

〈報告〉

深紫外線によるラット皮膚創傷治癒過程に関する研究

川崎 和男・船山 俊克・山本 浩一

Healing Process of a Skin Wound in Rat Using Deep UV Treatment

Kazuo KAWASAKI, Toshikatsu FUNAYAMA and Koichi YAMAMOTO

Graduate School of Medicine, Osaka University

(2016年8月10日受付・2017年9月14日受理)

要 旨

本研究の最終目標は、強い殺菌効果で知られている深紫外線を生体に利用することである。本論文ではそのための検証の一つとして、深紫外線の近接場における殺菌効果の生体への影響について調べた。大腸菌および創傷を付けたラットの皮膚を対象に、深紫外線の近接場が与える影響を、観察からデータを取得し比較検討した。その結果、深紫外線の近接場において、大腸菌に対しては670 mJ/cm²の照射量で90%の細菌を死滅させることができ、同様にラットの創傷に対しては傷の回復に悪影響がないことが観察された。これらから近接場においては、大腸菌への殺菌効果がある線量でも、ラットを対象とした場合は生体の回復に悪影響を与えないことがわかった。本研究は、デザイン工学者が工学者の新技术を理解し、医学者とともに医学的な提案を考え、実験の実施まで行った。

Key words：深紫外線、近接場、デザイン、殺菌、コンシリエンス

1. 背景・目的

現在の日本における死亡原因のうち、感染症によるものは肺炎の第3位が最高であり、多くの感染症が現代医学の制御下に置かれるようになったとも言われている¹⁾。しかし、感染による被害は完全に潰えた訳ではない。このことから生活環境において人体に悪影響を及ぼす菌を排除することは健康な身体を保つ上では有効である¹⁾。当講座では、その実現の一つの方法として、建物の入り口などにある手指消毒用の「アルコール殺菌」に代わる、より簡便な機器の商品化を目指している。基礎技術として、深紫外線が有する殺菌効果を用いる。深紫外線が有する殺菌効果については既知であり、その殺菌効果が生体にもたらす強過ぎる影響も知られている²⁻⁵⁾。そのため、従来は主に医療機器の殺菌や水の殺菌など、生体とは無関係の部分で利用されてきた。一方で、LEDの技術進化によって、深紫外線域の光線を出力制御出来るLED開発も発展してきており²⁾、装置の小型化が進むなど次世代の技術としての期待も高まっている。我々はこ

の殺菌効果を改めて生体に利用できないかと考え、特に皮膚の殺菌を対象として利用可能な方法を検討した。光がある面に対して全反射する際、反対面に染み出す近接場はnmのオーダーである(図1)。この近接場光を利用する。本実験の関係者は、デザイン工学者、工学者、医学者であり、従来の医工連携にデザイン工学者が参加するという、新しい研究体制のもとで実施した。

2. 方 法

2-1. 研究開発体制の検討

研究の中心となる「コンシリエンスデザイン看護工学寄附講座」は、従来の医工連携に、デザインと看護学・保健学の領域を加えた講座として組織された。これまで製品化から商品展開を専門とするデザイン工学者が工学者と技術的な議論を行い、同様に医学者と医学的な応用方法の議論を行うことで、研究開発を進めてきた。本研究では、当初、工学者側とデザイン工学者の議論から、深紫外線の生体活用可能性の提案が生まれ、医学者側へ確認したところ具体的に検討する流れになった。新しい機器とそれに伴う実験方法を検討する必要性から、医学

