

## 眼表面における眼軟膏の滞留性と薬剤の徐放についての検討

高岡 真帆, 横井 則彦, 石橋 健, 木下 茂

京都府立医科大学眼科学教室

### 要 約

**目的:** 蛍光特性を有する眼軟膏を利用し, 眼軟膏の眼表面における動態について検討した。

**方法:** 対象は, 健常ボランティア 10 例 10 眼。蛍光特性を有するフラビンアデニンジヌクレオチドナトリウム 0.1% を含む質量 0.05 g の軟膏を 1 cm 幅で左眼下結膜嚢に点入後 30 秒閉眼し, 自然瞬目下で経時的(点入前, 点入 1, 3, 6, 9, 12, 15, 30, 60 分後)に ① 涙液油層観察装置で角膜中央部の涙液油層を観察, 直後に ② 前眼部フルオロフォトメトリー法で角膜中央部の蛍光強度を測定した。

**結果:** 涙液油層の観察では, 眼軟膏点入 1 時間後に

おいても全例で Grade 分類され得る点入前の涙液油層の干渉像とは異なる干渉像が観察された。角膜中央部の蛍光強度は全例で点入 1 時間後でも点入前より有意に ( $p=0.001$ ) 高値を示した。

**結論:** 結膜嚢に点入された眼軟膏は 1 時間までは涙液表面に滞留して, 薬剤を徐放すると考えられた。(日眼会誌 108:307-311, 2004)

**キーワード:** 眼軟膏, 眼表面, 滞留時間, 蛍光特性, ドラッグデリバリーシステム

## Assessment of Retention and Drug-release of Ophthalmic Ointment on the Ocular Surface

Maho Takaoka, Norihiko Yokoi, Takeshi Ishibashi and Shigeru Kinoshita

Department of Ophthalmology, Kyoto Prefectural University of Medicine

### Abstract

**Purpose:** The dynamics of ophthalmic ointment on the ocular surface were investigated using a fluorescent ointment.

**Methods:** Ten healthy volunteers were enrolled. Ointment (1.0 cm length, 0.05 g) containing 0.1% flavin adenine dinucleotide sodium was squeezed out from the tube and placed in the left lower conjunctival sac. The eyes were then closed for 30 seconds and permitted to blink naturally. Two examinations including observation of tear film lipid layer interference pattern and fluorophotometric measurement of fluorescence intensity, both at the center of the cornea, were performed before examination and at 1, 3, 6, 9, 12, 15, 30, 60 minutes after instil-

lation.

**Results:** In all cases, even 1 hour after instillation, tear film interference patterns were observed, and fluorescence intensity greater than before instillation, was present.

**Conclusion:** Ointment placed in the conjunctival sac is thought to remain and release agents on the ocular surface for at least one hour.

Nippon Ganka Gakkai Zasshi (J Jpn Ophthalmol Soc 108:307-311, 2004)

**Key words:** Ophthalmic ointment, Ocular surface, Precorneal retention time, Fluorescence, Drug delivery system

## I 緒 言

眼科診療において, 外眼部あるいは前眼部の疾患に対して投与される薬剤の剤型として点眼剤と眼軟膏が用いられているが, 投与方法の容易性, 使用感, 製造の容易性, 品質管理などの点から製剤の多くは水溶性点眼剤の

剤型をとっている。しかし水溶性点眼剤は, 点眼後, 涙液により希釈され, 15~30 秒以内にその 80% が涙道を通って排出されるといわれており<sup>1)</sup>, 眼表面に滞留しにくいいため, 角膜上での薬剤の徐放という点では眼軟膏に劣ると考えられる。一方, 眼軟膏は, 視力に影響する, 点眼薬に比べて点入が困難である, 使用感が悪いなどの

別刷請求先: 602-0841 京都市上京区河原町通広小路上ル梶井町 465 京都府立医科大学眼科学教室 横井 則彦  
(平成 15 年 4 月 1 日受付, 平成 15 年 10 月 28 日改訂受理)

Reprint requests to: Norihiko Yokoi M.D. Department of Ophthalmology, Kyoto Prefectural University of Medicine, 465 Kajii-cho, Hirokoji-agaru, Kawaramachi-dori, Kamigyo-ku, Kyoto-shi 602-0841, Japan

(Received April 1, 2003 and accepted in revised form October 28, 2003)

