

## 11. ブロンスマ・ベルナのネブライザー投与における安全性に関する研究

熊谷丑二、 国分賢二、 江副洋二郎、 西村真一、  
山口良二、 立山 晋、 大塚宏光(宮崎大学農学部)  
古内一郎、 木谷孔保、 島田 均(独協医科大学耳鼻咽喉科)

### <はじめに>

古くから吸入療法は行なわれていたと言われてるが、近年科学技術の進歩はめざましいもので、吸入療法にも超音波ネブライザーが使用されるようになって来ている。

この方法により各種薬剤を微粒子にして標的器官である組織に吸入、到達させ治療効果を高める方法として選択される機会が増える傾向にある。

このためエアゾル療法を臨床的に使用する場合の急性毒性ならびに安全性に関する研究が強く望まれている。しかし、実際上人体で曝露実験を実施する場合多くの問題点と限界があることは否定できない。

亀井ら(1982)<sup>1</sup>はイヌについて気管支拡張剤のエアゾル吸入による肺機能や、心血管系に対する効果を調べている。

しかしながら、ネブライザー使用による組織障害に関する研究は、まだ行なわれていないのが現状である。

今回われわれは細菌性多価ワクチン製剤であるブロンスマ・ベルナ(以下BBと略す)を三和化学株式会社より供用を受けたので、超音波ネブライザーによる急性毒性ならびにその安全性に関する研究のうち、薬の組織障害について犬を用いて研究を行なった。

### <実験材料・方法>

使用薬であるブロンスマ・ベルナ(BB)の組成は表-1に示した。

表-1 組成性状

ブロンスマベルナは、1管(1ml)中に下記の成分・分量を含有する死菌(菌体及びその自家融解物)浮遊液である。

肺炎球菌(I・II・III型、配合割合1:1:1)	50×10 <sup>6</sup> 個
連鎖球菌	40 〃
ブドウ球菌(レモン色・黄色・白色ブドウ球菌、配合割合1:1:1)	500 〃
カタルナイセリヤ	60 〃
四連鎖球菌	20 〃
緑膿菌	250 〃
肺炎桿菌	40 〃
インフルエンザ菌	40 〃

ブロンスマ・ベルナは、微かに白濁した液で微弱な石炭酸臭がある。pHは6.3~7.1、浸透圧比は約1(生理食塩液に対する比)である。

使用器械は、オムロン社製超音波ネブライザーNEU-10とNEU-10Bを用い、生食水とBB10倍稀釈液をそれぞれ2ml/分の割合で霧化した。

実験犬は犬抑留所より搬入し、イヌデイステンバー、イヌ伝染性肝炎、および伝染性パルボ感染症のワクチンをそれぞれ接種した。7日前後一般状態を観察した後実験に使用した。

10kg以下の比較的若い犬24頭を以下のように4群に分け、43×48×60cmの犬用ケージにビニールを張り、この中に収容して超音波ネブライザーで霧化した薬液を一定時間で7日間連続の曝露吸入を行った。

- I群 生食水 5分/日 7日間連続
- II群 BB 10倍稀釈液 5分/日 〃
- III群 生食水 30分/日 〃
- IV群 BB 10倍稀釈液 30分/日 〃

一般症状は毎日観察したが、一般血液、血清生化学的検査については、試験開始前、開始後4日目と8日目に、X線検査は試験開始前と、開始後8日目に行った。

吸入開始後8日目にペントバルビタールナトリウムで安楽死後、剖検に供し、鼻・咽喉頭・肺を肉眼的に検査したのち10%ホルマリン液に浸けて保存し、必要に応じて脱灰を処し、病理組織学的検査を行った。

<結果>

I. 生食水、BB 10倍稀釈液を用いたいずれの群においても、一般症状(表-2)、一般血液学、血清生化学検査(表-3)、X線学的検査には特に異常は認められず、推計学上有意差は見い出せなかった。

表-2 一般症状

群	項目	検査日		T(°C)	P(回/分)	BW(kg)	元気	食欲	鼻汁	咳
I (n=6)		0	M S D	39.2 0.4	135 49	6.2 2.0	+	+	-	-
		4	M S D	38.7 0.4	98 21	6.2 2.0	+	+	-	-
		8	M S D	37.9 0.4	85 10	6.1 2.0	+	+	-	-
II (n=6)		0	M S D	39.1 0.5	111 37	8.0 0.3	+	+	-	-
		4	M S D	39.0 0.5	139 43	139 43	+	+	-	-
		8	M S D	39.0 0.8	118 27	7.9 0.3	+	+	-	-
III (n=6)		0	M S D	38.8 0.2	125 23	6.5 1.7	+	+	-	-
		4	M S D	38.9 0.5	132 3.5	6.4 1.8	+	+	-	-
		8	M S D	38.6 0.3	137 30	6.3 1.9	+	+	-	-
IV (n=6)		0	M S D	38.8 0.2	141 37	5.1 3.4	+	+	-	-
		4	M S D	38.9 0.3	144 43	5.1 3.2	+	+	-	-
		8	M S D	38.6 1.1	124 24	5.0 3.3	+	+	-	-

