

平成 21年 5月 21日現在

研究種目：若手研究（B）  
 研究期間：2007 ～ 2008  
 課題番号：19791224  
 研究課題名（和文） 難治性中耳炎および副鼻腔炎に対するドラッグデリバリーシステムを用いた治療法の開発  
 研究課題名（英文） The development of controlled-release antibiotics by use of DDS against intractable bacterial infections.  
 研究代表者 鈴木 正樹（SUZUMOTO MASAKI）  
 和歌山県立医科大学 医学部 助教  
 研究者番号：20382327

## 研究成果の概要：

抗菌薬のシリコン徐放製剤およびゲル徐放製剤を作成してその有効性につき検討を行った。カルバペネム系抗菌薬であるメロペネムを充填したシリコン徐放製剤を作成し、チンチラを用いたインフルエンザ菌実験的中耳炎モデルにて検討した。またレボフロキサシン（LVFX）ゲル徐放製剤を作成し同様の方法で、その有効性についての検討を行った。メロペネム・シリコン徐放製剤群では、治療開始6日後にはすべてのチンチラでインフルエンザ菌が除菌されていた。LVFX ゲル徐放製剤注入群では3例中2個体で5日目にはインフルエンザ菌が除菌された。

## 交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
19年度	2600000	0	2600000
20年度	600000	180000	780000
年度			
年度			
年度			
総計	3200000	180000	3380000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：耳鼻咽喉科

キーワード：急性中耳炎、DDS、肺炎球菌、インフルエンザ菌、副鼻腔炎

## 1. 研究開始当初の背景

急性中耳炎や副鼻腔炎をはじめとする上気道感染症は、近年の起炎菌の薬剤耐性化に伴い、従来までの経口抗菌薬治療では十分に改善しない難治例が増加し、臨床上的大きな問題となっている。和歌山県立医大耳鼻咽喉科および関連施設にて行った急性中耳炎患児より分離同定された肺炎球菌お

よびインフルエンザ菌におけるペニシリン結合蛋白遺伝子の変異に基づく薬剤耐性菌の調査においても、肺炎球菌の約63%が *pbp1a* 遺伝子、*pbp2x* 遺伝子、*pbp2b* 遺伝子に変異が認められるペニシリン耐性肺炎球菌（PRSP）であり、インフルエンザ菌の約67%が *pbp3* 遺伝子に変異を認めるβ-ラクタマーゼ非産生アンピシリン耐性（BLNAR）

インフルエンザ菌であった。また、これらの薬剤耐性菌は1998年から2002年にかけて急速に増加している。このような本邦における肺炎球菌およびインフルエンザ菌の高い薬剤耐性化率は、本邦における抗菌薬の頻用、なかでもβ-ラクタム系抗菌薬の頻用と密接に関連する。薬剤耐性菌に対しては、新しいより殺菌作用の強い抗菌薬の開発に目が奪われがちであるが、抗菌薬の開発とそれに伴うさらなる薬剤耐性菌の出現と増加が懸念される。急増する薬剤耐性菌に対しては、従来までの経口抗菌薬や静注抗菌薬では限界があり、ワクチンによる感染症予防の開発が望まれる。また、既存の抗菌薬を効果的に使用すること、すなわち、抗菌薬を効果的に感染局所に作用させる Drug delivery system (DDS) を利用した抗菌薬治療方法の開発は、薬剤耐性菌に対する優れた対策となる。

耳鼻咽喉科領域は、感染症好発部位であり、中耳腔や副鼻腔といった領域は、解剖学的に複雑な形態をしているとともに、骨壁に囲まれた空洞で粘膜に覆われているため、局所への薬物移行が不良である。現在一般的に用いられているβ-ラクタム系抗菌薬の経口あるいは静注治療では、血中濃度の10~15%が中耳腔に移行するに過ぎず、十分な組織中あるいは粘膜表面での抗菌薬濃度が得られにくい点が問題である。そのため、先に示した薬剤耐性菌による感染が容易に難治化するといえる。このような解剖学的な特徴から、急性中耳炎および鼻副鼻腔炎に対しては、感染局所へどのようにして効果的に抗菌薬を投与するかが、治療の鍵となる。抗菌薬はその種別により作用が大きく異なることは周知であり、現在臨床的に広く使用されているβ-ラクタム系抗菌薬は、濃度依存性に殺菌効果を示

すのに対して、キノロン系抗菌薬は、用量依存的な抗菌作用をしめす。また、近年開発されているカルバペネム系抗菌薬は、優れた抗菌作用を示すが、容易に排出される。DDSを応用した局所における感染症治療の検討では、このような抗菌薬の持つ薬物力学、薬物動態学的特性も注意する必要がある。

