

氏名(本(国)籍)	村山 信雄(東京都)		
推薦教員	東京農工大学 教授 岩崎 利郎		
学位の種類	博士(獣医)		
学位記番号	獣医博乙第117号		
学位授与年月日	平成24年9月18日		
学位授与の要件	学位規則第3条第2項該当		
学位論文題目	犬の細菌性膿皮症に対する2%酢酸クロルヘキシジンの有用性についての研究		
審査委員	主査	東京農工大学	教授 岩崎 利郎
	副査	帯広畜産大学	教授 猪熊 壽
	副査	岩手大学	教授 安田 準
	副査	東京農工大学	教授 田中 綾
	副査	岐阜大学	教授 深田 恒夫

### 論文の内容の要旨

細菌性膿皮症は動物、特に犬の臨床、その発生頻度の高さと多剤耐性菌の出現により重要な疾患となっている。起因菌の主体は *Staphylococcus pseudintermedius* であり、全身性抗菌薬が治療の中心であったが、多剤耐性菌に対する治療法として抗菌作用を有するシャンプー療法が注目されている。抗菌作用を有する成分として過酸化ベンゾイル (BP)、乳酸エチル (EL)、クロルヘキシジンがあるが、クロルヘキシジンの長所として抗菌作用だけではなく、持続殺菌効果を認めることや低刺激性があげられる。本研究では犬の細菌性膿皮症に対して2%酢酸クロルヘキシジン (CA) 製剤の有効性を *in vitro* および臨床例を用いて検討した。

申請者は、犬の細菌性膿皮症から分離された *S. pseudintermedius* に対する2%CAの *in vitro* における有効性を、2.5%BP および10%ELと比較を行った。2%CA、2.5%BP および10%ELを希釈した溶液に *S. pseudintermedius* 菌液を加えて作用後、培養を行いコロニーの発育を確認した。作用開始10分の最小殺菌濃度が、2.5%BP および10%ELでは500 µg/mlであったが、2%CAでは4 µg/ml以下であった。以上の結果から *S. pseudintermedius* に対して2%CAは2.5%BPや10%ELに比べ高い殺菌効果を認めることを解明している。

次の研究では、2%CAにおける犬細菌性膿皮症の臨床例に対する効果を、2%CAと2%および4%CGの無作為化試験者盲検試験で検討している。また、セファレキシン耐性 *Staphylococcus intermedius* group (SIG) 関連性膿皮症に対して2%CAの有効性を検討した。週2回1週間の洗浄により2%CAと4%および2%CGは紅斑、痂皮および丘疹、および鱗屑で有意に改善を認め、同等の有効性がみられることを明らかにした。またセファレキシン耐性 *S. intermedius* group 関連浅在性膿皮症に対して、1日おきに2週間、計7回の2%CA単独療法で、8頭中5頭で抗菌薬が必要ない程度にまで改善がみられることを明らかにした。以上の結果から2%CAは2%および4%CGと同等の効果を認める製剤であり、犬細菌性膿皮症に対して臨床的に有効な治療法であることを明らかにした。

さらに、犬細菌性膿皮症に対する2%CAの有効な使用量を検討した。前研究の使用量57 ml/m<sup>2</sup>を基準として、1/2量(29 ml/m<sup>2</sup>)および1/3量(19 ml/m<sup>2</sup>)の比較を行った。1日おきに1週間(計4回)全身の洗浄したところ、57 ml/m<sup>2</sup>では、紅斑、脱毛、および鱗屑、29 ml/m<sup>2</sup>では紅斑、丘疹および膿疱、脱毛、および鱗屑、19 ml/m<sup>2</sup>では紅斑、脱毛、および鱗屑で有意に改善を認めた。3群間で有意差はみられなかったが、紅斑、丘疹および膿疱、および痂皮において、57 ml/m<sup>2</sup>が29 ml/m<sup>2</sup>や19 ml/m<sup>2</sup>に比べ高い改善率を認めた。以上の結果から犬浅在性膿皮症に対する2%CAは19~57 ml/m<sup>2</sup>使用することで皮膚症状の改善を認めるが、57 ml/m<sup>2</sup>がより有効であることを示している。