表-3 一般血液学・血清生化学的検査

項目 群	検査日		RBC (10 <sup>4</sup> /mm)	HT (%)	Hb (g/dl)	WBC (10 <sup>3</sup> /mm)	百 分 比 (%)					T. P (g/dl)	GOT (KU)	GPT (KU)	A/G (%)
							E o	S t	S g	L y	M o				
I (n=6)	0	M S D	570 194	47.2 10.1	14.4 3.2	98 24	4.3 2.0	1.0 1.3	72.0 11.7	18.0 10.7	4.7 2.1	7.5 0.9	40.0 12.6	30.3 12.3	1.0 0.4
	4	M S D	476 89	35.3 8.2	10.3 2.6	111 58	3.2 1.3	4.8 1.3	73.7 4.6	17.2 4.3	1.2 1.0	6.8 0.4	64.7 22.7	41.8 26.3	1.5 0.8
	8	M S D	496 81	38.4 13.2	11.5 3.7	125 40	5.2 4.6	3.3 2.6	68.8 10.2	19.3 8.4	3.0 2.0	6.8 0.8	30.0 8.1	30.3 13.3	0.9 0.4
II (n=6)	0	M S D	501 95	33.5 6.1	12.3 3.4	140 54	2.5 1.2	3.8 4.4	62.5 10.9	26.5 11.7	4.8 3.1	7.4 0.7	56.0 15.1	28.0 8.7	1.1 0.6
	4	M S D	554 122	36.0 6.0	11.3 2.0	116 41	2.2 2.2	4.3 3.9	81.5 8.7	8.3 6.7	3.7 2.3	7.1 0.6	42.0 8.2	25.8 15.6	1.0 0.5
	8	M S D	513 113	34.2 5.1	12.4 2.9	107 15	3.6 1.9	3.8 6.1	59.8 13.5	28.8 13.1	4.3 1.6	6.8 0.7	46.7 13.0	15.8 16.5	1.0 0.8
III (n=6)	0	M S D	488 82	32.0 7.5	11.0 2.2	124 113	3.7 2.2	3.2 2.0	75.8 5.3	15.0 6.7	3.0 1.3	5.8 0.7	38.3 8.7	17.5 6.4	1.8 1.3
	4	M S D	472 111	33.0 5.8	10.1 1.6	118 68	5.0 3.2	2.0 1.3	67.0 24.4	20.5 14.8	1.8 1.5	5.0 1.3	33.2 8.7	18.3 14.7	1.0 0.2
	8	M S D	492 117	32.8 5.9	10.3 2.0	165 38	3.3 3.5	2.5 1.0	64.8 23.9	26.5 20.0	3.2 2.1	5.2 1.1	35.4 10.6	24.6 11.7	1.5 0.9
VI (n=6)	0	M S D	463 88	31.8 3.8	8.9 1.6	154 46	6.8 2.7	1.8 1.5	70.5 8.5	19.7 6.3	1.2 0.8	5.5 0.6	38.6 4.0	32.8 6.1	1.5 0.9
	4	M S D	531 72	31.5 4.7	8.7 1.8	156 65	8.8 3.9	2.8 1.5	70.2 6.9	16.8 6.3	1.3 0.8	5.5 1.1	43.1 11.3	41.1 18.4	1.2 0.7
	8	M S D	473 38	30.0 3.8	8.8 1.4	179 93	9.3 2.9	3.7 2.8	56.5 9.8	28.3 8.2	2.2 1.6	5.1 0.6	46.6 10.7	42.8 7.1	1.5 0.9

II. 病理解剖・組織学的検査

表-4 病理解剖・組織学的検索結果

群	器官	鼻	気管	肺
I (n=6)	肉眼的	著変なし	著変なし	著変なし
	組織学的	著変なし	著変なし	肺うっ血 % 肺胞壁肥厚%
II (n=6)	肉眼的	著変なし	著変なし	著変なし
	組織学的	著変なし	著変なし	肺うっ血 % 肺胞壁肥厚%
III (n=6)	肉眼的	著変なし	著変なし	著変なし
	組織学的	著変なし	著変なし	肺うっ血 % 肺胞壁肥厚%
VI (n=6)	肉眼的	著変なし	著変なし	著変なし
	組織学的	著変なし	著変なし	肺うっ血 % 肺胞壁肥厚%

