

抗プロスタグランディン剤を加えた硝子体灌流液の家兎眼

硝子体切除術による網膜浮腫に及ぼす影響 (図25, 表2)

島田 宏之・八木橋 潔・川村 昭之・古賀佐代子 (日本大学医学部眼科学教室)
 新行内丈夫・荻田 勝彦・松井 瑞夫

Effects of an Anti-prostaglandin Agent Added to the Irrigation
 Solution on the Retinal Edema in Rabbit Eyes induced
 by Pars Plana Vitrectomy

Hiroyuki Shimada, Kiyoshi Yagihashi, Akiyuki Kawamura,
 Sayoko Koga, Fumio Shingyouchi, Katsuhiko Hagita
 and Mizuo Matsui

Department of Ophthalmology, Nihon University, School of Medicine

要 約

家兎眼を用いて、網膜毒性を示す flurbiprofen 水溶液の硝子体濃度について形態学的に検討した。また、flurbiprofen 含有灌流液を用いて家兎眼に硝子体切除術を行った際の網膜へ及ぼす影響を、ERG、形態学的所見を指標として検討するとともに、関門の障害と術後の炎症に対する予防効果を房水・硝子体液中の PGs と蛋白量を指標として検討し、つぎの結果をえた。1. FP 水溶液を家兎硝子体腔に注入した場合、硝子体濃度が210 $\mu\text{g/ml}$ では50%、320 $\mu\text{g/ml}$ では100%に網膜変性が生じた。2. 高濃度の FP による網膜の障害は、まず視細胞の錐体細胞、水平細胞、神経節細胞に認められ、さらに高濃度の FP では、網膜は全層にわたり障害され網膜変性を生じていた。3. BSS に FP 4 $\mu\text{g/ml}$ 添加すると、網膜浮腫を軽減し、 $O_1 \cdot O_2$ 頂点潜時の延長と術後炎症を抑制した。FP 100 $\mu\text{g/ml}$ 添加では、逆に一過性の網膜障害を生じる可能性を示した。(日眼 91: 360—375, 1987)

キーワード：フルオルビプロフェン水溶液、プロスタグランディン、灌流液、硝子体切除術、網膜浮腫

Abstract

Flurbiprofen is a water-soluble substance that markedly inhibits on prostaglandin synthesis and also has the effect of stabilizing the cell membrane. Therefore, effects of an irrigation solution containing flurbiprofen were studied in rabbit eyes. This was expected to be capable of preventing the occurrence of blood-ocular disruptions, retinal edema and post-operative inflammation after vitrectomy. In the first experiment, flurbiprofen was injected into the rabbit's vitreous cavity in order to evaluate its toxicity and to establish the toxic intravitreal dose of flurbiprofen on the retina. This experiment showed that intravitreal doses of flurbiprofen greater than 210 $\mu\text{g/ml}$ or more were toxic. Based on the above result, we performed vitrectomies in rabbit eyes with flurbiprofen added in irrigation solution using a VISC X. The irrigation volume and time were fixed at 30ml and 20 minutes, respectively. We used three kinds of irrigation solutions; BSS without flurbiprofen, BSS containing 4 $\mu\text{g/ml}$ flurbiprofen and BSS containing 100 $\mu\text{g/ml}$ flurbiprofen. We studied the eyes morphologically and electrophysiologically at 1, 3 and 24 hours after vitrectomies. We also measured the amount of

別刷請求先：〒101 東京都千代田区神田駿河台1—8—13 駿河台日本大学病院眼科、島田 宏之

Reprint requests to: Hiroyuki Shimada, M.D. Dept. of Ophthalmol., Nihon Univ. School of Med.

1-8-13 Kanda-Surugadai, Chiyoda-ku, Tokyo 101, Japan

(昭和61年11月18日受付) (Accepted November 18, 1986.)

PGE₂, PGF_{2α} and protein in the aqueous and vitreous humor at 1 and 24 hours after vitrectomies. In this study, it was found that BSS containing flurbiprofen of 4μg/ml prevented the post-operative occurrence of retinal edema and hyperemia of choroidal vessels, and maintained the peak latency on the oscillatory potential of ERG. This was thought to be due to the pharmacological action of flurbiprofen. On the other hand, it is already known that a high concentration of flurbiprofen increases the release of acid-phosphatase from the lysosome. Therefore, the delay of peak latency and intracellular vacuole in the inner retinal layer of the vitrectomized eyes treated with an irrigation solution containing 100μg/ml of flurbiprofen was thought to be due to the adverse or toxic effects of flurbiprofen. (Acta Soc Ophthalmol Jpn 91 : 360—375, 1987)

Key Words : flurbiprofen solution, prostaglandins, irrigation solution, pars plana vitrectomy, retinal edema

I 緒 言

我々は、すでに猿眼を用い硝子体切除術により生じる血液眼関門の障害と prostaglandins (以下 PGs) の関連性を明らかにし、また indomethacin 点眼によってこの現象が抑制されることを報告¹⁾した。しかし臨床例において、硝子体切除術の際に水晶体切除を併用する例では虹彩・毛様体への直接的侵襲が強いため、indomethacin などの非ステロイド性消炎点眼剤のみでは縮瞳予防効果も低く、また術後炎症に伴う前房へのフィブリン析出や cyclitic membrane の形成への予防効果も少ない。また、点眼投与では硝子体、網膜脈絡膜への移行が悪い²⁾ため、血液網膜関門への強い侵襲が原因であると考えられている。硝子体切除術後に生じる硝子体腔へのフィブリン析出³⁾への予防効果も期待しにくい。

そこで今回、長期間に及ぶ硝子体切除術でも常に一定の濃度で眼内組織に作用でき、関門の障害や術後炎症に対する予防効果を期待して、非ステロイド性消炎剤 flurbiprofen (FP) (Fig. 20) 水溶液を加えた灌流液を硝子体切除術の際に使用する方法を考案した。しかし、FP のもつ網膜毒性や、灌流液内に加える FP の安全な濃度も不明であるためこの点の検討を行った。

そこで、まず最初に今回作製した FP 水溶液 (Table 1) を家兎眼の硝子体腔に注入し、網膜毒性を示す FP の硝子体濃度について形態学的に検討した。つぎに、この結果を考慮して FP 水溶液を灌流液に加えて家兎眼に硝子体切除術を行った際の網膜へ及ぼす影響を、ERG と形態学的所見を指標として検討するとともに、関門の障害と術後の炎症に対する予防効果を房水・硝子体液中の PGs と蛋白量を指標として検討したので報告する。

II 実験方法

1. FP 水溶液の硝子体内注入実験

Peyman ら⁴⁾は、体重約3kg 家兎眼の硝子体体積は、1.2~1.6ml で平均1.4ml であったと報告している。したがって、今回の実験では硝子体体積を1.4ml として検討を行なった。

(1) FP 水溶液の硝子体内注入方法

トロピカミドと塩酸フェニレフリンにて充分散瞳後、ペノキシール点眼麻酔、ベントバルビタール (20 mg/kg) 静脈麻酔下に家兎眼の12時の limbus から30ゲージ注射針付の1ml 注射器を刺入して、0.3ml の前房水を吸引した。つぎに、12時の limbus 後方約1.5mm の毛様体扁平部から、27ゲージ注射針付の1ml 注射器で、0.2%FP 水溶液あるいは基剤 (Table 1) を0.3ml 硝子体中央部に静かに注入した。使用した FP 水溶液は、2,000μg/ml (8眼)、1,500μg/ml (8眼)、1,000μg/ml (10眼)、750μg/ml (10眼)、500μg/ml (8眼)、250μg/ml (6眼) の各濃度に希釈したものを0.3ml ずつ25羽 (50眼) に注入した。したがって注入後 FP が均一に拡散したとすれば、硝子体体積を1.4ml として計算すると、FP の硝子体内濃度は、それぞれ430μg/ml、320μg/ml、210μg/ml、160μg/ml、110μg/ml、55μg/ml である。

