

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 4 日現在

機関番号：17401

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2013～2014

課題番号：25893189

研究課題名(和文) 酢酸アルミニウム溶液(ブロー液)の内耳毒性に関する研究

研究課題名(英文) Ototoxicity of Burow solution on the guinea pig cochlea

研究代表者

菅村 真由美 (Sugamura, Mayumi)

熊本大学・医学部附属病院・医員

研究者番号：00389347

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,100,000円

研究成果の概要(和文)：ブロー液については、低いpHのブロー液が内耳毒性を有することがこれまでの基礎研究から示唆された。これまでの実験の結果から、pH4.5のブロー液は内耳毒性を来す可能性は低いと考えられるが、我々はpH4.5ブロー液の抗菌活性は低いことを確認している。ブロー液の殺菌効果は濃度が濃いほど、また投与量が多い程、強い殺菌作用を認めることが確認された。pH4.5のブロー液は緑膿菌のみ発育阻止防止円の出現をみとめたがその他の菌種には出現なく、やはり抗菌活性は低いことが確認された。

研究成果の概要(英文)：PURPOSE OF THE STUDY:The main ingredient of Burow's 13% solution is aluminum acetate, and it has been topically used worldwide for the treatment of chronic discharging ears. However, ototoxicity of this solution is not well understood. The aim of the present study is to evaluate the ototoxicity and the teriostatic activity of Burow solution, with different concentration. RESULTS: Use of the original Burow solution (pH 3.5) for 30 minutes caused a significant reduction of CAP threshold to click sounds. A 2-fold diluted Burow solution (pH 4.4) for 30 minutes caused no reduction in CAP threshold. Burow solution, pH adjusted to 4.5, caused no changes in CAP threshold at 30 minutes. At 24 ours, original Burow solution (pH 3.5) caused complete abolition of CAP. Both the original concentration and the 2-fold diluted Burow solution showed teriostatic activity against all bacteriae.

研究分野：耳鼻咽喉科学

キーワード：ototoxicity cochlea Burow solution guinea pig

1. 研究開始当初の背景

日常診療において耳漏を主訴とする症例は多い。原因の多くは外耳道、中耳における細菌、真菌感染に伴う炎症である。このような症例の多くは抗生剤の点耳、耳洗浄、内服により改善するが、これらの治療に抵抗性を示し耳漏、悪臭、搔痒感、耳閉感などの症状持続に悩まされる症例が少なくない。また、治療が長期化するに伴い起炎菌が抗生剤に対して耐性化することも多く、さらに治療に難渋することになる。また、中耳炎、外耳道炎に対する局所治療薬として適応を持つ点耳抗生剤の種類は少なく、その一部は、耳毒性を持つことがよく知られているアミノグリコシド系抗生剤であるため、鼓膜穿孔を有する症例に対しては、局所治療薬剤の選択肢は皆無となることも多々ある。そのような症例に対しては、効果の限られる生理食塩水による耳洗浄の継続にて悪化を防止する、もしくは、積極的に感染の制御を行うためには感受性を持つ抗生剤の点滴静注投与を行うしか方法がないのが現状である。この様な**難治性の中耳、外耳炎症性疾患に対して、13%ブロー液を点耳、耳浴することにより極めて良好な治療成績が得られることが、1998年南アフリカのThorpeら(J Laryng Otol 1998;112:925-8)、本邦では2003年寺山ら(日耳鼻106:28-33,2003)により報告された。**本薬剤は、本来19世紀に外科医であるBurowによって考案されたが、抗生剤の開発に伴い使用されなくなった。しかし上記の報告以降、難治性の中耳、外耳炎症性疾患の治療として一般臨床の現場で広く用いられるようになった。