## 2. 研究の目的

本研究では、まず抗菌薬の治療効果を客観的に評価するために必要なチンチラを用いたインフルエンザ菌による実験的中耳炎モデルの確立を目的とした。

さらにこの感染動物モデルを用いて、難治性中耳炎に対して、局所において組織内薬物濃度を高濃度にしかも一定期間持続できるような Drug delivery system (DDS) を応用した治療法を開発することを目指した。

## 3. 研究の方法

### 1) インフルエンザ菌野生株を用いたチンチラ中耳炎の作成

チンチラの中耳蜂巢に、中耳炎起炎菌として最も一般的な無莢膜型インフルエンザ菌 (nontypeable *H. influenzae*) 野生株を接種し、中耳炎の形成過程を観察した。

### 2) メロペネム・シリコン徐放製剤の実験的中耳炎に対する有効性

カルバペネム系抗菌薬であるメロペネム (MEPM) を充填したシリコン徐放製剤 (メロペネム・シリコン徐放製剤: MEPM 10mg/kg、シリコン、φ1.9mm) を、小児急性中耳炎患者より分離された無莢膜型インフルエンザ菌をチンチラ蜂巢内に  $1\sim 3 \times 10^8$  CFU 接種したのち2日目に急性中耳炎の形成を確認した。急性中耳炎の発症を確認した後に、メロペネムを①メロペネム・シリコン徐放製剤、②メロペネム溶液の中耳腔内投与 (点耳)、③腹腔内接種 (全身投与) にて投与し、中耳腔内のインフルエンザ菌数を経時的に

検討した。

### 3) レボフロキサシン・ゲル徐放製剤の実験的中耳炎に対する有効性

シリコン徐放製剤と同様に、インフルエンザ菌によるチンチラ実験的中耳炎モデルに対するレボフロキサシン (LVFX) ゲル徐放製剤の有効性についての検討を行った。ゲル徐放製剤は近年、医薬品として認可されたセルロース系添加剤を使用しており、薬剤含有粉末を含んだシリンジに生理食塩水とともに吸引することによりゲル状となった徐放製剤が形成される。セルロースマトリックス内からの拡散により薬物が経時的に放出されるもので、薬剤放出特性や放出量は製剤調整によりコントロールが可能である。

無莢膜型インフルエンザ菌  $1 \times 10^6$  CFU をチンチラ蜂巢内に接種し、2日後に急性中耳炎の形成を確認するとともに、①LVFX ゲル徐放製剤、②LVFX の腹腔内投与 (全身投与)、③中耳腔内投与 (点耳投与) を行った。LVFX 投与後に経時的に中耳腔内のインフルエンザ菌数を検討した。

## 4. 研究成果

1) チンチラ (*Chinchilla lanigera*) は、頭部中耳蜂巢 (bulla) がすり鉢状に単一の空洞として発達しており、頭側皮膚を切開、中耳蜂巢骨壁を削開しこの蜂巢内に無莢膜型インフルエンザ菌を  $1 \times 10^6 \sim 3 \times 10^8$  CFU 接種したところ全例において2日後には鼓膜の発赤、膨隆、水泡形成などの中耳炎所見を認め、中耳腔貯留液からは菌接種後21日目まで生存例において、持続的にインフルエンザ菌が検出された。

2) メロペネム製剤投与後の中耳腔内のインフルエンザ菌数を経時的に検討した。感

染のみ行った対照群や腹腔内への全身投与群では、インフルエンザ菌感染によるチンチラの死亡が認められたほか、ほとんどのチンチラで約  $1 \times 10^7$  CFU のインフルエンザ菌が検出された。一方、中耳腔内へメロペネム溶液の投与 (点耳群) では、インフルエンザ菌数はわずかに減少していたが、個体差が大きく認められた。メロペネム・シリコン徐放製剤群では、治療開始6日後にはすべてのチンチラでインフルエンザ菌が除菌されており。良好な細菌学的効果が得られた (図1、図2)。

