

形成外科領域における Tobramycin の基礎的検討

とくに家兎皮膚への移行を中心とした検討

吉田 哲 憲・沖本雄一郎・飯田 和 典

松本 敏 明・大浦 武 彦

北海道大学医学部形成外科

佐 藤 清

北海道大学医学部附属病院中央検査部

(昭和 53 年 7 月 4 日受付)

I. は じ め に

Tobramycin (TOB) は、米国 Eli Lilly 社により開発された Aminoglycoside 系の抗生物質で、Gentamicin (GM) とほぼ同等の抗菌力を有し、とくに緑膿菌に対しては強い抗菌力を示すといわれる。

今回、著者らは家兎を用いて TOB の筋注を行い、今まで報告のない皮膚内濃度について検討するとともに、臨床的に熱傷患者の創面から分離された緑膿菌の TOB に対する感受性を測定したので報告する。

II. 実験方法と結果

1) 感受性検査

1975 年 1 月から 1976 年 12 月までの 2 年間に北海道大学形成外科において治療した熱傷患者の創面から分離された緑膿菌 70 株について、日本化学療法学会標準法によって TOB の最小発育阻止濃度 (MIC) を測定した。あわせて同じ Aminoglycoside 系の GM, Dideoxykanamycin B (DKB) の MIC を測定し、比較検討した。

結果は Table 1 に示した。TOB に関する感受性分布は 0.78 $\mu\text{g/ml}$ ~50 $\mu\text{g/ml}$ に含まれ、3.13 $\mu\text{g/ml}$ にピークがみられた。これに対し、GM では MIC のピークは 6.25 $\mu\text{g/ml}$ にみられ、100 $\mu\text{g/ml}$ 以上を示すものが 17 株みられた。また DKB については MIC のピークは GM と同様 6.25 $\mu\text{g/ml}$ にみられ、100 $\mu\text{g/ml}$ 以上のものが 13 株みられた。

同一菌株に対する TOB と GM, TOB と DKB の感受性の比較は Fig. 1, Fig. 2 に相関図として示した。これらから緑膿菌に対し TOB が GM や DKB よりも優れた抗菌力を示していることが知られた。

2) 皮膚内濃度

i) 方法

a) 家兎の脱毛方法

皮膚内濃度の測定に当っては、脱毛処置が必要となるが、その処置方法についての詳細な報告はない^{18,19)}。著

Fig.1 Correlogram between tobramycin and gentamicin against clinically isolated *Pseudomonas aeruginosa*

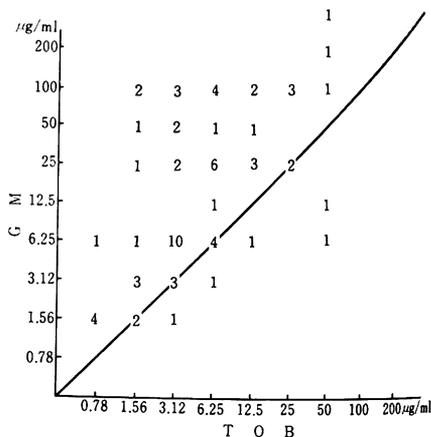
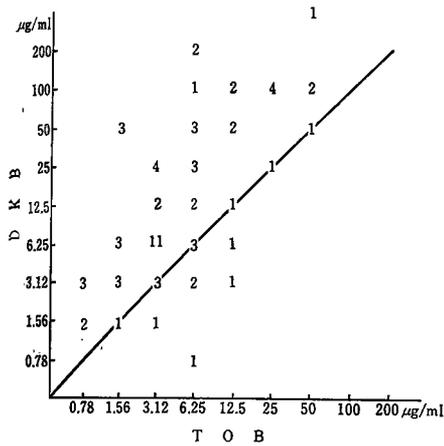


Table 1 Susceptibility of clinically isolated *Pseudomonas aeruginosa* to aminoglycoside antibiotics (70 strains)

Antibiotics	MIC ($\mu\text{g/ml}$)									
	0.78	1.56	3.13	6.25	12.5	25	50	100	200	200<
TOB	5	10	21	17	7	5	5			
GM		7	7	18	2	14	5	15	1	1
DKB	1	4	12	18	5	8	9	9	2	2

Fig. 2 Correlogram between tobramycin and dideoxykanamycin B against clinically isolated *Pseudomonas aeruginosa*



