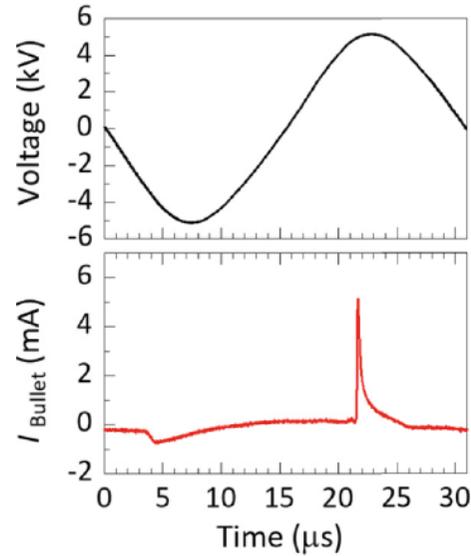


Shimatani A, Toyoda H et al: Plos One 2021



## Capillary dielectric barrier discharge helium plasma jet.

*Koike S et al: Jpn. Jpn J Appl Phy 2004*  
*Oh J.-S et al: Jpn J Appl Phy 2016*  
*Oh J.-S et al: J Phys D Appl Phys 2016*



ヘリウムガスを用いたペンシル型・誘電体バリア放電式の低温大気圧プラズマ照射装置を用いて検証



Shimatani A, Toyoda H et al: Plos One 2021



## 骨欠損モデル

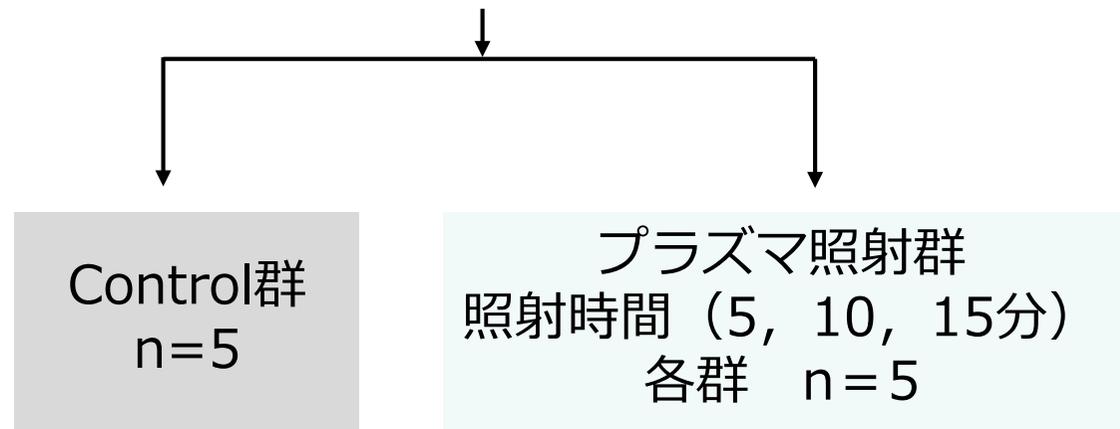
