

緑内障濾過手術時における塩酸セフトリアムの家兎眼内移行動態

福田 正道, 高橋 信夫, 中泉 裕子, 山代 陽子, 山口 愛

金沢医科大学眼科学教室

要 約

目 的：本研究は家兎眼での濾過手術後の塩酸セフトリアム(CTM)の眼組織内移行濃度を測定した。

方 法：白色家兎に CTM 20 mg/kg を静脈注射し、30 分後に右眼のみに二重強膜弁法による濾過手術を行い、その後、房水と血清を術後 10 分(静注 40 分後)、術後 30 分(静注 60 分後)、術後 60 分(静注 90 分後)、術後 120 分(静注 150 分後)に採取し、高速液体クロマトグラフィ(HPLC 法)で CTM 濃度を測定した。

結 果：CTM の房水内移行濃度は正常群では、術後 10 分(静注 40 分後)で 0.44 ± 0.16 (平均値 \pm 標準偏差) $\mu\text{g/ml}$ (n=4)、術後 30 分(静注 60 分後)では 0.36 ± 0.17 $\mu\text{g/ml}$ (n=4)、術後 60 分(静注 90 分後)では 0.38 ± 0.34 $\mu\text{g/ml}$ (n=3) であり、術後 120 分(静注 150 分後)では 0.27 ± 0.10 $\mu\text{g/ml}$ (n=5) にまで低下した。一方、手術群では術後 10 分(静注 40 分後)の 2.4 ± 0.95

$\mu\text{g/ml}$ (n=4) が測定時点で最も高く、術後 30 分(静注 60 分後)では 2.11 ± 1.10 $\mu\text{g/ml}$ (n=4) であり、術後 60 分(静注 90 分後)では 1.18 ± 0.78 $\mu\text{g/ml}$ (n=4)、術後 120 分(静注 150 分後)では 0.47 ± 0.1 $\mu\text{g/ml}$ (n=5) にまで低下した。有意差検定の結果では、術後 10 分(静注 40 分後)、術後 120 分(静注 150 分後)において手術眼の方が正常眼に比べて有意に高い値を示した ($p < 0.05$)。

結 論：濾過手術後、CTM の眼房水内濃度は非手術眼の薬剤濃度に比べて有意に高かった。本結果はヒト緑内障濾過手術眼での薬物動態を予測する上で有用な情報となると考える。(日眼会誌 109 : 559-562, 2005)

キーワード：塩酸セフトリアム、緑内障濾過手術、眼内移行濃度、白色家兎、高速液体クロマトグラフィ

Intraocular Penetration of Cefotiam Hydrochloride, a Kind of Cephalosporin after Filtration Surgery in Rabbit Eyes

Masamichi Fukuda, Nobuo Takahashi, Hiroko Nakaizumi, Yoko Yamashiro and Ai Yamaguchi

Department of Ophthalmology, Kanazawa Medical University

Abstract

Purpose : In this study, we measured the cefotiam dihydrochloride(CTM) concentration in ocular tissue after filtration surgery in rabbit eyes.

Methods : CTM (20 mg/kg body weight) was administered intravenously 30 min before filtration surgery which was performed by double flap procedure on the right eyes of white rabbits. The aqueous humor and serum were extracted at 10 min after surgery and at 30 min, 60 min, and 120 min. Drug concentration in all of the specimens was measured by high performance liquid chromatography (HPLC).

Result : The CTM concentrations of aqueous humor in the nonoperated eyes were 0.44 ± 0.16 (mean \pm standard deviation) $\mu\text{g/ml}$ (n=4) (40 min after intravenous dosage), 0.36 ± 0.17 $\mu\text{g/ml}$ (n=4) (60 min after intravenous dosage), 0.38 ± 0.34 $\mu\text{g/ml}$ (n=3) (90 min after intravenous dosage) and 0.27 ± 0.10 $\mu\text{g/ml}$ (n=5) (150 min after intravenous dosage). In contrast, CTM concentration in the aqueous humor of the operated eyes was 2.4 ± 0.95 $\mu\text{g/ml}$ (n=4) at 10 min after surgery (40 min after intra-

venous dosage), 2.11 ± 1.10 $\mu\text{g/ml}$ (n=4) at 30 min after surgery (60 min after intravenous dosage), 1.18 ± 0.78 $\mu\text{g/ml}$ (n=4) at 60 min after surgery (90 min after intravenous dosage) and 0.47 ± 0.1 $\mu\text{g/ml}$ (n=5) at 120 min after surgery (150 min after intravenous dosage). The intraocular penetration of CTM at 10 min and at 120 min after filtration surgery was significantly higher in comparison with the drug concentration in the nonoperated eyes ($p < 0.05$).

