

## EXPERIMENTAL STUDY OF THE INFLUENCE OF NY-198 OTOTOPICAL SOLUTION ON THE COCHLEAR ORGAN

Kiichi Sato, Soichi Nukuzuma and Shogo Samejima\*

Department of Otolaryngology, Kanazawa Medical University

\*Proprietary Research Laboratory, Senju Pharmaceutical Co., Ltd.

It was well known that some kinds of ototopical solution induced sensorineural hearing loss, if it was administered to middle ear infection for long duration. The above reason caused the necessity to clarify the safety of new developing otic solution of NY-198 on the cochlear organ, before clinical use. 30 animals of Hartley strain guinea pigs were used. Among them, 17 animals who used for histological examination and 13 for scanning electron microscopic (SEM) study. All animals received the measurement of auditory brainstem response (ABR) on stimulation of 4000Hz and 10000Hz, using Teledyne Avionics 1000, before they had operation of perforation of left ear drum.

In one group of 22 animals which were examined histologically, they received 0.3%, and or 0.5% NY-198 solution for 7 days. After breeding in our animal laboratory for 10 days, ABR measurement was performed in each animal.

And then, animals were sacrificed by the method of intravital perfused fixation. In

other group of 13 animals which were examined by SEM, they received 0.3% or 0.5% NY-198 solution and / or KM solution for 7 days. On 5 days after final administration of these solution, the animals were sacrificed and prepared by the surface preparation technique for SEM observation.

As the results of these experimental procedure, (1) no remarkable increasing of threshold were obtained in ABR measurement, (2) no remarkable changes of cochlear organ were present in 22 animals, (3) no remarkable deformations of auditory hairs of cochlear organ were present in 8 animals, which were received NY-198 solution and (4) marked deformations of auditory hairs of outer hair cells were present in 5 animals, which were received 5% KM solution.

The above results suggested that NY-198 solution could not affect to the cochlear organ under our experimental condition.

## NY-198 液の聴器に及ぼす影響について

金沢医科大学耳鼻咽喉科学教室

佐藤 喜一・奴久妻 聡 一

千寿製薬伊丹研究所

鮫島 昭悟

### はじめに

新キノロン抗菌剤として、ノルフロキサシン (MFLX)、オフロキサシン (OFLX) やエノキサシン (ENX) などが、臨床に紹介され、従来の抗菌剤と違った臨床効果を得ている事は周知のごとくである。今回、北陸製薬研究所で開発された新キノロン剤の NY-198 が、千寿製薬株式会社から紹介された。(図-1)<sup>1)</sup>

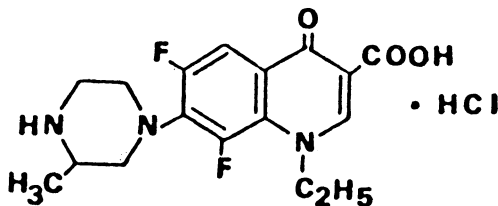


図-1 NY-198の化学構造

NY-198 は、グラム陰性菌、及び陽性菌に対して幅広い抗菌スペクトルと優れた抗菌力を示し、その抗菌力は、ピペミド酸を凌ぎノルフロキサシン及び、オフロキサシンと同程度であったと言われている。また本剤は経口投与により速やかに血中と各組織内へ移行しさらに尿中に高濃度で未変化のまま排出され安全性の高いことが明らかにされている。本剤の特徴を生かし、耳用液として、外耳炎或は中耳炎の局所治療に応用することを試みるために、その前段階として内耳への影響を動物を用いて検索した。

### 実験材料と方法

実験動物としてハートレイ系白色モルモット

トを使用した。検討した耳用液は NY-198 の 0.3% と 0.5% である。実験前後の聴力の変動は、それぞれの ABR 波形と域値の推移から判断した。最終回の ABR 測定後に動物を固定し、一部のモルモットは病理組織学的に一部は走査電顕学的に以下の方法で聴器の検索を行った。

1) 病理組織学的方法：動物をネブタール麻酔し ABR を測定した後、左鼓膜を穿孔した。以後 7 日間、麻酔下に耳用液を注入し、左を天井側にして、麻酔覚醒まで観察し本学動物飼育室にて飼育した。7 回目の注入後から 10 日間飼育し、ABR 測定後、10% 中性ホルマリン液にて、生体還流固定を行った。直ちに側頭骨を採取しホルマリン液で再固定後、Plank-Rychlo 液にて脱灰し、その後は、通法を経てセロイジンに包埋し、連続切片を作成し、ヘマトキシリン・エオジン重染法を行い、光学顕微鏡で観察した。