### Critical-size bone defects model

- 自然修復されることがない巨大な骨欠損を作成
- ウサギ：10mmのウサギ尺骨の骨欠損

*Takahata T. et al: Biomed Mater 2015*

ニュージーランド白色家兔（メス、13-16週齢、  
体重：3~3.5kg）

長さ1cmの骨欠損を両側尺骨骨幹部に作製

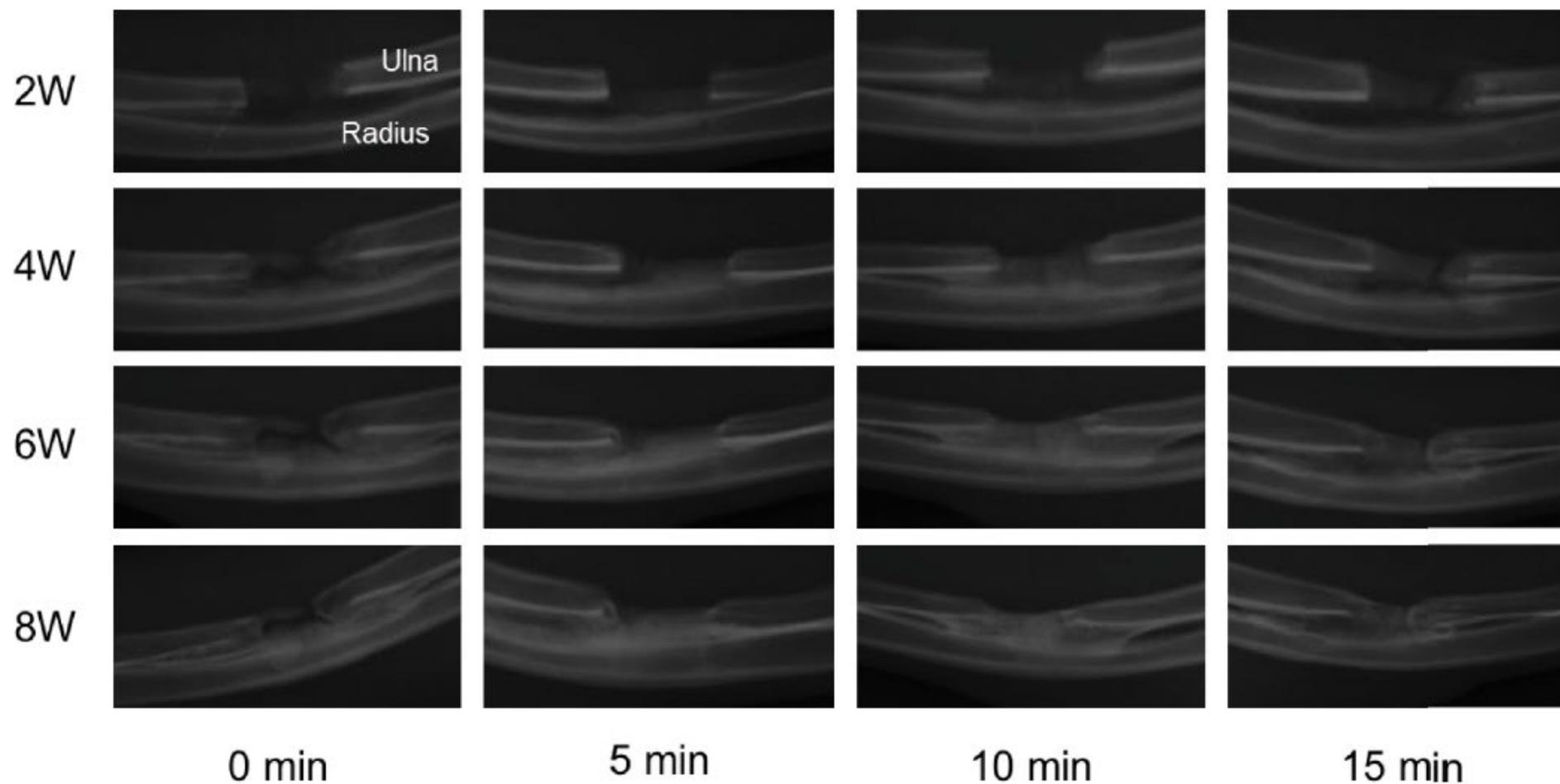


Critical-size bone defects modelの骨欠損部にプラズマを直接照射



Shimatani A, Toyoda H et al: Plos One 2021

## X線学的検討



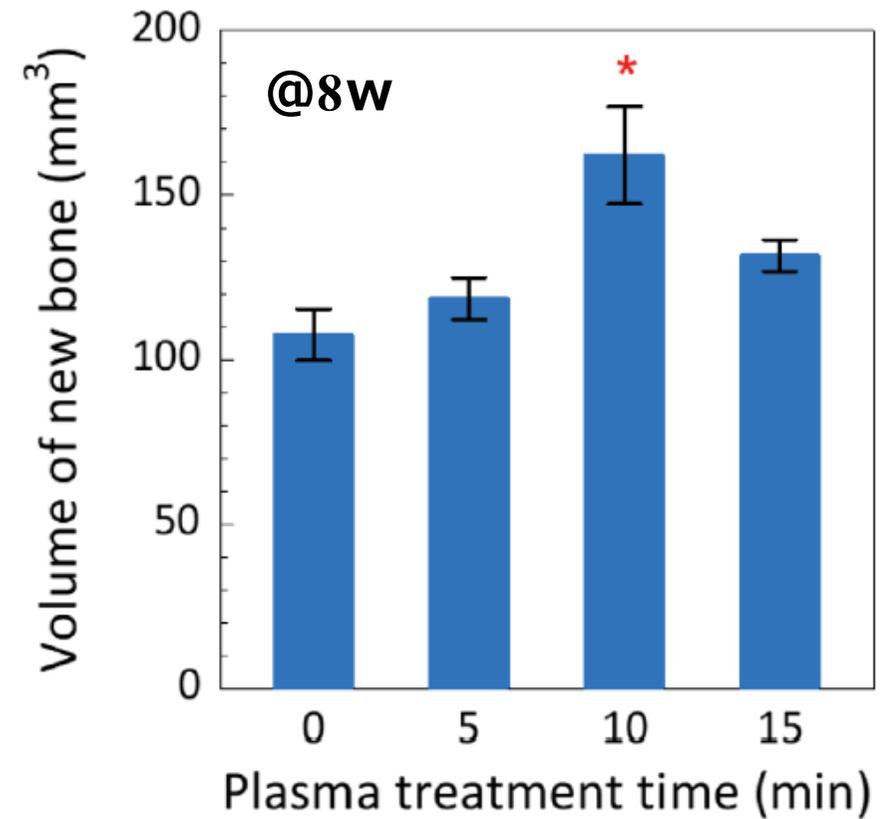
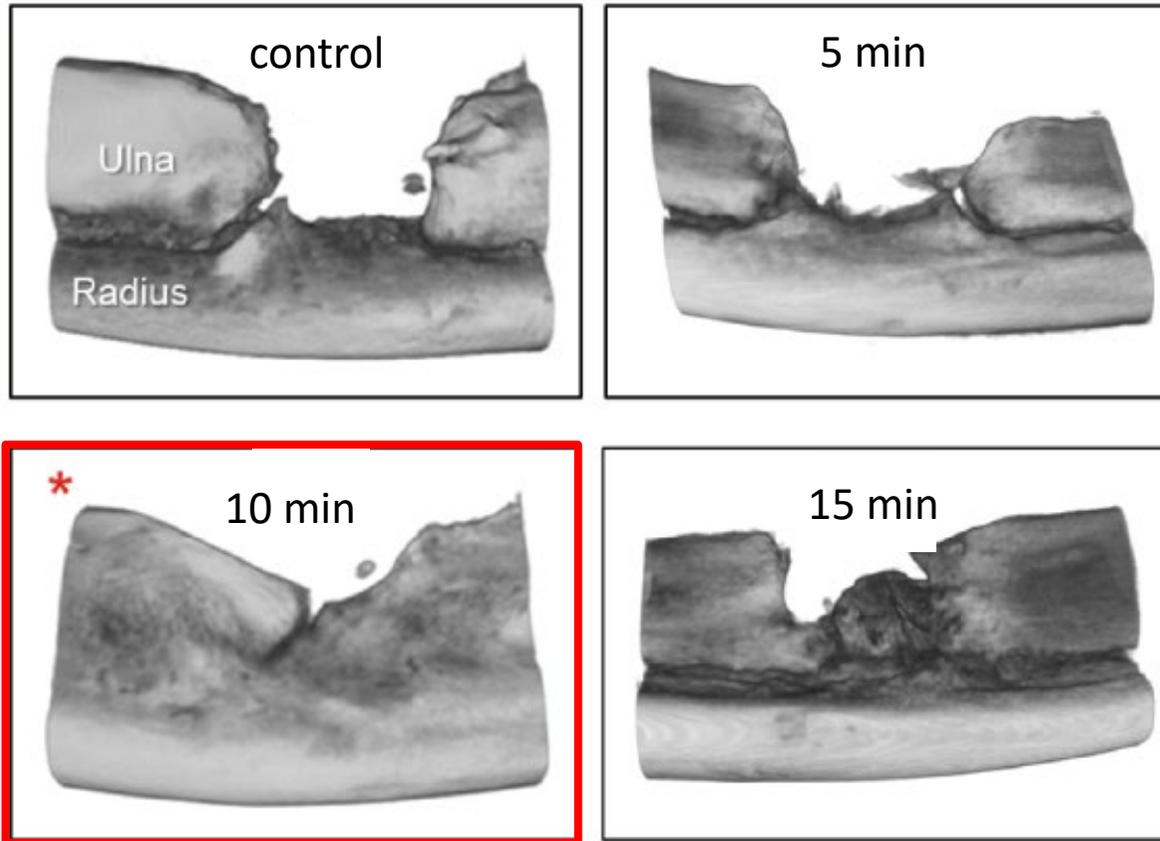
コントロール群の骨形成はわずか プラズマ照射群では旺盛な骨形成



