Kobe University Repository : Kernel

PDF issue: 2025-12-05

Endoscopic Hemostasis in Porcine Gastrointestinal Tract Using CO2 Low-Temperature Plasma Jet

Kurosawa, Manabu

(Degree)
博士（医学）

(Date of Degree)
2019-03-25

(Resource Type)
doctoral thesis

(Report Number)
甲第7481号

(URL)
https://hdl.handle.net/20.500.14094/D1007481

※ 当コンテンツは神戸大学の学術成果です。無断複製・不正使用等を禁じます。著作権法で認められている範囲内で、適切にご利用ください。

学位論文の内容要旨

Endoscopic Hemostasis in Porcine Gastrointestinal Tract Using CO_2 Low-Temperature Plasma Jet

ブタ消化管内における CO_2 低温プラズマの止血効果に関する研究

神戸大学大学院医学研究科医科学専攻
内科学講座消化器内科学分野
（指導教員：児玉裕三　教授）

黒澤　学

Background：消化管出血は日常診療でみられる致命的な疾患であり、内視鏡治療後の合併症としても生じ得る。既に多くの内視鏡的止血術が確立されているが、それぞれの止血法には問題点がある。例えばクリップ止血は出血源へ正確に留置する高い技術が必要である。また、留置したクリップの影響で追加治療が困難になる場合もある。高周波凝固療法やアルゴンプラズマ凝固療法（以下 APC：Argon Plasma Coagulation）のような熱凝固止血では熱による組織障害で消化管穿孔を生じる可能性がある。トロンビン散布は簡便であるが止血効果が劣る。このため高い止血効果があり、より安全で操作性の良い新しい治療デバイスの開発が求められている。

近年、大気圧低温プラズマ（以下 LTP：Low Temperature plasma）が新たな医療ツールとして注目されている。これまでに、殺菌、創傷治癒、血液凝固などの効果が確認されている。LTP による血液凝固は、プラズマから生成される活性酸素種が血液の凝固因子と反応することで起こると考えられている。現在、LTP による止血研究が行われているが、従来の研究はマウスやブタを用いた消化管の管腔外の止血であり、内視鏡を用いた消化管の管腔内での止血は報告されていない。これは従来の機械的な切削加工ではプラズマ装置の小型化に制限があり、内視鏡の鉗子口に挿入できる直径にすることが困難なためである。また、ほとんどの LTP 装置はアルゴンかヘリウムでしかプラズマを生成できない。さらに、密閉空間である消化管内では活性酸素種を安定に生成するのは困難である。そこで我々は様々なガス種でプラズマを生成できる LTP 装置を作製した。さらに金属 3D プリンターを用いて内視鏡の鉗子口から挿入できる大きさへ小型化した。この LTP 装置はアルゴンやヘリウムのみならず、酸素、窒素、二酸化炭素など様々なガス種で LTP を生成可能である。特に二酸化炭素は生体吸収性が良く、止血効果が担保されれば内視鏡下で使用するガス種に選択するメリットがあると考えた。本研究では作製した LTP 装置を用い、生体豚の消化管出血に対して二酸化炭素低温プラズマ（以下 CO_2 LTP）を照射し、止血効果と安全性を調査した。

Materials and methods：LTP 装置の先端部は直径 2.8 mm で、高電圧を印加する内部電極、ガス供給部、絶縁部、プラズマ噴出口を持つ金属製筐体によって構成される。筐体は接地され、内部電極に高電圧が印加することで先端部に電極放電を起こしプラズマを生成する。生成されたプラズマはガス流によって直径 1 mm の噴出口から LTP 装置の外部へと吹き出される。処理対象物に対してはプラズマのアフターグローを照射することとなり、電流がほとんど流れないため放電損傷を与えずにプラズマを照射可能である。LTP 装置の金属筐体及び内部電極は 3D プリンター（M280, Electro Optical Systems Inc.）を用いてチタンで造形した。LTP 装置の配線およびガス管は、内視鏡長に合わせて 2 m の長さを確保した。電源には 2.25 kV、50 Hz の交流高電圧電源（DFMJ01, Plasma Concept Tokyo）を使用した。

