

## ゲル化マイトマイシン C の家兎前房フレアへの影響

西村幸三九<sup>1)</sup>, 谷口 徹<sup>1)</sup>, 川瀬 和秀<sup>1)</sup>, 柴原 聡子<sup>1)</sup>, 和泉 悦子<sup>1)</sup>  
熊田 雅子<sup>1)</sup>, 山本 哲也<sup>1)</sup>, 北澤 克明<sup>1)</sup>, 保科 太<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup>岐阜大学医学部眼科学教室, <sup>2)</sup>わかもと製薬株式会社医薬開発部

### 要 約

**目 的**：濾過手術後の癒痕形成を抑制するうえで、従来のマイトマイシン C (MMC) 水溶液と同等に有効であるゲル化基剤を用いた MMC (ゲル化 MMC) の家兎前房フレアへの影響を MMC 水溶液と比較検討する。

**方 法**：有色家兎眼に、各濃度のゲル化 MMC (30, 10, 3.0, 0.3  $\mu\text{g}/0.1$  ml) または MMC 水溶液 (30  $\mu\text{g}/0.1$  ml) を結膜下注射し、前房フレア値を投与前および投与後 28 日目まで測定した。

**結 果**：ゲル化 MMC 投与後、前房フレア値は濃度依存性に上昇した。フレア値の上昇は、MMC 水溶液 30  $\mu\text{g}$

投与群と比べ、ゲル化 MMC 30  $\mu\text{g}$  投与群では有意差はなかったが、ゲル化 MMC 10  $\mu\text{g}$  以下の投与群では有意に低値であった。

**結 論**：ゲル化基剤を用い MMC 投与量を減量することにより、前房内炎症を軽減し得る。(日眼会誌 104: 82-85, 2000)

**キーワード**：マイトマイシン C, 熱依存性ゲル化基剤, 前房フレア, 家兎

## Mitomycin C Dissolved in a Reversible Thermosetting Gel: Effect on Aqueous Flare in the Rabbit Eye

Kosaku Nishimura<sup>1)</sup>, Toru Taniguchi<sup>1)</sup>, Kazuhide Kawase<sup>1)</sup>, Satoko Shibahara<sup>1)</sup>, Etsuko Izumi<sup>1)</sup>,  
Masako Kumada<sup>1)</sup>, Tetsuya Yamamoto<sup>1)</sup>, Yoshiaki Kitazawa<sup>1)</sup> and Futoshi Hoshina<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup>Department of Ophthalmology, Gifu University School of Medicine

<sup>2)</sup>Medical Research and Development Department, Wakamoto Pharmaceutical Co., Ltd.

### Abstract

**Purpose**: To determine the effects of mitomycin C (MMC) dissolved in a gel, which is as effective as a higher dose of aqueous MMC solution, on aqueous flare in rabbits.

**Method**: We injected subconjunctivally a 0.1 ml solution of MMC containing 30, 10, 3.0, or 0.3  $\mu\text{g}$  of MMC dissolved in a reversible thermosetting gel in pigmented rabbits. As a control, a 0.1 ml aqueous solution of 30  $\mu\text{g}$  MMC was injected subconjunctivally. Aqueous flare was measured for 28 days after the injection.

**Results**: The aqueous flare in the 30  $\mu\text{g}$  gel group was at a level similar to that in the 30  $\mu\text{g}$  aqueous so-

lution group, but the aqueous flare in the 10, 3.0, and 0.3  $\mu\text{g}$  gel groups was significantly lower. The increase in the aqueous flare following the administration of MMC gel was dose-dependent.

