

【原著・基礎】

抗菌薬含有凍結乾燥フィブリン塊による実験的化膿性骨髄炎の治療効果

山本 啓二¹⁾・糸数 万正¹⁾・加藤 直樹²⁾・渡辺 邦友²⁾¹⁾ 岐阜大学医学部整形外科科学講座・²⁾ 岐阜大学医学部附属嫌気性菌実験施設

(平成8年11月18日受付・平成8年12月17日受理)

新しく考案された抗菌薬含有凍結乾燥フィブリン塊の骨髄炎治療に対する有用性を探る目的で *in vitro* および *in vivo* 実験を行った。抗菌薬は arbekacin (ABK) を用いた。*in vitro* 薬剤徐放実験では、初期に高濃度の薬剤徐放が得られ、9 回液交換後の 18 日目では $0.4 \mu\text{g/ml}$ となった。ラットを用いた *Staphylococcus aureus* (ABK の MIC, $0.2 \mu\text{g/ml}$) による実験的脛骨骨髄炎に対する治療実験では、ABK 含有乾燥フィブリン塊群で、約 1/3 のラットにおいて病巣内細菌数が測定限界以下となり、郭清のみのコントロール群に比べ統計学的に有意な治療効果が得られた。また、ABK 含有乾燥フィブリン塊群では X 線所見で骨形成による骨孔の消失が見られ、組織学的にも明らかな治癒傾向と優れた骨誘導能がみられたことから、ABK 含有凍結乾燥フィブリン塊を用いた治療法はヒトの骨髄炎においても有望な治療法になることが示唆された。

Key words: fibrin, antibiotics, osteomyelitis, drug delivery systems

化膿性骨髄炎は整形外科領域においてもっとも治療に難渋する感染症の 1 つである。この難治の主因の 1 つは骨髄炎局所への抗菌薬移行の悪さによると思われる。このため、骨髄炎の治療法として抗菌薬の全身投与のみでは不十分であり、十分な病巣郭清の後、局所の抗菌薬濃度を高めるために抗菌薬による閉鎖性持続洗浄法¹⁾ もしくはセメントビーズ法²⁾ を行うのが一般的であり、一定の効果を得てきた。しかし、これらの治療法は何回もの手術を必要とし、ことに前者は患者が持続洗浄期間中長期間ベット上での安静を強いられ負担が大きい。この欠点を補うべく近年抗菌薬含浸ハイドロキシアパタイト法³⁾ が考案され一期的治療が可能となったが、現時点では経費が高いという欠点がある。

一方、フィブリン接着剤は生体親和性のある組織接着剤あるいは止血剤として開発され、整形外科領域では、神経接合⁴⁾、腱接合^{5,7)}、骨軟骨接合⁸⁻¹⁰⁾、植皮¹¹⁾ のほか、フィブリン海绵骨形成体として骨移植にも使用され^{7,12)}、優れた成績が報告されている。また、ハイドロキシアパタイトに比べ廉価である。骨・関節感染症領域ではこのフィブリン接着剤をフィブリン塊とし、薬剤の担体として骨髄炎治療に応用する試みは散見される¹³⁻¹⁵⁾ が、これらの報告においては抗菌薬混合によるフィブリン塊の凝固遅延によりフィブリン塊内には一定量の抗菌薬しか含有できないため抗菌薬の徐放が比較的速やかであり、また、自家骨を併用しなければ優れた治療効果は得られないことが指摘されている。しかしながら、自家骨採取は患者に多くの負担を与えることなどから、できれば回避したい方法である。そこで、著者らはこのフィブリン塊を用

いた骨髄炎治療法の効果をさらに高める方法の 1 つとして、フィブリン塊を凍結乾燥させることにより、より多くの抗菌薬を含有させる方法を発案したが、本法のヒトへの応用にさきだち、基礎的実験としての *in vitro* 薬剤徐放実験とラット骨髄炎の治療実験を行いその有用性を検討した。

I. 材料と方法

1. 抗菌薬含有凍結乾燥フィブリン塊の作製

薬剤含有フィブリン塊作製のためのフィブリン接着剤はボルヒール (藤沢薬品) を用い、抗菌薬は明治製菓より提供されたアミノ配糖体系の硫酸アルベカシン (ABK) 原末を用いた。ボルヒールは凍結乾燥された白色粉末のヒトフィブリンノゲン (ヒト血液凝固第 X Ⅲ 因子を含む)、ヒトトロンピン、牛由来アプロチニン溶液および塩化カルシウム溶液からなる製剤である (Table 1)。

フィブリン塊はフィブリンノゲンをアプロチニン溶液で溶解した A 液とトロンピン溶解液の塩化カルシウムに

Table 1. Ingredients of BOLHEAL

Fibrinogen solution, 1 ml	
Human fibrinogen	80 mg
Human antihemophilic factor X Ⅲ fraction	75 IU
Aprotinin solution	1,000 KIE
Thrombin solution, 1 ml	
Thrombin	250 IU
Calcium chloride	5.9 mg