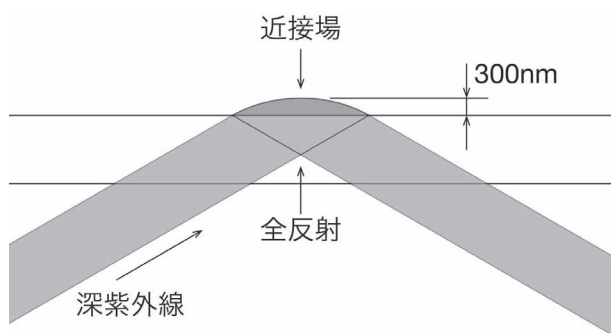


図1 全反射による近接場

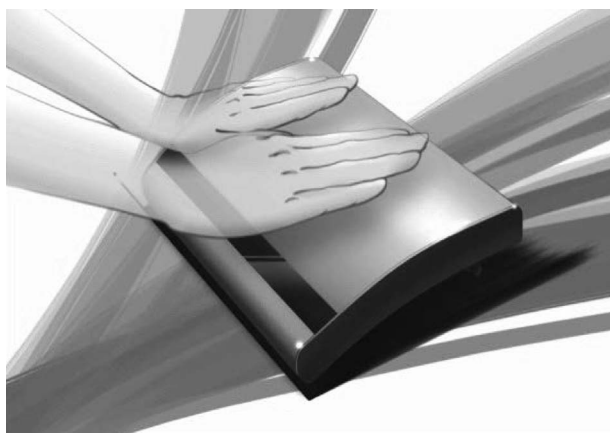


図2 初期モックアップモデルイメージ

者および工学者、デザイン工学者での議論が必要になったためその体制で実施した。

2-2. モックアップモデルでの検討

今まで世の中になかった新しい商品を開発する際に重要なことは、その商品の概要を開発関係者間で共有することである。本研究では、新しい基礎的技術を利用することから、目標となる商品の外観を示し、その使い方や使用シーンを共有することで、商品に対する関係者の意識を合わせることができると考えた。手指の殺菌に使用することから、握るという動作を促す形態と大きさを有し、且つ内部実装を組み込む箇所を想定し検討を行った。工学者および医学者にアンケートを行い、意見徴収を行った。内容は下記である。見た目の印象ではどちらの方が握りやすいと感じるか。実際に握った印象ではどちらの方が握りやすいか。どの太さが握りやすいか。初期の段階ではスケッチを行い、それを元にモックアップモデルを製作した。図2に初期のスケッチを示す。

2-3. 大腸菌を用いた殺菌作用確認

大腸菌への殺菌効果を確認した。標準大腸菌（IFO 3972, 0.1 mL）を用い、深紫外光（波長：266 nm）を近接照明（照射量は 670 mJ/cm^2 、侵入長 300 nm ）し

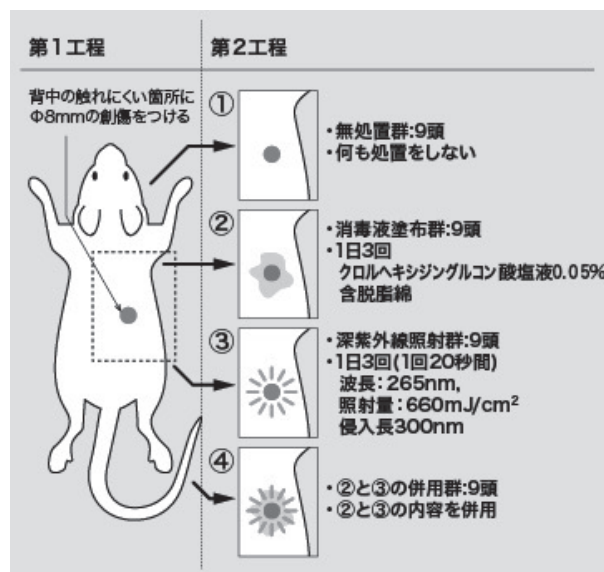


図3 実験工程図解

た。大腸菌を回収後、寒天培地（SCD 寒天培地）上で 35°C 、16 時間培養し、寒天培地上のコロニー数を計測した。

2-4. ラットを用いた動物実験

大腸菌への効果を踏まえ生体への影響を確認した。生体の細胞は常に新陳代謝として成長を繰り返している。生体の持つ細胞の成長力が、深紫外線の殺菌力よりも優れていれば、深紫外線に影響を受けずに新陳代謝が進む。今回は皮膚の状態を視覚的に確認しやすくするために、対象となるラットの皮膚に創傷をつくり、傷の面積が塞がっていく度合いを、回復力に見立てて調査した。本実験は大阪大学の動物委員会の承認を受けて実施した。ラットを次の4つの群にわけて比較した。①コントロール：無処置。②消毒液塗布：クロルヘキシジングルコン酸塩液0.05%含脱脂綿を1日3回塗布。③深紫外線照射：紫外線発生装置からの深紫外線を1日3回（1回20秒間）照射（波長：265 nm、照射量： 660 mJ/cm^2 、侵入長 300 nm ）。④併用：②の消毒液塗布と③の深紫外線照射を併用（承認番号 動医（保）27-03-0-）（図3）。

深紫外線の波長、照射量と侵入長は方法2-3と同等にそれぞれ265 nm、 660 mJ/cm^2 、 300 nm として行った。実験機器の照射部分にラットの対象箇所を当てて処置した。まず予備試験としてラット6匹で実施し、傾向と治療効果の確認を行った上で、本試験として36匹を対象に行った。実験にはSDラット、雄、42匹、入荷時7週齢を用いた。

評価方法は、先行研究の方法「ラット皮膚創傷治癒過程におけるtie-over法の検討」⁶⁾を参考にした。欠損部をデジタルカメラで撮影し、得られた画像から欠損面積における表面修復面積の割合を求めた。

表1 実験群分類 (本試験)

群	処 置	動物数 計 36 匹	動物番号
①コントロール	無処置	9	101-109
②消毒液塗布	クロルヘキシジングルコン酸塩液 0.05% 含脱脂綿を 1 日 3 回塗布	9	201-209
③深紫外線照射	紫外線発生装置からの深紫外線を 1 日 3 回 (1 回 20 秒間) 照射 (波長: 265nm, 照射量: 660mJ/cm ² , 侵入長 300nm)	9	301-309
④併用	上記の消毒液塗布と深紫外線照射を併用	9	401-409



