

氏 名：高野 海哉
学位の種類：博士(感染制御学)
学位記番号：博感制第13号
学位授与の要件：学位規則第4条第1項該当
学位論文題目：培養細胞を用いた過酸化水素による細胞毒性の検討
研究指導教員：小林 寛伊
論文審査委員：(主査)大久保 憲 (副査)岩澤 篤郎
(委員)吉田 理香 (委員)古田 太郎

論文審査結果の要旨

過酸化水素は、従来から創部の浄化剤として2.5～3.5w/v%製品が使用されてきたが、近年、過酸化水素低温ガスプラズマ滅菌法や過酸化水素ガス低温滅菌法として高濃度の過酸化水素を使用した医用器材の滅菌法がおこなわれている。新しい滅菌法においては、滅菌運転中に周囲環境へ過酸化水素の拡散や、滅菌後、被滅菌物の素材によっては滅菌された器材の表面に過酸化水素が残留するという報告がある。過酸化水素は水と酸素に分解するが、過酸化水素から生じるヒドロキシルラジカルは強力な酸化作用を有するために生体毒性が強く、作業者の安全の面での検討が求められている。

今回の研究は、滅菌器の運転中や滅菌物に残留した過酸化水素が人体に及ぼす影響を検討するため、過酸化水素が生体を構成する細胞にどのような影響を及ぼすかについて検討されたものである。ここでは、過酸化水素そのものの影響を見た研究で、気相ではなく液相における検討である。過酸化水素が活性酸素であり、発生するものが活性酸素ではない。

本研究では、直接的に培養細胞に過酸化水素を曝露させた時の細胞の生存を評価し、過酸化水素の培養細胞に対する影響について検討している。また、コラーゲンゲル包埋培養法を用いて、過酸化水素が付着している試験片を細胞に接触させた時の細胞の生存を評価し、ゲル内の培養細胞に対する影響についても検討している。

研究では、細胞毒性を評価するために一般的に用いられている HeLa 細胞、角膜由来の SIRC 細胞、皮膚線維芽細胞由来の HDFa 細胞、消化管粘膜上皮細胞由来の Caco-2 細胞が用いられている。過酸化水素を培養液に添加せずに直接培養細胞に曝露する直接細胞接触法を用いて、各細胞に過酸化水素濃度 0.003%～3%の範囲で 10 分間曝露したときの細胞生存率が検討されている。また、コラーゲンゲル包埋培養法を用いて、コラーゲンゲル内に HeLa 細胞、SIRC 細胞、Caco-2 細胞を包埋し、過酸化水素に浸漬したポリテトラフルオロエチレン製のチューブ片を試験片としてコラーゲンゲルに埋め込んでゲル内の細胞に接触させてゲル内の生存した細胞を検出し、細胞生存率が求められている。

検討結果において、直接細胞接触法では、すべての細胞において過酸化水素濃度が0.3%以上になると細胞生存率が50%以下に減少した。また、曝露した過酸化水素濃度が上昇すると、いずれの細胞も濃度依存的に細胞生存率も低下したが、SIRC細胞とCaco-2細胞よりもHeLa細胞とHDFa細胞において濃度依存的に細胞生存率が低下する傾向にあった。

コラーゲンゲル包埋培養法により、3%過酸化水素に10分間浸漬した後に風乾しなかった試験片が接触したゲル内の細胞は生存しなかった。また、過酸化水素に浸漬したのち30分間風乾した試験片では、試験片と接触していたゲル内の細胞は生存していた。この様に、過酸化水素が付着していた試験片が直接細胞に接触することでゲル内の細胞が死滅することが明らかとなり、過酸化水素を使用して滅菌された器具に残留している過酸化水素が接触した細胞に対して、細胞の生存に影響を与えることが明らかにされた。

0.3%の濃度にて細胞に変化がみられることは、高濃度の滅菌器のみならず、口腔ケア等にて希釈した過酸化水素を使用する上でも、その毒性に留意する必要があることが明らかにされた。

今後は、過酸化水素濃度と細胞毒性との関係性を考察するのみではなく、細胞毒性の評価における材質の影響、過酸化水素に対する各種細胞の感受性の違いとカタラーゼ活性との関連などについての検討が必要であり、さらには過酸化水素が活性化したフリーラジカルとしての反応性を考慮した検討に発展していくことを期待する。

本研究成果を博士論文として認定する。

平成27年1月30日

論文審査委員（主査）大久保 憲