

学位論文要旨

氏名 藏前 哲郎

題 目：重症慢性肺炎罹患牛の気管支肺胞洗浄液からの細菌分離と薬剤感受性ならびに抗菌薬の気管支肺胞領域における薬物動態に関する研究

論文要旨：牛の呼吸器病症候群（Bovine Respiratory Disease Complex：BRDC）は、ウイルスや細菌（マイコプラズマ属細菌を含む）をはじめとした病原性微生物の感染や、様々な外的要因（飼養環境の変化、給与飼料の変化、離乳、除角、牛の集合及び離散）が、体内の浄化機構を低下させたり、免疫機構の攪乱を引き起こしたりした結果、ウイルスや鼻咽頭部に存在する細菌が気管支肺胞領域へ侵入、感染することによって発症するとされている。

牛肺炎の抗菌薬療法においては、臨床経験に基づく知見や鼻咽頭スワブ（Nasopharyngeal swab：Swab）を用いた細菌分離検査結果により得られた情報により抗菌薬が選択されたされることが多い。しかし健康子牛の気道においても、鼻腔領域、咽頭領域及び気管には様々な細菌が恒常的に存在することは一般的には知られている。肺炎罹患牛の Swab を用いた細菌分離検査により細菌が、肺炎罹患領域の情報を正確に反映しているかは疑問である。

一方、気管支肺胞洗浄（Bronchoalveolar lavage：BAL）は、気管支肺胞領域の様々な情報をダイレクトに得る手法として人医療、馬医療及び小動物医療において実施されている。特に馬医療においては、肺炎原因菌の特定に留まらず肺炎の治療を目的とした BAL が臨床応用され、良好な臨床成績をあげている。しかし、馬以外の大動物の BAL に関する報告は極めて少ないため、同一牛の鼻咽頭領域内及び気管支肺胞領域内からの細菌分離に関する情報は殆ど見あたらない。

本研究では、臨床的に重症慢性肺炎と診断された黒毛和種牛 50 頭から Swab 及び気管支肺胞洗浄液（BALF）を採取し、細菌分離とともに、その薬剤感受性を調査した。Swab 及び BALF からは主に *Mycoplasma bovis* 及び *Pasteurella multocida* が分離されたが、同一牛において両検体から同一細菌種が分離される割合は比較的低かった。また、BALF から分離された *M. bovis* 及び *P. multocida* は、主にフルオロキノロン系抗菌薬に感受性であったが、Swab から分離された同 2 菌種の同系抗菌薬に対する薬剤感受性は低かった。以上より、重症慢性肺炎罹患牛の鼻咽頭領域及び気管支肺胞領域からは、主に *M. bovis* 及び *P. multocida* が分離されるが、同一菌種であっても採材部位によって薬剤感受性が異なる可能性があることから、Swab による肺炎原因菌の推定には慎重を要すると思われた。

これらの結果を受け、フルオロキノロン系抗菌薬の代表的な薬剤であるエンロフロキサシン（ERFX）の薬物動態を試験した。健康な 4 頭の乳用子牛に ERFX（5 mg/kg）を単回皮下投与し、血漿、気管支肺胞洗浄液（BALF）及び肺胞細胞中の ERFX 及びその代謝産物であるシプロフロキサシン（CPF）の薬物動態、すなわち気管支肺胞領域への移行性及び分布を試験した。投与後の ERFX 及び CPF は、吸収相を含むノンコンパートメントモデルにて分析した。血漿中 ERFX の Cmax は、投与後 2.3 ± 0.5 時間目で 1.6 ± 0.4 µg/ml となり、徐々に減少し投与後 24 時

(別紙様式第3号)

間目で $0.14 \pm 0.03 \mu\text{g/ml}$ となった。血漿中の 0 から 24 時間目の平均滞留時間 (MRT_{0-24}) は 6.9 ± 1.0 時間であった。ELF 及び肺胞細胞中の ERFX 濃度は、投与後それぞれ 3.0 ± 2.0 及び 4.0 ± 2.3 時間目でピークに達し、徐々に減少し投与後 24 時間目でそれぞれ 0.9 ± 0.8 及び $0.8 \pm 0.5 \mu\text{g/ml}$ となった。血漿中、ELF 及び肺胞細胞中の ERFX の半減期 ($t_{1/2}$) はそれぞれ 6.5 ± 0.7 , 6.5 ± 3.6 及び 7.4 ± 4.3 時間であった。ERFX 投与後 0 から 24 時間目までの濃度時間曲線下面積 (AUC_{0-24}) と最高血中濃度 (C_{max}) は、血漿中よりも肺胞領域において有意に高かった ($p < 0.05$)。これらの結果は、ERFX が投与後 24 時間目までの BALF 領域において、ELF では高濃度で移行し、肺胞細胞において高濃度で維持されることを示唆している。したがって、ERFX は肺炎に対する有効な治療薬となるものと思われた。

以上の成績から、臨床的に重症慢性肺炎と診断された黒毛和種牛の Swab 及び BALF からは主に *Mycoplasma bovis* 及び *Pasteurella multocida* が同様に分離されたが、BALF から分離された同 2 菌種は主にフルオロキノロン系抗菌薬に感受性であったのに対し、Swab から分離された同 2 菌種は同系抗菌薬に対する薬剤感受性は低いことが明らかとなった。このことから、同一菌種であっても採材部位によって薬剤感受性が異なる可能性が高いことが示された。一方、フルオロキノロン系抗菌薬であるエンロフロキサシンを子牛に投与し薬物動態解析を行ったところ、投与直後から投与後 24 時間目までの BALF 領域において ELF 及び肺胞内細胞では高濃度で移行し、投与後 24 時間目までにおいて高濃度が維持されることが明らかとなった。

