

ブロンカスマ・ベルナのネビュライザー投与による 安全性に関する研究 II

宮崎大学農学部

熊谷 丑二, 江副 洋二郎, 泉 裕司
森 耕太郎, 竹下 明美, 山口 良二
立山 晋, 大塚 宏光,

獨協医科大学 耳鼻科

古内 一郎, 木谷 孔保, 島田 均

第8回医用エアゾル研究会において、犬にブロンカスマ・ベルナ（B.B）の10倍希釈液をエアゾル化して、7日間、1日1回5分又は30分間密閉ケージ内で曝露吸入させると病理組織学的検査で、肺のうっ血と肺胞壁の肥厚を示す例が多く見られたことを報告したが、これらの病変の原因は実験条件が非常に厳しかったか、B.Bに0.4%の割合で含まれている石炭酸が関与しているのではないかと考えられた。

そこで今回は吸入条件を緩和し、また対照実験として石炭酸の吸入を行った。

実験材料・方法

B.Bの組成は表-1に示した。1 ml中に石炭酸が4 mg含まれている。

実験犬は前回と同じく犬管理所より比較的若齢の犬を搬入し、犬ジステンパー、犬伝染性肝炎、および犬パルボウイルス感染症ワクチンを接種したのち7日間以上健康状態を観察して異常を認めなかったものを使用した。

20頭を表-2に示した5群に分け、V群は無処置対照群とした。オムロン社製超音波ネビュライザー NEU-10 Bを用い、1 ml/分の割合で霧化し、小動物吸入麻酔用マスクで吸入させた。吸入は犬をあらかじめアセチルプロマジン 0.5 mg/kgの皮下注射で鎮静して行った。

表-1 組成性状

ブロンカスマベルナは、1管（1 ml）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 ⁶ 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 "
四連鎖菌	20 "
緑膿菌	250 "
肺炎桿菌	40 "
インフルエンザ菌	40 "
フェノール	4 mg

ブロンカスマ・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。

毎日一般状態を観察し、一般血液、血清生化学的検査は試験開始前、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。

試験開始8日目にペントバルビタールナトリウムで安楽死後、気管支や肺の肉眼的、および肺の気管側と終末側で組織学的検査を行った。

表-2 実験方法

群	頭数	吸入液	吸入量	吸入時間	吸入期間
I	3	注射用蒸留水	1ml/分	3分/日	7日間連続
II	3	0.4%フェノール 120倍希釈液	"	"	"
III	5	ブロンカスマ・ ベルナ 120倍希釈液	"	"	"
IV	5	ブロンカスマ・ ベルナ 12倍希釈液	"	"	"
V	4	無処置 7日間飼育			

表-3 一般状態

群	検査日		T(°C)	P(回/分)	BW(kg)	元気	食欲	鼻汁	咳
I (n=3)	0	M	39.3	130	4.8	+	+	-	-
		SD	0.4	28	0.8				
	4	M	39.2	160			+	+	-
		SD	0.9	23					
	8	M	39.6	134			+	+	-
		SD	0.7	41					
II (n=3)	0	M	39.0	88	6.7	+	+	-	-
		SD	0.4	21	1.0				
	4	M	39.0	92			+	+	-
		SD	0.2	9					
	8	M	39.1	104			+	+	-
		SD	0.2	14					
III (n=5)	0	M	38.7	114	6.4	+	+	-	-
		SD	0.9	27	2.0				
	4	M	39.1	116			+	+	-
		SD	0.6	43					
	8	M	39.0	128			+	+	-
		SD	0.8	40					
IV (n=5)	0	M	38.6	109	6.2	+	+	-	-
		SD	0.9	20	1.0				
	4	M	39.4	117			+	+	-
		SD	0.3	16					
	8	M	39.1	103			+	+	-
		SD	0.4	16					

結果

1 生前検査所見

一般状態の観察および一般血液、血清生化学的検査成績は表-3、表-4の通りで、いずれ試験群においても特記すべき異常は全く認められなかった。またX線検査においても異常所見は認められなかった。

2 肺の肉眼的組織学的検査所見

表-5に一括して示した。肉眼的検査ではいずれの試験群においても著変は認められなかった。組織学的検査では蒸留水対照群（I群）（写真-1）と無処置対照群（V群）では著変は認

