

AN EXPERIMENTAL STUDY OF THE ESTIMATION OF MIDDLE EAR MUCOSAL LEVEL OF DL-8280, USING AN ACUTE OTITIS MEDIA MODEL OF GUINEA PIG

Yutaka Fujimaki, Shozo Kawamura, Ginichiro Ichikawa and Rinya Sugita

Department of Otorhinolaryngology Juntendo University School of Medicine

Koichi Deguchi

Tokyo Clinical Reserch Center

Takeshi Une

Daiichi Seiyaku Co. Ltd.

DL-8280 level of middle ear mucosa and serum were estimated by using an acute otitis media model of guinea pig.

Streptococcus pneumoniae which isolated from acute otitis media was used for pathogen. *S.pneumoniae* was cultured about 16 hours in the Trypticase soy broth and its concentration was ordered about 10^7 CFU/ml. 0.1ml of the broth was inoculated into the bulla of the guinea pig.

50mg/kg of DL-8280 was administered intraorally the day after surgery. DL-8280 concentration of serum and middle ear mucosa were assayed by disc method 30 minites, 1, 2, 3 and 4 hour after the administration.

Escherichia coli KP was used as a test organism.

Average tissue levels are as follows,

30 minites :	serum 13.26	5.88 $\mu\text{g/ml}$,
	mucosa 7.50	2.35 $\mu\text{g/g}$,
1 hour :	serum 15.51	2.51 $\mu\text{g/ml}$,
	mucosa 9.40	1.24 $\mu\text{g/g}$,
2 hour :	serum 13.02	3.22 $\mu\text{g/ml}$,
	mucosa 11.10	4.25 $\mu\text{g/g}$,
3 hour :	serum 8.78	1.06 $\mu\text{g/ml}$,
	mucosa 7.40	1.74 $\mu\text{g/g}$,
4 hour :	serum 5.51	2.21 $\mu\text{g/ml}$,
	mucosa 6.67	0/76 $\mu\text{g/g}$.

モルモット急性中耳炎モデルを用いた DL8280の組織移行の研究

順天堂大学耳鼻咽喉科学教室

藤 卷 豊・河 村 正 三・市 川 銀一郎・杉 田 麟 也

東京総合臨床検査センター研究部

出 口 浩 一

第一製薬(株)中央研究所

采 孟

はじめに

モルモット急性中耳炎モデルの作製およびいくつかの抗生物の中耳粘膜への移行に関する実験については今までに報告した^{1),2),3)}。今回、DL-8280を用いてその中耳粘膜および血清中濃度を測定し、中耳炎に対する薬効評価の一手段になることを考え報告した。

方 法

使用動物にはHartley系モルモット、SPF、雄、体重250gないし300gのものを用いた。モルモットは実験前に一週間予備飼育した。摂取菌には、東京総合臨床検査センター研究部にて小児急性化膿性中耳炎患者の鼓室貯留液より分離したⅢ型以外のStreptococcus pneumoniaeを用いた。菌はTrypticasesoy broth (栄研)中で、37℃、一夜培養し、菌量を 10^7 CFU/mlに調整した。モルモットへの菌液の接種は、エーテル麻酔下に仰臥位に固定し、両側下顎部を10~15mm切開し、中耳骨包の一部を露出し、22G注射針にて小穿孔を設け、穿孔部位より1ml注射器にて27G注射針を用いて菌液0.1mlを中耳骨包内に注入した。手術操作は可及的に無菌的に実施し、皮切部位は絹糸にて縫合した。

薬剤投与および検体採取は菌摂取翌日に行

った。DL-8280投与は経口的に行い、投与量は50mg/kgとした。(図1)

図1 実験方法

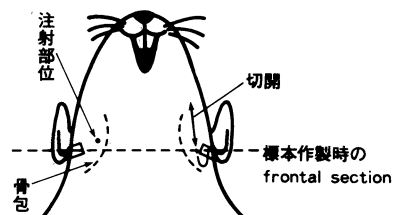
使用動物 Hartley系 guinea pig, male
3週令, 250~300g

急性中耳炎の作製
使用菌液 *Str. pneumoniae*
 10^7 CFU/ml
0.1 ml/bulla

使用培地 Trypticase soy broth
(栄研)

使用薬剤 DL-8280
50mg/kg

実験手技



血清および中耳粘膜の採取は薬剤投与後、30分、1時間、2時間、3時間、4時間の5点にて、各群5匹にて行った。血液採取は、エーテル麻酔下に下行大動脈より採取した。中耳粘膜は、血液採取後、中耳骨包を分離し

採取した。血液は血清を分離し、血清は濃度測定時まで -20°C に凍結保存した。中耳粘膜は秤量後M/15リン酸緩衝液(pH7.0)にて10倍希釈しホモジナイズした。検定菌には, *Escherichia coli* KP株を用いた。濃度測定はdisc法にて行った。

結 果

表1にはDL-8280投与後の中耳粘膜内濃度および血清中濃度の測定結果を示した。検体採取時における中耳粘膜の肉眼的所見では、いずれの動物においても、中耳粘膜は発赤、腫脹が著明であった。表1には各群($n = 5$)での平均値および標準偏差を示した。DL-8280の血清中濃度は1時間で最大となり、 $15.51 \mu\text{g}/\text{ml}$ であった。また、中耳粘膜内濃度は2時間で最大となり、 $11.10 \mu\text{g}/\text{g}$ であった。

