

熱依存性ゲル化マイトマイシン C の家兎眼濾過手術に対する効果

一圓 公治, 澤田 明, 山本 哲也, 北澤 克明, 白木 玲子, 楊 睦義

岐阜大学医学部眼科学教室

要 約

目 的：熱依存性ゲル化マイトマイシン C は体温付近でゲル化するため、ゲル化剤を使用しないマイトマイシン C に比較して標的器官への薬物の移行が良好であることを、我々は既に報告している。今回、我々はゲル化マイトマイシン C の効果を、家兎濾過手術モデルにおいて眼圧および濾過胞形態を指標として検討した。

対象と方法：ゲル化マイトマイシン C (0.3, 3.0, 30 $\mu\text{g}/0.1 \text{ ml}$) を氷水上で水溶液とした後、白色家兎の上耳側結膜下に注射し、24 時間後に管錐術を施行した。眼圧測定、前眼部撮影、超音波生体顕微鏡による濾過胞観察を術後 1, 2, 4 週に施行した。無処置、マイトマイシン C 非配合ゲル化剤、0.3 $\mu\text{g}/0.1 \text{ ml}$ マイトマイシン C 水溶液

投与群も同様の方法で施行した。各濃度につき 12 眼を対象とした。

結 果：ゲル化マイトマイシン C 3.0, 30 μg 投与群では眼圧は有意に下降し、超音波生体顕微鏡の観察で濾過胞は無処置群に比較して高く存在した。

結 論：熱依存性ゲル化マイトマイシン C はマイトマイシン C の新規投与方法として検討に値する。(日眼会誌 103: 277—281, 1999)

キーワード：マイトマイシン C, 熱依存性ゲル化剤, 緑内障濾過手術, 眼圧, 濾過胞

Effect of Mitomycin C Dissolved in a Reversible Thermosetting Gel on Outcome of Filtering Surgery in the Rabbit

Koji Ichien, Akira Sawada, Tetsuya Yamamoto

Yoshiaki Kitazawa, Reiko Shiraki and Mutsuyoshi Yoh

Department of Ophthalmology, Gifu University School of Medicine

Abstract

Purpose : Based on our previous report that showed enhanced transfer of mitomycin C to the sclera and the conjunctiva by dissolving the antiproliferative in a reversible thermo-setting gel, we conducted a study to investigate the efficacy of the mitomycin C-gel in the rabbit.

Methods : We subconjunctivally injected 0.1 ml of the mitomycin C-gel solution containing several amounts of the drug. Trephination was performed in the injected region 24 hours later. Intraocular pressure measurement, and photography and ultrasound biomicroscopic examination of the filtering bleb were done 1, 2, and 4 weeks postoperatively.

Results : The gel containing 3.0 μg or more mitomycin C significantly enhanced bleb formation in addition to reducing the intraocular pressure.

Conclusion : The reversible thermo-setting gel seems to facilitate filtration following glaucoma filtering surgery in the rabbit and deserves further investigation as a new method of mitomycin C application. (J Jpn Ophthalmol Soc 103: 277—281, 1999)

Key words : Mitomycin C, Reversible thermo-setting gel, Glaucoma filtering surgery, Intraocular pressure, Filtering bleb

I 緒 言

近年、緑内障濾過手術では線維芽細胞増殖阻害薬であるマイトマイシン C の術中投与が一般化し、眼圧コントロールの点では予後の改善が得られている^{1)~7)}。しかし

ながら、現在臨床で行われている投与方法では、スポンジから放出されるマイトマイシン C 量はスポンジ含有量の 1/6 程度にすぎないこと、また、ばらつきの大きいことが知られている⁸⁾⁹⁾。マイトマイシン C は細胞毒性が強い^{10)~15)}、その投与量は少量で、また、定量性の高い投与

別刷請求先：500-8705 岐阜市司町 40 岐阜大学医学部眼科学教室 一圓 公治
(平成 10 年 6 月 30 日受付, 平成 10 年 11 月 2 日改訂受理)

