

学 位 論 文 要 旨

氏名 清水 孝恵

題 目 : Studies on Pharmacokinetic and Pharmacodynamic Parameters of Orbifloxacin in Canine Urinary Tract Infections

(犬の尿路感染症におけるオルビフロキサシンの薬物動態学 - 薬力学パラメーターに関する研究)

論文要旨 :

尿路感染症 (UTI) は犬の代表的な細菌感染症である。主な原因菌は *Escherichia coli* であり、その他 *Staphylococcus* 属、*Proteus* 属、*Klebsiella* 属、*Pseudomonas* 属菌などが挙げられる。一般に、本疾患に対しては抗菌剤療法が必要とされ、中でもフルオロキノロン剤は第二次選択薬として本疾患の治療に使用されている。しかし、近年では本剤の使用によっても難治性となる犬 UTI 症例が多くなってきており、伴侶動物臨床で大きな問題となっている。人医療分野では適正な抗菌治療を実施する上で、薬物動態学 - 薬力学 (PK/PD) パラメーターが活用されている。しかし、獣医領域においては、UTI における PK/PD パラメーターは未だ十分に明らかとされていない。本研究は、動物用フルオロキノロン剤の一つであるオルビフロキサシン (OBFX) の UTI に関わる PK/PD パラメーター (尿中殺菌価 (UBT)、最小バイオフィルム撲滅濃度 (MBEC) 及び耐性変異株出現阻止濃度 (MPC)) を明らかとすることを目的に実施された。

第1章では、OBFX を投与した犬における尿中の薬剤濃度と殺菌活性を経時的に測定した。健康犬6頭に OBFX を経口投与し、4時間ごとに24時間後まで膀胱内の蓄尿を採取した。採取した尿を用いて、液体クロマトグラフィー質量分析法により OBFX 濃度を測定し、尿中動態を調べた。また、犬 UTI 由来の *Escherichia coli*、*Staphylococcus pseudintermedius*、*Pseudomonas aeruginosa*、*Klebsiella pneumoniae* 及び *Proteus mirabilis* に対する UBT を測定した。その結果、尿中 OBFX 濃度は投与後 0-4 又は 4-8 時間後に最大となった後に減少し、血中動態と比較して顕著に高濃度 (約 100 倍) を示し、かつ緩やかな減少を示した。また、UBT は全ての供試菌株で尿中 OBFX 濃度と同様の推移を示すとともに、最小発育阻止濃度 (MIC) が高いほど UBT が低くなる傾向がみられた。さらに、人工培地と尿中での最小殺菌濃度を比較したところ、尿中では人工培地と比較して 2-11 倍殺菌力が低下していた。以上のことから、OBFX の尿中動態は血中動態と大きく異なること、尿中殺菌活性は尿中薬物濃度及び菌の感受性に依存するとともに尿の性状により影響を受けることが示唆された。

第2章では、犬 UTI 由来の *E. coli*、*S. pseudintermedius*、*P. aeruginosa*、*K. pneumoniae* 及び *P. mirabilis* に対する OBFX の MBEC を測定した。結果として、全て菌種において 24 時間暴露による MBEC は MIC に比較し有意に高い値となったが、*P. aeruginosa* 以外の 4 菌種において、長期 (72 又は 168 時間) の薬剤暴露に伴い感受性レベルまで低下し、*P. aeruginosa* のみ長期暴露によっても高い

(別紙様式第 3 号)

MBEC が維持された。また、*E. coli* に対してはアモキシシリン・クラバン酸 (ACV) およびトリメトプリム・スルファメトキサゾール (TMS) の MBEC も併せて測定した結果、MBEC が感受性レベルまで低下する時間は OBFX では 72 時間であるのに対し、ACV 及び TMS では 168 時間を要した。以上のことから、OBFX の MBEC は MIC と比較して顕著に高値を示すが OBFX の長期暴露によりバイオフィルムの撲滅が可能である可能性があること、さらにバイオフィルムの撲滅効果は菌種により影響を受けることが示唆された。

第 3 章では、犬 UTI 由来の *E. coli*、*S. pseudintermedius* 及び *P. aeruginosa* を用いて、OBFX 耐性株の出現に関するパラメーターである MPC を測定した。また、OBFX 暴露によって出現した耐性変異株の耐性機構を調査した。その結果、全ての菌種において、親株の MIC が高いほど高い MPC を示し、両者の相関関係が認められた。菌種別比較では、*E. coli* の MPC は *P. aeruginosa* のそれと比較して有意に低く、*S. pseudintermedius* の MPC は他 2 菌種と有意な差は認められなかった。また、*S. pseudintermedius* ではキノロン耐性決定領域 (QRDR) 変異、*P. aeruginosa* では薬剤排出ポンプの過剰発現、*E. coli* では QRDR 変異と薬剤排出ポンプの過剰発現の両方が主要な耐性機構であった。結果としてこの耐性機構の違いが菌種間の MPC に差を生じさせる要因の一つであると考えられた。

本研究の結果から、OBFX の尿中動態は血中動態と大きく異なること、尿中での殺菌活性は人工培地中のそれと比較して低下することが明らかとなった。従って、血中動態や人工培地を用いた結果を考慮した従来の抗菌薬の有効性評価は、犬 UTI の抗菌治療に必ずしも活用できない可能性が示唆された。さらに、OBFX の UTI に関連する PK/PD パラメーター、特に MBEC 及び MPC は、原因菌や菌種の影響を大きく受けることが明らかとなった。従って、OBFX の犬 UTI に対する最適な投与方法は、菌種別に検討されることが望ましいと思われる。今後、犬 UTI における OBFX の UTI 関連 PK/PD パラメーターと臨床的有効性との関連性を明らかにする調査が求められる。

