

エクサシンの気道粘膜に対する影響について

山梨医科大学 耳鼻咽喉科

中澤 勉, 久松 建一,
岸 保鉄也, 村上 嘉彦

はじめに

現在、アミノ糖系の抗生剤は、エアロゾル療法に広く用いられている。

今回我々は、硫酸イセパマイシン Isepamicin Sulfate (ISP)；エクサシン®を、エアロゾル療法に応用するため、基礎的研究として、モルモットの気管粘膜を用い、in vitro で粘膜表面像と繊毛活性への影響を検討し報告した。

実験材料及び方法

体重約 500 g 雄ハートレー系モルモット 3 尾 (A, B, C) を使用し、Nembutal 腹腔内投与にて麻酔、直ちに気管を摘出し、気管粘膜を気管軟骨と共に 0.5mm 厚の ring 状とした。採取した気管粘膜は、20% FCS 含 20 mM HEPES/RPMI-1640 中にて、37°C, 5% CO₂ 下で 48 時間培養の後、倒立位相差顕微鏡に CO₂ chamber を装置し、10% FCS 含 20 mM HEPES/RPMI-1640 中 37°C, 5% CO₂ 下で incubate しながら

粘膜表面を観察、VTR 録画した。TV monitor 画面に約 2,500 倍に拡大された画像より繊毛活性を光学電氣的に測定した。

ISP を 20mM HEPES/RPMI-1640 に溶解し、pH 未調整 2% (pH 6.8), 5% (pH 6.7), 7% (pH 6.5) の 1 ml を気管粘膜に暴露し、最高 5 日間に及ぶ観察を施行した。更に 2%, 5% については、30 分間暴露後瞬時に 1 ml の 20mM HEPES/RPMI-1640 (FCS 不含) にて 3 回洗浄し同様に観察した。また、ISP 2%, 5%, 7% を pH 7.4 に調整した pH 調整群についても検討した。粘膜表面の profile の変化の grading は、2,500 倍に TV monitor 上に拡大された画像を観察して、粘膜表面の細胞の 25% 以下の変化を +, 25~50% の変化を ++, 50~75% の変化を +++, 75% 以上の変化を ++++ とした。

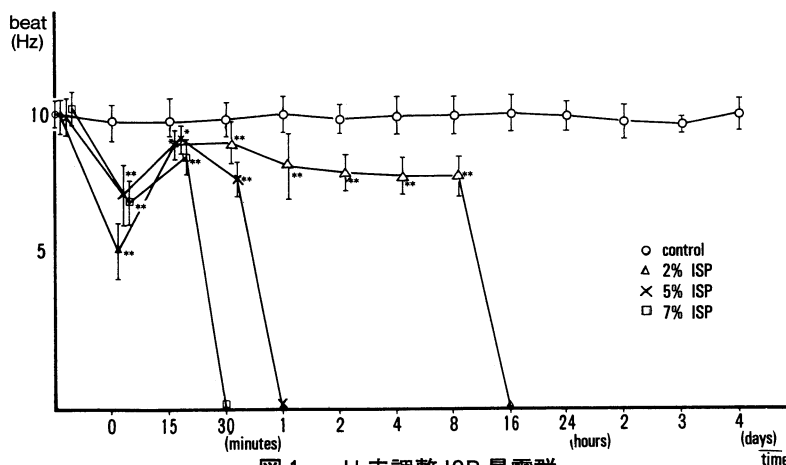


図 1 pH 未調整 ISP 暴露群

実験成績

1) 2%, 5%, 7%のいずれの pH 未調整 ISP によって、暴露直後に繊毛活性の低下が認められた。回復の速度については様々であるが、何れも15分後には回復し、その後7%においては30分後に、5%では1時間後に繊毛運動停止細胞の出現を認めた。2%においては、15分で回復を認め、その後繊毛活性の軽度低下を認めたが16時間に至り繊毛活性の停止を認めた(図1)。

2) 2%, 5% pH未調整 ISPに30分暴露後1mlの 20 mM HEPES/RPMI-1640 にて3回洗

浄した。2%, 5%とも暴露直後に繊毛活性の低下を認め、15分で回復傾向を示し、30分後の洗浄によってほぼ control level にまで回復した。その後、5%では2日目に、2%では3日目に繊毛運動停止細胞の発現を認めた(図2)。