欠点はあるが、眼表面での滞留性においては、点眼剤と比べて、優れていることが容易に推測され、滞留している眼軟膏からの長時間に渡る薬剤の徐放とそれによる薬剤の長時間に渡る効果が期待できると思われる。点眼剤と眼軟膏のドラッグデリバリーシステムについては、これまで多くの検討がされてきたが、眼軟膏が点入された後の眼表面での動態についての報告<sup>2)~7)</sup>は少なく、これまでの報告では、薬剤の徐放効果が検討されているだけで、基剤の滞留性についての情報は得られていない。しかも、それらの検討では、放射性同位元素が用いられており、人での検討には問題がある。眼軟膏は、基剤の中に薬剤成分を混合した製剤となっているが、今回、我々は基剤および薬剤成分が角膜表面でどのような動態を示すかを、蛍光特性を有する薬剤成分を含む眼軟膏を用いて低侵襲的な方法で検討し、若干の知見を得たので報告する。

## II 対象および方法

### 1. 対象

対象は、屈折異常以外に眼疾患を有しない健常ボランティア 10 名で、性別は男性 4 例、女性 6 例、年齢は 24~27 歳 [25.6±1.1 歳 (平均値±標準偏差)] であった。それぞれの対象に対して、眼科疾患の病歴のないことを聴取し、細隙灯顕微鏡検査でドライアイをはじめとする前眼部疾患がないのを確認した上で、使用する眼軟膏の作用および考え得る副作用および、今回の方法について十分に説明し、口頭で本人の同意を得た。

### 2. 方法

今回使用した眼軟膏日点 FA 軟膏<sup>®</sup> [日本点眼薬研究所(株)] は、0.1% フラビンアデニンジヌクレオチドナトリウムを主成分として、ビタミン B 2 欠乏や代謝障害が関与すると推定される角膜炎、眼瞼炎に対する治療目的で使用され、この成分は、炎症で消耗した細胞を賦活し、組織の疲労を回復する効果を示すとされる。フラビンアデニンジヌクレオチドナトリウムは 465 nm 付近の励起光で 520 nm 付近の蛍光を発することが知られており<sup>8)</sup>、今回は、この蛍光特性に注目して、本眼軟膏を使用することとなった。本眼軟膏の基剤は、流動性パラフィンにポリエチレン樹脂を 5% の割合で熱溶解したプラスチックであり、その稠度は、温度変化の影響をあまり受けず安定であり、性状はなめらかで中性、無刺激性であるという特徴を持つ。

健常ボランティアの左眼のみに対して本眼軟膏 1.0 cm (質量 0.05 g) を定規で計測しながら、結膜嚢に点入し、点入直後 30 秒間閉眼させ、その後は自然瞬目とした。その後、① 涙液油層観察装置<sup>9)10)</sup>を用いて角膜中央部での涙液油層の干渉像を観察、② 前眼部フルオロフォトメトリー法<sup>11)~13)</sup>で角膜中央部での蛍光強度を測定、という 2 つのステップを経時的(点入前、点入 1、

表 1 角膜中央における涙液油層スペキュラ像の分類

Grade 1: 干渉色が灰色で分布が均一
Grade 2: 干渉色が灰色だが、分布が不均一
Grade 3: 干渉色が 2 色以上で分布が不均一
Grade 4: 干渉色が多彩
Grade 5: 角膜表面が露出、透見可能

(文献 10 より引用)

3, 6, 9, 12, 15, 30, 60 分後)に行った。

#### 1) 涙液油層観察装置<sup>9)10)</sup>による涙液表面の観察

涙液油層観察装置 [DR-1<sup>®</sup> 興和(株)] は低侵襲的に短時間(10 秒以内)で角膜上の涙液表面(油層)のスペキュラ像を観察できる装置であり、油層表面からの反射光と油層と水層の界面からの反射光との干渉像を角膜中央の直径 2.0 cm の領域でビデオに収録しながら観察できる。観察される像は、涙液油層の場合には、油層が比較的厚く、その厚みが不均一であれば多彩な干渉像として観察され、油層が比較的薄く均一であれば灰色で一樣に観察される。今回は、眼軟膏点入前、軟膏点入 1, 3, 6, 9, 12, 15, 30, 60 分後から 20 秒間程度、涙液油層の状態をビデオ収録しながら観察し、油層の干渉色から評価される油層の厚みや同一の厚みを示す油層の分布の経時変化について検討した。なお、眼軟膏点入前の涙液油層の観察像は、既報<sup>9)10)</sup>に基づいて Grade 分類を行った(表 1)。