表1の結果を one compartment open modelを用いて、図2にsimulation curveを示した。点線は血清中濃度を、実線は中耳粘膜内濃度を示している。図に示したとおり、DL-8280の中耳粘膜内濃度は2時間値で最大となるが、4時間値でも最大値の約70%の値である。そして、中耳粘膜内濃度は3時間値で血清中濃度とほぼ一致し、4時間値では血清中濃度を上回った。

考 察

DL-8280は中耳炎に対する臨床的有用性については既に報告されている⁴⁾。抗菌物質の薬効評価に際しては、病巣への移行の程度は臨床的有用性を左右する大きな一因である。今回、著者らが測定したDL-8280の組織への移行性は良好であり、血清より中耳粘膜への移行率は30分56.6%、1時間60.6%、2時間85.3%、3時間84.3%、4時間121.0%であった。

著者らが今までに報告したとおり、cefotiam(CTM), cefotetan(CTT), sulbenicillin(SBPC), fosfomycin(FOM)などの薬剤においても、中耳粘膜内には血清中に比し、比較的長時間にわたり薬剤が残存する傾向を

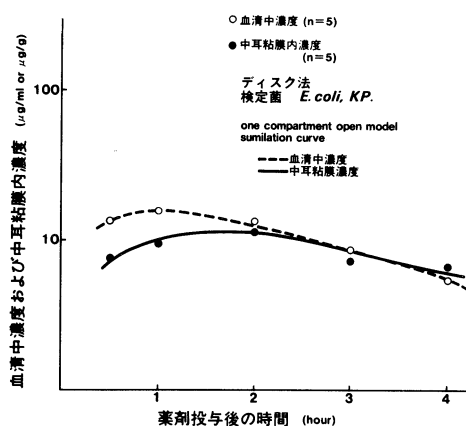
表 1

DL-8280投与後の中耳粘膜内および血清中濃度(50mg/kg)

Time (h)	Concentration	
	Serum ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	Tissue ($\mu\text{g}/\text{g}$)
0.5	13.26 ± 5.88	7.50 ± 2.35
1	15.51 ± 2.51	9.40 ± 1.24
2	13.02 ± 3.22	11.10 ± 4.25
3	8.78 ± 1.06	7.40 ± 1.74
4	5.51 ± 2.21	6.67 ± 0.76

Mean \pm S.D.

図 2 DL-8280投与後の血清中、中耳粘膜内濃度



認めたが、本剤にその傾向が一層著明であった。

ま と め

S. pneumoniae を摂取して作製した、モルモット急性中耳炎モデルを用いて、DL-8280の中耳粘膜内濃度および血清中濃度を測定した。

中耳粘膜内濃度では、2時間値で最大であり、 $11.10 \mu\text{g}/\text{g}$ を示した。血清中濃度は1時間値が最大であり $15.51 \mu\text{g}/\text{ml}$ を示した。

one compartment open model を用いた simulation curveでは、3時間にて血清中濃度および中耳粘膜内濃度は一致し、4時間値では中耳粘膜内濃度が血清中濃度を上回った。

DL-8280の血清より中耳粘膜への移行率は、56.6%~121.0%と良好であった。

文 献

- 1) 藤巻豊, 河村正三, 市川銀一郎, 杉田麟也, 堀川治久, 出口浩一: モルモットによる実験的急性化膿性中耳炎の病理学的所見(第1報), 日耳鼻感染症会誌1(1), 53~56, 1983.
- 2) 藤巻豊, 河村正三, 市川銀一郎, 杉田麟也, 堀川治久, 出口浩一: モルモット急性

中耳炎モデルを用いた中耳粘膜への抗生剤の移行の研究: 日耳鼻感染症会誌2(1), 1~4, 1984.

- 3) 藤巻豊, 河村正三, 杉田麟也, 出口浩一: モルモット急性中耳炎モデルを用いた cefotiamの組織移行の研究: 第32回日本化学療法学会総会, 札幌, 1984.
- 4) 河村正三他: 化膿性中耳炎に対するDL-8280の薬効評価: 耳鼻, 30(4), 642~670, 1984.

質 疑 応 答

質問 森 慶人(名市大)

炎症の程度によって抗菌剤の組織移行に差があるか, お教え下さい。

応答 藤巻 豊(順天堂大)

1つの実験での炎症程度はほぼ同等であるために, 炎症の程度と抗菌剤の組織移行との関係は検討していません。

質問 中井義明(大阪市大)

副鼻腔と中耳乳突蜂巣では骨部の炎症病像にかなり差があるが骨部への薬物の移行は, 如何でしたか。

応答 藤巻 豊(順天堂大)

菌接種7日目まででは, 肉眼的には中耳骨包には変化を認めませんでした。骨への移行を検討したことはありません。

質問 松永 亨(阪大)

薬剤の移行において, 正常粘膜, 慢性炎症, 急性炎症粘膜の間に差があるか。

応答 藤巻 豊(順天堂大)

モルモット正常中耳粘膜重量は約1mgであり, bioassayは不可能である。中耳粘膜への移行率は薬剤により20%~121%の範囲で, 差異を認めた。