

## 論文審査の要旨

筆頭著者（学位申請者）氏名

小山 亮太

主論文の題目

題目 Antimicrobial and Antibiofilm Effects of Ozonated Water for Prevention and Treatment of Bone and Joint Infections (骨、関節感染症予防と治療におけるオゾン水の抗菌力および抗バイオフィルム効果の検討)

および

掲載誌 Journal of St. Marianna University 2015 ; 6 (in press)

掲載・審査委員名

主査 肥塚 泉

副査 中島 秀喜

副査 岡田 智幸

[論文の要旨・価値] 化膿性骨髄炎は整形外科領域における代表的な感染症である。これに対しては、生食による持続洗浄療法は有用な治療方法であるが、起因菌がバイオフィルムを形成するとその効果には限界が生じ難治性となる。人工関節置換術などの手術部位感染の原因菌については、メチシリン耐性黄色ブドウ球菌 (MRSA)、メチシリン耐性表皮ブドウ球菌 (MRSE) の割合が増加している。生食による術野の洗浄が感染の予防に有用であるが、これを繰り返しても閉創前には術野から 6.3% の症例で細菌が証明されたとの報告がある。生食に代わる洗浄液の開発が必要と考えられる。オゾン水は強力な抗菌力を有している。オゾン水の抗菌力、バイオフィルムに対する効果、バイオフィルム破壊処理後にオゾン水を加えた際の相乗効果について検討を加えた。表皮ブドウ球菌 (SE4、SE21)、メチシリン感受性黄色ブドウ球菌 (MS3、MS18、SH1000)、MRSA (MR10、MR11、MR23) の 8 菌株を用いた。オゾン水はオゾン水発生装置を用いて生成した (濃度: 7mg/L)。各菌浮遊液にオゾン水を加えて 1 時間、室温で静置した。次に、バイオフィルムを形成させた後、バイオフィルム破壊前後に同様の操作を加えた。統計には t 検定、Two-Way ANOVA、Tukey's honestly significant difference test を用いた。オゾン水の抗菌力については、投与前の生菌数は  $10^8 \sim 10^9$  Colony-forming units (CFU)/mL、投与後は  $10^3 \sim 10^4$  CFU/mL と有意に減少した ( $p < 0.05$ )。バイオフィルム形成菌についても、投与前の生菌数は  $10^6 \sim 10^8$  CFU/mL、投与後は  $10^3 \sim 10^6$  CFU/mL と有意に減少した ( $p < 0.001$ )。オゾン水とバイオフィルム破壊処置の相乗効果については、細菌 8 株中 2 株 (SE21、MR23) で生菌数の減少を認めたが、proteinase K および trypsin でバイオフィルムを破壊した MR23 において有意な減少を認めた ( $p < 0.05$ )。MR23 のバイオフィルム形成には豊富な蛋白質が構成成分として含まれており、蛋白分解酵素で破壊されることが知られている。菌種によってはバイオフィルム破壊処置とオゾン水の併用により抗菌力が増強することが示唆された。本論文は、難治性 (慢性) 骨髄炎の治療、術野の消毒におけるオゾン水使用の可能性を示した点で高い価値を有しており、学位にふさわしいと判断した。

[審査概要] 平成 27 年 2 月 19 日、主査、副査、陪席者 2 名の出席のもと、PC による約 30 分間のプレゼンテーションの後、約 40 分間の質疑応答が行われた。手術部位感染の原因菌の一つである MRSE を今回使わなかった理由、オゾン水の濃度設定の根拠、1 時間という暴露時間設定の根拠、オゾン水を生体に使用した場合の毒性の有無、コントロールは生食で良いのかなど、多数の質問がなされた。これらの質問に対して、回答に窮する場面も見られたが、概ね的確な回答が得られた。

## 最終試験結果の要旨

[研究能力・専門的学識・外国語 (英語) 試験等の評価] 研究のほとんどは申請者によって行われ、研究の目的、方法、結果の解析法についても良く理解しているおり、研究能力は高い。専門的学識についても十分である。英語能力は申請者の引用論文の Introduction の一部をその場で和訳してもらって確認した。以上の審査を踏まえ、申請者は能力・人物ともに学位に値すると判断した。