

ヒスタグロビンネビュライザー療法の基礎的検討

帝京大学溝口病院耳鼻咽喉科

石塚 洋一, 鰐淵 伸子, 丸山 敬史

はじめに

ヒスタグロビンネビュライザー療法は、鼻アレルギーに日常臨床で広く用いられている治療法の一つである。鼻疾患に対するネビュライザー療法は有効性の高い局所療法と考えられている。しかし、薬剤を鼻粘膜に直接投与するといった点からは、種々の副作用を考慮した使用法が望まれる。

そこで今回われわれは、ヒスタグロビンネビュライザー療法の安全性を検討する目的で、モルモットを用いた基礎的研究を行ったので報告する。

対象および方法

(1) 実験方法

Hartley系雄性モルモット（体重は平均400g）を用いて各群はすべて4匹で実験した。

モルモットにヒトγグロブリンの代りにモルモットγグロブリンで調整した0.0375%ヒスタミン加モルモットγグロブリン（以下モルモットHGと略す）を1日8回、最高4週間まで超音波ネビュライザー（NE-U 10B, 立石電気）にて連続投与を行った。超音波ネビュライザーは薬物を1.6ml/分の霧化速度で1回当たり10分間噴霧した。噴霧方法はアクリル製ケース（30×47×30cm）内にモルモット4匹を入れ、ビニール樹脂製ホース（内径22mm）を介して超音波ネビュライザーにて噴霧した。モルモットHG1匹当たりの1回噴霧量は1.5mgで、これは日常臨床でヒトに用いている40倍に相当する量である。

抗原性試験の比較対照薬として0.0375%卵白アルブミンを上記と同じ方法で、1日8回、最高4週間連続噴霧を行った。

組織障害性実験の比較対照薬として生理食塩

液を1日8回、4週間連続噴霧を行った。

組織障害性実験の陽性対照薬としてグルコン酸クロルヘキシジン液（ヒビテン[®]）を0.5%の濃度で1日8回、1週間連続噴霧した。

(2) 検査項目

i) 一般状態と体重

噴霧期間中は毎日1回体重を測定するとともに、一般状態を観察した。

ii) 血液学的検査

噴霧1週間、2週間、4週間後に白血球数、赤血球数、血小板数、ヘモグロビン量を測定した。

iii) 血液生化学的検査

GOT, GPT, BUNを各期間の噴霧終了後に測定した。

iv) 抗原性試験

a. Schultz-Dale 反応

アナフィラキシー反応により、平滑筋が収縮する現象を用いた抗原性試験である。モルモットを放血致死させ、回腸を直ちに摘出した後、被験薬を添加して回腸の収縮を観察した。被験薬の添加前後で塩化アセチルコリンを反復作用させて回腸の収縮高が一定であることを確認した。

b. 同種受身皮膚アナフィラキシーテスト (PCA テスト)

剪毛したモルモット背部に血清原液0.1mlを皮内感作し、感作4時間後に5mgの抗原を含む1%エバンスブルー生理食塩液を1匹当たり1ml、前肢静脈内に投与してPCA反応を誘発した。抗原投与30分後に断頭屠殺し、PCA反応により生じた色素漏出を観察した。

v) 組織観察

a. 走査型電顕による観察

放血致死させたモルモットから直ちに試料を

採取し、走査型電子顕微鏡 (S-570 型, 日立) を用いて観察した。観察部位は篩骨甲介鼻粘膜の呼吸上皮, 咽頭粘膜, 気管および気管分岐部の粘膜について線毛の変形, 脱落, 短小化および胚細胞の膨隆などの変化を観察した。

b. 顕微鏡および透過型電顕による観察

上記と同様に試料を採取し, 顕微鏡 (トルイジンブルー染色) と透過型電子顕微鏡 (H-600型, 日立) で鼻中隔中央部, 篩骨甲介, 咽頭および気管粘膜下の炎症細胞浸潤, 浮腫, 上皮細胞間隙の拡張などに着目して観察した。

結果

(1) 一般状態と体重

モルモット HG 噴霧群においてすべての噴霧期間で一般状態に異常は観察されなかった。無処置群とモルモット HG の 4 週間連続噴霧群の体重の推移を比較したが, 両群の間に差は認めなかった。