Shimatani A, Toyoda H et al: Plos One 2021

## X線学的検討( $\mu$ CT)

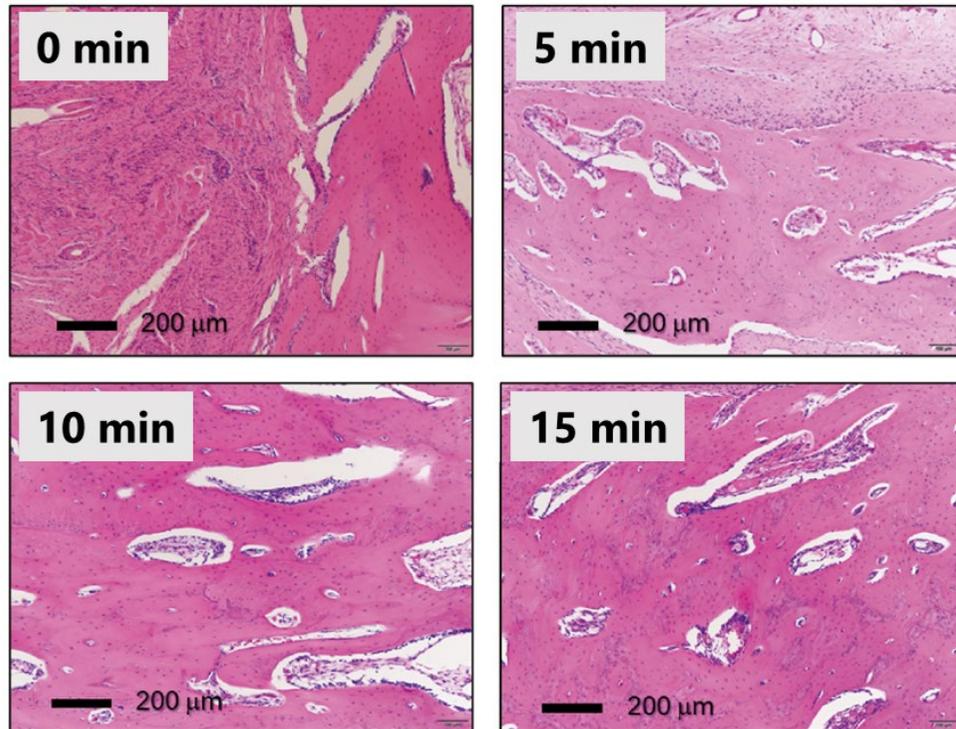
@8w



プラズマ10分照射群では1.5倍、骨形成量が増加

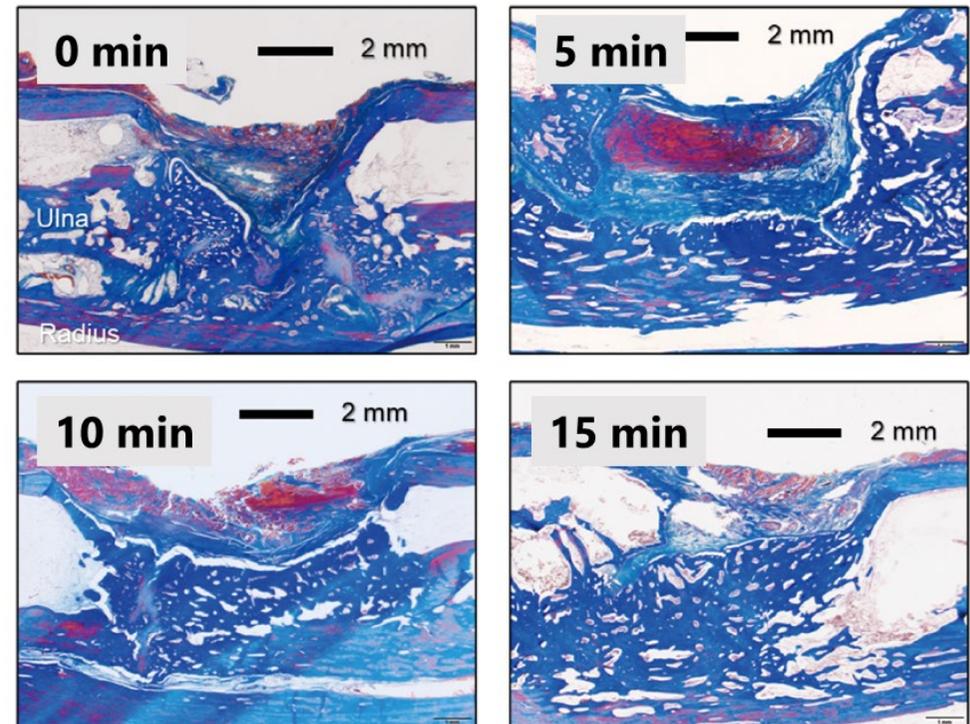
Shimatani A, Toyoda H et al: Plos One 2021

## HE染色



細胞核、軟骨、細菌など：青藍色(ヘマトキシリン)  
細胞質、結合組織、筋組織：赤～紅色(エオジン)

