ネブライザー投与薬剤の抗原性の研究

石塚 洋一・鰐渕 伸子

Antigenicity of Drugs Administered Using a Nebulizer

Yoichi Ishizuka and Nobuko Wanifuchi

(Teikyo University, Mizonokuchi Hospital)

An experimental study was performed to evaluate the antigenicity of some drugs used in nebulization administered to guinea pigs.

Male Hartley guinea pigs were housed in an acrylic chamber and drugs such as DKB and histamine-added γ globulin solutions were sprayed into the chamber using an ultrasonic nebulizer. The medication were administered for a maximum duration of 4 weeks. As antigenicity tests, the Schultz-Dale reaction and passive cutaneous anaphylaxis test (PCA test) were evaluated. After the aerosol exposure, all animals tested were negative for the Schultz-Dale reaction or the PCA test. On the other hand, after aerosol administration of ovalbumin solution for 2 or 4 weeks, the animals tested showed positive results in the two tests. These findings suggest that nebulizer therapy with histamine-added γ globulin or DKB solutions shows no antigenicity, but attention should be paid in the use of nebulizer therapy in other drugs with high antigenicity.

Key words: nebulizer, antigenicity, Schultz-Dale reaction, PCA test, guinea pig

はじめに

ネブライザー療法は、日常臨床で広く用いられている局所療法の一つである。本療法は非侵襲性に行われるために患者側に対する負担が少なく、医師の指導と監視の下に手軽にかつ比較的安全に行うことができる利点をもっている。しかし、これまでにもときに局所的・全身的副作用の報告もあり¹⁾、投与方法や薬剤選択には十分な注意を払う必要がある。また、比較的長期に本療法が用いられるケースもあり、そこで問題になるのが局所粘膜の損傷、細菌叢の変化とともに投与薬剤による感作である。

今回われわれは、ネブライザー療法による投与薬剤の I 型アレルギー反応惹起の可能性に

ついて、モルモットを用いた基礎的検討を行ったので報告する。

対象および方法

Hartley 系雄性モルモット(平均体重 400 g)を用いて実験を行った。モルモットをアクリル製ケース(30×47×30 cm)に収容し、ケース上面の吸気口(内径 18 cm)よりケース内にエチレン酢酸ビニール樹脂製ホース(内径 22 mm)を介して各種薬剤のネブライザーを行った。ケース内の霧化薬物を均一化するためのモーターファン(直径 11 cm)を上面に取り付けた(図 1)。ネブライザーは超音波ネブライザー(ME-U 10 B, オムロン)を使用し、薬物を約 1.6 ml/分の霧化速度で 1 回当たり 10 分間噴霧し

た．噴霧群の例数は1群4匹とした．

1. 噴霧薬剤と投与方法

1) 0.0313%硫酸ジベカシン(以下DKBと略す)

DKBを生理食塩液で希釈し，1日8回，最高4週間まで連続投与した．DKBはモルモット1匹当りの1回噴霧量が1.25 mgとなり，日常臨床で用いている成人(60 kg)に対する1日1回当りの噴霧量を5 mgとして，モルモットの体重を400 gとした時の体重換算では40倍に相当する．

2) 0.0375%ヒスタミン加モルモット γ グロブリン(以下 γ GIと略す)

ヒスタミン加ヒト γ グロブリン(HG)と同一組成，すなわち γ グロブリン12 mg当り二塩酸ヒスタミン0.15 μ gを含有するように，モルモット血清 γ グロブリン(Miles)と二塩酸ヒスタミンを混合したものをヒスタミン加ヒト γ グロブリンのモデルとして用いた． γ GIを生理食塩液で希釈し，1日8回，最高4週間まで連続投与を行った． γ GIはモルモット1匹当りの1回噴霧量は1.5 mgで，これは日常臨床で用いている成人(60 kg)に対する1日1回当りのHG噴霧量を6 mg(HG $\frac{1}{2}$ バイアル)とすると，モルモットの体重を400 gとした時の体重換算では40倍に相当する．

3) 0.0375%卵白アルブミン(以下OAと略す)

