



Title	金属イオンおよびその微粒子の抗菌・抗ウイルス活性とその免疫毒性
Author(s)	
Citation	令和3（2021）年度学部学生による自主研究奨励事業 研究成果報告書．2022
Version Type	VoR
URL	https://hdl.handle.net/11094/85613
rights	
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

令和 3 年度大阪大学未来基金「学部学生による自主研究奨励事業」研究成果報告書

ふりがな 氏 名	やまもと ふみか 山本 史佳	学部 学科	薬学部 薬学科	学年	1 年				
ふりがな 共 同 研究者氏名	ひろた あかね 廣田 朱音	学部 学科	薬学部 薬学科	学年	1 年				
	ほうかく みい 寶閣 美依		薬学部 薬学科		1 年				
	むらかみ はなか 村上 花香		薬学部 薬学科		1 年				
	よしつぐ ゆい 吉次 結		薬学部 薬学科		1 年				
アドバイザー教員 氏名	堤 康央	所属	薬学部						
研究課題名	金属イオンおよびその微粒子の抗菌・抗ウイルス活性とその免疫毒性								
研究成果の概要	研究目的、研究計画、研究方法、研究経過、研究成果等について記述すること。必要に応じて用紙を追加してもよい。(先行する研究を引用する場合は、「阪大生のためのアカデミックライティング入門」に従い、盗作剽窃にならないように引用部分を明示し文末に参考文献リストをつけること。)								

【背景・目的】

新型コロナウイルスの影響により、感染予防と蔓延防止が期待できる消毒液の多用など我々の生活が変化した。しかし、頻繁な手指消毒が本来備わっている皮膚のバリア機能を壊してしまい(*1)、人によってはひどく手が荒れてしまう例が認められるうえ、消毒用エタノールや次亜塩素酸水は特有のアレルギーが懸念されている。そこで、手指の消毒による肌への負担を解消することが必要であると考えた。

その解決策として昨今新たに金属イオン及びその微粒子の殺菌・抗菌・抗ウイルス作用が取り沙汰されている(*2)。それらは既に実用段階にあり、ヒトが直接曝露する領域にまで拡大している。しかし、これら抗菌性金属やその微粒子のヒト健康影響は殆ど解明されておらず、そのリスクとベネフィットを十分に理解することが重要である。

そこで本研究では、第一に、ベネフィットの視点で、イオン化する金属やその微粒子の殺菌・抗菌・抗ウイルス効果を評価する。第二に、リスクの視点で、抗菌作用が確認された金属やその微粒子について金属アレルギーへの影響や皮膚刺激性を特定すると共に、皮膚・免疫細胞・菌に対する細胞毒性や遺伝毒性を検証する。これらを明らかにすることによって、未知の安全性・有効性情報を得ることができる。

本研究を通して、抗菌性金属に関するリスクとベネフィットを理解し、金属アレルギーの惹起性やアトピー性皮膚炎への安全性の解明に挑戦した。

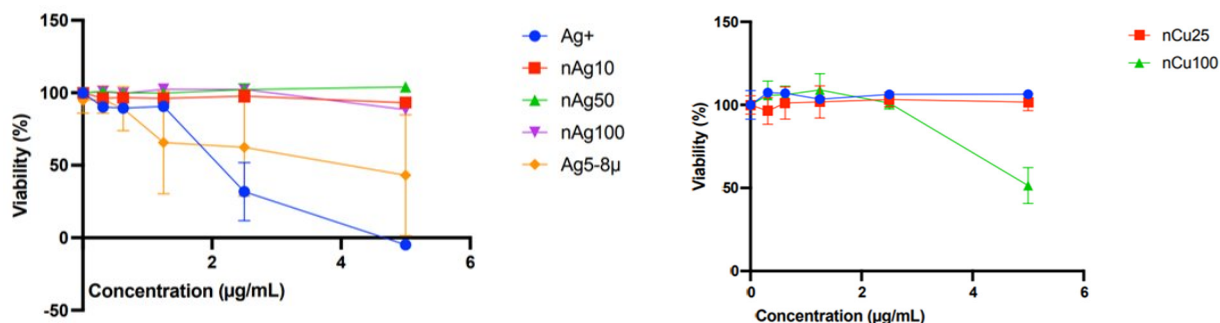
【方法】

大腸菌 DH5a と皮膚角化細胞株 HaCat、手指から得られた常在菌については被験物質を添加しその生存率を比較することで殺菌抗菌性および皮膚細胞毒性を評価した。さらに、実用可能性のある金属については表皮基本構造（顆粒層、有棘層、角層）を有する皮膚表皮モデルを用いて皮膚刺激性を評価した。大腸菌・常在菌に関しては吸光度を測定、細胞・皮膚表皮モデルに関しては MTT Assay によって評価した。