## MT染色



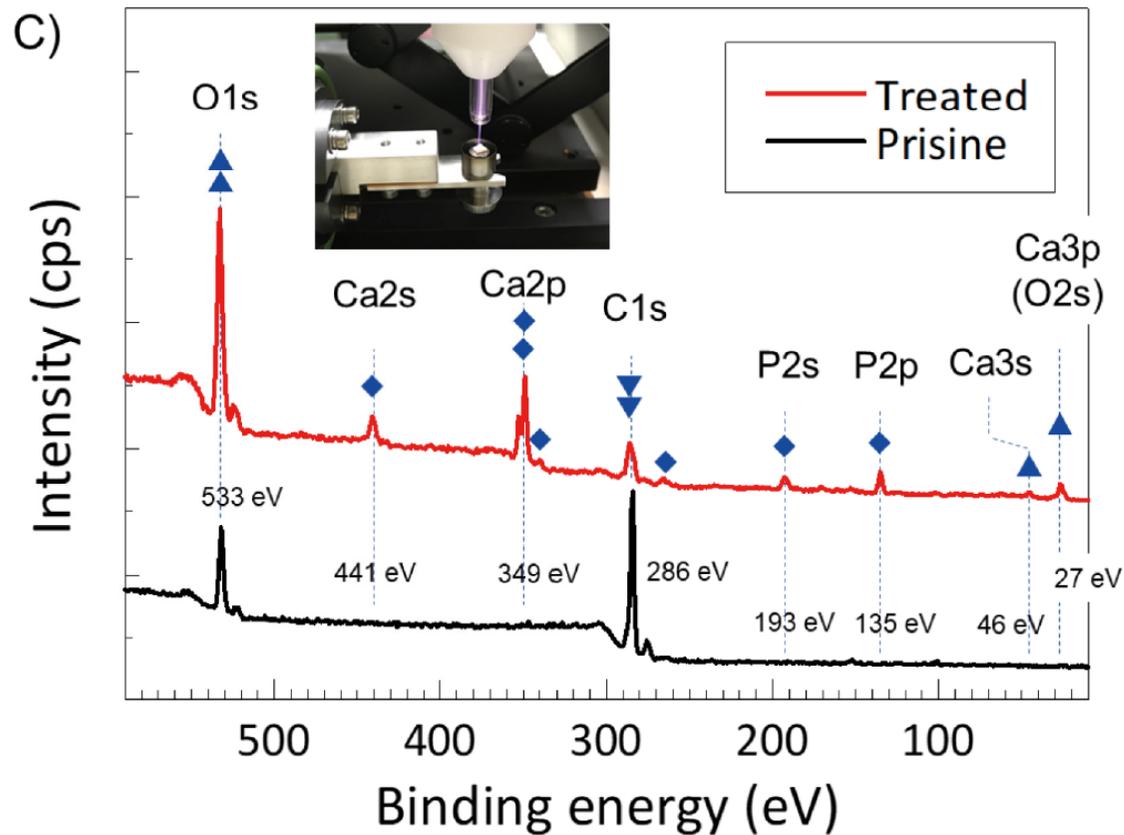
膠原線維、細網線維、粘液：青色(アニリン青)  
核：黒～黒褐色(ワイゲルト鉄ヘマトキシリン)  
筋線維：赤(ポンソー・キシリジン酸フクシンアゾフロキシ)

コントロール群：新生骨はみられたが、骨欠損部が新生骨で連続する症例はなかった  
プラズマ照射群：有核細胞が均一に存在、骨欠損部は新生骨で連続

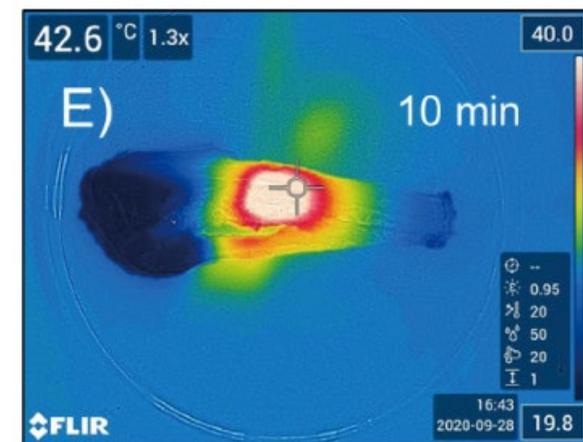
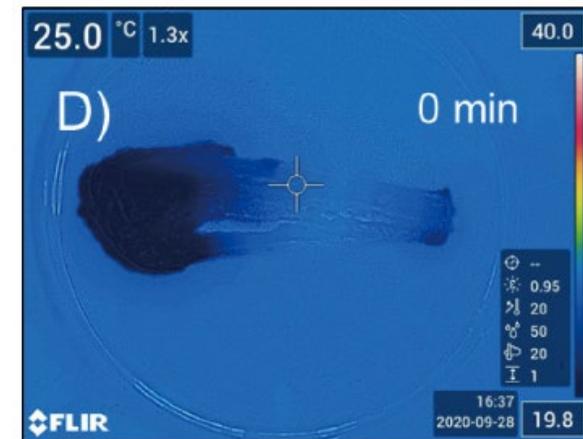


Shimatani A, Toyoda H et al: Plos One 2021

## 骨表面の性状変化



## 表面温度

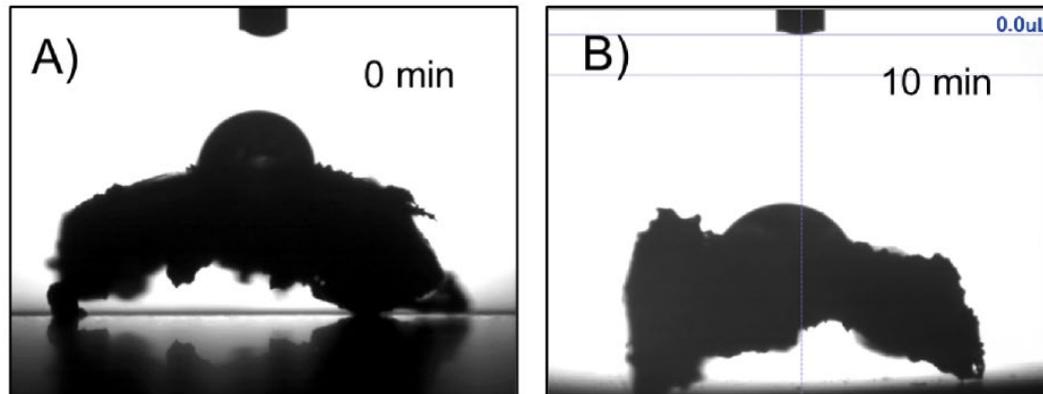
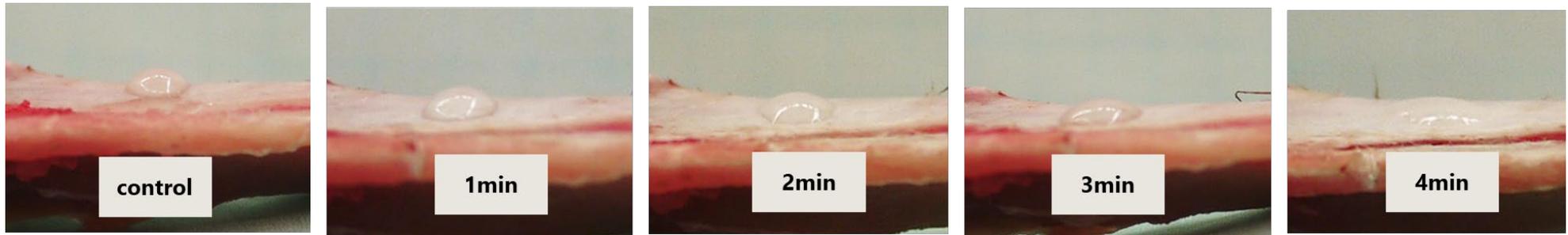