図4 モックアップモデル-1 外観



図5 モックアップモデル-1 使用時

次に本試験として、ラット 36 匹を対象に行った (表 1)。手順は同様であり、欠損創は 1 匹あたり 1 箇所とし、4 群に各 9 匹のラットを用いた。予備試験でもっとも治療効果の見られた日を基準として、基準日の半数、ならびに基準日の倍数の日数の 3 つの時点において、各群 3 匹ずつ選びペントバルビタールの過剰麻酔 (100 mg/kg を腹腔内投与) にて安楽死処置を行った。その後、欠損創付近の皮膚組織を採取し、病理組織標本 (ヘマトキシリン・エオジン染色) を作製して組織の形態を観察した。

3. 結 果

3-1. 研究開発体制の検討結果

本実験は、デザイン工学者、工学者および医学者による研究体制にて実施した。従来からある医工連携にデザイン工学者が加わった形である⁷⁻¹⁰⁾。当講座では、デザインを単なる外観の装飾とはとらえず、「問題解決・価値創出・未来創成」の実現としている^{11,12)}。そのため本実験は、医学的な問題解決を、工学的な新しい価値創出によって実現を目指し、未来創成を目指していると言える。具体的には、基礎技術となる深紫外線の原理および実験機器は、大阪大学フォトニクスセンターの工学者とデザイン工学者がともに開発を行い、それを元に、大阪大学大学院医学系研究科の医学者とデザイン工学者が、

実験計画の立案から実施までを行った。

3-2. モックアップモデルでの検討結果

製作したモックアップモデル 2 種類を示す (図 4-7)。両者ともにグリップ部の表面に深紫外線の近接場を形成し、グリップを握ることで接触面を殺菌するものである。今回製作した 2 種のモデルの差異は、一方はグリップが縦向きに設置してあり、全体がアクリル利用の円筒カバーで覆われているもの (図 4, 5) と、もう一方はグリップが横向きに設置してあり、カバーが全面板だけのもの (図 6, 7) の二つである。これらを工学者および医学者と共に実際に見て、触れて、使用シーンを共有した。2 つのモデルについて、人間が使用する際に邪魔になるものが少なく、かつ自然に手で握ることができる形状として、モックアップモデル-2 を最終的な形態とした。モデル-1 はグリップが縦になっているため、モデル-2 に比べて手の位置を固定するためには力が必要であるとの意見が多かった。太さと形態についても、2 cm から 6 cm までの直方体から円筒形までを試作したところ、4 cm の円筒形が様々な大きさの手にとって最も握みやすいことが確認できた。いずれも被験者は医学者と工学者合わせて 30 名である。

3-3. 大腸菌を用いた実験結果

大腸菌は放射型の深紫外線による殺菌効果のデータが明らかになっていることもあり¹³⁾、今回の対象菌とした。

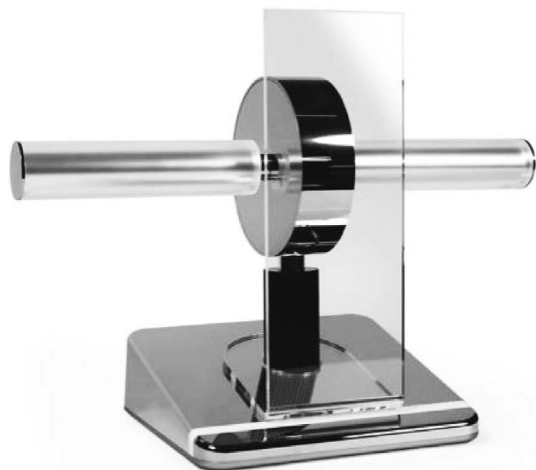


図6 モックアップモデル-2 外観



図7 モックアップモデル-2 使用時

実験の結果、波長が 266 nm で照射量を 670 mJ/cm^2 、侵入長を 300 nm とした場合、90% のコロニーの増殖を抑えることが確認できた (図 8, 9)。実験から、生残率指数関数に従うと仮定した場合、 $y=0.2e^{-0.002x}$ から、照射量を変化させることで、99% の細菌を死滅させるためには、照射量 $1,520 \text{ mJ/cm}^2$ が必要であることがわかった (図 10)。

3-4. ラットによる動物実験結果

予備試験の結果を図 11 に示す。創傷処置日から 3 週間、1 日 1 回、全例について皮膚欠損創をデジタルカメラで撮影し、欠損面積における表面修復面積の割合を求めた結果である。面積計測はデジタル写真をもとに、画像解析ソフト「WinROOF2015」を用いた。この結果から本試験では 4 日目、7 日目、14 日目に面積計測を行った。結果を表 (表 2) とグラフで示す (図 12)。

