

展望

バイオフィルムの形成と金属材料表面-7

金属の抗菌性とバイオフィルム Biofilms and Antibacterial Effect of Metals

佐藤嘉洋
Yoshihiro Sato

大阪市立大学 大学院工学研究科
機械物理系専攻 教授

1 はじめに

読者諸氏の中にも Fig.1 に示すマークを見かけた方も多いのではないでしょうか。筆者は、日常生活をあまり注意深く送っていないせいか気付かなかったのですが、言われて見ると結構あちこちにこのマークがあることに気がきます。この SIAA マークは、抗菌製品技術協議会の定めるガイドラインを満たす製品等に対して製造者が自己責任で表示するマークで、Self-Imposed Authorization for Antimicrobial-article (抗菌製品の自己認証) の略称です。抗菌製品技術協議会は、それまでにあった無機系抗菌剤メーカー等の集まりから発展し 1998 年に発足した団体で、SIAA マーク制度は 1999 年から実施されているようです。2000 年には JIS に抗菌加工製品—抗菌性試験方法・抗菌効果¹⁾ (JIS Z 2801) が制定され、現在では JIS 適合 SIAA マークが表示されるようになっており、いずれにしても比較的新顔のロゴマークです。

抗菌製品などと言うと、「最近の日本人の清潔志向も度が過ぎる」等とお叱りの声も聞こえそうですが、通商産業省(現経済産業省)の 1998 年の『生活関連新機能加工製品懇談会報告書』の中にも「近年、消費者の間で清潔志向や安全志向が高まり、それに伴い抗菌加工製品の市場は拡大している。」「そもそも日本人は、他の国と比較して清潔・安全志

向が高い傾向にある。」などと記されているように、我々が清潔や安全にかなりセンシティブであることは確かなようです。しかし、一時は身の回りの製品に「抗菌」「抗菌」が溢れていた時期もありましたが、そのブームも去り、最近では必要な部分に必要な抗菌機能が施されてきているように感じます。JIS¹⁾の定義によれば、抗菌とは「製品の表面における細菌の増殖を抑制する状態」であり、微生物を完全に死滅させる「滅菌」や「殺菌」とは区別して使われており、その理解も普及しつつあるように思われます。抗菌加工製品としては、台所用品、洗面台、便器、家電製品や建材等に多く(筆者も洗面台で初めて SIAA マークを発見した。)、抗菌加工製品の数は年々増加しています。この他に、繊維製品にも抗菌・防臭、制菌加工製品が多いようです。繊維製品の場合には、第二次世界大戦中にドイツで軍服の衛生加工処理が研究されており、その歴史も古いようです。我が国では現在、繊維評価技術協議会が認証する SKE マークが抗菌・制菌加工製品に付されています。このように抗菌加工は、プラスチック、セラミックスおよび繊維等に施される場合が圧倒的に多く、金属製品には少ないのが実情です。

それでは金属製品に抗菌は必要ないのでしょうか。近年、金属の腐食に微生物が関与または腐食を促進させることが認識されるようになってきました。この微生物腐食 (Microbially Influenced Corrosion: MIC 等と称する場合もある。詳しくは本シリーズ第 3 回²⁾「金属材料におよぼすバイオフィルムの影響—微生物腐食—」を参照されたい。)による工場施設・工業製品の金属材料の損失は甚大であり、年間 30～50 億ドルにのぼるとの試算³⁾もあります。また、食品工場の生産設備において洗浄が難しい場所で微生物が大量に繁殖し、食品製造機能が失われてしまう場合もあります。このような微生物の影響が懸念される場合には大量の殺菌剤が使用されるのが通常であり、殺菌剤の大量投与・廃棄による生態系への悪影響も心配されています。このような背景の下で日本では、



Fig.1 抗菌製品技術協議会による抗菌製品の自己認証ロゴマーク

金属材料の抗菌機能化の研究⁴⁾に対する関心が高くなりつつあります。金属材料に抗菌機能を付与することができれば、上記の問題の幾らかは解決できるのではないのでしょうか。本稿では、金属材料の抗菌特性と金属材料表面で微生物が繁殖し形成されるバイオフィームについて述べることにします。

