

2008 年 1 月

デルモゾールG 製剤の生物学的同等性に関する資料

岩城製薬株式会社 学術部
試験実施時期：1983 年～1985 年

〔目的〕 試料薬と対照薬について以下の薬理試験を行い、両者の抗炎症作用を比較した。

1. カラゲニン浮腫の抑制効果（足蹠浮腫法）
2. 綿球による炎症性の肉芽増殖の抑制効果（綿球法）
3. 人工創傷の自然治癒遅延作用（創傷治癒法）
4. 実験動物皮膚感染治療効果

・軟膏

	製剤名	製造業者
試料薬	デルモゾールG 軟膏	岩城製薬株式会社
対照薬	リンデロンV G 軟膏	塩野義製薬株式会社

・クリーム

	製剤名	製造業者
試料薬	デルモゾールG クリーム	岩城製薬株式会社
対照薬	リンデロンV G クリーム	塩野義製薬株式会社

・ローション

	製剤名	製造業者
試料薬	デルモゾールG ローション	岩城製薬株式会社
対照薬	リンデロンV G ローション	塩野義製薬株式会社

〔試験方法〕

1. カラゲニン浮腫の抑制効果（足蹠浮腫法）

足蹠浮腫については薬剤を 1 日塗布、3 日塗布および 5 日塗布した場合について、浮腫の抑制効果を調べた。

(1) 1 日塗布

健康なラット 30 匹を一群 10 匹ずつ、薬物無投与群（以後 Control 群と記す）、対照薬塗布群および試料薬塗布群の 3 群に分ける。（予め 30 匹のラットに番号をつけ、乱数表の 0～30 までの数を初めから読みとり、それに対応する番号のラットを順番に取り出して 10 匹ずつ分けて各群に割り付ける。以後の実験に於いても同様な方法で動物の割り付けを行った。）

対照薬群および試料薬群については、各々の薬剤を 100mg ずつ 1 時間ごとに 3 回ラットの足蹠に塗布する。このとき、3 回目の塗布直前に起炎物質 0.1mL/ラット (1%カラゲニン水溶液) を足蹠皮下に注射する。

起炎物質を注射した時から 1, 2, 3, 4 および 5 時間後に足容積を測定し、起炎物質投与直前の足容積に対する各時間の足容積の増加（浮腫）を浮腫率として表した。

一方、Control 群は薬剤を塗布せずに起炎物質を注射し、その後薬剤塗布群と同じ操作をして各時間の浮腫率を求める。

(2) 3 日塗布

Control 群、対照薬群および試料薬群の 10 匹のラットについて以下の操作を行う。

対照薬および試料薬群については各々の薬剤を 100mg ずつ 2 日間午前 9 時、正午および午後 3 時の 3 回塗布し、3 日目は 1 日塗布と同じ操作をして足容積を測定し各時間の浮腫率を求めた。

Control 群については薬剤を塗布しないこと以外は、薬剤塗布群と同じ操作をして浮腫率を求める。

(3)5 日塗布

Control 群、対照薬群および試料薬群の 10 匹ずつのラットについて以下の操作を行う。

対照薬および試料薬群については各々の薬剤を 100mg ずつ 4 日間午前 9 時、正午および午後 3 時の 3 回塗布し、5 日目は 1 日塗布と同じ操作をして足容積を測定し各時間の浮腫率を求めた。

Control 群については薬剤を塗布しないこと以外は、薬剤塗布群と同じ操作をして浮腫率を求める。

※足容積の測定法

ビーカーに水を満し、あらかじめラットの後肢の一定部位にマジックインクで印をして、その印のところに迄浸漬したときにビーカーからこぼれ落ちる水の量(g)を測定する。

$$\text{浮腫率(\%)} \quad E = (V_t - V_0) / V_0 \times 100$$

V_t : 起炎剤注入後の足容積

V_0 : 起炎剤注入前の足容積

$$\text{浮腫抑制率(\%)} \quad I = (E_c - E_d) / E_c \times 100$$

E_c : Control 群の浮腫率

E_d : 薬剤塗布群の浮腫率

1%カラゲニン水溶液 : カラゲニン (ヘキスト社) 100mg を滅菌蒸留水 10mL に溶かし 1 日放置してから使用する。

2. 綿球による炎症性の肉芽増殖の抑制効果 (綿球法)

Control 群、対照薬群および試料薬群の各群 10 匹ずつのラットについて以下の操作を行う。

ペントバルビタールナトリウム (30mg/kg 腹腔内注射) 麻酔下でラットの背部を除毛、消毒し中央部正中線に沿って約 1cm の長さに皮膚を切開し、予め重量を測定し滅菌した綿球を左右の腋下に各 1 個ずつ挿入した後、切開部を縫合する。

対照薬群と試料薬群は各々の薬剤 100mg ずつを、手術当日より 7 日間毎日午前 9 時と午後 3 時の 2 回、綿球を挿入した部分に塗布し、8 日目にラットを屠殺して綿球とそれを含む肉芽組織を剥離する。これらを恒量になるまで乾燥したあと秤量し、綿球重量を差し引いて肉芽組織の乾燥重量を求めた。

