

EXPERIMENTAL CONCENTRATION OF ANTIBIOTICS IN TISSUE BY IONTOPHRESIS

Hisao Tanaka, Michio Tomiyama, Mituru Sato, Akio Imai and Yuichi Nakano
Department of Otolaryngology, Niigata University, School of Medicine
(chief Director Yuichi Nakano)

The concentration of antibiotics in dermal tissue of the external auditory meatus was determined after iontophoresis was applied in the external auditory meatus with a mixture solution of antibiotics. The permeability of drugs induced by iontophoresis was used clinically to treat diseases of the tympanic membrane

and the external auditory meatus.

The animals were guinea pigs and the drug used was tobramycin. Concentrations were determined by bioassay. Also, a morphological study was undertaken with a scanning electron microscope to investigate the effects the tobramycin on the auris interna.

イオン導入法による抗生物質の組織内濃度に関する実験的研究

新潟大学耳鼻咽喉科学教室

(主任 中野雄一教授)

田 中 久 夫・富 山 道 夫・佐 藤 充
今 井 昭 雄・中 野 雄 一

はじめに

イオン導入法は微小な直流電流を通じることにより、水溶性のイオン化した薬物を皮膚を通して体内に導入する方法である。比較的簡単な装置と手軽な操作によって導入局所に高い薬物濃度が得られることが特徴とされている。耳鼻咽喉科領域でも鼓膜麻酔として最近繁用されるようになり、確実な麻酔効果が得られる。

著者らは、鼓室内チューブ留置術後の感染予防に抗生物質を混合した溶液で鼓膜麻酔を行い良好な成績を得たことを報告した¹⁾。そこで今回著者らはモルモットに対し外耳道より抗生物質のイオン導入法を行い、効果的な使用法の検討を行ったので報告する。

実験材料

1. 動物

体重500gr 前後の雌モルモット25匹を用いた。

2. 薬物

注射用トブラマイシン(以下TOBと略す) 1%および4%水溶液と、注射用セファマンドール(以下CMDと略す) 1%水溶液を用いた。

3. 装置

ファースト社製iontophoretic anesthetic JIS-02を使用した。モルモットの外耳道が狭いため、プロテクターを外して使用した。

実験方法

1. 予備実験

①TOB, CMDの安定性に関する実験

TOBとCMDの1%水溶液の安定性を外観, PH, 力価の面で室温(摂氏20度), 冷所

(摂氏0度)にてそれぞれ6時間後, 12時間後, 24時間後, 48時間後に測定した。

②TOBの内耳に対する影響に関する実験

モルモット5匹を使用し, 本実験と同じ導入方法で4%TOB溶液を用い1mAにて10分間通電を行った。この操作を連日10日間行いその後1週間経過してから, 内耳障害の有無を走査型電子顕微鏡にて検索した。実験は右耳のみ行い左耳はコントロールとした。なおこの導入条件は, 本実験の1%, 1mA, 5分間, 1回に比べて内耳障害を起し易い条件に設定したものである。

2. 本実験

①導入操作

- a) ケタラル25mg/kgを腹腔内に注射
- b) 剃毛した左腹部に陰極(不関電極)を固定
- c) 外耳道に所定の薬液を満たす
- d) プロテクターを外した陽極(導入子)を挿入後通電

②導入条件

全ての実験は右耳のみ行い, 左耳はコントロールとした。またどの群も通電量1mAとし, 1群5匹ずつおこなった。

- a) 第I実験群: 単純点耳群
1%TOBを用い, 通電を行わず単なる点耳を5分間行った。
- b) 第II実験群: 標準イオン導入群
1%TOBを用い, 5分間通電を行った。
- c) 第III実験群: 炎症耳モデル群
外耳道を水酸化ナトリウムにて導入前に腐食させ, 外耳導炎を想定したモデルを作成した。他の条件は第II実験群(標準イオン導入群)と同様とした。この時鼓膜に穿孔を起こさないように注意した。
- d) 第IV実験群: CMD群
1%CMDを用い, 5分間通電を行った。つまり, 第II実験群と薬液を代えただけで同じ実験条件で行った。

③組織(外耳道皮膚・中耳骨胞粘膜)および血清の採取方法

a) 組織

イ. 外耳道皮膚

イオン導入(点耳)後直ちに断頭し外耳道軟骨部の皮膚と皮下組織を全周性に約1gの大きさに採取した。それらの組織は生理食塩水にて約10秒間洗浄し, ろ紙にて水分を除去した後, 重量を測定した。

