

浅原智彦 論文内容の要旨

手術部位感染症に対する光触媒酸化チタンの応用

長崎大学大学院医歯薬学総合研究科医療科学専攻 浅原智彦
(主任指導教員： 尾崎 誠 教授)

[背景と目的]

手術部位感染症(Surgical Site Infection:以下 SSI)は、様々な感染防止対策が行われているにも関わらず発生する。整形外科領域でも 0.2~17.3%に術後感染が発生ししばしば難治性となる。こうした問題に対して、我々は光触媒酸化チタン (TiO_2)の殺菌作用に着目している。 TiO_2 は紫外線(UV)照射により種々の活性酸素を発生し強い酸化力を示す。これまで大腸菌などへの殺菌性が多く報告されているが、SSIの主因である黄色ブドウ球菌について検討した研究は少ない。我々は可視光での殺菌効果発現と生体への影響を低減させるため、酸化剤を加えることで TiO_2 の光触媒抗菌活性を増幅させた低濃度光触媒 TiO_2 微粒子溶液を作製した。本研究の目的は、UV及び可視光照射による TiO_2 微粒子溶液の黄色ブドウ球菌に対する殺菌効果を *in vitro* で検証すること、及び TiO_2 微粒子の細胞毒性を調査することである。

[実験材料]

光触媒 TiO_2 微粒子溶液は、四塩化チタンガスから一次粒子の直径が 21nm の TiO_2 超微粒子を作製し、これに光触媒反応を促進させる過炭酸ナトリウムを含む他の可溶成分を加えて固形粉末とした後、固形粉末 0.5g を滅菌蒸留水 100ml と混合して作製した(0.5% TiO_2 溶液; TiO_2 濃度 0.019mg/ml)。黄色ブドウ球菌菌液は、黄色ブドウ球菌(Seattle1945)を血液寒天培地、Trypticase Soy Broth 培地で培養後、Phosphate buffered saline で希釈し、 1×10^5 CFU/ml の菌液を作製した。

[実験方法]

1) UV 及び可視光照射による TiO_2 微粒子溶液の黄色ブドウ球菌に対する殺菌効果の検討

菌液 40 μ l と 0.5% TiO_2 溶液 40 μ l を混合した後、UV を照射し照射時間による CFU から生菌率を算出した。UV 照射の有無、菌液と混合する溶液の種類から、グループ 1: TiO_2 溶液+UV(+), グループ 2: TiO_2 溶液+UV(-), グループ 3:蒸留水+UV(+), グループ 4:蒸留水+UV(-), グループ 5: TiO_2 を除いた可溶成分溶液+UV(-)の 5 群に分けて、生菌率を統計学的に比較検討した。同様に TiO_2 溶液と蒸留水の 2 群において可視光として蛍光灯を照射し、照射時間による CFU から生菌率を算出した。

2) TiO_2 の細胞毒性の検討

TiO_2 溶液の濃度別(0.0005%~10%)の細胞毒性を調査した。対象細胞は角膜由来細胞 3 種(Chang conjunctiva, SIRC, RC-1)、骨軟部組織由来細胞 3 種(HOS, HT-1080, MC3T3-E1)である。各細胞の生存率を統計学的に比較検討した。

[結果]

蒸留水+UV(-)群の生菌率は 120 分後でも 83.3%と高かったが、 TiO_2 溶液+UV(+群)で 30 分で 17.3%, 60 分で 0.4%に低下し、UV 照射 30~60 分においては他群よりも有意差をもって生菌率を抑制した(ANOVA $p < 0.05$)。 TiO_2 を除いた可溶性分溶液+UV(-)群でも生菌率は緩徐に抑制された(30 分:93.9%, 60 分:45.1%) (図 1)。蒸留水+蛍光灯照射群の生菌率は、180 分後も平均 64.8%と高値を維持した。これに対し、 TiO_2 溶液+蛍光灯照射群は、30 分で 76.7%, 60 分では 10.9%と 60 分以降は有意差をもって生菌率を抑制した($P < 0.05$) (図 2)。

