

令和 2 年 6 月 17 日現在

機関番号：15401

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K17172

研究課題名(和文)人工呼吸器関連肺炎の発症リスク軽減を目指した新規洗口剤の開発

研究課題名(英文) Development of a new mouthwash for reducing risk of ventilator-associated pneumonia (VAP)

研究代表者

岡崎 洋平 (Okazaki, Yohei)

広島大学・病院(歯)・助教

研究者番号：00706898

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,700,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、抗菌成分「塩化セチルピリジニウム(CPC)」に着目し、人工呼吸器関連肺炎(VAP)発症リスクの軽減を目指し、新規洗口剤の開発を行った。厚生労働省「薬用歯みがき類製造(輸入)承認基準等について」に従い試作した洗口剤について、粘度測定および抗菌試験により最終組成を確定した。このCPC含有洗口剤は、協力企業の支援を得て、2019年2月26日付けで製造販売の承認を得た。

研究成果の学術的意義や社会的意義

人工呼吸器関連肺炎(VAP)の口腔ケアにおいて、欧米ではグルコン酸クロルヘキシジン(0.12～0.2%の高濃度)で含有した洗口剤が使用されている。しかしながら、日本ではアナフィラキシーショックの発症以来、グルコン酸クロルヘキシジンの濃度は0.05%以下とされ効果は十分でない。そこで、本研究で開発した洗口剤は、グルコン酸クロルヘキシジンに代わり、VAP発症リスクの軽減に寄与するものとする。

研究成果の概要(英文)：Oral health care is a viable method of reducing the risk of ventilator-associated pneumonia (VAP). However, in Japan, oral care with chlorhexidine has been little used to prevent the development of pneumonia. The purpose of this study was to evaluate the in vitro antimicrobial effect of low- and high-viscosity experimental mouthwashes containing cetylpyridinium chloride (CPC) and 4-isopropyl-3-methylphenol (IPMP) on *Streptococcus pneumoniae*, *Klebsiella pneumoniae*, *Porphyromonas gingivalis*, *Streptococcus mutans*, and *Candida albicans*. Non-viscous mouthwashes containing either CPC- or IPMP were used as controls. The antimicrobial activity (sterilization or exposure time) of mouthwashes was evaluated based on the bactericidal criterion of <10 viable cells in 0.1 mL of culture medium. Consequently, the low-viscosity mouthwash containing anodal CPC and neutral IPMP exhibited superior antimicrobial effects against pneumonia- and oral infection-related bacteria compared with the controls.

研究分野：補綴系歯学

キーワード：人工呼吸器関連肺炎(VAP) 洗口剤 抗菌剤

1. 研究開始当初の背景

厚生労働省は、2025年までに医療費を1,000億円、介護費を5兆円抑制するため「高齢者の誤嚥性肺炎予防の口腔ケア事業」を推進させるとしている。そこで、医科領域で課題となっている人工呼吸器関連肺炎(VAP: Ventilator-associated pneumonia)に着目した。人工呼吸管理開始前には肺炎に罹患していないことが前提となっているが、VAPは気管挿管による人工呼吸開始48時間以降に新たに発症する肺炎である。VAPの原因は、挿管チューブの外側を介して声門下への口腔内分泌物・細菌の流入や挿管チューブから直接下気道への細菌の侵入である。

VAPの口腔ケアにおいて、欧米ではグルコン酸クロルヘキシジンを0.12~0.2%の高濃度で含有した洗口剤が使用されている。しかしながら、日本では、アナフィラキシーショックの発症以来、グルコン酸クロルヘキシジンの濃度は0.05%以下とされ効果は十分でない。また、使用の際には濃度を薄めることを推奨しており、実際の濃度は0.0001~0.0025%となる。そこで、「他に有効なものはないか?」との問題提起に答えるため、新規に洗口剤を開発することとした。