コントロール、消毒液塗布、深紫外線照射、併用のいずれも、傷は 2 週間で完治した (図 13-18)。4 日目の時点では、併用が最も早く傷口が塞がり、次に深紫外線照射、消毒液塗布、コントロールの順だった。7 日目の時点では上位 3 つの差は縮まり、コントロールが最も塞がっていなかった。この結果からは、深紫外線が創傷の

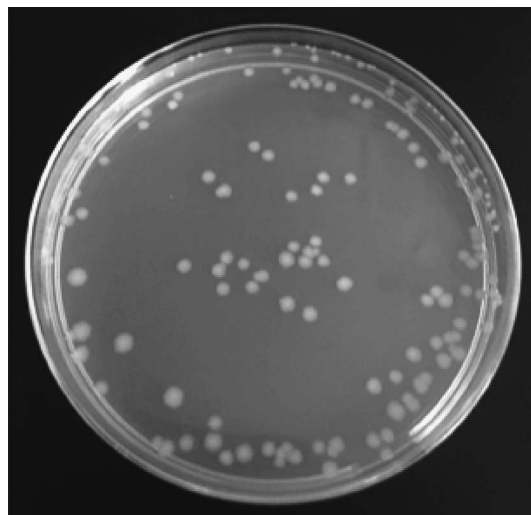


図8 深紫外線非照射

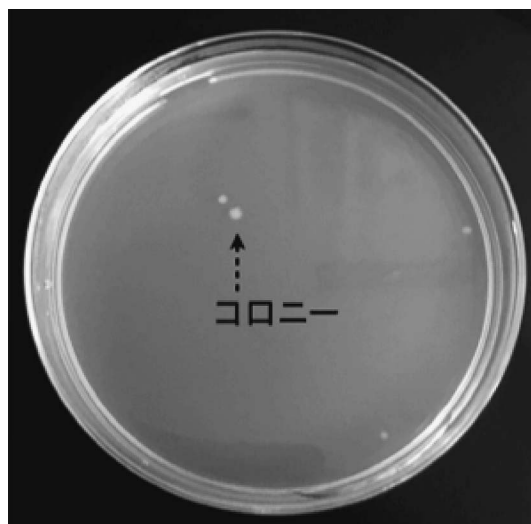


図9 深紫外線照射

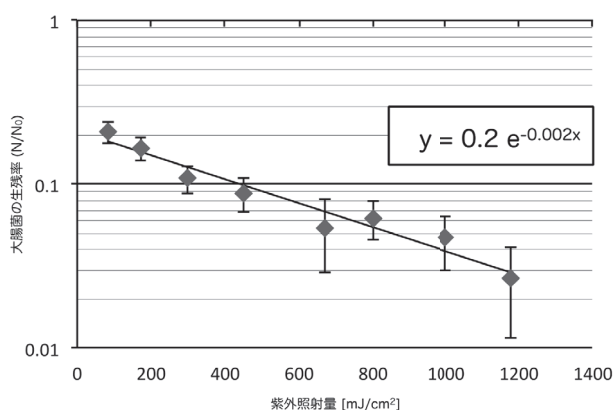


図10 照射量と生残率の関係図

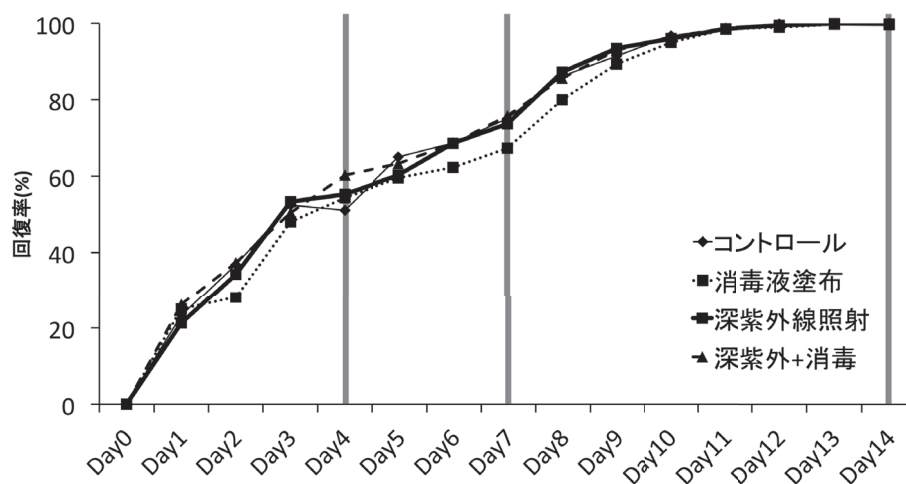


図 11 創傷回復率（予備試験）

表 2 創傷回復率（本試験）（%）

	Day0	Day4	Day7	Day14
コントロール	0.0	47.8	76.5	100.0
消毒液塗布	0.0	57.2	86.0	100.0
深紫外線照射	0.0	63.3	83.3	100.0
深紫外+消毒	0.0	67.4	84.7	100.0