2) 走査電顕学的方法：動物をネブタール麻酔し ABR 測定を行い、域値が平均値内にあることを確認した。両耳の中耳骨包に穿孔を作成し、内径 0.5mm のシリコンチューブを装着固定した。麻酔下に耳用液をチューブを通じて 7 日間注入した。その後、5 日間飼育し、グルタルアルデヒド液で生体還流固定した。中耳骨包を摘出し、通法を経て、蝸牛と中耳壁の資料を SEM 観察用に作成した。その後、有毛細胞の聴毛の変形と中耳壁粘膜の線毛を主として観察

した。なお、ポジティブ所見を得るために一部の動物には5%カナマイ液を注入し、蝸牛の変化を観察した。

**実験成績**

1) ABRの域値の変化

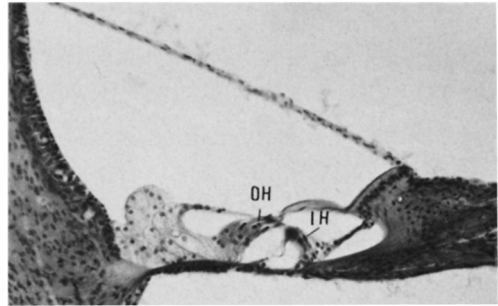
ABRの測定には Teledyne-Avionics 社製のAA-1000を使用した。音刺激はLogon波で、4000Hzと10000Hzの測定周波数で測定し、ABRの第1波と第3波が表出する最小域値を反応値とした。耳用液投与動物の全体の成績を表-1にまとめた。この中で二つの周波数で域値の上昇(15dB以上)を認めた動物はNo.10に見られた。残る動物では域値の上昇が認められなかった(表-1)。

表-1: ABRの域値の変化

動物群	動物番号	刺激周波数			
		4000Hz		10000Hz	
		投与前	投与後	投与前	投与後
0.3% 投与群	01	30dB	30dB	20dB	30dB
	02	20dB	35dB	25dB	20dB
	03	30dB	40dB	20dB	30dB
	04	30dB	30dB	35dB	30dB
	05	30dB	30dB	30dB	30dB
	06	30dB	30dB	25dB	35dB
	07	30dB	40dB	30dB	45dB
	08	30dB	35dB	25dB	40dB
	09	30dB	30dB	30dB	25dB
	10	30dB	55dB	30dB	45dB
0.5% 投与群	11	30dB	40dB	30dB	20dB
	12	30dB	30dB	25dB	25dB
	13	30dB	25dB	35dB	30dB
	14	30dB	40dB	30dB	30dB
	15	30dB	60dB	35dB	40dB
	16	30dB	30dB	30dB	40dB
	17	30dB	55dB	35dB	40dB

2) 病理組織学的所見

聴器の内、主として内耳蝸牛の有毛細胞の変化について観察した(図-2)。同時に中耳粘膜に変化があった場合に、そ



の所見を記載した。その結果は以下の通りである。

- i) 0.3%投与群: 10匹総ての動物において蝸牛内外有毛細胞に変性や消失を認めなかった。中耳粘膜の浮腫が、10耳中3耳に見られた。
- ii) 0.5%投与群: 7匹の動物において、蝸牛内外有毛細胞に変性や消失を認めなかった。中耳粘膜の浮腫は7耳中2耳に見られた。

3) SEM的所見

今回、SEM的観察のために作成出来た試料は13耳であった。これらを第1回転から第4回転まで、連続的に観察した。その成績を表-2にまとめた。NY液を投与した

表-2' SEM的観察結果

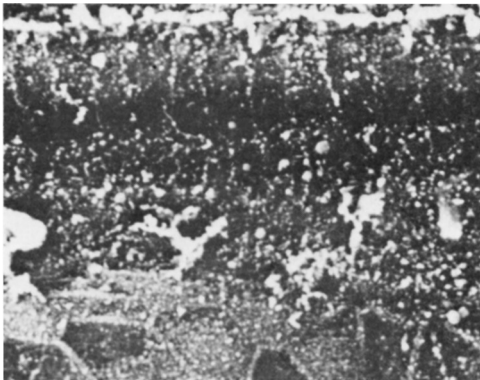
動物群	動物番号	聴毛の変化											
		1回転			2回転			3回転			4回転		
		OHC			IHC			OHC			IHC		
0.3% NY-198	01	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	02	-	-	-	-	-	-	x	x	x	x	x	x
	03	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	04	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
0.5% NY-198	05	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	06	-	-	-	-	-	-	x	x	x	x	-	-
	07	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	08	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
5%カナマイシン	09	x	x	x	x	+	-	-	-	-	-	x	x
	10	+	+	+	x	x	x	x	x	x	x	x	x
	11	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	12	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-
	13	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-

