抗菌，抗ウイルス，抗バイオフィームとその表面処理動向

伴 雅 人^a

^a 日本工業大学 基幹工学部 応用化学科 (〒 345-8501 埼玉県南埼玉郡宮代町学園台 4-1)

Trends of Antibacterial, Antivirus and Antibiofilm Surface Treatments

Masahito BAN^a

^a Department of Applied Chemistry, Faculty of Fundamental Engineering, Nippon Institute of Technology
(4-1 Gakuendai, Miyashiro, Minami-Saitama, Saitama 345-8501)

Keywords : Antibacterial, Antivirus, Antibiofilm, Surface Treatment

1. はじめに

COVID-19 によるパンデミックが、我々の生活だけでなく、仕事や人生観に対する意識にまで影響を与えている。このような自然災害に直面することによって、人類が、サイエンスやエンジニアリングを拠り所とする対策が唯一感染症を抑えることができるという共通認識を今回体得したことは、ある意味、今後の世界を考えると不幸中の幸いであろう。グローバル化と地球温暖化が進む中、我々は、ウイルスや細菌による新興・再興感染症が今後も再び引き起こされることを想定し、その感染防止のための科学・技術的対策を、喫緊に押し進める必要がある。感染経路の一つである接触感染は、モノを間に挟んだヒト-モノ-ヒト感染であり、感染者の唾液などにより汚染された環境(モノの表面)に触れることから起こる。そのため、感染防止のためには、モノの表面の細菌やウイルスによる汚染を防ぐ技術、すなわち、抗菌・抗ウイルス表面処理技術が重要な意味をもつ。一方、細菌による感染がそのパフォーマンスを顕著に低下させる重大な問題となるものとして、整形外科用人工器具や、尿道や血管用カテーテルなどの内在性の医療器具がある。細菌の付着は、それらの器具へのバイオフィームの形成を誘導する。また、多くの抗生物質に耐性をもつ多剤耐性菌がイタチごっことなりながら出現しており、この連鎖を断ち切るためにも抗生物質に頼る必要のない技術、すなわち、これらの器具自体に抗菌スペクトラムの広い表面処理を施す技術の出現が待たれる。

2008 年に設立された抗菌製品技術協議会(SIAA)は、このような抗菌・抗ウイルス・抗バイオフィーム処理を施した加工製品に対し、評価基準を策定し認証を行うなど、活発な活動を行なってきた。これにより、国内だけでなく世界に向けて高品質で安全性のある抗菌・抗ウイルス加工製品が市場に送り出されており、SIAA の活動が感染症防止に対しグローバルに貢献しているといえるであろう。

本稿では、現在そして今後の世界における感染防止対策のための重要な柱の一つとなる、抗菌・抗ウイルス・抗バイオ

フィルム表面処理技術について概説する。より具体的には、細菌やウイルス、バイオフィームの構造やその材料表面での様態、そして、それらの増殖や成長を抑えるための材料表面設計の指針と方策を述べ、さらに、そのような表面をさまざまな材料や手法にて形成した研究について、その動向がわかるようになるべく多くの例をあげて説明する。

2. 細菌・ウイルス・バイオフィーム

生物界は、細菌、アーキアおよび真核生物の3つのドメインに分類される。細菌は、細胞に核膜がある動植物などの真核生物とは異なり、核膜を持たず、別のドメインに分類される。一方、ウイルスは、この3つのドメインのどこにも属さない。そもそも、ウイルスは生物か無生物かという議論をも尽きていない。このように、細菌とウイルスは似て非なるものであるが、ともに人に対して感染症を誘発する。

ウイルスは、DNA あるいは RNA を核酸として持ち、その核酸はタンパク質の殻であるカプシドに包まれ、多くはさらに脂質や糖を含むタンパク質の被膜であるエンベロープに覆われている(図1)。代表的な非エンベロープウイルスとしてノロウイルス、また、エンベロープウイルスとしてインフルエンザウイルスがあげられる。ウイルスは、正二十面体やらせん状などの構造をしており、その大きさは一般的に数10

図1 ウイルスの構造

から数 100 nm であり、細菌の 1/10 から 1/100 程度と極めて小さい。ウイルスは、細菌と異なり代謝やエネルギー機構は持っていないため、細胞外では単に物質としてのウイルス粒子(ビリオン)として存在する。しかし、一旦細胞に侵入(感染)すると急激に活動し始め、膨大な数の子ウイルス(1 個のウイルスから半日で 10^6 個)を産生する。ウイルス粒子は、特定の細胞表面の受容体タンパク質に吸着して細胞内に侵入し、カプシドが分解することで内部の核酸が細胞質中に露出(脱殻)し、この暗黒期の間に核酸の複製やタンパク質の合成が行われ、これらが組み立てられて子ウイルスとなり細胞外に放出(1 個のウイルスからおよそ 10^5 個)される。