**Conclusion**: The administration of MMC dissolved in a gel can diminish the ocular inflammation by reducing the dose of MMC needed for the anti-proliferative effect. (J Jpn Ophthalmol Soc 104: 82-85, 2000)

**Key words**: Mitomycin C, Thermo-setting gel, Aqueous flare, Rabbit

## I 緒 言

近年、マイトマイシン C (MMC) が線維柱帯切除術に併

用されるようになり、眼圧コントロール成績は格段に向上した<sup>1)~3)</sup>。しかし、結膜下に投与した MMC の毛様体上皮細胞への影響で、血液房水柵の破綻が惹起されること

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 西村幸三九

(平成 11 年 7 月 2 日受付, 平成 11 年 8 月 19 日改訂受理)

Reprint requests to: Kosaku Nishimura, M.D. Department of Ophthalmology, Gifu University School of Medicine, 40 Tsukasamachi, Gifu 500-8705, Japan

(Received July 2, 1999 and accepted in revised form August 19, 1999)

が報告<sup>4)</sup>されている。また、従来のMMCを蒸留水に溶解して投与する方法では、MMCの標的組織への移行量にばらつきが大きい<sup>5)</sup>。そこで、MMCの標的組織への移行性を高め、定量性を上げる目的で、我々はMMCを熱依存性ゲル化剤に溶解したMMC(ゲル化MMC)を考案した。

ゲル化MMCは、MMCを眼組織に毒性のない物質から成る熱依存性ゲル化剤に溶解させたものであり、低温では粘性はごく低く、体温よりやや低い温度で急速にゲル化する。これを結膜下注射することにより、標的組織(結膜、強膜)への薬物の移行が良好になり、約1/70の投与量で従来の投与法とほぼ同等の組織濃度が得られる<sup>6)</sup>。また、家兎眼にゲル化MMC(0.3, 3.0, 30 µg/0.1 ml)を結膜下注射し、24時間後に管錐術を施行した際の眼圧経過では、ゲル化MMC 3.0 µg以上の群で術後4週まで、臨床使用量に匹敵する30 µg MMC水溶液投与時と同等の有意な眼圧下降があり、ゲル化MMCの濾過手術成績向上における有効性が推定された<sup>7)</sup>。今回、我々はゲル化MMCの安全性確認の一つの段階として、家兎眼前房フレアへの影響を検討した。

## II 実験方法

実験には有色家兎(体重1.6~2.5 kg)を用いた。家兎を6群に分け、ゲル化MMC投与群(投与量は各30, 10, 3.0, 0.3 µgの計4群)、30 µgのMMC水溶液投与群、MMCを含まないゲル化基剤投与群とした。各群とも5匹5眼、総計30匹30眼を対象とした。

ゲル化剤の組成は、3.53%クエン酸、1.4%メチルセルロース、2%ポリエチレングリコールである。家兎を塩酸ケタミン(ケタラル®)筋肉内注射で麻酔し、氷水上で水溶液化した各濃度のゲル化MMC、蒸留水に溶解したMMC水溶液、およびゲル化基剤をそれぞれ0.1 mlを輪部から約5 mmの上耳側結膜下に30 G針を用いて注射した。投与前、投与後1, 2, 3, 5, 7, 14, 28日目の17~18時に、家兎を同様に塩酸ケタミン(ケタラル®)で麻酔し、

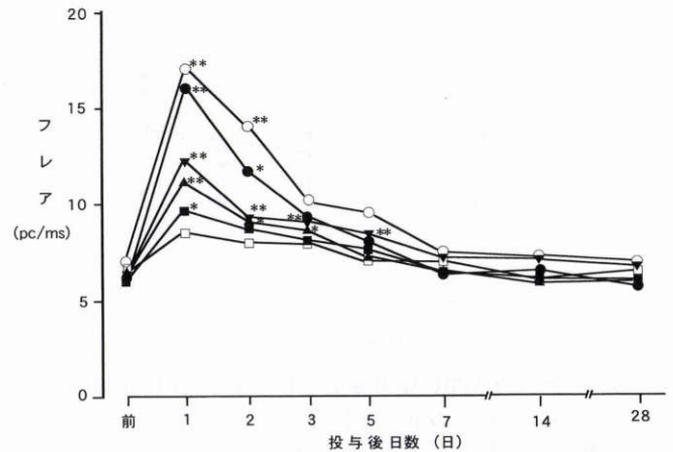


図1 前房フレア値の経過。

○：マイトマイシンC(MMC)水溶液 30 µg 群, ●：ゲル化基剤を用いたMMC(ゲル化MMC)30 µg 群, ▼：ゲル化MMC 10 µg 群, ▲：ゲル化MMC 3.0 µg 群, ■：ゲル化MMC 0.3 µg 群, □：ゲル化MMC 基剤群