LTP 装置により生成されるプラズマの基礎特性として、まずプラズマによって生成、励起された原子や分子等の発光を分光器（Maya2000pro[200-1100 nm], Ocean Optics, Inc.）を用いて調べた。ガス種にはアルゴン、ヘリウム、酸素、窒素、空気、二酸化炭素を用い、ガス

流量は 1 L/min とした。プラズマの発光は軸方向から、光ファイバをプラズマ装置の噴出口に対向して配置し、ファイバと LTP 装置噴出口の間に 1 mm の石英ガラス板を挟み、距離 3 mm の位置で測定した。またプラズマの重要なパラメータの一つである電子密度を H_β の 486 nm の発光スペクトルから算出した。

プラズマガス温度は LTP 装置の噴出口から 3 mm の位置に LTP 装置と熱電対が垂直となるように熱電対を固定して測定した。測定には直径 1 mm、長さ 50 mm の K 熱電対を使用した。

また in vivo での止血研究では 2 頭の生体豚を用い、すべての実験は以下の全身麻酔下で行った。ケタミン（10 mg/kg）およびキシラジン（2 mg/kg）、硫酸アトロピン（0.5 mg/head）を前投薬として筋肉内投与し、麻酔導入のためにマスクを用いて高濃度イソフルラン（5%濃度、酸素流量 3 L）を吸入させ、顎筋が弛緩し気管チューブが挿入し易くなるまで吸入を続けた。気管チューブを挿入し、術中は麻酔器（Fancy80 Ma，木村医療機器㈱製）を使用してイソフルラン（2～3 %）と酸素投与で維持した。また、耳介静脈より乳酸リンゲル液を 60 ml/h で点滴した。

全身麻酔後に生体豚の胃内へ内視鏡（電子内視鏡：EG-580RD、光源：XL-4450、プロセッサー：VP-4450；FUJIFILM 社）を挿入し、内視鏡の鉗子口から LTP 装置を挿入した。

生体豚の正常胃粘膜に鉗子（Radial Jaw 4；Boston Scientific 社）で直径 2 x 8 mm 程度の出血部を作成し、クリップ、APC、CO_2 LTP でそれぞれ止血を行った。CO_2 LTP による止血については、LTP 装置を出血部近傍へ接近させて CO_2 LTP を止血が得られるまで照射した。先端から出血部までは 1-2 mm 程度の間隔を保持し、先端が出血部に接触しないように操作した。2 頭のうち 1 頭の生体豚ではその後、翌日、3 日後、5 日後にも全身麻酔下で内視鏡観察を実施し、同部の粘膜面の経時的変化を観察した。1 頭は止血直後に、深麻酔下で大動脈を切開し安楽死とし標本採取を行った。別の 1 頭は 5 日後の観察の後に同様の手順で標本採取を行った。すなわちクリップ止血、APC 止血、CO_2 LTP 止血の止血直後および 5 日後の組織標本を採取し、HE 染色を行い各止血法による組織変化を光学顕微鏡で観察した。

Results & discussion：内視鏡の鉗子口にデバイスを挿入した状態でヘリウム、アルゴン、空気、酸素、窒素、二酸化炭素など様々なガス種でのプラズマ生成に成功し、約 3 mm のアフターグロープラズマを目視で確認した。各ガス種のプラズマ発光スペクトルでは、アルゴンやヘリウムの単原子ガスや、窒素や酸素の単原子分子のガスは、プロセスガス由来の単一の原子の原子線、および分子線発光スペクトルが観測された。アルゴンおよびヘリウムのプラズマの電子密度はそれぞれ約 5.9×10^{14} cm^{-3}、2.8×10^{14} cm^{-3} で比較的高密度なプラズマ生成が示された。プラズマガス温度はアルゴン、酸素、空気、窒素、二酸化炭素、ヘリウムの順で高くなり、それぞれ 26.9、35.0、35.3、37.8、41.5、57.1 ℃ であった。

