

3D バイオプリンタによる超音波ゼリーのバイオインクとしての印刷評価調査

An assessment of ultrasound transmission gel as one trial bioink by 3D bio-printer

花之内 健仁 (HANANOUCHI Takehito)

1.背景

近年、超音波診断装置が注目を集めている。特に骨・筋肉といった運動器分野においては、“運動器エコー”[1]という名のもと、整形外科医だけでなく、理学療法士でも注目され、使い方に焦点をあてた特集が組まれたりするほどになっている[2]。病変の同定だけでなく、“エコー下運動器の治療”ということで、関節内確実に注入できる手技の紹介や[3]、関節外においても、“ハイドロリリース”という筋肉へのアプローチも散見されるようになってきた[4]。運動器分野における超音波装置の利用の範囲拡大など、利用の仕方が新たに出てくるエビデンスとともに決まっていく、そのような時代になってきたと考える。

そのような背景の中、超音波装置使用時のプローブと皮膚との間に介在させるいわゆる検査用ゼリーについても言及あり、運動器エコーの場合、ゼリーは腹部エコーなどと比べて、硬いもの、つまり粘性が高いものを使用する事を推奨する報告が出てきている[5,6]。理由としては、プローブと皮膚との間隙が容易に埋まることからか、“骨性の凹凸が多い足関節の観察も容易になる”とか、体表近くの血流評価のときにプローブのあてすぎによる血流評価への悪影響を防げるといったことがあげられる。しかしながら、今のところどの程度の粘性が望ましいのか、どの程度違うのかなどは明らかになっていない。理論上は、粘性が低いものであれば、塗布時に容器先端の間口が一定で、塗布の排出速度が一定なら、液体は広がりやすくなるはずであるが、これを評価する手法について明らかになっていなかった。

そこで、本研究では、3D バイオプリンタを用いて市販の4種類の超音波ゼリーを使用して、同一の形状を印刷し、形状を評価することで、ゼリーの粘性を評価することとした。3D プリンタによる造形物は、手術ガイドとして整形外科分野でも広まってきているので馴染み深くはなっているが[7]、3D バイオプリンタはそれとは少し異なる。3D バイオプリンタは、再生医療分野で最近注目を集めているもので、主として細胞が成長するときの足場（スキャフォールド）を印刷・製造できるものとなる[8]。一般の3D プリンタ同様様々な印刷の方法があるが、本研究では空気圧によって、中の材料を押し出し積層させ3次元の物体を作成する、いわゆる押し出し式のものをを用いた[8,9]。

2.方法

本研究で使用したバイオプリンタは、CELLINK 社（スウェーデン）製の

「INKREDIBLE」であった(図1)[9]。



1 3D バイオプリンタ 左は全体像を示し、中央辺りに材料を入れるシリンジ様のものがある。右の拡大像において赤い部分がノズルになっており、材料を空気圧によって下に押し出して印刷しているのがわかる。

INKREDIBLE は、図1の真ん中に示されるシリンジ状の筒に、材料を入れ、上から空気圧で押し出すことで下の台に事前に計画した3次元立体物を成形できるものである。今回は既定値の範囲にある20kPaで固定し、シリンジ内超音波ゼリー挿入することで、次に示す物体を印刷することにした。INKREDIBLEに関する他のスペックについては、下表に示した。

表 INKREDIBLE の仕様¹⁰⁾

仕様内容	情報
印刷可能面積	130×80×50mm
位置決め精度	XY:10 μ m ; Z:2.5 μ m
層解像度	100 μ m
ハイドロゲル粘度範囲	0.001~250Pa.S
圧力範囲	5~400kPa
感度	0.2%F.S.(0.8kPa)以内
再現性	±1%F.S.(0.4kPa)以内
最小単位設定	1kPa

本研究で使用した超音波ゼリーは、アクアソニッククリアゲル(パーカー社、組成: 逆浸透水、保湿剤、ポリマー、防腐剤)、エコーゼリーソフトおよびエコーゼリーハード(株式会社ちばら、組成: 不詳)、プロシエア中粘度タイプ(アズワン株式会社、組成: 純水、