(2) 血液学的検査

白血球数, 赤血球数, 血小板数およびヘモグロビン量ともに無処置群 (n=12) とモルモット HG (n=4) の 1 週間, 2 週間, 4 週間連続噴霧群との間に有意な差は認めなかった (図 1)。

(3) 血液生化学的検査

GOT, GPT, BUN ともに無処置群 (n=14) とモルモット HG (n=4) の 1 週間, 2 週間, 4 週間連続噴霧群との間に有意な差は認めなかった。

(4) 抗原性試験

Schultz-Dale 反応と PCA test の結果を表 1 に示した。モルモット HG 噴霧群では噴霧期間に関係なく, 両方の抗原性試験ともに全く反応は認めなかった。卵白アルブミン噴霧群では 1 週間連続噴霧群では反応を認めなかったが, 2 週間, 4 週間連続噴霧群において両抗原性試験ともにすべてのモルモットで陽性反応を認めた。

(5) 走査型電顕による組織観察

i) モルモット HG 噴霧群

1 週間噴霧では鼻, 咽頭, 気管および気管分岐部とも特別な変化はみられなかった。2 週間噴霧では 1 例に鼻粘膜線毛の短小化が観察された以外, いづれの粘膜ともに変化はみられなかつ

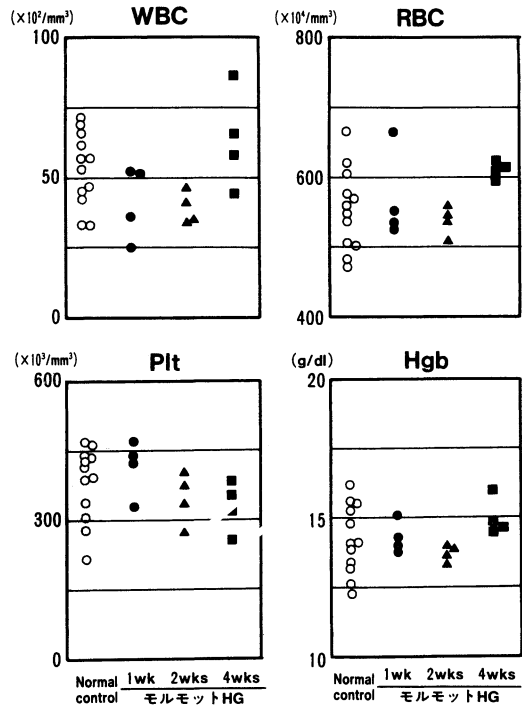


図 1 無処置群とモルモットHG 噴霧群における血液学的検査の比較

た。4 週間噴霧で鼻粘膜線毛の膨化様変化および短小化が各々 1 例ずつ観察された (図 2)。気管分岐部において 1 例に線毛の一部脱落がみられた。



図 2 モルモットHG 4 週間噴霧後の鼻粘膜走査電顕像

ii) 生理食塩液噴霧群

鼻粘膜線毛の乱れおよび湾曲と気管分岐部において線毛の凝集様変化が1例ずつみられた。

iii) ヒビテン[®] 噴霧群

鼻粘膜では2例に粘膜の完全な剥離、他の2例でも線毛の脱落、短小化および先端の湾曲がみられた(図3)。咽頭でも同様の変化がみられ、

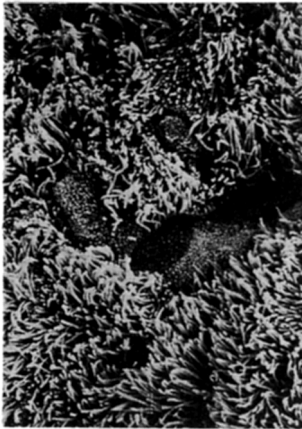


図3 ヒビテン[®] 噴霧後の鼻粘膜走査電顕像

気管および気管分岐部では全例にさらに強い変化として観察された。

(6) 光顕および透過型電顕による組織観察

i) モルモットHG噴霧群

鼻中隔粘膜に炎症細胞浸潤と浮腫がすべての噴霧期間に観察されたが、1週間噴霧では軽度であった。咽頭や気管粘膜において特別な変化はみられなかった。

ii) 生理食塩液噴霧群

鼻粘膜で1例に軽度の炎症細胞浸潤、3例に浮腫がみられた。上皮細胞間隙の拡張も2例にみられた。咽頭では2例に軽度の浮腫がみられたが気管では特に変化はみられなかった。

iii) ヒビテン[®] 噴霧群

鼻中隔粘膜で全例に強い炎症細胞浸潤がみられ、その内の2例では上皮細胞の剥離および扁平上皮化生が観察された(図4)。2次ライソゾームと考えられる顆粒の増加が認められた。咽頭では1例に炎症細胞浸潤がみられたが気管では

