



## Bactericidal effect of far ultraviolet-C irradiation at 222 nm against bacterial peritonitis

|       |                                                                                                                |
|-------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| メタデータ | 言語: Japanese<br>出版者: 浜松医科大学<br>公開日: 2025-05-02<br>キーワード (Ja):<br>キーワード (En):<br>作成者: 杉山, 洸裕<br>メールアドレス:<br>所属: |
| URL   | <a href="http://hdl.handle.net/10271/0002000397">http://hdl.handle.net/10271/0002000397</a>                    |

博士（医学）杉山 洸裕

論文題目

Bactericidal effect of far ultraviolet-C irradiation at 222 nm against bacterial peritonitis  
（細菌性腹膜炎に対する 222 nm 遠紫外線の殺菌効果）

論文の内容の要旨

〔はじめに〕

急性腹膜炎は、消化管穿孔を始めとする腹腔内細菌感染によって引き起こされ、集学的治療にも関わらず、術後 90 日死亡率は未だ 10%以上である。急性汎発性腹膜炎に対する手術では感染源を切除し、腹腔内大量洗浄を行うが、完全な感染制御は困難である。実際、肉眼的汚染がない手術例の腹腔内洗浄後も細菌が検出され、細菌濃度に比例した手術部位感染の増加が報告されている。そのため、遺残細菌による持続感染は、腹腔内感染では重大な課題であり、これに対する新規治療法が必要である。

200-280 nm の Ultraviolet ray (UV) -C は強力な殺菌作用をもつ。200-230 nm の波長で定義される Far UV-C は、従来の UV-C と比べ同等以上の殺菌効果と低い細胞障害性から、近年特に注目されている。特に 222 nm UV-C は多様な臓器で研究報告されている。そのため本研究では、222 nm UV-C が腹腔内感染症の新規治療法となる可能性に着目し、222 nm UV-C 腹腔内照射の殺菌効果と細胞毒性を評価することを目的とした。

〔材料ならびに方法〕

本研究では腹膜炎誘発の細菌種として大腸穿孔の重要な起因菌である大腸菌 (*E. coli*: ATCC 25922) を使用した。細菌濃度は平板希釈法（塗抹法）でコロニー形成単位 (CFU) /mL を測定した。UV-C 照射量については 222 nm、254 nm UV-C 照射時の照度を照度計で確認することで、積算光量 ( $\text{mJ}/\text{cm}^2$ ) を照度 ( $\text{mW}/\text{cm}^2$ )  $\times$  時間 (s) により算出した。222 nm UV-C 照射量は低用量 (LD:  $20 \text{ mJ}/\text{cm}^2$ ) または高用量 (HD:  $500 \text{ mJ}/\text{cm}^2$ ) とし、negative control (NC) は非照射、組織障害の positive control (PC) は 254 nm UV-C ( $75 \text{ mJ}/\text{cm}^2$ ) とした。

まず、水溶液中の 222 nm の Far UV-C 照射による良好な殺菌効果を得る条件を評価するため①細菌濃度、②照度、③蛋白濃度の及ぼす 222 nm UV-C の殺菌効果への影響を評価した。また、222 nm UV-C 照射時に蛋白濃度と透過率を評価した。

続いて、実験動物を用い 222 nm UV-C 腹腔内照射が細菌腹腔内投与による腹膜炎に対する有効性と、UV-C 腹腔内照射による DNA 障害性について検討した。実験動物としては 16～18 週齢の雄の Sprague-Dawley ラット (450～500 g) を使用し、手術処置の前には腹腔内麻酔を実施した。動物実験は浜松医科大学動物実験委員会の承認を受け実施した（承認番号：2022008）。

ラット腹膜炎モデルの確立と客観的な評価のため、腹膜炎群には  $10^8$  CFU/mL の大腸菌溶液 2 mL を、対照群には生理食塩水 2 mL を腹腔内投与し、3 時間後の腹水細菌濃度と血中 IL-1 $\beta$ /6、TNF- $\alpha$  を測定した (両群 n=5)。腹膜炎に対する Far UV-C 照射による殺菌効果を評価するため前述の腹膜炎モデルを用い、222 nm UV-C 照射による効果を 2 群 (照射群・非照射群) で比較した。腹膜炎誘発 3 時間後に生理食塩水 50 ml で 2 回洗浄し、照射群は 2 回目の洗浄時に 222 nm UV-C を 20 mJ/cm<sup>2</sup> 照射した。閉腹前の腹水細菌濃度、1 週間生存率 (両群 n=10) と治療 3 時間後の腹水細菌濃度・血中 IL-1 $\beta$ /6、TNF- $\alpha$  を評価した (両群 n=10)。