Conclusion : The intraocular penetration of CTM after filtration surgery was much higher in comparison with the drug concentration in the nonoperated eyes. These results may be useful to predict the intraocular penetration of CTM in human eyes after filtration surgery.

Nippon Ganka Gakkai Zasshi (J Jpn Ophthalmol Soc 109 : 559-562, 2005)

Key words : Cefotiam hydrochloride, Filtration surgery, Intraocular penetration, Rabbit eyes, High performance liquid chromatography (HPLC)

別刷請求先：920-0293 石川県河北郡内灘町大学 1-1 金沢医科大学眼科学教室 福田 正道
(平成 16 年 5 月 6 日受付, 平成 16 年 12 月 28 日改訂受理)

Reprint requests to : Masamichi Fukuda, Ph. D. Department of Ophthalmology, Kanazawa Medical University,
1-1 Daigaku, Uchinada-machi, Kahoku-gun, Ishikawa 920-0293, Japan

(Received May 6, 2004 and accepted in revised form December 28, 2004)

I 緒 言

セフェム系抗生物質である塩酸セフォチアム (CTM) は 1981 年に本邦で開発された注射剤である。本剤はグラム陽性菌・陰性菌に広範な抗菌スペクトルを有し、第一世代の合成セファロスポリンが抗菌活性を示さなかったインドール陽性プロテウス, エンテロバクター, シトロバクター, およびインフルエンザ菌にまで抗菌スペクトルを拡大したこと, また β -ラクタマーゼ抵抗性も優れていることが明らかにされている¹⁾。作用機序は細菌の細胞壁の合成阻害であり, 本剤がグラム陰性菌に対して強い抗菌力を示すのは細胞外膜透過性に優れ, β -ラクタマーゼに比較的安定であり, かつペニシリン結合蛋白画分 1B および 3 に対する親和性が高いため, 細胞壁 peptidoglycan 架橋形成阻害作用が強いためと考えられている¹⁾。本剤は正常家兎眼を用いて, 全身的に投与された際の眼内移行動態の検討はこれまでに報告^{2)~6)}されているが, 緑内障手術眼における薬物の眼内移行動態の報告は我々が知る限りではない。今回は実際に家兎に緑内障手術眼を作製して, 手術眼モデルによる静脈注射後の CTM の眼内移行動態を明らかにすることである。

II 実験材料および方法

1. 実験材料

ニュージーランド白色家兎(体重 2.9~3.5 kg) 17 匹を実験に使用した。また, 検討薬剤には注射用 CTM を用いた。

2. 緑内障手術法

家兎にパントバルビタールナトリウム(ソムノペンチル[®]) (50 mg/kg) と塩酸ケタミン(ケタラール[®] 50) (40 mg/kg) をそれぞれ筋肉注射で全身麻酔し, 円蓋部基底結膜切開後, 強膜半層切開, 深層強角膜切除, 周辺虹彩切除, 強膜および結膜縫合を行い, 手術を完了した(図 1)。上記の全身麻酔後, 実験に使用した。右眼(手術群)の緑内障手術前に家兎に生理食塩水で溶解した CTM 20 mg/kg を耳静脈に注射し, 術後 10 分(静注 40

分後), 術後 30 分(静注 60 分後), 術後 60 分(静注 90 分後), 術後 120 分(静注 150 分後)に房水, 角膜, 虹彩・毛様体, 硝子体および血清内移行濃度を高速液体クロマトグラフィ(HPLC)法で測定した。左眼(正常群)は対象眼として右眼と同様に薬剤濃度を測定した(図 2)。