最後に、犬細菌性膿皮症に対する2%CAの無効の原因として多剤排出ポンプとの関連を検討し、犬細菌性膿皮症から分離された*S. pseudintermedius*100検体に対して多剤排出ポンプ遺伝子である*qacA*、*qacB*および*smr*の評価と酢酸クロルヘキシジン、グルコン酸クロルヘキシジン、アクリフラビン、塩化ベンザルコニウムおよび臭化エチジウムの最小発育阻止濃度(MIC)の評価を行っている。*qacA*、*qacB*および*smr*は、いずれの菌株からも認めなかった。多剤排出ポンプの感度が高いアクリフラビンのMICは、*S. aureus*において多剤排出ポンプを有する菌株では $\geq 64$   $\mu\text{g/ml}$ と報告されているが、申請者の研究では供試されたすべての菌株でアクリフラビンのMICは2  $\mu\text{g/ml}$ 以下であったとしている。以上から犬細菌性膿皮症に対して臨床的に2%CAが無効な要因として、多剤排出ポンプとの関連性はないことが申請者の研究で明らかになった。

以上、本研究では犬の細菌性膿皮症に対する2%酢酸クロルヘキシジン製剤の有効性を検討し、臨床的に2%酢酸クロルヘキシジン製剤による57 ml/m<sup>2</sup>を使用した頻回洗浄が有効であることを解明した。また犬細菌性膿皮症から分離した*S. pseudintermedius*から、*qacA*、*qacB*および*smr*の多剤排出ポンプ遺伝子を検出しなかった。筆者の研究から、2%CA単独療法は犬の細菌性膿皮症に対して全身性抗菌薬に変わる有効な治療法と考えられた。

## 審 査 結 果 の 要 旨

犬の細菌性膿皮症はその発生頻度の高さから、小動物臨床では非常に重要な疾患である。その起因菌の主体は*Staphylococcus pseudintermedius*であり、抗菌薬の全身量はその治療の中心を占めていた。近年メチシリン耐性*S. pseudintermedius*が報告され、抗菌性のシャンプー療法が外用療法として注目されている。抗菌作用を有する成分として過酸化ベンゾイル(BP)、乳酸エチル(EL)、クロルヘキシジンがあるが、クロルヘキシジンは刺激性が低いためにもっとも注目されている。しかし、その臨床的なエビデンスは少ないために、筆者は本研究で犬の細菌性膿皮症に対して、酢酸クロルヘキシジン(CA)の製剤としての有効性を*in vitro*および臨床例を用いて検討した。

筆者はまず、細菌性膿皮症から分離された*S. pseudintermedius*に対する2%CAの*in vitro*における有効性を、2.5%BPおよび10%ELと比較している。2%CA、2.5%BPおよび10%ELを希釈した溶液に*S. pseudintermedius*菌液を加えた後、培養を行いコロニーの発育を確認した。その結果、*S. pseudintermedius*に対して2%CAは2.5%BPや10%ELに比べ高い殺菌効果を認めることを解明している。

次に筆者は、2%CAにおける犬の細菌性膿皮症の臨床例に対する効果を検討した。2%CAと2%および4%CGの無作為化試験者盲検試験を実施した。また、セファレキシン耐性*Staphylococcus intermedius* group(SIG)菌による膿皮症に対して2%CAの有効性を検討した。以上の結果から筆者は2%CAは2%および4%CGと同等の効果を認める製剤であり、犬の細菌性膿皮症に対して臨床的に有効な治療法であることを明らかにした。

また、筆者らは細菌性膿皮症に対する2%CAの使用量を検討した。57 ml/m<sup>2</sup>を基準として、

1/2 量 (29 ml/m<sup>2</sup>) および 1/3 量 (19 ml/m<sup>2</sup>) を比較した。3 群間で有意差はみられなかったが、57 ml/m<sup>2</sup> が 29 ml/m<sup>2</sup> や 19 ml/m<sup>2</sup> に比べ高い改善率を認めた。以上の結果から犬細菌性膿皮症に対する 2%CA57 ml/m<sup>2</sup> がより有効であることを示した。

筆者は最後に、細菌性膿皮症に対する 2%CA が無効な症例の原因として、*S. pseudintermedius*100 検体に対して多剤排出ポンプ多剤排出ポンプ遺伝子である *qacA*, *qacB* および *smr* の発現を見た。その結果、犬の細菌性膿皮症に対して臨床的に 2%CA が無効な要因として、多剤排出ポンプとの関連性はないと考えられた。