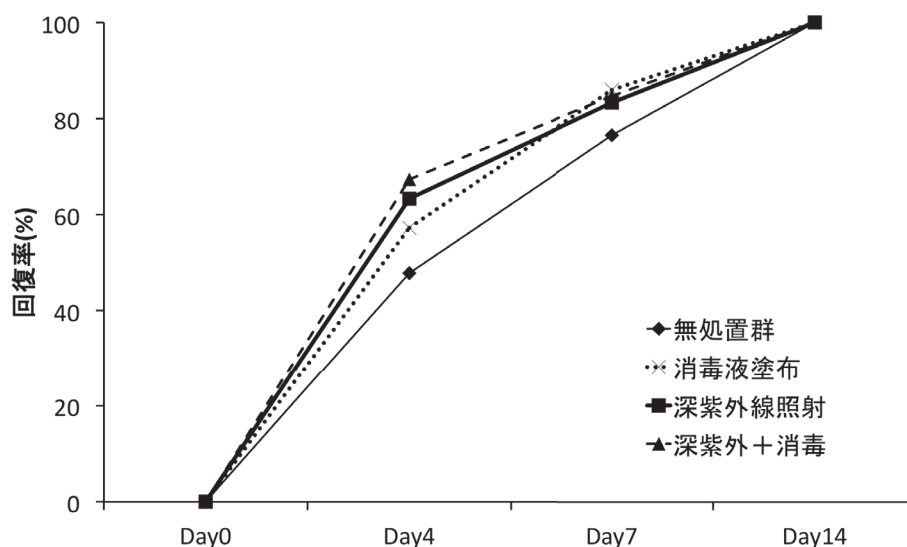


図 12 創傷回復率（本試験）

回復に対して、悪影響を与えることは確認できなかった。むしろ、初期回復に対しては良い影響が確認できた。病理組織標本の観察においても、いずれの条件下でも皮膚炎症等の悪影響は確認できなかった。

4. 考 察

4-1. コンシリエンスデザインによる連携

我々は、医学者と工学者の間にデザイン工学者が入ることによって（図 19）、従来の医工連携（図 20）とは異なる開発工程の確立を目的とし研究活動を行っている。医工連携は、主に医療機器の早期開発を目的に考えら