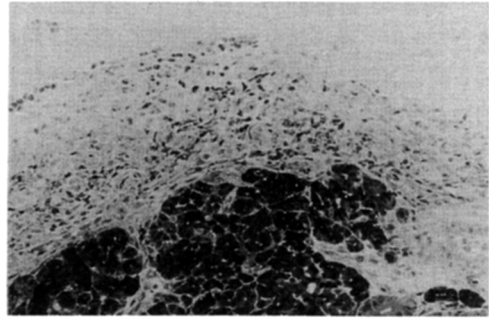


図4 ヒビテン[®] 噴霧後の鼻粘膜光顕像(×200)

特に異常は認められなかった。

考 察

ネブライザー療法は、鼻アレルギーや副鼻腔炎などに対し広く用いられている治療法の一つである。薬剤を目的とする病巣局所に速やかに高濃度に到達させることができる特色を持っているが、薬剤アレルギーや副作用といった問題もあり¹⁾、薬剤選択などには注意が必要と思われる。

ヒスタグロビン[®](以下HGと略す)は非特異的療法剤として鼻アレルギーに用いられており、ネブライザー療法にも応用されその有効性が報告されている²⁾。HGネブライザー療法の臨床成績からは特別な副作用の報告はなく、基礎的な検討においてもHGがウサギ鼻粘膜から吸収されることおよびマウス鼻粘膜線毛運動に障害を与えないことが確認されている。

一方、表面麻酔剤である塩酸リドカインや末梢血管収縮剤である塩化オキシメタゾリンを噴霧することによりモルモット鼻粘膜に形態学的な障害が生じることが報告され、ネブライザー療法において薬剤が粘膜局所に悪影響を与える可能性も示唆されている³⁾。

そこで、今回われわれはモルモットを用いてモルモットHGの長期噴霧実験を行い、局所に及ぼす影響を組織学的に観察するとともに全身に与える影響についてもあわせて検討した。

今回の実験ではモルモットHGのモルモット1匹当たりの1日噴霧量を、臨床使用量の300倍に設定して最高4週間連続噴霧した。

その結果、一般状態、体重の推移、血液学的検査においてモルモットHG噴霧の影響と思われる変化は認められなかった。また血液生化学的検査を施行したが、GOT、GPT、BUNにおいてモルモットHG噴霧群と無処置群との間に差は認めなかった。したがってモルモットHGのネブライザー噴霧による全身への影響はなく、肝腎機能に対しても問題なかったものと考えられる。

ネブライザー噴霧の長期使用による薬剤の感作という問題に対しては抗原性試験を行って検討した。今回用いた抗原性試験はSchultz-Dale反応とPCA testであるが、モルモットHG噴霧群では両試験ともに無反応であり感作は成立していなかった。

しかし卵白アルブミン噴霧群では、1週間噴霧では抗原性試験に反応はみられなかったが、2週間噴霧群、4週間噴霧群では両試験ともに陽性反応を示し感作が成立していた。

これは、抗原性の強い薬剤をネブライザー噴霧した場合には感作が成立する可能性を示唆しているものと考えられ、そのような薬剤の使用に際しては十分な注意が必要と思われる。

組織学的検査ではモルモットHGの4週間噴霧群で気管分岐部において線毛の一部脱落が見られ、鼻粘膜において2週間噴霧群より炎症細胞浸潤、浮腫、線毛の膨化様変化、短小化などの変化が観察された。生理食塩液噴霧群においても鼻粘膜で炎症細胞浸潤、浮腫、浮腫に起因すると考えられる上皮細胞間隙の拡張および線毛の列の乱れや湾曲が、咽頭で浮腫が、さらに気管分岐部において線毛先端の凝集様変化が観察された。これらの変化はヒビテン[®]噴霧群で観察された上皮細胞の剥離や高度な炎症細胞浸潤などの変化に比較すると軽微なものであった。モルモットHG噴霧群と生理食塩液噴霧群で観察された変化は必ずしも同一ではないが、両者の間に明らかな差は認められず、モルモットHGに直接的な気道粘膜障害作用はほとんどないものと推察された。