グリセリン、防腐剤)) の 4 種類を使用した。

続いて、一片の長さ 1cm の「田」のマークを 1 回の印刷で 6 つ印刷できるように計画をし、各種 3 回印刷を施行した (図 2)。 使用したノズルの径は 0.5 mm であった。今回は圧を一定にして、材料排出の程度を調査する実験であり、印刷の速度、空気圧の設定から線の幅は、0.5-1mm 程度に収まると予測した。そして、1 つの「田」に対して下記に示す 12 箇所での線の幅を計測した (図 3)。

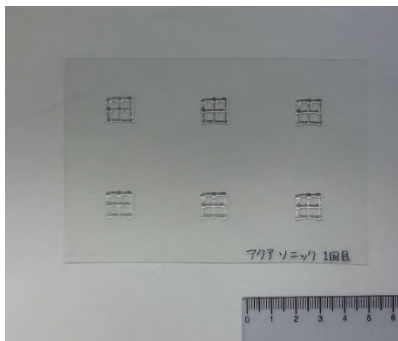


図 2 3D バイオプリンタによる超音波ゼリーの印刷例

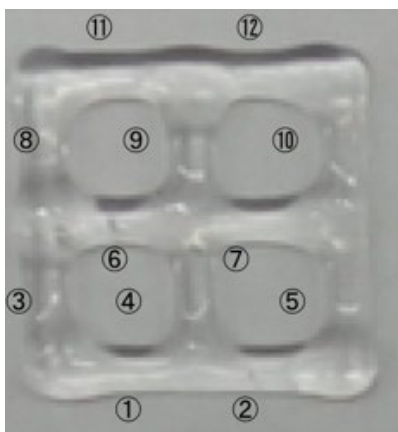


図 3 印刷物の線の幅の計測箇所

印刷後、“田”の線の太さ(幅)を計測する為に、「Image J」(画像処理ソフトウェアアメリカ国立衛生研究所)を使用した。印刷された材料を写真にとることで、長さを補正して、①～⑫の厚さを計測した。統計解析は、The Kruskal-Wallis 検定にて評価した。

3.結果

超音波検査用ゼリー各種に対して、線の幅 216 箇所を計測した結果、アクアソニッククリアゲルは、平均 0.73 mm (0.26 mm (カッコ内は標準偏差))、エコーゼリーソフトは、1.48mm (0.29 mm)、エコーゼリーハード 0.93 mm (0.15 mm)、プロシエア 2.09 mm (0.43 mm)となった(図 4)。4 種は統計学的に有意な差を認めた。