ABK をあらかじめ溶解し、さらにトロンピンを溶解した B 液を等量混和し作製した。続いてフィブリン塊は ABK の徐放を高めるために凍結を 8 時間、真空乾燥を 32 時間行い、連続気孔を有する凍結乾燥フィブリン塊を作製した。これらの操作により最終的に、乾燥フィブリン塊 1 cm³あたり ABK を飽和量の 200 mg 含有させることができた。

2. 薬剤徐放実験

作製した乾燥フィブリン塊の経時的な薬剤徐放量は、フィブリン塊 1 cm³ を生理食塩水 3 ml とともに 5 ml 用のバイアル内に入れ、37 °C の恒温槽内に静置し、48 時間毎の生食水全液量交換法により測定した¹⁰⁾。

溶出液の ABK 濃度測定は高速液体クロマトグラフィーを用いて行った¹¹⁾。なおこの方法による ABK の検出限界値は 0.2 µg/ml である。

3. ラット骨髄炎の作製と治療法

実験動物は Wistar 系、雄ラット (12~13 週齢、体重約 350 g、中部科学) を用いた。実験的骨髄炎作製の菌株としては岐阜大学医学部附属嫌気性菌実験施設保存の *Staphylococcus aureus* GAI 91231 を使用した。なお寒天希釈法による 10⁶ CFU/ml 接種時のこの菌に対する ABK の MIC は 0.2 µg/ml であった。

実験的骨髄炎の作製方法は以下のごとくである。まずラットをネブタール麻酔し、清潔操作下 18 G 注射針を用いて右脛骨近位部に直径約 2 mm の骨孔をあけた。つぎに、長さ 8 mm の 2-0 VICRYL 糸 (ETHICON 社) 1 本を *S. aureus* GAI 91231 の菌浮遊液 (1×10⁸CFU/ml) に入れることにより糸に菌を付着させ (約 1×10⁸CFU/本)、これを骨孔に挿入し菌を骨髄内に接種した¹⁰⁾。菌付着糸を挿入した後の骨孔は骨ろう (ネストップ、日本商事) により塞いだ。

骨髄炎の ABK 含有凍結乾燥フィブリン塊による治療実験は予備実験により脛骨骨髄炎が確実に起きることが確認された菌接種4週間目に開始した。方法としては無菌的に電動リーマーで病巣を郭清し、生食水 40 ml で洗浄後、約 28~33 mg の ABK 含有凍結乾燥フィブリン塊を充填した。また同時にコントロール群として抗菌薬非含有凍結乾燥フィブリン塊充填群と郭清のみの群の 2 群を設けた。なおラットは各群 18 匹を使用した。

骨髄炎の治療効果の評価は、下記のごとく、X 線所見、組織学的所見および細菌学的所見を経時的に比較することにより検討した。

X 線所見: 郭清手術 1, 3, 5, 7, 10, 13 週後にソフテックス X 線撮影 (SOFT X-RAY FR フィルム, フジフィルム) を行い、新生骨の形成、骨膜反応および骨硬化や骨融解像を観察した。

組織所見: 治療開始 3, 7, 13 週後にラット 2 匹を安楽死させ、菌接種を行った右脛骨を摘出し、軟部組織を

除去した後 10 %ホルマリン溶液に固定した。ついで脱灰標本を作製しヘマトキシリン・エオジン染色を行った。

細菌学的所見: 病理組織学的観察と同様に、治療開始 3, 7, 13 週後に 4 匹を安楽死させ脛骨を摘出後、滅菌蒸留水 2 ml を加え乳鉢中でホモジナイズした。続いて静置後の上清を生食水で 10 倍段階希釈し、各液の 20 µl を Mueller Hinton 寒天培地 (日本ベクトンディッキンソン) にコンラージ棒で広げ、37 °C で培養した。各培地のコロニー数は 24~48 時間培養後測定し、骨髄内の生菌数を算出した。培養検出菌が接種菌であることの確認はコロニーの形態とグラム染色所見および任意に選んだコロニーのアピスタッフ (日本ビオメリユー・バイテック) でのコード番号の一致でもって行った。

これとは別に、治療実験に伴う郭清術の影響を知る目的で菌接種 4 週間後、郭清前後の脛骨骨髄内の生菌数を測定した。

4. 統計解析

骨髄内生菌数の各群間の有意差は SAS を用いた Tukey の多重比較検定で解析した。

II. 結 果

1. *in vitro* 薬剤徐放実験

凍結乾燥フィブリン塊の全液量交換法による徐放実験では、ABK は徐放開始 2 日後に 37.9 mg/ml のきわめて高濃度が徐放された。その後、生食水 2 回交換の 4 日後では開始時より 1 ケタ濃度が下がったものの、まだきわめて高い値を示し、6 回交換の 12 日後でも 14.0 µg/ml と高い数値を示したが、9 回交換の 18 日後で 0.4 µg/ml と低下し、以降は 0.2 µg/ml 以下となり薬剤が検出されなくなった (Fig. 1)。