抗原性試験の陽性対照薬として，卵白アルブミンを生理食塩液で希釈し，1日8回，最高4週間まで連続投与を行った．

4) 生理食塩液

抗原性試験の対照薬として，1日8回，最高4週間まで連続投与を行った．

2. 抗原性試験

以下のような2種類の抗原性試験を行った．

1) Schultz-Dale 反応

Schultz-Dale 反応は，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り，摘出回腸の収縮の有無から判定する．

ネビュライザー最終投与後のモルモットを放血致死させ，回腸を直ちに摘出した後，液温37 $^{\circ}$ C，95% O_2 + 5% CO_2 飽和 Tyrode 液を満したマグヌス管(容量2 ml)内に懸垂し，薬物による等張性収縮をアイソニック・トランスデューサ(TD-112S，日本光電)を介して記録した．初めに塩化アセチルコリン(オビソート[®]：base換算で 10^{-6} M)を反復作用させて回腸の収縮高が一定した後，challenge 抗原として被検薬(10^{-5} g/ml)を添加して回腸の収縮の有無を観察した．観察終了後，再度塩化アセチルコリンを作用させて回腸の収縮高が被検薬添加前と同一であることを確認した．

生理食塩液噴霧群には被検薬として，DKB， γ GI，OAを添加した．DKB噴霧群にはDKBを， γ GI噴霧群には γ GIを，OA噴霧群にはOAを添加した．

Schultz-Dale 反応を施行した時期は，各種薬剤の噴霧1週間後，2週間後，4週間後の3回である．

2) 同種皮膚アナフィラキシー反応試験

(passive cutaneous anaphylaxis reaction test，以下PCA testと略す)

PCA testは抗原抗体反応の結果生じる，漏出色素の有無により判定する．

図1 モルモットに超音波ネビュライザーを介して薬剤投与を行う実験装置

剪毛した未処置モルモットの背部に生理食塩液, DKB, γ Gl, OA のネビュライザー投与後のモルモットより採取した血清 0.1 ml を皮内注射し受動感作した. 感作 4 時間後に 5 mg の抗原(生理食塩液, DKB, γ Gl)を含む 1 % Evans ブルー生理食塩液 1 ml を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 反応より生じた色素漏出を観察した. 判定はわずかでも色素の漏出が認められた場合には陽性とした.

PCA test は, 各種薬剤噴霧の 1 週間後, 2 週間後, 4 週間後の 3 回行った.

結 果

1. Schultz-Dale 反応

図 2 に, Schultz-Dale 反応による回腸の収縮を記録した結果を示した. 4 週間噴霧群の例の

図 2 モルモット摘出回腸における Schultz-Dale 反応(4 週間噴霧)

み示したが, 生理食塩液噴霧群に γ Gl, DKB, OA を, DKB 噴霧群に DKB を, γ Gl 噴霧群に γ Gl を添加しても回腸の収縮は認められなかった. OA 噴霧群に OA を添加すると回腸の収縮を認めた. なおすべての噴霧群において, 被検薬添加前後に塩化アセチルコリン (Ach) を添加すると回腸の収縮が一定してみられた.

Schultz-Dale 反応による 1 週間後, 2 週間後, 4 週間後の反応陽性モルモット数を各群ごとに表 1 に示した. 生理食塩液噴霧群, DKB 噴霧群, γ Gl 噴霧群では, 1 週間後, 2 週間後, 4 週間後とも, 反応陽性モルモットは全くみられなかった. 一方, OA 噴霧群では 1 週間後は全例が陽性反応を示さなかったが, 2 週間後, 4 週間後では 4 匹すべてが反応陽性であった.

2. PCA test

図 3 に, PCA test によるモルモット背部の色素漏出を challenge 抗原別に示した. 4 週間噴霧群の例のみ示したが, challenge 抗原として γ Gl, DKB を用いても, 各群ともに色素漏出を認めない. challenge 抗原として OA を用いると, 生理食塩液噴霧群, DKB 噴霧群, γ Gl 噴霧群に対してそれぞれ色素漏出を認めなかったが, OA 噴霧群に対してそれぞれ色素漏出を認めた.