Control 群は薬剤を塗布しないこと以外は薬剤塗布群と同様に操作し肉芽組織の乾燥重量を求める。

ペントバルビタールナトリウム : ネンブタール注射液 (大日本製薬)

$$\text{肉芽増殖抑制率 (\%)} \quad I = (W_c - W_d) / W_c \times 100$$

W_c : Control 群の乾燥肉芽重量

W_d : 薬剤塗布群の乾燥肉芽重量

3. 人工創傷の自然治癒遅延作用（創傷治癒法）

Control 群、対照薬群及び試料薬群の各群 10 匹ずつのラットについて以下の操作を行う。

ペントバルビタールナトリウム（30mg/kg 腹腔内注射）麻酔下にラットの背部両側腹の皮膚を 1cm 切開後直ちに縫合して人工創傷を作る。

試料薬及び対照薬群については各々薬剤 25mg ずつを手術後より 7 日間毎日午前 9 時と午後 3 時の 2 回創傷面に塗布し、8 日目にラットを屠殺して創傷面を中央に持つ皮膚片（縦 1cm 横 3cm）を剥離する。この皮膚片の総称部に並行する一端を固定し、他端に荷重をかけ創傷部位を開裂させるに要する荷重量を求めた。

Control 群は、薬剤を塗布しないこと以外は薬剤塗布群と同様の操作をし、創傷部を開裂させるのに要する荷重量を求めた。

創傷治癒遅延率(%) $I = (W_c - W_t) / W_c \times 100$

W_c : Control 群の荷重量

W_t : 薬剤塗布群の荷重量

4. 実験動物皮膚感染治療効果

試験菌 以下の 3 種類でいずれも臨床分離株

Escherichia coli 29456Pus (*E. coli*)

Staphylococcus aureus 29172 (*S. aureus*)

Pseudomonas aeruginosa 29456 (*P. aeruginosa*)

マウスをペントバルビタールナトリウム（50mg/kg）腹腔内注射により麻酔し、背部を直径 2cm 程度の円形に抜毛した後、ハンダゴテを約 0.5 秒間ずつ数回にわたり押し当て直径約 1.5cm の円形の熱傷を作成する。

次に熱傷部位の内径 1.2cm に朱印をつけ、その内側を注射針で均一に 30 回刺した後あらかじめ調製した菌液を 0.02mL 滴下し均一に伸ばし接種する。

菌液調製法：菌を普通寒天板上に塗り 37℃18 時間培養後、滅菌生理食塩水中に白金耳にて移植分散させ、 10^8 cells/mL の菌数になるよう希釈する。

各試験菌について熱傷皮膚感染させた後、*S. aureus* S 及び *E. coli* については薬剤を 1 日 1 回 100mg ずつ 12 日間塗布し、塗布開始前、1, 3, 6, 9 及び 12 日後に、また *P. aeruginosa* については薬剤を 1 日 1 回 100mg ずつ 20 日間、塗布塗布開始前、1, 3, 6, 9, 12, 15, 及び 20 日後に薬剤無処置群、対照薬塗布群及び試料薬塗布群の各動物の感染皮膚患部の生菌数を測定した。

菌液を接種したマウスをエーテル麻酔し、患部より 4mm² の切片を摘出する。摘出された切片の重量を測定した後、ガラス製ホモジナイザーで 5mL の滅菌生理食塩水と共に粉碎分散し、これを原液として 10 倍希釈系列を作る。これらの液 0.1mL を普通寒天平板上に滴下し、滅菌コンラージ棒で進展し、37℃一昼夜培養後コロニー数を測定する。

最近数の変化は、次式により算出した切片 1mg 中の菌数として表した。

計算式 切片 1mg 中の菌数 = $x \times 50 \times 10 y / w$

x : コロニー数

y : 原液希釈率の希釈指数

w : 切片の重量 (mg)

50 : 希釈係数

[結果]

1. カラゲニン浮腫の抑制効果（足蹠浮腫法）

・軟膏

(1) 1 日塗布

		1 時間	2 時間	3 時間	4 時間	5 時間
Control	浮腫率(%)	57.57	71.79	90.20	95.27	78.81
試料薬	浮腫率(%)	30.76	45.03	61.07	62.72	40.97
	抑制率(%)	46.57	37.28	32.29	34.17	48.01
対照薬	浮腫率(%)	35.25	47.75	65.38	63.81	43.56
	抑制率(%)	38.77	33.49	27.52	33.02	44.73

(2) 3 日塗布

		1 時間	2 時間	3 時間	4 時間	5 時間
Control	浮腫率(%)	58.77	71.62	91.45	94.15	80.95
試料薬	浮腫率(%)	19.42	28.51	33.90	30.46	27.28
	抑制率(%)	66.96	60.19	62.93	67.65	66.30
対照薬	浮腫率(%)	20.68	30.59	33.70	29.38	28.90
	抑制率(%)	64.81	57.29	63.15	68.79	64.30