2. 骨髄炎治療実験

X 線所見: 病巣郭清のみの郭清群では郭清時に拡大した骨孔は骨形成過程において X 線上軽度縮小するのみであったが (Fig. 2)、抗菌薬非含有乾燥フィブリン塊

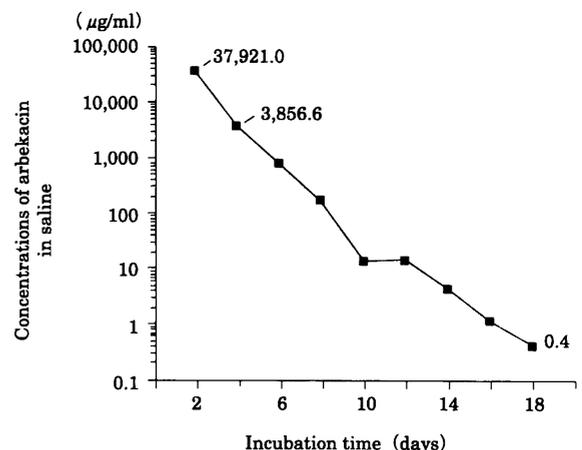


Fig. 1. Time course of arbekacin elution from freeze-dried fibrin antibiotic (FDFA) complex (1 cm³) into saline.

充填群では早期から郭清時の骨孔は骨融解像を示して拡大し、骨髄の形成も認められ、X線骨髄炎は悪化した (Fig. 3)。これに対し、抗菌薬含有乾燥フィブリン塊群では郭清時の骨孔周辺の骨硬化は3週まではこ

く軽度であり、その後は徐々に骨孔周辺は骨化し、7週でかなり均一となり、13週では骨孔は骨形成により消失し、明らかに治癒傾向を示した (Fig. 4)。

組織学的所見: 郭清群および抗菌薬非含有乾燥フィブ

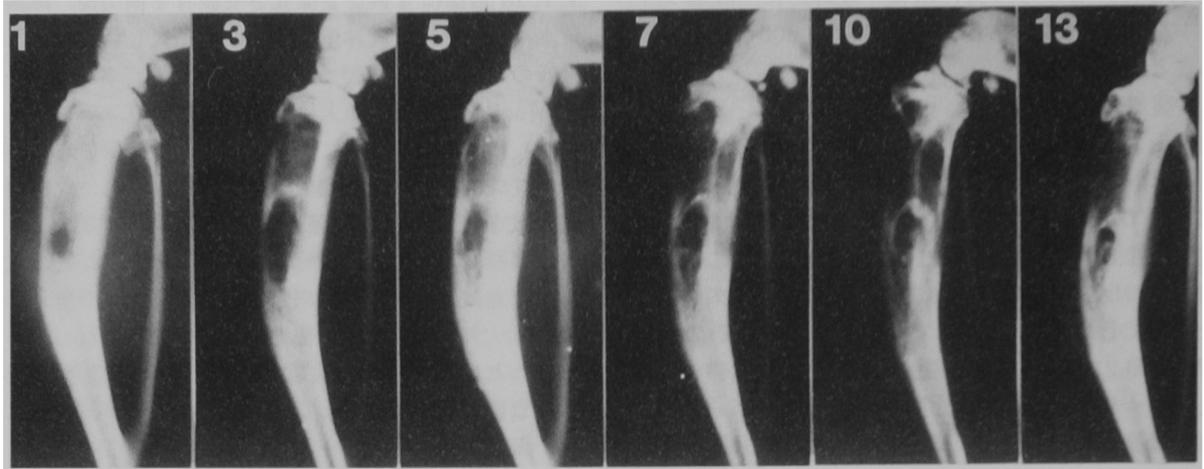


Fig. 2. Radiological changes in the infected tibia of a rat 1, 3, 5, 7, 10 and 13 weeks after curettage (panels 1, 3, 5, 7, 10 and 13, respectively).

