



Title	医療応用を目的とした大気圧低温プラズマと過硝酸を用いた殺菌に関する研究
Author(s)	横山, 高史
Citation	大阪大学, 2020, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/81898
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

論文内容の要旨

氏 名 （ 横 山 高 史 ）

論文題名

医療応用を目的とした大気圧低温プラズマと過硝酸を用いた殺菌に関する研究

人間の健康的な生活において感染症の予防は必要不可欠であり、消毒薬による病原体の不活性化は重要な研究課題である。一般に、消毒薬の殺菌効果は濃度に正比例するが、高濃度の消毒薬は人体に毒性をもたらすトレードオフの関係にある。そのため、殺菌力が高く生体に対する毒性が低い消毒方法の開発は重要な使命である。本研究では新しい殺菌技術の試みとして、大気圧低温プラズマを用いた人体消毒に取り組んだ。プラズマが生成する活性種は短寿命のものが多く、生体に殺菌因子が残留しない安全性の高い消毒手法として期待されている。人体は湿潤環境であることから、これまで北野研究室ではプラズマを用いた液相の殺菌に取り組んできた。そして、プラズマを用いた液中の殺菌において、液中に活性酸素素種の一種である過硝酸が生成し、殺菌因子として作用していることを明らかにした。過硝酸は古くから知られる物質であるがバイオ分野に応用されたことはこれまでになく、北野研究室の殺菌利用は世界初の試みである。また、過硝酸は化学試薬により合成可能であり、プラズマを用いることなく比較的容易に作成することができる。さらに、体温における過硝酸の寿命は比較的短いことから人体における残留性が低く、安全性の高い消毒薬としての応用が期待されている。そこで、本研究ではプラズマを用いた生体消毒の検証に加え、過硝酸溶液を用いた生体・非生体の消毒技術の有効性の検証を行った。また、過硝酸の殺菌利用の観点から、過硝酸の基礎的な殺菌特性・化学特性を評価した。

第1章では、前述の消毒における現状の課題を整理し、プラズマを用いた殺菌に関わる先行研究について述べた。そして過硝酸に関する知見を整理した。

第2章では、プラズマや過硝酸溶液を用いた人体消毒と医療器具消毒における実用性を検証するため汚染皮膚モデルと汚染材料モデルを構築した。汚染皮膚モデルはブタの表皮組織に黄色ブドウ球菌を塗布することで作成し、これに適した生菌数の評価方法を検討した。汚染材料モデルには担体にポリスチレン製のマイクロプレートを用い、医療器具の洗浄装置の試験に用いられる人工汚物を参考に血液系汚染材料モデルと小麦粉系汚染材料モデルを構築した。

第3章では、汚染皮膚モデルを用いてプラズマ殺菌手法の皮膚消毒における有用性を検証した。その結果、酸性条件における殺菌効果は消毒薬の薬効判定基準よりも十分大きく、低pH法を用いたプラズマ照射は消毒技術として十分な殺菌効果を有していることが明らかとなった。また、プラズマ照射中の皮膚表面の温度測定やプラズマ照射後の皮膚表面の観察により、皮膚に対する目立った熱影響が生じていないことを確認した。

第4章では、過硝酸の殺菌特性を評価した。大腸菌、腸球菌、枯草菌芽胞に対して異なる濃度の過硝酸の殺菌効果を速度論に基づいて解析した。消毒薬による殺菌を理論と経験から記述した法則（チックワトソンの法則）に基づく解析により、過硝酸による殺菌メカニズムは細胞内の生体高分子の酸化反応によるものと推定された。また、過硝酸は枯草菌の芽胞に対しても有効であり、モル濃度当たりの殺菌力は他の一般的な消毒薬（次亜塩素酸ナトリウム、過酢酸）の数十～数百倍高いことが明らかとなった。

第5章では、過硝酸と生体高分子との反応の特徴を明らかにするため、生体を構成する20種類のアミノ酸の反応を解析した。その結果、過硝酸は4種類のアミノ酸（メチオニン、トリプトファン、チロシン、システイン）に対して顕著な反応性を示した。また、最も高かったメチオニンに対する過硝酸の反応性は2番目のトリプトファンに対する反応性と比べて100倍以上大きく、過硝酸のメチオニンに対する高い反応特異性が明らかとなった。

第6章では、過硝酸溶液を用いた消毒の実用性の検証を行った。汚染皮膚モデルと汚染材料モデルを用いて皮膚表面、汚染材料表面における過硝酸の殺菌効果を評価し、それぞれに対する有効性を示した。また、ウシ血清アルブミンを添加した菌懸濁液を用いて、過硝酸が有機夾雑物によって受ける殺菌効果の低下を調べた。その結果、過硝酸は有機夾雑物による殺菌阻害に対する耐性が高く、次亜塩素酸と比べると約30倍耐性が高いことを明らかにした。チックワトソンの法則に基づく解析により、このことは過硝酸とアミノ酸の反応性が低いことに起因することが示された。