続いて in vivo で各止血法を行った後の内視鏡観察について、クリップ止血では機械的圧迫により出血部が閉鎖され止血が得られていた。APC 止血では熱凝固により出血部周辺が熱変性・炭化して止血が得られていた。CO_2 LTP 止血では出血部の血液は表面から徐々に凝固し、70 ± 20 秒程度で止血が得られており、照射部周囲の粘膜面に肉眼的な変化は見られなかった。CO_2 LTP 照射により血液凝固が生じ、破綻した微小血管が塞がれて止血が得られたと推測された。翌日の観察でも CO_2 LTP による止血部周囲に組織障害は認められず、3 日後には止血部は再生上皮で覆われていた。APC 止血と比較した場合は、CO_2 LTP 照射部の方が粘膜欠損の面積は狭く、速やかに治癒していた。

また各止血法を行った出血部の止血直後および 5 日後の HE 標本も評価した。クリップ止血の止血直後では出血部に周囲粘膜上皮を引き寄せて覆う形で止血されていた。5 日後では粘膜欠損部周囲の炎症細胞浸潤はわずかであるが、粘膜上皮の再生はほとんど見られなかった。APC 止血の止血直後では粘膜上皮から粘膜筋版にかけて熱変性がみられ、変性組織が破綻血管を覆い止血が得られていた。5 日後では粘膜欠損部周囲の炎症細胞浸潤が目立ち、粘膜上皮の再生はほとんどみられなかった。CO_2 LTP 止血の止血直後では粘膜筋板以深の周囲組織に損傷はなく、血液凝固による止血を得た。5 日後では粘膜上皮の再生が最も多く確認された。

Conclusion：本研究では内視鏡鉗子口から挿入して使用できる小型の LTP 装置を開発し、そのプラズマ特性を調査した。二酸化炭素ガスでプラズマ発光を確認し、CO_2 LTP の電力は 1.8 W でガス温度は 41.5 ℃であった。さらに生体豚消化管の出血部に対して CO_2 LTP を照射し止血効果と安全性を確認した。CO_2 LTP による止血時間は 70 ± 20 秒で、照射部に熱損傷はほとんど見られなかった。CO_2 LTP 止血では主に血液凝固や蛋白凝集が促進されて止血が得られていると推測され、周囲組織の障害が少なく、組織損傷の面積が狭く済むことから治癒も速やかに得られると考えられた。CO_2 LTP を実際の治療に応用するためには、さらなる止血効果の向上が求められる。

神戸大学大学院医学(系)研究科（博士課程）

論文審査の結果の要旨			
受付番号	甲 第 2880 号	氏 名	黒澤 学
論文題目 Title of Dissertation	Endoscopic Hemostasis in Porcine Gastrointestinal Tract Using CO_2 Low-Temperature Plasma Jet ブタ消化管内における CO_2 低温プラズマの止血効果に関する研究		
審査委員 Examiner	主 査 Chief Examiner 副 査 Vice-examiner 副 査 Vice-examiner	福本 巧 佐々木 孔平 古森 孝英	

（要旨は１，０００字～２，０００字程度）

【Background】消化管出血に対して既に多くの内視鏡的止血術が確立されているが、それぞれの止血法には問題点がある。特に熱凝固止血（APC）では、組織障害による消化管穿孔を生じる可能性がある。このため高い止血効果があり、より安全で操作性の良い新しい治療デバイスの開発が求められている。

近年、大気圧低温プラズマ（以下 LTP : Low Temperature plasma）が新たな医療ツールとして注目され、殺菌、創傷治癒や血液凝固などの効果が報告されている。現在、LTP による止血研究が行われているが、内視鏡下で使用可能な LTP は存在しない。内視鏡の鉗子口に挿入可能な LTP の開発が求められているが、これまでの手法では小型化することが困難であった。

我々は金属 3D プリンターを用いることで LTP 装置の小型化に成功した。この LTP 装置はアルゴンやヘリウムだけでなく、酸素、窒素や二酸化炭素など様々なガス種で LTP を生成可能であった。特に二酸化炭素は生体吸収性が良いため、止血効果が確認されれば内視鏡下で使用できる可能性がある。そこで、本研究では作製した LTP 装置を用い、生体豚の消化管出血モデルに対して二酸化炭素低温プラズマ(以下 CO_2 LTP)を照射し、止血効果と安全性を検討した。