\*\* : p<0.0001, \* : p<0.05 Bonferroni post hoc test

レーザーフレアセルメータFC 1000(興和)を用い、無散瞳下で前房フレア値を測定した。測定は各眼5回ずつ行い、最大値および最小値を除いた3回の測定値の平均値を採用した。

各群内の前房フレア値の変動の解析には一元配置分散分析法を、各群間の比較には反復測定分散分析法(repeated measures ANOVA)を用いた。また、ゲル化MMC各濃度投与後の前房フレア値の時間曲線下面積(area under the curve, AUC)を台形法で求め、前房フレア値のゲル化MMC投与濃度依存性を検討した。

## III 結果

ゲル化MMC(30, 10, 3.0, 0.3 µg)およびMMC水溶液(30 µg)投与後、前房フレア値は前値に比べ有意に上昇した(それぞれ p<0.0001, p<0.0001, p<0.0001, p=0.0380, p<0.0001; 一元配置分散分析法; 図1, 表1)。ゲル

表1 前房フレア値の経過

投与後日数(日)	投与前	1	2	3	5	7	14	28
MMC水溶液 30 µg 群	7.17 1.80	17.30 2.91	14.57 2.27	10.08 3.21	8.97 1.95	7.30 2.60	7.25 2.16	7.05 1.30
ゲル化MMC 30 µg 群	6.49 2.34	16.13 2.00	12.20 3.92	8.83 2.54	7.53 1.44	6.20 0.69	6.43 1.71	5.64 2.11
ゲル化MMC 10 µg 群	6.62 0.31	12.21 0.76	9.46 0.59	8.75 0.48	7.97 0.27	7.09 0.45	6.87 0.29	6.70 0.23
ゲル化MMC 3.0 µg 群	6.42 0.53	11.57 1.50	9.19 1.51	8.20 1.51	7.13 0.66	6.29 0.44	6.01 0.30	5.75 0.78
ゲル化MMC 0.3 µg 群	6.39 0.87	9.68 2.24	8.78 1.55	7.68 2.11	7.29 1.76	6.23 2.10	6.51 2.07	5.76 2.13
ゲル化MMC 基剤群	6.87 1.18	8.25 2.99	7.81 2.74	7.61 1.65	6.75 1.05	7.05 2.05	6.33 1.56	6.34 0.82

MMC：マイトマイシンC ゲル化MMC：ゲル化基剤を用いたマイトマイシンC 上段：平均値，下段：標準偏差，単位：pc/ms

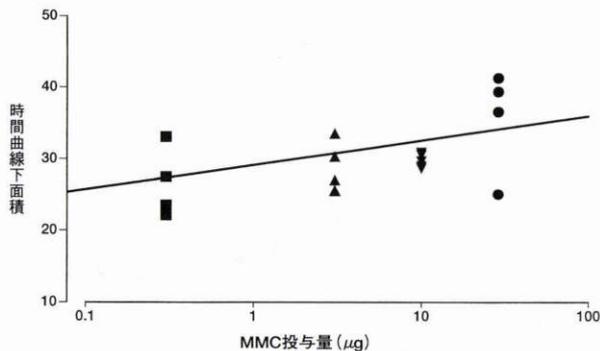


図2 ゲル化 MMC 投与量と前房フレア値の area under the curve (投与後3日間).

●: ゲル化 MMC 30  $\mu\text{g}$  群, ▼: ゲル化 MMC 10  $\mu\text{g}$  群, ▲: ゲル化 MMC 3.0  $\mu\text{g}$  群, ■: ゲル化 MMC 0.3  $\mu\text{g}$  群