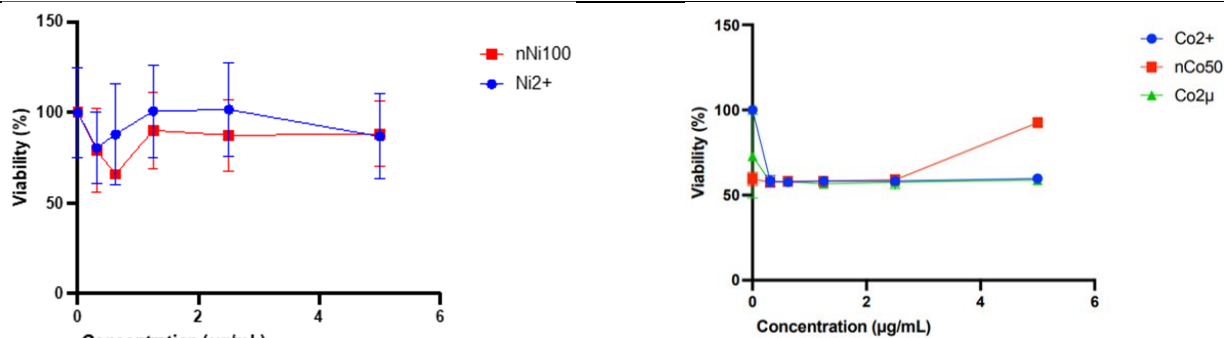
【結果】

1.大腸菌(DH5a)を用いた殺菌作用評価

まず、大腸菌(DH5a)に被験物質(Ag,Cu,Ni,Co)を添加し、吸光度でその生存率を調べ、金属の種類、粒子の大きさ、濃度について比較した。細胞生存率が低い金属ほど消毒剤としての効果が高いと考えられる。下記は得られた解析結果のグラフで(左上、右上、左下、右下)の順で(Ag,Cu,Ni,Co)



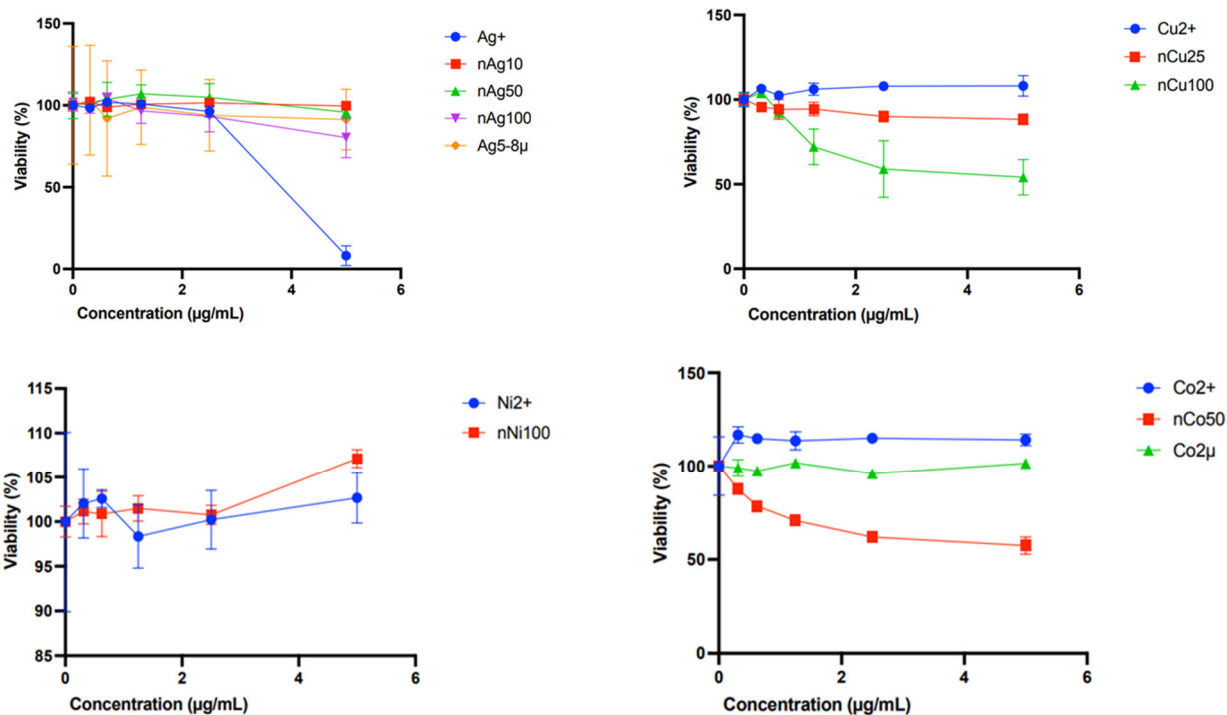
である。これらの結果から、Ag⁺、Ag5-8μm、Cu100nm、Co が高い殺菌作用を示した。