以上、本研究は犬の細菌性膿皮症に対する 2%CA 製剤の有効性を検討し、2%CA 製剤による 57 ml/m<sup>2</sup> を使用した頻回洗浄が有効であることを示した。また、難治症例からは *qacA*, *qacB* および *smr* の多剤排出ポンプ遺伝子は検出されなかった。筆者は 2%CA 単独療法は犬の細菌性膿皮症に対して全身性抗菌薬に変わる有効な治療法である可能性があることを示した。

以上について、審査委員全員一致で本論文が岐阜大学大学院連合獣医学研究科の学位論文として十分価値があると認めた。

#### 基礎となる学術論文

- 1) 題 目 : Comparison of two formulations of chlorhexidine for treating canine superficial pyoderma  
著 者 名 : Murayama, N., Nagata, M., Terada, Y., Shibata, S. and Fukata, T.  
学術雑誌名 : Veterinary Record  
巻・号・頁・発行年 : 167(14):532-533, 2010
- 2) 題 目 : Efficacy of a surgical scrub including 2% chlorhexidine acetate for canine superficial pyoderma  
著 者 名 : Murayama, N., Nagata, M., Terada, Y., Shibata, S. and Fukata, T.  
学術雑誌名 : Veterinary Dermatology  
巻・号・頁・発行年 : 21(6):586-592, 2010
- 3) 題 目 : Dose assessment of 2% chlorhexidine acetate for canine superficial pyoderma  
著 者 名 : Murayama, N., Terada, Y., Okuaki, M. and Nagata, M.  
学術雑誌名 : Veterinary Dermatology  
巻・号・頁・発行年 : 22(5):449-453, 2011

#### 既発表学術論文

- 1) 題 目 : テトラサイクリンとニコチン酸アミドの併用療法を行った Idiopathic sterile granuloma and pyogranuloma の犬 2 例  
著 者 名 : 村山信雄, 高橋尚子, 樋詰俊章  
学術雑誌名 : 日本獣医師会雑誌  
巻・号・頁・発行年 : 9(3):127-130, 2003
- 2) 題 目 : エアデール・テリアの 1 家系に生じた再発性けん部脱毛症  
著 者 名 : 村山信雄, 高橋尚子, 樋詰俊章, 永田雅彦  
学術雑誌名 : 獣医臨床皮膚科  
巻・号・頁・発行年 : 11(1):1-4, 2005

- 3) 題 目： 全身性エリテマトーデスが疑われた猫の1例  
著 者 名： 村山信雄, 高橋尚子, 樋詰俊章  
学術雑誌名： 獣医臨床皮膚科  
巻・号・頁・発行年：11(2):61-64, 2005
- 4) 題 目： 日本スピッツに生じた水疱性皮膚エリテマトーデスの1例  
著 者 名： 山村知香, 大池三千男, 村山信雄, 柴田久美子, 永田雅彦  
学術雑誌名： 獣医臨床皮膚科  
巻・号・頁・発行年：11(3):125-128, 2005
- 5) 題 目： 犬の潜在性膿皮症における2%酢酸クロルヘキシジン含有外科用局所洗淨剤（ノルバサンサージカルスクラブ）の局所療法に関する効果：無作為二重盲検比較試験  
著 者 名： 永田雅彦, 村山信雄, 柴田久美子  
学術雑誌名： 獣医臨床皮膚科  
巻・号・頁・発行年：12(1):1-6, 2006
- 6) 題 目： ミニチュア・ダックスフンドにみられた皮膚エリテマトーデスの1例  
著 者 名： 村山信雄, 渡部英徳, 永田雅彦  
学術雑誌名： 獣医臨床皮膚科  
巻・号・頁・発行年：12(2):87-90, 2006
- 7) 題 目： キャバリア・キング・チャールズ・スパニエルにみられた亜鉛反応性皮膚症の1例  
著 者 名： 村山信雄, 田村一朗, 永田雅彦  
学術雑誌名： 獣医臨床皮膚科  
巻・号・頁・発行年：12(3):157-159, 2006
- 8) 題 目： 幼少時より認めた feline ceruminous cystomatosis の1例  
著 者 名： 村山信雄, 榊原一夫, 永田雅彦  
学術雑誌名： 獣医臨床皮膚科  
巻・号・頁・発行年：12(4):239-241, 2006
- 9) 題 目： いわゆる食物関連性リンパ球性毛包上皮炎に合致した猫の1例  
著 者 名： 村山信雄, 渡邊智子, 石川洵, 代田欣二, 永田雅彦  
学術雑誌名： 獣医臨床皮膚科  
巻・号・頁・発行年：14(3):139-142, 2008
- 10) 題 目： A case of superficial suppurative necrolytic dermatitis of miniature schnauzers with identification of a causative agent using patch testing  
著 者 名： Murayama, N., Midorikawa, K. and Nagata, M.  
学術雑誌名： Veterinary Dermatology  
巻・号・頁・発行年：19(6):395-399, 2008