3. 試料の採取と処理法

術後 10 分(静注 40 分後), 術後 30 分(静注 60 分後), 術後 60 分(静注 90 分後), 術後 120 分(静注 150 分後)に眼房水は直接前房穿刺により採取したものを試料とし, また, 血液は耳静脈から約 1 ml 採血し, 血清分離剤入り遠心管に入れ, 遠心分離後(1,000 rpm, 10 分), さらに, その上澄液を試料として, Ultrafree[®]-MC(0.22 μ m)を通して使用した。その他の眼組織については家兎を過剰のペントバルビタールナトリウム(ソムノペンチル[®])の静脈投与で屠殺後, 眼球を取り出し, -84°C に凍結し, 凍結状態で各組織を分離採取した。角膜, 虹彩・毛様体はそれぞれ湿重量測定後, 5 倍量の 0.2 M-phosphate buffer solution (PBS) (pH 7.4)を加えて, 組織を細砕後, 遠心分離し(2,000 rpm, 30 分), その上澄液を Ultrafree[®]-MC(0.22 μ m)を通して試料とした。

4. HPLC 法での測定条件

CTM の HPLC 測定条件は装置: LC-10 AD (shimadzu), カラム: YMC-PACK ODS-A (250 \times 60 mm. ID

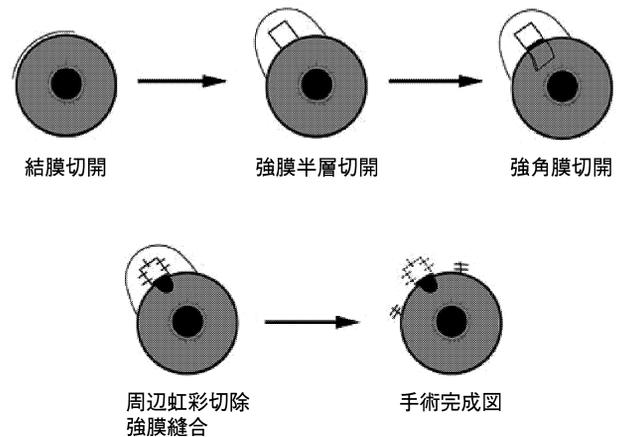


図 1 緑内障手術法。

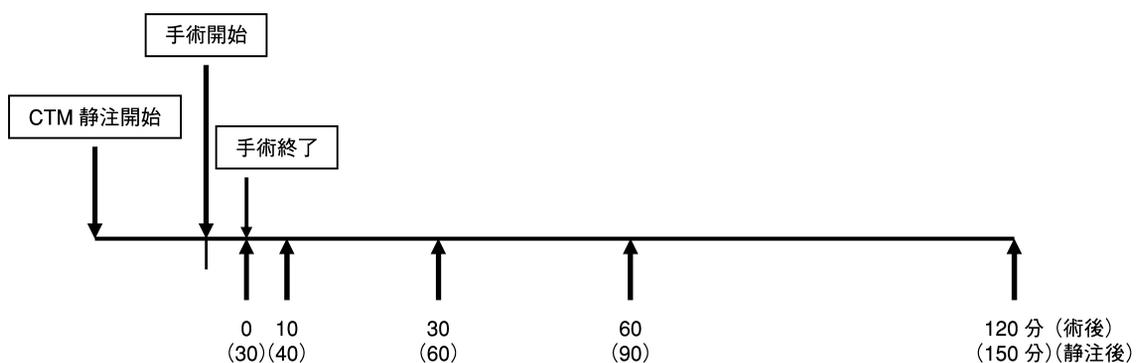


図 2 塩酸セフォチアム (CTM) 投与方法と試料採取時間。

YMC), 移動相:メタノール:0.02 M リン酸緩衝液=5:95, 流速:1.0 ml/min., 検出:UV 254 nm, カラム温度:40°Cで行った. また, 得られた値の有意差検定は Student-t-test で行った.