らは、最初、まずバリカンで剃毛したのち脱毛剤エバリームや脱毛ワックスを使用したが生、完全な脱毛状態得られず、採取皮膚の重量測定、homogenize 遠心分の過程でトラブルをおこすことがあり、また熱傷など病的状態を実験的に作成する場合^{20,21)}、脱毛状態にばつきがないことが必須の条件となるので、次のような法で脱毛処置を行なった。ネソプタール静脈麻酔を行なったのち、人間の手による家兎背部の毛のひきぬきを行。かなりの肉体的苦痛を伴うが、根気よく行くと通常剃毛よりはるかに優れた脱毛状態が得られる(表現としては抜毛というほうが適切と思われる)。脱毛処置が了したのち、1週間の期間をおき、局所の炎症症状が失ってから実験に供する(通常剃毛では、処置後週間経過すると驚くほど毛がのびていて、実験を行うとが不可能となることがあるが、著者らの方法ではそ

Fig. 3 State of rabbit's skin after depilation by author's method



のようなことはない)。著者らの方法による家兎の脱毛状態を Fig. 3 に示した。

b) 検体採取方法

上記 a) の脱毛処置をほどこした体重 2.5~3.5 kg の成熟家兎の右大腿部に TOB 5 mg/kg を筋注射し、筋注射後 30 分、1 時間、2 時間、3 時間、4 時間、6 時間後に血中濃度と皮膚内濃度を測定した。採血は腰椎麻酔下に左股動脈から挿入したカニューレから行い、皮膚は肉様膜から上層の組織を採取し、重量測定後 pH 8.0 磷酸緩衝液で約 2.5 倍に希釈し polytron homogenizer により homogenize したのち遠心分離 (3,000 rpm, 15 min) し、その上清を検体とした。血液も採取後、遠心分離してえた血清を検体とした。

c) 薬剤濃度測定法

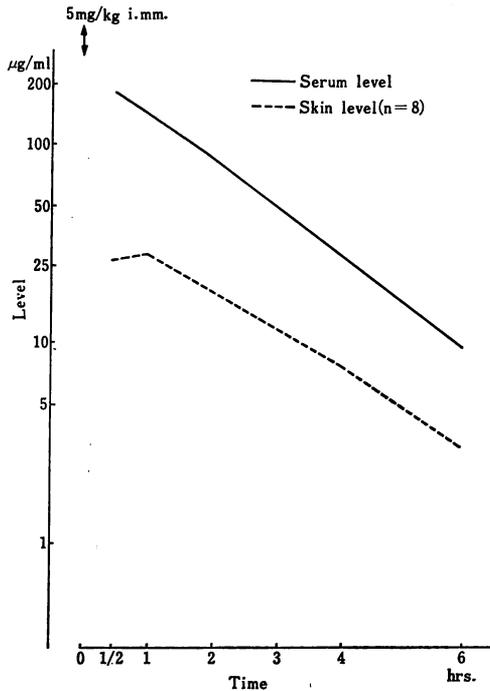
検定菌を *Bacillus subtilis* ATCC 6633 株とする薄層平板ディスク法で測定を行った。基層用培地には、Antibiotic Medium 5 (Difco) pH 8.0 を使用し、bactoconcentration disks 1/4" (Difco) を用い各 disk に検体を 15 μl 浸み込ませ、quaduplicate で行った。標準曲線は Tobramycin pH 8.0 磷酸緩衝液希釈によるものを用いて作成した。

Table 2 Concentration of tobramycin in rabbit (5 mg/kg i. m.)

	Serum level (μg/ml)						Skin level (μg/g)					
	30'	1°	2°	3°	4°	6°	30'	1°	2°	3°	4°	6°
1	180	105	52	26	23	7.8	33	23	12.5	6.8	4.8	—
2	205	170	140	92	34	—	15	16	12.5	12	11.5	—
3	150	125	67	26	8.1	—	21.3	19.7	15.6	12	10	—
4	190	125	56	34	11.5	—	31.8	35.4	21.3	13.9	5.4	5
5	177	170	78	34	19	13.5	19.2	28.6	16.3	10.8	9.6	7.7
6	145	160	90	53	34	13.5	36.8	35.2	23.6	14	9.3	4.5
7	145	140	115	86	44	21	28.3	27	15.8	10.2	4.8	3.7
8	300	195	115	50	48	22	29.6	38.7	24	15.1	9.9	3.6
Mean	186.5	148.7	89.1	50.1	27.7	9.7	26.2	28.0	17.7	11.8	8.2	3.1
S. D.	50.9	29.9	31.6	26.0	14.6		7.6	8.1	4.6	2.6	2.7	

