

令和 4 年 4 月 24 日現在

機関番号：14301

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2019～2021

課題番号：19K09283

研究課題名（和文）機能性極細気泡を用いた革新的臓器保存液の開発

研究課題名（英文）Development of innovative organ preservation solutions using functional ultrafine bubbles

研究代表者

豊 洋次郎（Yutaka, Yojiro）

京都大学・医学研究科・助教

研究者番号：60829456

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：ウルトラファインバブル（UFB）は目に見えないほどの細かい泡である。殺菌効果を有するものの、半減期の短さから保存に適さなかったオゾンガスをUFBとして長期保存可能とした。基礎実験と動物実験によりオゾンUFBが、安全かつ高い殺菌力を有することを証明した。本溶液は感染症治療へと応用可能であり、従来抗生剤治療以外に有効な治療法が存在しなかったヒト体腔内の感染症に対する洗浄治療にも応用できることが期待される。本案件は、日本医療研究開発機構（AMED）橋渡し研究プログラムの支援を受けており、今後臨床応用を目指している。

研究成果の学術的意義や社会的意義

オゾンウルトラファインバブル(UFB)製造装置の医療機器化により、これまで生理食塩水等の非殺菌性溶液でしか洗浄できなかった領域（体腔内や粘膜面など）に対してより効果の高い治療を行うことができるようになる。オゾンUFBを用いた治療により、薬剤耐性菌や難治性菌に対する治療効果が期待できるとともに、既存治療への乗せ効果により、ドレナージ期間の短縮（患者の苦痛の軽減）、入院期間の短縮（医療費軽減）につながることも期待できる。本製剤は、整形外科などの他医療分野だけでなく、日常生活への応用も期待できる。

研究成果の概要（英文）：Ultrafine bubbles (UFB) are defined as invisible but functional fine bubbles. UFB enabled long-term preservation of bactericidal ozone gas with short-half-life period which was not appropriate for preservation, and we tested safety and efficacy of the novel ozone UFB solutions by basic and animal experiments. This ozone UFB solutions can be applied for anti-infective agent, especially for irrigation in the thoracic and abdominal cavity for the treatment of infectious disease. This research is supported by Japan Agency for Medical Research and Development (AMED) and the goal is to apply this novel ozone UFB solutions into clinical setting in the near future.

研究分野：呼吸器外科、肺癌、感染症、移植

キーワード：感染症 膿胸 ファインバブル 臓器保存 呼吸器外科 殺菌

1. 研究開始当初の背景

当初ウルトラファインバブル(UFB)を臓器保存液として使用する予定であったが、同液体のガス保存能と殺菌作用に注目し、感染症治療への応用へと計画を変更した。

呼吸器外科領域において膿胸を含めた体腔内感染に対して抗菌薬治療は必須だが、体腔内は抗菌薬の到達度が低く、治療期間は数週間以上にわたることも多い。体腔内洗浄には生理食塩水が使用され、既存の消毒剤は組織傷害性の面から認められていない。一方、オゾンは殺菌効果を有し、半減期の短さから体腔内遺残のリスクは低いものの、保存に適さなかった。そこで、オゾン(UFB)として保存し、安全かつ殺菌力の高い洗浄液を作成することとした。

2. 研究の目的

半減期の短さから保存に適さなかったオゾンガスをUFBとして長期保存可能とし、同溶液が有する安全性と殺菌力を基礎実験、動物実験で検証すること。

3. 研究の方法

2019年から2021年にかけて関連企業との共同研究を開始し、AMED橋渡し研究シーズAおよび学内からのプログラムの支援下に以下の内容を実施した。

1) オゾンUFBの生理食塩水中での微細気泡個数の経時的安定性の確認。

2) オゾンUFB中の溶存オゾン濃度の経時変化の確認(オゾン水よりも濃度低下速度が緩徐で、有効濃度域にとどまる時間が長い)。

3) オゾンUFBのグラム陽性菌・陰性菌・薬剤耐性菌・嫌気性菌への殺菌作用の確認。

実験 黄色ブドウ球菌, 緑膿菌, MRSA, 嫌気性菌 *Peptostreptococcus anaerobius* の各懸濁液と各希釈系列のオゾンUFB水(原液: 0.4 mg/L)を混和し培養した。

