

点眼による重水素標識ビタミン E のラット房水と水晶体内への移行

永田 雅信¹⁾²⁾, 河津 剛一²⁾, 緑 由香里²⁾, 小島 正美¹⁾, 白澤 榮一²⁾, 佐々木一之¹⁾

¹⁾金沢医科大学眼科学教室, ²⁾参天製薬株式会社眼科研究本部

要 約

目的: 重水素(D)標識酢酸ビタミン E (VEA) 点眼の眼内動態を検討した。

方法: 1% D₃-VEA を 1~3 週間ラットに点眼し, 房水, 水晶体中 D₃-VEA, D₃-ビタミン E (VE) をガスクロマトグラフ/質量分析装置で定量した。

結果: 1~3 週間点眼後の房水中 D₃-VEA はそれぞれ 93.1, 498.9, D₃-VE は 9.4, 21.5, 水晶体中 D₃-VEA は

15.0, 6.1, D₃-VE は 9.8, 4.8 ng/g であった。

結論: VEA は点眼で房水と水晶体への移行が証明された。(日眼会誌 104 : 508—510, 2000)

キーワード: 重水素標識酢酸ビタミン E, 房水, 水晶体, ガスクロマトグラフ/質量分析装置, ラット

Intracameral and Lenticular Penetration of Locally Applied Deuterium-labeled Vitamin E in Rats

Masanobu Nagata¹⁾²⁾, Koichi Kawazu²⁾, Yukari Midori²⁾, Masami Kojima¹⁾, Eiichi Shirasawa²⁾ and Kazuyuki Sasaki¹⁾

¹⁾Department of Ophthalmology, Kanazawa Medical University

²⁾Ophthalmic Research Division, Santen Pharmaceutical Co, Ltd

Abstract

Purpose: To confirm the intraocular dynamics of 1% deuterium (D)-labeled α -tocopherol acetate (VEA) solution.

Methods: The concentrations of D₃-VEA and D₃- α -tocopherol (VE) derived from D₃-VEA in the aqueous humor and lens were measured after instilling 1% D₃-VEA continuously into the cul-de-sac of rat eyes for one and three weeks. D₃-VEA and D₃-VE concentrations were determined by gas chromatograph/mass spectrometry.

Results: D₃-VEA and D₃-VE concentrations in the aqueous humor after one and three weeks of continuous administration were 93.1 and 498.9, and 9.4

and 21.5 ng/ml, respectively. The concentrations in the lens were 15.0 and 6.1, and 9.8 and 4.8 ng/g, respectively.

Conclusion: The penetration of VEA into the aqueous humor and lens by eyedrop application was confirmed. (J Jpn Ophthalmol Soc 104 : 508—510, 2000)

Key words: Deuterium labeled vitamin E acetate, Aqueous humor, Lens, Gas chromatograph/Mass selective detector (GC/MS), Rat

I 緒 言

著者らは酢酸ビタミン E (VEA) 点眼によるステロイドやナフタリン誘発の水晶体混濁進行遅延作用を報告¹⁾²⁾してきたが, 点眼によるビタミン E (VE) の眼内移行は検討していない。

本研究は重水素標識した VEA 点眼時の VEA と VE (点眼液由来) の眼内移行試験である。

II 実験方法

1. 実験材料

重水素標識酢酸ビタミン E (D₃-VEA, 図 1) をポリソルベート 80 を用いて超音波で乳化, 1% D₃-VEA 点眼液 (pH 6.5, 浸透圧比 1.0) を調製した。

48 匹の Brown-Norway ラット (8 週齢, 雌) を以下の 4 群 (各 12 匹) に分けた。未処置群は 1 群と 3 群, 1% D₃-

別刷請求先: 630-0101 生駒市高山町 8916-16 参天製薬株式会社眼科研究本部 永田 雅信

(平成 11 年 3 月 26 日受付, 平成 12 年 2 月 4 日改訂受理)

Reprint requests to: Masanobu Nagata Ophthalmic Research Division, Santen Pharmaceutical Co, Ltd. Nara Research and Development Center. 8916-16 Takayama-cho, Ikoma 630-0101, Japan

