

令和元年9月4日現在

機関番号：15401

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2016～2018

課題番号：16K11591

研究課題名（和文）感染・汚染劣化防止機能を有した抗菌性医療用人工皮膚の開発

研究課題名（英文）Development of antimicrobial medical artificial skin with infection-contamination prevention function

研究代表者

阿部 泰彦（Abe, Yasuhiko）

広島大学・医系科学研究科（歯）・准教授

研究者番号：00253097

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,500,000円

研究成果の概要（和文）：人工皮膚材料としての超軟質ウレタン樹脂に、我々の開発した無機系抗菌剤「塩化セチルピリジニウム担持モンモリロナイト（以下、CPC-Mont）」を添加し、抗菌性医療用人工皮膚を試作した。CPC-Montの2、5、10、15重量%添加試料について、抗菌性、皮膚刺激性、粘着性について検証し、5重量% CPC-Mont添加試料が、抗菌性医療用人工皮膚として有用であることが明らかとなった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

無機系抗菌剤を添加した超軟質ウレタン樹脂からなる抗菌性医療用人工皮膚を試作できたことは、世界で初めての試みであり、エプテナーゼ・ソマトプロテナーゼを使用する患者のQOLを向上させ、歯科、頭頸部外科、形成外科、整形外科領域の医療に大きく寄与するものと確信している。また、火傷・外傷による皮膚の創面や術後の縫合部位の保護シートのように、その応用範囲は広がると考える。

研究成果の概要（英文）：We manufactured a trial antimicrobial medical artificial skin that was composed of a super-soft urethane resin containing an inorganic antimicrobial agent "cetylpyridinium chloride-montmorillonite (CPC-Mont)". For the specimens with 2, 5, 10, and 15 wt.% -CPC-Mont, antimicrobial, in-vitro skin irritation, and tackiness tests were conducted. Therefore, it was revealed that the specimen with 5 wt.%-CPC-Mont would be a useful candidate for the antimicrobial medical artificial skin.

研究分野：補綴系歯学

キーワード：顎顔面補綴学 抗菌剤

1. 研究開始当初の背景

腫瘍、炎症、外傷、先天奇形等により欠損した体の部位を補綴し、形態や機能を回復する装置として、エピテーゼ(顔面、耳介等)やソマトプロテーゼ(義指、義手、義足、人工乳房等)がある。これらエピテーゼ・ソマトプロテーゼを成型する材料には、医療用シリコン樹脂が最も広く用いられている。

その理由は、医療用シリコン樹脂が、温度変化に安定で、消毒が容易である、化学的・物理的に安定で、時間の経過で変形しない、形を作りやすい、生体に癒着や粘着を起こさない、生体との組織反応が少ない、毒性が少なく、発癌性に関しても臨床的に問題ない、といった特徴を有しているからである。

しかしながら、これらの利点を有するシリコン樹脂で成型されたエピテーゼ・ソマトプロテーゼであっても、欠損部位の可動する皮膚との境界において(図1)、シリコン樹脂の物性としてその可動性を追従できない、装着の際にはシリコン系接着剤を使用して正しい位置に固定しなければならない、といった問題点を有している。さらに、この皮膚との境界における汗や汚れは、悪臭、皮膚感染(皮膚炎)及び材質の劣化を惹起し、エピテーゼ・ソマトプロテーゼの離脱及び装着を困難とする。

そこで、図2に示す通り、エピテーゼ・ソマトプロテーゼの本体をシリコン樹脂で成型し、皮膚との境界にシリコン樹脂より人肌に近い超軟質ウレタン樹脂を複成型することを考案する。また、超軟質ウレタン樹脂上での菌の増殖を抑制するために、我々の開発した無機系抗菌剤「塩化セチルピリジニウム(Cetylpyridinium Chloride : CPC)担持モンモリロナイト(以下、CPC-Mont)」を応用することで、感染・汚染劣化防止機能を有した抗菌性医療用人工皮膚の開発を目指した。