Reprint requests to: Koji Ichien, M.D. Department of Ophthalmology, Gifu University School of Medicine, 40 Tsukasa-mach, Gifu 500-8705, Japan

(Received June 30, 1998 and accepted in revised form November 2, 1998)

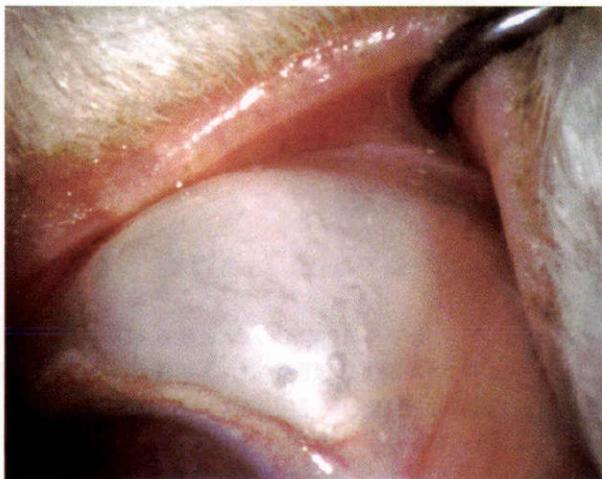


図1 ゲル化剤配合マイトマイシンCを家兎眼の耳上側に結膜下注射した直後。

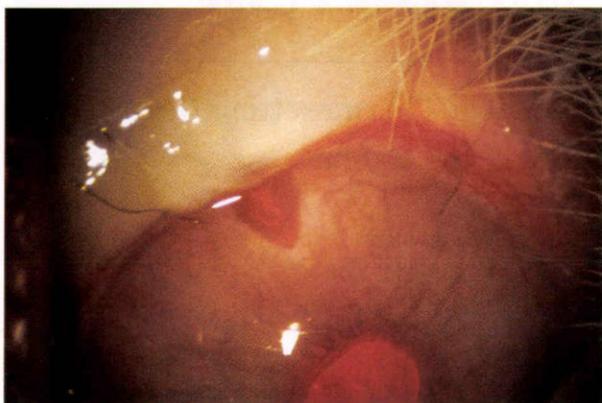


図2 術後4週間の前眼部写真。

ゲル化剤配合マイトマイシンC 30 μ g 投与眼。丈の高い胞状で血管に乏しい濾過胞を観察した。

法が望ましい。

我々は既に、マイトマイシンCの投与方法を改良する目的で、新しく開発された熱依存性ゲル化剤(わかもと製薬)を配合したマイトマイシンCの家兎眼における眼組織移行量を検討し報告¹⁶⁾した。この熱依存性ゲル化剤は、1.4%メチルセルロース、3.53%クエン酸、2.0%ポリエチレングリコールから成り、温度変化でゲルからゾル化する薬剤である。既報では熱依存性ゲル化剤を使用することで、現在臨床で用いられているマイトマイシンCの1/70の投与量で現在のスポンジ法とほぼ同程度の組織濃度が得られ、標的器官への薬物の移行が良好であることが明らかとなった。

今回、我々は家兎眼において、この熱依存性ゲル化マイトマイシンCの濾過手術に対する効果を眼圧および濾過胞形態の観察により検討したので報告する。

II 実験方法

実験動物として、体重2kg前後の白色家兎を用いた。



図3 図2の症例のultrasound biomicrography(UBM)写真。

対象を6群に分類し、熱依存性ゲル化剤配合マイトマイシンC群を3群とし、その投与量は0.3, 3.0, 30 μ gとした。また、他の3群はマイトマイシンCを含まないゲル化剤群、マイトマイシンC 30 μ g含有水溶液群および無処置群とした。各群とも6匹12眼、合計36匹72眼を対象とした。