2. 研究の目的

本研究では、殺菌成分「塩化セチルピリジニウム(CPC: Cetylpyridinium chloride)」に着目し、VAP発症リスクの軽減を目指した新規洗口剤の開発をすることとした。

3. 研究の方法

(1) 洗口剤

A) 試作洗口剤(殺菌成分5% CPC + 0.1% 4-isopropyl-3-methylphenol (IPMP) 配合)

低粘度洗口剤(Exp-Mw-L): 0.3% hydroxyethyl cellulose

高粘度洗口剤(Exp-Mw-H): 0.4% hydroxyethyl cellulose

B) コントロール

GUM プロケアデンタルリンス(CPC-Mw): 0.05% CPC 配合; Sunstar Inc., Osaka, Japan

システムハグキプラスデンタルリンス(IPMP-Mw): 濃度不明 IPMP 配合; Lion Co., Tokyo, Japan

(2) 粘度測定(mPa・s)

A) 測定器: Rheometer (Rheo Stress 6000; Thermo Fisher Scientific HAAKE, Germany)

B) 測定条件

Cone diameter: 35 mm

Cone angle: 1°

Truncation gap: 52 μm

温度条件: 25 (室温), 37 (口腔内温度)

Shear rate: 5/s, 50/s

測定回数: 3回

C) 統計学的分析: Two-way ANOVA, Tukey's post hoc test; 有意水準 5%

(3) 殺菌試験

A) Exp-Mw-L および Exp-Mw-H の検証

肺炎球菌 *Streptococcus pneumoniae* (NBRC 102642) は、Columbia CA sheep blood agar (Kohjin bio Co., Sakado, Japan) を用いて、嫌気条件下 37、24 時間培養した。肺炎桿菌 *Klebsiella pneumoniae* (NBRC 13277) は、Nutrient agar medium (Nissui Pharmaceutical Co., Tokyo, Japan) を用いて、35、24 時間培養した。歯周病菌 *Porphyromonas gingivalis* (ATCC 33277) は、Brain heart infusion agar (Japan Becton Dickinson Co., Tokyo, Japan) を用いて、嫌気条件下 37、48 時間培養した。カンジダ菌(真菌) *Candida albicans* (NBRC 13275, NBRC 1594) は、Sabouraud dextrose agar (Nissui Pharmaceutical Co., Tokyo, Japan) を用い、25、48 時間培養した。全ての被検菌において、菌液 10⁸/mL は、滅菌生理食塩水で調整した。菌液のアリコート(0.1 mL) は、各 10 mL 洗口剤に暴露した。25 で各 10、20、30、60、120、180、1,800、3,600 および 7,200 秒暴露後、滅菌生理食塩水で 10 倍に希釈して生菌数(CFU)をカウントした。*S. pneumoniae* および *P. gingivalis* の希釈液は、嫌気条件下 37、48~72 時間培養した。*K. pneumoniae* および *C. albicans* の希釈液は、それぞれ 35、25、48~72 時間培養した。生菌数のカウントは、3 回繰り返し、その平均値を記録した。殺菌効果は、0.1 mL の培養液中の生菌数が <10¹ で判定した。なお、コントロールには、リン酸緩衝液(PBS; pH 7.4)を用いた。