2 金属材料の抗菌性

金属元素の幾つかは人体に必須であることはよく知られていますが、ヒ素やカドミウムのように害毒を及ぼす金属元素も多く、量が多くなればかなりの金属元素が有害であるとの見解⁵⁾もあります。このような金属元素の中で微生物には有害であるが、人体には比較的害の少ない金属として銀、銅、亜鉛等が古くから知られています。特に、銀は無機系抗菌剤の主剤として用いられており、銅や亜鉛等が副剤として添加されている場合が多いようです。無機系抗菌剤はゼオライト、シリカゲルあるいはガラス等の担体にこれらの金属を担持させた製品⁶⁾が多く、微粒子粉末や針状結晶として市販されています。「銀入り」等と書かれたスプレーや抗菌製品には、このような抗菌剤が添加されているようです。また、日本では銀や銅を添加した抗菌性ステンレス鋼等も開発されてきています。しかし、これらの製品の抗菌作用については、いまだよく解っていない部分も多くあるようです。銀の抗菌作用については、幾つかのメカニズムが提案⁷⁾されており、1) 銀の触媒作用により空気中または水中の酸素が活性酸素になり、微生物に損傷を与える、2) 微量の銀イオンが微生物の細胞表面や内部でタンパク質や酵素等と反応し各種障害を引き起こし、微生物に損傷を与える、等のように考えられています。しかし、抗菌剤として利用されている金属はごく一部であり、多くの金属の抗菌性はいまだ明らかになっておりません。これは統一した抗菌性試験方法がJIS¹⁾として定められたのが最近であり、これから評価が本格的に行われることも一因と考えられます。

一般に抗菌性の試験方法には、フィルム密着法、滴下法およびシェイク法等があります。フィルム密着法および滴下法は、調整した菌液を一定時間試料表面に接触させて評価する方法であり、試験時間中に菌液にフィルムを被せるのがフィルム密着法です。シェイク法は、試料を菌液中に浸漬して一定時間振とうする方法です。JIS¹⁾では試験結果の再現性、試験操作の簡便性等を考慮して、フィルム密着法により試験することが定められています。シェイク法については、試験方法の原理が製品の使用法とかけ離れている、等の理由のため採用されなかったようです。

JIS¹⁾のフィルム密着法に基づいて、宮野らは、チタン、コバルト、ニッケル等の9種類の純金属の抗菌性を評価⁸⁾し

ています。Fig.2に、この結果を示します。Fig.2 (a) は黄色ブドウ球菌 (*Staphylococcus aureus*)、Fig.2 (b) は大腸菌 (*Escherichia coli*) に対する抗菌性試験結果です。JISではこの2種類の性質の異なる微生物に対して試験することになっています。この結果を見ると、Fig.2 (a) の黄色ブドウ球菌の場合には縦軸に示す生菌数がチタンとスズでは対照 (Control) とほぼ同数であり、抗菌性が認められない。他のコバルト、ニッケル、銅、亜鉛、ジルコニウム、モリブデンおよび鉛では、生菌数が対照に比べて2桁以上減少しており抗菌性があると判定されます。JISでは試験片上の菌液の24時間後の生菌数が対照に比べて2桁以上減少、すなわち生菌の99%以上が死滅する場合を抗菌性ありと判定します。Fig.2 (b) の大腸菌では、スズ以外の金属は抗菌性があると判定されます。チタンは黄色ブドウ球菌に対しては抗菌性が無く、大腸菌に対しては抗菌性があることになります。これについては、2種類の微生物の細胞表層構造の違いにより説明されています。