— : not detectable

Fig. 4 Concentration of tobramycin in rabbit



ii) 結果

TOB 5 mg/kg を筋注した際の血中濃度および皮膚濃度を経時的に測定した結果を Table 2, Fig. 4 に示した。

血中濃度は筋注 30 分後に 186.5 µg/ml のピーク値に達したのち、片対数グラフ上を直線的に下降し、4 時間後では 27.7 µg/ml, 6 時間後では 9.7 µg/ml となった。血中半減時間は 1.3 時間であった。

いっぽう、皮膚内濃度は筋注 30 分または 1 時間にピークが存在し、8 例の平均値では、30 分後に 26.2 µg/ml の値を示し、1 時間後に 28.0 µg/ml とピークに達したのち、血中濃度とはほぼパラレルな関係を示しながら片対数グラフ上を直線的に減少した。皮膚濃度は血中濃度の約 20% であった。

III. 考 案

Tobramycin は *Streptomyces tenebrarius* により産生される抗生物質混合物 Nebramycin の 1 成分 Nebramycin factor 6 としてとり出され、開発された、Aminoglycoside 系抗生現質である^{1,2)}。本剤の抗菌スペクトルは緑膿菌、変形菌、肺炎桿菌を含む大部分のグラム陰性桿菌およびグラム陽性菌にわたり、とくに緑膿菌に対してすぐれた感受性を示し、これまで出現した抗生物質のうちで最も強い抗菌力を示すことが注目されている³⁻⁷⁾。

緑膿菌は近年難治性感染症の起炎菌として重視されて

おり、形成外科領域においても広範囲熱傷患者の治療に当って最も困難な問題の 1 つが緑膿菌感染症である^{8,9)}。

著者らは当科で治療した熱傷患者の創面から分離された 70 株の緑膿菌について TOB に対する感受性分布を測定し、同系統の GM, DKB の感受性分布と比較検討した。その結果 TOB は、GM, DKB よりすぐれた抗菌力を示しており、この成績は諸家の報告と同様であり、形成外科領域においても TOB は緑膿菌に対するすぐれた抗菌力から極めて有効な薬剤であると思われる。

本剤の吸収、排泄など生体内動態に関する成績は GM と類似したものであることが知られている¹⁰⁻¹²⁾。形成外科および皮膚科領域で重要な問題となる皮膚内濃度についての報告は TOB はもとより GM についてもなされていない。そこで著者らは家兎を用いて TOB 筋注時の皮膚内濃度を血中濃度とともに測定し検討を加えた。その結果、5 mg/kg の筋注では、血中の約 20% が皮膚で測定され、両者ともほぼパラレルな関係をもって推移してゆくことが知られた。なお、血中濃度は 30 分でピークに達するのに対し、皮膚では 30 分あるいは 1 時間後にピークがみられているが、これは筋注局所からの吸収に一定の限度があるためと考えられる^{10,11)}。この問題については今回の研究では明らかではない。

さて、この家兎実験により TOB 筋注時の皮膚濃度は血中濃度の約 20% であることが知られたが、この動物実験の結果から臨床面での問題について考えてみたい。通常、成人に用いられる TOB の常用量である 60 mg の筋注では、血中濃度は 4.9 µg/ml¹³⁾ であるので、皮膚へはその約 20% である 0.98 µg/g 程度の移行があると推定される。この程度の皮膚 TOB 濃度では、著者らのデータによる緑膿菌に対する MIC 3.13 µg/ml には到達せず、皮膚緑膿菌感染症に対する局所での確実な効果を期待することは難しいと考えられる。従ってたんに血中濃度から効果的な TOB 投与法を考えるのではなく、病巣となっている皮膚への移行は動物実験では 20% であるという実態を考慮し、1 回の投与量を増して局所での TOB 濃度を高めることが必要である。著者らは、1 日 180 mg の投与量であれば 60 mg, 3 回の投与よりも 90 mg, 2 回の投与方法が良いと考えており、また 1 日 240 mg の投与量であれば、60 mg, 4 回よりも 80 mg, 3 回の投与を行ったほうが良く、それでも臨床効果がみられない場合には 120 mg, 2 回の投与にきりかえるという方針をとっている。ただ投与にあたっては Aminoglycoside 系抗生物質に共通の聴毒性、腎毒性は TOB においても例外ではないので^{22,23,24)}、注意が必要で、とくに副作用をきたしやすき腎機能障害患者に対する投与は十分な配慮のもとに行われるべきで、必ず尿系薬物の