第7章では、これらの結果をまとめ、プラズマや過硝酸溶液を用いた消毒技術の有用性と今後の展望について論じた。

論文審査の結果の要旨及び担当者

氏 名 (横 山 高 史)			
論文審査担当者	(職) 氏 名		
	主 査	准教授	北野 勝久
	副 査	教授	佐藤 文信
	副 査	教授	村田 勲

論文審査の結果の要旨

本論文は、大気圧低温プラズマを用いた消毒技術の有効性の検証に加え、過硝酸による生体・非生体の消毒技術の有効性の検証を行うものである。過硝酸は化学合成によって大量に得る事が可能であり、新規の殺菌剤として期待されており、過硝酸の殺菌特性・化学特性を様々な観点から評価している。

第 1 章では、前述の消毒における現状の課題とプラズマを用いた殺菌の試み、そして過硝酸に関する知見を整理している。

第 2 章では、プラズマや過硝酸溶液を用いた人体消毒と医療器具消毒における実用性を検証するため汚染皮膚モデルと汚染材料モデルを構築している。汚染皮膚モデルはブタの表皮組織に黄色ブドウ球菌を塗布することで作成し、これに適した生菌数の評価方法を検討している。汚染材料モデルには担体にポリスチレン製のウェルプレートを用い、医療器具の洗浄装置の試験に用いられる人工汚物を参考にして血液系汚染材料モデルと小麦粉系汚染材料モデルを構築している。

第 3 章では、汚染皮膚モデルを用いてプラズマ殺菌手法の皮膚消毒における有用性を検証している。その結果、酸性条件における殺菌効果は消毒薬の薬効判定基準よりも十分大きく、低 pH 法を用いたプラズマ照射は消毒技術として十分な殺菌効果を有していることが明らかとなっている。また、プラズマ照射中の皮膚表面の温度測定やプラズマ照射後の皮膚表面の観察により、皮膚に対する目立った熱影響が生じていないことを確認している。

第 4 章では、過硝酸の殺菌特性を評価している。大腸菌、腸球菌、枯草菌芽胞に対して異なる濃度の過硝酸の殺菌効果を速度論に基づいて解析している。消毒薬による殺菌を理論と経験から記述した法則（チックワトソンの法則）に基づく解析により、過硝酸による殺菌メカニズムは細胞内の生体高分子の酸化反応によるものと推定されている。また、過硝酸は枯草菌の芽胞に対しても有効であり、モル濃度当たりの殺菌力は他の一般的な消毒薬（次亜塩素酸ナトリウム、過酢酸）の数十～数百倍高いことが明らかとなっている。

第 5 章では、過硝酸と生体高分子との反応の特徴を明らかにするため、生体を構成する 20 種類のアミノ酸の反応を解析している。その結果、過硝酸は 4 種類のアミノ酸（メチオニン、トリプトファン、チロシン、システイン）に対して顕著な反応性を示している。また、最も高かったメチオニンに対する過硝酸の反応性は 2 番目のトリプトファンに対する反応性と比べて 100 倍以上大きく、過硝酸のメチオニンに対する高い反応特異性が明らかとなっている。

第 6 章では、過硝酸溶液を用いた消毒の実用性の検証を行っている。汚染皮膚モデルと汚染材料モデルを用いて皮膚表面、汚染材料表面における過硝酸の殺菌効果を評価し、それぞれに対する有効性を示している。また、ウシ血清アルブミンを添加した菌懸濁液を用いて、過硝酸が有機夾雑物によって受ける殺菌効果の低下を調べている。その結果、過硝酸は有機夾雑物による殺菌阻害に対する耐性が高く、次亜塩素酸と比べると約 30 倍耐性が高いことを明らかにしている。チックワトソンの法則に基づく解析により、このことは過硝酸とアミノ酸の反応性が低いことに起因することが示されている。

第 7 章では、これらの結果をまとめ、プラズマや過硝酸溶液を用いた消毒技術の有用性と今後の展望について論じ

ている。

以上のように、本論文は低 pH 法を用いた大気圧低温プラズマの消毒技術の有効性を示し、プラズマ処理水中の有効成分である過硝酸の殺菌特性を生体分子との化学反応性から評価を行い、その特異的な反応特性を明らかにしている。

よって本論文は博士論文として価値あるものと認める。