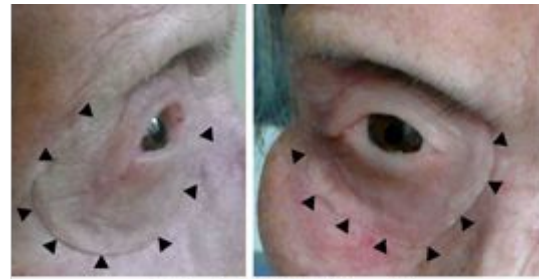


図1 眼窩エピテーゼ
▲:皮膚境界



図2 シリコン樹脂/超軟質ウレタン樹脂複成型

2. 研究の目的

「感染・汚染劣化防止機能を有した抗菌性医療用人工皮膚の開発」のため、研究期間内に以下の2点について明らかにする。

- (1) 抗菌性試験により超軟質ウレタン樹脂への新規無機系抗菌剤の最適添加量の決定
- (2) 試作抗菌性医療用人工皮膚の安全性及び耐劣化性の検証

3. 研究の方法

(1) 検体試料作製

両面ゲルの超軟質ウレタン樹脂(アスカ-C硬度0)に、CPC-Montを2、5、10、15重量%添加した試料(以下、S-2、S-5、S-10、S-15)を200 mm四方、厚さ1 mmに成型した。尚、CPC-Mont無添加試料(以下、S-0)をコントロールとした。

(2) 抗菌性試験(JIS Z 2801)

A) 試験菌

細菌: *Staphylococcus aureus* (黄色ブドウ球菌) NBRC 12732

真菌: *Candida albicans* (カンジダ菌) NBRC 1594

B) 試験方法

試験菌液の作製

黄色ブドウ球菌は、普通寒天培地に接種し、 35 ± 1 °Cで18時間培養を2回行った。カンジダ菌は、ポテトデキストロース寒天培地に接種し、 25 ± 1 °Cで48時間培養を2回行った。黄色ブドウ球菌は500倍に希釈した普通ブイヨン(1/500 NB)に、カンジダ菌は500倍に希釈したGlucose peptone broth (1/500 GB)を用いて、 $2.5 \times 10^5 \sim 10 \times 10^5$ / mLにそれぞれ調整したものを試験菌液とした。

試験試料の作製

検体試料表面を、消毒用エタノールで軽くふき取ったものを試験試料とした。また、滅菌フィルムを 5 cm×5 cm に切り取ったものをコントロールとした。

試験菌液の接種・培養

試験試料に作製した試験菌液 0.4 mL を接種し、40±2 mm 四方の被覆フィルムを被せた後、シャーレに入れた。これを、35±1℃、相対湿度 90%以上の環境下で 24 時間培養した。

生菌数測定

接種 0 日、1 日および 7 日目に試験試料と黄色ブドウ球菌は SCDLP 培地 10 mL で、カンジダ菌は GPLP 培地をストマッカー袋に入れ、3 分間ストマッカー処理したものを、滅菌生理食塩水を用いて 10 倍希釈系列を作製した。これら希釈液を試験液とし、黄色ブドウ球菌試験液は SCDLP 寒天培地に接種し、カンジダ菌試験液は GPLP 寒天培地に接種し、35±1℃、48 時間～72 時間培養した。培養後、形成されたコロニーをカウントし、生菌数を換算した。

(3) OECD TG 439 ガイドライン承認の皮膚刺激性試験 (nonGLP)(安全性試験)

MatTek 社 (USA) (販売：倉敷紡績株式会社バイオメディカル部) のヒト正常表皮角化細胞から構成されたヒト皮膚 3 次元モデル EPI-200 を使用し、「細胞生存率 > 50%」の場合に「非刺激」と判定する試験を行った。

(4) 粘着性試験 (耐劣化性試験)

A) 試験試料の作製

検体試料 (3 年間室温にて経年劣化後) の測定ポイントを 10 点とし、測定間距離を 30 mm 以上離れた。検体試料の粘着性を試験する材料をシリコーン樹脂とした。各検体試料につきシリコーン樹脂試料を 5 個用意した (1 個 2 点測定)。シリコーン樹脂の形態は、直径 10 mm、厚さ 3 mm のディスクとした。

B) 試験方法

試験機は、Testing machine EZ Test (島津製作所、京都) を使い、シリコーン樹脂を上部に固定し、検体試料を下部テーブルに固定した。クロスヘッドスピードを毎秒 1 mm とし、圧縮・ホールド・引張のストロークから粘着力 (mN) を測定した。各検体試料における 10 点測定値について、一元配置分散分析及び多重比較 Tukey 法を用いて統計学的分析を行った。

4. 研究成果

(1) 抗菌性試験結果

黄色ブドウ球菌及びカンジダ菌に対する抗菌性試験結果を表 1、2 に示した。黄色ブドウ球菌 (表 1) においては、接種 0 日目では S-5 以上、1 日目及び 7 日目では S-2 以上で菌は検出されなかった。また、カンジダ菌 (表 2) においては、1 日目及び 7 日目では S-2 以上で菌は検出されなかった。よって、S-2 及び S-5 を抗菌性医療用人工皮膚の候補とした。