原核生物である細菌(バクテリア)の原核細胞には、真核細胞に見られる核膜やミトコンドリアなどの器官はなく、主に、DNA 繊維からなる核様体、リボソーム、細胞質、細胞膜、細胞壁などに構成される(図 2)。感染症診断の検査に必須のグラム染色による分類におけるグラム陰性菌では、細胞壁の外側に外膜がある。細胞膜や外膜は脂質二重膜、細胞壁はペプチドグリカンが主成分となる。また、菌種によっては、細胞壁の外側に粘着物質の層である、主に多糖類からなる莢膜を作る。細菌は、一般的に数 100 nm から数 μm の大きさであり、球状や桿状の形状を持つ。細菌によっては、外部器官として鞭毛・繊毛や線毛が表層に付属する。細菌は、その細胞が 2 分裂することによって増殖する。一般的な病原細菌は、20~30 分に 1 回のペースで分裂し、6 時間で 10^5 個台まで増えるため、栄養条件が整った環境で放置されると大量に増殖することになり、産生した毒素による細胞傷害(細菌感染)を引き起こしてしまう。

水と触れ合う固体表面に細菌の活動によって形成される粘着性の膜状物質(いわゆる、ぬめり)は、バイオフィームと呼ばれ、多種多様な微生物がお互いに作用し合う共同体となっている。バイオフィームの中では、細菌などの微生物の集団が、さまざまなポリ多糖、タンパク質、糖タンパク質、糖脂質、細胞外 DNA、水分から作られた構造体(細胞外重合物質:

EPS)の中で生息している。バイオフィームが材料表面に形成されるサイクルは、次の 4 つのステージで説明されることが多い(図 3 参照)。各種の有機物・無機物から形成されるコンディショニングフィルムに細菌が初期付着する①開始期、細菌同士が相互作用しコミュニケーションを成立させていく②成熟期、代謝活動が活発となる③維持期、そして、一部が崩壊して細菌を浮遊菌として放出する④分解期というプロセスである。バイオフィームが形成されると、それが内部に生息する細菌を物理的にも化学的にも保護し、生存に適した環境が提供されることとなる。

3. 細菌・ウイルスの表面での様態

ウイルスは、宿主である細胞の中にいる間は「生きて」いるが、細胞の外に出てモノの表面に付着したとしても太陽の紫外線などにすぐには不活化される(感染性が失われる)。熱にも弱く、60℃では数秒で感染力が半減する。インフルエンザウイルスのようなエンベロープウイルスは、アルコールや洗剤にても容易に不活化される。しかし、エンベロープウイルスでも、そのような環境に置かれたい限り、さまざまな材料上で数時間から数日まで感染力が維持されることが、コロナウイルスによる調査により判明している^{1),2)}。COVID-19 を引き起こしているコロナウイルス(SARS-CoV-2)は、その生存期間として、プラスチックで 3 日、ステンレススチールで 2 日、銅で 4 時間などと報告された³⁾。食中毒を引き起こすノロウイルスは、エンベロープのないウイルスであるためアルコールでは死滅しないだけでなく、食品が接触するさまざまな材質(セラミックス、木、ゴム、ガラス、ステンレススチール、プラスチック)の表面で、室温において 28 日間もその感染力が残っていることが報告されている⁴⁾。

細菌は、ウイルスとは異なり、モノの表面に付着した場合も環境条件が揃えば単独で増殖が可能である。しかも非常に厄介な問題として、細菌自身が、産生する多糖類などを周囲に張り巡らし、短時間のうちに細菌同士が協働したバイオフィームを形成する(図 3)。一旦表面上に形成されたバイオフィームは、環境からの物理的・化学的な妨害から細菌を保護することになる。具体的には、バイオフィームは、流れ環境下での細菌の分離を防御したり、内在性医療器具においては食細胞の捕食に対し物理的に防御バリアとなったりと、非常に幅広い役目を持つ。さらに、さまざまな外部環境刺激に対し周囲の細菌同士で化学物質を用いた情報伝達が行われ、細菌集合体として機能するクオラムセンシングと呼ばれる細胞間コミュニケーションシステムが働いていることがわかっている。

4. 抗菌・抗ウイルス・抗バイオフィームのための材料表面設計

我々が日常行っている、石鹸で手を洗う、生ものを加熱調理する、アルコール消毒する、といったことは、抗菌や抗ウイルス対策として有効な手段であるが、モノ(材料)の表面自体にその効果を持たせるものではない。抗菌や抗ウイルスのための材料表面を設計するためには、そのような機能をあらかじめその表面に持たせるような処理を施すことが必要にな