III 結 果

CTM の眼組織内移行濃度は正常群では房水内移行濃度は, 術後 10 分(静注 40 分後)では 0.44 ± 0.16 (平均値 \pm 標準偏差) $\mu\text{g/ml}$ (n=4), 術後 30 分(静注 60 分後)では $0.36 \pm 0.17 \mu\text{g/ml}$ (n=4), 術後 60 分(静注 90 分後)では $0.38 \pm 0.34 \mu\text{g/ml}$ (n=3), 術後 120 分(静注 150 分後)では $0.27 \pm 0.10 \mu\text{g/ml}$ (n=5) にまで低下した. 一方, 手術群では術後 10 分(静注 40 分後)の $2.4 \pm 0.95 \mu\text{g/ml}$ (n=4) が測定時点で最も高く, その後, 術後 30 分(静注 60 分後)では $2.11 \pm 1.10 \mu\text{g/ml}$ (n=4) であり, 術後 60 分(静注 90 分後)では $1.18 \pm 0.78 \mu\text{g/ml}$ (n=4), 術後 120 分(静注 150 分後)では $0.47 \pm 0.1 \mu\text{g/ml}$ (n=5) にまで低下した. 有意差検定の結果では, 術後 10 分, 術後 120 分において手術眼の方が正常眼に比べて有意に高い値を示した ($p < 0.05$) (図 3). また, CTM の房水内移行濃度値の手術眼/正常眼比は, 術後 10 分(静注 40 分後)では 6.67 ± 5.00 (n=4), 術後 30 分(静注 60 分後)では 6.90 ± 3.52 (n=4), 術後 60 分(静注 90 分後)では 3.35 ± 2.66 (手術眼; n=3, 正常眼; n=4), 術後 120 分(静注 150 分後)では 2.00 ± 0.90 (n=4) となり, 時間の経過とともに正常眼と手術眼の比が小さくなった(図 4). 血清内移行濃度は, 投与後いったん速やかに上昇した後, 時間とともに減少し, 術後 30 分(静注 60 分後)では $2.62 \pm 1.35 \mu\text{g/ml}$ (n=4) まで減少した(図 5). また, 眼房水以外の眼組織内(角膜, 虹彩・毛様体, 硝子体)への移行濃度はいずれも低値であった.

IV 考 按

抗生剤の眼内移行動態を知ることが, 眼感染症療法を行う上で極めて重要なことであり, 著者らはこれまでも数多くの抗生剤の正常眼での眼内移行動態について報告⁷⁾⁸⁾している. 今回の実験は緑内障濾過手術を行った際のヒト眼内移行動態を予想するために, ウサギ眼をモデルとして, CTM の眼内移行動態を検討した. 今回, CTM について検討した大きな理由は, 当施設をはじめ多くの施設で術後感染予防の目的で本剤を全身投与法で使用する機会が多いからである. また, 緑内障濾過手術眼モデルでの CTM の眼内移行動態を把握することは, 薬剤の投与方法を設定する上で極めて意義あることである. 手術眼の作製に当たり, 可能な限り臨床像に近く, しかも高い再現性のある緑内障濾過手術眼を作製するために, すべての手術眼モデルを同一術者が行った. また, 実験を開始するに当たり, 手術眼では眼内の正常バリア機構が破壊されるため, 薬剤の動態は正常眼のそれ

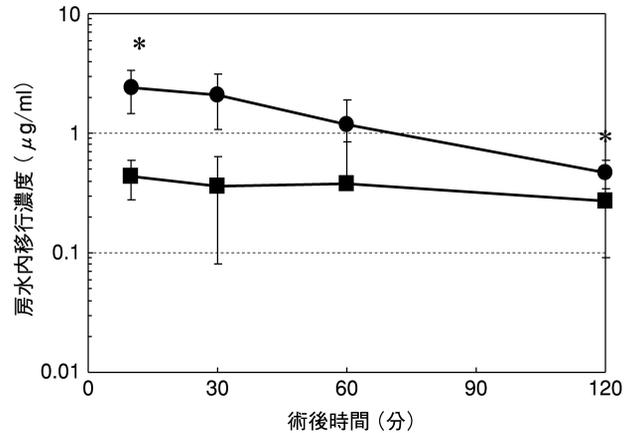


図 3 CTM の房水内移行濃度(平均値 \pm 標準偏差, n=3~5).
*: $p < 0.05$ ●: 手術眼 ■: 正常眼

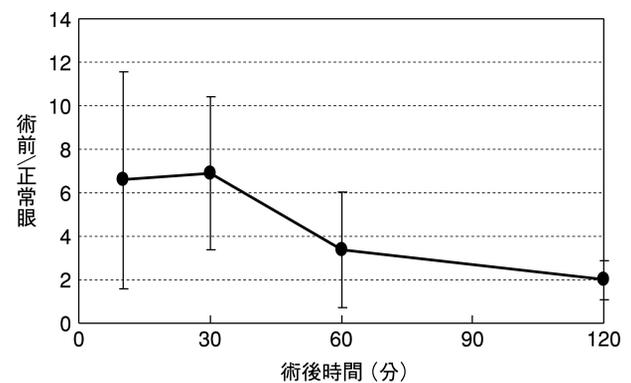


図 4 CTM の房水内移行濃度値の手術眼/正常眼比(平均値 \pm 標準偏差, n=3~4).

