

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24 年 6 月 4 日現在

機関番号： 14202  
 研究種目： 挑戦的萌芽研究  
 研究期間： 2010～2011  
 課題番号： 22659281  
 研究課題名（和文）術中回収式自己血輸血 紫外線照射による回収血中の細菌、腫瘍細胞の不活化  
 研究課題名（英文） Intraoperative autotransfusion Inactivation of bacillus and tumor cell in the collection blood from operative field by UVC irradiation  
 研究代表者  
 小島 修 (KOJIMA OSAMU)  
 滋賀医科大学・医学部・非常勤講師  
 研究者番号： 00335176

研究成果の概要（和文）：癌の手術中においては、回収血に細菌、癌細胞が混入する可能性が高く、輸血に用いることはできない。この回収血に深紫外線発光ダイオードを用いて紫外線照射すると、混入した細菌、腫瘍細胞の不活化が可能であった。しかし、血液中への紫外線照射は血球により妨げられ十分ではなかった。適切な照射層の厚み、攪拌操作などの探求も必要であったが、研究期間中にはできなかった。癌手術においても回収自己血を輸血できる可能性を見いだした。

研究成果の概要（英文）：The bacillus and the tumor cell will mix with the blood that bled while operating on cancer surgery. It is not possible to use it to transfuse. The inactivation of mixing bacillus and tumor cell was possible by the irradiation using UVC-LED. However, it was disturbed with the blood corpuscle and the exposure to UVC irradiation in blood was not enough. It was not possible to do during the study period though an appropriate thickness of the irradiation layer and the search of the stir operation etc. were also necessary. The possibility of autotransfusion was found in the cancer operation.

## 交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	1,600,000	0	1,600,000
2011年度	1,100,000	330,000	1,430,000
年度			
年度			
年度			
総計	2,700,000	330,000	3,030,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：麻酔・蘇生学

キーワード：術中回収式自己血輸血・細菌・腫瘍細胞・紫外線

1. 研究開始当初の背景
- |                      |  |
|----------------------|--|
| 外科手術、とくに癌患者の手術においては、 | 出血量が多くなり、輸血を必要とする症例が多い。同種血は常に不足傾向にあり、今後高 |
|----------------------|--|

年齢の増加とともに手術を受ける患者の増加、輸血症例の増加に反し献血者数の減少が生じ、さらなる同種血不足が考えられる。術中回収式自己血輸血は有用であるが、癌手術においては回収血へ細菌、腫瘍細胞の混入が考えられ、回収血の自己血輸血は禁忌と考えられている。この回収血に混入する細菌、腫瘍細胞を不活化できれば自己血輸血に供することができると思われる。この目的には放射線照射が有用と思われるが、大がかりですべての病院において容易に実施できるものではない。紫外線照射により不活化が可能ではないか、また、その紫外線の発生源として発光ダイオードを用いることができれば、小型な装置となり、ほぼすべての病院で用いることが可能な方法ではないかと考えるに至った。

## 2. 研究の目的

(1) 物質表面への紫外線ランプ（主に波長253.7nm）による細菌の殺菌は実用化されている。水中への照射も殺菌に効果があるとされ水処理として応用され始めている。近年深紫外線の発光源として発光ダイオード（UVC-LED）の開発が進み、これを用いても、細菌、照葉細胞の不活化が可能であるか実験的検討をする。装置の小型化、操作性、耐用性などの向上が期待できることになる。  
(2) (1)が可能なとき、血液中への紫外線照射による紫外線の有用度、不活化の可能性を血液という混濁した液中での実験的検討。

## 3. 研究の方法

(1)生理食塩水に混在させた細菌にUVC-LEDにより発生させた紫外線を照射し、細菌の不活化が可能であるかを検討。  
①静止系（バッチ処理）における、紫外線波長による不活化率の違い。  
②静止系における、照射時間（照射量）による不活化率の違い。  
③静止系における、攪拌操作の有無による不活化率の違い。液層の厚さによる違い。  
④流動系における不活化率の違い。  
⑤光回復の検討

(2)血液中に混在させた細菌に対して、上記の(1)の各②から④の検討

(3)生理的食塩水に混在させた腫瘍細胞に対して、上記の(1)、(2)と同様の検討。

## 4. 研究成果

実験装置概要:UVC-LEDとして、米国 Sensor Electronic Technology 社の UVTOP HS 型を購入し実験に供した。

紫外線強度測定装置としては、残念ながら精度的に問題があると思われる装置の購

入とならざるをえなかったため、以下の報告の照射線量はかなりの誤差（誤差の程度の判断も困難）を含む可能性がある。これは、本研究がUVC-LEDが不活化の目的に応用可能かを調査する挑戦的萌芽研究であり、具体的な線量精度については後日の研究にゆだねることにして、購入可能な安価な測定器を選別したことによる。

(1)生理的食塩水に大腸菌（ATCC 25922）を1E7/ml程度の濃度に調整し、ピーク波長255、265、275、285、295nm（HB11nm）のLEDを用いて紫外線照射。