(3) 5 日塗布

		1 時間	2 時間	3 時間	4 時間	5 時間
Control	浮腫率(%)	60.72	70.75	90.31	95.84	78.23
試料薬	浮腫率(%)	19.26	21.87	31.04	24.63	20.99
	抑制率(%)	68.28	69.09	65.63	74.30	73.17
対照薬	浮腫率(%)	23.74	27.02	33.83	21.74	20.59
	抑制率(%)	60.90	61.81	62.54	77.32	73.68

・クリーム

(1) 1 日塗布

		1 時間	2 時間	3 時間	4 時間	5 時間
Control	浮腫率(%)	57.62	69.85	92.98	95.61	80.49
試料薬	浮腫率(%)	24.85	48.48	59.38	57.68	36.59
	抑制率(%)	56.87	30.59	36.14	39.67	54.54
対照薬	浮腫率(%)	30.16	50.36	64.32	58.75	45.79
	抑制率(%)	47.66	27.90	30.82	38.55	43.11

(2) 3 日塗布

		1 時間	2 時間	3 時間	4 時間	5 時間
Control	浮腫率(%)	62.60	75.78	93.64	96.04	84.90
試料薬	浮腫率(%)	20.33	25.23	32.94	28.17	24.36
	抑制率(%)	67.52	66.71	64.82	70.67	71.31
対照薬	浮腫率(%)	24.56	28.52	33.92	28.89	26.50
	抑制率(%)	60.77	62.36	63.78	69.92	68.79

(3) 5 日塗布

		1 時間	2 時間	3 時間	4 時間	5 時間
Control	浮腫率(%)	65.30	76.87	94.87	99.83	85.48
試料薬	浮腫率(%)	18.65	23.78	30.68	24.42	22.61
	抑制率(%)	71.44	69.06	67.66	75.54	73.55
対照薬	浮腫率(%)	21.09	24.41	32.91	25.71	20.07
	抑制率(%)	67.70	68.25	65.31	74.25	76.52

・ローション

(1) 1 日塗布

		1 時間	2 時間	3 時間	4 時間	5 時間
Control	浮腫率(%)	57.57	71.79	90.20	95.27	78.81
試料薬	浮腫率(%)	31.94	43.41	61.95	54.95	28.50
	抑制率(%)	44.52	39.53	31.32	42.32	63.84
対照薬	浮腫率(%)	33.27	46.58	59.48	52.51	29.98
	抑制率(%)	42.21	35.12	34.06	44.88	61.96

(2) 3 日塗布

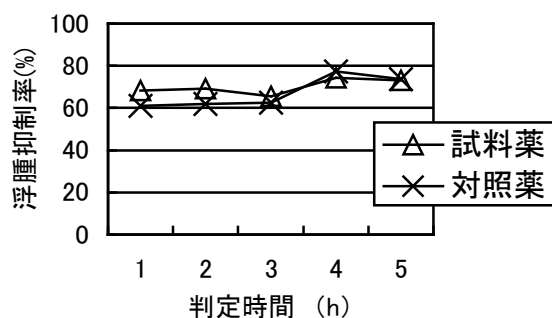
		1 時間	2 時間	3 時間	4 時間	5 時間
Control	浮腫率(%)	58.77	71.62	91.45	94.15	80.95
試料薬	浮腫率(%)	29.62	35.84	40.62	29.44	25.15
	抑制率(%)	49.60	50.04	55.58	68.73	68.93
対照薬	浮腫率(%)	25.35	40.43	46.21	31.86	26.82
	抑制率(%)	56.87	43.55	49.47	66.16	66.87

(3) 5 日塗布

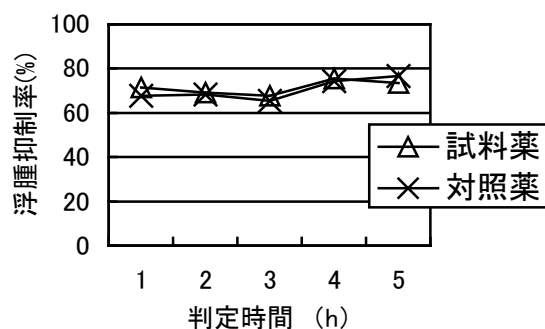
		1 時間	2 時間	3 時間	4 時間	5 時間
Control	浮腫率(%)	60.72	70.75	90.31	95.84	78.23
試料薬	浮腫率(%)	14.79	24.71	19.93	17.68	16.53
	抑制率(%)	75.64	65.07	77.93	81.55	78.87
対照薬	浮腫率(%)	18.40	28.29	24.25	21.79	20.54
	抑制率(%)	69.70	60.01	73.15	77.26	73.74