図 2 細菌の構造

図3 細菌・ウイルス・バイオフィルムの表面での様態

る。抗菌すなわち細菌の増殖を防ぐための最良の戦略は、材料表面への細菌の初期付着を抑制することであり、細菌が付着できないような表面、あるいは、付着したとしても短時間に細菌が死滅する表面を作り出すことにある。ウイルスは、材料表面では増殖はしないが、前述のように感染力を保持したまま長期間存在することが問題となるため、細菌と同様な戦略をとることが有効であろう。初期段階となる細菌の付着を抑制することで、バイオフィルムまで発展させることを防ぐことができる。それでは、細菌やウイルスの初期付着を抑制することができる表面は、どのような指針で設計すればよいのか。それは、(1)殺菌・不活化効果のある表面、および、(2)付着防止効果がある表面を作り出すことにある。

4. 1 殺菌・不活化効果のある表面

殺菌・不活化効果のある表面とは、殺菌性やウイルスの不活化性のある因子が固定された表面であり、これにより細菌やウイルスの初期付着を抑制する。これを実現するために、数多くの因子とそのさまざまな固定化方法が提案されている。抗菌剤として実績のあるトリクロサン、消毒薬として有効な塩化ベンザルコニウムなどのさまざまな有機系抗菌剤は、グラフト重合などにて固定化される。第三級アミンやN-ハラミンといった官能基を有する多様な抗菌性ポリマーコーティング、さらに、活性酸素種や一酸化窒素、活性窒素種といった細胞機能に傷害を与える分子を産生あるいは徐放するポリマーコーティングが研究・開発されている。無機物質としては、銀や銅などのいわゆる抗菌性の金属が、薄膜やナノ粒子として含有されたコーティングといった形態で、広範な用途で長く利用されている。抗ウイルスコーティングにも、このような金属の効果を利用したものが多く開発されている。また、光触媒酸化チタンは、光照射が必要なものの、活性酸素を利用した強力な殺菌・ウイルス不活性化の因子である。バンコマイシンなどの抗生物質を徐放することができるコーティングも有効な手段である。その他にも、エッセンシャルオイルなどの自然由来殺菌成分など、さまざまな固定用の因子が研究されている。

銀イオンの強力な抗菌効果は、黄色ブドウ球菌、表皮ブドウ球菌、緑膿菌、大腸菌、肺炎桿菌など多種類の細菌で実証されている。ここで、銀の抗菌メカニズムについて少し触れると、ほぼ以下のように説明される。銀ナノ粒子が放出した

銀イオンおよび産生した活性酸素が、細菌細胞の細胞膜破壊、タンパク質変性による機能傷害およびDNA破壊を引き起こす。これらは、細胞内部からも細胞膜や膜タンパク質を攻撃し、さらに、細胞質成分と核酸に相互作用することでタンパク質や酵素の変性やDNAの切断を誘発する。また、銀イオンは、硫黄、りん、酸素、窒素を含む電子供与体に作用し、呼吸反応連鎖酵素などを阻害したりする。活性酸素の抗菌・抗ウイルス効果のメカニズムについては、おおよそ以下のよう説明される。活性酸素であるヒドロキシルラジカル($\cdot\text{OH}$)、スーパーオキシドラジカルイオン($\cdot\text{O}_2^-$)、過酸化水素(H_2O_2)が、細菌細胞にさまざまな酸化ストレスを誘導する。ヒドロキシルラジカルは、脂質からなる細胞膜に脂質過酸化反応を誘導し傷害を与える。過酸化水素は、細胞内でヒドロキシルラジカルを生成させ、タンパク質の変性、核酸の分解、酵素の失活などの致命的な傷害を与える。これらにより、細菌が死滅することになる。一方、ウイルス粒子については、エンベロープの有無により、活性酸素の効果は異なってくる。エンベロープを持つウイルス粒子は、エンベロープが脂質や糖タンパク質で構成されており、細菌細胞と同様にヒドロキシルラジカルとの酸化反応により、機能傷害を与えることができる。しかし、エンベロープを持たないウイルス粒子については、カプシドを構成するタンパク質には脂質は含まれておらず、ヒドロキシルラジカルによる過酸化反応を利用することができない。このようなウイルスの不活化には、高温や次亜塩素酸ナトリウム(強塩基)などの手段が用いられるが、これによって引き起こされるタンパク質の変性については、ヒドロキシルラジカルによっても可能である。

4. 2 付着防止効果のある表面

細菌やウイルスが表面に付着し定着をする際には、物理・化学的な原理・現象だけでなく生物学的な要因が影響する。ここでは、それを直接要因と間接要因に分けて説明する(表1)。直接要因には、材料表面の形態と物理化学特性があげられる。表面形態は、そのマイクロ・ナノレベルの差異が、細菌・細胞の接着に大きな影響を及ぼす。多孔性の表面は、その相対的なサイズにより、細菌が付着したときのアンカーとして働くことで接着性が増す場合がある。バイオマテリアルとして使われる多孔質のハイドロキシアパタイトは、逆にこの特性を使い細胞接着性を高めている。材料表面の物理化学特性と