B) *C. albicans* に対する Exp-Mw-L の検証

本検証では、暴露時間を 1、3、5、10、15、20、25、30 および 60 分とした。

<i>K. pneumoniae</i> NBRC 13277	L	4.1 × 10 ⁶	2.4 × 10 ²	< 10 ¹	< 10 ¹	< 10 ¹	< 10 ¹	< 10 ¹	< 10 ¹	< 10 ¹		
	H	4.1 × 10 ⁶	9.7 × 10 ²	3.0 × 10 ¹	1.0 × 10 ¹	1.0 × 10 ¹	< 10 ¹	< 10 ¹	< 10 ¹	< 10 ¹		
	C	4.1 × 10 ⁶	4.1 × 10 ⁶	5.1 × 10 ⁶	4.6 × 10 ⁶	4.7 × 10 ⁶	4.3 × 10 ⁶	4.2 × 10 ⁶	4.3 × 10 ⁶	3.9 × 10 ⁶	5.0 × 10 ⁶	
<i>P. gingivalis</i> ATCC 33277	L	2.1 × 10 ⁶	2.0 × 10 ¹	< 10 ¹	< 10 ¹	< 10 ¹	< 10 ¹	< 10 ¹	< 10 ¹	< 10 ¹		
	H	2.1 × 10 ⁶	4.0 × 10 ¹	2.0 × 10 ¹	1.0 × 10 ¹	1.0 × 10 ¹	< 10 ¹	< 10 ¹	< 10 ¹	< 10 ¹		
	C	2.1 × 10 ⁶	2.5 × 10 ⁶	2.6 × 10 ⁶	2.9 × 10 ⁶	3.2 × 10 ⁶	2.7 × 10 ⁶	2.4 × 10 ⁶	3.4 × 10 ⁶	3.0 × 10 ⁶	3.3 × 10 ⁶	
<i>C. albicans</i> NBRC 13275	L	2.6 × 10 ⁶	1.2 × 10 ⁶	6.0 × 10 ⁵	6.3 × 10 ⁵	6.3 × 10 ⁵	4.9 × 10 ⁴	3.6 × 10 ⁴	< 10 ¹	< 10 ¹	< 10 ¹	
	H	2.6 × 10 ⁶	8.3 × 10 ⁵	7.0 × 10 ⁵	8.7 × 10 ⁵	2.7 × 10 ⁵	4.8 × 10 ⁴	4.3 × 10 ⁴	2.7 × 10 ¹	< 10 ¹	< 10 ¹	
	C	2.6 × 10 ⁶	2.5 × 10 ⁶	2.0 × 10 ⁶	1.4 × 10 ⁶	2.6 × 10 ⁶	2.0 × 10 ⁶	1.9 × 10 ⁶	3.0 × 10 ⁶	2.6 × 10 ⁶	1.9 × 10 ⁶	
<i>C. albicans</i> NBRC 1594	L	2.3 × 10 ⁶	暴露時間 (分)									
			初期菌数	1	3	5	10	15	20	25	30	60
			2.7 × 10 ³	1.7 × 10 ³	1.5 × 10 ²	< 10 ¹	< 10 ¹	< 10 ¹	< 10 ¹	< 10 ¹	< 10 ¹	< 10 ¹
C	2.3 × 10 ⁶	2.0 × 10 ⁶	1.6 × 10 ⁶	2.2 × 10 ⁶	2.0 × 10 ⁶	2.0 × 10 ⁶	2.3 × 10 ⁶	2.3 × 10 ⁶	2.5 × 10 ⁶	1.9 × 10 ⁶		
		2.0 × 10 ⁶	1.6 × 10 ⁶	2.2 × 10 ⁶	2.0 × 10 ⁶	2.0 × 10 ⁶	2.3 × 10 ⁶	2.3 × 10 ⁶	2.5 × 10 ⁶	1.9 × 10 ⁶		

< 10¹ : 試験液 0.1 mL 培養により菌が検出されない

- B) Exp-Mw-L は、*C. albicans* に対して 10 分で殺菌効果を示した (表 2)。すなわち、低粘度洗口剤は、*C. albicans* に 10 分で殺菌効果を示したことは、難治性口腔カンジダ症患者に対する抗真菌薬の繰り返し投与が副作用の観点からできない期間において、毎日の口腔ケアとして使用できる優れた特徴を有している。