表 1 *Staphylococcus aureus* (黄色ブドウ球菌) に対する抗菌試験結果

検体試料	菌液初発/mL	暴露期間		
		0 日目	1 日目	7 日目
S-0	3.6×10^5	1.7×10^5	6.9×10^3	3.0×10^2
S-2	3.6×10^5	2.6×10^4	$< 10^1$	$< 10^1$
S-5	3.6×10^5	$< 10^1$	$< 10^1$	$< 10^1$
S-10	3.6×10^5	$< 10^1$	$< 10^1$	$< 10^1$
S-15	3.6×10^5	$< 10^1$	$< 10^1$	$< 10^1$
コントロール	3.6×10^5	2.6×10^5	4.6×10^5	1.0×10^3

< 10¹: 試験液 0.1 mL 培養により菌が検出されない。

表2 *Candida albicans* (カンジダ菌) に対する抗菌試験結果

検体試料	菌液初発/mL	暴露期間		
		0日目	1日目	7日目
S-0	2.5×10^5	1.2×10^5	1.6×10^3	5.2×10^4
S-2	2.5×10^5	7.0×10^4	$< 10^1$	$< 10^1$
S-5	2.5×10^5	9.0×10^3	$< 10^1$	$< 10^1$
S-10	2.5×10^5	7.0×10^2	$< 10^1$	$< 10^1$
S-15	2.5×10^5	5.0×10^1	$< 10^1$	$< 10^1$
コントロール	2.5×10^5	1.3×10^5	4.0×10^5	4.0×10^5

< 10¹: 試験液 0.1 mL 培養により菌が検出されない。

(2) 皮膚刺激性試験結果

皮膚刺激性試験の結果を図3に示した。いずれの試料においても細胞生存率が50%より大きく「非刺激性」と判定され、安全性を確認した。

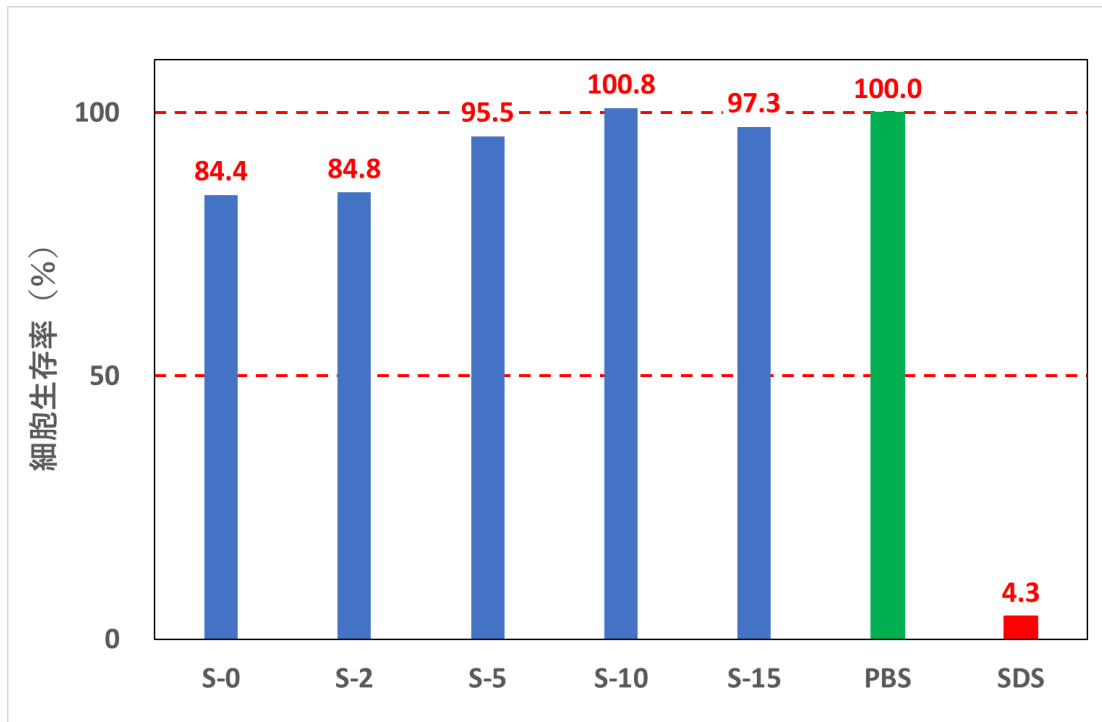


図3 皮膚刺激性試験結果

グラフ中のPBSはPhosphate buffered salts (リン酸緩衝生理食塩水)、SDSはSodium dodecyl sulfate (ドデシル硫酸ナトリウム)。