PCA test の 1 週間後, 2 週間後, 4 週間後で, 生理食塩液噴霧群, DKB 噴霧群, γ Gl 噴

表 1 Schultz-Dale 反応による回腸収縮モルモット数の割合

薬 剤	噴霧期間		
	1 週間	2 週間	4 週間
生理食塩液	0 / 4	0 / 4	0 / 4
DKB	0 / 4	0 / 4	0 / 4
γ Gl	0 / 4	0 / 4	0 / 4
OA	0 / 4	4 / 4	4 / 4

図3 challenge 抗原別にみた PCA test によるモルモット背部の色素漏出

表2 PCA test による反応陽性モルモット数の割合

噴霧期間 薬 剤	1 週間	2 週間	4 週間
生理食塩液	0 / 4	0 / 4	0 / 4
DKB	0 / 4	0 / 4	0 / 4
γGℓ	0 / 4	0 / 4	0 / 4
OA	0 / 4	4 / 4	4 / 4

霧群, OA 噴霧群の色素漏出を認めたモルモット数を表 2 に示した. 生理食塩液噴霧群, DKB 噴霧群, γGℓ 噴霧群では, 1 週間後, 2 週間後, 4 週間後とも色素漏出モルモットは全くみられなかった. OA 噴霧群は, 1 週間後では色素漏出は全くみられなかったが, 2 週間後, 4 週間後には 4 匹すべてに色素漏出がみられた.

考 察

ネビュライザー療法は霧化器を用いて薬剤を微粒子すなわちエアロゾル化し, 経鼻あるいは経気道的に吸入させて, 直接的に病巣に到達させる局所療法であり, 古くから耳鼻咽喉科領域において繁用されている治療法の一つである. その対象疾患としては鼻アレルギーなどのアレルギー性疾患あるいは咽喉頭炎や副鼻腔炎などの炎症性疾患が主なものである. そのためネビュライザー療法に抗生物質, 抗アレルギー剤, ステロイド剤が多く使用されている. そして,

これら薬剤の使用に当たって注意しなければならない点は当然のことながら副作用の防止である. なかでも, 薬剤によるアレルギー性素因をもつ患者に対する感作や組織に対する障害については特に留意しなければならない.

ネビュライザー療法の組織障害性については, われわれが行った動物実験²⁾の結果から, 現在臨床で使用されている薬剤では, 長期噴霧によっても光顕や電顕像に軽微な変化しかみられなかった. したがって, ネビュライザー療法は形態学的な面からの安全性に関しては, 一部の薬剤の検討結果からであるが問題ないものと推察された.

しかし, われわれが行ったネビュライザー療法に関するアンケート調査³⁾では, ネビュライザーを実施している104名の耳鼻咽喉科医の中で, 39件の副作用の報告がみられ, 薬剤感作によると思われる死亡例が1件含まれていた.

今回, われわれはネビュライザー療法の副作用の中でも薬剤による過敏性反応の発現の危険性に注目して, 抗生物質 (DKB) あるいは抗アレルギー剤 (ヒスタミン加 γ グロブリン) を, 薬剤に対する感受性の比較的高いモルモットに臨床での使用方法に近い形で投与し, 投与薬剤の抗原性について検討した. すなわちヒトと同様にネビュライザーを用いて経鼻的に吸入させ, 薬剤感作によるアレルギー反応の発現の有無について検討した. 薬剤感作を観察するため, Schultz-Dale 反応と PCA test による 2 種類の抗原性試験を行った.

Schultz-Dale 反応は、感作が終了した動物における即時型アレルギー反応を感作動物の摘出平滑筋において惹起せしめるものであり、薬物の抗原性の検出反応として利用されている。

PCA test は、動物の皮内に抗血清を投与し、局所皮内の好塩基球や肥満細胞を受動的に感作し、一定時間後に抗原と色素を静注し、抗原-抗体反応の結果引き起こされたこれら細胞からの chemical mediator の遊離による局所毛細血管の透過性亢進による漏出色素の程度を測定した定量的な研究により確立された。この反応も薬剤の抗原性を検討する方法の一つである。