鼻粘膜は全群共に特に著変はないが、一部に上皮細胞の脱落と固有層の細胞浸潤が認められた。

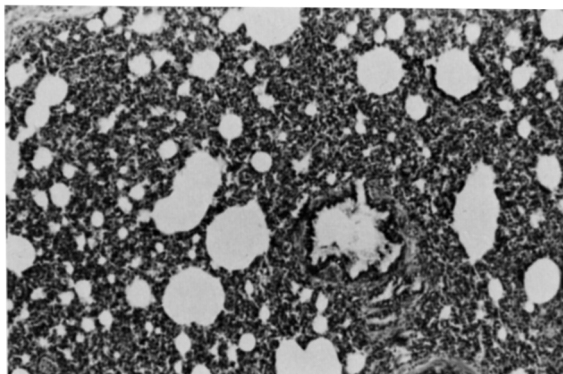
気管粘膜は全群共に肉眼的に著変はないが、気管上皮細胞は粘液分泌亢進を伴う肥厚や増殖による活性化を認める例があった。

肺は、I群、III群、II群には著変は認めにくい例から、肺のうっ血ならびに肺胞壁の肥厚の著しい例まであ

って、その変化はうっ血を伴う結合織（間質）系細胞の増殖が主体であった。

なお細気管支等の気管上皮は全般に杯細胞が活性化し、増殖肥厚が見られた。

Ⅳ群では、全例に肺の間質が肥厚し、肺胞の虚脱、間質系の細胞、線維系細胞、マクロファージ、及びリンパ球の浸潤を伴う組織像が見られた。（写真－1）



Ⅲ．アナフラキシー症状、および死亡例は見られなかった。

#### <考 察>

本実験中死亡例およびアナフラキシー症状を呈した例は無かったし、一般症状および一般血液学・血清生化学的検査でも特に異常を認めなかったから、特に毒性は無いものと思われる。

しかし、X線学的検査や、剖検時の肉眼的検査では、気道には特に異常を認めなかったにもかかわらず、病理組織学的に全実験群に肺の病変を認めた例が多く、その中で生食群、BB群ともに吸入時間の長い群に肺の組織障害が強く顕われており、特にBB30分群の全例に肺胞壁の肥厚を伴う顕著な組織障害が認められたことは、エアゾル療法の安全性に問題があると推測される。

本研究では、実験条件にかなりの無理があったことは否定できないが、その問題点を挙げて見ると

Ⅰ．狭いビニール張りの犬用ケージを使用して、曝露吸入実験を行ったためにケージの中は白い霧のような微粒子が充満しており、これにより湿度、温度の上昇をまねく結果となり、この中に収容されている犬は落着きがなく、呼吸速拍で換気不全を伴う酸素欠乏の状態にあることがうかがわれ、病理組織学的にも肺に残気量の乏しい所が得られたことから、きびしい実験環境に置かれたことが考えられる。

Ⅱ．吸入時間、吸入期間については、一般にエアゾル療法の基本は短時間で少量の薬で効果を出すために、週に1～2回が原則であると言われている。

本実験では、一般使用の吸入時間の2倍から10～15倍と長く、しかも7日間連続で曝露吸入したことは肺への薬物の沈着を増し、肺に病変を起こさせる可能性があり得ることを示すものと考えられる。

Ⅲ．吸入使用薬のうち、特にBB30分群に肺の病変が強く顕われたことは、BB中に微量含まれるフェノールの問題があるとも考えられる。

Ⅳ．生食群でも肺に変化が見られたことは、超音波振動によって発生するエアゾルの微粒子が、深部にまで到達したことによる物理的障害が大きく関与しているものと推測される。

以上のことから、エアゾル療法使用薬と、吸入方法によっては、人間の場合でも気道に組織障害が発現する

可能性も有り得るものと考えられ今後更に安全性の高い吸入方法を求めて研究を進めて行きたいと思う。

#### <ま と め>

生食水、BB10倍稀釈液を使用した7日間のエアゾル曝露吸入実験により、一般症状、一般血液学、血清生化学的および、X線学的検査では、特に異常を認めなかったし、アナフラキシー症状や、死亡例が見られなかった。

しかし、5分間の短い吸入時間でも7日間続けると、肺に機能的変化を起し、特に30分間に亘る長時間吸入群では、肺胞壁の肥厚を伴う残気量の乏しい肺の機能的変化を示す組織障害の像が、両群に認められたことは、今後の問題点としてエアゾル粒子の径、吸入量、吸入時間、吸入期間や実験条件等についての詳しい検討が必要であると考えられる。

#### <文 献>

1) Hideo KAMEI, Minoru HIRANO, Kimio KAWANO, Hideo IMANISHI and Hiroshi KAWA  
GUCHI: Anti-Asthematic Activity of BB-1502 by Inhalation. *Japan. J. pharmacol.* **32**, 315-322 (1982).