対照として、基剤0.3ml を4羽 (8眼) の硝子体内に注入した。注入後は、眼底・中間透光体に検眼鏡で異常のないことを確認した。術後・抗生剤の局所および全身投与は行わなかった。

(2) 形態学的検索方法

FP 水溶液および基剤注入後、1日目、7日目に検眼鏡検査を行ったのち、眼球を摘出した。眼球は2.0% glutaraldehyde (0.2M phosphate buffer solution pH

Table 1 The characteristics of a flurbiprofen solution of 0.2% and vehicle.

| | 0.2% Solution | 0 % Solution |
|---|------------------|-----------------|
| Flurbiprofen (%) | 0.2 | — |
| Na ₂ HPO ₄ ·12H ₂ O (%) | 3.8 | 2.6 |
| pH | 7.4 | 7.4 |
| Osmotic Pressure (mOsm/kg) | 293 | 293 |

7.4)にただちに固定し、毛様体扁平部に切開を加えた後に1時間固定した。つぎに、赤道部で前後に切断し実体顕微鏡で眼内を観察した。ついで、乳頭下3mmの部の網膜脈絡膜を細切し、30分さらに固定後1%OsO₄中で1時間固定を行い、ethanol系列で脱水後、propylene oxideを経てEpon 812に包埋した。光顕用には、1%toluidine blue染色、電顕用には酢酸ウラン・クエン酸鉛で二重染色して観察した。

2. FP含有硝子体灌流液の影響

(1) 硝子体切除方法

硝子体切除装置はVISC Xを用い、眼内照明は使用せず、顕微鏡の同軸照明下で手術を行った。術式はMachemerらによるpractice vitrectomyの方法⁵⁾に準じて行った。すなわち、硝子体切除術の1週間前に経結膜的に3個(-60°C, 4~5秒)の冷凍凝固を、家兎眼の2時の部(limbusより後方6cmの部位)に行い網膜脈絡膜を癒着させた。癒着が生じた部位をVISC 刺入孔として、1%アトロピン、トロピカミドと塩酸フェニレフリンにて散瞳後、ペノキシール点眼麻酔、ベントバルビタール(20mg/kg)静脈麻酔下に手術を行った。FP含有灌流液の網膜に及ぼす影響を検討する目的から、灌流液を次の3種類に分けて手術を行い比較検討した。

A灌流液：BSS単独の液(対照液)。

B灌流液：BSSにFP 4μg/ml (16μM)を含有する液。

C灌流液：BSSにFP 100μg/ml (400μM)を含有

する液。

なお、灌流液による侵襲が一定になるように灌流時間を20分、灌流量と約30ccと定めた。

(2) ERG測定方法

1%リドカイン局麻下に、家兎前額部に不関電極(銀塩化銀電極)を埋込み、つぎに右眼をトロピカミドと塩酸フェニレフリンで極大に散瞳させた。ペノキシール点眼麻酔、ベントバルビタール(20mg/kg)静脈麻酔下にコンタクトレンズ電極を装着し、暗順応5分間行い、時定数0.3msecにて波形を記録しこれを正常対照とした。つぎに右眼に冷凍凝固を施行し、その1週間後に前述した方法で、A, B, C灌流液を用いて硝子体切除を行い、手術1, 3, 24時間後にERGを測定して比較検討した。使用した家兎は1群2羽である。記録時に、筋運動のためと思われる波形の混入や体動のため正確な波形が得られなかった場合は、塩酸ケタミン(20mg/kg)を筋注し、暗順応をくり返した後に再測定した。光刺激としてキセノン内光装置(日本光電工業製)を用い、放電エネルギーを20Jとし、右眼の垂直上方30cmの位置に放電管を置いた。電極には、京都コンタクトレンズ製の兎用金環埋込式コンタクトレンズ(曲率半径8mm, 透明部位の直径10mm)を使用した。ERGの電位は、前置増幅器(日本光電工業製生体用アンプAB-602G)で増幅された後、データ解析装置(日本光電工業製ATAC 350)にて記録し、律動様小波のO₁, O₂の頂点潜時を計測した。

(3) 房水・硝子体液中のPGs・蛋白量測定法

① 房水・硝子体液穿刺方法

ベントバルビタール(20mg/kg)静注・ペノキシール点眼麻酔下に、27ゲージ付のツベルクリン注射器でlimbusより1mm内側の角膜の所で穿刺し、約0.3mlの房水を採取し正常対照(15羽, 30眼)とした。またlimbusより後方1.5~2.0mmより24ゲージ付のツベルクリン注射器を刺入し、硝子体液約0.3ml採取し正常対照(3羽, 6眼)とした。冷凍凝固を両眼に行い、その1週間後に右眼はA灌流液で、左眼はB灌流液で硝子体切除を行った。術後、1, 24時間後に房水と硝子体液を採取した。初回の前房穿刺と冷凍凝固自体による影響はほぼ両眼とも同じ侵襲が加ったと考え、硝子体切除術前に房水・硝子体液の採取は行わなかった。房水・硝子体液は、採取後いずれも速やかに-30°Cに冷凍凝固し、蛋白量はLowry法でPGsはradioimmunoassay法で測定した。

② PGs抽出法

Collins と Hennam の方法⁶⁾に従ったが、少し改良を加えた。すなわち、房水0.2ml にリン酸 buffer (pH 7.4) を1.8ml 加え、5ml の石油エーテルで1回洗浄し中性脂肪を除去した。その後1N HCL を0.15ml 加えて pH を約3にしてエチルエーテル5ml で2回抽出した。エチルエーテル層を減圧乾固したのち、PGs radioimmunoassay 法 (RIA) kit に含まれている Gel・Tris buffer 1ml を加えて30秒間よく攪拌し、30分間放置後0.5ml を PGF_{2α} の測定試料として供した。残り0.5ml は PGE 測定用試料とした。

③ PG RIA

RIA kit は、Clinical Assays を使用した。この kit で PGE を測定する場合には、試料0.5ml に200μg の NaBH₄ を加え、20℃、30分間反応後、1M クエン酸 0.025ml 加えて反応を停止させた。この反応液に1N NaOH 0.065ml を加えて pH を約7にして、その0.5ml を PGF_{2α} と同様に RIA を行った。

(4) 形態学的検索方法

冷凍凝固1週間後に、前述した硝子体切除術の方法でA灌流液、B灌流液、C灌流液を用いて手術を行った。1、24時間後に眼球摘出を行い、乳頭下3mm の部の網膜・脈絡膜を顕微鏡・電顕で観察した。家兎は、各灌流液に4羽(8眼)を使用した。