熱依存性ゲル化剤配合マイトマイシンC群では熱依存性ゲル化剤(わかもと製薬)配合マイトマイシンC⁹⁾を氷水上で水溶液とした後、0.1 mlを30 G針で家兎の上耳側の結膜下に注射した(図1)。24時間後に結膜下注射した部位に管錐術を施行した。Fornix-basedで結膜切開し、直径1 mmのトレパンでtrephinationした後、周辺虹彩切除と結膜縫合を行った。結膜は輪部で10-0ナイロン糸で2針縫合し、術後、0.3%オフロキサシン(タリビッド[®], 参天製薬)眼軟膏を点入し終了した。マイトマイシンCを含まないゲル化剤群では、同様にゲル化剤0.1 mlを結膜下注射し、また、マイトマイシンC 30 μ g含有水溶液群ではマイトマイシンC水溶液0.1 mlを結膜下注射した後24時間に手術を行った。無処置群では、術前の結膜下注射は行わなかった。

術前、術後1, 2, 4週にAlcon Applanation pneumatonograph[®]による眼圧測定、手術用顕微鏡付属のカメラによる前眼部撮影(図2)、超音波生体顕微鏡(モデル840, Zeiss-Humphrey社, ultrasound biomicrography, UBM)による濾過胞の観察を行った。UBM画像を基に濾過胞の高さを測定した。図のごとくUBM画像上、濾過胞の部位を同定し、濾過胞の最も高い部位で強膜上に垂直に垂線を下ろし、その線分の長さを濾過胞の高さとした(図3)。眼圧測定直前に0.04%塩酸オキシプロカイン(ベ

表 1 濾過手術前後の眼圧経過(mmHg)

	術前	1週	2週	4週
0.3 μg 群	17.1±5.5	17.3±4.2	17.6±5.0	20.7±2.4
3.0 μg 群	18.2±3.6	14.2±3.5	13.1±5.8	11.6±4.2
30 μg 群	18.4±5.0	14.1±3.2	13.9±7.2	13.9±6.5
30 μg 水溶液群	18.1±4.4	12.8±6.7	10.5±8.1	11.4±6.9
ゲル基剤群	25.3±2.7	23.5±3.6	21.3±3.4	23.4±5.1
無処置群	14.2±5.3	16.0±4.5	20.9±3.6	11.9±3.4

平均値±標準偏差

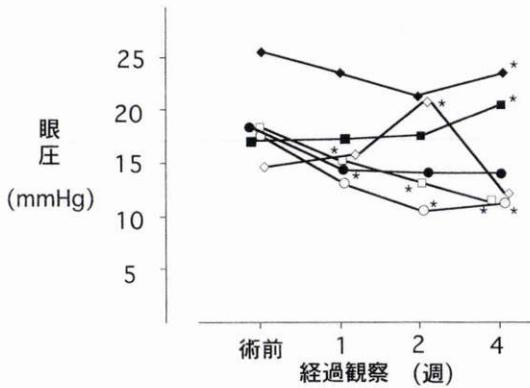


図 4 濾過手術前後の眼圧経過。

有意差は術前値との比較。

■：0.3 μg 群, □：3.0 μg 群, ●：30 μg 群, ○：30 μg 水溶液群, ◆：ゲル基剤群, ◇：無処置群

*: p<0.05, Wilcoxon signed-rank test.

ノキシール[®]で点眼麻酔を施行し、眼圧測定後、0.05% 塩酸ケタミン(ケタラール[®])および2%キシラジン(2% セラクター[®])を7:1に混合した溶液を0.1 ml 筋肉内注射し、全身麻酔の後に前眼部撮影、管錐術およびUBMを施行した。

統計処理は、眼圧に関しては各群の術前眼圧(対照)と術後眼圧の間で Wilcoxon signed-rank test を行い、危険率5%以下を有意差ありとした。また、濾過胞の大きさは各週の無処置群(対照)と薬剤処置群との間で Fisher's protected least significant difference (Fisher's PLSD) を行い、危険率5%以下を有意差ありとした。