これらの成績は、牛呼吸器病の原因菌の特定とともに、その治療法の一助となり得るものと考えられた。

(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	藏前 哲郎
審 査 委 員	主 査：鹿児島大学 教授 帆保 誠二
	副 査：鹿児島大学 教授 三角 一浩
	副 査：山口大学 教授 高木 光博
	副 査：鹿児島大学 教授 藤木 誠
	副 査：鹿児島大学 教授 三浦 直樹
題 目	重症慢性肺炎罹患牛の気管支肺胞洗浄液からの細菌分離と薬剤感受性ならびに抗菌薬の気管支肺胞領域における薬物動態に関する研究

審査結果の要旨：

肺炎を含む牛の呼吸器病症候群 (BRDC) は、ウイルスや細菌をはじめとした病原性微生物の感染や様々な外的要因が、体内のクリアランス機構を低下させたり、免疫機構の攪乱を引き起こしたりした結果、ウイルスや細菌が気管支肺胞領域へ侵入、感染することによって発症するとされている。

牛肺炎の抗菌薬療法においては、臨床経験に基づく知見や鼻咽頭スワブ (Swab) の細菌分離検査により得られた情報により抗菌薬が選択されることが多い。しかし、健常牛の鼻腔領域、咽頭領域及び気管には様々な細菌が恒常的に存在することが知られている。そのため、肺炎罹患牛の Swab から分離された細菌が、肺炎罹患領域に感染している細菌の情報を正確に反映しているかは疑問である。一方、気管支肺胞洗浄 (BAL) は、気管支肺胞領域の様々な情報をダイレクトに得る手法として人医療、馬医療及び小動物医療において実施されている。しかし、牛医療においては、肺炎罹患牛に対して気管支肺胞洗浄を応用した報告は殆ど見当たらないため、肺炎原因菌の情報を含め未解明な事項が数多く存在する。また、肺炎に対する抗菌薬療法において、全身投与した抗菌薬が肺炎の発症部位である気管支肺胞領域へ移行することが必須条件であるが、その知見も殆どない。

以上のことを解決するために、本研究では以下の 2 章において研究を実施した。

第 1 章においては、肺炎に関連する真の肺炎原因菌を特定するために、以下の調査を実施した。臨床的に重症慢性肺炎と診断された黒毛和種牛 50 頭から Swab 及び気管支肺胞洗浄液 (BALF) を採取し、細菌分離とともに、その薬剤感受性を調査した。Swab 及び BALFからは主に *Mycoplasma bovis* 及び *Pasteurella multocida* が分離されたが、同一牛において両

検体から同一細菌種が分離された割合は比較的低かった。また、BALF から分離された *M. bovis* 及び *P. multocida* は、主にフルオロキノロン系抗菌薬に感受性であったが、Swab から分離された同 2 菌種の同系抗菌薬に対する薬剤感受性は低かった。以上より、重症慢性肺炎罹患牛の鼻咽頭領域及び気管支肺胞領域からは、主に *M. bovis* 及び *P. multocida* が分離されるが、同一菌種であっても採材部位によって薬剤感受性が異なる可能性があることから、Swab による肺炎原因菌の推定には慎重を要すると思われた。

第 2 章においては、第 1 章において明らかとなった真の肺炎原因菌に対して感受性を示すエンロフロキサシン (ERFX) の気管支肺胞領域への移行性を調査した。健康な 4 頭の子牛に ERFX (5 mg/kg) を単回皮下投与し、血漿、BALF 及び肺胞細胞中の ERFX 及びその代謝産物であるシプロフロキサシン (CPF) の薬物動態を解析した。血漿中 ERFX の最高血中濃度 (C_{max}) は投与後平均 2.3 時間であり、投与後 24 時間でも検出された。血漿中の平均滞留時間 (MRT_{0-24}) は平均 6.9 時間であった。肺胞上皮被覆液 (ELF) 及び肺胞細胞中 ERFX 濃度は、投与後それぞれ平均 3.0 及び平均 4.0 時間でピークに達し、投与後 24 時間でも比較的高濃度に検出された。血漿、ELF 及び肺胞細胞の ERFX の半減期 ($t_{1/2}$) はそれぞれ平均 6.5、平均 6.5 及び平均 7.4 時間であった。ERFX 投与後の濃度時間曲線下面積 (AUC_{0-24}) と C_{max} は、血漿中よりも肺胞領域において有意に高かった。これらの結果は、ERFX が投与後 24 時間における BALF 領域の ELF 及び肺胞細胞において高濃度で維持されることを示唆している。このことから、ERFX は肺炎に対する有効な治療薬になると思われた。

以上のように、本研究によって肺炎罹患牛の気管支肺胞領域からの分離細菌は主に *M. bovis* 及び *P. multocida* であり、フルオロキノロン系抗菌薬に感受性であることが示された。また、これら細菌に感受性である ERFX を全身投与し、その薬物動態を解析したところ、気管支肺胞領域へ高濃度に移行することが証明された。これらの結果は、牛肺炎の原因となる病原性細菌把握の根拠となるとともに、牛肺炎に対する治療法の一助になり得るものであると思われた。

これらの研究成果は、「重症慢性肺炎罹患牛の気管支肺胞洗浄液からの細菌分離と薬剤感受性」及び「Pharmacokinetics in plasma and alveolar regions of healthy calves subcutaneously administered a single dose of enrofloxacin」として獣医学分野の学術雑誌に公表された。

以上により、審査委員一同は博士 (獣医学) の学位論文として十分な価値を有するものと判定した。