- 1 1) 題 目： 非感染性の膿疱症が疑われたもののホスホマイシン投与後に皮疹の改善を認めたバーニーズ・マウンテン・ドッグの1例  
著 者 名： 村山信雄, 西藤公司, 伊從慶太, 吉村正幸, 永田雅彦  
学術雑誌名： 獣医臨床皮膚科  
巻・号・頁・発行年：15(3):135-140, 2009
- 1 2) 題 目： 皮膚病罹患犬における総 T4 値の診断的意義  
著 者 名： 永田雅彦, 寺田有里, 村山信雄  
学術雑誌名： 獣医臨床皮膚科  
巻・号・頁・発行年：15(3):141-143, 2009
- 1 3) 題 目： 犬アトピー性皮膚炎における高親和性 IgE 受容体を用いた血清抗原特異的 IgE 検査の臨床的意義  
著 者 名： 寺田有里, 村山信雄, 永田雅彦  
学術雑誌名： 獣医臨床皮膚科  
巻・号・頁・発行年：16(1):15-18, 2010
- 1 4) 題 目： Efficacy of weekly oral doramectin treatment in canine demodicosis  
著 者 名： Murayama, N., Shibata, K. and Nagata, M.  
学術雑誌名： Veterinary Record  
巻・号・頁・発行年：167(2):63-64, 2010
- 1 5) 題 目： 犬のマラセチア皮膚炎における 2%硝酸ミコナゾール・2%グルコン酸クロルヘキシジンシャンプー (Malaseb™) の効果：無作為化試験者盲検比較試験  
著 者 名： 村山信雄, 永田雅彦  
学術雑誌名： 獣医臨床皮膚科  
巻・号・頁・発行年：16(3):125-132, 2010
- 1 6) 題 目： *Sarcoptes scabiei* var. *canis* refractory to ivermectin treatment in two dogs  
著 者 名： Terada, Y., Murayama, N., Ikemura H., Morita, T. and Nagata, M.  
学術雑誌名： Veterinary Dermatology  
巻・号・頁・発行年：21(6):608-612, 2010
- 1 7) 題 目： Identification of a novel *Staphylococcus pseudintermedius* exfoliative toxin gene and its prevalence in isolates from canines with pyoderma and healthy dog  
著 者 名： Iyori, K., Hisatsune, J., Kawakami, T., Shibata, S., Murayama, N., Ide, K., Nagata, M., Fukata, T., Iwasaki, T., Oshima, K., Hattori, M., Sugai, M. and Nishifuji, K.  
学術雑誌名： FEMS Microbiology Letters  
巻・号・頁・発行年：312(2):169-172, 2010

- 18) 題 目 : Antimicrobial Susceptibility and methicillin Resistance in *Staphylococcus pseudintermedius* and *Staphylococcus schleiferi* subsp. *coagulans* isolated from dogs with Pyoderma in Japan  
著 者 名 : Kawakami, T., Shibata, S., Murayama, N., Nagata, M., Nishifuji, K., Iwasaki, T. and Fukata, T.  
学術雑誌名 : The Journal of Veterinary Medical Science  
卷・号・頁・発行年 : 72(12):1615-1619, 2010
- 19) 題 目 : Clinical comparison of human and canine atopic dermatitis using human diagnostic criteria (Japanese Dermatological Association, 2009) : proposal of provisional diagnostic criteria for canine atopic dermatitis  
著 者 名 : Terada, Y., Nagata, M., Murayama, N., Nanko, H. and Furue, M.  
学術雑誌名 : The Journal of Dermatology  
卷・号・頁・発行年 : 38(8):784-790, 2011
- 20) 題 目 : Gene transcription analysis in lesional skin of canine epitheliotropic cutaneous lymphoma using quantitative real-time RT-PCR  
著 者 名 : Chimura, N., Kondo, N., Shibata, S., Kimura, T., Mori, T., Hoshino, Y., Murayama, N., Nagata, M., Ide, K., Nishifuji, K., Kamishina, H. and Maeda, S.  
学術雑誌名 : Veterinary Immunology and Immunopathology  
卷・号・頁・発行年 : 144(3-4):329-356, 2011