III 結 果

マイトマイシン C 処置群では、他群に比較してより術後胞状で血管に乏しい濾過胞が観察された(図 2, 3)。その内訳は、術後4週でゲル化マイトマイシン C 処置群では、0.3 μg 投与群で 16.7%、3.0 μg 投与群で 50%、30 μg 投与群で 75%、およびマイトマイシン C 30 μg 含有水溶液群で 75% であり、ゲル化剤群、無処置群では観察されなかった。濾過手術施行前後の眼圧の経過を表 1、図 4 に、濾過胞の大きさの経過を表 2、図 5 に示す。ゲル化マイトマイシン C 処置群では 3.0 μg 投与群、30 μg 投与群およびマイトマイシン C 30 μg 含有水溶液群において術前

表 2 濾過手術前後の濾過胞の大きさの経過(mm)

	1週	2週	4週
0.3 μg 群	0.81±0.45	0.37±0.22	0.27±0.20
3.0 μg 群	0.87±0.54	0.78±0.61	0.59±0.58
30 μg 群	0.61±0.29	0.79±0.42	0.78±0.74
30 μg 水溶液群	0.65±0.27	1.2±0.97	1.2±0.69
ゲル基剤群	1.0±0.54	0.42±0.23	0.24±0.10
無処置群	0.53±0.16	0.28±0.12	0.42±0.28

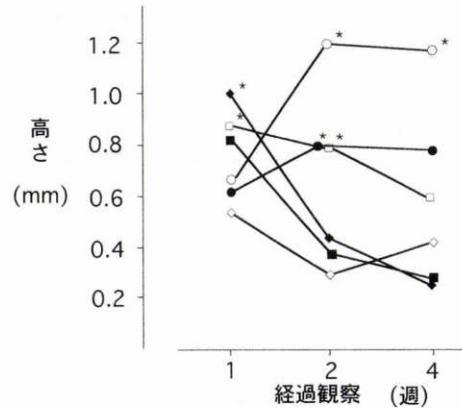


図 5 濾過手術前後の濾過胞の大きさの経過。

■：0.3 μg 群, □：3.0 μg 群, ●：30 μg 群, ○：30 μg 水溶液群, ◆：ゲル基剤群, ◇：無処置群

有意差は無処置群との比較(*: p<0.05 Fisher's protected least significant difference).

と比較して4週まで有意に眼圧は下降した。また、0.3 μg 投与群、ゲル基剤群および無処置群では眼圧下降はなかった。濾過胞の大きさはゲル化マイトマイシン C 処置群は 3.0 μg 投与群、30 μg 投与群は無処置群と比較して2週まで有意に濾過胞が存在していた。0.3 μg 投与群では濾過胞は2週以降存在しなかった。無処置群の濾過胞は前眼部の観察および UBM の画像上も経過中ほとんど存在しなかった。

IV 考 按

緑内障濾過手術の不成功は、通常術後線維芽細胞増殖による濾過部位の癒痕化によることが多く^{17)~20)}、5-フルオロウラシル、マイトマイシン C のような線維芽細胞増殖阻害薬の術後結膜下注射や術中塗布が実験的にも臨床的にも有効であることが報告^{11)21)~25)}され、一般的になりつつある。しかし、5-フルオロウラシルの結膜下注射は術後数日にわたって施行されなければならない、また、角膜上皮障害の発症率の高いことも知られている²³⁾。マイトマイシン C の術中投与は、現在約 0.04% のマイトマイシン C を術中約 3~5 分間濾過予定部位に塗布し、直後に大量の生理食塩水で洗浄する方法が施行されており⁵⁾⁶⁾、その眼圧下降効果は良好である。しかし、止血用スポンジなどの担体から放出されるマイトマイシン C 量は全投