Oの増加、Cの減少：酸化反応      Ca、Pの増加：エッチング  
 プラズマ照射30秒程度で40度まで上昇      10分照射の平均温度は43度



Shimatani A, Toyoda H et al: Plos One 2021

## 骨表面の親水性の評価



0 min	$90.5^\circ \pm 7.9$
<b>10 min</b>	<b><math>42.0^\circ \pm 8.8^*</math></b>

\* P<0.01 vs 0 min group

プラズマの照射時間が長くなるほど、親水性は向上



## 1分照射



照射前



照射後

## 3分照射



照射前



照射後

プラズマ3分照射にて腱の親水性は向上する

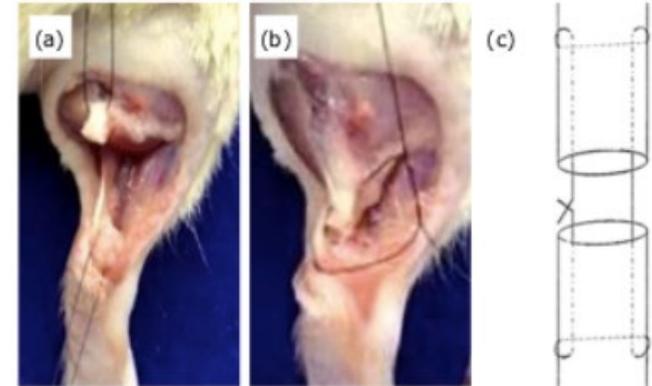


## アキレス腱縫合モデル

Calcaneusより5mmの部位で切断

6-0ナイロンでModified Kessler法で縫合

*Casagvande SM et al. Acta Cir Bras 2021.*



皮切



アキレス腱縫合



プラズマ照射 3分

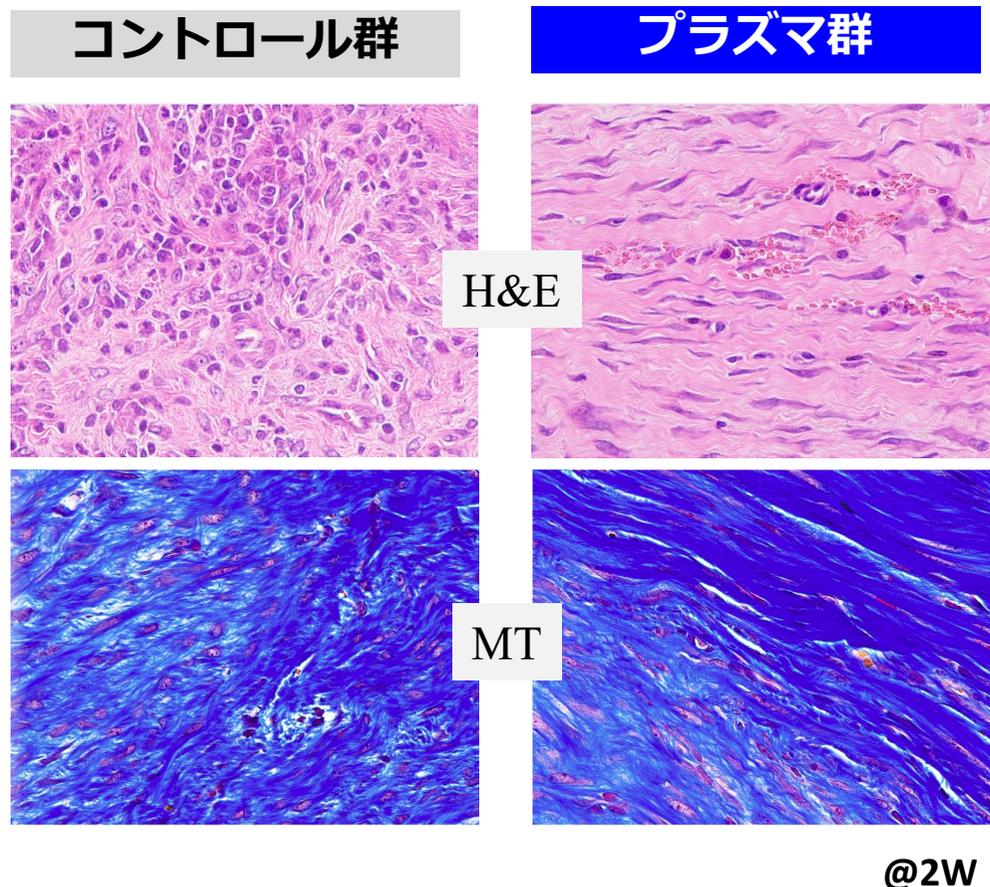


照射後

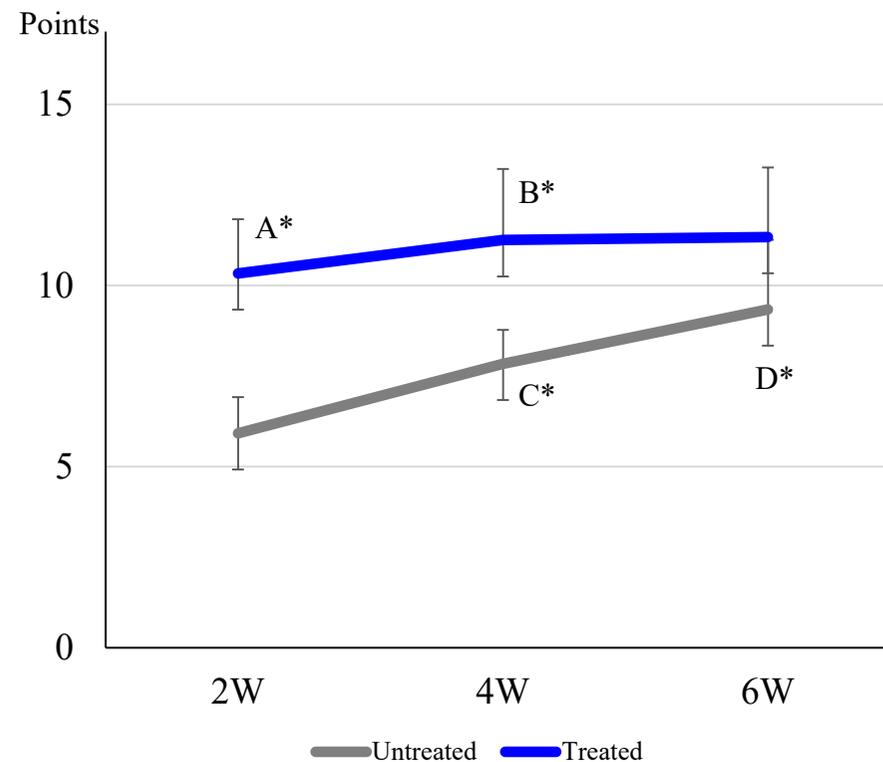
アキレス腱縫合部にプラズマ照射を1回だけ行うことで治癒は促進するのか？



組織学的評価