C) Exp-Mw-L に暴露した *S. mutans* の生菌数 (CFUcfu/mL)、CPC-Mw および IPMP-Mw に暴露した *S. pneumoniae*、*P. gingivalis*、*S. mutans* および *C. albicans* の生菌数を表 3 に示した。*S. pneumoniae* に対しては、CPC-Mw および IPMP-Mw のいずれも 10 秒で殺菌効果を示した。*P. gingivalis* に対しては、CPC-Mw が 10 秒で殺菌効果を示したものの、IPMP-Mw は同じ暴露時間で殺菌効果を示さなかった。*S. mutans* に対しては、Exp-Mw-L および CPC-Mw のいずれも 10 秒で殺菌効果を示したが、IPMP-Mw は同じ暴露時間で殺菌効果を示さなかった。*C. albicans* に対しては、CPC-Mw および IPMP-Mw のいずれも暴露時間 10 および 20 分で殺菌効果を示さなかった。

以上より、陽イオン性の CPC 単独配合では、*S. pneumoniae*、*P. gingivalis*、*S. mutans* に 10 秒で殺菌効果を示したが、中性の IPMP 単独配合では、驚いたことに *P. gingivalis* および *S. mutans* に 10~30 秒で殺菌効果を示さなかった。また、CPC も IPMP も単独配合では、*C. albicans* に 10~20 分で殺菌効果を示さなかった。

表 3 Exp-Mw-L に暴露した *S. mutans* の生菌数、CPC-Mw および IPMP-Mw に暴露した *S. pneumoniae*、*P. gingivalis*、*S. mutans* および *C. albicans* の生菌数 (n = 3 ; 平均生菌数 [CFU/mL])

菌	試料	初期菌数	暴露時間 (秒)		
			10	20	30
<i>S. pneumoniae</i> NBRC 102642	CPC-Mw	3.4×10^6	< 10^1	< 10^1	< 10^1
	IPMP-Mw	3.4×10^6	< 10^1	< 10^1	< 10^1
	Control	3.4×10^6	1.3×10^6	1.8×10^6	1.7×10^6
<i>P. gingivalis</i> ATCC 33277	CPC-Mw	3.4×10^6	< 10^1	< 10^1	< 10^1
	IPMP-Mw	3.4×10^6	4.6×10^6	2.3×10^6	1.8×10^6
	Control	3.4×10^6	2.5×10^6	2.9×10^6	4.5×10^6
<i>S. mutans</i> NBRC 13955	Exp-Mw-L	1.9×10^6	< 10^1	< 10^1	< 10^1
	CPC-Mw	1.9×10^6	< 10^1	< 10^1	< 10^1
	IPMP-Mw	1.9×10^6	1.2×10^6	1.1×10^6	1.0×10^6
	Control	1.9×10^6	1.3×10^6	1.8×10^6	1.7×10^6
<i>C. albicans</i> NBRC 1594		初期菌数	暴露時間 (分)		
			10	20	
	CPC-Mw	1.9×10^6	4.9×10^4	2.3×10^4	
	IPMP-Mw	1.9×10^6	2.2×10^4	9.3×10^3	
	Control	1.9×10^6	2.3×10^6	1.8×10^6	

< 10^1 : 試験液 0.1 mL 培養により菌が検出されない

以上を総括し、Exp-Mw-L は、メディカルクラフトン株式会社の支援を得て、人工呼吸器関連肺炎 (VAP) 予防の口腔ケア用製品「オーラル プリベント&ケア マウスウォッシュ Oral Prevent & Care Mouthwash」として、「薬用歯みがき類製造販売承認基準」に従い岡山県に製造販売の申請を行い、岡山県知事より 2019 年 2 月 26 日付けで承認された (承認番号: 23133DZX00002000)。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Abe, Y., Okazaki, Y., Dainobu, K., Matsuo, K., Ishida, H. and Tsuga, K.	4. 巻 -
2. 論文標題 Antimicrobial effects of viscous mouthwashes containing cetylpyridinium chloride and isopropyl methylphenol	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 American Journal of Dentistry	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 岡崎洋平, 阿部泰彦	4. 巻 663
2. 論文標題 臨床に役立つすぐれモノ 薬用液体ハミガキ「オーラル プリベント&ケア マウスウォッシュ」	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Dental Diamond	6. 最初と最後の頁 164-167
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----