#### 2) フルオロフォトメトリー法<sup>11)</sup>による蛍光強度の測定

今回用いたスリットランプ型のアンテリアフルオロメータ [FL-500<sup>®</sup> 興和(株)] は、眼組織に投与したフルオレセインを一定の波長領域(460~520 nm)で励起し、一定の波長(520~640 nm)のバンドパスフィルタを用いて取り込んだ放出蛍光の強度を、光電子増倍管を用いて測定することのできる装置である<sup>11)</sup>。本装置の特長として、短時間(0.2 秒)でスポット測定できることや、フォーカルダイヤモンド(フルオロフォトメータの受光系で決まる領域)の角膜表面に対する位置決めを正確に行うことができる点を挙げることができる。今回の検討に用いた眼軟膏は、先に述べたように、465 nm の励起光に対し 520 nm の蛍光を発するフラビンアデニンジヌクレオチドナトリウムを含有するため、眼軟膏点入後、経時的にアンテリアフルオロメータで蛍光強度を測定することにより、眼軟膏成分の眼表面での動態をある程度モニターすることができると考えられる。実際の方法としては、あらかじめ角膜表面中央部の背景蛍光を測定し、本眼軟膏の点入後、点入 1, 3, 6, 9, 12, 15, 30, 60 分後において、涙液油層観察装置による角膜表面の観察の後に角膜中央部における蛍光強度を測定した。測定は、各時点において 10 回連続測定し、10 回の平均値をと