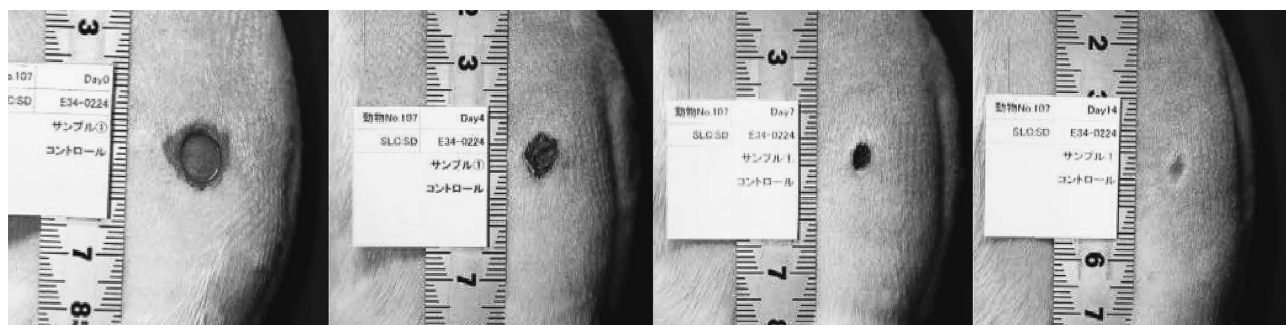


図 13 コントロール：外観（左から 0 日目・4 日目・7 日目・14 日目）

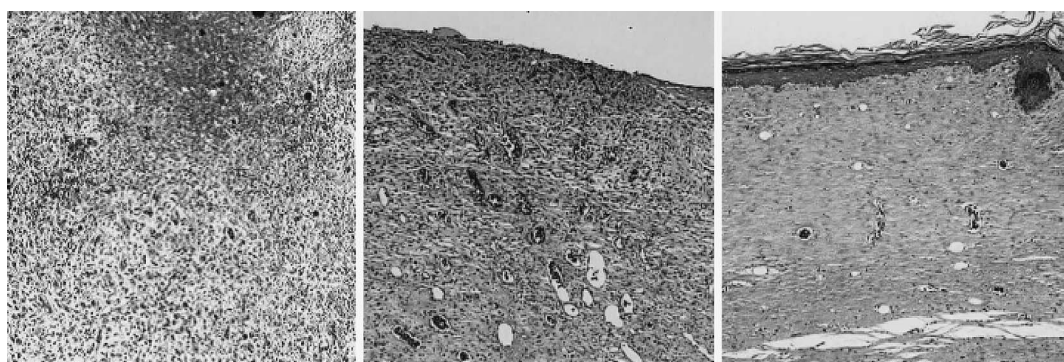


図 14 コントロール：病理組織標本（左から 4 日目・7 日目・14 日目）

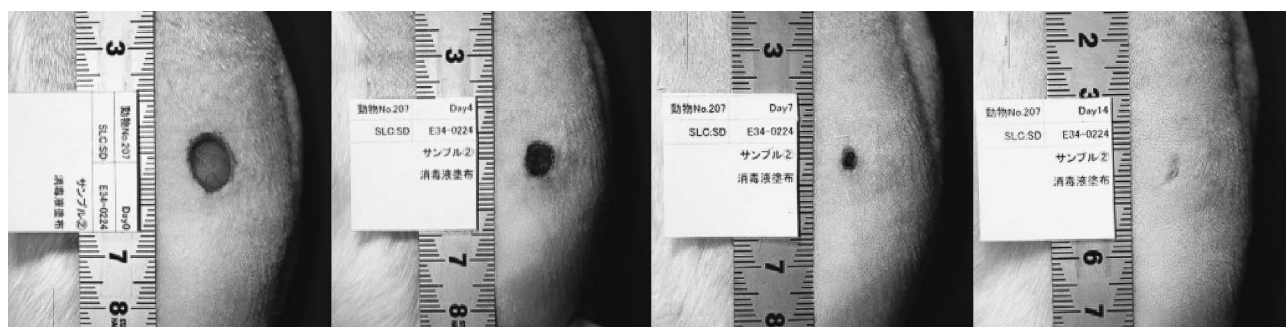


図 15 消毒液塗布：外観（左から 0 日目・4 日目・7 日目・14 日目）

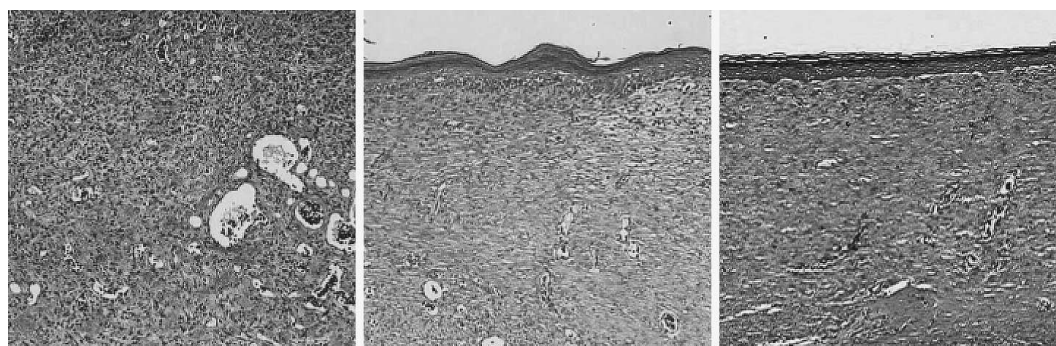


図 16 消毒液塗布：病理組織標本（左から 4 日目・7 日目・14 日目）



図 17 深紫外線照射：外観（左から 0 日目・4 日目・7 日目・14 日目）

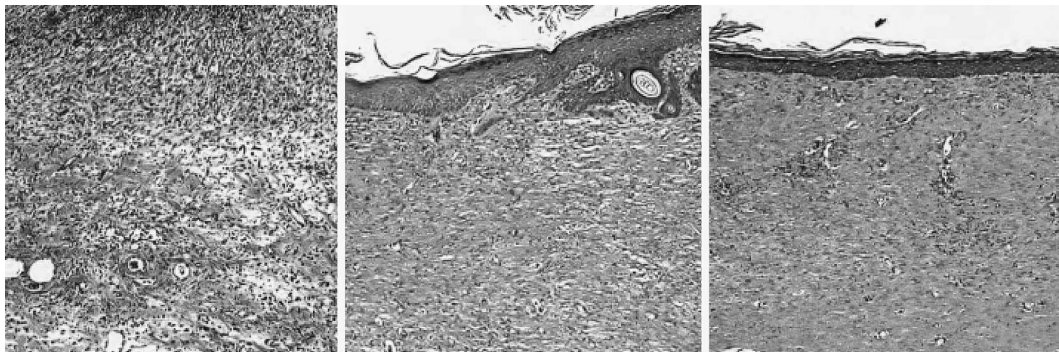


図 18 深紫外線照射：病理組織標本（左から 4 日目・7 日目・14 日目）

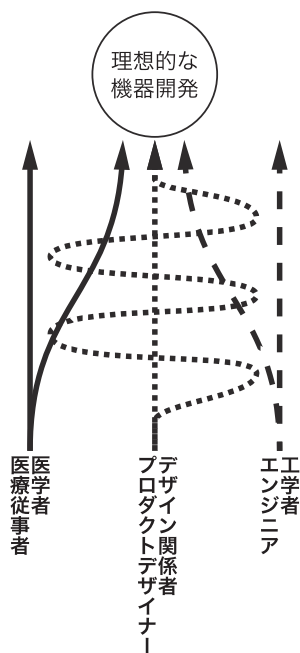


図 19 デザインによる連携

れており、様々な成果を上げている一方で、その困難性も各所で聞かれる^{7~10)}。本研究では、デザイン工学者が最終的な商品の概要を共有させ、それぞれとの研究打ち合わせを行うことで、最終的な実験結果までを導いた。