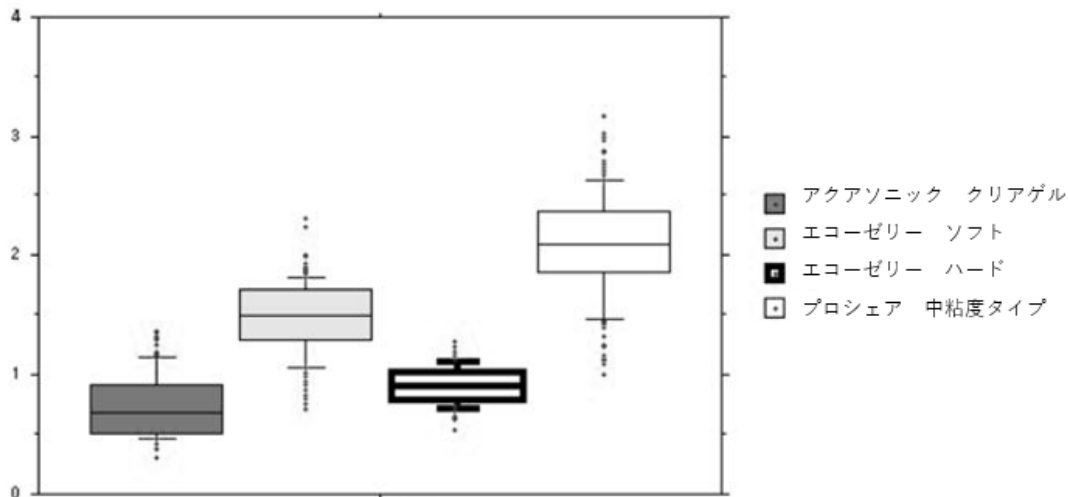


図 4 超音波検査用ゼリー4種を用いた 0.5-1mm を想定して 3D バイオプリンタで印刷した場合の線の幅

4. 考察

今回の実験では、液体の粘性を研究するレオロジーの分野に精通していなくても理解できる手法によって、超音波ゼリーの粘性を評価した。材料押し出し式 3D バイオプリンタの空気圧を一定にし、印刷物の形状を解析することで評価する方法は、今までに報告がない。結果からは、想定した線の幅に印刷できたものは、アクアソニック クリアゲルとエコーゼリーハードであり、一方エコーゼリーソフトやプロシエアは、粘性が高くないことがあきらかとなった。また、同じ会社の製造される製品の“ソフト”、“ハード”の違いも今回の手法によって、明らかとなる結果であった（線の幅は、エコーゼリーソフトは、1.48mm、エコーゼリーハード 0.93 mm）。この 4 種では一番粘性が高いのはアクアソニック クリアゲルであることがわかった。

超音波検査用ゼリーは、英語では、“Ultrasound transmission gel (USTG)” “Ultrasound coupling gel”として扱われていて、超音波ゼリーを紹介する院内感染・アウトブレイク[11]や、感染に対する抗菌材含有のゼリーの検討など感染に関する報告がある。本邦唯一の超音波ゼリーの報告も、超音波ゼリー容器に潜む菌について調べているものであった[12]。局所麻酔によって、体内にこの超音波ゲルを挿入してしまう可能性についての報告もあった[13]。整形外科領域においては、エコー下肩関節内注射についても、非滅菌の超音波ゼリーが感染のリスクがありうるという報告[14]も出てきた。それゆえに今後広がるであろう“エコー下運動器の治療“については、今回のゼリーの粘性以外に感染についても十分配慮して行っていく必要があると考えられた。

5. 結語

今回 3D バイオプリンタを用いて、超音波検査用のゼリーの塗布の仕方を調節することで、ゼリーの粘性を評価した。バイオプリンタによる印刷物の形状を調査、つまり想

定される線の幅の実測値を計測・比較することで、超音波検査用ゼリーの粘性が客観的に評価できることが明らかとなった。

利益相反： ありません

謝辞：本研究は JSPS 科研費 19K09658 の助成を受けたものです。

参考文献

1)

石崎 一穂 (編) これから始める運動器・関節エコーメジカルビュー社, 2015

2)

田中 康仁 (編) 整形外科診療におけるエコー入門—さあ使ってみよう超音波, 金原出版株式会社整形・災害外科, 2020, 63 巻 10 号

3)

高橋 周(編) 攻める! エコーガイド下運動器治療 新興医学出版社, 2019

4)

木村 裕明 (編) 解剖・動作・エコーで導く Fascia リリースの基本と臨床—筋膜リリースから Fascia リリースへ, 文光堂, 2017

5)

石崎 一穂 (編) I 運動器・関節エコーの基礎の基礎, これから始める運動器・関節エコー, メジカルビュー社, 2015, 27

6)

高橋 周(編) Chapter 2 準備・機器のセットアップ, 攻める! エコーガイド下運動器治療, 新興医学出版社, 2019, 15, 2019

7)

花之内 健仁 テーラーメイド手術ガイドの股関節手術への応用 特集“股関節における三次元画像の応用”, 金原出版株式会社, 整形・災害外科, 2012, vol55 No8, July, 989-995,

8)

境慎司(監修) I 総論編, バイオ 3D プリント関連技術の開発と応用, シーエムシー出版, 2019

9)

<https://www.cellink.com/jp/technology/collaborator-data/customer-poster-by-t-hananouchi/>(2021年7月24日閲覧確認)

10)

<https://www.cellink.com/wp-content/uploads/2019/03/Inkredible-manual-2018-final.pdf>

(2021年7月24日閲覧確認)

11)

Solaimalai D, et al. Ultrasound gel as a source of hospital outbreaks: Indian experience and literature review Indian J Med Microbiol. , 2019, 37(2):263-267, 2019

12)

平田千広 ほか. 院内感染対策を目的とした超音波ゼリーの衛生管理に関する研究 超音波検査技術, 2016, 41 巻 5 号 485-491

13)

Belavy D Brief reports: regional anesthesia needles can introduce ultrasound gel into tissues. Anesth Analg. .2010, 111(3):811-812

14)

Sherman T et al Does the Use of Ultrasound Affect Contamination of Musculoskeletal Injections Sites? Clin Orthop Relat Res. 2015 Jan;473(1):351-7.