JISでは試験開始24時間後の生菌数の変化により抗菌性の有無を判定しますが、これでは24時間以内での生菌数の変化がわからないので、抗菌性が認められる7種類の金属について24時間以内での黄色ブドウ球菌に対する生菌数を調べた結果⁸⁾をFig.3に示します。抗菌性が認められる金属でも生菌数の減少挙動は異なり、鉛や銅の場合には極短時間で生

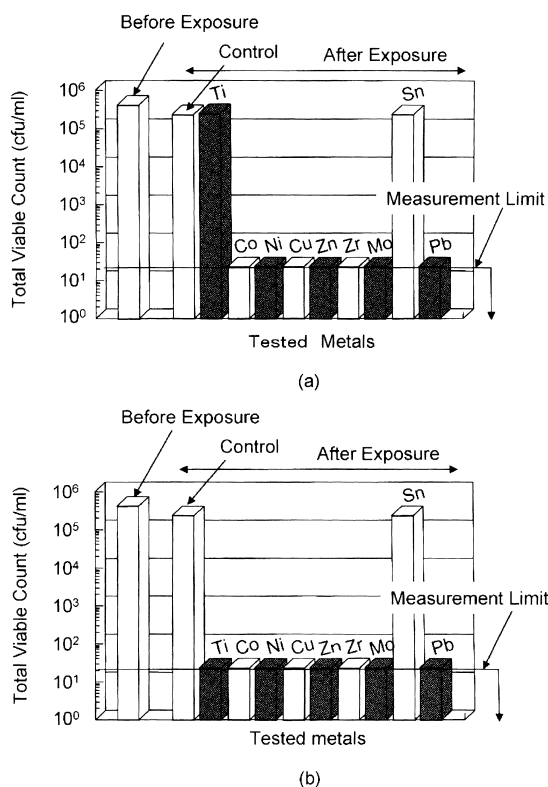


Fig.2 フィルム密着法試験による各種金属の抗菌性評価結果⁸⁾
(a) 試験菌：黄色ブドウ球菌 (*Staphylococcus aureus*)
(b) 試験菌：大腸菌 (*Escherichia coli*)

菌が急激に減少するのに対し、モリブデンやジルコニウムでは比較的緩やかに減少しています。この減少速度を各金属の殺菌性能の指標と考えて減少速度を直線近似して、生菌数が1/10になる時間をD値 (Decimal Reduction Value) として示したのがFig.4です。鉛や銅はD値が小さく抗菌性の高い材料と考えられ、モリブデンやジルコニウムではD値が大きく比較的抗菌性が低いと考えられます。

Fig.5は、JIS法により試験した後の黄色ブドウ球菌を透過型電子顕微鏡 (TEM) で観察した結果⁸⁾です。Fig.5 (a) は、対照のものであり、球状で細胞膜は2重の明瞭な輪郭が確認されます。細胞の中央部には核が鮮明に確認され、原形質が細胞膜内部に均一に分布しており、正常な状態の細胞の外観と判断されます。Fig.5 (b) は、抗菌性が確認されないスズの観察結果です。外観は対照のものと同様です。Fig.5 (c) に銅、Fig.5 (d) に亜鉛、Fig.5 (e) に鉛の結果を示します。これらは、いずれも抗菌性が確認された金属です。銅ではFig.5 (c) (i) のように、外観はほぼ球状の形状が維持されていますが、原形質には白い領域が確認され、Fig.5 (c) (ii) に見られるように、細胞膜を形成する輪郭線が不明瞭であり、原形質も不均一な分布を示しています。亜鉛では、Fig.5 (d) (i) のように、形状が崩壊している細胞が一部で

確認されます。Fig.5 (d) (iii) の矢印は、細胞膜の構造が破壊し、原形質が外部に漏れ出している部分を示しています。鉛では、Fig.5 (e) (i) のように、形状が崩壊している細胞が一部で確認され、Fig.5 (e) (ii) やFig.5 (iii) では原形質が白変し核の存在が不鮮明になっており、矢印で示す箇所では原形質に斑点状の黒い組織が観察され、細胞膜の輪郭線が不鮮明になっている様子が観察されます。このように、微生物を抗菌性がある金属とそうでない金属に接触させることにより、細胞に及ぼす影響が異なることは興味ある結果であり、抗菌作用の解明に役立つものと考えられます。