(Received March 26, 1999 and accepted in revised form February 4, 2000)

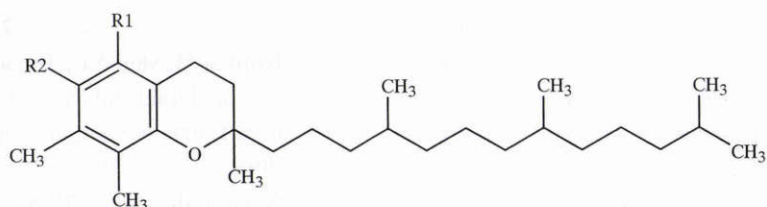


図 1 α -Tocopherol, α -tocopherol acetate, (5- CD_3)- α -tocopherol および 5- CD_3 - α -tocopherol acetate の構造式.

R1 = CH₃, R2 = OH : α -tocopherol (VE)
 R1 = CH₃, R2 = OH₃ COO : α -tocopherol acetate (VEA)
 R1 = CH₃, R2 = OH : 5- CD_3 - α -tocopherol (CD_3 -VE)
 R1 = CH₃, R2 = CH₃ COO : 5- CD_3 - α -tocopherol acetate (CD_3 -VEA)

VEA 点眼液処置群は 1 回 5 μ l を両眼に 2 時間間隔で 1 日 5 回点眼し, 1 週間点眼を 2 群, 3 週間点眼を 4 群とした。

2. 試料採取法

1 群と 2 群は 7 日目, 3 群と 4 群は 21 日目の最終点眼 (最終日のみ 4 回点眼で終了) の 30 分後に金沢医科大学動物実験指針により断頭で屠殺後, 眼球から 27 G 針付きマイクロシリンジで房水採取と水晶体抽出を行った。両試料は, いずれも 3 匹 6 眼分を 1 試料とした。

3. 安定同位体標識ビタミン E の測定法

房水は内部標準物質 (IS) の δ -VE と δ -VEA (いずれも 5 ng) を添加して蒸発乾固後, 揮発性を高めるために無水ペンタフルオロプロピオン酸で誘導化し, 超純水を加えて反応停止, さらにベンゼン 1 ml を加えて攪拌, 上層をシリカカラム (100 mg/ml) で処理した後, 蒸発乾固し, 酢酸エチル 0.05 ml を加えてガスクロマトグラフ/質量分析装置の測定試料とした。

水晶体はメタノール 1 ml と IS を加えてホモジナイズ後に遠心で得た上清を蒸発乾固, ベンゼンを加え, シリカカラムで処理して再度蒸発乾固し, 誘導化以後房水と同様の操作を行った³⁾。

III 結 果

1. 房水中への D_3 -VEA および -VE 移行濃度

D_3 -VEA は 1 週目で 93.1 ± 27.3 (平均値 \pm 標準誤差) ng/ml, 3 週目では 498.9 ± 106.6 ng/ml, また D_3 -VE は, それぞれ $9.4 \pm 2.5, 21.5 \pm 3.2$ ng/ml と, いずれも 2~5 倍以上の濃度上昇があった (図 2 左)。

2. 水晶体への D_3 -VEA および -VE 移行濃度

D_3 -VEA は, 1 週目では 15.0 ± 8.4 ng/g, 3 週目では 6.1 ± 3.2 ng/g, また, D_3 -VE は $9.8 \pm 2.3 \sim 4.8 \pm 1.0$ ng/g と減少した (図 2 右)。