UV-C 照射によるラット腹腔内組織の細胞毒性の評価をするため NC、LD、HD、PC の 4 群 (各 n = 5) で、照射後の小腸、盲腸、胃、肝、脾を採取した。UV の DNA 障害指標の cyclobutane pyrimidine dimer (CPD) を免疫染色で評価した。

#### [結果]

深さ 1 cm での水溶液中では細菌濃度が  $10^6$  CFU/ml 未満、照度 0.5 mW/cm<sup>2</sup> 以上、蛋白濃度  $1.5 \times 10^{-2}$  mg/ml 未満では 222 nm UV-C 照射により細菌濃度が 1 % 未満となった。透過率は  $1.5 \times 10^{-2}$  mg/ml では 4.5 cm で 10% 未満であったが、 $1.5 \times 10^{-3}$  mg/ml では 4.5 cm でも 60 % 以上透過し、更なる希釈により透過率が向上した。水溶液中の殺菌効果から、本研究の動物実験で用いる大腸菌濃度は  $10^8$  CFU/ml が適切と考えられた。

ラット腹膜炎は大腸菌腹腔内投与 3 時間後に腹水中細菌濃度中央値 (対照群：腹膜炎群) は  $0 : 1.9 \times 10^9$  CFU/ml ( $p < 0.01$ )、血中 IL-1 $\beta$ ・IL-6・TNF- $\alpha$  中央値 (対照群：腹膜炎群) は  $0 : 183.0$  pg/ml ( $p < 0.01$ ) ・  $0 : 6649.3$  pg/ml ( $p < 0.01$ ) ・  $14.5 : 226.3$  pg/ml ( $p < 0.01$ ) であった。これに基づき大腸菌腹腔内投与により腹腔内細菌の増殖と血中の炎症性サイトカイン上昇を伴う腹膜炎が誘発されたことを確認した。

腹膜炎治療後の閉腹前の腹水細菌濃度中央値 (照射群：非照射群) は  $1.5 \times 10^3 : 2.5 \times 10^5$  CFU/mL ( $p < 0.01$ ) と照射による殺菌効果を認め、1 週間生存率は非照射群 2/10 例、照射群 6/10 例と照射群で向上した ( $p = 0.038$ )。治療 3 時間後の腹水中細菌濃度中央値 (照射群：非照射群) は  $4.1 \times 10^2 : 1.3 \times 10^5$  CFU/ml ( $p < 0.01$ )、血中 IL-1 $\beta$ ・IL-6・TNF- $\alpha$  中央値 (照射群：非照射群) は  $68.7 : 109.5$  pg/ml ( $p < 0.01$ ) ・  $1367.6 : 3458.2$  pg/ml ( $p = 0.01$ ) ・  $73.3 : 103.0$  pg/ml ( $p = 0.436$ ) と洗浄時の 222 nm UV-C 照射により IL-1 $\beta$ ・IL-6 が低下していた。また、血中 IL-1 $\beta$ ・IL-6 は腹水細菌濃度と相関を認めた。

腹腔内臓器の DNA 障害は、254 nm UV-C では漿膜を越えて深部組織に CPD 形成を認めたが、222 nm UV-C 照射では LD、HD 共に漿膜のわずかな CPD 形成のみであった。

#### [考察]

有効性について 222 nm UV-C は一定以下の細菌濃度では強力な殺菌効果を示し、ラット腹膜炎モデルの洗浄時に 222 nm UV-C を腹腔内照射することで洗浄腹水中の細菌を減少させ、短期的には炎症性サイトカインを低減し、その後の生存率を改善させたと考えられる。細胞障害性は 222 nm UV-C 照射群のラットの生存が改善した事実に加え、DNA 障害性もわずかで漿膜のみに限局するため、短期的生存に影響を与えない程度と推定される。222 nm UV-C 腹腔内照射の長期的な影響は今後の課題である。

〔結論〕

本研究では 222 nm UV-C 照射の生体腹部臓器への DNA 障害が軽微であること、腹膜炎への治療効果を実証した。222 nm UV-C 照射は術中からの細菌制御により腹膜炎予後を改善し、臨床応用が期待できる新規治療法と考えられる。