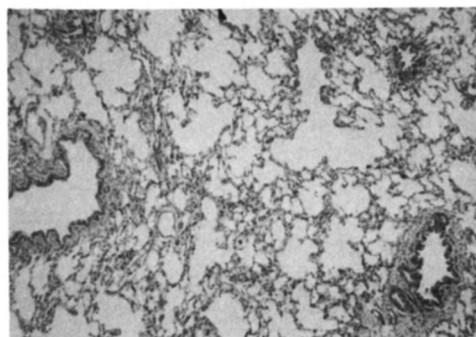


写真-1 蒸留水対照群

肺胞には著明な変化は見られない。

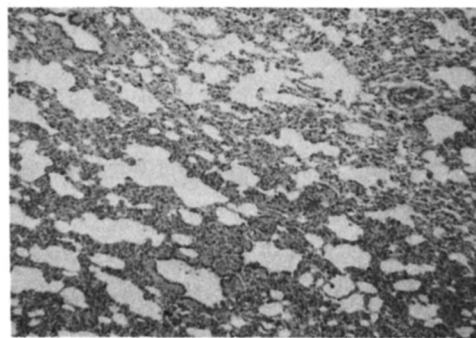


写真-2 BB 120倍希釈吸入群（×12弱拡大）

BBの吸入により肺胞壁が退縮し、持続刺激による線維化が生じ、結合織系細胞が増殖し、やや含気量が乏しい。

められなかったが、B. B 吸入群（Ⅲ，Ⅳ群）ではいずれも肺の終末側と気管側の肺胞の退縮と

壁の肥厚がⅢ群（写真-2）で 3/5，Ⅳ群で 5/5 に認められ，その肥厚部には少量のマクロファージ浸潤や結合織系細胞の増殖などが観察され，

表-4 一般血液学・血清生化学的検査

群	検査日	WBC ($\times 10^3/\text{mm}$)	百 分 比 (%)					Ht (%)	T. P (g/dl)	GOT (KU)	GPT (KU)	A/G (%)	
			Eo	St	Sg	Ly	Mo						
Ⅰ (n=3)	0	M	98	0	5.8	62.5	30.8	0.8	35.0	5.7	43.8	19.0	8.1
		S/D	21	0	0.8	11.7	12.0	1.0	9.5	0.9	14.1	2.3	6.0
	4	M	136	1.7	4.0	60.7	32.7	1.0	32.2	6.1	81.4	19.6	13.5
	S/D	45	1.2	1.7	10.2	8.6	1.7	4.0	0.1	30.6	1.8	3.4	
	8	M	143	2.7	0.7	76.7	16.0	4.0	31.3	5.5	66.8	20.3	16.2
	S/D	21	3.8	1.2	14.1	12.8	2.0	4.0	0.6	22.3	3.0	5.1	
Ⅱ (n=3)	0	M	81	1.0	4.7	72.0	20.3	2.0	37.3	7.0	43.1	32.2	17.8
		S/D	9	1.0	1.5	6.6	9.6	1.7	2.5	0.8	10.6	13.0	4.2
	4	M	113	3.7	1.7	59.0	32.7	2.7	31.3	6.0	65.9	30.2	11.0
	S/D	10	1.5	0.6	11.5	11.0	1.2	2.9	0.6	36.3	9.0	6.0	
	8	M	120	2.7	1.7	79.0	13.7	1.7	33.0	6.5	68.3	34.6	8.2
	S/D	66	3.1	0.6	7.2	8.1	2.9	2.0	1.4	30.7	17.2	6.0	
Ⅲ (n=5)	0	M	123	1.4	3.4	66.6	25.8	2.8	35.2	5.9	57.1	50.3	12.0
		S/D	62	1.5	3.9	14.5	15.7	1.1	5.0	0.9	26.7	31.4	1.4
	4	M	131	0.8	2.8	70.4	24.8	1.2	31.8	6.4	65.7	39.1	11.4
	S/D	37	1.3	3.0	10.6	12.6	1.3	9.7	0.5	18.0	13.7	4.1	
	8	M	115	1.4	2.8	56.8	33.0	3.0	32.9	6.3	53.4	37.5	12.3
	S/D	42	1.7	3.0	20.8	17.4	3.3	6.1	1.0	11.1	5.7	4.6	
Ⅳ (n=5)	0	M	127	1.0	4.4	57.4	34.2	3.0	30.2	7.0	46.4	25.8	8.8
		S/D	17	1.0	3.3	9.5	10.5	1.0	10.0	0.4	10.7	12.2	4.8
	4	M	130	0	2.2	67.8	27.2	2.8	27.8	5.9	45.1	28.0	11.8
	S/D	37	0	5.2	13.0	14.1	1.9	5.2	0.3	5.1	7.9	3.2	
	8	M	126	0.4	2.2	58.2	33.4	4.2	27.9	5.6	46.5	22.8	10.3
	S/D	50	0.9	5.2	13.2	10.5	1.1	6.4	0.2	20.3	8.0	2.2	

含気量が減じていた。これらの所見は終末側と気管側の肺胞はほぼ同様であったが、傾向としては終末気管支周囲の肺胞壁の反応が強いように思われた。また B. B 吸入群の肺の終末気管支に渗出物および細胞浸潤がⅢ群で 2/5，Ⅳ群で 4/5，肺の気管側気管支にⅢ群で 3/5，Ⅳ群で 4/5 に認められた。石炭酸吸入群（Ⅱ群）では気管支には全く著変は認められず，細胞壁の肥厚が認められるものがあつたが，B. B 吸入群に比して軽度であった。

