

■Article-analysis

組織・細胞培養系を用いた滅菌剤・消毒剤の
生体に対する影響の検討

高野 海哉

東京医療保健大学大学院 医療保健学専攻 博士課程

Analysing the influence of the sterilant and disinfectant
with tissue or cell culture method

Kaiya Takano

Division of Infection Prevention and control, Postgraduate School of Tokyo Healthcare University

要旨：

組織・細胞培養系を用いた滅菌剤・消毒剤の生体に対する影響を評価する有効性について、これまでに公表された論文をもとに考察した。

動物実験を用いた評価では、動物実験を行う施設や倫理的問題、結果の解釈に限界があり、細胞レベルで生物学的・生化学的な検証が必要であるという見解がある。

培養系では、実験系を簡素化することで生体内における様々な要因を除外できるために明確な影響の評価が可能となる。また、動物実験では実施が困難な条件や方法でも培養系では実施できる利点があることから、既存の滅菌剤・消毒剤の影響も培養系にて徐々に検証されてきている。

新たに開発された滅菌技術や消毒法に対しても、生体に対する影響を的確に把握し、より安全かつ効果的に利用するために、培養系を用いて基礎的な知見を得ていく必要がある。

Key words : sterilant, disinfectant, tissue and cell culture

はじめに

消毒薬や滅菌剤は、病原微生物を殺菌・無毒化するために必要な化学物質である。しかし、微生物に対する殺菌作用が生体を構成する細胞に対して毒性を持ち、正常な細胞・組織に対して悪影響を及ぼすことも考えられる。

化学物質などの毒性について、これまでは主に動物実験で評価していることが多かった。しかし、動物愛護の観点や動物実験に必要な施設の関係で最近では培養系の組織や細胞を用いて評価するようになってきている。

ここでは、培養系を用いて、生体に対する滅菌剤や消毒薬の影響を評価する有効性を考えてみたい。

1. 培養系を用いた様々な研究

Müller らは、様々な消毒薬の大腸菌や黄色ブドウ球菌に対する殺菌効果と、その消毒剤の濃度によるヒト繊維芽細胞に対する毒性を並行して評価している¹⁾。細胞培養系を用いることで実験系を簡素化し、消毒効果と実際の細胞毒性を並行して評価することが可能である。

Maurer らは、生体のウサギ角膜を用いた漂白剤の影響を検証した研究で、動物実験で得られた病理学的変化をさらに深く追求するためには、動物実験だけでは限界があり、培養系の細胞や組織を用いて細胞生物学的・生化学的に検証する必要があると述べている²⁾。

Roth らは、Polihexanide の気道粘膜に対する影響を、ヒト気道上皮の線毛細胞の細胞株を用いて評価している³⁾。これは、シャーレ上に細胞を培養し、増殖して1層の細胞層を形成した状態で評価する消毒剤を含む培養液で培養し、死滅してはがれた部分の面積を測定する方法を用いている。細胞培養系を用いることで、消毒薬や滅菌剤の影響・毒性を生体内では様々な条件や不明な要因による影響を除外して評価できると考えられる。また、Karpanen らはヒト皮膚の組織培養系を用いて、クロルヘキシミドが濃度依存的に皮膚組織へ浸透する現象を報告している⁴⁾。このような実験は、生体内の組織において行うことは技術的にも、また、人体を用いた実験となるため倫理的にも困難であることが予想される。培養系を応用した実験で、動物実験や人体を用いた実験では困難な条件や方法でも実施することができ、消毒薬や滅菌剤の影響について基礎的な知見を得ることができると考える。

2. 新たな滅菌法による生体への影響を培養系で検討すること

過酸化水素は、活性酸素を発生することで殺菌効果を示し、消毒液として用いられてきた液相だけでなく、気相（ガス）の状態でタンパク質など高分子化合物への酸化作用が強いことから殺菌効果があることがわかっている⁵⁾。過酸化水素を用いた滅菌法は、液相と気相の両方の特徴を生かし、内視鏡のような非耐熱性の医療機器の滅菌⁶⁾や病室内や実験室内の環境滅菌に利用されるようになってきている⁷⁾。

過酸化水素は、歯科領域で歯の漂白（ホワイトニング）に用いられており、高濃度での使用により、口腔粘膜、歯芽組織、エナメル質表面の変化などが副作用として報告されている⁸⁾。一方、歯周病の原因菌を殺菌するために用いられる過酸化水素の濃度では、ラット口腔粘膜の組織培養系を用いた実験では影響が見られなかったという報告もある⁹⁾。しかし、Coldebella らは、過酸化水素のゾウゲ芽細胞に対する影響を細胞培養系（primary culture）で検討し、ゾウゲ芽細胞の代謝活性が低下したと報告しており¹⁰⁾、Miranda らは歯列矯正のために摘出されたヒトの第三大臼歯を用いて過酸化水素処理を行ったエナメル質を走査型電子顕微鏡で観察し、歯のエナメル質表面の形態が変化していたことを報告している¹¹⁾。