ロ. 中耳骨胞粘膜

外耳道皮膚と同様な操作後中耳骨胞を開放し粘膜を鋭匙を用い集めた。検体の大きさが十分ではないため, 5検体をひとまとめにして測定した。

b) 血液

イオン導入(点耳)後直ちに開胸し心腔穿刺にて血液を採取した。

④測定方法

a) 組織内濃度

イ. 組織を細切して, 5倍量のPH=8の磷酸緩衝液を加えて十分にホモジナイズした後冷所(摂氏0度)に約2時間静置した。

ロ. ホモジナイズした検体組織を吸引ろ過し2,000r.p.m.15分間遠心分離を行い, その上澄を凍結保存した。

ハ. Bioassy法にて, 検体濃度の測定を行った。

b) 血液内濃度

イ. 採取した血液を2,000r.p.m.15分間遠心分離を行った。

ロ. 5倍量のPH=8の磷酸緩衝液を加え凍結保存した。

ハ. Bioassy法にて, 血中濃度の測定を行った。

実験結果

1. 予備実験

①TOB, CMDの安定性に関する実験

1%水溶液TOBおよびCMDともに外観, PHの面では室温(摂氏20度), 冷所(摂氏

0度)にて6時間後, 12時間後, 24時間後, 48時間後のどの条件でも変化は認められなかった。

力価の面では, CMD室温の24時間後で2%, 48時間後で6%の低下を認めたが, 他の条件では変化が認められなかった(Fig. 1, 2)。

今回の実験では, この程度の力価の低下はほとんど問題となることはない。

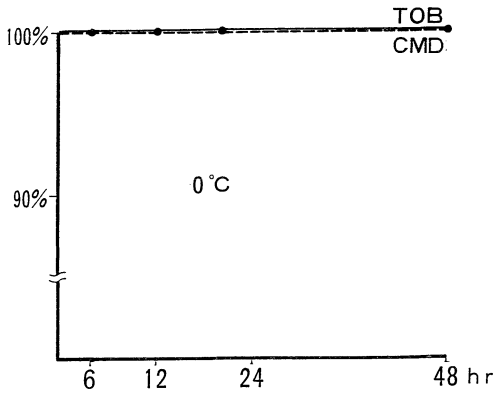


Fig. 1. Changing of Titer (TOB, CMD)

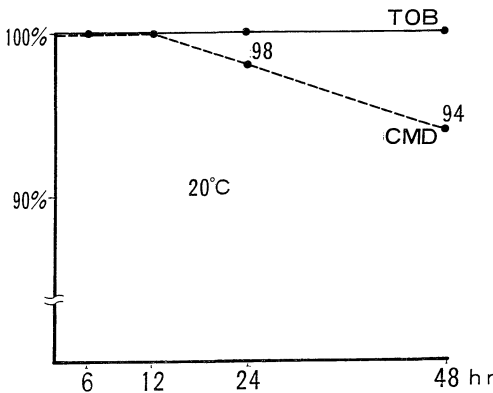


Fig. 2. Changing of Titer (TOB, CMD)

② TOBを使用したイオン導入法の内耳に対する影響に関する実験

走査型電子顕微鏡での形態学的観察では実験耳(右耳), コントロール(左耳)ともに有毛細胞の表面構造には全く変化が認められなかった(Fig. 3)。

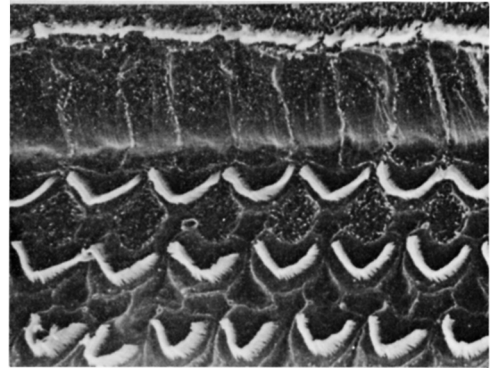


Fig. 3. Superstructure of the cochlear hair cells was intact.

2. 本実験

①各群の結果(Table 1, Table 2, Table 3, Table 4)。

Table 1. result of group 1 (simple ear drip)

No. of GP	Concentration of Antibiotics		
	DEAC	MEM	Blood
1	38.9		0.0
2	27.9		0.0
3	55.9		0.0
4	47.3		0.0
5	39.1		0.0
	41.8±9.4	0.1	0.0±0.0
	μg/g	μg/g	μg/ml
	(M±SD)		(M±SD)

GP : guinea pig

DEAC : dermal tissue of external auditory canal

MEM : middle ear mucosa

外耳道皮膚の組織内濃度と血中濃度は5検体のそれぞれの成績とその平均および標準偏差を示し。中耳骨胞粘膜の組織内濃度は5検体を合わせた成績で示した。

Table 2. result of group 2 (standard iontophoresis)