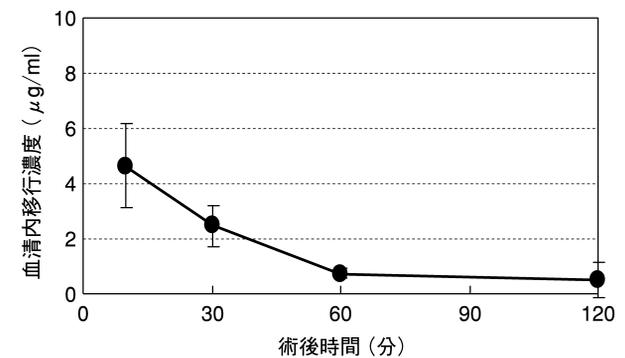


図 5 血清内移行濃度.

とは数倍高い移行値を予想していた^{9)~13)}. 実際には正常眼(対照)と手術眼への CTM の房水内移行濃度は予想通り, 明らかに正常眼(対照)に比べて手術眼の方は高い値を示し, 手術操作での血液房水柵の破綻で薬剤の眼内移行が高くなったものと推測している. 濾過手術後, 時間の経過とともに正常眼と手術眼での薬剤の移行濃度の差が小さくなるものの, 術後 120 分(静注 150 分後)におい

でも手術眼の方が正常眼のに比べて有意に高い値を維持していた。このことは、実際に臨床使用に当たり、薬剤の投与方法や投与量を設定する上で有用な情報になるであろう。また、血液房水柵が完全に修復し、正常機能を果たすまでには、かなりの時間が必要であり、濾過手術後に房水の流れが再び恒常状態に戻ってからの薬物の眼内移行動態への影響についてはまだ不明であるが、これは各薬剤の物理・化学的な特性により、異なるものと考えている。一方、他の眼組織、角膜、虹彩・毛様体、硝子体への移行濃度はいずれも低く、信頼性のある角膜、虹彩・毛様体内薬剤濃度を測定することが困難であった。また、硝子体では測定限界濃度は $0.1 \mu\text{g/ml}$ 以下であった。一般的に正常時での薬物の眼内移行に関与する要因に、薬物の分子量の大きさ、血液中薬物濃度、血漿蛋白結合率、血液房水柵の透過性、イオン化率、薬物能動輸送、メラニン色素との親和性などがある¹⁴⁾¹⁵⁾。CTMの分子量は 598.54 であり、ヒト血清蛋白結合率は 8% と小さく、蛋白結合による薬剤の眼内移行への影響は少ないものと考えられる。今回検討した緑内障濾過手術後の CTM の眼内への移行濃度は正常眼のもの ($0.27 \sim 0.44 \mu\text{g/ml}$) に比べて明らかに高い値を示した。この原因は手術による血液房水柵の破壊に依存するところが大きいと考える。また、緑内障濾過手術後の CTM の房水内最高濃度値は術後 10 分(静注 40 分後) $2.4 \pm 0.95 \mu\text{g/ml}$ ($n=4$) であり、この値は眼感染症の起炎菌として、頻度の高い黄色ブドウ球菌、肺炎球菌、化膿連鎖球菌などのグラム陽性菌、ならびに大腸菌、肺炎桿菌、インフルエンザ菌などのグラム陽性菌の発育阻止濃度(MIC: $1.56 \mu\text{g/ml}$) を上回るものであり、有効性が期待できるものであった。