培養系による実証実験により、より効果的で安全に利用できる濃度を迫る必要があると考える。

過酸化水素は眼科領域でコンタクトレンズの洗浄液にも用いられている。Konynenbelt らは、角膜上皮細胞の培養系で、生体における角膜組織と同様に培養した細胞が層状で、コンタクトレンズ洗浄液を不活性化した後の過酸化水素濃度であれば影響がないと報告している¹²⁾。このように、培養系を用いた実験によって安全に使用できる消毒剤の濃度を実証することが可能であると考えられる。

Kobayashi らはヒツジ気管を用いた組織培養系で、過酸化水素が気管上皮線毛細胞の線毛運動を抑制することを実証している¹³⁾。この報告では、過酸化水素は肺炎や気管支喘息など呼吸器系の炎症性疾患で誘導された白血球から放出される酸素ラジカルとして扱われており、消毒・滅菌が目的で用いられる過酸化水素とは異なる。しかし、生体内に取り込まれる過酸化水素は同様に体内で影響を及ぼすことも考えられ、他分野の研究で得られた実験方法や知見を応用することが有効であると考えられる。

ま と め

消毒・滅菌に関する研究以外の分野でも、消毒薬や滅菌剤に対する影響は組織・細胞レベルで研究が進んでいる。このような研究の方法・成果を踏まえつつ、消毒・滅菌で用いられる化学物質が実際に生体に暴露される濃度で、正常な組織・細胞にどのような影響があるか培養系を用いて実験的に検証し、新たに開発され導入されていくであろう消毒・滅菌技術が安全かつ効果的に利用できるように、基礎的研究の成果を得る必要があると考える。

■ 文 献

- 1) Müller G, Kramer A. Biocompatibility index of antiseptic agents by parallel assessment of antimicrobial activity and cellular cytotoxicity. *J Antimicrob Chemother.* 2008 Jun;61(6):1281-7.
- 2) Maurer JK, Molai A, Parker RD, Li L, Carr GJ, Petroll WM, Cavanagh HD, Jester JV. Pathology of ocular irritation with bleaching agents in the rabbit low-volume eye test. *Toxicol Pathol.* 2001 May-Jun;29(3):308-19.
- 3) Roth C, Beule AG, Kramer A, Hosemann W, Kohlmann T, Scharf C. Response analysis of stimulating efficacy of polihexanide in an in vitro wound model with respiratory ciliary epithelial cells. *Skin Pharmacol Physiol.* 2010;23 Suppl:35-40.
- 4) Karpanen TJ, Worthington T, Conway BR, Hilton AC, Elliott TS, Lambert PA. Penetration of chlorhexidine into human skin. *Antimicrob Agents Chemother.* 2008 Oct;52(10):3633-6.

- 5) Finnegan M, Linley E, Denyer SP, McDonnell G, Simons C, Maillard JY. Mode of action of hydrogen peroxide and other oxidizing agents: differences between liquid and gas forms. *J Antimicrob Chemother.* 2010 Oct;65(10):2108-15.
- 6) Shintani H. Application of vapor phase hydrogen peroxide sterilization to endoscope. *Biocontrol Sci.* 2009 Mar;14(1):39-45.
- 7) Hall L, Otter JA, Chewins J, Wengenack NL. Use of hydrogen peroxide vapor for deactivation of *Mycobacterium tuberculosis* in a biological safety cabinet and a room. *J Clin Microbiol.* 2007 Mar;45(3):810-5.
- 8) Tredwin CJ, Naik S, Lewis NJ, Scully C. Hydrogen peroxide tooth-whitening (bleaching) products: review of adverse effects and safety issues. *Br Dent J.* 2006 Apr 8;200(7):371-6.
- 9) Yamada Y, Mokudai T, Nakamura K, Hayashi E, Kawana Y, Kanno T, Sasaki K, Niwano Y. Topical treatment of oral cavity and wounded skin with a new disinfection system utilizing photolysis of hydrogen peroxide in rats. *J Toxicol Sci.* 2012;37(2):329-35.
- 10) Coldebella CR, Ribeiro AP, Sacono NT, Trindade FZ, Hebling J, Costa CA. Indirect cytotoxicity of a 35% hydrogen peroxide bleaching gel on cultured odontoblast-like cells. *Braz Dent J.* 2009;20(4):267-74.
- 11) Miranda CB, Pagani C, Benetti AR, Matuda Fda S. Evaluation of the bleached human enamel by Scanning Electron Microscopy. *J Appl Oral Sci.* 2005 Jun;13(2):204-11.
- 12) Konynenbelt BJ, Mlnarik DS, Ubels JL. Effects of peroxide-based contact lens-disinfecting systems on human corneal epithelial cells in vitro. *Eye Contact Lens.* 2011 Sep;37(5):286-97.
- 13) Kobayashi K, Salathé M, Pratt MM, Cartagena NJ, Soloni F, Seybold ZV, Wanner A. Mechanism of hydrogen peroxide-induced inhibition of sheep airway cilia. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 1992 Jun;6(6):667-73.