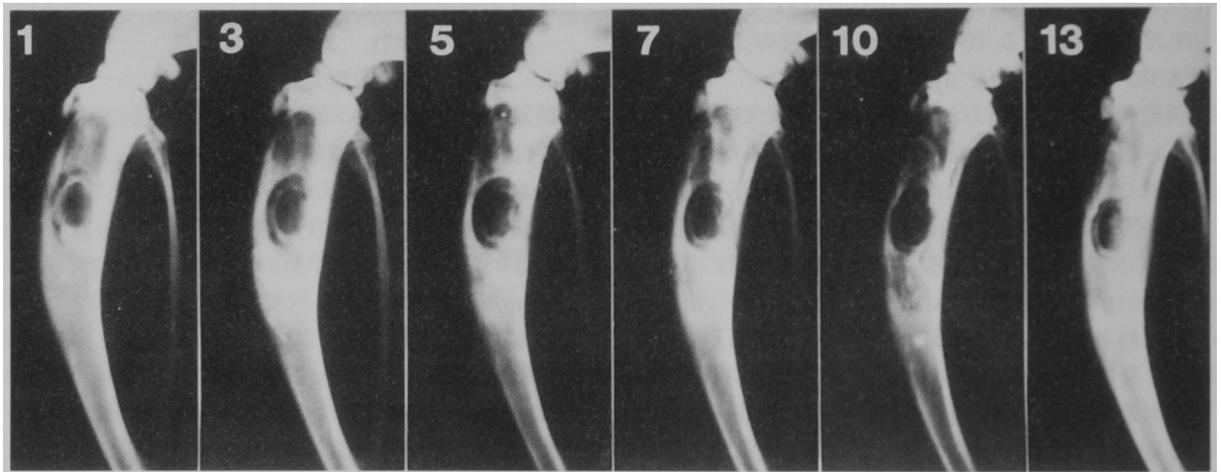


Fig. 3. Radiological changes in the infected tibia of a rat 1, 3, 5, 7, 10 and 13 weeks after curettage followed by filling with freeze-dried fibrin (FDF) alone (panels 1, 3, 5, 7, 10 and 13, respectively).

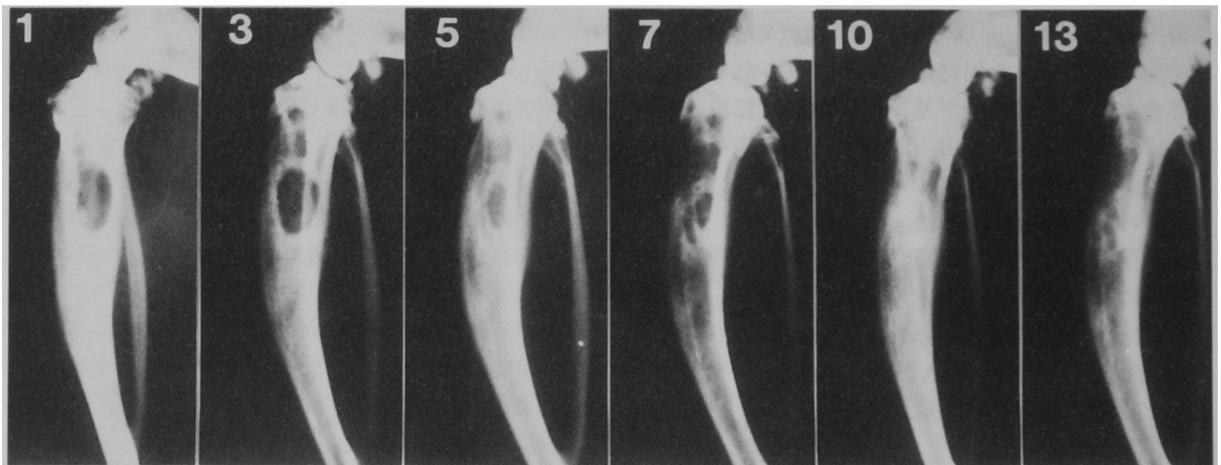


Fig. 4. Radiological changes in the infected tibia of a rat 1, 3, 5, 7, 10 and 13 weeks after curettage followed by filling with FDFA complex containing arbekacin (panels 1, 3, 5, 7, 10 and 13, respectively).