3 金属表面のバイオフィルム

バイオフィルムと言われても直感的にピンとこないし、風呂場や流しの「ヌルヌル」だと言われれば感覚的には解ったような気もしますがなかなか解り難いシロモノです。我々の身の回りでの環境では、水と接する材料表面に各種の物質が吸着しており、このような表面に微生物が付着し、増殖過程で細胞外多糖を生産して自らの生活環境を整えます。ここに多様な微生物が高密度に棲息して発達しているのがバイオフィルムであり、フィルムと言っても薄っぺらなものではなく、かなりしっかりとした3次元的構造を有するものであるようです。(詳しくは本シリーズ第1回⁹⁾「バイオフィルム理

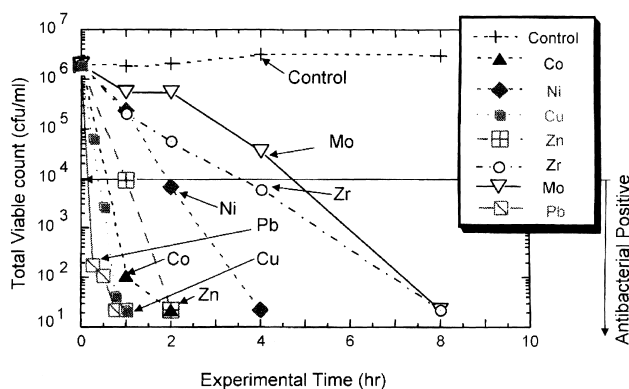


Fig.3 フィルム密着法試験による24時間以内の生菌数変化⁸⁾
試験菌：黄色ブドウ球菌 (*Staphylococcus aureus*)

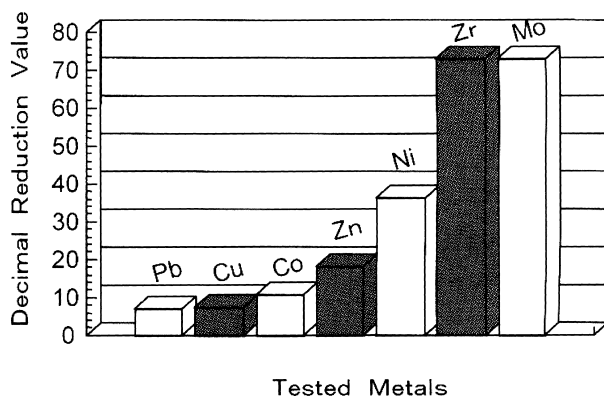


Fig.4 フィルム密着法試験により生菌数が1/10になる時間⁸⁾：D値 (Decimal Reduction Value)

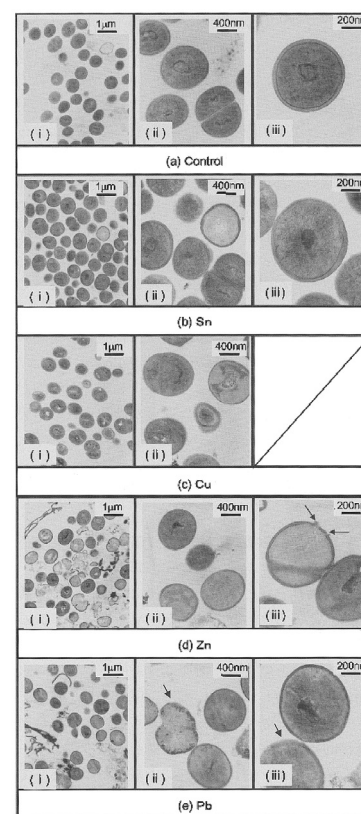


Fig.5 各種金属のフィルム密着法試験後の黄色ブドウ球菌のTEM像⁸⁾

解の三要素」を参照されたい。)