①、② 静止系における波長、照射量と不活化率の検討

波長(nm)、照射量(mWs/cm<sup>2</sup>)、不活化率(%)

照射量 波長	0.5	5	50	500
255	55	97	100	100
265	81	99	100	100
275	66	99	100	100
285	63	98	100	100
295	26	69	100	100

紫外線照射量は表面での測定強度と照射時間の積としている。水中の紫外線の透過率は波長により異なるため、細菌への実照射強度ではない。

UVC-LEDによる生理的食塩水中への照射で十分な不活化効果を期待できる。その効果が強い波長は260から290nmであり、これまでの一般的な報告と同じ結果となっている。

③275nmのLEDを用いて照射処理液量（液層の厚さ）、攪拌の有無による不活化率の検討

波長275nm 照射量(mWs/cm<sup>2</sup>) 不活化率(%)

照射量	層厚基本 攪拌なし	層厚10倍 攪拌なし	層厚10倍 攪拌あり
0.6	70.0	58.3	94.2
2	98.3	83.3	95.0
6	99.9%	99.3	99.8
20	99.99	99.9	99.99
60	100	100	99.9999
200	100	100	100

生理食塩水中を紫外線は良く透過すると考えられる。さらに攪拌することにより不活化率は上昇する。

#### ④流動系における不活化率の違い

その内径が1、2、4mmの3種の円柱石英管内を20、80、300ml/hの3種の流速で通過させ、円柱管の周辺より紫外線を照射した。照射量の測定がうまくできなかったため照射量を示せないが、すべてにおいて不活化率は100%であった。これは、バッチ処理ではなく流動系においても紫外線照射は十分に効果を示すことがわかった。

#### ⑤光回復の検討

紫外線照射後2時間、日中に直射日光の当たらない室内光下に静置し不活化率の違いを測定したところ、不活化率99.917%が光回復条件下では99.900%、また99.999%のものが99.998%とわずかに光回復現象を示したかと思われる結果であったが誤差内とも考えられる程度の差異であった。また、100%の不活化率の得られる紫外線照射量の条件下ではともに100%の不活化率のままで、光回復現象を認めなかった。

(2)②ヘマトクリット値を約30%に調整した血液中大腸菌(ATC 25922)を混入させ、静止系として275nmの紫外線を照射した。時間経過とともに赤血球は沈殿するが、攪拌操作せずに液上面から照射を続けた。

波長 275nm 照射量(mWs/cm<sup>2</sup>)、不活化率(%)

照射量	3	30	300	3000
不活化率	32	44	57	77

この実験では、照射量(時間)を増加させれば不活化率も増加した。

③実験途中に部分的な操作ミスがあったと思われる、結果に大きな矛盾を含んでいる部分があった。結果を示せないが、傾向としては攪拌操作により細菌と血液中の糖分などによる細菌の増殖機転が働くかと思われる、紫外線の照射が不十分な部分があれば細菌の増殖を生じ得ると考えられた。これは、本研究がもし実機として採用されるなら、紫外線が照射されていることを持続的に測定し照射量を確実に示す装置の付加が重要であることを示した。実験操作ミスの無いと考えられた結果は攪拌操作下の4000mWs/cm<sup>2</sup>照射で不活化率は99.9999%であった。

血液を希釈し、攪拌操作併用での実験結果では1%まで希釈すれば不活化率100%となった。

④Htを1%まで希釈したものは管径1、2、4mmすべてにおいて、4%に希釈したものは管径1mmのみ100%の不活化率を示したが、他は100%にはならなかった(0から99.999%)。

(3)腫瘍細胞としてHL-60とHeLa細胞を用いて不活化を検討した。

残念ながら、結果的に示せるものを得ることができなかった。紫外線照射により、腫瘍細胞が不活化はしているとは考えられるが、攪拌操作のみで腫瘍細胞が損傷を受ける可能性、あるいは空気中に存在させるだけでいわゆるコンタミを生じる可能性があり、紫外線照射しなかった細胞数も減少している部分を認め、その条件をさらに調整して再度の実験を計画するも成し遂げることができなかった。

今後の課題：腫瘍細胞についての研究があまりにも不十分になってしまったのが残念であるが、しかるべき設備、人員下に研究を続ければ腫瘍細胞の不活化を示せると考える。

紫外線の発生源として発光ダイオードは有望な選択肢となる。小型で熱管理もしやすい操作性に優れ、ランニングコストも安い細菌、腫瘍細胞の不活化装置が製作できる可能性を示した。

#### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

なし

[雑誌論文] (計 0 件)

なし

[学会発表] (計 0 件)

なし

[図書] (計 0 件)

なし

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

なし

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

出願年月日:

国内外の別:

○取得状況 (計◇件)

なし

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

取得年月日:

国内外の別:

[その他]

ホームページ等

なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

小島 修 (KOJIMA OSAMU)  
滋賀医科大学・医学部・非常勤講師  
研究者番号：00335176

(2) 研究分担者

葛川 顕子 (KUZUKAWA AKIKO)  
滋賀医科大学・医学部・助教  
研究者番号：90283572

(3) 連携研究者

( )

研究者番号：