3) 2%, 5%, 7%の pH 調整 ISP については、いずれも8時間までは、繊毛活性が保たれているが7% ISP では16時間後、5%では3日後、2%では5日に至って繊毛運動停止細胞の発現を認めた(図3)。

4) 繊毛運動停止発現時間に関しては、pH

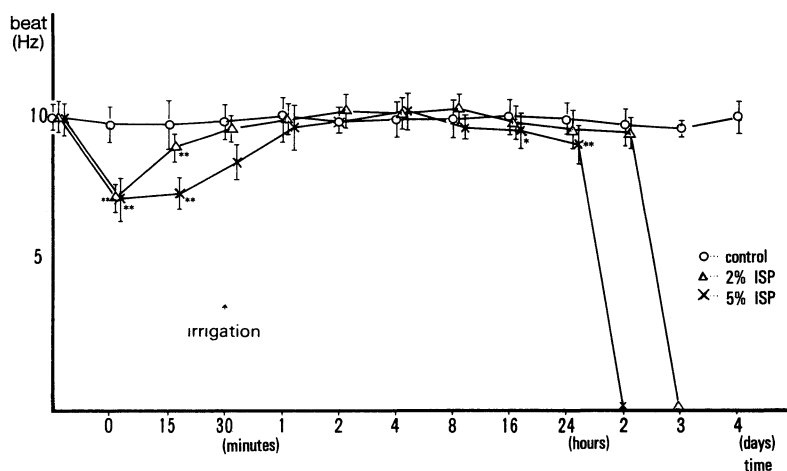


図2 pH 未調整 ISP 30分暴露後洗浄群

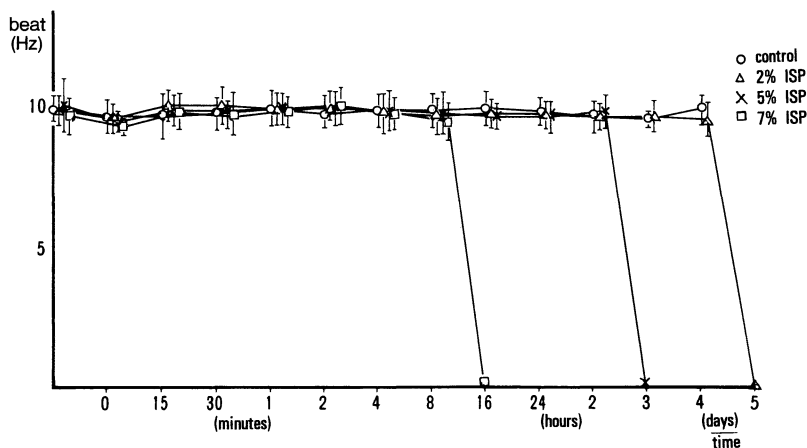


図3 pH 調整 ISP 暴露群

未調整群に比べて調整群の方に、有意な延長を認めた。ISP 濃度と暴露時間は、負の相関を示した。pH 調整の 2% ISP では、3 例中 2 例に、4 日間経過後も繊毛運動停止発現を認めなかった(図 4)。

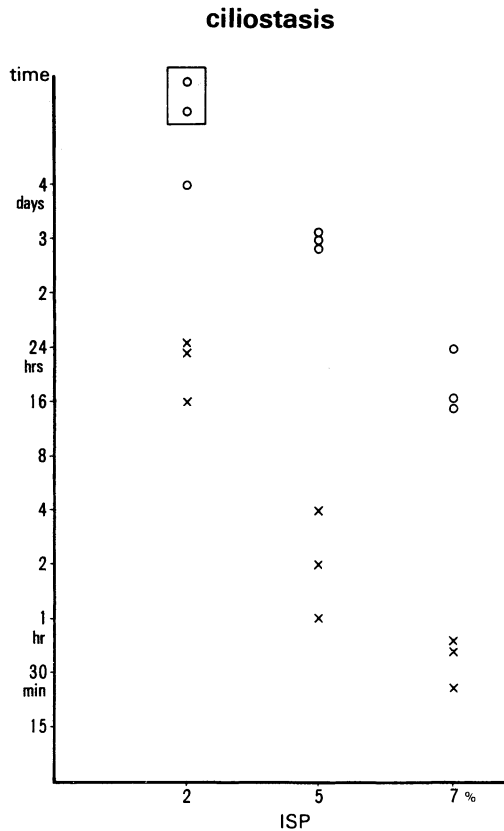


図 4 pH 未調整 ISP 暴露群 (×) および pH 調整 ISP 暴露群 (○)