III 結 果

1. FP 水溶液の硝子体内注入による網膜、脈絡膜への影響 (Table 2)

基剤0.3ml 注入群では、注入後1日目 (Fig. 1)、7日目において形態学的に異常を認めなかった。

FP 水溶液注入後の硝子体濃度が55μg/ml、100μg/ml の群では、注入後1日目、7日目とも形態学的に明らかな異常を認めなかった。FP の硝子体濃度が160μg/ml の群では、注入1日目 (Fig. 2) に、顕微鏡にて神経線維層、内顆粒層の部に空胞形成を認めたが、注入後7日目は全例とも正常に近い状態まで回復していた。FP の硝子体濃度が210μg/ml の群では、注入後1日目 (Fig. 3) に顕微鏡的に明らかに神経線維層の部に空胞を認めた。この空胞は、電顕的観察 (Fig. 8) によって神経線維の膨化として確認された。また、神経節細胞内のミトコンドリアとγ-ER の膨化も認められた。内顆粒層では、顕微鏡・電顕的観察にて主に水平細胞に選択的な膨化が生じていた (Fig. 3, 9)。視細胞の終足の膨化も認められた。視細胞では、選択的に錐体細胞に変性が生じていた (Fig. 3)。電顕的観察で

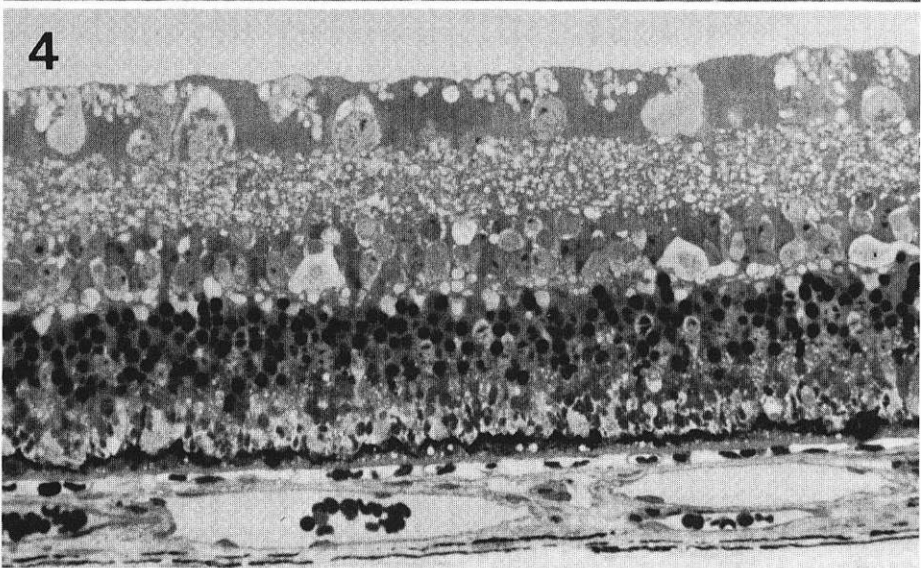
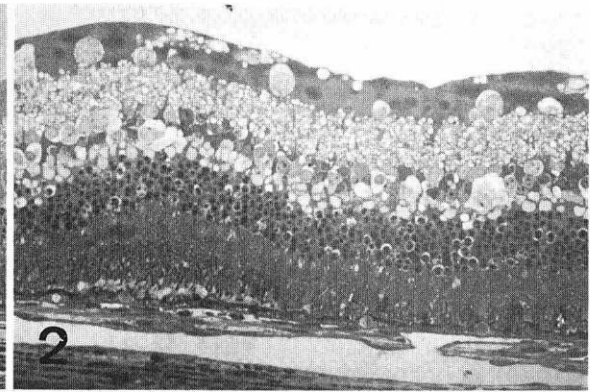
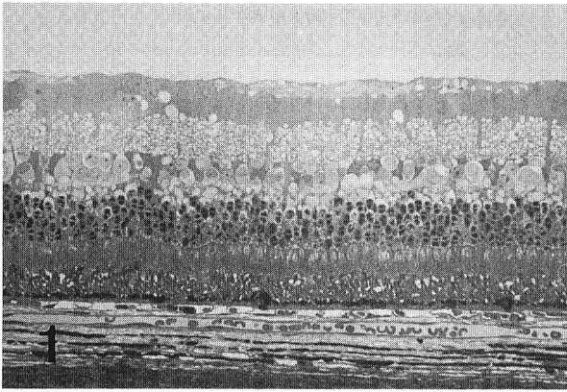
Table 2 Toxic intravitreal dose of flurbiprofen injected into vitreous body.

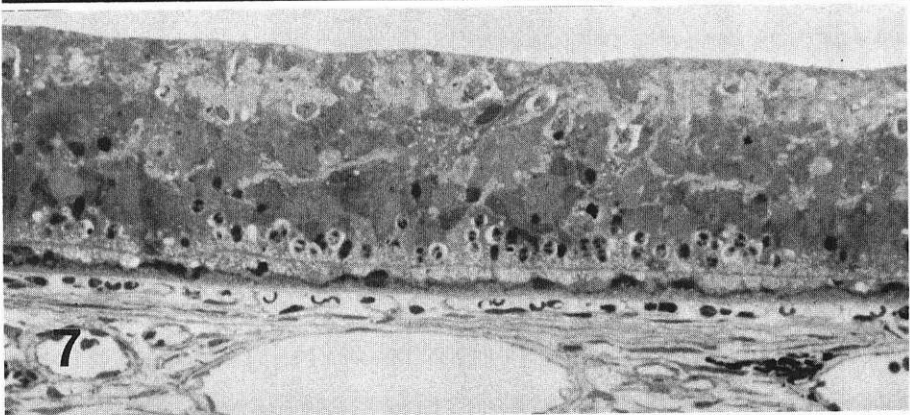
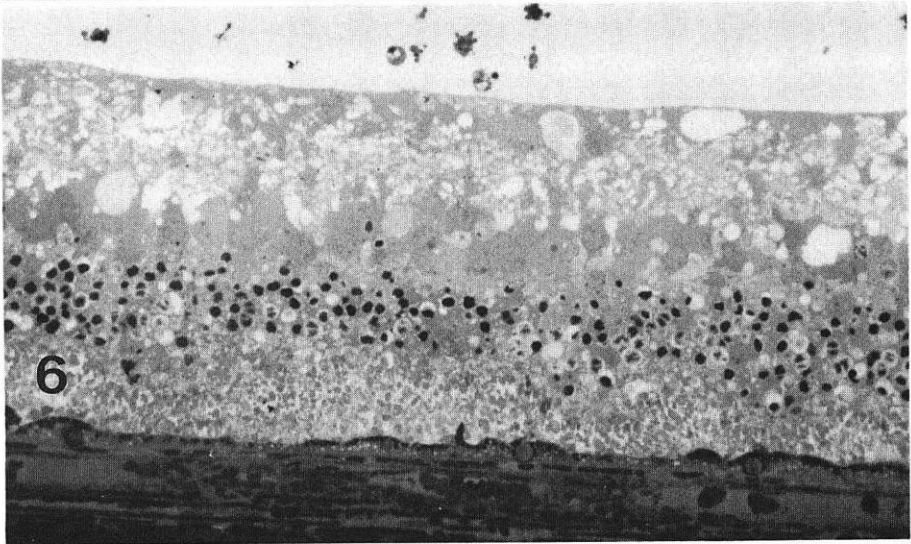
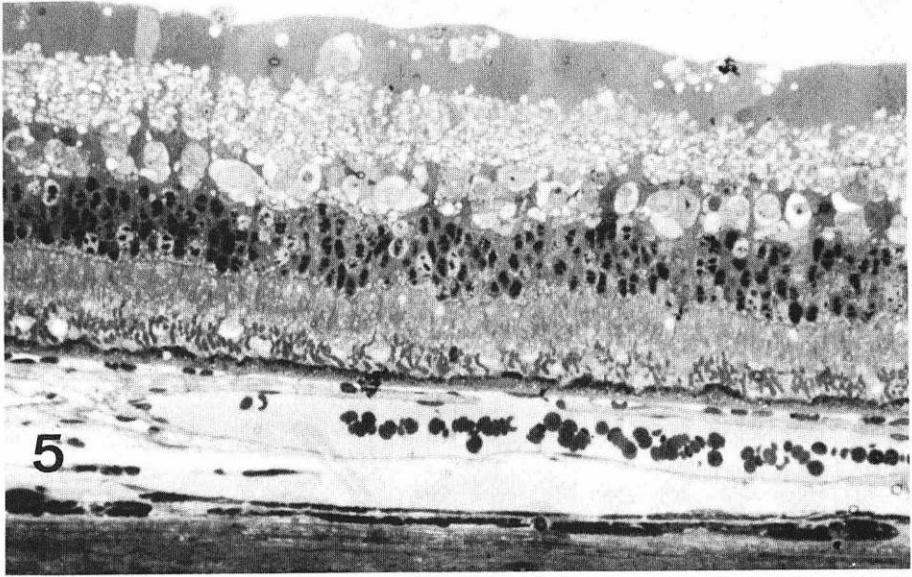
| | | | | | | | |
|---|-----|-----|-----|-----|-----|----|---|
| 7 day Retinal Degeneration (%) | 100 | 100 | 50 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | + | + | + | ± | - | - | - |
| 1 day Retinal Damage | | | | | | | |
| Vitreous Concentration of FP(μg/ml) | 430 | 320 | 210 | 160 | 110 | 55 | 0 |