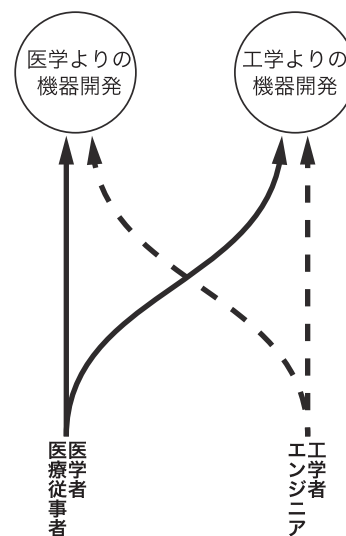


図 20 従来の医工連携

これによって深紫外線の近接場を用いるという新しい原理を利用した機器が、医学的用途にて使用できる可能性があることを速やかに確認することができたと考えている。しかし、医学者および工学者のみで実施した場合との比較は行えていないため、今後はそれらとの比較検討が必要であるとする。

4-2. 殺菌力と回復力の関係について

一般的に、紫外線が皮膚に与える影響として日焼けが知られており、ひどい時には水ぶくれを発症する。深紫外線においても基本的なメカニズムは同様であり、殺菌力の強さ¹³⁾から炎症はひどくなる。日焼けの場合、やがて炎症がおさまり、以前の状態に戻るのは、表皮細胞の代謝によって炎症を起こしている箇所が剥がれ落ちるためである。深紫外線の場合も同様に、表皮に対して効果を及ぼしたとしても、その部分が日々の代謝の中で剥がれ落ちていけば炎症には至らない。ラットの場合は表皮の厚さは約7~9 μm と言われている。皮膚の代謝は表皮を構成している4層の内、一番底にある基底層で基底細胞がつくられ、有棘層、顆粒層、角質層の順に表面に近づいていき、最終的に剥がれ落ちる。実験では侵入長を300 nmにしていることから、この表皮の中でも上層で止まっていることになる。本実験によって、ラットの創傷回復に悪影響がなかったことから、この細胞の代謝による回復力の方が、深紫外線による細胞への殺傷力よりも優れていたと考えられる。一般にラットは創傷に対する回復力が強いとされていることと、表皮の厚さも生物によって異なることから、この実験の値をそのまま人間に適用するためにはさらに検証が必要であると考えている。一方、「生体消毒薬の有効性評価指針：手指衛生2011」¹⁴⁾の別表3より、照射量1520 mJ/cm^2 による殺菌効果は、1回消毒と同等と判断できる。その際の人体への影響を考慮するには、人体の表皮厚と代謝が重要である。人体の表皮はラットと同様に深部から基底層・有棘層・顆粒層・角質層となり、それぞれ基底層1層、有棘層5~6層、顆粒層2~3層、角質層は8~10層ある。最も表面にある角質層は約20 μm であり、本機器による深紫外線の侵入長300 nmの約70倍である。そのため、本機器を用いた照射量1520 mJ/cm^2 の照射であれば、人体への影響は極めて少なく安全と安心性が確保できるものと推察できる。本研究は、従来、深紫外線を生体に対して用いることは困難とされていたことに対して、新しい製品や商品開発を生み出すきっかけになる実験になったと考えている。今後、本結果を元に人体にて実証し、信用と信頼性あるものとして、商品化を目指すものである。

4-3. 早期回復の可能性について

本実験の結果である図12からは、回復に対して悪影響が見られなかったことともう一点、深紫外線照射と深紫外線照射に消毒液塗布を行ったものの両方が、他の二つに比べて早期の回復率が優れているという内容が確認できた。本実験では、その詳細を確認することはできなかったが、他の研究において、強皮症の潰瘍に紫外線治療を行った際に回復速度が向上したという結果がある¹⁵⁾。照射している条件が異なるため一概に比較することはで

きないが、創傷や潰瘍の回復と紫外線の関係性の有無について、研究する余地があると考えられる結果が得られた。

5. 結 論

強い殺菌効果で知られている深紫外線の生体への利用を目標として基礎実験を行った。深紫外線の近接場を利用し、大腸菌および創傷をつけたラットへの影響を観察した。その結果、大腸菌に対しては90%のコロニーの増殖を抑える効果を確認でき、ラットを対象とした場合、創傷の回復に対して悪影響を与えていないことが確認できた。菌を殺すことができる照射量の深紫外線を近接場で用いた場合、ラットの皮膚の回復力の方が勝っていたと言える。紫外線は、その殺菌効果が知られるとともに人体への悪影響についても広く知られることになったため、良い影響に関する研究があまり進まなかったと推察される。現在では深紫外線を含む紫外線領域の研究が進むとともに、発生させる装置の技術も向上している。今後より人間に近い領域で活用される技術になることを望んでいる。本実験は、医工連携にデザイン工学者を加える形で実施した。今後も同様の体制で実施し、本体制の有効性についても検証を進めていく。