表1 細菌の付着・定着に影響する因子

直接要因	
表面形態	多孔性(マクロ・マイクロサイズ) 表面粗さ(マイクロ・ナノレベル)
物理化学特性	表面エネルギー 親水性/超親水性、撥水性/超撥水性 官能基(疎水性、極性、電荷、水和)
間接要因	
環境要因	電解質、pH、温度 ホスト細胞タンパク質・接着因子 流体のせん断速度、粘度、流速
病原体	グラム陽性/陰性、属・種 細菌の形状 表面エネルギー(細菌の) 発現接着因子

して、表面エネルギーや親水性、付与している官能基の性状(疎水性、極性、電荷、水和性など)が、付着に及ぼす因子になる。バイオフィームについても、細菌付着の安定性が、材料の表面構造や化学組成、表面エネルギーによって異なってくる。また、間接要因には、周囲環境の物理・化学的事象や付着する細菌などの様態などがあげられる。周囲環境に関わる因子としては、表面に接する溶液の温度、pH、化学成分だけでなく、その流動状態に関わる因子として、流速、せん断力、粘度などが、直接的に影響する。細菌の種類(グラム陽性・陰性、属や種)や形状(球状、桿状)、外部器官としての鞭毛・纖毛や線毛の有無などは、それが表面に付着するかどうかを決定する重要な因子となる。さらに、細菌についても、その表面エネルギーや疎水性、電荷などが、表面との相互作用の程度を規定することにつながる。

それでは、このようなさまざまな直接・間接要因に対して、細菌やウイルスの材料表面への付着を防止する方法として、どのような表面設計指針が考えられるであろうか。それには、表面の形態をアレンジすること(物理的側面)やタンパク質の吸着を抑制すること(化学的側面)が主要な柱となる。図4に、その具体的な項目を並べたが、物理的側面としては、ナノレベルの表面構造や平坦性、適切なマイクロ・ナノレベルの構造の形成、特定のマイクロナノパターンの形成など、化学的

側面としては、タンパク質の表面相互作用の低減、吸着速度の低減などがあげられる。

後者を理解するためには、材料表面へのタンパク質の吸着現象について知る必要がある。人工物が生体内に埋め込まれた際など、細胞が材料表面に触れるときには、その界面に細胞外マトリクスを構成するコラーゲンなどの細胞接着性タンパク質が介在する。これらのタンパク質がまず人工物表面に吸着した後、細胞が付着・接着し、活性化して増殖するという経過を辿る。これらのタンパク質は、細胞自らも産生し、自己の表面での接着をより強固なものにしていく。同じような現象は、細菌においても見られる。細菌は、材料表面に付着した環境中のタンパク質や多糖類を含む有機物や無機物からなるコンディショニングフィルムを介し接着していく。また、細菌は、接着因子を認識する表面成分を自らが産生して、細胞接着性タンパク質と相互作用することで、その接着が促進されていく。したがって、材料表面の有機物、とりわけタンパク質の初期吸着をコントロールすることが細菌の付着を防止する上で非常に重要になる。

以上の物理的・化学的側面から見た表面設計のパラメータとなる特性として、表面自由エネルギーや表面電荷、ナノレベルの立体構造があげられる。ただし、生きた細菌細胞の基本的な挙動は、その付着した表面の特性だけでなく、細胞と表面間に存在する媒体の特性に大きく依存することを念頭においておく必要がある。つまり、媒体が細菌や材料表面の特性双方に大きな影響を及ぼす。すなわち、細菌と材料の表面自由エネルギーや電荷は、触れている溶液のpHに依存し、また、さまざまな特性をもつタンパク質の表面への吸着構造が空間的・時間的に動的に変化することによって大きく影響を受ける。このように複雑な現象となることから、特定の限られた因子のみで付着現象を説明することは困難であることを、付着防止効果を持つ表面を設計するにあたって、十分に理解しておく必要がある。