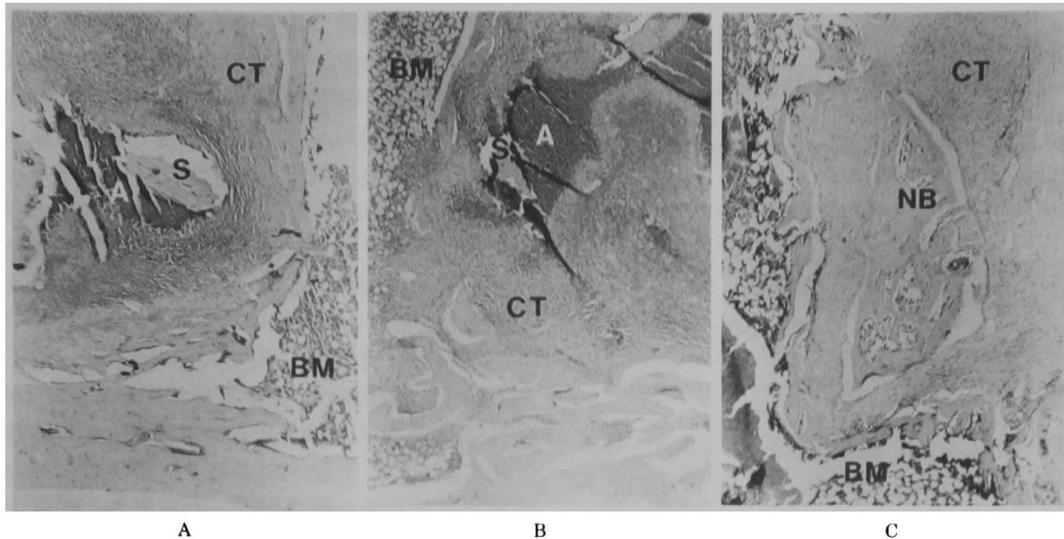


Fig. 5. Histopathological findings 7 weeks after treatment by curettage (panel A), FDF alone (panel B), or FDFA complex containing arbekacin (panel C) after H. E. stain (magnification, 40 \times). Abbreviations: A, abscess; BM, bone marrow; CT, connective tissue; NB, new bone formation; S, sequestrum.

リン塊充填群の組織像では、両者共に膿瘍を形成し、炎症の程度は後者の方がより高度であった (Fig. 5-A, B)。

一方、抗菌薬含有乾燥フィブリン塊群では、3週目の標本において一部に多形核白血球もみられたが、その程度は非含有群に比べて明らかに少なかった。またフィブリン塊部の器質化がすでに見られ、同部には良好な毛細血管の新生を認めた。骨孔の辺縁部では通常みられる炎症部と健常部との間の骨硬化はほとんど認めなかった。7週では一部に多形核白血球の遊走を認めたものの、骨孔内のフィブリン塊から派生したとみられる線維組織部はすでに新生骨で置換されている部位もあり、炎症が鎮静化した像を示した (Fig. 5-C)。13週では7週の像と同様であったが、ごく一部にのみ多形核白血球を認めた。また、フィブリン塊に対する異物反応としての異物巨細胞の出現などはまったく認めなかった。

細菌学的所見: 治療に伴う脛骨内の生菌数の推移は Fig. 6 に示した。抗菌薬非含有乾燥フィブリン塊群では、脛骨内生菌数は治療後3週目においてすでに治療前の細菌数とほぼ同レベルに増加した。郭清群は検討した3, 7, 13週の各週ではほぼ郭清、洗浄直後の菌数を示し、大きな変動はみられなかった。抗菌薬含有乾燥フィブリン塊群では3週, 7週と生菌数が低下し、13週では軽度上昇する傾向がみられたが、他の群に比べ明らかな菌数減少を認めた。

各治療群3週から13週までをまとめて比較検討すると、抗菌薬非含有乾燥フィブリン塊群の \log_{10} CFU (Mean \pm S.D.) は 6.33 ± 0.31 、郭清群では 4.75 ± 1.32 、抗菌薬含有乾燥フィブリン塊群では 3.17 ± 1.83 であり、各群間の Tukey の多重比較検定において抗菌薬含

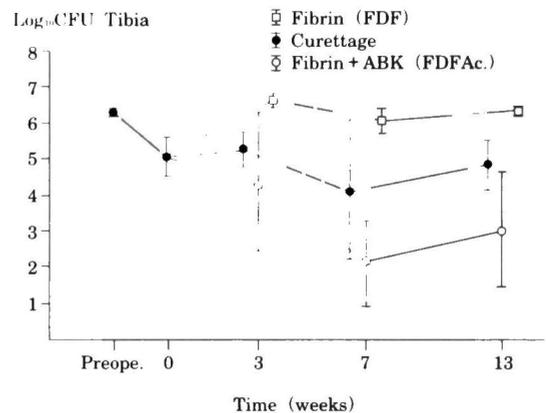


Fig. 6. Viable cell counts in the infected tibia of rats before and 3, 7, 13 weeks after treatment by curettage alone, curettage followed by filling FDF, and curettage followed by FDFA complex containing arbekacin.

有乾燥フィブリン塊群は他の2群に比し有意に低い菌数を示した (Fig. 7)。

III. 考 察

慢性化膿性骨髄炎の治療は、抗菌薬の常用投与量の全身投与では骨髄内の局所濃度が十分に高くなり、大量投与では副作用が発生しやすくなる。また、十分な治療効果をあげるためには長期の抗菌薬投与が不可欠である。そこで一般的には、局所の腐骨、壊死組織の搔爬除去を行い、その上で感染巣に有効な抗菌薬濃度を保つことが重要とされる。これまでは局所に有効な抗菌薬濃度を得る目的で、閉鎖性持続洗浄法やセメントビーズ法が主に行われていたが、最近ではハイドロキシアパタイトブロック法が臨床に応用されつつある。