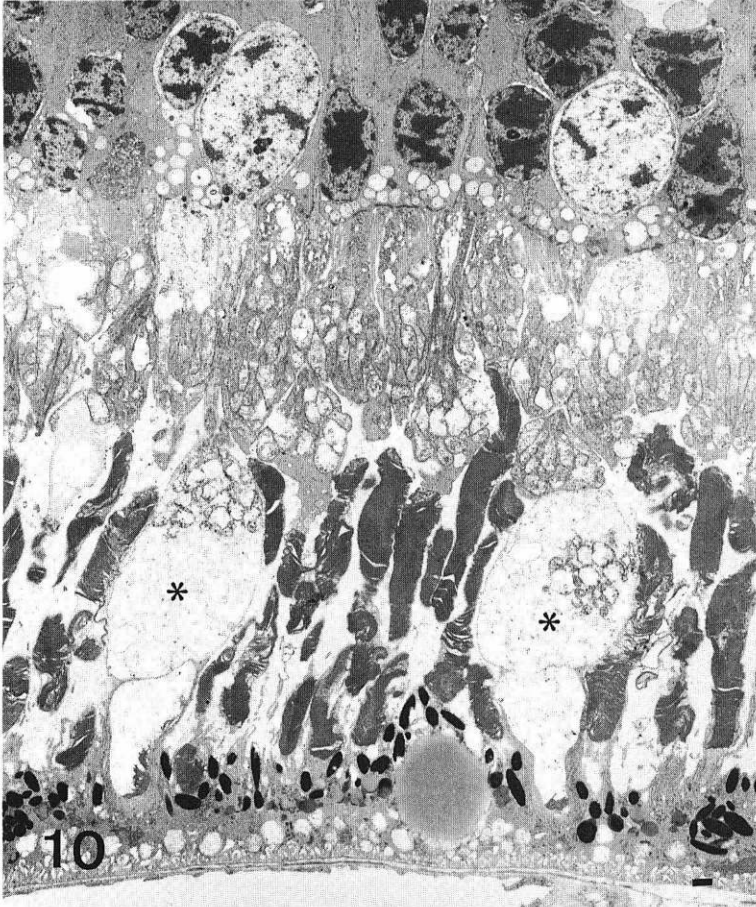
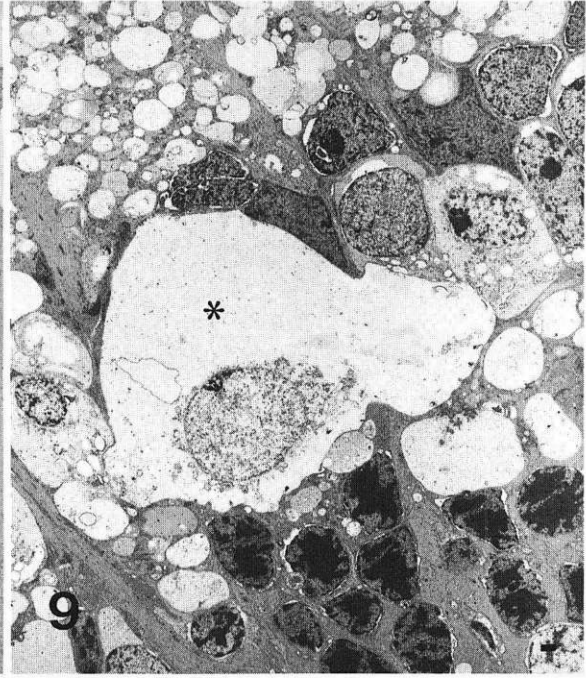
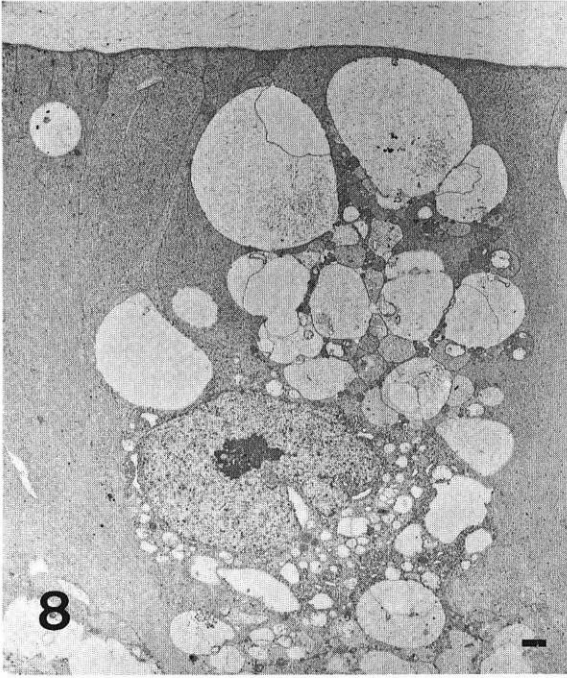
は、錐体細胞の核は電子密度が低く大きくなり、内節の幅が広くなり、ミトコンドリアは膨化し、外節の変性が認められた (Fig. 10)。また、錐体細胞の核周囲には、高電子密度の物質も認めた。注入後7日目 (Fig. 5) には、顕微鏡的観察にて4眼中2眼は内顆粒層の細胞内浮腫と、視細胞の核の変性、錐体細胞内節・外節の変性が生じていた。しかし、4眼中2眼には網膜にほとんど異常を認めなかった。