DKB, γ GI, 生理食塩水を最高4週間連続して噴霧したが、Schultz-Dale 反応, PCA test ともに薬剤による感作を示す陽性反応はすべてのモルモットにみられなかった。すなわち、いずれの抗原性試験においても DKB, γ GI に対するアナフィラキシー性抗体 (IgE, IgG) は、今回設定した噴霧期間からは検出することが出来なかった。今回のモルモット1匹当りの薬剤噴霧量は臨床で使用されている量の40倍に相当し、大量に噴霧したことになるが、それにも関わらずアナフィラキシー性抗体が産生されなかったことより、臨床使用に際して問題となるアナフィラキシー症状などの副作用の発現においても硫酸ジベカシン、ヒスタミン加 γ グロブリンのネビュライザー療法は安全性の高い治療法と考えられた。

DKB については、PCA test を用いた動物実験から、アレルギー反応を起こす危険性の少ない抗生物質であることが報告⁴⁾されており、われわれの結果と一致していた。

一方、陽性対照薬として用いた卵白アルブミンを噴霧したモルモットは、噴霧開始2週間後にすでに Schultz-Dale 反応および PCA test とも陽性反応が全例に認められた。卵白アルブミンは、一般的に強い抗原性を示すタンパク質抗原として種々のアレルギー実験に使用されている。ヒトでのネビュライザー療法による抗生剤の血中濃度は、同じ薬剤の静注あるいは筋注の

血中濃度に比較すると $\frac{1}{40\sim50}$ と非常に微量である。今回行ったモルモットにネビュライザーを用いて投与された卵白アルブミンも体内に取り込まれた量は少ないものと推察されるが、抗原性試験で陽性反応が認められた。この結果から、臨床において、抗原性の強い薬剤をネビュライザー療法のような局所療法で用いることにより、生体有感作する可能性が十分にあることが示唆された。

抗原に対する免疫応答の程度は、動物間に相違があるため、モルモットによる安全性がヒトにも同様な結果と考えるには問題な点も含まれている。

今回の動物実験による基礎的な検討結果では、現在臨床に用いられている硫酸ジベカシンやヒスタミン加ヒト γ グロブリンの抗原性については、今回検討した投与量や投与期間からはI型アレルギー反応を惹起するという陽性所見は得られなかった。しかし、ヒトに抗原性の強い薬剤をネビュライザー療法により局所投与する場合においては、薬剤感作の危険性に注意を払うとともに、アレルギー素因を有する患者へのネビュライザー療法においては副作用を念頭においた使用が望まれる。

まとめ

ネビュライザー療法による投与薬剤の抗原性について、モルモットを用いた基礎的検討を行い次のような結果を得た。

1) 硫酸ジベカシン、ヒスタミン加モルモット γ グロブリンを最高4週間投与したが、Schultz-Dale 反応, PCA test ともに、すべてのモルモットに陽性反応はみられなかった。

2) 卵白アルブミンでは、投与2週間後、投与4週間後のすべてのモルモットに Schultz-Dale 反応, PCA test ともに陽性反応が認められた。

稿を終るに臨み、ご助言をいただいた帝京大学溝口病院小児科新保敏和助教授に感謝するとともに、本研究にご協力いただいた日本臓器生物活性科学研究所に深謝いたします。

本論文の要旨は、第91回日本耳鼻咽喉科学会総会において報告した。

文 献

- 1) 坂倉康夫, 谷口 強: ネビュライザー療法にともなう副作用について. 耳喉 **52**: 99~104, 1980.
- 2) 石塚洋一: ネビュライザー療法の安全性と実施上の留意点. 耳展 **32**: 485~494, 1989.
- 3) 石塚洋一, 大藏眞一, 秋元淑子, 他: 慢性副鼻腔炎のネビュライザー療法の現状. 耳鼻臨床

83: 1813~1821, 1990.

- 4) 塩田 洋, 大串淳子, 藤田善史: アミノ配糖体系抗生物質ジベカシン(DKB)点眼液の抗原性について. 日眼会誌 **85**: 1492~1496, 1981.

(原稿受付: 平成3年5月29日
原稿採扱: 平成3年8月9日
別刷請求先: 石塚洋一
〒213 川崎市高津区溝口74
帝京大学医学部附属溝口病院耳鼻咽喉科)