図4 付着防止効果付与の方策

5. 抗菌・抗ウイルス・抗バイオフィルムのための表面処理

細菌やウイルスの増殖抑制のための表面処理に関する研究が、これまで数多く実施されてきた。ここでは、その動向がわかるように、なるべく多くを紹介したい。

5. 1 細菌・ウイルスの増殖抑制

5. 1. 1 殺菌・不活化効果のある表面

銀などの抗菌金属を利用し材料表面に殺菌・不活化効果を付与する場合、スパッタリング法やプラズマ化学気相成長(CVD)法あるいはゾルゲル法などを用い、薄膜状あるいはナノ粒子状として定着する方法が用いられる。これらの方法により、より少ない体積(量)でより大きな表面が得られ、それらのイオンの抗菌効果を効率的に利用することができる。25–50 nm サイズの銀ナノ粒子がTiN 薄膜に分散したナノコンポジットTiN/Ag 薄膜が、マグネトロンスパッタリング法にて形成され、これにより緑膿菌や黄色ブドウ球菌の増殖が抑制されたことが報告されている⁵⁾。また、同時マグネトロンスパッタリング法によって得られた銀含有ハイドロキシアパタイトコーティングが、表皮ブドウ球菌や黄色ブドウ球菌を大幅に減少させることができることが示された⁶⁾。プラズマCVD法は、スパッタリング法などとの併用により、ナノ粒子が分散含有された有機無機の各種薄膜の形成が可能である。Kornerらは、炭化水素系ガスを原料としたRFプラズマCVD法と銀の同時スパッタリングにより、銀ナノ粒子が分散含有されたナノコンポジット有機薄膜を形成したことを報告している⁷⁾。炭素系硬質膜であるダイヤモンドライクカーボン(DLC)をマトリックスとし銀ナノ粒子を含有させたプラズマCVD薄膜が、大腸菌に対し抗菌性を示したことが報告されている⁸⁾。ゾルゲル法では、銀ドーブ有機無機ハイブリッドコーティングがバイオマテリアルであるポリエチレンやポリ塩化ビニル上に形成され、大腸菌や黄色ブドウ球菌への抗菌効果が確認されている⁹⁾。特定のウイルスの不活化に対する銀の効果について、多数報告されている。Luらは、銀ナノ粒子がB型肝炎ウイルスのRNAの生産や細胞外へのビリオンの放出を阻止できることを報告している¹⁰⁾。また、Rogersらは、サル痘ウイルスの感染を銀ナノ粒子が防ぐことを、ビトロにおいて確認している¹¹⁾。今後は、より広域スペクトルで持続性のある抗ウイルス表面処理技術の開発が待たれる。

光触媒酸化チタンについては、ナノ粒子がコロイド分散したコーティング溶剤として開発されており、塗膜として使用することで抗菌だけでなく防汚、脱臭などのさまざまな用途に使用されているが、各種CVD法やスパッタリングなどの物理気相成長(PVD)法による薄膜コーティングについても多数の報告がある。近年では、さらに高機能化を目指した研究として、さまざまな他の物質との複合化がなされている。CVD法により形成された酸化チタンと酸化銅の多層膜は、紫外線照射により、大腸菌の死滅とその後の細菌の表面からの離脱を誘導する機能(セルフクリーニング)を持つことが、Yatesらにより示されている¹²⁾。コロイド溶液を原料としたプラズマCVD法により、耐摩耗性に優れたDLC薄膜中に

酸化チタンナノ粒子を分散含有させた構造が作製され、紫外線照射により大腸菌に対する抗菌性能が確認されている¹³⁾。光触媒酸化チタンのウイルスへの効果についても報告がある。銀をドーブした酸化チタンナノ粒子により、飲料水処理において細菌に感染するウイルス(バクテリオファージ)の不活性化が確認されている¹⁴⁾。SARS-CoV-2に対する酸化チタンコーティングの効果についても調べられ、速報されている^{15), 16)}。

その他にも、さまざまな種類の材料について調べられている。植物から得られるエッセンシャルオイルには、天然の抗菌、抗ウイルス、殺菌、抗炎症成分を含むものがあり、この成分であるテルピネン4オールを利用したプラズマ重合膜が、黄色ブドウ球菌、緑膿菌および表皮ブドウ球菌の付着やバイオフィルム形成を防いだとする報告がある¹⁷⁾。カーボンナノ材料の一つであるフラーレン(C₆₀)は、光増感作用を示し、光照射により活性酸素を産生する。この特性を利用した抗ウイルス作用¹⁸⁾や抗菌作用¹⁹⁾、また、細胞毒性(ガン細胞の死滅)^{20), 21)}について報告されている。

5. 1. 2 付着防止効果のある表面

ナノレベルの表面粗さが細菌や細胞の付着に及ぼす影響に関しては、さまざまな材料について調べられ、非常に興味深い結果が得られている。チタンは、機械特性や環境安定性に優れ、特にその高い生体親和性から、バイオマテリアルとして生体インプラントの材料として用いられている。マグネトロンスパッタリング法にて形成されたチタン薄膜について、ナノオーダーで変化させた表面粗さ(Ra: 1.6, 1.2, 0.7 nm)が、黄色ブドウ球菌や緑膿菌の付着やそれらによるEPSの分泌に大きく影響することが示された²²⁾。Ivanovaらは、同様にマグネトロンスパッタリング法で成膜されたナノスケールの銀薄膜について報告し、銀イオン濃度が細菌の生存の主要な決定要因になることの他に、細菌の付着とパターンはその表面形態に大きな影響を受けることを示した²³⁾。培養細胞を用いた研究では、表面粗さ(Ra)の大きく異なるシリコンウエハ上で神経細胞を培養し、10~50 nm付近でもっとも細胞の増殖が見られる一方、ほとんど平坦な表面(Ra: 数nm)や粗い表面(Ra: 100 nm前後)では細胞付着が抑えられることが報告されている²⁴⁾。また、DLCが成膜された、表面粗さ(Rc) 0.03~3.5 μmを持つ異なった基板にてマウス筋芽細胞が培養され、0.7~1.0 μmの表面粗さにてもっとも細胞の付着や増殖が大きいことが示された²⁵⁾。このように、表面粗さ依存性については、さまざまな材質やスケールにて研究が行われてきているが、相反する結果が得られるなど、統一した見解に至っていないのが現状である。