$$Y = 4.6709 \text{ LOG}(X) + 26.8858 \quad r = 0.631 \quad p = 0.0022$$

化基剤投与後は前房フレア値に有意の変動はなかった ( $p = 0.7192$ ). MMC 水溶液 30  $\mu\text{g}$  投与群とゲル化 MMC 30  $\mu\text{g}$  投与群の前房フレア値上昇に有意の差はなかった (投与後3日間, repeated measures ANOVA). MMC 水溶液 30  $\mu\text{g}$  投与群と比べ, ゲル化 MMC 10, 3.0, 0.3  $\mu\text{g}$  投与の各群では, 前房フレア値は有意に低値であった (それぞれ  $p = 0.0074$ ,  $p = 0.0073$ ,  $p = 0.0047$  投与後3日間, repeated measures ANOVA). また, ゲル化基剤群との比較では, ゲル化 MMC 30  $\mu\text{g}$  投与群は有意に前房フレア値は高値であったが ( $p < 0.030$  投与後3日間, repeated measures ANOVA), ゲル化 MMC 10, 3.0, 0.3  $\mu\text{g}$  投与群では有意差はなかった (図1, 表1).

また, ゲル化 MMC 投与後の前房フレア値の上昇 (AUC) は, 投与後3日目まで濃度依存性であった ( $r = 0.631$ ,  $p = 0.0022$ ) (図2).

#### IV 考 按

現在, 一般に行われている 0.04% MMC (200  $\mu\text{g}$ ) をスポンジ片に含ませ濾過手術中に 3~5 分間塗布する投与方法では, スポンジから放出される MMC の量は変動が大きく, また, 平均放出量は総含有量の約 1/6 にすぎないとされている<sup>8)9)</sup>. この投与方法の場合, MMC の放出量, すなわち組織移行量のばらつきが大きいと過剰投与になり, 持続性の低眼圧を来したり, 逆に投与量不足のため眼圧下降が不十分になる可能性があり, その安全性や投与量に関する問題点が指摘されている. MMC は細胞毒性が強く<sup>10)11)</sup>, 家兎眼では MMC を結膜下投与後 6 か月および 12 か月と長期経過の後にも毛様体上皮に病理学的変化があり, その変化は用量依存性であったことが報告<sup>12)</sup>されている. したがって, 安全域が狭い MMC には, より少量で定量性の高い投与方法が望まれる.

保科ら<sup>13)</sup>はマレイン酸チモロールに熱依存性ゲル化基剤を添加することにより, チモロールの結膜嚢内滞留時

間を延長させ, チモロール総投与量の減少と副作用の軽減を試みた. 家兎眼において, ゲル化基剤を添加したチモロール製剤は既存のチモロール点眼液の約 2 倍の眼組織移行量を示し, 毛様体からの消失時間も遅延した. また, 家兎眼でゲル化基剤を添加した 0.25% チモロール製剤は, 既存の 0.5% チモロール点眼液とほぼ同等の眼圧下降作用を示した.

こうしたことから, 我々は MMC の眼組織への移行性を高め, 術中に使用する MMC をより定量的に投与し, かつ低用量化する目的で同じゲル基剤を用いたゲル化 MMC を考案した. Ichien ら<sup>6)</sup>は, 0.22, 2.9, 28  $\mu\text{g}$  を含有する 3 濃度のゲル化 MMC 0.1 ml を家兎眼に結膜下注射後, 0.5~24 時間の結膜および強膜に残留した MMC 濃度を high performance liquid chromatography (HPLC) 法で測定した. MMC の組織内濃度は 0.5 時間後の値が最大で, 以後減少し, 24 時間後ではいずれの投与量においても検出されなかった. ゲル化 MMC 2.9, 28  $\mu\text{g}$  投与眼の組織内 MMC 濃度は, 結膜では 3.2, 57.0  $\mu\text{g h/g}$ , 強膜では 0.80, 22.42  $\mu\text{g h/g}$  であり, 一方, 臨床で一般に用いられている投与方法に準じて, スポンジを用いた MMC 200  $\mu\text{g}$  投与眼では, 結膜で 5.18  $\mu\text{g h/g}$ , 強膜で 0.67  $\mu\text{g h/g}$  であった<sup>9)</sup>. よって, ゲル化 MMC は現在のスポンジを用いた投与方法と比べ, 僅か 1/70 の使用量で同等の組織内濃度を得ることができ, 標的組織への薬物の移行が良好であることが示された. 一方, 0.3, 3.0, 30  $\mu\text{g}$  のゲル化 MMC または 30  $\mu\text{g}$  の MMC 水溶液を家兎眼に結膜下注射後, 24 時間後に管錐術を施行し, 眼圧を測定した実験では, ゲル化 MMC 3.0  $\mu\text{g}$  および 30  $\mu\text{g}$  投与群, MMC 水溶液 30  $\mu\text{g}$  投与群において, 術前と比較して 4 週まで有意に眼圧は下降し, ゲル化 MMC 3.0  $\mu\text{g}$  投与では MMC 水溶液 30  $\mu\text{g}$  投与と同等の眼圧下降が保たれた<sup>7)</sup>. したがって, ゲル化 MMC では 1/10 の MMC 投与量で MMC 水溶液と同等の眼圧下降維持効果が得られた.