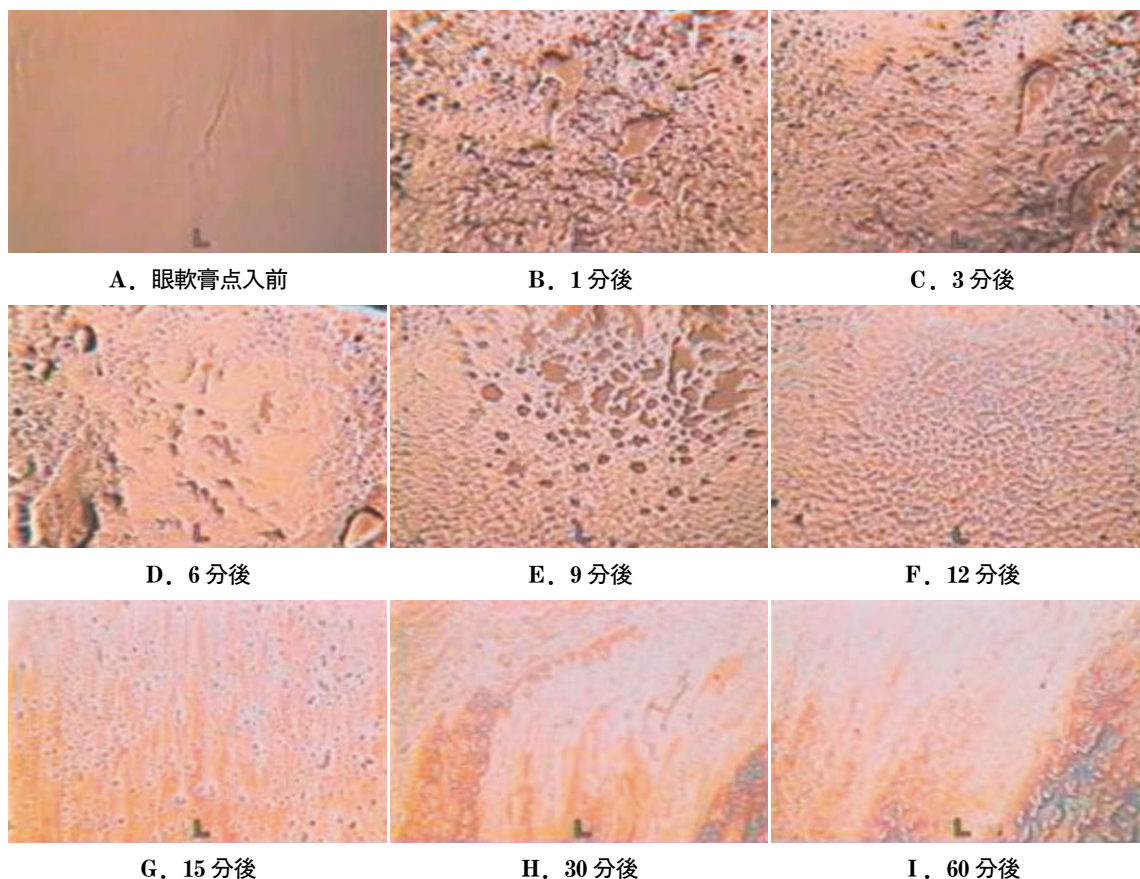


図 1 涙液油層観察装置による角膜中央部の涙液表面の観察像の経時変化。

眼軟膏点入後，眼軟膏による油層の干渉像が出現し，その干渉像が時間経過とともに徐々に均一化していく様子がわかる．60 分後も眼軟膏の存在を示す干渉像が観察される．

り，その時点の値とした．評価は，眼軟膏のみの蛍光強度の経時的変化を評価するために，得られた蛍光強度から点入前に測定した蛍光強度(背景蛍光)を引いた値について行った．なお，今回のフルオロフォトメトリーでは，フルオレセインではなく蛍光特性を有する別の物質(フラビンアデニンジヌクレオチドナトリウム)を用いているため，フルオレセイン濃度には換算せず蛍光強度のまま評価した．

### III 結 果

#### 1. 涙液油層観察装置による涙液表面の観察

眼軟膏点入後の角膜中央部眼表面は，全例において眼軟膏点入 1 分後から多様な色彩の不均一な干渉像を示し，時間経過とともにそれが徐々に均一化し，角膜中央表面に伸展していく様子が観察された(代表例を図 1 に示す)．そして，眼軟膏点入 60 分後の観察においてもなお，全例で点入前の涙液油層の干渉像とは異なる干渉像が観察された．眼軟膏点入の涙液油層の Grade 分類<sup>9)10)</sup>(表 1)では，Grade 1 が 7 例 7 眼，Grade 2 が 2 例 2 眼，Grade 3 が 1 例 1 眼であったが，軟膏点入後に各 Grade で観察された干渉像の経時変化に違いはなかった．

#### 2. フルオロフォトメトリー法による蛍光強度の測定

眼軟膏の点入 1, 3, 6, 9, 12, 15, 30, 60 分後の角膜中央部における蛍光強度(連続 10 回の実測値の平均値-連続 10 回の背景蛍光値の平均値)の 10 例の平均値は，それぞれ  $13.9 \pm 6.5$ ,  $8.5 \pm 3.8$ ,  $5.7 \pm 2.8$ ,  $5.5 \pm 3.9$ ,  $5.0 \pm 4.2$ ,  $4.1 \pm 3.8$ ,  $3.3 \pm 2.9$ ,  $2.4 \pm 1.9$ (平均値  $\pm$  標準偏差) photon counts/sec であり，10 例全例において眼軟膏点入後 3~12 分後にピークを示した後，漸減したが，全例で 60 分後においても眼軟膏点入前より高い蛍光強度を示した(図 2, 点入 60 分後の蛍光強度  $2.4 \pm 2.0$  photon counts/sec,  $p=0.001$ , Wilcoxon signed-ranks test)．

### IV 考 察

点眼剤や眼軟膏に含まれる薬剤の動態は，これまで様々な方法で検討されてきているが，そのほとんどが何らかのトレーサーを点眼薬や眼軟膏に混入し，その後のトレーサーの動態を計測することによって，含まれる薬剤の徐放効果を推察しようとしたものである．例えば，Swanson ら<sup>4)</sup>はトリチウムでラベルしたチミジンを点眼液や眼軟膏に混入し，ウサギ角膜へのトリチウムチミジンの取り込みをオートラジオグラフィ法で測定すること