ブロー液は市販薬剤ではなく、各医療施設にて調剤作製を行う薬剤であるため、処方薬剤の様に製薬会社による発売前の十分な基礎研究が行われずに治療効果のみが先行して実地臨床の場で使用され始めている。その一方では、内耳傷害を危惧してブロー液の使用を躊躇している耳鼻科医も少なくない。このような現状を鑑みると、ブロー液の内耳毒性に関する基礎研究を行うことは、今後ブロー液を臨床の場で継続して安全に使用していくために必要不可欠な研究であると考えられる。

2. 研究の目的

日常診療において耳漏を主訴とする症例は多い。これらの原因の多くは、外耳、中耳の細菌、真菌感染であり、治療としては抗生剤の投与、耳洗浄が通常行われるが、**治療に難渋することも少なくない。**近年、**酢酸アルミニウム溶液(以下ブロー液)**が難治性の中耳炎、外耳道炎に対して、極めて有効な治療薬であることが報告されて以来、臨床の場においても使用されることが多くなった。しかし、**ブロー液の内耳毒性については未だ明らかでない点も多く、これが本薬剤のさらなる普及を妨げている**と考えられる。

本研究においては、内耳傷害の機序を解明しさらに有効かつ安全な本薬剤の投与方法を確立することを目指す。

3. 研究の方法

pH、濃度と各種細菌に対する抗菌活性の関係を感受性ディスク法にて検討し、各種細菌に対して有効性を持つ pH と濃度の条件域を決定する。臨床分離菌であるメチシリン耐性黄色ブドウ球菌(MRSA)、緑膿菌、多剤耐性緑膿菌(MDRP)、モラクセラカタラーリス、ペニシリン耐性肺炎球菌(PRSP)、ベータラクタマーゼ陰性アンピシリン耐性株インフルエンザ菌(BLNAR)を使用し感受性ディスク法による発育阻止防止円の直径を測定しこれを抗菌活性とする。

- ✓ 菌を 0.5 マクファーランドとしてこれらを 100 倍希釈したものを寒天培地に塗布し 24 時間培養
- ✓ 直径 8mm デスクを培養した菌上におき、pH、濃度を調節したブロー液 50 または 75 μ L を 8mm のデスク上に滴下する。
- ✓ 24 時間後に発育阻止防止円の直径を測定し効果判定する。
- ✓ コントロールとして、生理食塩水、20%のポピドンヨード、強酸水を同様の方法で滴下しその阻止円の直径を測定し効果判定を行なう。

* 手稲溪仁会病院マニュアルの方法に従い(Otol. Neurotol.2004; 25, 9-13) 13%ブロー液(pH3.0)を作製する。

前年の研究で決定されたpHと濃度の条件域のブロー液の内耳傷害性と障害部位についてモルモットを用いて検討する。

1) Xylazine

hydrochloride(10mg/kg)Ketamine hydrochloride(40mg/kg)にて全身麻酔後、耳介後部皮膚切開を行い、中耳骨胞を開放する。顕微鏡下に正円窓窩を確認する。前年と同様に pH4.5、3.0 の 13% プロー液を作製する。申請者の行った過去の研究方法に従い (Am J Otolaryngol.2012;33:595-9) 約 0.2ml のプロー液にて中耳腔内を充満させる。30 分後に吸特殊吸収紙 (MQA ; Inami) にてこの中耳腔内のプロー液を吸収除去する。コントロールとして生理食塩水を用いて同様の処置を行う。