5 日間塗布の結果をグラフ化した。

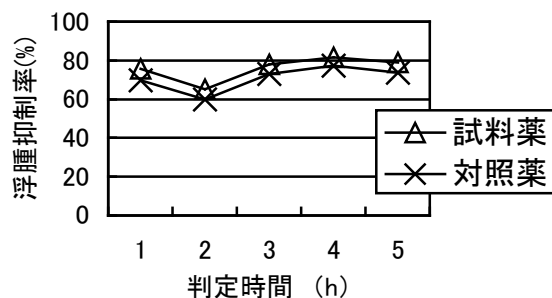
軟膏 カラゲニン浮腫抑制効果 n=10



クリーム カラゲニン浮腫抑制効果 n=10



ローション カラゲニン浮腫抑制効果 n=10



2. 綿球による炎症性の肉芽増殖の抑制効果（綿球法）

・軟膏

	肉芽増殖抑制率(%)
試料薬	25.43
対照薬	27.43

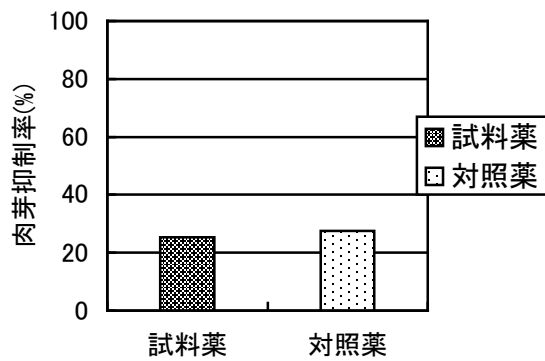
・クリーム

	肉芽増殖抑制率(%)
試料薬	27.21
対照薬	29.72

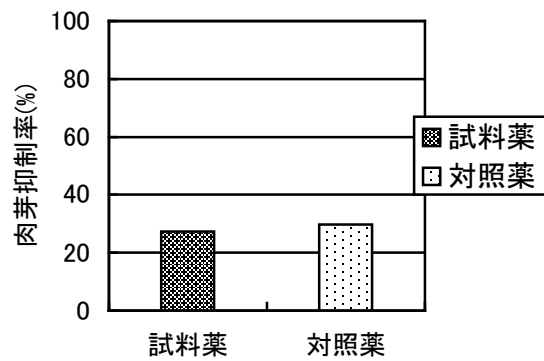
・ローション

	肉芽増殖抑制率(%)
試料薬	33.83
対照薬	22.78

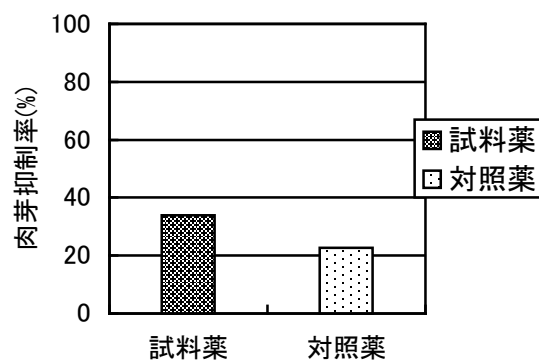
軟膏 肉芽形増殖抑制効果 n=10



クリーム 肉芽形増殖抑制効果 n=10



ローション 肉芽形増殖抑制効果 n=10



3. 人工創傷の自然治癒遅延作用（創傷治癒法）

・軟膏

	創傷治癒遅延率 (%)
試料薬	10.17
対照薬	12.64

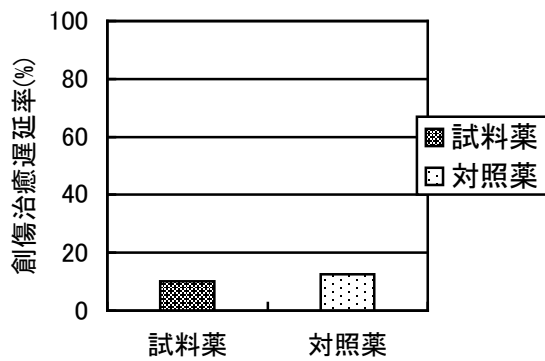
・クリーム

	創傷治癒遅延率 (%)
試料薬	11.24
対照薬	11.80

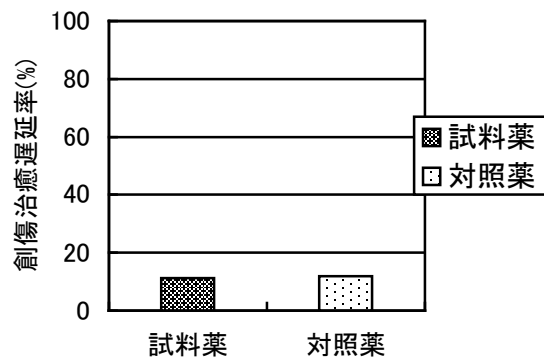
・ローション

	創傷治癒遅延率 (%)
試料薬	9.13
対照薬	12.88

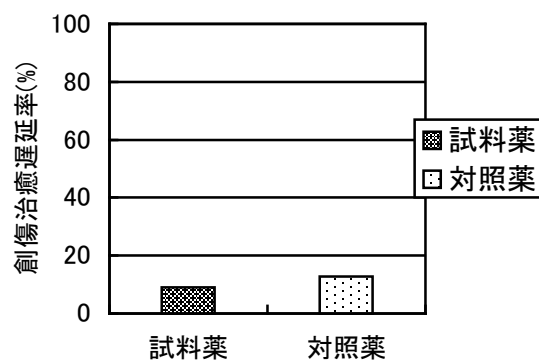
軟膏 自然治癒遅延作用 n=10



クリーム 自然治癒遅延作用 n=10



ローション 自然治癒遅延作用 n=10



4. 実験動物皮膚感染治療効果

・軟膏

E. coli

	開始前	1 日目	3 日目	6 日目	9 日目	12 日目
Control	5.52	5.19	5.98	5.88	4.99	4.22
試料薬	5.34	2.57	1.87	1.54	0.95	0.95
対照薬	5.64	2.76	1.77	0.91	0.94	0.92