(-): 異常なし (+): 消失 (x): 観察不可

動物の蝸牛には、内外有毛細胞の聴毛に変形像が全く見られなかった。しかしながらポジティブ所見を得るために5%カナマイ

液を注入した動物の蝸牛には、外有毛細胞の聴毛が全く消失したもの（図-3）や、第1列の聴毛が消失し、第2、3列の聴毛に変形を認める所見（図-4）などが得られた。

以上の実験から、NY-198を耳用液として中耳腔内に連続的に7日間投与しても内耳有毛細胞への影響は見られないと言う成績を得た。この事は耳毒性の面から考えると、この条件では、安全性が高いと言える。



### 考案とまとめ

最近、第4世代の抗生物質と総称される新キノロン抗菌剤が開発され実地臨床で使用されるようになってきた。ノルフロキサシン、オフロキサシン或はエノキサシン等が、この群に入る抗菌剤である。今回紹介されたNY-198も、その一つであり、いくつかの過程を経て開発された新キノロン抗菌剤である。<sup>1)</sup>これ迄

の薬理試験から、本剤の特徴が明らかにされ報告された。即ち、グラム陽性菌とグラム陰性菌に対し幅広い抗菌スペクトルを持つること、抗菌力が強いこと、血中と組織への移行性が速く、かつ高濃度を維持すること、更に尿中に未変化のまま、高濃度で排泄される等の特徴がある。

一方、我々の領域において、外耳炎や中耳炎の局所治療を考える場合に、局所の起炎菌を早期に消失する方法が取られる。<sup>2)</sup>これ迄の起炎菌に関する検索から耳感染症は、主としてブドウ球菌や緑膿菌による感染が多い。<sup>3) 4)</sup>従って、先ず、この両菌に有効な抗菌剤が選択される。NY-198を耳用液として開発する意図は、本剤の抗菌力を評価した結果と考察できる。

しかしながら、耳用液を開発する際に必要なことは、いわゆる耳毒性があるかどうかの厳重な検索を試みなければならない。当然の事ながら、薬剤そのものが耳毒性をもっているのか、或は溶解液に問題があるかどうかの検定を行う必要がある。なぜなら、既存の耳用液、例えばカナマイやネオマイを主剤とする耳用薬で点耳性感音難聴が惹起されたり、アミノ配糖体抗生物質でないクロマイの点耳で難聴が発症したと言う報告があるからである。<sup>5)</sup>

我々は、これまでCMX耳用液（一般名ベストロン耳用液）<sup>6)</sup>とFOM耳用液の耳毒性<sup>7)</sup>の存否について動物実験を行い、その結果を報告してきた。今回は同じ実験法でNY-198の耳毒性について検索した。但し、我々の手技でポジティブな所見を得る目的で既に耳毒性が強いカナマイを使用した動物群を作成した。又、これ迄の報告に述べなかった方法、即ち、走査電顕学的観察法も行った。何れの成績も既に述べた通りである。今回の実験成績から、0.3%ならびに0.5% NY-198液は我々の実験条件下では、耳毒性が見られな

った。長期間の投与については、まだ観察中の段階である。

#### 参 考 文 献

- 1) NY-198 の概要。千寿製薬株式会社、1987
- 2) 佐藤喜一：点耳薬の使用法。JOHNS、1：1111-1114、1985
- 3) 出口浩一：耳鼻咽喉科領域感染症患者採取材料からの検出菌。細菌感染症の様相、21-27、ピーチャム薬品、東京、1983
- 4) 馬場駿吉：抗生物質と細菌—特に耳鼻咽喉科感染症の化学療法について。耳鼻、23：539-543、1977
- 5) 野村恭也：点耳薬性難聴について。耳展 18：542-545、1975
- 6) 佐藤喜一ら：CMX耳用液の聴器へおよぼす影響に関する実験的研究。耳鼻 30：157-166、1984
- 7) 佐藤喜一ら：耳用Fosfomycin の内耳に対する安全性に関する実験的研究。耳鼻 31：1237-1242、1985