聴覚機能の評価：血管条の機能を評価するために蝸牛内電位の測定を行う。

形態学的評価：聴力評価終了後深麻酔を行い、パラホルムアルデヒドにて心還流固定後、実体顕微鏡下に両側蝸牛を採取する。

4 . 研究成果

pH、濃度と各種細菌に対する抗菌活性の関係を感受性ディスク法にて検討

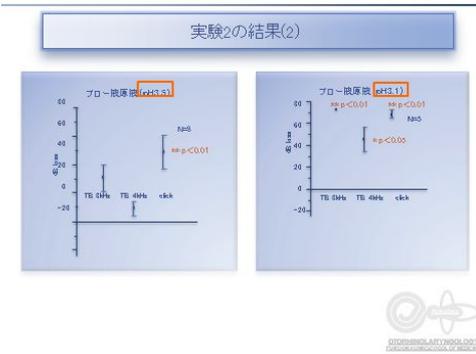
実験1の結果

菌種	原液		2倍希釈		4倍希釈		8倍希釈	
	50	75	50	75	50	75	50	75
p.Aeruginosa	22	36	14	18	-	-	-	-
p.Aeruginosa (mucoid)	25	29	20	21	12	16	-	-
MDRP	24	26	18	16	-	-	-	-
BLNAR	25	30	17	24	12	13	-	-
MRSA	19	24	11	14	-	-	-	-
PRSP	25	26	19	20	-	14	-	-
M.costrhalls	24	28	16	20	10	10	-	-

pH4.5のプロー液は細菌のみ抑制

プロー液の殺菌効果は濃度が濃いほど、また投与量が多い程、強い殺菌作用を認め。

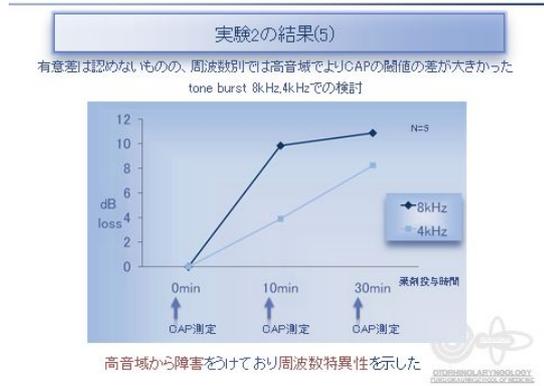
聴覚機能の評価：複合活動電位 (CAP) を測定し電気生理学的検査を行う



当院作成のプロー液においては 30 分の検討で click 刺激での CAP の閾値上昇 有意差を認めた (P<0.01)。第六改正日本薬局方のプロー液においては 30 分の検討で click、TB 4、8kHz 刺激での CAP の閾値上昇 有意差を認めた (P<0.01)。

希釈すると聴力障害を示さなかったので濃度依存性を示した。

pH を高い値に調整すると聴力障害を示さなかったプロー液の内耳毒性には pH 依存性を示した。



高音域から障害をうけており周波数特異性を示した

投与 24 時間後の CAP は記録できず、閾値上昇していた

長時間の薬剤曝露で聴力障害の出現ありプロー液の内耳毒性には時間依存性を示した

形態学的評価：



炎症性物質の析出を認めた

5 . 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計 2 件)

点耳薬剤の内耳毒性とMRSAに対する殺菌効果に対する実験的研究 プロー液、ポビドンヨード、強酸水の比較 Author : 山野 貴史(福岡大学医学部附属筑紫病院 耳鼻いんこう科), 菅村 真由美, 樋口 仁美, 上野 哲子, 中川 尚志, 森園 哲夫 Source: 耳鼻と臨床(0447-7227)59巻4号 Page162-166(2013.07)査読あり

プロー液作製後の経時的な内耳毒性と効力変化の検討(原著論文) Author : 山野 貴史(福岡大学医学部附属筑紫病院 耳鼻いんこう科), 菅村 真由美, 上野 哲子, 樋口 仁美, 中川 尚志, 森園 哲夫 Source : Otology

〔学会発表〕(計 1 件)

1 . **Mayumi Sugamura**, Takafumi
Yamano, Hitomi Higuchi, Takashi
Nakagawa, Tetsuo Morizono.
Ototoxicity of Burow's Solution on the
Guinea Pig Cochlea.
Association for Research in
Otolaryngology Midwinter meeting
2013 (Baltimore, Maryland, USA)

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況 (計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

6 . 研究組織

(1)研究代表者

菅村 真由美 (Sugamura Mayumi)
熊本大学・医学部附属病院・医員
研究者番号：00389347

(2)研究分担者

()

研究者番号：

(3)連携研究者

()

研究者番号：