Log(cells/mg)

S. aureus

	開始前	1 日目	3 日目	6 日目	9 日目	12 日目
Control	5.94	6.54	6.58	6.31	6.43	6.18
試料薬	5.75	3.76	3.38	3.17	2.02	1.17
対照薬	5.34	3.21	2.64	3.14	1.91	1.13

Log(cells/mg)

P. aeruginosa

	開始前	1 日目	3 日目	6 日目	9 日目	12 日目	15 日目	20 日目
Control	5.92	6.17	5.69	5.21	5.45	6.03	5.93	6.12
試料薬	5.69	6.05	5.87	5.44	5.08	4.28	4.39	4.49
対照薬	5.48	5.90	6.21	5.22	4.63	4.09	3.82	4.38

Log(cells/mg)

・クリーム

E. coli

	開始前	1 日目	3 日目	6 日目	9 日目	12 日目
Control	5.52	5.19	5.98	5.68	4.99	4.22
試料薬	5.43	3.11	2.79	1.40	1.55	1.11
対照薬	5.38	2.50	2.45	1.07	0.88	0.93

Log(cells/mg)

S. aureus

	開始前	1 日目	3 日目	6 日目	9 日目	12 日目
Control	5.94	6.54	6.58	6.31	6.43	6.18
試料薬	5.83	5.53	3.18	3.63	1.69	0.98
対照薬	5.89	4.80	3.65	2.84	1.72	1.22

Log(cells/mg)

P. aeruginosa

	開始前	1 日目	3 日目	6 日目	9 日目	12 日目	15 日目	20 日目
Control	5.92	6.17	5.69	5.21	5.45	6.03	5.93	6.12
試料薬	5.81	4.34	5.08	3.86	3.65	4.66	4.07	3.78
対照薬	5.50	4.46	4.81	3.91	4.12	4.57	3.86	3.73

Log(cells/mg)

・ローション

E. coli

	開始前	1 日目	3 日目	6 日目	9 日目	12 日目
Control	5.52	5.19	5.98	5.68	4.99	4.22
試料薬	5.60	3.46	3.65	2.25	1.80	1.17
対照薬	5.89	4.18	2.67	2.37	1.98	1.74

Log(cells/mg)