(3) 粘着性試験結果

3年間の経年劣化後のシリコン樹脂に対する粘着性試験結果を図4に示した。未添加試料S-0の粘着力に対して、S-2で42% ($P < 0.01$) に有意に低下し、S-5で77%に粘着力が低下するも有意差は認められなかった。また、S-5は、S-2 ($P < 0.05$) 及び S-15 ($P < 0.01$) より有意に大きい値を示した。

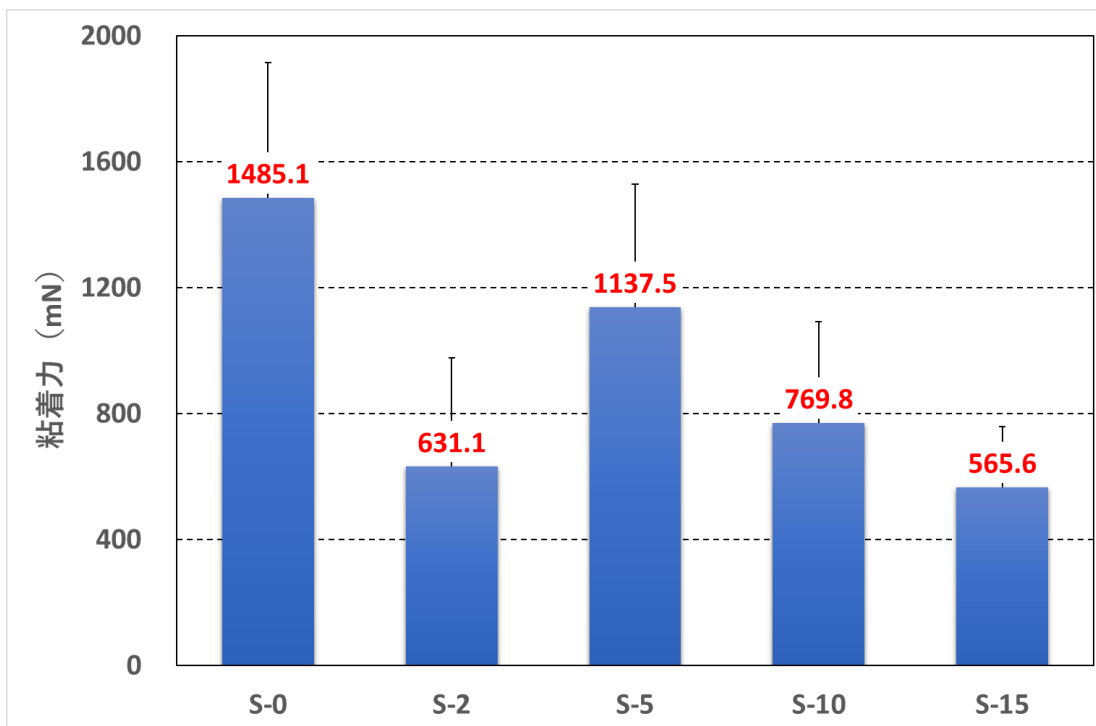


図4 粘着性試験結果

抗菌性、皮膚刺激性、粘着性について検証した以上の結果より、S-5試料が、抗菌性医療用人工皮膚として有用であることが明らかとなった。

無機系抗菌剤を添加した超軟質ウレタン樹脂からなる抗菌性医療用人工皮膚を試作できたことは、世界で初めての試みであり、エプテゼ・ソマトプロテゼを使用する患者のQOLを向上させ、歯科、頭頸部外科、形成外科、整形外科領域の医療に大きく寄与するものと確信している。また、火傷・外傷による皮膚の創面や術後の縫合部位の保護シートのように、その応用範囲は広がると考える。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 0件)

〔学会発表〕(計 0件)

〔図書〕(計 0件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0件)

取得状況(計 0件)

〔その他〕

なし

6. 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名：吉原 久美子

ローマ字氏名：(YOSHIHARA, kumiko)

所属研究機関名：岡山大学

部局名：大学病院

職名：助教

研究者番号 (S 桁) : **90631581**

研究分担者氏名：岡崎 洋平

ローマ字氏名 : (**OKAZAKI, yohei**)

所属研究機関名：広島大学

部局名：大学病院

職名：助教

研究者番号 (S 桁) : **00706898**