本研究に用いたフィブリン接着剤は、薬剤の徐放が

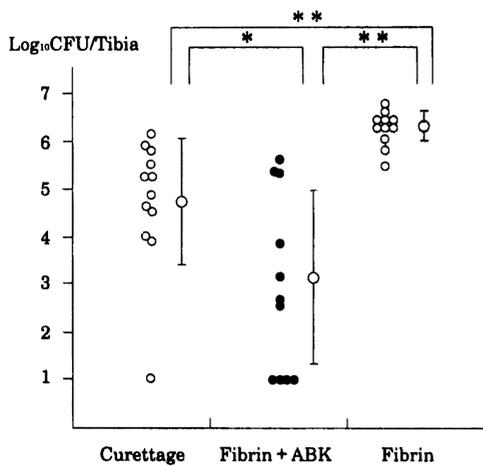


Fig. 7. Comparison of the bacterial counts in the infected tibia of rats after treatments by curettage alone, curettage followed by filling FDF, and curettage followed by filling FDFFA complex containing arbekacin. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ (Tukey's studentized range test). The number of viable bacterial cells was decreased more by FDFFA complex implantation than by the two other treatments.

期待でき、かつ死腔の充填に役立つと考えられる。杉本の兎の骨軟骨接合実験¹⁹⁾では、術後6日から10日目でフィブリンはほとんど吸収され、14日目ではほとんど認めていない。また、渡辺ら¹⁹⁾は健康ラット大腿骨に骨孔をあけフィブリン塊を挿入した後、電顕的観察を行った結果、4日でフィブリン塊はほとんど吸収され、1週間で穿孔部は新生骨梁によって満たされていると述べている。さらに骨欠損部に充填することにより優れた骨芽細胞誘導能を示すことが報告されている¹⁹⁾。

フィブリンに抗菌薬を含有させるにあたっては抗菌薬の担体として用いたフィブリンに及ぼす影響について検討されねばならないが、Greco²⁰⁾はフィブリン・抗菌薬混合体の電顕像では通常のfibrin clotと違いはないと述べている。しかし、抗菌薬混合フィブリン塊を作る場合、薬剤の濃度が上がるとフィブリノゲンのcross-linkingが障害され、フィブリン糊の凝固遅延が起こり、大量の薬剤が混合できないことが問題点として指摘されてきた²¹⁾。しかし、本論文で示した凍結乾燥処理は、凝固遅延を考慮することなく高濃度の薬剤を含有させることができ、かつ、骨欠損の充填物となりうる。また、乾燥フィブリン塊は凍結乾燥することにより連続気孔が発生し、水分があった部分の実質の体積を減じ、その体積分だけ骨孔内に抗菌薬を充填できる利点がある。

一方、凍結乾燥により発生した連続気孔により、抗菌薬が乾燥フィブリン塊から短期間に喪失することが危惧されるが、*in vitro*の薬剤徐放実験においてハイドロキシアパタイトブロック¹⁶⁾のような40日におよぶ長期の薬剤検出は見られなかったものの18日後でもABKが0.4 μg/ml検出された。通常のフィブリン塊を

用いた徐放実験では、使用薬剤や方法が異なるため一概には比較できないが、Boyceのdisc法による24時間²²⁾、Grecoの実験による4日間で無効との報告²⁰⁾と比較し、今回使用した凍結乾燥フィブリン塊は明らかに長い徐放がみられるものと思われる。さらに、以前から指摘されている通常のフィブリン塊の止血効果²³⁾が、今回の乾燥フィブリン塊を用いた実験においても骨髄からの出血抑制として認められたことはセメントペース法などのほかの方法にはない利点としてあげられる。

実験的骨髄炎の作製には、細菌の静注による全身接種法と、骨髄内への局所接種法がある^{18,24,25)}が、本実験には100%の骨髄炎成立が確認されている骨髄内接種法によった。上野²⁴⁾によると、菌付着絹糸の骨髄内接種法は反対側の脛骨や腎、血液中より細菌は見つからず、他臓器に感染を起こさせることなく骨髄炎を作製できる優れた方法であるとしている。

今回の実験において、郭清に続くABK含有フィブリン塊による治療は郭清後の抗菌薬不含フィブリン塊治療あるいは郭清のみの治療に比べ、X線所見、組織学的所見および細菌学的所見すべてにわたり、優れた効果を示していた。すなわち、ABK含有群のX線では、1,3週は郭清時の孔が辺縁の硬化なくそのまま残り以後全体的に徐々に骨化がみられた。これは炎症反応による反応性骨硬化がなく、すでに早期の殺菌により炎症が鎮静化されたことを示しているものと思われる。組織学的にはABK含有群では術後3週に乾燥フィブリン塊は線維性組織となり豊富な新生血管がみられ、術後7週では良好な新生骨を認めた。これらの骨組織の正常化への変化は他の治療群では見られない所見であった。細菌学的には脛骨内の生菌数はABK含有フィブリン治療群で完全除菌には至らなかったものの、他の治療群に比べ、有意に菌数の減少をみた。乾燥フィブリン塊からの抗菌薬の徐放をみると、*in vitro*と生体内の閉塞された空間との違いはあるが、徐放実験で約18日で薬剤は測定限界以下となっており、生体内で7週に渡り徐放し、抗菌薬の作用が持続していたとは考えにくい。杉立ら²⁶⁾は、抗腫瘍薬での実験ではあるが薬剤の徐放終了後も、フィブリン塊によりマクロファージ、Tリンパ球が誘導活性化され、免疫能を高めていると述べている。骨髄炎治療実験においても同様に、抗菌薬徐放終了後も免疫能亢進により骨髄内生細菌数の低下を促進したことも考えられる。

