

学 位 論 文 要 旨

氏名 三田 宇宙

題 目：競走馬の骨折手術における手術部位感染に対する新規治療法の開発に関する研究

論文要旨：

手術部位感染（surgical site infection：SSI）とは手術操作が及んだ部位に発生する感染と定義され、競走馬の重度の骨折手術ではその発生率は 20%を超える。SSI を発生した症例の中には標準的な治療を行っても感染コントロールができない症例が散見され、その予防・治療策の改善が必要とされている。

SSI の発生要因に関する調査は海外の診療施設から多く報告されている。しかし、日本国内の競走馬において最も多く実施される下肢部の単純骨折の手術に焦点をあてた疫学調査は無く、SSI の予防、治療策の改善に必要な基礎的データが不足している。そして、難治性の SSI にはバイオフィームが関与していると報告されており、バイオフィーム内の細菌を殺菌するためには非常に高濃度の抗菌薬を長時間にわたり感染巣に供給する必要がある。しかし、ウマ医療で用いられている一般的な製剤と投与方法では必要な濃度と作用時間を得ることは難しい。そのため、感染巣に高濃度の抗菌薬を持続的に供給できる製剤の開発や投与方法を確立が必要とされている。

そこで本研究では、まず第 1 章で 2011 年から 2020 年に行った下肢部の骨折手術馬を回顧的に調査し、競走馬の骨折手術の SSI の特徴を明らかにした。続いて第 2 章では局所に高濃度の抗菌薬を分布させることを目的とした抗菌薬製剤の検討を行った。そして第 3 章では第 2 章で作製した製剤を生体に局所投与し、局所抗菌薬濃度の推移を検討した。最後の 4 章では難治性の感染を発生した骨折症例に対して高濃度の抗菌薬を持続的に局所灌流する新規治療方法を試験的にを行い、その課題と解決策を検討するとともにウマでの効果の有無を明らかにした。

第 1 章では 2011 年から 2020 年の間に第一指骨と第三中手骨/中足骨の縦骨折を手術した 451 症例に対する SSI の発生状況を調査した。SSI の発生率は 2.9%で、手術方法別ではプレート固定手術の SSI 発生率 (21.4%) は螺子固定手術の発生率 (2.3%) よりも有意に高かった。また、予後については SSI が発生しても競走復帰率や退院率に差がなかったものの、入院期間が延長することが明らかとなった。プレート固定では使用するインプラントの量が多く細菌が定着しやすいことに加えて、その周囲のデッドスペースは血流に乏しく生体免疫や抗菌薬が届きにくい。これらが要因となって SSI の発生率が高くなると考えられた。そこで、第 2 章ではこのようなデッドスペースに使用できる抗菌薬製剤を検討した。

第 2 章では人工合成ポリマーのポリ乳酸・グリコール酸共重合体 (PLGA) とウマ医療で使用されている抗菌薬のマルボフロキサシンを用いて局所投与可能な徐放性抗菌薬製剤を作成した。乳酸・グリコール酸比が 50:50 で分子量が 13,500 から 69,000 の種々の PLGA を用いてマルボフロキサシンのマイクロパーティクルを作製した。これらの製剤を用いて試験管内

での徐放性能の比較を行った。その結果、数日間にわたって持続的な抗菌薬の放出が可能な製剤を選定できた。この結果から、この製剤を生体内に投与した時に、難治性感染症の治療に必要な濃度の抗菌薬を持続的に供給できる可能性が期待された。

第 3 章では第 2 章で作製した徐放性抗菌薬製剤を投与した組織の組織液中抗菌薬濃度を検討した。ウマの皮下に作製したデッドスペースに徐放製剤を単回投与したところ、投与部位の組織液中マルボフロキサシン濃度の中央値は 1 週間にわたって 17.7～33.1 $\mu\text{g/mL}$ であった。この濃度は既報で示された、対象細菌の 90%の発育を抑制できる濃度 0.027～4.0 $\mu\text{g/ml}$ を上回った。組織液中濃度が個体による誤差が大きいことや、投与部位に短期的な腫脹が起こることが課題としてあげられたが、これらを改善することで高濃度の抗菌薬を局所に長時間分布させる方法として将来的な応用が可能と考えられた。

第 4 章では難治性 SSI に対する治療方法としてヒトの整形外科分野で良好な成績を収めている持続的局所抗菌薬灌流療法 (CLAP) をウマに試験的に応用した。両側性近位種子骨々折に伴う中手指節関節の関節固定手術後に難治性の SSI を発生した症例に対して CLAP を実施した。細菌汚染された多量のインプラントを温存した状態で実施した 1 回目の CLAP では、器材の破損など多くのトラブルに遭遇したため治療を中断し感染コントロールができなかった。症状の改善に向けてインプラントを全て抜去したが、感染のコントロールが難しかったため、1 回目の課題を改善して 2 回目の CLAP を行った。その結果、CLAP を開始してから 2 週間で臨床症状が大きく改善し、CLAP 終了後 204 日目までに感染の再燃は無く、乗馬としての使用ができるほどに快復した。本症例を通してウマで CLAP を行う手技を確立できたとともに、これまで有効な治療方法が無く安楽死に至っていた難治性の骨関節感染症例に対して CLAP が一定の効果をもたらすことが示された。

本研究では、競走馬の下肢部の骨折手術について SSI の特徴を明らかにした。そして、ウマに使用可能な抗菌薬を用いた徐放製剤の開発と投与後の抗菌薬濃度推移を検討した。さらに、実症例に対する新規抗菌薬投与方法の試行とともにその改良を行い、難治性 SSI 症例に対する効果を明らかにした。本研究で得られた結果を基に、今後も製剤・投与方法の改善を行うことで難治性 SSI の効果的な治療方法の確立に寄与できると考えられた。