さらに積極的にマイクロ・ナノスケールのさまざまな形状を材料表面に形成させ、その細菌の付着防止効果が調べられている。バイオミメティックの観点からは、セミの羽が殺菌性を持つ仕組みについて人工的に作製した表面で解明した研究²⁶⁾が有名である。セミの羽には無数のナノピラー形状(100 nm径, 200 nm高さ, 170 nm間隔)が存在し、そこに付着した細菌が沈み込み細胞膜が伸張り破れることで殺菌効果を示すことが説明されている。動植物の表面が、微生物などの付着を防ぐことは、鯨、サメ、イルカの肌やハスの葉などにて表面化学やマイクロ・ナノスケールの形態からの理論解

積もされてきており, 材料表面の構造をマイクロ・ナノレベルで制御して抗菌表面を創製するプラットフォームとも相まって, 盛んに研究が行われている。規則配列したピット(1–2 μm)を有する表面において, 緑膿菌や黄色ブドウ球菌の付着が促進され, 不規則な配列のピットであるとそのような効果が出ないことが報告されている²⁷⁾。このような現象は, 培養細胞でも得られており, 秩序をもって配列したピットと無秩序な配列のピットを持つ表面で, 間葉系幹細胞の分化に異なった影響(無秩序で骨細胞に分化)を示すという非常に興味深い結果が報告されている²⁸⁾。さらに, マイクロサイズの溝が細菌の付着に影響を及ぼすことが報告されている。1.3 μm 幅で 120 nm 深さのマイクロ溝が蛍光菌の整列付着を促進したこと²⁹⁾, あるいは, 50 nm 深さで 1.6 μm 間隔のマイクロ溝では, 細菌の付着が抑制されたこと³⁰⁾が示されている。マイクロピラー(5 μm 径)を異なる密度で整列配置したポリジメチルシロキサン(PDMS)に DLC 薄膜をコーティングし, 表面に微細な凹凸形状を形成した基板にて, その密度が大きいほど細胞の付着が抑えられることが報告されている³¹⁾。以上のような研究結果は, 細菌のサイズが表面構造におけるサイズと同等であると, 細菌と表面との接触面積が最大化する効果が得られ, 細菌の接着ポテンシャルが増加するという考え方を支持している。さらに, 抗バイオフィームに関して, Fadeeva らは, フェムト秒レーザーを用いてチタン表面にマイクロナノ構造を形成させることで超撥水性とし, この表面が, 緑膿菌のコロニー化を抑制したことを報告している³²⁾。また, 細菌の形状の相違が, 表面接触面積の差につながり, その付着性や EPS 産生能力に違いが生まれること, このことから逆に選択的に細菌の付着を抑制あるいは促進ができるとしている。以上のように, 表面の形態のみで細菌やウイルスの初期付着を防止することができれば, いわゆる抗菌剤は不要となり, その生体や環境への影響を考えると, メリットは非常に大きい。

5. 2 抗菌と生体適合性の両立

抗菌特性を持つことと生体適合性(細胞接着性)を持つことは, 相反する事象で, 諸刃の剣の関係となる。バイオマテリ

アルにて作られたデバイスをインプラントとして体内に内在させる場合, そのバイオマテリアルが細胞との親和性がよい表面をもち, 同時に細菌の増殖やバイオフィームの成長を抑えることができる表面であることが重要となる。インプラントが感染すると, 炎症を生じるばかりか, 交換を余儀なくされる恐れもでてきて, QOL が著しく低下する。このような両立性を担保できるような表面処理についての研究も盛んに行われている。

アリルアミンを原料としたプラズマ重合により形成したポリマー層に銀ナノ粒子を結合することで, 表皮ブドウ球菌の付着とバイオフィーム形成を効果的に防ぎ, 同時に骨芽細胞の付着と伸展がサポートされたことが報告されている³³⁾。Ewald らは, PVD によって形成された Ti/Ag ハードコーティング(約 0.7–9% 銀)は, 表皮ブドウ球菌や肺炎桿菌への抗菌特性を示しながら, 骨芽細胞や表皮細胞に対する毒性効果はなく, 抗菌と生体親和性が両立できることを報告した³⁴⁾。マグネトロンスパッタリングと陽極酸化処理により作製された, 5–20 nm サイズの酸化銀ナノ粒子が埋め込まれた酸化チタンナノチューブが, 大腸菌や黄色ブドウ球菌に対する抗菌性だけでなく, 骨芽細胞との親和性を有し, その伸展, 増殖, 分化に悪影響を及ぼさないことが報告されている³⁵⁾。カーボンナノマテリアルの一つであるグラフェンは, 抗菌剤としてまたバイオマテリアルとして利用できる可能性を有する興味深い材料である³⁶⁾。抗菌剤としては, 大腸菌, クレブシエラ菌, ブドウ球菌などに対する効果が明らかになっている。また, 多種類のヒト細胞に対し, 細胞毒性を示すことが示されている。これには, グラフェンシートの持つナノレベルのシャープなエッジが細菌の細胞膜に損傷を与えるといったメカニズムが提唱されている。その一方で, 材料表面にグラフェンを平面状態で固定した場合に, 間葉系幹細胞の付着や増殖を促進するといった生体親和性を示すことが明らかとなっている³⁷⁾。