本研究ではアミノ配糖体系抗菌薬のABKを用いたが、ABKはきわめて安定性が高く、薬剤の溶解や環境温度の変化に強く長期間の保存でも不活化しにくい。すなわち、徐放薬剤としては良好な効果が期待できる抗菌薬といえる。またアミノ配糖体系抗菌薬は、セフェム系抗菌薬とは異なりpost antibiotic effectが強いことから有効薬剤濃度が長く続くよりはむしろ短期間で

もより高い有効濃度を保つほうが抗菌作用がより強く発揮される²⁰⁾。このことはアミノ配糖体の抗菌作用上、抗菌薬含有乾燥フィブリン塊で示された薬物動態が治療成績により有利に働いたものと考えられる。さらに、近年メチシリン耐性 *S. aureus* (MRSA) による感染症が問題となっているが、ABK は一部の MRSA に有効であることが示されており、MRSA による骨髄炎においても本剤は使用できる可能性が示唆されたものと思われる。

IV. 結 語

1. 新しく考案された抗菌薬含有凍結乾燥フィブリン塊の骨髄炎治療に対する有用性を探る目的で以下の基礎実験を行った。

2. *in vitro* ABK 徐放実験では、初期に高濃度の薬剤徐放が見られ、18 日後においても 0.4 $\mu\text{g}/\text{ml}$ の濃度が得られた。

3. ラットを用いた *S. aureus* による実験的脛骨骨髄炎に対する治療実験では、ABK 含有乾燥フィブリン塊群では、約 1/3 のラットにおいて病巣内細菌数が測定限界以下となり、郭清のみのコントロール群に比べ統計学的に有意な治療効果が得られた。また、X 線所見では骨形成による骨孔の消失が見られ、組織学的にも明らかな骨誘導が確認されたことから、本治療法はヒトの骨髄炎においても有望な治療法になることが示唆された。

謝 辞

フィブリン塊の凍結乾燥をご指導していただいた前岐阜大学工学部坂元隆一教授と、統計解析にご協力いただいた岐阜大学医学部公衆衛生学教室川上憲人助教授に深謝いたします。

この論文は第 44 回日本化学療法学会総会において、編集委員会より学会誌に投稿するよう推薦を受けたものである。

文 献

- 1) 川瀧真人, 岩淵 亮, 鳥巢岳彦, 北野元生: 局所持続洗浄療法の実験。整・災外 22: 131~135, 1979
- 2) Wahlig H, Dingeldein E, Bergmann R, et al: The release of gentamicin from polymethylmethacrylate beads. J Bone Joint Surg 60-B: 270~275, 1978
- 3) Itokazu M, Matsunaga T, Kumazawa S, et al: Treatment of osteomyelitis by antibiotic impregnated porous hydroxyapatite block. Clinical Materials 17: 173~179, 1995
- 4) Matras V H, Dinges H P, Lassmann H, et al: Zur nahtlosen interfazikulären Nerventransplantation im Tierexperiment. Wien Med Wochenschr 37: 517~523, 1972
- 5) 光島 勲, 松永若利, 波利井清紀: 高濃縮フィブリンーゲンを使用した神経接合に関する実験的研究。臨整外 18: 735~741, 1983
- 6) Egkher E, Spängler H, Spängler H P: Indication and limits of fibrin adhesive applied to traumato-

logical patients. In: Fibrin Sealant in Operative Medicine. Vol 7. Schlag G and Redl H ed, Berlin, Springer-Verlag, 144~153, 1986