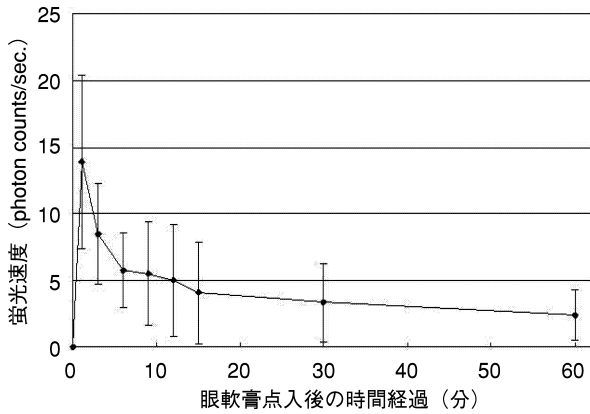


図2 フルオロフォトメトリー法で測定した角膜中央部での蛍光強度の経時変化。

眼軟膏点入後、眼軟膏に含まれるフラビンアデニンジヌクレオチドに起因する蛍光の強度はいったん増加した後、経時的に減少したが、60分後でも点入前より有意に高い値を示しており、眼軟膏点入60分後においても薬剤が涙液中に存在することが推定される〔点入60分後の蛍光強度  $2.4 \pm 2.0$  photon counts/sec (平均値 $\pm$ 標準偏差),  $p=0.001$ , Wilcoxon signed-ranks test〕

によって、点眼液や眼軟膏のトリチウムチミジンに対する徐放効果を検討している。また、Hardberger ら<sup>5)</sup>は脳シンチグラフィで一般に使用されている<sup>99m</sup>Tcに着目し、<sup>99m</sup>Tcを含ませた点眼液や眼軟膏をウサギやヒトの角膜上に点入し、その後の<sup>99m</sup>Tcの放射性を経時的に測定することにより、おおよその角膜内への移行を比較検討した。その結果、ウサギにおいては、生理食塩水では<sup>99m</sup>Tcの半減期が4.2分であるのに対し、眼軟膏では35分であり、同様にヒトでも、生理食塩水では4.6分、眼軟膏では9.7分と、眼軟膏の方が滞留性に優れていることを示している。また、眼軟膏と点眼液との比較において、両者とも閉眼により滞留性は増すことを示し、さらに、生理食塩水点眼後に閉眼するよりも、自然瞬目下で眼軟膏を点入する方が滞留時間が長いことを示している。また、同じくHardberger ら<sup>6)</sup>はトリチウムでラベルしたテトラサイクリンを含む点眼液や眼軟膏をウサギの角膜上に投与し、一定時間後に涙液、角膜、水晶体、前房水を採取して、各部位で、トリチウムテトラサイクリン濃度を測定することにより、点眼液や眼軟膏の動態について検討しているが、涙液中での検討において、点眼液の場合には、15分後には涙液中にもはや放射性が得られなかったが、眼軟膏の場合には、2時間後にもなお、放射性が得られたことから、眼軟膏の方が、涙液中での滞留性に優れていることを示している<sup>6)</sup>。このような放射性物質をトレーサーとする薬剤の徐放効果の検討は、その他にも散見され、Graves ら<sup>2)</sup>も<sup>99m</sup>Tcでラベルした二エチレン三アミン五酢酸(DTPA)を含むメチル

セルロース点眼液と、同じく<sup>99m</sup>Tcを含む錫コロイドを混入した眼軟膏をそれぞれヒトの結膜嚢に投与し、ガンマシンチグラフィを用いて計測した結果、生理食塩水では、その半減期が $13 \pm 24$ 秒、眼軟膏では $6,490 \pm 5,404$ 秒(約108分)と圧倒的に眼軟膏基剤で長いことを示している。この結果は、前述のHardberger ら<sup>5)</sup>の検討の結果(生理食塩水では4.6分、眼軟膏では9.7分)と大きく異なっており、その理由として、Graves ら<sup>2)</sup>は外眼部に付着した点眼剤、眼軟膏の影響を取り除ききれなかったためとしている。

以上、これまで述べてきた報告では、すべてトレーサーとして放射性物質を用い、それらの動態を測定することにより、薬剤や基剤の動態やトレーサー物質の組織への透過性を推測しようとしている。しかし、こうしたトレーサーによる薬剤の動態の研究には、トレーサーそのものの動態を評価対象となる薬液の動態と同じと仮定する点や、放射性物質などのトレーサーが有害である点、放射性物質が不安定であり時間とともに放射性が減弱する点、測定部位の特定が困難である点、*in vivo*での測定が難しいなど、さまざまな問題点があげられる。