6. おわりに

図 5 に, これまで述べてきた抗菌性表面処理における方策

図5 表面処理技術の整理と研究開発の方向性

を整理した。また、今後の研究開発の方向性として、複数因子をハイブリッドすることによりシナジー効果を生み出すことができないか、という観点でその組合せなどを示した。さらに、今後に向けた課題として、長期持続性があり、また、広域スペクトルの抗菌・抗ウイルス特性を示す表面、つまり、多剤耐性菌や地球温暖化が原因で出現が懸念されている未知の細菌やウイルスなどを含めた新興・再興感染症にも対処できる万能な表面をもつ材料が今後開発されていくことを期待したい。

最後となるが、本稿では、細菌やウイルスを排除する表面を設計する指針や方策を述べてきたが、我々の生命活動や社会活動は、細菌、ウイルス、バイオフィームとの共存で成り立っている、ということは忘れてはいけない。ウイルスは、ヒトに感染するたびにその情報をヒト DNA に残し人類に同化してきている。また、レトロウイルスは、遺伝子治療などになくはならない材料となっている。また、腸内細菌や皮膚常在菌は、ヒトの健康維持に欠かせない役割を担っていることは、よく知られている。さらに、バイオフィームは、微生物の機能を利用した環境修復技術として注目されている。今後世界は、ウィズコロナがますます進み、妥協点を見出していく中で新たな発展に向かっていくことになるであろう。さらに大きく長期的な視点では、細菌やウイルスは、地球上に生息する人類よりずっと多くの数が存在していることを考えると、ウィズウイルス、ウィズ細菌、ウィズバイオフィームを標榜し、一緒にうまくやっていくということが、SDGsにも合致した本来の技術の姿なのかもしれない。

(Received March 22, 2021)

文 献

- 1) G. Kampf, D. Todt, S. Pfaender, E. Steinmann ; *J. Hosp. Infect.*, **104**, 246 (2020).
- 2) L. Fiorillo, G. Cervino, M. Matarase, C. D'Amico, G. Surace, V. Paduano, M. T. Fiorillo, A. Moschella, A. L. Bruna, G. L. Romano, R. Laudicella, S. Baldari, M. Cicciu ; *Int. J. Environ. Res. Public Health*, **17**, 3132 (2020).
- 3) N. V. Doremalen, D. H. Morris, M. G. Holbrook, A. Gamble, B. N. Williamson, A. Tamin, S. I. Gerber, J. O. Lloyd-Smith, E. de Wit, V. J. Munster ; *N. Engl. J. Med.*, (2020).
- 4) A-N. Kim, S. Y. Park, S-C. Bae, M-H. Oh, S-D. Ha ; *Food Environ Virol*, **6**, 182 (2014).
- 5) P. J. Kelly, H. Li, K. A. Whitehead, J. Verran, R. D. Arnell, I. Iordanova ; *Surf. Coat. Technol.*, **204**, 1137 (2009).
- 6) W. Chen, Y. Liu, H. S. Courtney, M. Bettenga, C. M. Agrawal, J. D. Bumgardner, J. L. Ong ; *Biomaterials*, **27**, 5512 (2006).
- 7) E. Korner, M. H. Aguirre, G. Fortunato, A. Ritter, J. Ruhe, D. Hegemann ; *Plasma Process Polym.*, **7**, 619 (2010).
- 8) F. R. Marciano, L. F. Bonetti, L. V. Santos, N. S. Da-Silva, E. J. Corat, V. J. Trava-Airoldi ; *Dia. Relat. Mater.*, **18**, 1010 (2009).
- 9) M. Marini, S. D. Niederhausern, R. Iseppi, M. Bondi, C. Sabia, M. Toselli, F. Pilati ; *Biomacromolecules*, **8**, 1246 (2007).
- 10) L. Lu, R. W. Sun, R. Chen, C-K. Hui, C-M. Ho, J. M. Luk, G. K. Lau, C-M. Che ; *Antiviral Therapy*, **13**, 253 (2008).