S. aureus

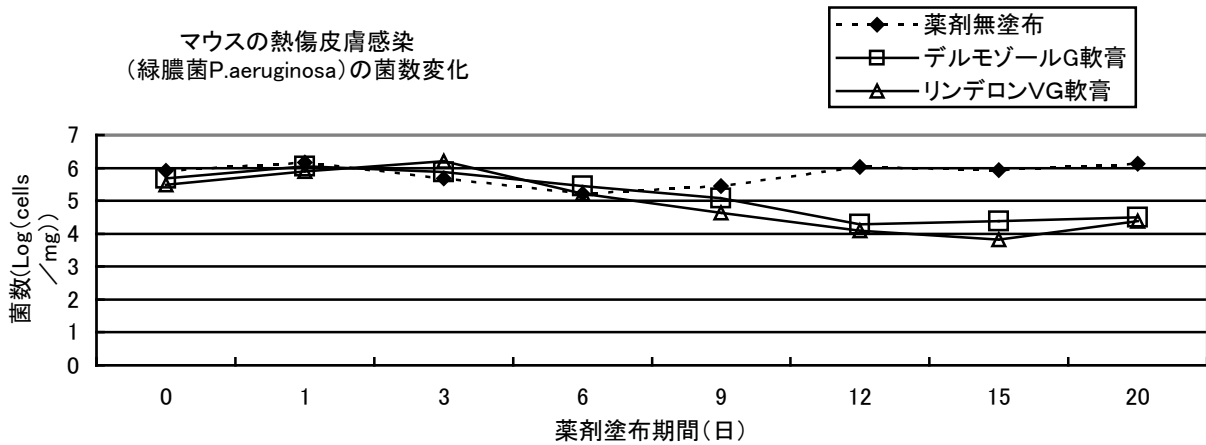
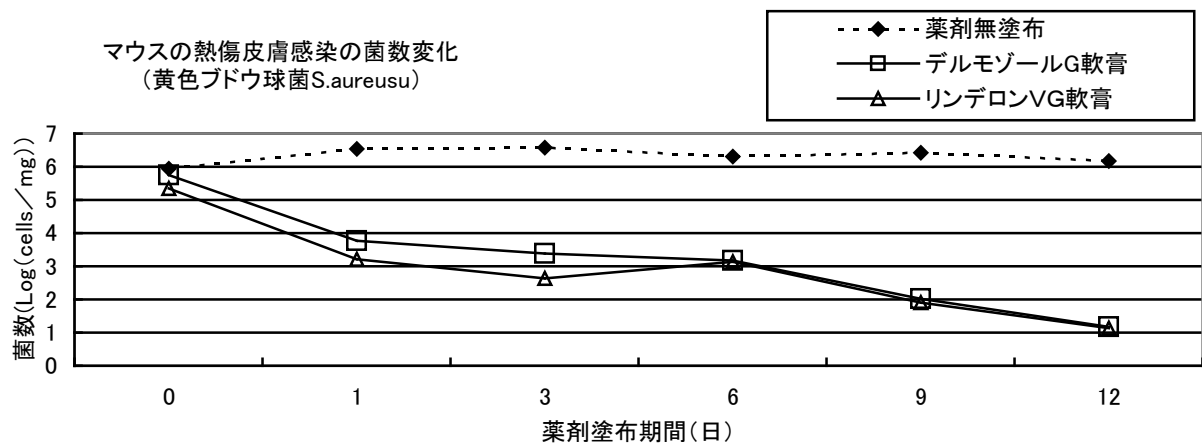
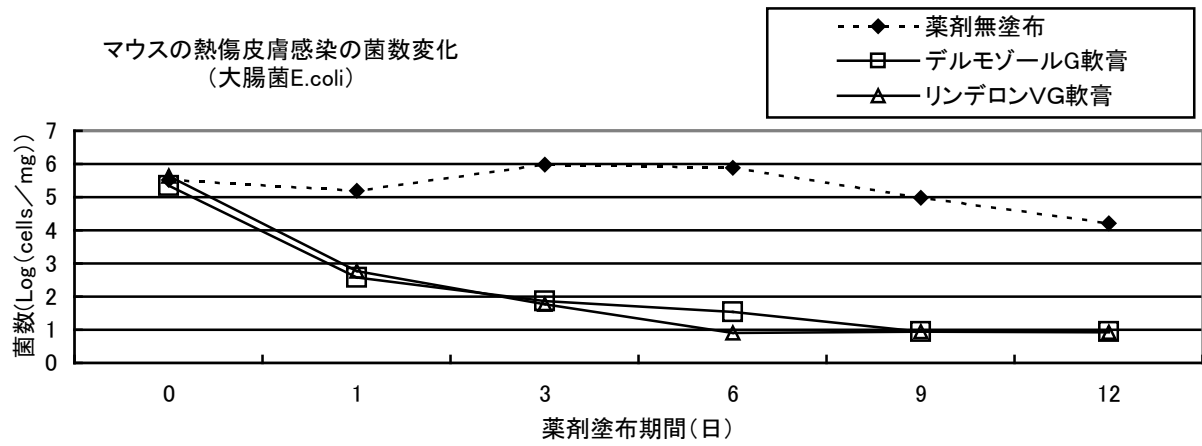
	開始前	1 日目	3 日目	6 日目	9 日目	12 日目
Control	5.94	6.54	6.58	6.31	6.43	6.18
試料薬	6.18	4.25	3.67	2.56	2.88	1.05
対照薬	6.06	4.17	4.97	3.06	2.40	1.20