Change in Stoll's histological score over time



A : p=0.003 B : P=0.006 C : P=0.03 D : P=0.007

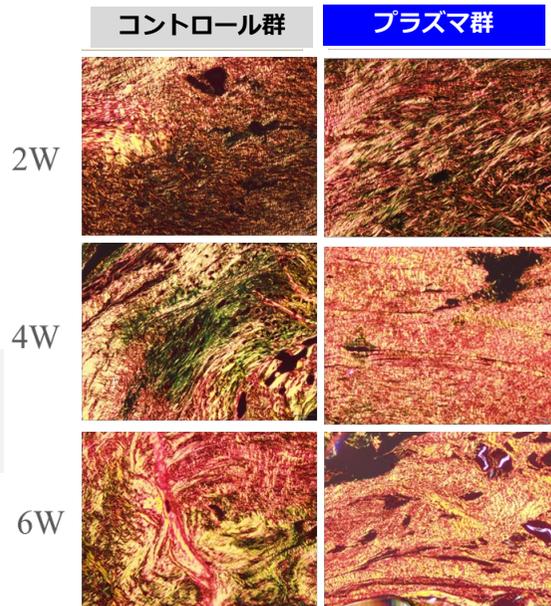
2週目からプラズマ照射群は、細胞が過剰ではなく、細胞学マトリックスが多い  
膠原線維の量が多く、波状、密、方向性が均一



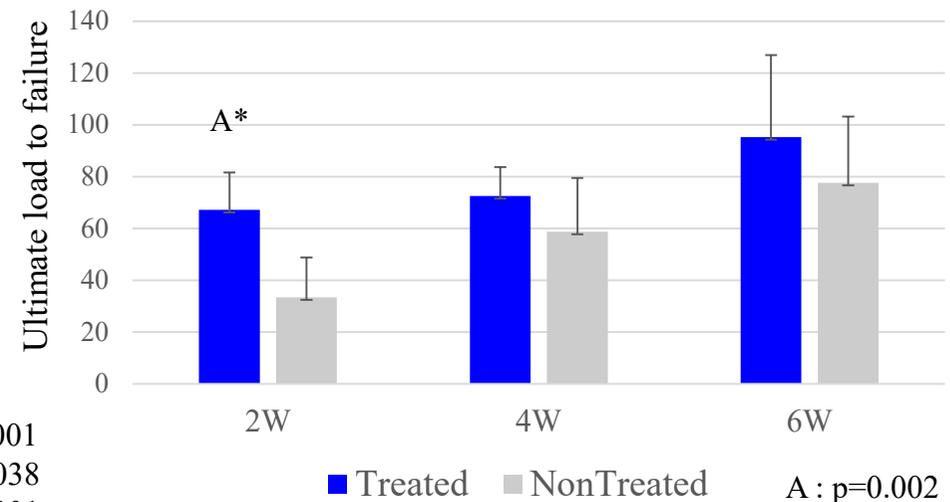
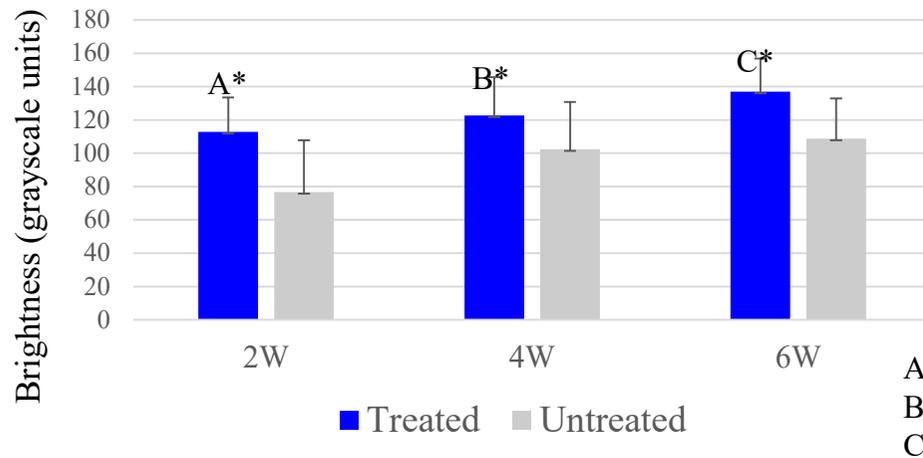
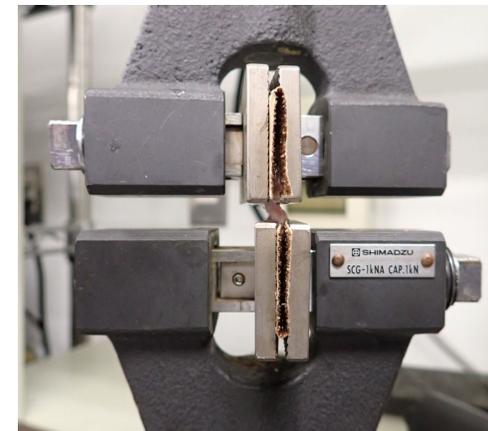
## 組織学的評価

Comparison of type 1 collagen content in different time periods

Picro-Sirius Red Stain  
1型（骨、皮膚、腱）：黄  
3型（皮膚、血管）：緑



## 力学的評価



プラズマ照射群ではタイプ3コラーゲンがタイプ1コラーゲンに置き換わっている  
癒痕組織が少なく、本来の腱組織に置換されている 治癒期間の短縮に寄与

# 従来技術とその問題点

回復再生能力を促す方法として多血小板血漿療法（PRP）が、簡便かつ安全、安価な治療として期待されている。しかし、PRPの内容物の血小板、サイトカイン、成長因子の濃度の再現性が乏しく、サイトカイン濃度が不十分で、断裂部への充填量に限りがあること、創外に流出せず創部に留まり続けることが困難な場合がある。