考 察

今回用いた ISP は、耐性菌が少なく、他のアミノ糖系の抗生剤に比べ、聴器毒性が低く、腎毒性も軽度であり、安定性も高くエアロゾル療法への応用が期待される薬剤である。そこで我々は、in vitro でモルモット気管粘膜を用い、ISP の繊毛活性並びに粘膜表面像に与える影響について検討した。

まず pH による繊毛活性への影響が知られているので、20 mM HEPES/RPMI-1640 で溶

解した 2%、5%、7% ISP を作成し pH を測定したところ、それぞれ pH 6.8、6.7、6.5 を示した。今回の実験においても、pH 未調整の ISP による暴露直後の繊毛活性の抑制と、比較的短時間での、繊毛運動停止を認めた。したがって、エアロゾル療法に应用する際には、投与薬液の pH の検討が必要だと思われる。

in vivo においては、粘膜よりの吸収、拡散、繊毛運動による局所よりの排除などの clearance の存在が考えられる。この clearance による、粘膜の障害の防御作用も考えられることから、今回我々は次のごとき実験を試みた。pH 未調整 ISP 30分暴露後の洗浄を試みると、繊毛活性の抑制並びに、繊毛運動停止発現までの時間の延長を認めた。この成績は、in vivo における clearance 機構が粘膜障害防御作用を有することを示唆している。

次に、pH を 7.4 に調整した ISP について検討すると、pH 未調整 ISP に比べ、pH 調整 ISP は、繊毛運動停止発現までの時間の著明な延長を認め、ISP 濃度と負の相関を示した。7% ISP では 16 時間、5% ISP では 2 日間、2% ISP では 3 日間繊毛活性は低下することなく維持されていたが、最終的に繊毛運動停止が認められ、このことは、pH 調整下における ISP の障害性を示唆している。しかし、この障害性の発現には長時間を要していること、in vivo において、このような長時間の ISP の停滞は考え難いこと、気道分泌液の緩衝作用も期待できることなどから、pH 調整 ISP の in vivo における気管粘膜への影響は、少ないものと推察される。以上のことからエアロゾル療法において、pH 調整 ISP を使用することで、かなりの安全性が期待されよう。今後、in vivo における検討が望まれる。

まとめ

モルモット気管粘膜を用い、ISP の in vitro での影響を検討し、以下のごとき成績を得た。

1. 2%、5%、7% の pH 未調整 ISP について検討すると、dose dependent に障害性を認めた。
2. 2%、5% pH 未調整 ISP 30分暴露後に洗浄

- すると、障害性発現の著しい延長を認めた。
3. pHを7.4に調整することによって、2%、5%、7% ISPのいずれの濃度においても障害性発現の著しい延長が認められた。

文 献

- 1) 久松建一，他：ヒト慢性副鼻腔炎の粘膜纖毛運動機能について－光学電氣的測定法による検討 耳鼻と臨床 27：243～249，1981.
- 2) 斎藤 等，他：エアロゾル療法の基礎と臨床－鼻粘膜およびその上下層にたいするエアロゾルの作用 第80回日本耳鼻咽喉科学会パネルディスカッション資料：63～68，1979.
- 3) 坂倉康夫：エアロゾル療法の基礎と臨床－気道粘膜よりの薬物吸収について 第80回日本耳鼻咽喉科学会パネルディスカッション資料：55～61，1979.

討 論

質問；間島（三重大）

2%、5%、7%溶液の浸透圧の纖毛運動に及ぼす影響はどうか。

応答；中澤（山梨医大）

実験に用いた溶液の浸透圧は、生食 280 mOsm, pH調整 2% ISP, 310 mOsm, 5% ISP, 355 mOsm, 7% ISP, 385 mOsmであった。pH未調整 ISP では、2%、296 mOsm, 5%、331 mOsm, 7%、353 mOsmであった。