金属材料を腐食させる微生物腐食や配管内等で病原性の微生物が増殖して害を及ぼす場合にも、金属表面にバイオフィームが生成・発達することが条件になります。このため、金属表面に生成するバイオフィームについて十分に検討することが重要になります。

抗菌性のある材料と無い材料とで微生物の付着やバイオフィームの生成・発達に違いがあるのか興味ある処ですが、これらの点について幾つかの報告^{10,11)}があります。銀や銅を添加して抗菌化したステンレス鋼と通常のステンレス鋼を微生物を培養した菌液中に浸漬した後、表面を観察すると通常のステンレス鋼には全面にバイオフィームが生成・発達しているのに対して抗菌化ステンレス鋼では菌の付着が観察されるもののバイオフィームの生成・発達が著しく抑制された実験結果が、本シリーズ第2回¹⁰⁾「金属材料におけるバイオフィーム研究の重要性」の写真8に掲載されています。また、フィールド実験として抗菌化ステンレス鋼と通常のステンレス鋼を池の中の水深0.5 mの位置に28日間浸漬して表面を観察した結果¹¹⁾をFig.6に示します。通常の304型ステンレス鋼(304と表示)では表面に珪藻類、細菌類およびその他の付着物が多数観察されるのに対して、銀コーティングステンレス鋼(BCと表示)および銀を0.039 mass %添加した銀

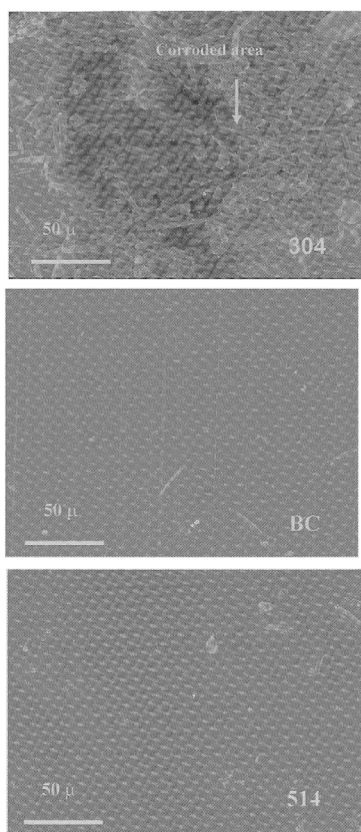


Fig.6 池の中に28日間浸漬した後の抗菌化ステンレス鋼(銀コーティングステンレス鋼(BC)と銀添加ステンレス鋼(514))と通常ステンレス鋼の表面¹¹⁾

添加ステンレス鋼(514と表示)表面には、それらがほとんど観察されていません。この結果を定量化して示したのがFig.7¹¹⁾です。この他にも、日常環境において抗菌化ステンレス鋼への微生物付着やバイオフィーム生成・発達の抑制効果が試験^{12,13)}されています。Fig.8は、100人規模の給食製造設備における厨房内調理台脚部の細菌数の変化を1年間に亘り調べた結果¹²⁾です。Fig.8(a)は通常の304型ステンレス鋼脚部の結果であり、Fig.8(b)は抗菌メッキを施したステンレス鋼脚部の結果です。抗菌処理を施すことにより、細菌数が1/10以下に減少しており、優れた抗菌効果を発揮す