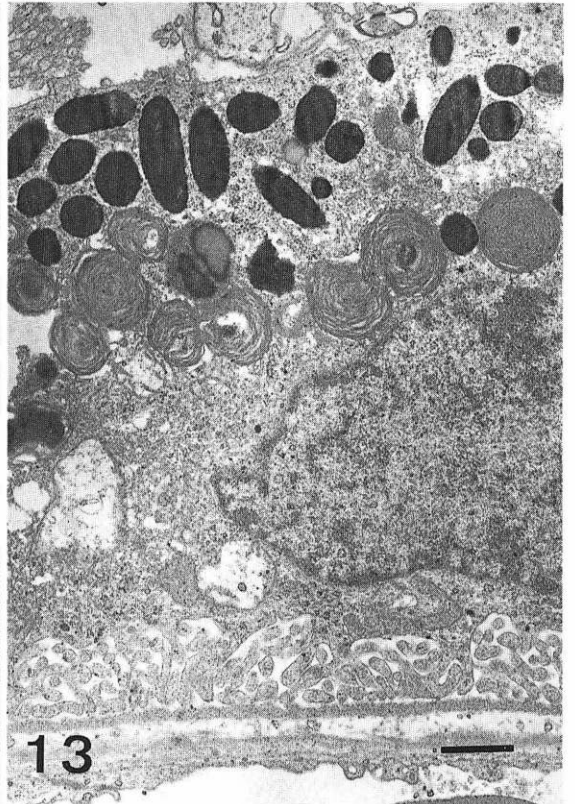
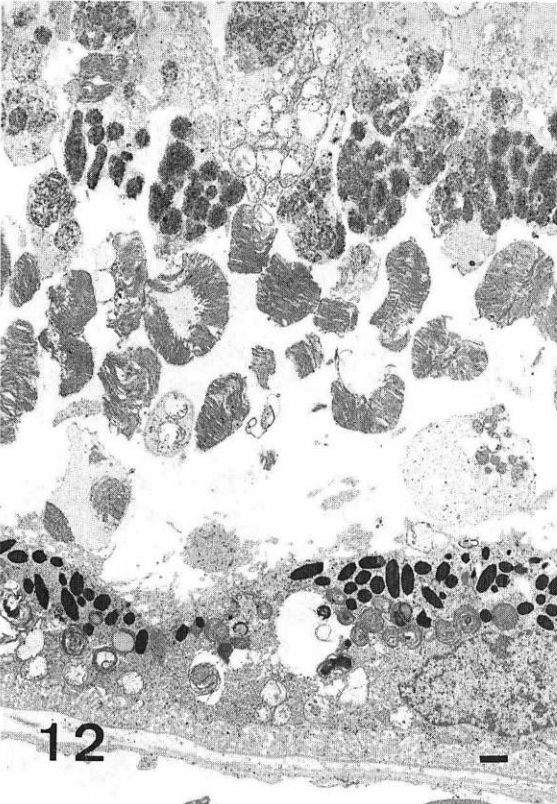
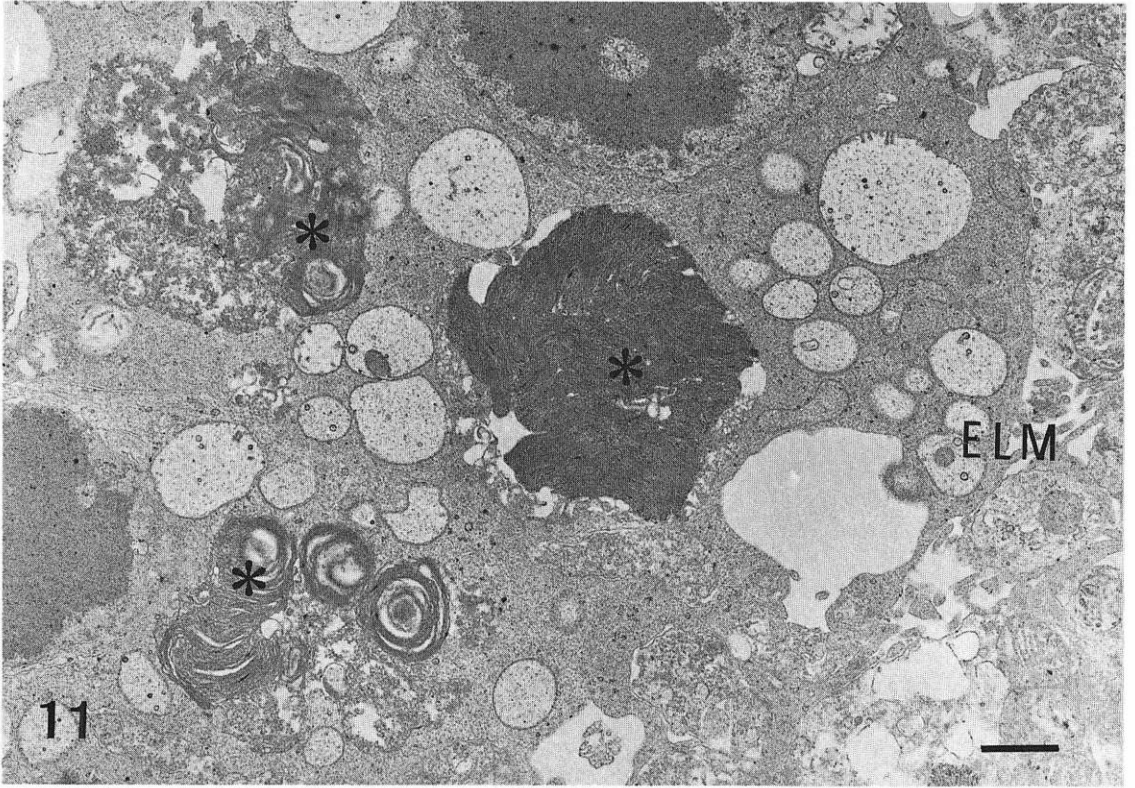
FP の硝子体濃度が320μg/ml の群では、注入後1日目 (Fig. 4) では、顕微鏡でも視細胞の核に変性を広範囲に認め、錐体・杆体細胞の内節・外節に変性が生じていた。電顕的に観察すると、視細胞の核は所々変性し、膜様構造物を認め (Fig. 11)、錐体・杆体細胞の内節・外節ともに著しく変性し (Fig. 12)、色素上皮細胞内に多数の膜様構造物を認めた (Fig. 13)。この色素上皮細胞内の膜様構造物は、視細胞外節の貪食像であると考えた。注入後7日目には、4眼中4眼とも顕微鏡観察にて網膜の層構造は失われ菲薄化し、視細胞の核の消失と内節・外節の消失、内顆粒層の細胞も変性・消失していた。