図1 紫外線 (UV) 照射時間毎の生菌率

- グループ 1 : TiO₂ 溶液+UV(+)
- グループ 2 : TiO₂ 溶液+ UV(-)
- グループ 3 : 蒸留水+ UV(+)
- グループ 4 : 蒸留水+ UV(-)
- グループ 5 : TiO₂を除いた可溶成分 + UV(-)

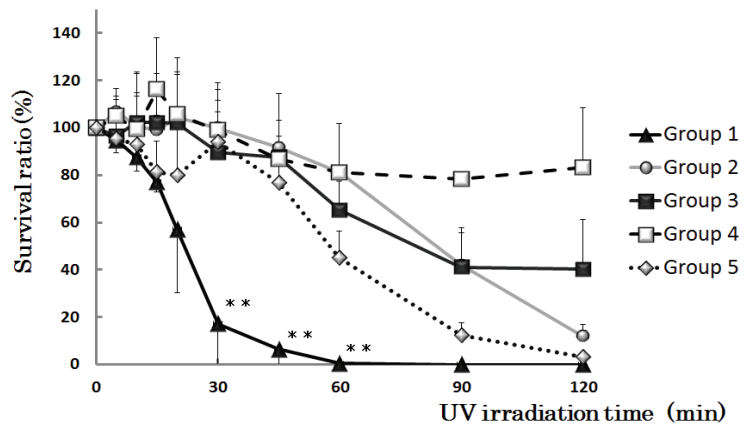
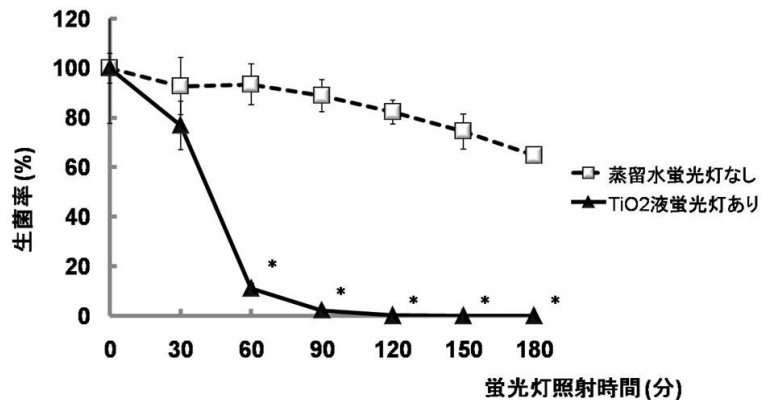


図2 蛍光灯照射時間毎の生菌率



角膜由来細胞 3 種は 0.5%TiO₂ 溶液 (TiO₂ 0.019mg/ml) までは明らかな毒性を示さなかったが, 1.0% (TiO₂ 0.038mg/ml) から徐々に生存率が低下した (P<0.01)。5.0%TiO₂ 溶液 (TiO₂ 0.19mg/ml) 以上では全ての細胞生存率が 10%以下となり, 強い毒性を示した。骨軟部組織由来細胞 3 種でも同様に TiO₂ 濃度 0.5%以下では有意な毒性は無かった。

[考察]

TiO₂ の殺菌活性は環境分野で一部応用されつつあるが, 医学的観点から検討した研究は極めて稀である。低濃度での TiO₂ の殺菌性と細胞毒性の低減は, TiO₂ の SSI 予防への臨床応用において重要な課題である。我々は光触媒反応を増幅させる酸化剤 (過炭酸ナトリウム) を配合することで, TiO₂ 濃度 0.5%という低濃度の TiO₂ 溶液において黄色ブドウ球菌に対して UV, 可視光共に殺菌性を発揮させることを可能にした。また, TiO₂ 溶液 0.5%での明らかな細胞毒性も認められなかった。本研究の結果は TiO₂ の SSI 予防を含めた臨床応用の可能性を開くものである。

[基礎となった学術論文]

Asahara,T., Koseki,H., Tsurumoto,T., Shiraishi,K., Shindo,H., Baba,K., Taoda,H., Terasaki,N. : The Bactericidal Efficacy of a Photocatalytic TiO₂ Particle Mixture with Oxidizer against Staphylococcus aureus. Jap. J. Inf. Diseases.2009 Sep; 62(5)378-390