しかしながら、今回行った噴霧条件では生理食塩液噴霧群においても粘膜の変化が見られた

ことから、ネブライザー療法を施行する際には噴霧期間などを考慮する必要があると思われる。また、ヒビテン[®]噴霧群で強い気道粘膜障害作用が認められたが、ヒビテン[®]は耳鼻科領域において手術部位の皮膚の消毒剤として繁用されており、鼻粘膜あるいはその周囲で使用する際には留意しなければならない点と思われる。

ヒビテン[®]噴霧群では気管分岐部に強い組織障害を認めたことから、ネブライザー療法では下気道への影響を十分に考慮した薬剤の選択が必要と思われる。

以上のことより今回の動物実験からは、モルモットHGのネブライザー長期噴霧による副作用はなく、抗原性も認めなかった。また組織障害性も軽微であったことからヒスタグロビンネブライザー療法は安全性の高い治療法と思われる。

まとめ

ヒスタグロビン[®]のモデル製剤としてヒスタミン加モルモット γ グロブリンを作製し、超音波ネブライザーによりモルモットに1日8回、最高4週間連続噴霧した時の全身および気道粘膜に及ぼす影響について検討した。さらに卵白アルブミンを1日8回、最高4週間連続、生理食塩液を1日8回、4週間連続、ヒビテン[®]を1日8回、1週間連続噴霧を行って同様に検討し以下の成績を得た。

1) 一般状態、体重、血液学的検査、血液生化学的検査（GOT、GPT、BUN）においてヒスタミン加モルモット γ グロブリン噴霧の影響と考えられる変化は認められなかった。

2) Schultz-Dale反応および同種PCA testによる抗原性試験において、ヒスタミン加モルモット γ グロブリンによる感作は認められなかったが、卵白アルブミンの2週間以上の噴霧群において感作が認められた。

3) ヒスタミン加モルモット γ グロブリン噴霧群の組織学的検討では主に鼻粘膜に軽度の炎症細胞浸潤、浮腫、線毛の膨化様変化、短小化などが認められたが、これらの変化は生理食塩液噴霧群と比較して差異はなく、ヒスタミン加

モルモットγグロブリンによる気道粘膜への直接的な障害性はほとんどないものと推察された。

4) ヒビテン[®]噴霧群の組織学的検査では、鼻粘膜において粘膜の剝離や線毛の脱落、短小化、先端の湾曲がみられ、咽頭や気管および気管分岐部でも同様の変化が認められた。鼻粘膜では強い炎症細胞浸潤がみられた。

した。ヒスタグロビンと生理食塩液によって起こった変化は可逆性のものでしょうか。ヒビテン噴霧での回復試験は同様の変化が認められ、ヒビテンによって起こった組織の変化は不可逆性のものでしょうか。

文 献

- 1) 坂倉康夫, 他: ネブライザー療法にともなう副作用について - アンケート調査による研究 -, 耳喉 52: 99 ~ 104, 1980.
- 2) 石塚洋一, 他: 気道アレルギーに対するヒスタグロビンエアロゾル療法の臨床的研究, 耳展 28 (補1): 70 ~ 76, 1985.
- 3) 大野郁夫: 局所薬物療法の鼻粘膜上皮細胞に及ぼす影響に関する走査電顕的研究, 耳鼻 29: 909 ~ 928, 1983.

討 論

質問; 高坂 (東北大)

チェンバー内のモルモット (複数の) に対してエアロゾルを噴霧した場合に、動物によって吸入量に差異を生じ易い。今回のデータでは均質なデータが得られたようだが、何か工夫をされた点があるのか。

応答; 石塚 (帝京大溝口)

1日8回という噴霧であり、投与量と投与回数が多かったことから卵白アルブミンでは、4匹とも抗原性試験が陽性に出たものと考えられます。

質問; 大越 (東邦大大橋)

各種薬剤における粘膜の変化は可逆的なのか否か。

応答; 石塚 (帝京大溝口)

今回発表しておりませんが、ヒスタグロビンと生理食塩液噴霧群では4週間噴霧後に1週間無処置で組織をみましたが、異常ありませんで