別の方法として培養細胞移植があるが、培養時間、設備、装置が必要であり、感染面の安全性担保が必要である。足場材料を使用した治療法では、同種組織や異種組織を用いる場合でも感染症、アレルギーや拒絶反応が生じることが課題として挙げられる。

## 細胞培養に依存しない新しい組織再生医療機器の創出

- 細胞移植の課題である、特定細胞加工施設など細胞加工にかかるコスト、治療提供までの時間、抗原性、腫瘍性の問題が生じない
- 体外衝撃波や低周波刺激治療ではもたらされにくい組織再生を実現

# 新技術の特徴・従来技術との比較

方法	特性・利点	課題・問題点
組織再生機器 プラズマ照射装置 (本発明)	<ul style="list-style-type: none"> <li>活性窒素腫、酸素腫による細胞の分化促進</li> <li>親水化作用による修復部に残存する細胞外マトリックスの細胞接着性の向上</li> <li>創傷治癒、止血、滅菌の分野でプラズマ技術を応用されている</li> <li>腱や骨の再生が促進されるという基礎研究がある</li> <li>医療機器としての使用を想定している</li> <li>細胞加工施設などを必要としない 即時利用可能</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>局所の乾燥、温度上昇をもたらす</li> <li>照射にヘリウムなどの希ガスを使用する</li> <li>長時間の照射がもたらす影響についてはまだ検証されていない</li> <li>大型動物での検証はまだ行われていない</li> </ul>
移植	<ul style="list-style-type: none"> <li>再建材料として自家腱移植は広く用いられている</li> <li>さまざまな人工材料が開発されている</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>採取部の機能低下、疼痛</li> <li>同種組織や異種組織には抗原性、感染の問題がある</li> <li>拒絶反応のリスクやアレルギー反応</li> <li>再生促進作用はない</li> </ul>
生物物理的 アプローチ	<ul style="list-style-type: none"> <li>超音波の高い周波数の音圧の波動(脈波)が骨折部位へ到達し、治癒を促進する</li> <li>電気刺激を与えるとラットのアキレス腱損傷モデルの治癒促進が得られたという研究報告がある</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>超音波低出力パルスは広く臨床で使用されているが、近年否定的な見解もある</li> <li>低周波電気刺激を用いた腱損傷治療に関する基礎、臨床研究はほとんどない</li> <li>効果に関するエビデンスは限定的とされている。疼痛に関する限定的なエビデンスはあるが、損傷部の治癒促進をもたらしたというエビデンスはない</li> </ul>
サイトカイン療法	<ul style="list-style-type: none"> <li>骨や軟部組織の再生促進に用いられている</li> <li>患者の血液成分から細胞に対して分化、増殖、細胞外基質の産生を促進する成分を抽出する</li> <li>比較的安価に作成できる</li> <li>海外ではすでに様々なランダム化比較試験(RCT)が行われて有効性に関する検証が行われている</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>精製方法により細胞数やサイトカインの濃度が異なる サイトカイン濃度の差異が結果に影響を与える可能性がある</li> <li>PRPの効果は論文により異なり、エビデンスにまだ乏しい</li> <li>臨床的な効果は治療期間の短縮までには至っていない</li> <li>細胞加工設備の設置やその維持費、特定細胞加工物の製造許可の取得申請が必要</li> </ul>
培養細胞移植	<ul style="list-style-type: none"> <li>患者自身もしくは他者からの細胞を培養・加工し移植する治療</li> <li>移植細胞自体が生着、残存し修復組織を構成する</li> <li>移植細胞が増殖因子を分泌し修復を刺激する</li> <li>細胞数の増加</li> <li>分化誘導が促進</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>移植に必要な細胞を確保するために通常数週間を要する</li> <li>ドナーによって、増幅培養により間葉系細胞の増殖能、分化能が低下する</li> <li>細胞加工設備の設置やその維持費、特定細胞加工物の製造許可の取得申請が必要</li> <li>作業量が膨大であり、かつ煩雑 品質管理が重要だが煩雑</li> <li>移植には、スキャフォールド(細胞の足場素材)、人工培地、サイトカインも必要。</li> <li>実施施設は細胞調製室を備える必要がある</li> <li>生体外で培養した細胞を損傷部に移植するため感染、汚染のリスクがある</li> </ul>