与量の1/6程度であること、また、その放出量にばらつきの大きいことが知られている⁸⁾⁹⁾。

マイトマイシンCは細胞毒性が強く^{10)~15)}、Mietzら¹⁴⁾は家兎眼にマイトマイシンCを結膜下投与し眼内の毒性作用を調べ、6か月後および12か月後の眼を組織学的に観察し、すべてのマイトマイシンC投与眼で毛様体上皮に病理学的な変化があり、この変化が用量依存性であったと報告している。これらのことから、マイトマイシンCの投与量はできる限り少量で、また、定量性の高い投与方法が望ましいと思われる。今回、我々は既に有効性の確認されているマイトマイシンCを利用し、安全性と定量性の向上をめざして濾過手術予定部位に術前にマイトマイシンCを投与する方法を試みた。また、より標的的部位、すなわち濾過手術予定部位だけにマイトマイシンCを投与するために熱依存性ゲル化剤をマイトマイシンCの担体として用いた。

既に報告した実験¹⁶⁾では0.22, 2.9, 28 μg を含有する3種類の熱依存性ゲル化剤配合マイトマイシンC各0.1 mlを使用し、結膜下注射後24時間の結膜および強膜の残留マイトマイシンC濃度をhigh performance liquid chromatography (HPLC)法で測定したところ、組織内マイトマイシンC濃度は0.5時間をピークとして急速に減少し、いずれの投与量においても24時間後では検出されなかった。また、臨床で一般に用いられている投与方法に準じて止血用スポンジを用いたマイトマイシンC 200 μg 投与眼では、組織内マイトマイシンC濃度はゲル化マイトマイシンC 2.9, 28 μg 投与眼の中間に位置していた⁹⁾。すなわち、熱依存性ゲル化剤は1/70の投与量で現在のスポンジ法とほぼ同程度の組織濃度が得られ、標的器官への薬物の移行が良好であることが明らかとなった。今回用いたマイトマイシンCは0.3, 3.0, 30 μg の3種類で、これは既に報告した実験¹⁶⁾でほぼ同量のマイトマイシンCを使用しており、3.0, 30 μg の投与量で従来のスポンジによる投与方法⁹⁾と同程度の効果があったためである。

今回の実験では、UBMにより濾過胞の存在の定量的な観察を行った。これはUBMの登場によって濾過胞を含む前眼部の詳細な観察が可能になったため^{26)~32)}である。その結果、ゲル化マイトマイシンC処置群では3.0 μg 投与群、30 μg 投与群ともに無処置群と比較して長期間濾過胞は高く存在することが確認された。また、これらの群は術後有意に眼圧は下降した。このことから、ゲル化マイトマイシンCを担体とするマイトマイシンC投与方法は従来の投与方法と同等の濾過効果を得ることができ、したがって、ゲル化マイトマイシンCを用いることによりマイトマイシンCの総投与量を減少させる可能性があると考えられた。

今回の実験ではマイトマイシンC 30 μg 含有水溶液群においても、ゲル化マイトマイシンC 3.0 μg と30 μg 投

与群と同様に眼圧下降および濾過胞の形成が良好であった。しかしながら、水溶液の結膜下注射はゲルに比較して結膜下に広範囲に広がるため、標的部位以外にもマイトマイシンCが作用する可能性がある。既に報告した実験¹⁶⁾でゲル化マイトマイシンC 2.9 μg 投与群がマイトマイシンC 20 μg 投与群の結膜下注射よりもinitial concentrationが同等であるにもかかわらず、0.5時間と24時間の間のarea under the curveが高いことから、マイトマイシンC結膜下注射が広範囲に広がっていることが示唆される。また、原ら¹⁵⁾はマイトマイシンCの家兎毛様体への細胞毒性は、電子顕微鏡を用いた観察ではマイトマイシンC投与直下の毛様体色素上皮の病理学的変化は投与側および対側で観察され、対側に比し投与側に強く、濃度依存性であったと報告している。これらのことから、マイトマイシンCの眼内毒性を考慮するとより狭い範囲に作用するゲル化剤がより適切であると思われる。