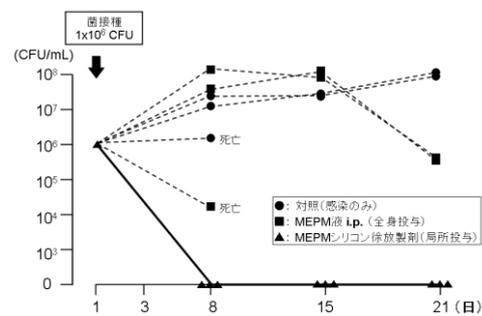


図1 MEPM全身投与と局所投与での中耳抗菌効果の比較

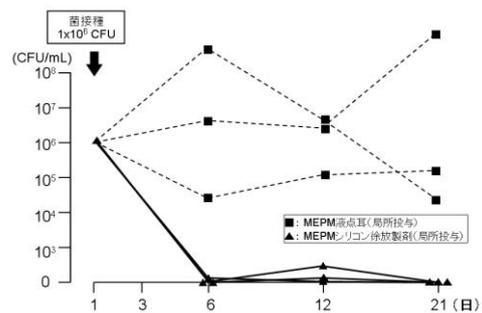


図2 MEPM液剤とMEPMシリコン徐放製剤について局所投与における中耳抗菌作用の比較

3) レボフロキサシン製剤投与後の中耳腔内のインフルエンザ菌数を経時的に検討した。LVFX 全身投与群および点耳群では、11日目まで  $1 \times 10^5 \sim 1 \times 10^7$  CFU のインフルエンザ菌が検出され、著明な殺菌効果は認められ

なかった。一方、LVFX ゲル徐放製剤注入群では3例中2個体で5日目にはインフルエンザ菌が除菌された(図3)。

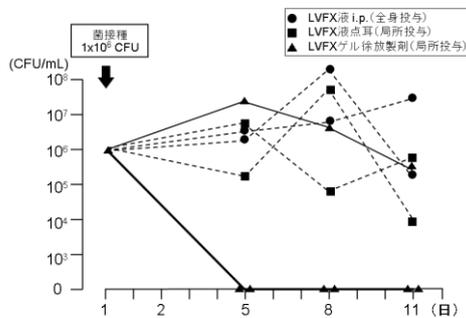


図3 LVFXゲル徐放製剤とLVFX液剤の局所および全身投与における中耳抗菌作用の比較

### (1) シリコン徐放製剤の今後の応用の可能性

シリコン徐放製剤は形状の加工が容易であることなどから、様々な形態の徐放製剤の作成が可能となる。難治性中耳炎に対しては、従来まで中耳腔の換気ドレナージを目的とした鼓膜換気チューブ挿入術がなされてきた。今後、シリコン徐放製剤を鼓膜換気チューブに応用することにより中耳腔の換気と抗菌薬治療による除菌を同時に行うことが可能となり、有用性が期待される。また、副鼻腔炎では、鼻腔と自然孔を介して交通した副鼻腔の自然孔部が、炎症により狭窄閉鎖することで副鼻腔内に貯留する膿がうまく排膿されず炎症が遷延化しやすい。シリコン徐放剤を応用した副鼻腔換気チューブにより副鼻腔の殺菌と含気化という両方の効果が期待できる。

(2) ゲル徐放製剤の今後の応用と問題点  
徐放ゲル製剤では、製剤が投与局所に十分な期間停滞することが重要となる。チンチラ中耳炎モデルでは、LVFX 徐放ゲル製剤の有効性に個体差が認められることから、追加実験として、インジゴカルミンにて染色

したゲル徐放製剤を蜂巢内に注入し、経時的变化を観察した。LVFX ゲル徐放剤を中耳腔へ注入した後では、3日目でもほぼ全量の薬剤の滞留を認める場合から、2日目において薬剤の大部分が消失してしまう場合とがあり、ゲル徐放製剤の滞留時間に大きなばらつきを認めた。LVFX ゲル徐放製剤の細菌学的効果における個体差は、このLVFX ゲル徐放製剤の中耳腔内での停留期間と密接に関係すると考える。今後、ゲル徐放製剤の粘性や粘膜への付着性を高めることにより、安定した徐放製剤の滞留付着と薬剤の放出を行うことができると考えられる。一方、ゲル製剤はシリコン製剤に比べて可塑性に富むため中耳腔や副鼻腔といった解剖学的に複雑な形態をとる局所に対しても、カテーテル等により容易に投与することができその臨床応用が期待される。DDS を利用した局所抗菌薬治療は、現在の新規抗菌薬の開発から抗菌薬の頻用、さらには起炎菌の薬剤耐性化という悪循環の中にあって、その連鎖を断ち切るとともに、従来の既存抗菌薬を用いても高い臨床効果が得られるという点で、既存抗菌薬の価値を再発見するという新しい視点を与え、本研究は医療経済的な側面からも非常に意義深いと考える。

### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計1件)

Hotomi M, Suzumoto M, Itahashi K, Nagura J, Fukushima T, Shimada J, Billal DS, Yamauchi K, Fujihara K, Yamanaka N. Efficacy of a novel oral carbapenem, tebipenem pivoxil (TBM-PI), against experimental otitis media caused by penicillin resistant *Streptococcus pneumoniae* in chinchilla ; Vaccine. Mar22;25(13)2478-84.2007 査読あり

6. 研究組織

(1) 研究代表者

鈴木 正樹 ( SUZUMOTO MASAKI )

和歌山県立医科大学、医学部、助教

研究者番号：20382327

(2) 研究分担者

( )

研究者番号：

(3) 連携研究者

( )

研究者番号：