百瀬⁹⁾は白内障手術の予定患者を対象に CTM 1 g, 30 分点滴静注の房水中濃度を検討し、点滴開始後 2.5 時間後に最高値 $4.2 \mu\text{g/ml}$ を示した。また、中尾ら²⁾は CTM 1 g one shot 静注投与で、投与後 2~3 時間後に房水中濃度の最高値は $3.8 \sim 3.12 \mu\text{g/ml}$ を認めている。これらの結果からみて、今後、臨床的に抗生剤の術前投与は細胞障害の面からみても従来の投与方法で問題はないのではないかと考えている。

今回の実験は家兎眼での緑内障濾過手術後での本剤の眼内移行性を正常眼と比較検討したものであり、単純にはヒト眼の成績と比較することはできないが、これらのヒトでの成績に比べて、今回の我々の房水内移行濃度は低い値を示した。この原因については不明であるが、ヒトと家兎の生理的、解剖学的、薬剤と血清蛋白結合率の違い、投与量の相違、ヒトでの患者個々に個体差などその要因は数多く上げられるため、原因を明らかにすることは困難である。ヒト眼においても緑内障濾過手術後は正常眼に比べて高濃度の移行が予想され、本剤の術後感

染予防法としての有効性が示唆された。今後は日常最も頻繁に行われている白内障手術時の薬剤の眼内移行動態の検討も重要であり、さらに検討する予定である。

文 献

- 1) **Konno M, Ubukata K, Takahashi H, Sawai M, Saito K**: Morphological studies on antibacterial activities of cefotiam. *Jpn J Antibiot* 32: 583-597, 1979.
- 2) **中尾文紀, 林 文彦**: Cefotiam (CTM) の眼房水中移行に関する検討. *眼臨* 78: 1552-1553, 1984.
- 3) **石田俊郎, 山田祐司, 尾崎真由美, 開 繁義, 中村泰久**: 高速液体クロマトグラフィーによる涙液内抗生剤移行濃度の測定. *眼紀* 35: 157-163, 1984.
- 4) **杉原いつ子, 植田喜一, 齊木 裕, 花田美穂, 土井はるみ, 石橋 健, 他**: Cefuzonam sodium の静脈注射と結膜下注射による人眼内組織への移行.—Cefotiam との比較—. *日眼会誌* 94: 211-218, 1990.
- 5) **百瀬 皓**: Cefsulodin および Cefotiam のヒト眼内(前房水および角膜)移行性に関する研究. *Jpn J Antibiot* 35: 2879-2893, 1982.
- 6) **大石正夫, 西塚憲次, 本山まり子**: 眼感染症に関する Cefotiam (SCE-963) の基礎的・臨床的検討. *Chemotherapy* 27: 683-688, 1979.
- 7) **Fukuda M, Hanazome I, Sasaki K**: The intraocular dynamics of vancomycin hydrochloride ophthalmic ointment (TN-011) in rabbits. *J Infect Chemother* 9: 93-96, 2003.
- 8) **Fukuda M, Sasaki K**: General purpose antimicrobial ophthalmic solutions evaluated using new pharmacokinetic parameter of maximum drug concentration in aqueous. *Jpn J Ophthalmol* 46: 384-390, 2002.
- 9) **福田正道, 井上 周, 佐々木一之**: 表皮ぶどう球菌で誘発した家兎角膜感染眼モデルの作製. *日眼会誌* 103: 506-511, 1999.
- 10) **Salminen L**: Effect of paracentesis on ocular cloxacillin concentration. *Acta Ophthalmol* 56: 20-26, 1978.
- 11) **Eakins KE**: Prostaglandin and nonprostaglandin mediated breakdown of the blood-aqueous barrier. *Exp Eye Res* 25(Suppl): 483-498, 1977.
- 12) **Dernouchamps JP, Michiels J**: Molecular sieve properties of the blood-aqueous barrier in uveitis. *Exp Eye Res* 25: 25-31, 1977.
- 13) **Tso MOM, Shih CY**: Disruption of blood-retinal barrier in ocular hypotony: Preliminary report. *Exp Eye Res* 23: 209-216, 1973.
- 14) **新家 真**: 薬物療法総論. 2. 全身投与と薬物の眼内移行. *新臨床眼科全書* 11 A. 三島濟一. 金原出版, 東京, 15-32, 1983.
- 15) **福田正道, 佐々木一之**: 化学療剤の眼内移行動態におけるメラニンの関与. *日眼会誌* 92: 117-121, 1988.