(和文 2,000 字又は英文 800 語程度)

学位論文審査の結果の要旨

氏名	清水 孝忠
審査委員	主査：鳥取大学 准教授 原田 和記
	副査：鳥取大学 教授 村瀬 敏之
	副査：鹿児島大学 教授 帆保 誠二
	副査：鳥取大学 教授 日笠 喜朗
	副査：鳥取大学 教授 竹内 崇
題目	Studies on Pharmacokinetic and Pharmacodynamic Parameters of Orbifloxacin in Canine Urinary Tract Infections (犬の尿路感染症におけるオルビフロキサシンの薬物動態学 - 薬力学パラメーターに関する研究)
<p>審査結果の要旨：</p> <p>尿路感染症 (UTI) は犬の代表的な細菌感染症である。主な原因菌は <i>Escherichia coli</i> であり、その他 <i>Staphylococcus</i> 属、<i>Proteus</i> 属、<i>Klebsiella</i> 属、<i>Pseudomonas</i> 属菌などが挙げられる。一般に、本疾患に対しては抗菌療法が必要とされ、中でもフルオロキノロン剤は第二次選択薬として使用されている。しかし、近年では本剤の使用によっても難治性となる犬 UTI 症例が多くなってきており、伴侶動物臨床で大きな問題となっている。人医療分野では適正な抗菌治療を実施する上で、薬物動態学 - 薬力学 (PK/PD) パラメーターが活用されている。しかし、獣医領域においては、犬 UTI における PK/PD パラメーターは未だ十分に明らかとされていない。本研究は、動物用フルオロキノロン剤の一つであるオルビフロキサシン (OBFX) の UTI に関わる PK/PD パラメーター (尿中殺菌価 (UBT)、最小バイオフィーム撲滅濃度 (MBEC) 及び耐性変異株出現阻止濃度 (MPC)) を明らかとすることを目的に実施された。</p> <p>第 1 章では、OBFX を投与した犬における尿中の薬剤濃度と殺菌活性を経時的に測定した。健康犬 6 頭に OBFX を経口投与し、4 時間ごとに 24 時間後まで膀胱内の蓄尿を採取した。採取した尿を用いて、液体クロマトグラフィー質量分析法により OBFX 濃度を測定し、尿中動態を調査した。また、犬 UTI 由来病原菌の主要な 5 菌種に対する UBT を測定した。その結果、尿中 OBFX 濃度は投与後 0-4 又は 4-8 時間後に最大となり、血中動態と比較して顕著に高濃度 (約 100 倍) を示した後に、緩やかな減少を示した。また、UBT は全ての供試菌株で尿中 OBFX 濃度と同様の推移を示すとともに、最小発育阻止濃度 (MIC) が高いほど UBT が低くなる傾向がみられた。さらに、人工培地と尿中での最小殺菌濃度を比較したところ、尿中では人工培地と比較して 2-11 倍殺菌力が低下していた。以上のことから、OBFX の尿中動態は血中動態と</p>	

(別紙様式第 10 号)

大きく異なること、OBFX の尿中殺菌活性は尿中薬物濃度及び菌の感受性に依存するとともに尿の性状により影響を受けることが示唆された。

第 2 章では、犬 UTI 由来の *E. coli*、*S. pseudintermedius*、*P. aeruginosa*、*K. pneumoniae* 及び *P. mirabilis* に対する OBFX の MBEC を測定した。結果として、全ての菌種において 24 時間暴露による MBEC は MIC に比較し有意に高い値となったが、*P. aeruginosa* 以外の 4 菌種において、長期 (72 又は 168 時間) の薬剤暴露に伴い感受性レベルまで低下し、*P. aeruginosa* のみ長期暴露によっても高い MBEC が維持された。また、*E. coli* に対してはアモキシシリン・クラバン酸 (ACV) およびトリメトプリム・スルファメトキサゾール (TMS) の MBEC も併せて測定した結果、MBEC が感受性レベルまで低下する時間は OBFX では 72 時間であるのに対し、ACV 及び TMS では 168 時間を要した。以上のことから、OBFX の MBEC は MIC と比較して顕著に高値を示すが長期暴露によりバイオフィルムの撲滅が促進されること、さらにバイオフィルムの撲滅効果は菌種により異なることが示唆された。

第 3 章では、犬 UTI 由来の *E. coli*、*S. pseudintermedius* 及び *P. aeruginosa* を用いて、OBFX の MPC を測定するとともに、出現した耐性変異株の耐性機構を調査した。その結果、全ての菌種において、親株の MIC が高いほど高い MPC を示し、両者の相関関係が認められた。菌種別比較では、*E. coli* の MPC は *P. aeruginosa* のそれと比較して有意に低く、*S. pseudintermedius* の MPC は他 2 菌種と有意な差は認められなかった。また、*S. pseudintermedius* ではキノロン耐性決定領域 (QRDR) 変異、*P. aeruginosa* では薬剤排出ポンプの過剰発現、*E. coli* では QRDR 変異と薬剤排出ポンプの過剰発現の両方が主要な耐性機構であった。結果としてこの耐性機構の違いが菌種間の MPC に差を生じさせる要因の一つであると考えられた。

本研究の結果から、OBFX の尿中動態は血中動態と大きく異なること、尿中での殺菌活性は人工培地中のそれと比較して低下することが明らかとなった。さらに、OBFX の UTI に関連する PK/PD パラメーター、特に MBEC 及び MPC は、原因菌や菌種の影響を大きく受けることが明らかとなった。以上の結果は、フルオロキノロン剤による犬 UTI 治療戦略において重要な知見であると考えられる。

以上より、本論文は博士 (獣医学) の学位論文に相応しい価値があると認める。