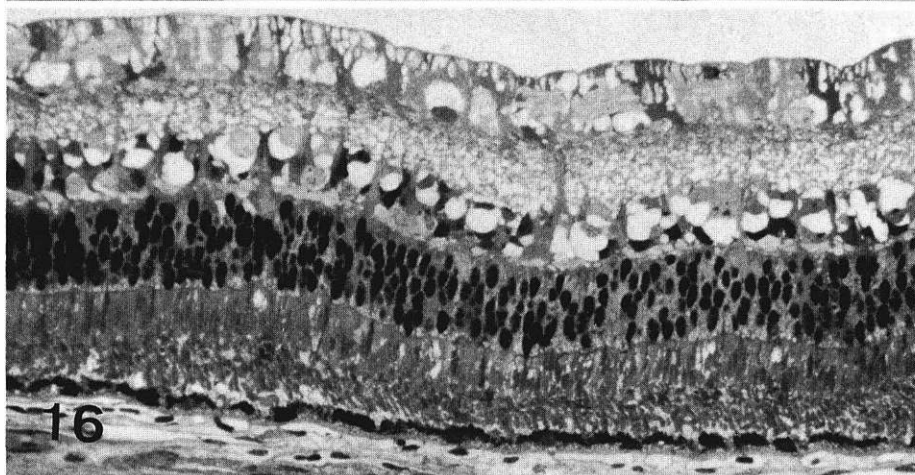
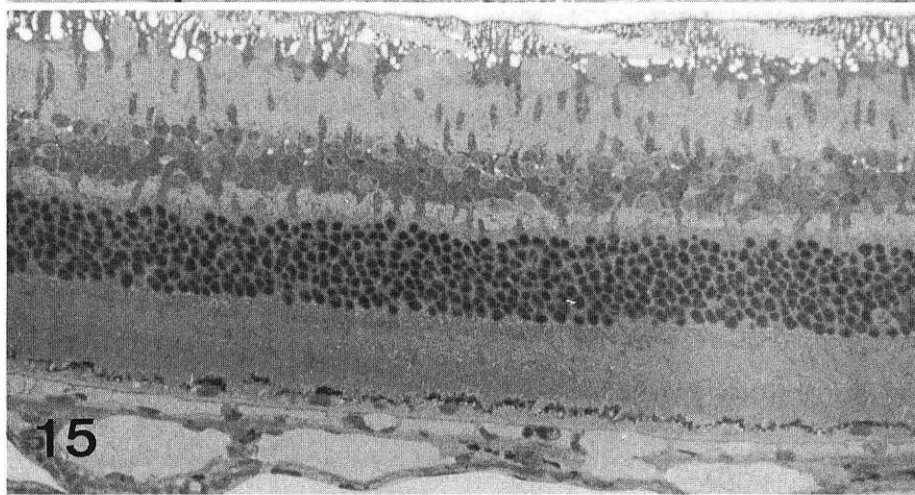
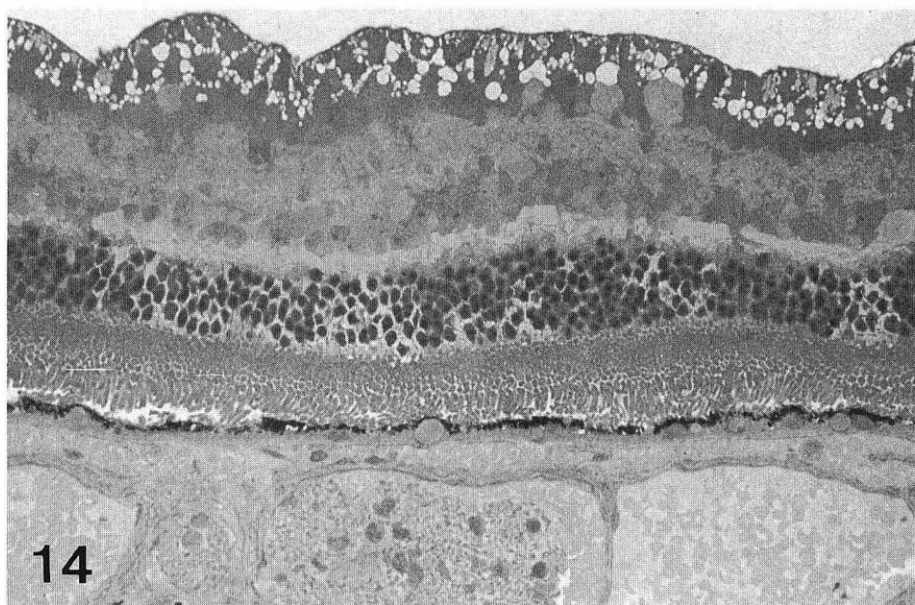
FP の硝子体濃度が430μg/ml の群では、注入後1日目に4眼中4眼とも硝子体に著明な炎症性細胞浸潤を認めた (Fig. 6)。顕微鏡観察にて網膜の障害は、全層に強く及び、神経節細胞、内顆粒層の細胞は変性し、視細胞の核の濃縮像と核の融解像を認め、内節・外節には著しい変性を生じていた。注入後7日目 (Fig. 7) には、顕微鏡観察にて4眼中4眼とも網膜は菲薄化し、神経節細胞、内顆粒層の細胞、視細胞はともに変性・消失していた。視細胞内節・外節は消失、外境界膜が色素上皮細胞に接するようになり、色素上皮細胞も所々萎縮を示していた。

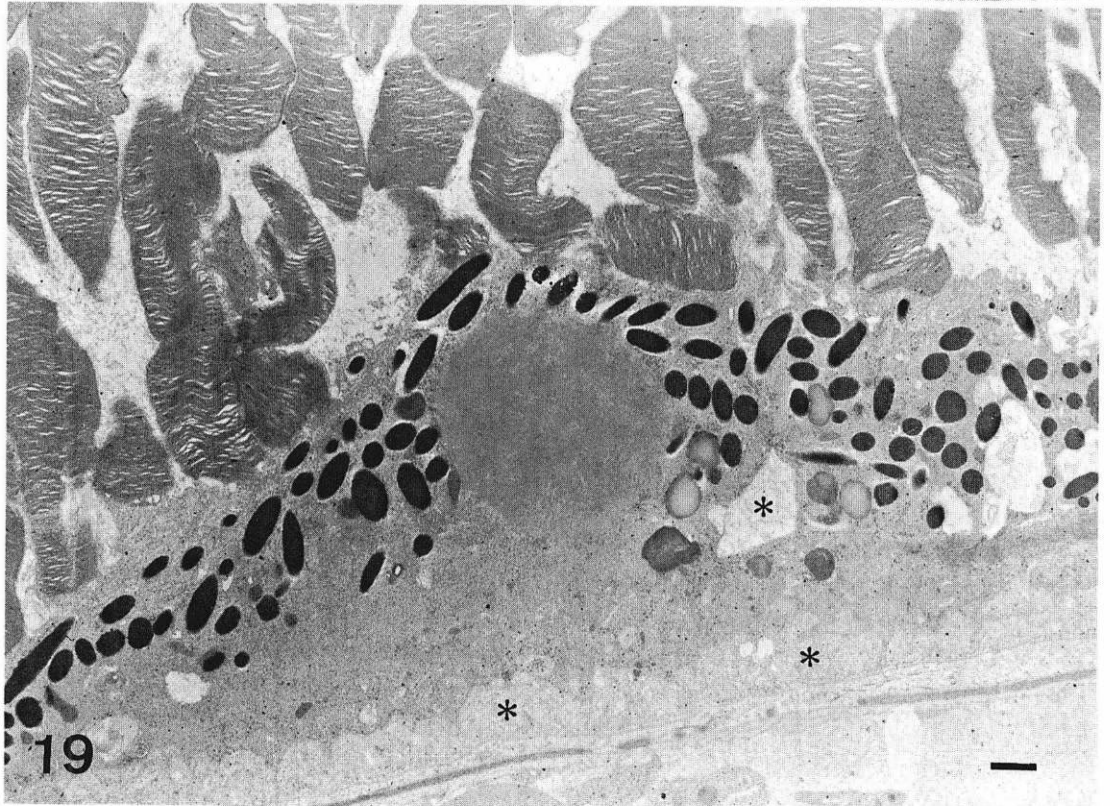
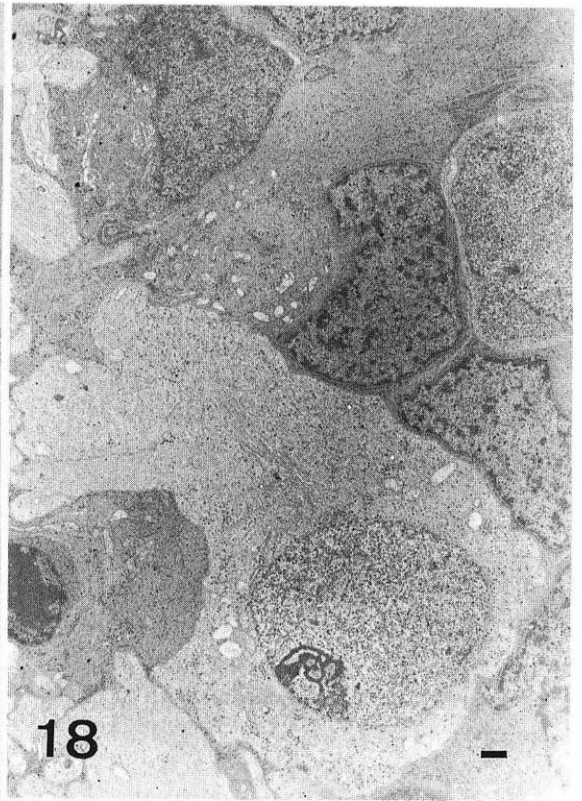