測定を行い²⁵⁾, SABATHのような血中濃度の monitor²⁶⁾ 必要となる。またこれら副作用の面から、いたずらに投与量を増量することはできないので、他剤との併用療法も考えるべきで^{27,28)}, 著者らは重症緑膿菌感染症に対しては、180~240 mg/日の TOB と 10~20 g/日の arbenicillin あるいは S ulbenicillin の併用療法を行うことが多く、同時に局所療法剤の使用や surgical debridement などが必要である⁹⁾。これらについては本研究の目的ではないので割愛するが、TOB は、緑膿菌に対する抗菌力がすぐれており、著者らの動物実験から得られた皮膚への移行のデータから、投与方法としては病局所での濃度を高めるように1回の投与量を増やすことにより、形成外科、皮膚科領域での優れた治療成績をあげるができるかと考える。

IV. む す び

Tobramycin について若干の検討を行った結果、以下のような結論を得た。

1) 緑膿菌に対する抗菌力

熱傷創からの臨床分離緑膿菌 70 株について Tobramycin の感受性試験を行い、Gentamicin, Dideoxykanamycin B と比較したところ、一般に Tobramycin のほうの抗菌力において優れていた。

2) 皮膚内濃度

家兔に Tobramycin を 5 mg/kg 筋注した際の皮膚内濃度を血中濃度とともに測定したところ、皮膚では血中約 20% が測定され、血中濃度のピークは 30 分後にみられたのに対し、皮膚濃度のピークは 30 分~60 分後にられ、その後両者はほぼパラレルな関係を示した。

稿を終るにあたり、御指導、御協力を賜った北大第二科 斉藤玲先生、北大病院中央検査部 松宮英祺教授 深謝いたします。

文 献

- 1) STARK, W. M.; M. M. HOEHN & N. G. KNOX: Nebamycin, a new broad-spectrum antibiotic complex. I. Detection and biosynthesis. Antimicrob. Agents & Chemoth. 314~323, 1967
- 2) WICK, W. E. & J. S. WELLES: Nebamycin, a new broad-spectrum antibiotic complex. IV. *in vitro* and *in vivo* laboratory evaluation. Antimicrob. Agents & Chemoth. 341~348, 1967
- 3) MEYER, R. D.; L. S. YOUNG & D. ARMSTRONG: Tobramycin (Nebamycin Factor 6): *In vitro* activity against *Pseudomonas aeruginosa*. Appl. Microbiol. 22(6): 1147~1151, 1971
- 4) WAITZ, J. A.; E. L. MOSS, C. G. DRUBE & M. J. WEINSTEIN: Comparative activity of sisomicin, gentamicin, kanamycin, and tobramycin. Antimicrob. Agents & Chemoth. 2(6): 431~437, 1972
- 5) KLASTERSKY, J.; D. DANEAU & V. DE MAERTELAER: Comparative study of tobramycin and gentamicin with special reference to anti-*Pseudomonas* activity. Clin. Pharmacol. Therap. 14(1): 104~111, 1973
- 6) KARNEY, W.; K. K. HOLMES & M. TURCK: Comparison of five aminocyclitol antibiotics *in vitro* against *Enterobacteriaceae* and *Pseudomonas*. Antimicrob. Agents & Chemoth. 3(3): 338~342, 1973
- 7) 真山三賀雄, 永田弘, 金沢喜代治: Tobramycin の *in vitro* 抗菌作用。Chemotherapy 23 (3): 859~880, 1975
- 8) 大浦武彦, 吉田哲憲: グラム陰性桿菌感染症。救急医学 2(4): 395~402, 1978
- 9) 第3回日本熱傷学会学術集会シンポジウム「熱傷と感染」熱傷 3(1): 9~11, 1977
- 10) LOCKWOOD, W. R. & J. D. BOWER: Tobramycin and gentamicin concentrations in the serum of normal and anephric patients. Antimicrob. Agents & Chemoth. 3(1): 125~129, 1973
- 11) SIMON, V. K.; E. U. MÖSINGER & V. MALERCZY: Pharmacokinetic studies of tobramycin and gentamicin. Antimicrob. Agents & Chemoth. 3 (4): 445~450, 1973
- 12) NABER, K. G.; S. R. WESTENFELDER & P. O. MADSEN: Pharmacokinetics of the aminoglycoside antibiotic tobramycin in humans. Antimicrob. Agents & Chemoth. 3(4): 469~473, 1973
- 13) 斉藤玲, 石川清文, 加藤康道, 富沢磨須美, 中山一郎: Tobramycin に関する研究。Chemotherapy 23(3): 908~914, 1975
- 14) 真下啓明, 深谷一太, 国井乙彦, 鈴木誠, 光沢栄三: Tobramycin に関する研究。Chemotherapy 23(3): 965~969, 1975
- 15) 上田泰, 松本文夫, 斉藤篤, 嶋田甚五郎, 大森雅久, 小林千鶴子, 柴孝也, 山路武久, 三枝幹文: Tobramycin に関する臨床的研究。Chemotherapy 23(3): 956~964, 1975
- 16) 滝本昌俊, 吉岡一: 抗生物質の Pharmacokinetics について。小児科診療 38(2): 141~148, 1975
- 17) 滝本昌俊, 吉岡一: 抗生物質の Pharmacokinetics について (第1報) 筋注時の抗生剤の Pharmacokinetics。Chemotherapy 24 (8): 1585~1591, 1976
- 18) 吉田哲憲, 沖本雄一郎, 大浦武彦, 飯田和典, 斉藤玲: 形成外科領域における Ticarcillin の基礎的・臨床的検討。Chemotherapy 25 (9): 2681~2689, 1977
- 19) 荒田次郎, 谷奥喜平: 皮膚科領域の静注用 Fosfomicin-Na。Chemotherapy 23 (11): 3606~3608, 1975
- 20) 吉田哲憲, 大浦武彦, 沖本雄一郎, 飯田和典, 斉藤玲: 抗生物質の投与速度と皮膚および熱傷組織内濃度の動態について。熱傷 1 (3): 195~202, 1976