今回の実験では, 0.3, 3.0, 30  $\mu\text{g}$  に加え, 3.0  $\mu\text{g}$  と 30  $\mu\text{g}$  の中間の量である 10  $\mu\text{g}$  のゲル化 MMC を追加使用し, 前房フレア値への影響を MMC 水溶液と比較検討した. 本実験でゲル化 MMC の前房フレア値への影響は濃度依存性であった. ゲル化 MMC 30  $\mu\text{g}$  投与は, MMC 水溶液 30  $\mu\text{g}$  投与と同程度の前房フレア値の上昇を来したが, 10  $\mu\text{g}$  以下のゲル化 MMC では, 前房フレア値は有意に低い値を示した. また, ゲル化 MMC は, 10  $\mu\text{g}$  以下の使用で, 前房フレア値は投与前に比して有意に上昇したが, 基剤群とは有意差がなく, 血液房水嚢への影響が少ないことが推定された. 以上から, ゲル化 MMC は 3.0  $\mu\text{g}$  の投与でも有効な濾過手術後の眼圧下降維持作用があり, また, 10  $\mu\text{g}$  の投与により前房内炎症の軽減が得られる. よって, ゲル化 MMC の投与量としては, 3~10  $\mu\text{g}$  の使用が適当と思われた. MMC をゲル化基剤を用いて投与することにより MMC 投与量を減少させ, 血液房水嚢へ

の影響を減弱させ得ることが示された。ゲル化MMCの臨床応用は今後の検討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, Suemori-Matsushita H, Yamamoto T, Kawase K**: Low-dose and high dose mitomycin trabeculectomy as an initial surgery in primary open-angle glaucoma. *Ophthalmology* 100: 1624—1628, 1993.
- 3) **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.
- 4) **Kitazawa Y, Jikihara S, Kawase K, Tamaoka Y**: The blood aqueous barrier and filtering surgery. *Glaucoma Update 4*. G.K. Krieglstein Springer-Verlag, Berlin, 231—235, 1991.
- 5) **Yamamoto T, Kitazawa Y**: Residual mitomycin C dosage in surgical sponges removed at the time of trabeculectomy. *Am J Ophthalmol* 117: 672—673, 1994.
- 6) **Ichien K, Yamamoto T, Kitazawa Y, Oguri A, Ando H, Kondo Y**: Mitomycin C dissolved in a reversible thermosetting gel. *Br J Ophthalmol* 80: 72—75, 1997.
- 7) **一圓公治, 澤田 明, 山本哲也, 北澤克明, 白木玲子, 楊 睦義**: 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. *日眼会誌* 103: 277—281, 1999.
- 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 Y, 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) **Mietz H, Addicks K, Bloch W, Krieglstein GK**: long-term intraocular toxic effects of topical mitomycin C in rabbit. *J Glaucoma* 5: 325—333, 1996.
- 12) **原 岳, 小幡博人, 白土城照, 新家 真**: マイトマイシンの家兎毛様体への細胞毒性. *日眼会誌* 102: 88—94, 1998.
- 13) **保科 太, 橋本光正, 和田敬弘, 長澤純子, 辻 昭一, 北澤克明, 他**: 家兎におけるマレイン酸チモロール熱依存性ゲル化点眼液(WP-934)の眼圧下降作用. *あたらしい眼科* 14: 447—453, 1997.