利益相反自己申告：申告すべきものなし。

文 献

- 1) 阿部章夫：もっとよくわかる！ 感染症～病原因子と発症のメカニズム，羊土社，2014. p. 17-8.
- 2) 越智鉄美：深紫外線LEDを用いた殺菌機器開発例，日本機械学会誌 2013; 116(1138): 630-1.
- 3) 四本瑞世，緒方浩基：41447 紫外線殺菌における極低照度の殺菌効果について（微生物：実態調査・対策，環境工学II，2013年度日本建築学会大会（北海道）学術講演会・建築デザイン発表会）：学術講演梗概集2013（環境工学II），2013. p. 909-10.
- 4) Shur MS, Gaska R: Deep-Ultraviolet Light-Emitting Diodes. IEEE Transactions on Electron Devices 2010; 57(1): 12-25.
- 5) Choi SG, Hong JK: The Study on the Performance Estimation of UVC Air Sterilizer for Preventing Transmission of Air Borne Contagion. Korean Journal of Air-Conditioning and Refrigeration Engineering 2005; 17(6): 581-6.
- 6) 伊藤道一郎，空閑祥浩，水野明夫：ラット皮膚創傷治癒過程における tie-over 法の検討，日本口腔外科学会雑誌 2000; 46(4): 205-10.
- 7) 太田美智男：医工連携研究における看護系研究者の役割，看護学研究 2011; (3): 21-7.
- 8) 伊関 洋，村垣善浩，中村亮一，林 基弘，高倉公朋：医療と工学との境界 インテリジェント医療（医療と工学との連携），溶接学会誌 2004; 73(2): 93-6.
- 9) 笠井 浩：（医工連携の展望＜特集＞）医療機器産業活性化への課題—医工連携と未来医療，未来医学 2009; (24): 48-56.
- 10) 入江 満，中村秀正，大槻伸吾，花之内健仁，杉山幸三，本田雄一郎，他：ロボット技術を用いた医工連携における適応型福祉機器の開発：デジタルファブリケーションを用いたスケルトン型電動義手の開発，大阪産業大学論集自然科学編 2016; 126: 1-10.

- 11) 川崎和男：コンシリエンスデザイン看医工学の提案. 看護理工学会誌 2015; 2(2): 71-84.
- 12) 川崎和男：「照明とコンシリエンスデザイン」照明学へのデザイン記号論的な未来論紹介（＜特集＞伝統を受けて洗練した灯りを、未来に繋ごう！ 北陸支部）. 照明学会誌 2015; 99(7): 336-9.
- 13) 向阪信一：紫外放射を利用した製造ラインの微生物制御の基礎と応用（1）. 防菌防黴= Journal of antibacterial and antifungal agents 1998; 26(7): 359-70.
- 14) 日本環境感染学会消毒薬評価委員会：生体消毒薬の有効性評価指針：手指衛生 2011. 環境感染誌 2011; 26(5): S1-5.
- 15) Inoue T, Yamaoka T, Murota H, Yokomi A, Tanemura A, Igawa K, *et al.*: Effective Oral Psoralen Plus Ultraviolet A Therapy for Digital Ulcers with Revascularization in Systemic Sclerosis. Acta Derm Venereol 2014; 94(2): 250-1.

〔連絡先〕：〒565-0871 大阪府吹田市山田丘 2-1 U4 棟
 大阪大学大学院医学系研究科 船山俊克
 E-mail: funayama@sahs.med.osaka-u.ac.jp〕

Healing Process of a Skin Wound in Rat Using Deep UV Treatment

Kazuo KAWASAKI, Toshikatsu FUNAYAMA and Koichi YAMAMOTO

Graduate School of Medicine, Osaka University

Abstract

This study's final purpose is applying deep-UV treatment, which has strong bactericidal effects. In this paper, we investigated the bactericidal effect of deep UV in near field to organism as one of the methods. We comparatively reviewed data pertaining to deep UV exposure of a rat wound infected with *Escherichia coli*. As a result, it was observed that 90% killing of *E. coli* could be attained by exposure to 670 mJ/cm² of deep UV, and there were no adverse effects on the rat's skin wound. From this, it was found that despite exposure to doses which have bactericidal effect on *E. coli*, there were no adverse effects to the rat's wound. In the present study, design engineers understood new engineering technology and considered its medical application with a medical scientist and conducted the experimental tests.

Key words: deep-UV, evanescent field, design, sterilization, consilience