

安達耕一論文内容の要旨

主 論 文

New quantitative image analysis of staphylococcal biofilms on the surfaces of nontranslucent metallic biomaterials

非透光性生体材料の表面に形成される黄色ブドウ球菌バイオフィルムの新静的定量的解析

長崎大学整形外科

安達耕一 弦本敏行 米倉暁彦 西村誠介 梶山史郎 進藤裕幸

長崎大学第2内科

平瀧洋一

(Journal of Orthopaedic Science • 12 巻 2 号 2007 年 3 月掲載)

長崎大学大学院医歯薬学総合研究科医療科学専攻

(主任指導教員：進藤裕幸教授)

緒 言

各種の内固定材料や再建材料として金属が頻繁に使用される整形外科領域の手術では、時に難治な術後深部感染が問題となることがある。近年の多方面の研究によって、このような細菌感染症の難治化、治療抵抗性には細菌が形成するバイオフィルムが少なからず関与していることが指摘されている。われわれは手術で多用される生体材料の素材であるステンレス及びチタン製のワッシャーを用いて、in vitro の感染モデルを考案作成し、そこに形成される細菌 Biofilm の形態特性および定量的経時的解析を行った。本研究の目的は、材質の異なる生体材料表面に形成される黄色ブドウ球菌バイオフィルムの形成量を経時的に評価検討することである。

対象と方法

Strain Seattle 1945 および実際の人工関節術後感染例より得られた臨床株 2 種の計 3 種の黄色ブドウ球菌を使用した。ステンレスおよびチタン製ワッシャー表面を各々の細菌に一定時間、暴露させた後、Micro-tube 内の液体培地 Trypticase Soy Broth (TBS) 中で培養し、細菌にバイオフィルムを形成させた。その後、crystal violet で 2 分間染色したのち乾燥させ、99%エタノールにて脱色乾燥後、デジタル実体顕微鏡(VHX-100、KEYENCE)を用いて 2 次元画像を作成した。これらの画像より NIH image を用いて 1 視野あたりの Biofilm の占拠率 bacterial coverage rate (BCR)を算出し、その経時的解析を行った。また、これらの素材表面に形成された細菌バイオフィルムに対して抗菌薬 (CEZ) を作用させてその影響を定量評価した。

結 果

ステンレスおよびチタン製ワッシャー表面で形成、増大する Biofilm を経時的に観察した。Biofilm の占拠率を、異なる材質間で比較検討すると、培養後 24、48、72 時間のいずれにおいてもステンレス製の方がチタン製より有意に大きい傾向を示した。臨床株 2 種を 72 時間培養して形成させたバイオフィルムに対して抗菌薬を 24 時間処理したところ、いずれの素材ともに薬剤抵抗性を示した。

考 察

整形外科領域で使用される生体材料の中で、チタン合金は生体に対して高い親和性を持つことが示されている。このような生体親和性や素材の強度に関しては今までに多くの研究がなされ、さまざまな改善がなされてきた。しかし、とくに整形外科領域においては内固定材料などの生体材料を使用したあとの術後感染症が重大な問題になっていることを考慮するとき、細菌感染抵抗性という視点からそれらの素材を再評価することが必要になる。ステンレスや骨セメントと比較して、チタンが感染に対して抵抗性が高いことを指摘した in vivo の報告が散見されるが、生体材料への細菌付着性やそれらの抗バイオフィルム効果の評価検討はいまだ十分でない。今回の in vitro の研究から、チタンが細菌感染に対して抵抗力を持つ傾向があるというデータが示された。術後感染の根絶は、今後の大きな課題である。この領域のさらなる研究の進展が望まれる。