No. of GP	Concentration of Antibiotics		
	DEAC	MEM	Blood
6	118		0.3
7	83.2		0.0
8	132		0.0
9	116		0.2
10	108		0.0
	111.4±16.1	0.3	0.1±0.1
	μg/g	μg/g	μg/ml
	(M±SD)		(M±SD)

Table 3. result of group 3 (inflammation)

No. of GP	Concentration of Antibiotics		
	DEAC	MEM	Blood
11	450		6.5
12	560		1.4
13	520		4.6
14	480		4.2
15	510		4.1
	504.0±37.2	1.8	4.2±1.6
	μg/g	μg/g	μg/ml
	(M±SD)		(M±SD)

Table 4. result of group 4 (CMD)

No. of GP	Concentration of Antibiotics		
	DEAC	MEM	Blood
16	168		0.0
17	85.6		0.0
18	84.0		0.4
19	113		0.3
20	115		0.0
	113.1±30.4	0.2	0.2±0.1
	μg/g	μg/g	μg/ml
	(M±SD)		(M±SD)

②各群の比較

a) 外耳道皮膚の組織内濃度 (Fig. 4)

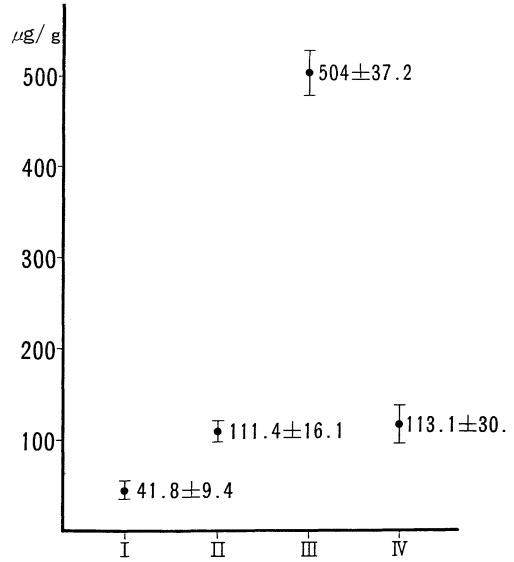


Fig. 4. Concentration of DEAC

T O Bにてイオン導入を行った群(第II群)は、単に点耳を行った群(第I群)に比較して約2.7倍の組織内濃度が得られた。イオン導入法は簡便に導入局所に高い組織内濃度が得られる方法と思われる。

さらに炎症耳を想定した群(第III群)では、第I群の12.7倍、第II群の4.5倍の高い組織内濃度が認められた。炎症を起こした部位により薬剤移行が良くなることは合目的であり優れた方法である。

抗生物質をCMDとした第IV群でも、T O Bを使用し同じ条件の第II群とほぼ成績は変わらない。これは第一に、実際に感染部位よりの細菌検査で感受性により使用する薬剤を選択できること、第二に、毒性特に内耳毒性の低い薬剤の使用も可能であることの2つの利点がある。臨床医にとって使用し易い方法である。

b) 中耳骨胞粘膜の組織内濃度 (Fig. 5)

5検体をまとめて測定したため第I群、第II群、第IV群の間に有意の差があるか不明である。しかし、第III群は鼓膜穿孔がないにもかかわらず明らかに組織内濃度は上昇した。

今後検討を要する。

c) 血中濃度 (Fig. 6)

外耳道皮膚の組織内濃度は、第III群>第II群=第IV群>第I群であったが、血中濃度も同様であった。血中に入る薬剤の量は、局所の状態、イオン導入の有無、薬剤濃度、通電時間、通電量などにより決まると考えられる。今後血中濃度がその最適条件を決める一つの指標となろう。

考 察

イオン導入法は、すでに歯科領域では19世紀末根管治療に応用されていた^{2,3)}。また頭頸部腫瘍特に口腔癌でブレオマイシンを使用したイオン導入法の報告がある^{4,5)}。耳鼻咽喉科領域では主としてこれまでリドカインを使用し無痛的に鼓膜切開を行うために使用した⁷⁾。しかしイオン導入法で抗生物質を外耳道や鼓膜疾患に使用したり、鼓室内チューブ留置術の感染予防に使ったという報告はない。

イオン導入器具は、すでに鼓膜麻醉器としてかなり普及しておりその安全性と有効性は臨床の場で実証されている。外耳道を外耳道孔より治療する場合、角度を持った面としか観察できず均一に十分に薬液を塗布することは難しい。鼓膜も外耳道の深部にあり弱い臓器であるため、その局所治療も損傷などを考えればある程度の熟練を要する。手軽な操作で導入局所に高い薬物濃度が得られるイオン導入法を鼓膜炎や外耳道炎などに利用することは、当然考えられる。