- 7) Schlag G, Redl H: Fibrin sealant in orthopedic surgery. Clin Orthop 227: 269~285, 1988
- 8) Meyers M H, Herron M: A fibrin adhesive seal for the repair of osteochondral fracture fragments. Clin Orthop 182: 258~263, 1984
- 9) 杉本良洋: フィブリン接着剤による骨・軟骨片接合に関する基礎的ならびに臨床的研究。日整会誌 59: 1059~1072, 1985
- 10) Ishimura M, Tamai S, Fujisawa Y: Arthroscopic meniscal repair with fibrin glue. Arthroscopy 7: 177~181, 1991
- 11) 高山修身, 波利井清紀: フィブリン糊の臨床使用経験—遊離植皮術への応用—。外科診療 26: 129~134, 1984
- 12) Bösch P: Die Fibrinpongiosoplastik. Experimentelle Untersuchungen und Klinische Erfahrung. Wien Klin Wochenschr 93: 3~26, 1981
- 13) Zilch H, Lambiris E: The sustained release of cefotaxim from a fibrin-cefotaxim compound in treatment of osteitis Pharmacokinetic study and clinical results. Arch Orthop Trauma Surg 106: 36~41, 1986
- 14) Braun A: Preparation and application of fibrin-antibiotic complex. In: Fibrin Sealant in Operative Medicine. Vol 7. Schlag G and Redl H ed, Berlin, Springer-Verlag, 171~182, 1986
- 15) Lack W, Bösch P, Arbes H: Chronic osteomyelitis treated by cancellous homografts and fibrin adhesion. J Bone Joint Surg 69-B: 335~337, 1987
- 16) Itokazu M, Matsunaga T, Kumazawa S, et al: A novel drug delivery system for osteomyelitis using porous hydroxyapatite blocks loaded by centrifugation. J Appl Biomat 6: 167~169, 1995
- 17) 三宮奈由, 小宮 泉, 石渡信由, 他: アルベカシンの体液内濃度測定法。化学療法の領域 9: 2184~2191, 1993
- 18) 柴枝裕文: 弱毒性好気性菌と嫌気性菌の単独および複数菌接種による実験的骨髄炎の研究。日整会誌 62: 791~802, 1988
- 19) 渡辺千秋, 山田浩之, 渡辺裕子, 他: 生理的組織接着剤 (ペリプラストP[®]) の骨欠損填塞後の骨形成に関する組織学的解析。日口外誌 38: 353~365, 1992
- 20) Greco F, Palma L, Spagnolo N, et al: Fibrin-antibiotic mixtures: An *in vitro* study assessing the possibility of using a biologic carrier for local drug delivery. J Biomed Mater Res 25: 39~51, 1991
- 21) Redl H, Schlag G, Stanek G, et al: *In vitro* properties of mixtures of fibrin seal and antibiotics. Biomaterials 4: 29~32, 1983
- 22) Boyce S T, Holder I A, Supp A P, et al: Delivery and activity of antimicrobial drugs released from human fibrin sealant. J Burn Care Rehabil 15: 251~255, 1994
- 23) 新城 清, 長屋郁郎, 浅井富明, 他: 化膿性および結核性骨髄炎の死腔に対する一期的手術。日整会誌 67: 572~582, 1993
- 24) 上野博嗣: 実験的化膿性骨髄炎に関する研究—特にそ

- の作製法を中心として—。日整会誌 48: 291~301, 1974
- 25) Rissing J P, Buxton T B, Weinstein R S, et al: Model of experimental chronic osteomyelitis in rats. *Infect Immun* 47: 581~586, 1985
- 26) 杉立彰夫, 小早川清, 河原 勉, 他: フィブリン塊をドラッグキャリアとした局所癌化学療法—効果とメカニズムの解析—。痛と化学療法 18: 1817~1821, 1991
- 27) 清水喜八郎: 感染症治療の理論的背景—抗菌薬投与理論を中心として—。日産婦誌 43: 815~823, 1991

Efficacy of treatment with freeze-dried fibrin-antibiotic complex for experimental osteomyelitis in rats

Keiji Yamamoto¹⁾, Mansho Itokazu¹⁾, Naoki Kato²⁾ and Kunitomo Watanabe²⁾

¹⁾ Department of Orthopaedic Surgery, Gifu University School of Medicine, 40 Tsukasa-machi, Gifu-shi, 500 Japan

²⁾ Institute of Anaerobic Bacteriology, Gifu University School of Medicine

An *in vitro* and *in vivo* study was conducted to evaluate a novel tool, freeze-dried fibrin-antibiotic (FDFA) complex, for the treatment of osteomyelitis. The antimicrobial agent used was arbekacin (ABK). The *in vitro* elution study demonstrated that ABK was released from the FDFA complex into saline at a concentration of 37.9 mg/ml on day 1 and the antibiotic was detectable at 0.4 μ g/ml on day 18. In experiments with rats, *Staphylococcus aureus* (MIC of ABK, 0.2 μ g/ml) was inoculated into the right tibial medullary cavity along with a piece of absorbable thread. Implantation of the FDFA complex containing ABK 4 weeks after the bacterial challenge reduced the number of bacteria in the infected tibia to an undetectable level in one-third of the rats, a level which was not achieved by implantation of freeze-dried fibrin (FDF) alone or curettage alone. The roentgenographical and histopathological findings in the infected tibia showed that the FDFA complex containing ABK apparently steered the infected tibia to a curative course. These results suggest that implantation of the FDFA complex containing ABK is a promising alternative treatment for osteomyelitis caused by *S. aureus* in humans.