今回の方法は、眼軟膏に含まれる薬剤そのものの蛍光特性を利用し、低侵襲的に涙液油層観察の手法を用いて、眼軟膏そのものの存在を確認しながら、薬剤と眼軟膏基剤の動態を同時に評価することに成功した。つまり、今回の検討では、まず眼軟膏点入後に涙液油層観察により眼表面での眼軟膏基剤の状態の変化を観察し、次に眼軟膏中の薬剤の蛍光特性を利用して眼表面における薬剤の蛍光強度を測定することによって、眼軟膏基剤と眼軟膏成分両方の側面から眼軟膏の眼表面での動態を検討することができた。その結果、涙液油層観察装置による観察からは、眼軟膏は点入されてから暫く不均一な状態で眼表面に存在し、時間経過とともに伸展、均一化していくが、点入後1時間までは眼表面に滞留していることが示され、点眼液に比べてはるかに滞留性に優れていることが推察された。また、前眼部フルオロメトリーの結果からは、眼軟膏基剤中に含有している眼軟膏成分が点入後1時間まで角膜表面に存在していることが示され、涙液油層観察装置の結果と合わせて、点入後1時間を経過しても滞留している眼軟膏基剤に含まれる眼軟膏成分が徐放していることが推察された。以上のことから、眼軟膏は結膜嚢に点入された後、眼表面に長時間滞留し、同時に薬剤を徐放していることが推察され、眼表面疾患に対する治療の選択において、眼軟膏が点眼薬に比べてより大きな治療の効果を有すると考えるための、理論的な根拠を得ることができたと考えている。また、今後の応用として、今回用いた方法は、フルオレセインと同様の波長特性を有する薬剤のヒトでの眼表面での動態の評価に活用可能であると思われた。

## 文 献

- 1) **Shell JW** : Therapeutic Review : Pharmacokinetics of topically applied ophthalmic drugs. *Surv Ophthalmol* 26 : 207—218, 1982.
- 2) **Greaves JL, Wilson CG, Birmingham AT** : Assessment of the precorneal residence of an ophthalmic ointment in healthy subjects. *Br J Clin Pharmacol* 35 : 188—192, 1993.
- 3) **Sieg JW, Robinson JR** : Vehicle effects of ocular drug bioavailability : I. Evaluation of fluorometholone. *J Pharm Sci* 64 : 931, 1975.
- 4) **Swanson AA, Jeter DJ, Tucker P** : Ophthalmic vehicles. II. Comparison of ointment and polyvinyl alcohol 1.4 per cent. *Ophthalmologica* 160 : 265—70, 1970.
- 5) **Hardberger RE, Hanna C, Boyd CM** : Effects of drug vehicles on ocular contact time. *Arch Ophthalmol* 93 : 42—5, 1975.
- 6) **Hardberger RE, Hanna C, Goodart R** : Effects of drug vehicles on ocular uptake of tetracycline. *Am J Ophthalmol* 80 : 133—8, 1975.
- 7) **新田信一** : 熱応答ゲル点眼剤. あたらしい眼科 18 : 3—7, 2001.
- 8) **奈良 武・辻 和之・小松豊彦** : フラビンに関する研究(第 8 報) 水溶液中のフラビンアデニンジヌクレオチド(FAD)の光分解におよぼす糖類の影響. *薬剤学* 32 : 142—50, 1972.
- 9) **Yokoi N, Takehisa Y, Kinoshita S** : Correlation of tear lipid layer interference patterns with the diagnosis and severity of dry eye. *Am J Ophthalmol* 122 : 818—824, 1996.
- 10) **八田葉子, 横井則彦, 西田幸二, 中山万里, 鈴木孝佳, 木下 茂** : ドライアイにおける涙液油層の観察. *臨眼* 49 : 847—51, 1995.
- 11) **Yokoi N, Kinoshita S** : Clinical evaluation of corneal epithelial barrier function with slit-lamp fluorophotometer. *Cornea* 14 : 485—489, 1995.
- 12) **石田美幸, 横井則彦, 奥沢淳治, 前田耕志, 木下茂** : 糖尿病網膜症における角膜自発蛍光の測定. *日眼会誌* 99 : 308—311, 1995.
- 13) **横井則彦, 小室 青** : 眼表面上皮のバリアー機能と疾患への応用. 木下 茂, 他(編) : 眼科 New Insight 10. 眼とバリアー, メジカルビュー社, 東京, 14—29, 1997.