なお, 非点眼群の房水, 水晶体中に D_3 -VEA, D_3 -VE は検出されなかった。

IV 考 按

著者らは VEA 点眼液のステロイドやナフタリン誘発

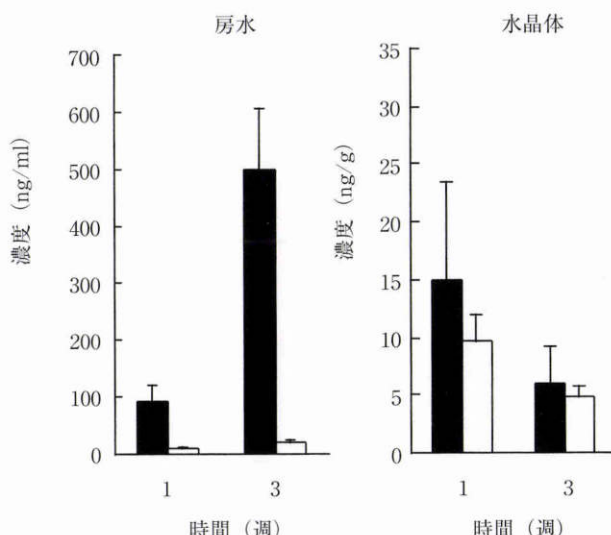


図 2 房水および水晶体中 D_3 -VEA および D_3 -VE 濃度。

水晶体および房水のいずれも 3 匹 6 眼分を 1 サンプルとした。

■ : 重水素標識酢酸ビタミン E D_3 -VEA □ : D_3 -VE
 房水 : 平均値 \pm 標準誤差 (n = 4)

水晶体 : 平均値 \pm 標準誤差 (n = 4, ただし 1 週目の D_3 -VE 濃度のみ N = 3)

水晶体混濁進行遅延作用を報告¹⁾²⁾してきた。本研究目的は, 点眼した VEA の房水, 水晶体内移行を確認することにあつた。

房水, 水晶体中には内因性 VE が存在するので, 点眼由来 VE を分別定量するため, 重水素標識した D_3 -VEA 点眼液を用いた。その結果, 房水, 水晶体中に D_3 -VEA と D_3 -VE (点眼 VEA 由来) が確認できた。

連続点眼による薬剤移行濃度の増加の有無の検討では, VEA, VE の房水内濃度は点眼 1 週目より 3 週目の方が 5 倍以上増加していたが, 水晶体内濃度は 3 週目の方が低下していた (図 2)。この低下の原因解明には今後の検討を待たなければならないが, 現時点では, ラットの成長期の水晶体中 VE の変動に関連する可能性が考えられる。著者らは先に, 水晶体の層別 VE 濃度とラットの月齢の関係を検討し, ① 1 か月齢のラットに対して, 4, 12 か

月齢では水晶体中の VE 濃度は 50% 低下し, 4 か月齢と 12 か月齢では差がなかったこと, ② 水晶体の層別 VE 濃度の変化は, 水晶体表層部の赤道部や前後皮質部での VE 濃度は 1/3 以下に低下するが, 核部では 2/3 程度の VE が残存し, この比率は 12 か月齢でも変化がないことを報告³⁾している. 一方, ラット水晶体湿重量は 3~4 か月齢まで直線的に増加するが, それ以降は増加速度が鈍ることが報告⁴⁾されている. この水晶体湿重量の急激な増加が鈍る時期と水晶体表層部の VE 濃度の低下時期は一致し, この両者に何か関連があるかも知れない. 眼内の VE 濃度が何らかの機序により調節されているか否かは現在不明であるが, 今後, この点を考慮して検討したい.

本稿を終えるに当たり, 実験にご協力いただいた金沢医科大学総合医学研究所村野秀和氏に謝意を表します.

文 献

- 1) **Kojima M, Shui YB, Murano H, Sasaki K**: Inhibition of steroid-induced cataract in rat eyes by administration of vitamin-E ophthalmic solution. *Ophthalmic Res* 28(Suppl 2): 64-71, 1996.
- 2) **Nagata M, Kojima M, Sasaki K**: Effect of vitamin E eye drops on naphthalene-induced ataract in rats. *J Ocul Pharmacol Ther* 15: 345-350, 1999.
- 3) **Nagata M, Kojima M, Murano H, Sasaki K, Obara Y, Matuura K**, et al: Distributional change of alpha-tocopherol in the rat lens with age. *Ophthalmic Res* 28(Suppl 2): 136-140, 1996.
- 4) **van Heyningen R**: Experimental studies on cataract. *Invest Ophthalmol* 15: 685-697, 1976.