線維芽細胞増殖阻害薬の定量性を求めた方法としては、他にもRabowskyら²⁵⁾がbioerodible polymerを利用しダウノルビシンを濾過部位に投与する方法を報告している。彼らの利用したdrug delivery systemでは、bioerodible polymerを併用することにより線維芽細胞増殖阻害薬であるダウノルビシンを持続的に放出することで線維芽細胞を増殖阻害し、術後の濾過効果を維持できるとされる。

線維芽細胞増殖阻害薬を併用した緑内障濾過手術では、術後その濾過胞は乏血管性の壁の薄い濾過胞が生じることが多いが、今回の実験のように術前に線維芽細胞増殖阻害薬を投与しても濾過胞の性状はほぼ同等であることが明らかになった。近年、線維芽細胞増殖阻害薬を併用して緑内障濾過手術後晩期感染症の発生の危惧も示唆されており、線維芽細胞増殖阻害薬の眼組織への安全性をさらに確立しなければならないが、今回示したように、その投与量の減少により安全性を高めることができると期待される。以上から、熱依存性ゲル化剤配合マイトマイシンCは、マイトマイシンCの新しい投与方法として検討するに値すると思われる。

文 献

- 1) Palmer SS: Mitomycin as adjunct chemotherapy with trabeculectomy. *Ophthalmology* 98: 317—321, 1991.
- 2) Kitazawa Y, Kawase K, Matsushita H, Minobe M: Trabeculectomy with mitomycin. A comparative study with fluorouracil. *Arch Ophthalmol* 109: 1693—1698, 1991.
- 3) Skuta GL, Beeson CC, Higginbotham EJ, Lichter PR: Intraoperative mitomycin versus postoperative 5-fluorouracil in high-risk glaucoma filtering surgery. *Ophthalmology* 116: 72—78, 1993.
- 4) Mermoud A, Salmon JF, Murray ADN: Trabeculectomy with mitomycin C for refractory glau-