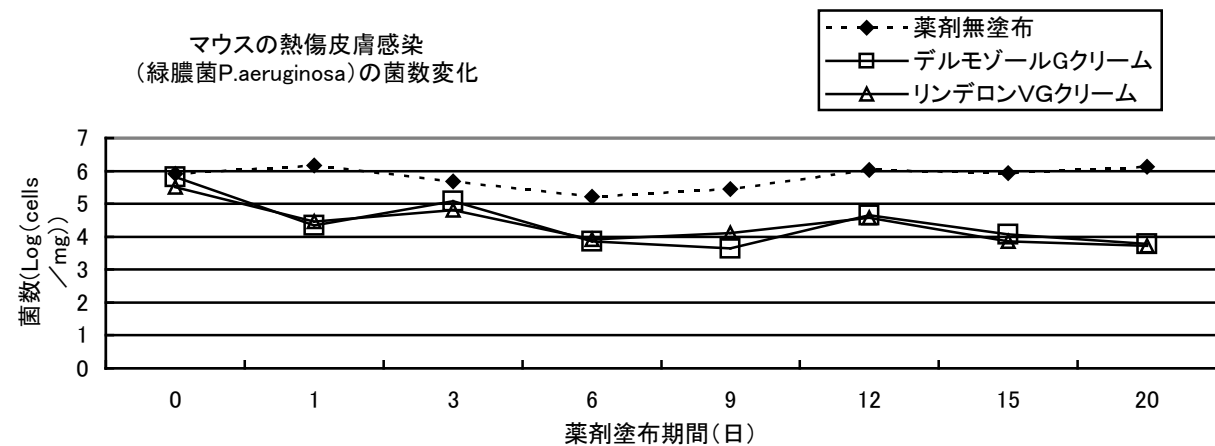
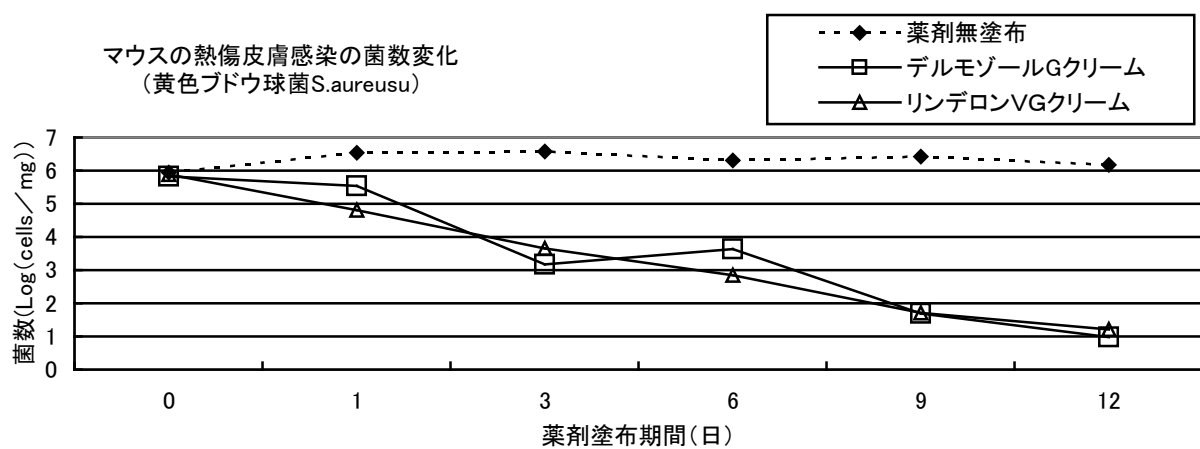
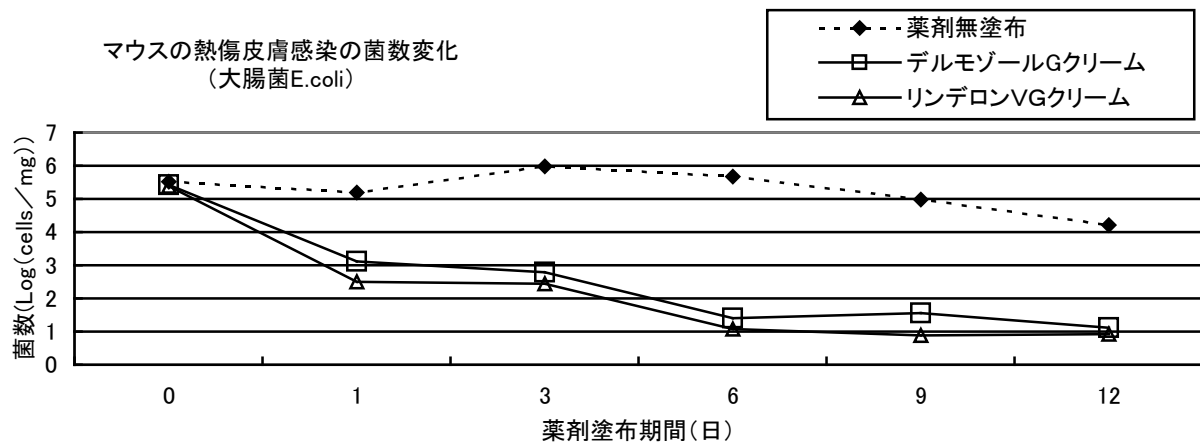
Log(cells/mg)