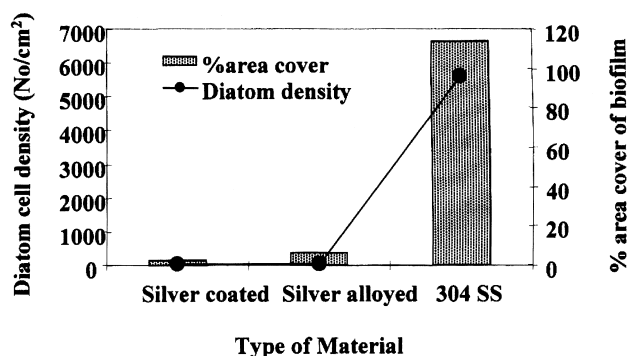


Fig.7 池に浸漬した銀コーティングステンレス鋼、銀添加ステンレス鋼および通常ステンレス鋼の表面の付着微生物密度の比較¹¹⁾

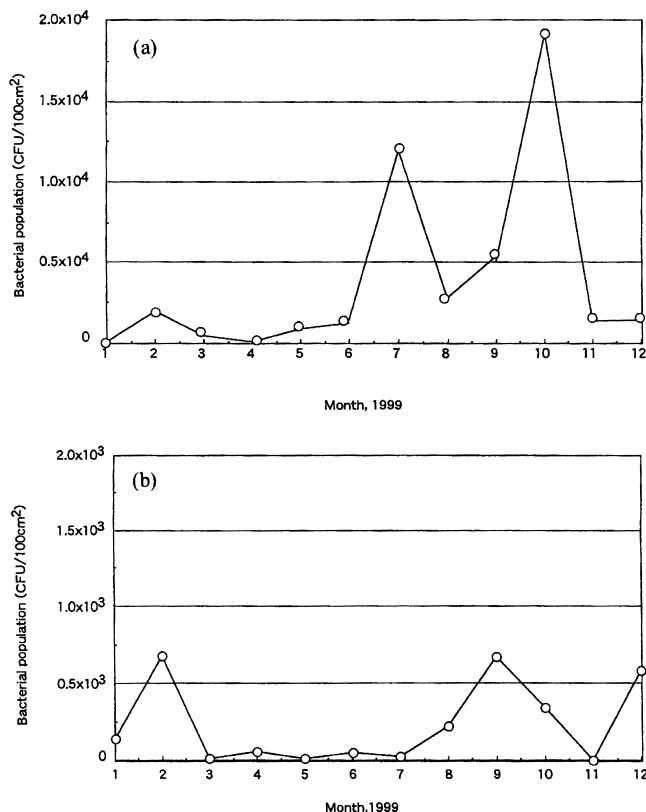


Fig.8 通常ステンレス鋼と抗菌化ステンレス鋼における細菌付着数の年間比較¹²⁾
(a) 304型ステンレス鋼
(b) 抗菌メッキ処理ステンレス鋼

ると報告されています。

このように材料の抗菌化は、微生物の付着やバイオフィームの生成・発達の抑制に一定以上の効果があると考えられます。しかし、この抑制作用も時間経過とともに低下するという指摘や初期付着にはあまり関係しないがバイオフィームの発達に影響を及ぼすとの考えもあるようです。いずれも今後の検討課題と考えられます。

4 まとめ

金属材料研究において抗菌性やバイオフィームは、新しい切り口ではないでしょうか。微生物などというと、我々材料学の研究者には何か取っ付き難い印象を与えますが、生物系の研究者にとっても金属材料などは親しめないシロモノのようです。しかし、この分野の研究は、材料学にとっても生物学にとっても重要な研究分野になっていくことであり、しなければならぬと考えます。Fig.9は、微生物の初期付着が溶接部の母材よりも溶接金属に多いことを示した写真¹⁴⁾ですが、同時にこの付着微生物が結晶粒界に多いことを示しています。こうなってくると、材料系の研究者が出て行かないわけにはいかないし、生物系の研究者と協力しないわけにはいかないと考えます。

また、金属材料の抗菌機能化は、材料の適用範囲に大きな広がりを持つ可能性を秘めています。小さいものでは、例えば歯科用材料の抗菌機能化が考えられますし、大きなものでは微生物腐食軽減の観点からダムの水門、水処理施設や工場施設の配管等における構造材料の抗菌機能化が考えられま