結果 各菌種に対して4-8倍希釈のオゾンUFB水で殺菌性が示された。嫌気性菌は他細菌よりも高いオゾン濃度(1 mg/L)を要した。

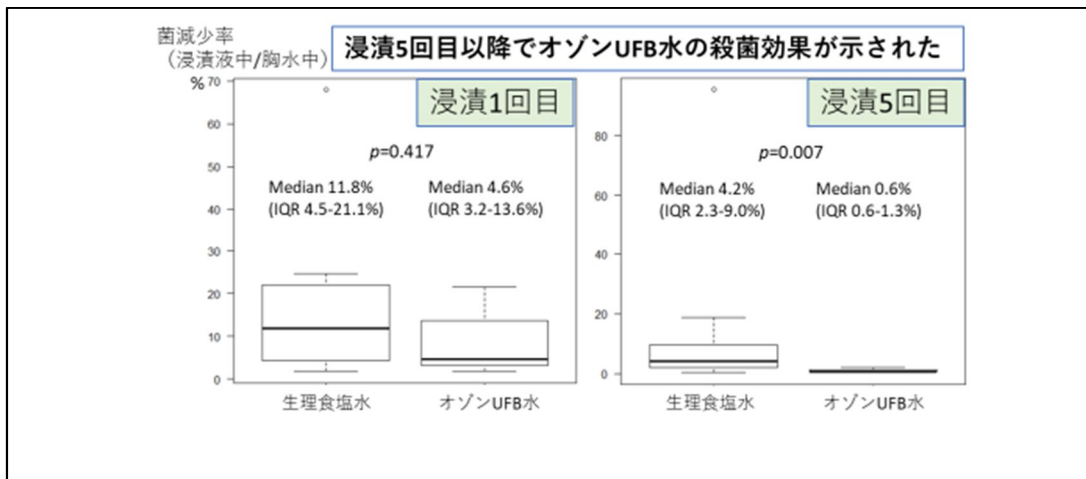
実験 黄色ブドウ球菌に各種濃度のアルブミンを添加して疑似膿性胸水を作成し、オゾンUFB水の有機物存在下での殺菌効果を評価した。

結果 アルブミン濃度が1%未満の条件下で、オゾンUFB水の殺菌性が認められた。

4) ラット膿胸モデルを用いた、オゾンUFBの胸腔内における殺菌効果の確認。

実験 ラット右胸腔内に黄色ブドウ球菌液を注入して急性膿胸モデルを作成した。Day2にsacrificeし、胸水を回収後、胸腔内をオゾンUFB水(3-4 mg/L)または生理食塩水で15回浸漬し、1, 5, 10, 15回目の浸漬液を培養して細菌数の減少比率を比較した。

結果 浸漬5回目以降、残存菌数比はオゾンUFB水で有意に低かった(下図)。



5) ラット胸腔内におけるオゾン UFB の組織非傷害性の確認。

実験 安全性評価として、高濃度オゾン UFB 水 (10 mg/L)、生理食塩水を胸腔内に注入し、24 時間後の血液中 IL-6 値、組織傷害を比較評価した。

結果 オゾン UFB 水と生理食塩水で IL-6 値に有意差を認めず、両群ともに組織傷害を認めなかった。

6) オゾンガス発生、UFB 化、オゾン濃度調整、オゾン耐用専用容器へのボトリングまでを一体型閉鎖式とする機器として、企業との特許共同出願予定 (2022 年 4 月出願済)。

7) PMDA 医療機器申請に関する全般相談および対面助言準備面談まで終了。現在、曝露のリスクや臨床上の利便性を考慮し、全工程を閉鎖式一体型とする新たなオゾン UFB 製造機の開発を目指している。

4. 研究成果

現在までに実施した基礎実験、動物実験によってオゾン UFB の殺菌効果および安全性が確認できた。現在開発中のオゾン UFB 製造新システムによりさらにバブル数が増えた場合、より低濃度で殺菌効果を発揮できる可能性があるため、最終的な有効オゾン濃度の設定は試作機完成後に行うこととなる。また、安全性については、胸腔内へのオゾンウルトラファインバブル水の注入後に胸腔内の炎症や全身性の炎症が起きないことを有効オゾン濃度 (1-2mg/L) の 5-10 倍の濃度で検証済みだが、これについてもバブル数が増えることで有害事象のリスクが増えるかどうかの検証が必要であり、ヒトへの臨床応用を行う上で検証すべき有害事象の評価を、外部評価機関を交えて検討する必要があると考えている。

今後以下の課題を克服し、臨床応用を目指している。

1) ウルトラファインバブル発生装置部分の性能向上 (個数の増加: 1×10^9 個/ml 以上) および試作機の作製

- 2) 機器の品質保証(臨床ニーズに合ったコストも考慮)
- 3) 試作機が完成次第、オゾンウルトラファインバブル水を用いた殺菌効果および安全性の評価を行う(安全性評価については外部機関への委託も検討)
- 4) PMDA 医療機器申請の開発前相談以降のステップに進む
- 5) 呼吸器外科分野以外への医療応用展開(整形外科・形成外科分野などにおける感染局所の殺菌洗浄など)

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

〔出願〕 計1件

産業財産権の名称 洗浄水の製造システムおよび製造方法	発明者 豊 洋次郎、池田 政樹、芳川 豊史、 伊達 洋至	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、特願2022-066833	出願年 2022年	国内・外国の別 国内

〔取得〕 計0件

〔その他〕

<p>本研究で得られた成果に関しては現在論文作成中であり、2022年度中に発表予定である。また、本件は日本医療研究開発機構（AMED）橋渡し研究プログラムの支援を受けており、プロトタイプのオゾンUFT製造器が完成次第、オゾンUFTの持つ殺菌作用の再検証および、臨床応用に向けて進めていく予定である。</p>

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	芳川 豊史 (Yoshikawa Toyofumi) (00452334)	名古屋大学・医学系研究科・教授 (13901)	
研究分担者	伊達 洋至 (Date Hiroshi) (60252962)	京都大学・医学研究科・教授 (14301)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------