2. 皮

膚角化細胞株 HaCat を用いた細胞毒性評価

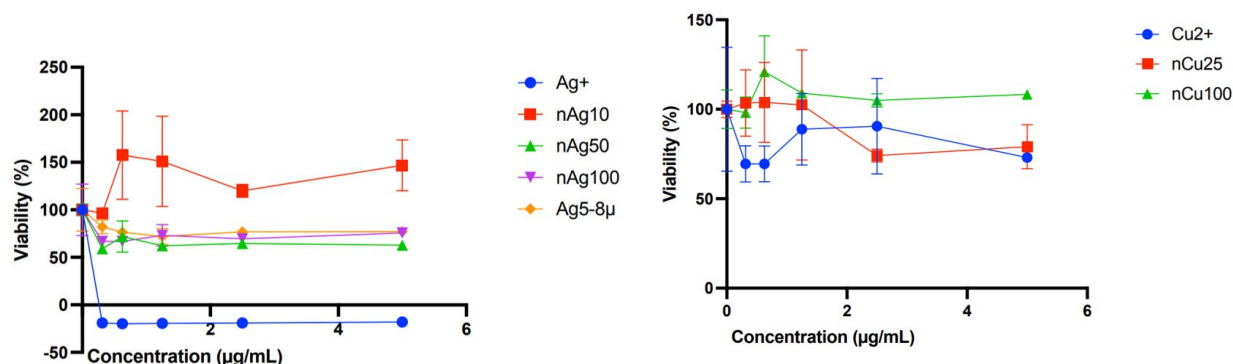
次に、細胞(HaCat)に被験物質(Ag,Cu,Ni,Co)を添加し、その細胞生存率を調べ、金属の種類、粒子の大きさ、濃度について比較した。細胞生存率が高ければ、手指消毒による皮膚刺激性は少ないと考えられる。下記は得られた結果のグラフである。(左上、右上、左下、右下)の順で



(Ag,Cu,Ni,Co)である。これらの結果より、Ag+と nCu100、nCo50 が高い細胞毒性作用を示した。

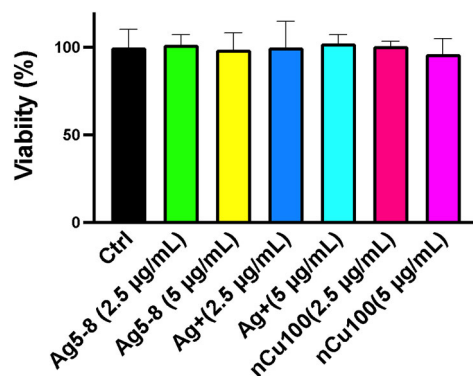
3.常在菌を用いた殺菌作用評価

さらに、大腸菌・細胞の評価で効果がみられた金属 (Ag,Cu) に対して実験者の手のひらから採取した常在菌を用いて殺菌性を評価した。常在菌に被験物質 (Ag,Cu) を添加した後、吸光度によって生存率を調べた。生存率が低いほど消毒剤としての利用が期待できると考えられる。下記は得られた解析結果のグラフで左が Ag、右が Cu である。再現性を取得する必要はあるものの、Ag+と Ag50nm が高い殺菌作用を示した。



4.皮膚表皮モデルを用いた細胞毒性評価

最後に、皮膚表皮モデルを使用し、大腸菌・細胞での評価で効果が見られたもの (Ag5-8μm, Ag+, Cu100nm)、つまり消毒としての効果が期待できるものに対し、さらなる細胞毒性の評価の実験を行った。結果は下のようになり、Ag5-8μm と Ag+、Cu100nm について、細胞毒性に顕著



な差は認められなかった。

【考察】

本実験により、殺菌性や細胞毒性は共に粒子の大きさ・金属の種類や濃度にもよらないことが確認された。その中で殺菌性と細胞毒性両方が確認されたものが Ag+と nCu100、殺菌性の確認されたものが Ag5-8μm であった。これら三種類の金属を皮膚表皮モデルに添加したところ目立った毒性は確認されなかった。このことは、HaCat は単層、皮膚表皮モデルは重層であることに起因すると推測される。ゆえに消毒剤としての長期的活用可能性があるのは Ag5-8μm であると考えられる。

また、銀ナノ粒子は、細胞に銀ナノ粒子を暴露した際、銀イオンとして溶出する(*3)。これより、HaCat を用いた実験において、使用する銀粒子の表面積が大きくなる程、より多くの銀イオン

が増え、細胞毒性が強くなったと考えられる。ただし、他の金属や大腸菌に対して同じことがいえるかは不明である。少なくとも実験結果を見ると、細胞に対する銀粒子と同じことが起きているとは言えない。特に銅イオンでは殺菌性、細胞毒性が強く見られなかったのは、実験で用いた濃度は銅イオンが殺菌性、細胞毒性を示すまで達していなかったからではないかと推測される。また、銅では 100nm で殺菌性、細胞毒性が見られたのは、微粒子が溶け出してイオンになり、イオン濃度が高くなったためではないかと考えられる。

【展望】

重層である皮膚表皮モデルでは目立った毒性は見られなかったが単層である細胞では毒性が多々見られたため、繰り返し添加する実験を行っていくことで皮膚への刺激やその毒性について確認していきたいと考える。また、金属の免疫毒性についても今後追及していく。

【参考文献】

1. 富山医科薬科大学看護学会誌、1999 年第 2 号 p49-58
2. 化学と教育、2005 年 53 巻 5 号 p288-291
3. 薬学雑誌、2014 年 134 巻 6 号 p. 723-729