学位論文審査の結果の要旨

氏 名	三田 宇宙
審 査 委 員	主 査：JRA 競走馬総合研究所 上席研究役 丹羽 秀和
	副 査：山口大学 教授 度会 雅久
	副 査：山口大学 教授 早坂 大輔
	副 査：鹿児島大学 教授 帆保 誠二
	副 査：山口大学 准教授 清水 隆
題 目	競走馬の骨折手術における手術部位感染に対する新規治療法の開発に関する研究

審査結果の要旨：

手術部位感染（SSI）とは手術操作が及んだ部位に発生する感染と定義され、切開創や臓器・体腔に発生する。臨床現場ではウマの骨折手術後の SSI に対して標準的な治療を行っても感染コントロールができない症例が散見される。また、下肢部の骨折手術で SSI が発生すると、骨癒合の遅延、対側肢の蹄葉炎など様々な 2 次的な合併症が起り安楽死に至る症例もある。そのため、骨折手術に対する SSI の予防・治療策の改善が課題となっている。SSI の発生要因として抗菌薬投与の有無、インプラントの量、手術時間などが報告されているが、競走馬の下肢部の骨折手術に焦点をあてた疫学調査は無い。また、難治性の骨折部位の感染にはバイオフィルムの関与が報告されているが、インプラント表面や感染組織では血流が少なく、バイオフィルムが形成されやすい。バイオフィルム感染症のコントロールのためにはバイオフィルム内の細菌を殺菌する必要がある、非常に高濃度の抗菌薬を長時間感染巣に供給する必要がある。一般的な製剤と投与方法では高濃度の抗菌薬を長時間にわたり感染巣において維持することは難しいため、それらが可能となる新たな製剤や投与方法を確立できれば SSI の治療方法を改善できる可能性がある。本論文では、まず競走馬の骨折手術の SSI の特徴を明らかにし、SSI の予防・治療への使用を目的とした抗菌薬製剤の検討ならびにその局所投与時における投与部位の抗菌薬濃度推移を検討した。さらに、難治性の感染を発生した骨折症例に対して高濃度の抗菌薬を持続的に局所灌流する新規治療方法を試験的に行い、ウマでの効果と課題を検討した。

第 1 章では 2011 年から 2020 年の間に第 1 指骨と第 3 中手骨/中足骨における縦骨折を手術した 451 症例に対する SSI の発生状況を調査した。SSI の発生率は 2.9%で、手術方法別ではプレート固定手術の SSI 発生率（21.4%）は螺子固定手術の発生率（2.3%）よりも有意

に高かった。また、予後については SSI が発生しても競走復帰率や退院率に差がなかったものの、入院期間が延長することが明らかとなった。プレート固定では使用するインプラントの量が多く細菌が定着しやすいことに加えて、その周囲のサードスペースは血流に乏しく生体免疫や抗菌薬が届きにくい。これらが要因となって SSI の発生率が高くなると考えられた。

第 2 章では手術時に生じるデッドスペースに対して使用可能な抗菌薬製剤の開発を目的として、人工合成ポリマーであるポリ乳酸・グリコール酸重合体 (PLGA) とウマ医療で使用されている抗菌薬であるマルボフロキサシンを用いて局所投与可能な徐放製剤を作製した。乳酸・グリコール酸比が 50:50 で分子量が 13,500 から 69,000 にわたる種々の PLGA を用いてマルボフロキサシンのマイクロパーティクルを作製し、水中での徐放性能を比較した。その結果、分子量 55,800 の PLGA を材料に用いた製剤は、数日間にわたって持続的な抗菌薬の放出を認められた。この結果から、マルボフロキサシンを封入した PLGA マイクロパーティクルは、生体内に投与した時に抗菌薬を持続的に供給できる可能性があると考えられた。

第 3 章では第 2 章で作製した徐放性抗菌薬製剤の組織液中抗菌薬濃度を検討した。ウマの皮下に徐放製剤を単回投与したところ、投与部位の組織液中マルボフロキサシン濃度の中央値は 17.7~33.1 $\mu\text{g/mL}$ であり、治療対象と想定される細菌の 90% を抑制できる濃度を上回った。組織液中濃度の個体差が大きいことや、短期的な投与部位の腫脹が課題として挙げられたが、高濃度の抗菌薬治療が必要となる症例への応用が検討できると考えられた。

第 4 章ではヒトの整形外科領域では難治性の感染症に対して良好な成績を収めている持続的局所抗菌薬灌流療法 (CLAP) を両側性近位種子骨々折に伴う球節の関節固定手術の後に難治性の SSI を発生した症例に対して実施し、その有用性を検討した。器材の破損など多くのトラブルとともに細菌汚染された多量のインプラントを温存した状態で実施した 1 回目の CLAP は様々な課題により治療を中断せざるをえなかったが、インプラントを全て抜去した後に課題を改善して実施した 2 回目の CLAP を行った結果、CLAP の開始 2 週間で臨床症状が大きく改善し、CLAP 終了後 204 日目には乗馬としての使用が可能となった。本検討によりウマにおける CLAP の手技を確立したとともに、ウマの難治性の骨関節感染症例に対しても CLAP が一定の治療効果をもたらすことが明らかになった。

本論文によってサラブレッド競走馬の下肢部骨折手術後に発生する SSI の特徴、局所投与を目的とした徐放性抗菌薬製剤の応用への可能性、新規抗菌薬投与 (CLAP) の有用性が明らかとなった。これらの知見は、馬医療における SSI の予防や治療において学術的ならびに臨床応用上貢献するところが大きい。

以上により、本論文は博士 (獣医学) の学位論文として価値のあるものと認めた。