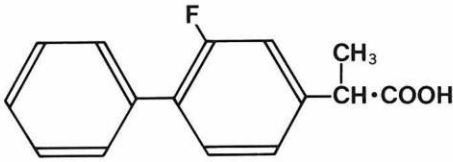












2-(2-Fluoro-4-biphenyl)propionic acid

C₁₅H₁₃FO₂ : 244.27

Fig. 20 Flurbiprofen formula.

以上のように、FPの硝子体濃度が210 μ g/mlをこえると網膜変性を生じる危険性があり、320 μ g/mlをこえると全例に網膜変性が生じることがわかった。このような網膜変性は、乳頭下3mmの部だけでなく、周辺にも生じていたが乳頭下3mmの網膜中心部に著明であった。これは、硝子体内にFPを注入する際に、針先が自然と網膜中心部に向けられるため、この部のFP濃度が最も高まるためであることや、この部の網膜、またはこの部と関係した硝子体の解剖学的あるいは生化学的活性の特性に由来するかも知れない。

2. FP含有硝子体灌流液の影響

(1) ERG (O₁, O₂) への影響 (Fig. 21, 22)

律動様小波頂点潜時O₁およびO₂(変性率 $\Delta\%$:硝子体注入前の値を100としたときの注入後の値)の結果を、Fig. 21およびFig. 22に示した。解析は、A, B, C灌流液を用いて手術を行った場合の結果を、各2群間比較でおこなった(t検定)。また各群それぞれについて、手術前値に対する各時点(1, 3, 24時間)の結果の比較を行った(t検定)。O₁, O₂はBSS灌流により術後1時間から延長し、この延長は24時間後まで持続した(p<0.05)。BSSにFPを4 μ g/ml添加して灌流すると、BSS単独で灌流した場合に比べて、O₂は術後1時間から24時間まで有意(p<0.05)に延長を抑制した。O₁においても術後3時間から24時間まで有意に延長を抑制した。これは、FP添加による薬理学的効果であろうと考えた。BSSにFPを100 μ g/ml添加して灌流すると、BSS単独で灌流した場合と比べてO₂は術後1時間において、有意(p<0.05)に延長していた。しかし、O₁の1, 3, 24時間、O₂の術後3, 24時間では、BSS単独の場合と比べて有意差を認めなかった。したがって、BSSにFPを100 μ g/ml添加して灌流すると、BSSと同程度か、あるいはBSSよりも強く網膜を障害する可能性があるかと推測した。

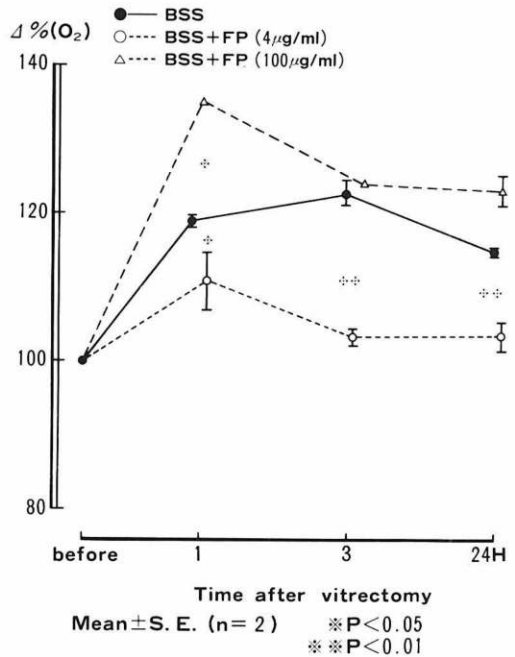
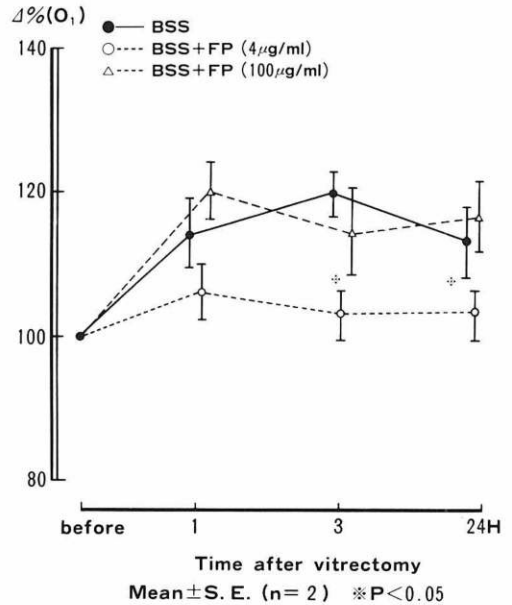


Fig. 21, 22 The effects of flurbiprofen added to the irrigation solution on the peak latency of the oscillatory potential in rabbit eyes.

(2) 網膜脈絡膜の形態学的研究

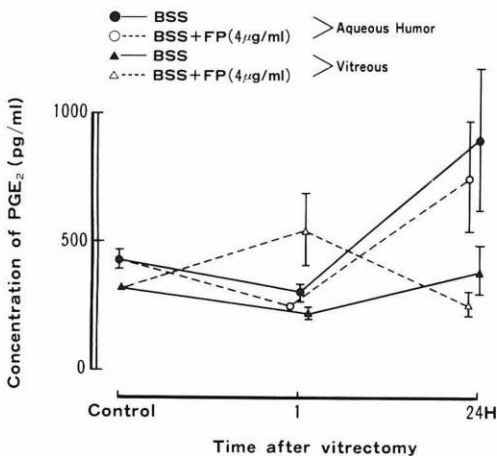
硝子体手術1時間では、A, B, C灌流液を用いた結

果を比較すると、いずれの場合でも網膜は全層にわたって軽度の細胞浮腫を認め、脈絡膜血管にも軽度の充血を認めたが、3者の間に明らかな形態学的差異は認められなかった。

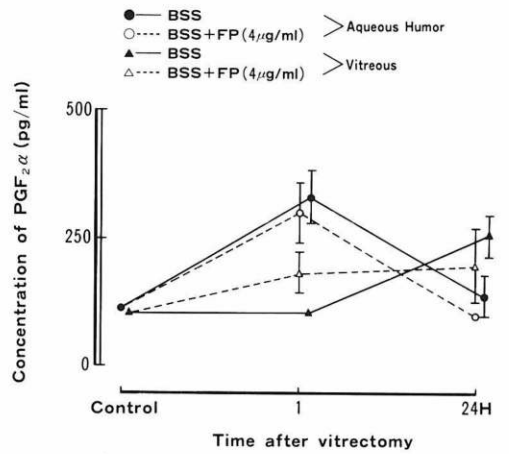
手術24時間後では、BSS単独の例(Fig. 14)はBSSにFP 4 μ g/mlを含有する例(Fig. 15)と比べて明らかに、網膜内層の空胞形成、網膜内の細胞内浮腫、脈絡膜血管の充血の軽減を認めた。BSSにFP 4 μ g/mlを含有する例を電顕的に観察すると、網膜内層の空胞形成はMüller細胞間の拡大として確認でき、神経線維や神経節細胞には特に障害を認めなかった(Fig. 17)。また内顆粒層でも、特に異常を認めなかった(Fig. 18)。色素上皮細胞間のtight junctionは、良く保たれていたが細胞間の一部開大し、その部に蛋白質と思われるhigh densityな物質を認めた。BSSにFP 100 μ g/mlを含有する例(Fig. 16)では、BSS単独の例と比べて脈絡膜血管の充血の軽減が認められた。しかし、Müller細胞間の拡大や神経節細胞、内顆粒層の細胞内空胞形成が著明であった。