# 新技術の特徴・従来技術との比較

## 【本技術のポイント】

- ✓ 組織の親水性の向上
- ✓ 適度な活性酸素種や窒素種による細胞の分化促進
- ✓ 組織再生に重要なサイトカインの促進

生体材料の表面の親水性が高いほど、細胞の拡散と接着が促進される

Dewez JL et al: Biomaterials 1999

プラズマ処理により細胞接着とタンパク質の吸着性の観点から生体材料表面の適合性を改善する

Wei J et al: Biomed Mater 2009

プラズマ照射により生体材料（PEEK、人工骨）の骨芽細胞の接着性が向上する

C-N、C=N、C=Oなどの塩基修飾が骨芽細胞の固着と早期の増幅を促す

Zhao Y et al: ACS Appl Mater Interfaces 2016

Moriguchi Y et al: Plos One 2018

プラズマ照射により人工材料同様に生体骨や腱の親水性を向上する

Shimatani A et al: Plos One 2021

自検例

プラズマ照射は脂肪由来幹細胞の分化能を阻害することなく増殖を促進する

Park J et al: Sci Rep 2016

プラズマ照射は細胞内の活性酸素種を増加させ、ヒト線維由来細胞の分化能、遊走能を促進する

Brun P et al: Plos One 2014

プラズマ照射はVRGFやGM-CSFなどの成長サイトカイン上昇をもたらす

Choi BBR et al: Int J Med Sci. 2018

プラズマ照射は骨芽細胞の増殖・分化を促進する

Tominami K et al: Plos One 2017

Han I et al: Oncotarget 2017

自検例

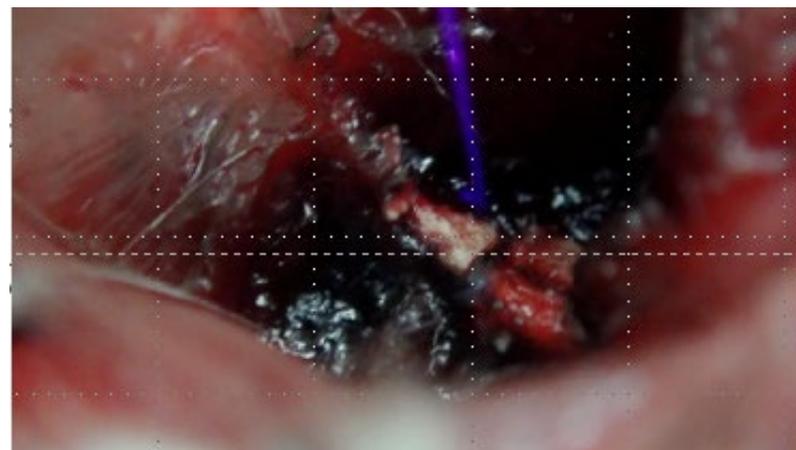
プラズマ照射は組織再生時の癒痕組織形成を抑制する

プラズマ照射は3型コラーゲンよりも1型コラーゲン、線維性軟骨への分化を促進させる

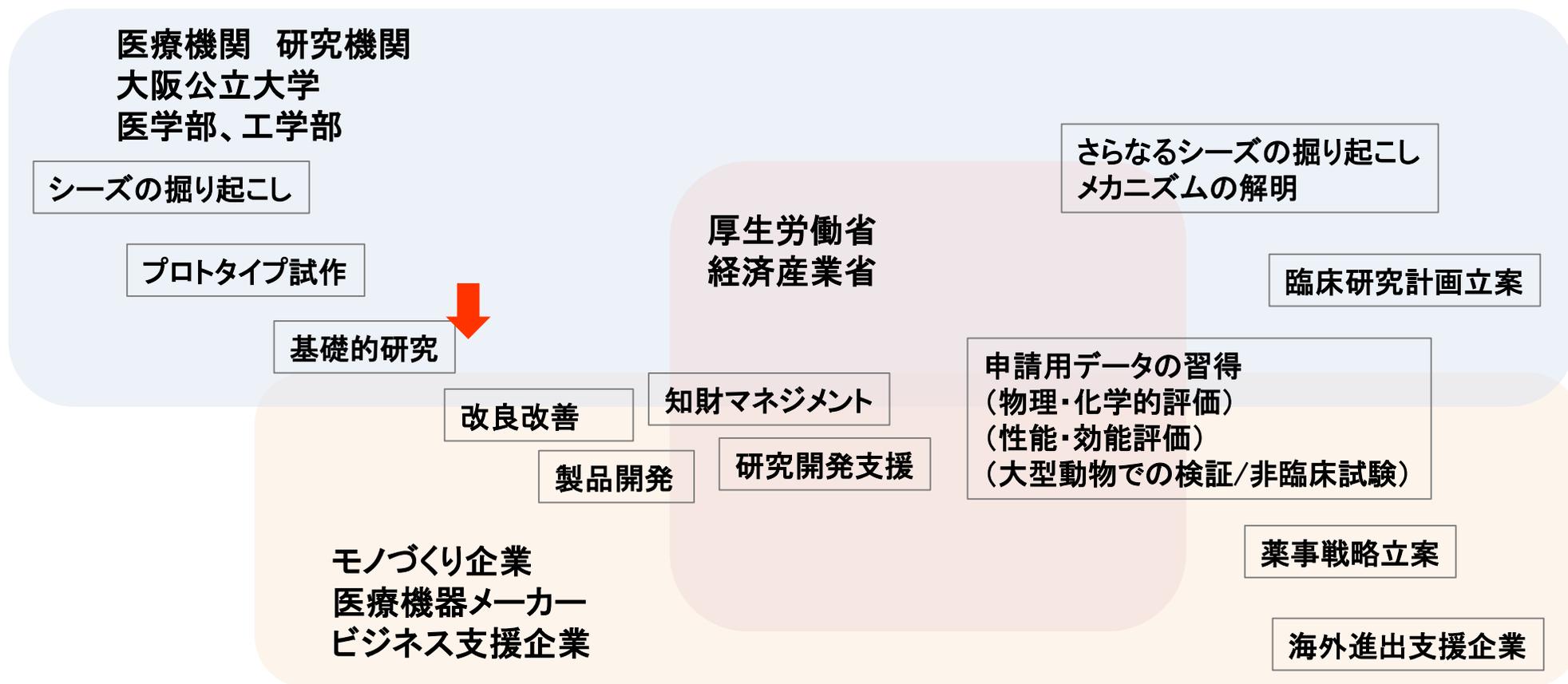
自検例

# 想定される用途

- 手術中に使用する医療機器を想定している
- 骨折部に直接プラズマ照射を行うことで、骨癒合までの時間短縮、骨癒合不全（偽関節）の抑制、巨大な骨欠損部に照射することで骨再生を促進することを想定して開発
- 靭帯損傷部にも良好な治癒促進効果を認めため、靭帯損傷治療にも適応可能と考える。
- 上記以外に、組織の改質の効果が得られることから、人工骨、人工靭帯、移植骨の高機能化も期待される。



# 実用化に向けた課題



本技術の実用化のため、照射時間の短縮、照射部位の温度コントロール、使用する希ガスの効率化、ユーザーフレンドリーな装置・機器への改良、安全性（生物学的、電気的、機械的、安定性）の検証、本技術が応用可能な他の分野での応用研究、プラズマがもたらす組織再生メカニズムの解明に取り組む

# 企業への期待

- 世界の再生医療市場規模は、2023年から2030年にかけて15.7%のCAGRで拡大し、2030年には1808億7000万米ドルに達すると予測されている。（Grand View Research, Inc.2023年2月9日出版のレポート）
- 未解決の安全性の検証については、医療機器開発の経験のある企業の技術や専門性の蓄積により克服できると考えている。
- プラズマ装置を製造している企業、装置開発の技術を有する企業との共同研究を希望。
- また、プラズマ装置を開発していないが、医療再生装置を製造している企業には、本技術の導入が有効と思われる。

# 本技術に関する知的財産権

発明の名称 : 骨再生促進方法および装置

発明者 : 豊田 宏光、白藤 立、嶋谷 彰芳、呉 準席、折田 久美

出願人 : 公立大学法人大阪[100%]

出願番号 : 特願2022-035431 (2020-08-21 出願)

発明の名称 : 腱再生促進装置

発明者 : 豊田 宏光、呉 準席、中澤 克優、伴 祥高、齊藤 公亮、  
折田 久美、白藤 立

出願人 : 公立大学法人大阪[100%]

出願番号 : 特願2022-157960 (2022-09-30 出願)

# お問い合わせ先

**大阪公立大学**  
**学術研究推進本部URAセンター 鎌田 雅史 (医学部担当URA)**

TEL 06-6645-3887

e-mail [gr-knky-chizai@omu.ac.jp](mailto:gr-knky-chizai@omu.ac.jp)