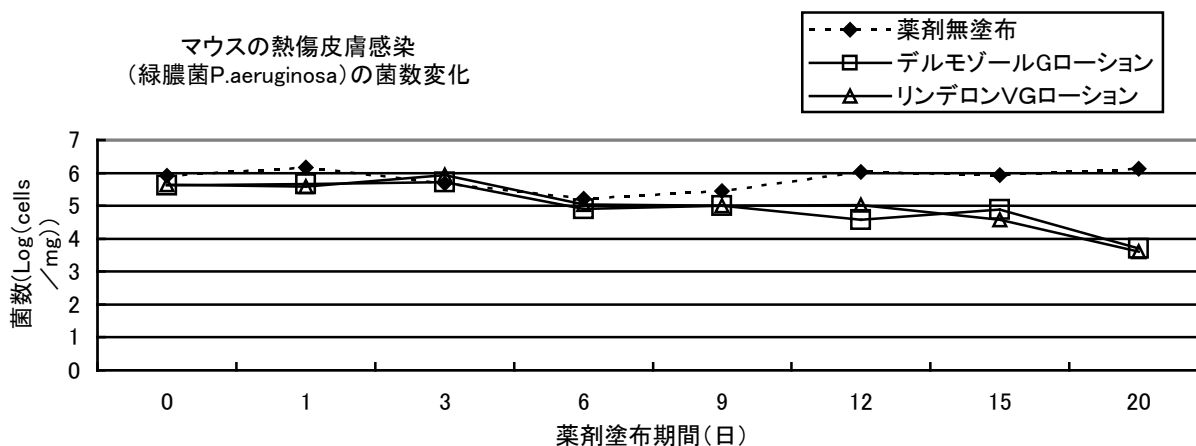
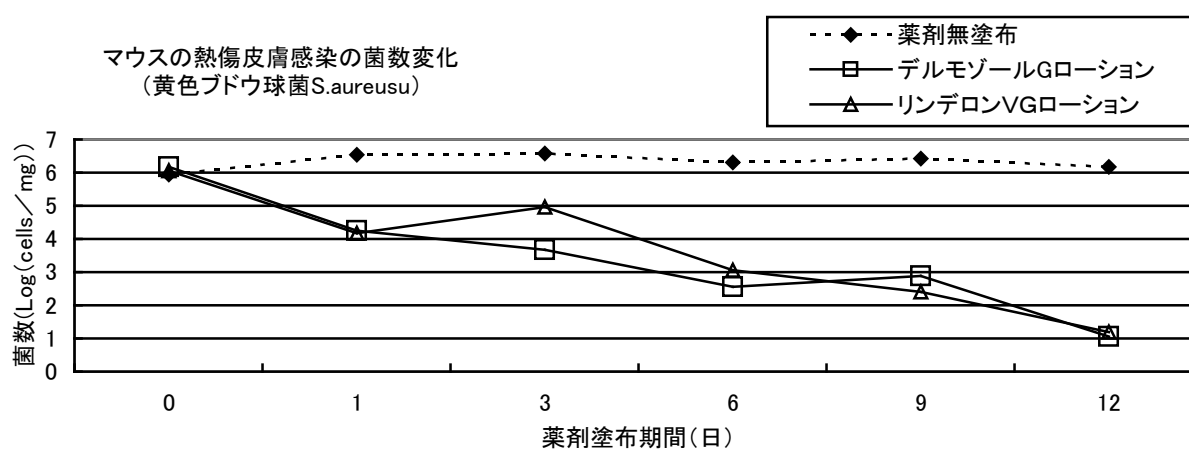
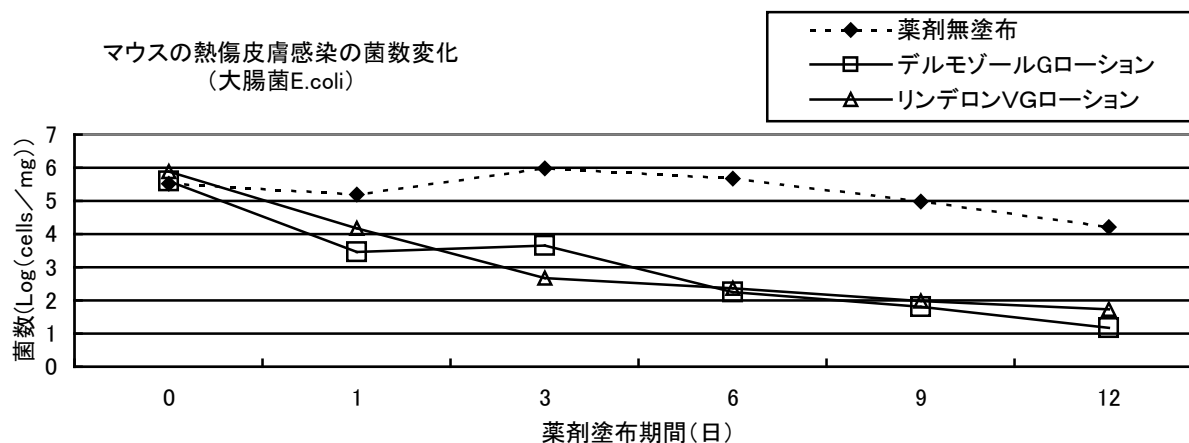
P. aeruginosa

	開始前	1 日目	3 日目	6 日目	9 日目	12 日目	15 日目	20 日目
Control	5.92	6.17	5.69	5.21	5.45	6.03	5.93	6.12
試料薬	5.62	5.66	5.72	4.91	5.00	4.58	4.89	3.71
対照薬	5.64	5.58	5.93	5.04	5.01	5.03	4.58	3.61

Log(cells/mg)







[考察]

- ①試料薬と対照薬の足蹠浮腫法、綿球法、創傷治癒遅延作用において両剤は有意差を認めなかった。
- ②臨床分離株を用いたマウスによる熱傷皮膚感染に対する塗布治療実験の結果、大腸菌および黄色ブドウ球菌に関しては試料薬、対照薬の両剤とも強い殺菌力を示し、同等の効果を示した。これに対し、緑膿菌に対しては、両剤ともやや弱い殺菌効果を示したが、その効力は同程度で差が認められなかった。
- ③以上の結果から試料薬および対照薬は生物学的に同等であると推定される。