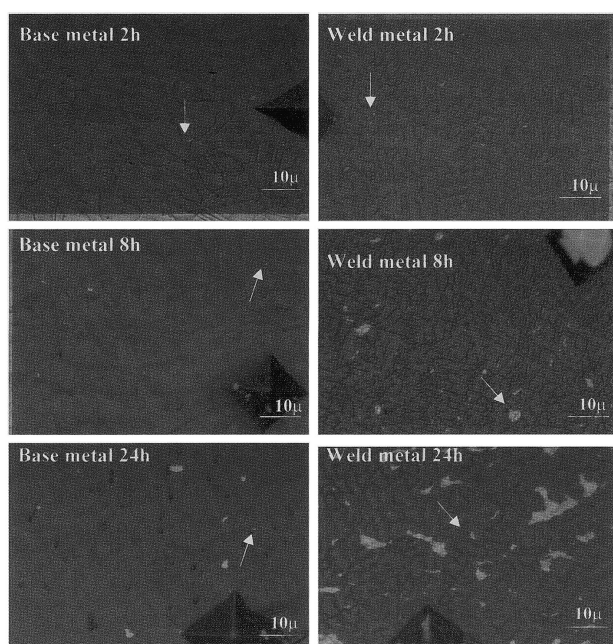


Fig.9 溶接部への微生物付着挙動¹⁴⁾
試験菌：シュードモナス菌 (*Pseudomonas sp*)

す。しかも金属材料の抗菌機能化という視点では、日本が世界をリードしている分野の一つでもあります。日本の材料学研究のパワーと生物系研究者がタッグを組めば、「抗菌機能化金属材料」という日本発の世界ブランドを創り上げることも夢ではないと信じます。今後、日本が環境分野の技術で世界に貢献する場合にも金属材料の抗菌機能化は一つの大きなツールになるだろうと考えます。

日本鉄鋼協会でもこの分野の研究の重要性を認識して頂き、幸にも本年4月から「バイオフィームと鉄鋼材料との相互作用 (Interaction of Biofilm with Steel materials)」研究会 (主査：佐藤嘉洋 (大阪市立大学)、委員22名) を鉄鋼関連探索型 (C型) としてお認め頂き活動を開始しております。少しでもご関心をお持ちの皆様の参加をお願い致しますとともに、読者諸氏のご支援をお願い申し上げます。金属材料の抗菌機能化の研究は、緒に就いたばかりです。再三になりますが、今後この分野の研究が、色々な研究分野の方々の熱意と協力により発展することを望みます。

参考文献

- 1) JIS Z 2801, 抗菌加工製品—抗菌性試験方法・抗菌効果 (2000)
- 2) 天谷尚：ふえらむ, 12 (2007) 6, 347.
- 3) D. W. Walsh : Corrosion 99, NACE International, Houston, (1999), Paper No.188.
- 4) K. R. Sreekmari, Y. Sato and Y. Kikuchi : Mate. Trans., 46 (2005) 7, 1636.
- 5) 山本玲子：まてりあ, 43 (2004) 8, 639.
- 6) 誰でもわかる抗菌の基礎知識, 西村民雄監修, テクノシステム, 東京, (1999), 143.
- 7) 横田毅, 枳原美佐子, 高尾研治, 佐藤進, 山下英明：まてりあ, 40 (2001) 1, 85.
- 8) 宮野泰征, 小山訓裕, K. R. スリクマリー, 佐藤嘉洋, 菊地靖志：鉄と鋼, 93 (2007) 1, 57.
- 9) 森崎久雄：ふえらむ, 12 (2007) 4, 191.
- 10) 菊地靖志：ふえらむ, 12 (2007) 5, 275.
- 11) K. R. Sreekmari, K. Nandakumar, K. Takao and Y. Kikuchi : ISIJ Int., 43 (2003) 11, 1799.
- 12) 山田貞子, 漆原亘, 中山武典：防菌防黴, 29 (2001) 12, 763.
- 13) 鈴木聡, 塩川光一郎, 平松直人：防菌防黴, 29 (2001) 7, 433.
- 14) K. R. Sreekmari, K. Nandakumar and Y. Kikuchi : Biofouling, 17 (2001) 3, 303.

(2007年6月29日受付)