考 察

今回の実験では程度の差はあるが，Ⅱ群（石炭酸吸入群）とⅢ，Ⅳ群（いずれも B. B 吸入群）で肺胞の退縮とマクロファージの浸潤や結合織系細胞の増殖を伴う肺胞壁の肥厚が認められ，B. B 中に含まれる石炭酸それ自体が病変の発生要因となっていることがわかつた。しかし，同じ石炭酸濃度を有している B. B 吸入群で病変がひどかつたことから，B. B も当然病変発生の要因となっていることは明らかである。前回生食水を 5 分間と 30 分間吸入させたいずれの試験群

表－5 肺の肉眼的・組織学的検索結果

	肉眼的 所見	組織学的所見			
		終末側		気管支側	
		肺胞	気管支	肺胞	気管支
I (n=3)	著変 なし	著変 なし	著変 なし	著変 なし	著変 なし
II (n=3)	著変 なし	肺胞壁 肥厚 2/3	著変 なし	肺胞壁 肥厚 1/3	著変 なし
III (n=5)	著変 なし	肺胞壁 肥厚 3/5	滲出物 細胞浸 潤 2/5	肺胞壁 肥厚 3/5	滲出物 細胞浸 潤 3/5
IV (n=5)	著変 なし	肺胞壁 肥厚 5/5	滲出物 細胞浸 潤 4/5	肺胞壁 肥厚 5/5	滲出物 細胞浸 潤 4/5
V (n=4)	著変 なし	著変 なし	著変 なし	著変 なし	著変 なし

でも同じ程度の肺の病変が観察された¹⁾が、今回蒸留水を吸入させた I 群では病変が認められなかった。したがって食塩もまた病変の発現に関与していると考えられる。B.B と類似の製剤である IRS19[®] のスプレイ・ワクチネーションで肺胞壁のマクロファージの食作用を 2 倍以上に上昇させることが知られており、B.B も同様の非特異的作用を有していると推測される。加藤²⁾ らは、*Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella enteritidis* に対する B.B の全身投与による感染防御効果を認めており、また伊藤³⁾ も Carbon clearance test において網内系の活性を認めたと述べている。我々が B.B の吸入で観察した肺胞壁のマクロファージの浸潤は B.B の網内系の活性化作用と考えるよりは、石炭酸や食塩と同様肺胞壁への薬物としての直接刺激と判断の方が妥当であろう。

B.B の吸入を 30 分間行った前回の実験群では肺の病変が B.B の 5 分間吸入群と比較して顕著に発現し、吸入時間が長くなれば当然病変もひどくなることを示している。しかし、生食水だ

け 30 分間吸入させた実験群の病変は軽度で、生食水 5 分間吸入群と大差がなかった。このことは食塩の刺激作用が非常に弱いことを意味しているかの判断はしかねるが、いずれにしても B.B や他の薬物を長時間吸入させることは避けるべきである。

大井⁴⁾ はマウスに B.B を経鼻的に吸入させ、肺に肉芽腫形成、出血、うっ血、炎症反応、無気肺などの病変を観察しているが、犬を用いた今回の実験では肉芽腫形成、無気肺などの病変は認められなかった。

まとめ

蒸留水、0.4% 石炭酸 120 倍希釈液、B.B 12 倍希釈液および B.B 120 倍希釈液を用いた吸入実験を行った。

一般状態の観察、一般血液、血清生化学検査、X 線検査および肉眼的剖検では、いずれの実験群においても異常所見は認められなかった。

肺の組織学的検査では、肺胞の退縮とマクロファージの浸潤や結合織系細胞の増殖を伴う肺胞壁の変化が、程度の差はあるが石炭酸吸入群 (II 群) および B.B 吸入群 (III・IV 群) で認められ、また気管支に滲出物および細胞浸潤が B.B 吸入の 2 群 (III・IV 群) に観察された。しかし蒸留水吸入群 (I 群) および無処置対照群 (V 群) では肺の病変は全く観察されなかった。これらの肺の病変は薬物の吸入刺激によるものと判断される。

参考文献

- 1) 熊谷丑二他：ブロンカスマ・ベルナのネビュライザー投与における安全性に関する研究。第 8 回医用エアロゾル研究会，1984。
- 2) 加藤延夫他：第 16 回日本細菌学会中部支部総会，1979。
- 3) 伊藤 均他：Broncasma Berna による網

内系機能の活性化とくに MFC 療法における併用効果. CHEMOTHERAPY 28; 1344, 1980.

- 4) 大井益一他: Broncasma Berna のモルモット鼻腔投与による全身アナフィラキシーと組織障害の検討, 第 8 回医用エアロゾル研究会, 1984.

討 論

質問; 斎藤 (東京医歯大)

B.B からフェノールを除去した液での試験群は検討されたか。

応答; 熊谷

していない。

質問; 海野 (旭川医大)

①気管壁の肥厚も生体にとってプラスの反応と考えられるか。②実際の治療にも用いられているか。③マスクの呼吸とは経鼻腔の呼吸か。

応答; 熊谷

- ① よい clinical effect であろうと考えられるが, この件については今後の研究に期待したい。
- ② 小動物に実際に用いた例があると聞いている。
- ③ そうです。