- coma in blacks. *Am J Ophthalmol* 116 : 72—73, 1993.
- 5) **Kitazawa Y, Suemori-Matsushita H, Yamamoto T, Kawase K** : Low-dose and high-dose mitomycin C trabeculectomy as initial surgery in primary open-angle glaucoma. *Ophthalmology* 100 : 1624—1628, 1993.
- 6) **Yamamoto T, Ichien M, Suemori-Matsushita H, Kitazawa Y** : Trabeculectomy with mitomycin C for normal-tension glaucoma. *J Glaucoma* 4 : 158—163, 1995.
- 7) **Katz GJ, Higginbotham EJ, Lichter PR, Skuta GL, Musch DC, Bergstrom TJ, et al** : Mitomycin C versus 5-fluorouracil in high-risk glaucoma filtering surgery. Extended follow-up. *Ophthalmology* 102 : 1263—1269, 1995.
- 8) **Yamamoto T, Kitazawa Y** : Residual mitomycin C dosage in surgical sponges removed at the time of trabeculectomy. *Am J Ophthalmol* 117 : 672—673, 1994.
- 9) **Kawase K, Matsushita H, Yamamoto T, Kitazawa Y** : Mitomycin concentration in rabbit and human ocular tissue after topical administration. *Ophthalmology* 99 : 203—207, 1992.
- 10) **Kitazawa Y, Yamamoto T** : The risk profile of mitomycin C in glaucoma surgery. *Curr Opin Ophthalmol* 5 : 105—109, 1994.
- 11) **Fourman S** : Scleritis after glaucoma filtering surgery with mitomycin C. *Ophthalmology* 102 : 1569—1571, 1995.
- 12) **Nuits RMMA, Felten PC, Pels E, Langerhorst CT, Geijssen HC, Grossniklaus HE, et al** : Histopathologic effects of mitomycin C after trabeculectomy in human glaucomatous eyes with persistent hypotony. *Am J Ophthalmol* 118 : 225—237, 1994.
- 13) **Prata JA, Minckler DS, Baerveldt G, Lee PP, Heuer DK** : Site of mitomycin C application during trabeculectomy. *J Glaucoma* 3 : 296—301, 1994.
- 14) **Mietz H, Addicks K, Bloch W, Kriegelstein GK** : Long-term intraocular toxic effects of topical mitomycin C in rabbit. *J Glaucoma* 5 : 325—333, 1996.
- 15) **原 岳, 小幡博人, 白土城照, 新家 眞** : マイトマイシン C の家兎毛様体への細胞毒性. *日眼会誌* 102 : 88—94, 1998.
- 16) **Ichien K, Yamamoto T, Kitazawa Y, Oguri A, Ando A, Kondo Y** : Mitomycin C dissolved in a reversible thermosetting gel: Target tissue concentrations in the rabbit eye. *Br J Ophthalmol* 81 : 72—75, 1997.
- 17) **近藤雄司, 河野吉喜, 岡田和正, 山本哲也, 操 忠, 片桐義博, 他** : 熱依存性ゲル化剤を配合したチモロール点眼液の眼圧下降効果. *あたらしい眼科* 12 : 1289—1293, 1995.
- 18) **Friedenwald JS** : Some problems in the diagnosis and treatment of glaucoma. *Am J Ophthalmol* 33 : 1523—1538, 1950.
- 19) **Teng CC, Chi HH, Katzin HM** : Histology and mechanism of filtering operations. *Am J Ophthalmol* 47 : 16—34, 1959.
- 20) **Addicks EM, Quigley HA, Green WR, Robin AL** : Histologic characteristics of filtering blebs in glaucomatous eyes. *Arch Ophthalmol* 101 : 795—798, 1983.
- 21) **Yamamoto T, Varani J, Soong HK, Lichter PR** : Effects of 5-fluorouracil and mitomycin C on cultured rabbit subconjunctival fibroblasts. *Ophthalmology* 97 : 1204—1210, 1990.
- 22) **Gressels MG, Parrish RK, Folberg R** : 5-fluorouracil glaucoma filtering surgery. An animal model. *Ophthalmology* 91 : 378—383, 1984.
- 23) **The Fluorouracil Filtering Surgery Study Group** : Three-year follow-up of the fluorouracil filtering surgery study. *Am J Ophthalmol* 115 : 82—92, 1983.
- 24) **Kondo M, Araie M** : Concentration change of fluorouracil in the external segment of the eye after subconjunctival injection. *Arch Ophthalmol* 106 : 1718—1721, 1988.
- 25) **Rabowsky JH, Dukes AJ, Lee DA, Leong KW** : The use of bioerodible polymers and daunorubicin in glaucoma filtration surgery. *Ophthalmology* 103 : 800—807, 1996.
- 26) **Pavlin CJ, Foster FS** : *Ultrasound biomicroscopy of the Eye*. Springer-Verlag, New York, 1994.
- 27) **Pavlin CJ, Harasiewicz K, Foster FS** : Ultrasound biomicroscopy of anterior segment structures in normal and glaucomatous eyes. *Am J Ophthalmol* 113 : 381—389, 1992.
- 28) **Pavlin CJ, Harasiewicz K, Sherar MD, Foster FS** : Clinical use of ultrasound biomicroscopy. *Ophthalmology* 98 : 287—295, 1991.
- 29) **山本哲也** : 緑内障診療と超音波生体顕微鏡. *臨眼* 50 : 1335—1339, 1996.
- 30) **佐久間毅, 山本哲也, 北澤克明** : Ultrasound biomicroscope による原発閉塞隅角緑内障の隅角の観察. *日眼会誌* 99 : 806—810, 1995.
- 31) **山本哲也, 澤田 明, 佐久間毅, 北澤克明** : 閉塞隅角緑内障における ultrasound biomicroscopy の有用性. *あたらしい眼科* 14 : 391—394, 1997.
- 32) **Yamamoto T, Sakuma T, Kitazawa Y** : An ultrasound biomicroscopic study of filtering blebs following mitomycin trabeculectomy. *Ophthalmology* 102 : 1770—1776, 1995.