今回の実験ではイオン導入により外耳道皮膚の組織内濃度は非常に上昇し、内耳障害もわれわれが検索した範囲では認められず、満足すべき結果であった。

今後は種々の導入条件を設定し、副作用の心配がなく効果が期待できる条件を検討するつもりである。

結 論

①イオン導入法を行うと、単純に点耳した

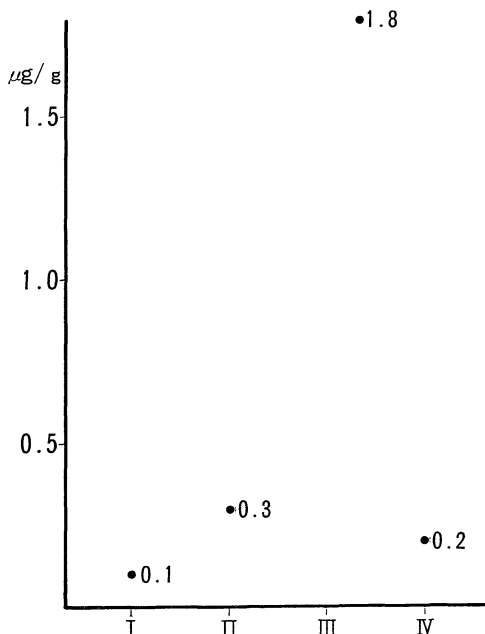


Fig. 5 . Concentration of MEM

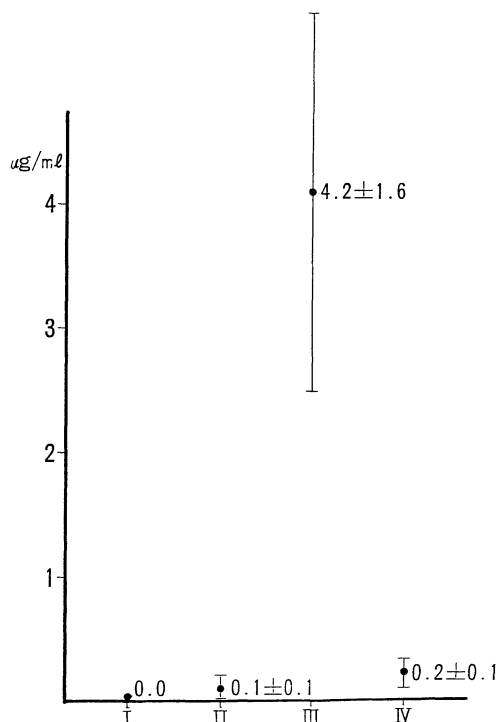


Fig. 6 . Concentration of Blood

場合の約 2.7倍の外耳道皮膚の組織内濃度を認めた。

②炎症耳モデルとして作成した皮膚のバリエーを壊した群は、健常外耳道のイオン導入群のさらに約 4.5倍の外耳道皮膚の組織内濃度を認めた。しかし、この群では血中濃度の上昇も認めた。

③TOBと同濃度のCMDを使用してイオン導入法を行っても、ほぼ同様な組織内濃度が得られた。

参 考 文 献

- 1) 田中久夫, 他: 鼓室内チューブ留置術後感染の細菌学的検討と新しい対策(抗生物質混合イオン導入鼓膜麻醉法)。日本耳鼻咽喉科感染症研究会誌5: 投稿中 1987
- 2) Zierler, E.: Neue Methode zur Therapie gangranöser Zähne, Alveolarer Erkrankung. Zahnärztl Rdsch 9: 413, 1900
- 3) 鈴木賢策: 根管治療におけるイオン導入法。口病誌19: 9, 1952
- 4) 飯田 武, 他: 頭部領域におけるイオントホレーゼによるBleomycinの局所療法。ブレオマイシン研究会耳鼻咽喉科腫瘍部会誌2: 156 1971
- 5) 林崎勝武, 他: 頭部腫瘍に対するBLM Iontophoresis. 日癌治誌12: 522, 1977

質 疑 応 答

質問 高坂知節(東北大)

1%TOBのイオントホレーゼ療法を安全な方法として推奨していくつもりか、それとも危険な方法として破棄すべきと考えるのか。(いずれにしても本法では内耳障害は避けられないと思うが。)

応答 田中久夫(新潟大)

内耳毒性は薬剤を外耳道より点耳するのと同じと考えている。TOBは、臨床的に使用は考えていない。CMDは、感染起炎菌の中心である表皮ブドウ球菌、黄色ブドウ球菌に対して抗菌力が強く、耐性菌(特にMRSA)にも比較的有効と思われたので使用した。