

志田崇之 論文内容の要旨

主 論 文

Adherence ability of *Staphylococcus epidermidis* on prosthetic biomaterials:
an in vitro study

(生体金属材料表面における表皮ブドウ球菌の付着性)

志田 崇之、小関 弘展、依田 周、堀内 英彦、迫田 秀行、尾崎 誠

International Journal of Nanomedicine 第8巻：3955-3961 2013年

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：尾崎 誠教授)

【緒言】 生体用金属人工材料は、ステント、人工弁、人工関節、骨折内固定材として応用され医療の発展に大きく貢献してきた。一方で、人工材料表面は細菌にとって最適なコロニー形成の温床となり得る。細菌が生体材料表面に付着・増殖すると、バイオフィルムを形成し生体免疫細胞や抗菌薬への抵抗性を獲得する。こうして発症したインプラント関連感染症はきわめて難治性で長期間の治療を余儀なくされる。感染予防の為に様々な対策をとっているにも関わらず、インプラント関連感染症の発生率は0.2-17.3%と報告されており、臨床的にも大きな問題となっている。表皮ブドウ球菌は人工材料表面への付着能や集簇能が高くインプラント関連感染症の起炎菌として最も多い。したがって、表皮ブドウ球菌の付着性という観点から人工材料を評価することは、インプラント関連感染を予防し、複数回手術、抗生剤の長期投与などによる医療費の膨大化を抑制する可能性があり、臨床的にも有意義であると考えられる。

本研究では、5種類の医療用規格の金属人工材料を用いて表皮ブドウ球菌の付着性を評価し、細菌付着に影響を及ぼす生体材料因子について検討を行った。

【対象と方法】 オキシニウム（表面酸化ジルコニウム合金）、コバルトクロム合金、チタン合金、純チタン、ステンレス鋼の試験片を鏡面研磨した。走査型電子顕微鏡および3次元形状測定レーザー顕微鏡で測定した平均粗さから表面粗

さを評価し、自動接触角計で測定した水の接触角から表面の濡れ性（親水性・疎水性）を評価した。滅菌した各試験片表面に 7.5×10^7 CFU/ml となるよう調製した表皮ブドウ球菌（polysaccharide intercellular adhesin (PIA) 産生株 RP62A, ATCC35984）の菌液を $200 \mu\text{l}$ ずつ滴下して 60 分間暴露した。浮遊菌をリンスし別容器の phosphate-buffered saline (PBS) 内で攪拌・超音波洗浄を加えて付着した基板表面の表皮ブドウ球菌を遊離させ、遊離した菌数 (CFU/ml) を希釈平板法により計測して材料間での比較を行った。

【結果】 表面の平均粗さは全ての基板で 10nm 以下（オキシニウム 7.5nm, コバルトクロム 2.3nm, チタン合金 4.8nm, 純チタン 5.4nm, ステンレス鋼 1.4nm）であり、走査型電子顕微鏡でも極めて凹凸不整が少ない表面であることが確認された。接触角はオキシニウム 78.7 度, コバルトクロム 100.4 度, チタン合金 80.6 度, 純チタン 83.4 度, ステンレス鋼 89.1 度でオキシニウム, チタン合金, 純チタンが同程度の親水性, コバルトクロム合金は疎水性であった。細菌付着量 ($\times 10^5$ CFU/ml) は, オキシニウム 9.3, コバルトクロム合金 9.1, チタン合金 13.5, 純チタン 16.7, ステンレス鋼 14.3 であり, オキシニウムとコバルトクロム合金は純チタンよりも有意に付着量が少なかった。 ($P < 0.05$)

【考察】

諸家の報告では初期細菌付着に影響する生体材料因子として表面の粗さを指摘するものが多い。今回、全ての金属基板表面をきわめて平滑に研磨し、粗さ以外に初期細菌付着に影響する生体材料因子について検討を行ったところ、表面の濡れ性が付着に関与した可能性が示唆された。一方で粗さや濡れ性以外にも付着に影響を及ぼす要因があることも否定できなかった。以上より、生体材料表面への初期細菌付着現象は複雑な多因子相互作用によって起こると考えられる。今後より生体内環境に近い条件下で詳細な研究を進め、細菌付着とそれに続くバイオフィーム形成という複雑な現象について解明していく必要がある。