【Materials and methods】LTP 装置の金属筐体及び内部電極は 3D プリンターを用いてチタンで造形した。LTP 装置の先端部は直径 2.8 mm で、高電圧を印加する内部電極、ガス供給部、絶縁部、プラズマ噴出口を持つ金属製筐体によって構成される。筐体は接地され、内部電極に高電圧が印加することで、先端部に電極放電を起こしプラズマを生成する。配線およびガス管は、内視鏡長に合わせて 2 m の長さを確保した。電源には 2.25 kV、50 Hz の交流高電圧電源を使用した。処理対象物に対しては電流が流れないため放電損傷を与えずにプラズマを照射することが可能である。

LTP 装置により生成されるプラズマの基礎特性を、生成、励起された原子や分子等の発光を分光器を用いて調べた。ガス種にはアルゴン、ヘリウム、酸素、窒素、空気、二酸化炭素を用い、ガス流量は 1 L/min とした。またプラズマの重要なパラメータの一つである電子密度を H_β の 486 nm の発光スペクトルから算出した。さらにプラズマガス温度は K 熱電対を使用し測定した。

In vivo での止血研究では 2 頭の生体豚を用い、すべての実験は全身麻酔下で行った。全身麻酔後に生体豚の胃内へ内視鏡を挿入し、鉗子で正常胃粘膜に対して出血部を作成した。さらにクリップ、APC、CO_2 LTP でそれぞれ止血を行った。2 頭のうち 1 頭の生体豚ではその後、翌日、3 日後、5 日後にも全身麻酔下で内視鏡観察を実施し、同部の粘膜面の経時的変化を観察した。クリップ止血、APC 止血、CO_2 LTP 止血の止血直後および 5 日後の組織標本を採取し、HE 染色を行い各止血法による組織変化を光学顕微鏡で観察した。

【Results & discussion】内視鏡の鉗子口にデバイスを挿入した状態でヘリウム、アルゴン、空気、酸素、窒素、二酸化炭素でのプラズマ生成に成功した。アルゴンおよびヘリウムのプラズマの電子密度はそれぞれ約 5.9×10^{14} cm^{-3}、2.8×10^{14} cm^{-3} で比較的高密度なプラズマ生成が示された。プラズマガス温度はアルゴン、酸素、空気、窒素、二酸化炭素、ヘリウムの順で高くなり、それぞれ 26.9、35.0、35.3、37.8、41.5、57.1 °C であった。

続いて in vivo で各止血法を行った後の内視鏡観察について、CO_2 LTP 止血では出血部の血液は表面から徐々に凝固し 70 ± 20 秒程度で止血が得られた。照射部周囲の粘膜面に肉眼的な変化は見られなかった。CO_2 LTP 照射により血液凝固が生じ、破綻した微小血管が塞がれて止血が得られたと推測され

た。翌日以降の観察でもCO_2 LTPによる止血部周囲に組織障害は認められず、APCと比較してCO_2 LTP照射部の粘膜欠損の面積は狭く、速やかに治癒していた。

また各止血法を行った出血部の止血直後および5日後のHE標本も評価した。CO_2 LTP止血の止血直後では粘膜筋板以深の周囲組織に熱損傷はなく、5日後では粘膜上皮の再生が最も多く確認された。

【Conclusion】本研究では内視鏡鉗子口から挿入できる小型のLTP装置を開発し、そのプラズマ特性を調査した。CO_2 LTPの電力は1.8 Wでガス温度は41.5 ℃であった。ブタ胃出血モデルに対するCO_2 LTPの止血時間は70 ± 20 秒で、照射部に熱損傷はほとんど見られなかった。CO_2 LTP止血では主に血液凝固や蛋白凝集が促進されて止血が得られていると推測され、周囲組織の障害が少なく、組織損傷の面積が狭く済むことから治癒も速やかに得られると考えられた。

本研究はCO_2低温プラズマの止血効果について研究したものであるが、従来ほとんど検討されていなかった内視鏡治療への応用や消化管の管腔内における止血効果について重要な知見を得たものとして価値ある集積であると認める。よって、本研究者は、博士（医学）の学位を得る資格があると認める。