- 11) J. V. Rogers, C. V. Parkinson, Y. W. Choi, J. L. Speshock, S. M. Hussain ; *Nanoscale Res Lett.*, **3**, 129 (2008).
- 12) H. M. Yates, L. A. Brook, I. B. Ditta, P. Evansa, H. A. Foster, D. W. Sheel, A. Steele ; *J. Photochem. Photobiol. A*, **197**, 197 (2008).
- 13) M. Ban, N. Hasegawa ; *Dia. Relat. Mater.*, **25**, 92 (2012).
- 14) M. V. Liga, E. L. Bryant, V. L. Colvin, Q. Li ; *Water Research*, **45**, 535 (2011).
- 15) P. Mlcochova, A. Chadha, T. Hesselhoj, F. Fraternali, J. J. Ramsden, R. K. Gupta ; bioRxiv preprint doi: <https://doi.org/10.1101/2020.12.08.415018>.
- 16) S. Khaiboullina, T. Uppal, N. Dhabarde, V. R. Subramanian, S. C. Verma ; *viruses*, **13**, 19 (2021).
- 17) K. Bazaka, M. V. Jacob, V. K. Truong, F. Wang, W. A. A. Pushpamali, J. Y. Wang, A. V. Ellis, C. C. Berndt, R. J. Crawford, E. P. Ivanova ; *Biomacromolecules*, **11**, 2016 (2010).
- 18) F. Käsermann, C. Kempf ; *Rev. Med. Virol.*, **8**, 143 (1998).
- 19) H. Aoshima, K. Kokubo, S. Shirakawa, M. Ito, S. Yamana, T. Oshima ; *Biocont. Sci.*, **14**, 69 (2009).
- 20) M. Ban, F. Sasaki ; *World J. Nano Sci. Eng.*, **2**, 110 (2012).
- 21) M. Ban, Y. Kogi, F. Sasaki ; *J. the Imaging Society of Japan*, **51**, 496 (2012).
- 22) E. P. Ivanova, V. K. Truong, J. Y. Wang, C. C. Berndt, R. T. Jones, I. I. Yusuf, I. Peake, H. W. Schmidt, C. Fluke, D. Barnes ; *Langmuir*, **26**, 1973 (2010).
- 23) E. P. Ivanova, J. Hasan, V. K. Truong, J. Y. Wang, M. Raveggi, C. Fluke, R. J. Crawford ; *Appl. Micro. Biotech.*, **91**, 1149 (2011).
- 24) Y. W. Fan, F. Z. Cui, S. P. Hou, Q. Y. Xu, L. N. Chen, I.-S. Lee ; *J. Neurosci. Met.*, **120**, 17 (2002).
- 25) M. Ban, S. Tobe, L. Takeuchi ; *Dia. Relat. Mater.*, **90**, 194 (2018).
- 26) E. P. Ivanova, J. Hasan, H. K. Webb, V. K. Truong, G. S. Watson, J. A. Watson, V. A. Baulin, S. Pogodin, J. Y. Wang, M. J. Tobin, C. Lobbe, R. J. Crawford ; *Small*, **8**, 2489 (2012).
- 27) K. A. Whitehead, J. Colligon, J. Verran ; *Colloids and Surfaces B*, **41**, 129 (2005).
- 28) M. J. Dalby, N. Gadegaard, R. Tare, A. Andar, M. O. Riehle, P. Herzyk, C. D. W. Wilkinson, R. O. C. Oreffo ; *Nature Mater.*, **6**, 997 (2007).
- 29) C. Díaz, M. C. Cortizo, P. L. Schilardi, S. G. G. de Saravia, M. A. F. L. de Mele ; *Materials Research*, **10**, 11 (2007).
- 30) L. Ploux, K. Anselme, A. Dirani, A. Ponche, O. Soppera, V. Roucoules ; *Langmuir*, **25**, 8161 (2009).
- 31) Y. Rahmawan, K.-J. Jang, M.-W. Moon, K.-R. Lee, K.-Y. Suh ; *BIOCHIP JOURNAL*, **3**, 143 (2009).
- 32) E. Fadeeva, V. K. Truong, M. Stiesch, B. N. Chichkov, R. J. Crawford, J. Wang, E. P. Ivanova ; *Langmuir*, **27**, 3012 (2011).
- 33) K. Vasilev, V. Sah, K. Anselme, C. Ndi, M. Mateescu, B. Dollmann, P. Martinek, H. Ys, L. Ploux, H. J. Griesser ; *Nano Lett.*, **10**, 202 (2010).
- 34) A. Ewald, S. K. Glückermann, R. Thull, U. Gbureck ; *BioMed. Eng. Online*, **5**, 22 (2006).
- 35) A. Gao, R. Hang, X. Huang, L. Zhao, X. Zhang, L. Wang, B. Tang, S. Ma, P. K. Chu ; *Biomaterial*, **35**, 4223 (2014).
- 36) A. B. Seabra, A. J. Paula, R. de Lima, O. L. Alves, N. Duran ; *Chem. Res. Toxicol.*, **27**, 159 (2014).
- 37) M. Ban, R. Shimoda, Y. Okigawa, M. Ishihara ; *Dia. Relat. Mater.*, **111**, 108229 (2021).