- 21) 吉田哲憲, 大浦武彦, 沖本雄一郎, 飯田和典, 齊藤玲: 熱傷皮膚組織内抗生物質濃度の動態について (第2報)。熱傷 2(3): 237~243, 1977
- 22) 秋吉正豊, 佐藤喜一, 中田穂出美, 奈良哲次, 田島たよ子, 佐々木和則, 小川幹男: Tobramycin の聴器毒性について (第1報)。Chemotherapy 23(3): 1522~1543, 1975
- 23) 秋吉正豊, 佐藤喜一, 中田穂出美, 奈良哲次, 田島たよ子, 佐々木和則, 小川幹男: Tobramycin の聴器毒性について (第2報)。Chemotherapy 23(12): 3707~3720, 1975
- 24) 齊藤玲: Tobramycin の臓器内濃度一とくに腎蓄積について。Chemotherapy 23(12): 3721~3726, 1975
- 25) 藤井千穂, 小川道雄, 杉本侃: Tobramycin の臨床的研究 (第1報)。Chemotherapy 23(3): 1201~1211, 1975
- 26) SABATH, L. D.; J. I. CASEY, P. A. RUCH, L. L. STUMPF & M. FINLAND: Rapid microassay for circulating nephrotoxic antibiotics. Antimicrob. Agents & Chemoth. 83~90, 1970
- 27) 中沢昭三, 大槻雅子, 西野武志, 中尾雅文: 緑膿菌に対する合成ペニシリンとアミノ酸糖体抗生物質との併用に関する細菌学的研究。Chemotherapy 23(10): 3201~3209, 1975
- 28) 川島士郎: Penicillin系抗生剤とAminoglycoside系抗生剤の相互作用に関する研究。Chemotherapy 23(12): 3767~3774, 1975

FUNDAMENTAL STUDIES ON TOBRAMYCIN

TETSUNORI YOSHIDA, YUICHIRO OKIMOTO, KAZUNORI IIDA,
TOSHIAKI MATSUMOTO and TAKEHIRO OHURA

Department of Plastic Surgery, Hokkaido University School of Medicine

KIYOSHI SATO

Clinical Laboratory, Hokkaido University School of Medicine

Laboratory and experimental studies on tobramycin were performed, and the following results were obtained:

1) Antibacterial activity

The sensitivity of 70 strains of *Pseudomonas aeruginosa* isolated from burn wounds to tobramycin was measured, and compared with that to gentamicin and dideoxykanamycin B.

Generally, in MIC values, the antibacterial activity of tobramycin was superior to that of gentamicin and dideoxykanamycin B.

2) Tissue concentration

After a single intramuscular injection of 5 mg tobramycin/kg to rabbits, the concentration of tobramycin in the serum and in the skin were determined.

The peak of concentration in the serum was obtained after 30 minutes (average 186.6 $\mu\text{g/ml}$). On the other hand, the peak of concentration in the skin was obtained after 60 minutes (average 28.0 $\mu\text{g/ml}$). The tobramycin level in the skin was about 20% of that in the serum.