(3) 房水・硝子体液中のPGs・蛋白量の測定結果(Fig. 23~25)

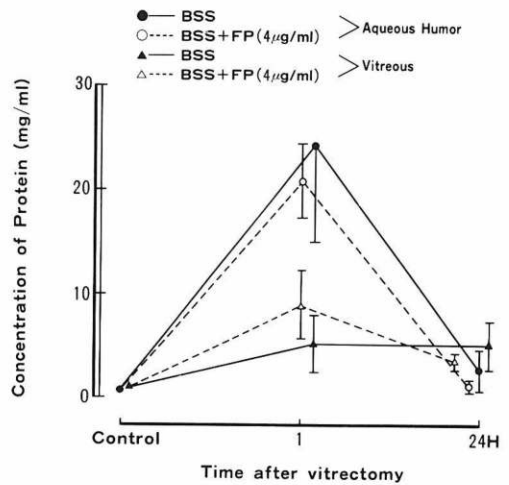
PGE₂, PGF₂ α , 蛋白量は、術後1, 24時間の房水および術後24時間の硝子体液中において、BSSにFP 4 μ g/mlを含有した群の方がBSS単独の群と比べて抑制される傾向を示したが有意差は認められなかった。



Mean \pm S. E.
Control (Aqueous Humor, n=29/Vitreous, n=6)
1H, 24H (n=3~5)



Mean \pm S. E.
Control (Aqueous Humor, n=30/Vitreous, n=6)
1H, 24H (n=3~5)



Mean \pm S. E.
Control (Aqueous Humor, n=30/Vitreous, n=6)
1H, 24H (n=3~5)

Fig. 23~25 The effects of flurbiprofen added to the irrigation solution on the PGE₂, PGF₂ α and protein concentrations in the aqueous and vitreous humore.

IV 考 按

増殖性糖尿病性網膜症に水晶体・硝子体切除術を行うと、術後にcyclitic membrane形成や前房・硝子体腔へのフィブリン析出が生じることが少なくない⁷⁾⁸⁾。この原因は、血液眼関門にすでに強い障害をも

つ眼に、さらに強い手術侵襲が加わったことにより血液眼関門に著しい障害が生じたためと考えられている³⁾。前房へのフィブリン析出や cyclitic membrane 形成は、緑内障や視力障害の原因となることがある。また、網膜面上に析出したフィブリンは、術後に増殖組織再生をうながし、牽引性網膜剥離の原因となることがある。したがって、臨床面からみても硝子体切除後に生じる血液眼関門の障害を抑制することは重要なことと考えている。

また、硝子体手術の急速な進歩に伴い、空気灌流下における網膜復位術や眼内光凝固、眼内冷凍凝固、lentectomy などの手技が多用される傾向が顕著になってきている。このような手技をより安全に行うためには、術中に生じる縮瞳反応を予防することが大切である。特に lentectomy を行う症例では、強い縮瞳が生じるため、希釈アドレナリンの前房内注入、灌流液へのアドレナリン添加、フェニレフリン点眼を行って散瞳をはかられている。しかし、これらの処置には角膜内皮細胞の障害を生じさせるという問題がある⁹⁾。

ステロイドには、抗炎症作用があり、また硝子体腔に注入することにより fibroblast の増殖を抑制させること¹⁰⁾¹¹⁾が知られている。しかし、術中の縮瞳予防効果や血液眼関門障害への予防効果は、抗 PGs 剤ほど期待できないと考える。また、ステロイドはその副作用である感染症の増悪のため使用が制限される。抗 PGs 点眼剤には、前述したように問題点があり、抗 PGs 剤の内服¹²⁾や静注¹³⁾では眼内移行に問題があるため、常用量では十分な効果が望めない。また、点眼、内服、静注いずれの方法でも長時間に及ぶ硝子体切除術で常に一定の濃度で眼内組織に作用させることは不可能である。このような点から、抗 PGs 剤を灌流液に加えて使用する方法は理論的には現時点で最も効果が期待出来る投与方法と考えている。

In vitro の実験では、flurbiprofen の50%PGs 合成阻害濃度は0.64 μ M (0.16 μ g/ml) で indomethacin の10倍、aspirin の2,280倍低い濃度である。また90%PGs 合成阻害濃度は、約10 μ M (2.5 μ g/ml) である¹⁴⁾。家兎眼に、前房穿刺前3, 2, 1, 0.5時間に0.1%flurbiprofen を点眼すると、前房水中の flurbiprofen 濃度は3.46 \pm 0.32 μ g/ml となり¹⁵⁾、この点眼前処置により房水中の蛋白質の約70%の抑制率を示したと報告されている。従って、灌流液に4 μ g/ml の flurbiprofen 濃度を含有させて用いれば、おそらく眼組織に障害なく効果を示すものと我々は推測した。

実際に、BSS に4 μ g/ml の flurbiprofen を添加させた場合、BSS 単独の場合よりも ERG の O₁, O₂ 頂点潜時の延長を有意に抑制することが明らかとなった。また、BSS 単独の場合より網膜の浮腫や脈絡膜血管の充血を軽減させ、前房、硝子体中の PGE₂, PGF₂ α , 蛋白量を抑制することも明らかとなった。この作用機序として、FP のもつ PGs 合成阻害作用や生体膜安定化作用、ATPase 活性促進作用が関与したものと考えた¹⁴⁾。特に起炎酵素を含有していると考えられるライソゾームの膜安定化作用は重要であり、FP 濃度が4 μ g/ml (16 μ M) ではライソゾームからの acid phosphatase の遊離を抑制したものと推測した¹⁴⁾。また FP の持つ PGs 合成阻害作用は強力であり、その効力は indomethacin に比較して、in vitro で12.5倍と報告されている¹⁷⁾。

FP の内服剤は解熱鎮痛剤として臨床使用されているが、今だ眼副作用の報告はなく、また FP を点眼しても、眼組織に蓄積作用を示さないことが報告²⁾されている。したがって、FP の網膜毒性で最も問題となるのは、大量に高濃度の FP を使用した場合の急性毒性であると考えられる。今回の実験から、FP 水溶液を硝子体腔に注入した場合、硝子体濃度が210 μ g/ml では50%、320 μ g/ml では100%網膜変性が生じることが明らかとなった。網膜の障害は、視細胞特に錐体細胞、水平細胞、神経節細胞にまず認められ、さらに高濃度の FP では、網膜の各細胞が著しく障害され、網膜変性が生じていた。

FP を灌流液に添加させた場合、同一濃度で長時間作用することになるため、FP を硝子体腔に1回注入した場合より、当然網膜毒性は強まると推測できる。実際、FP を硝子体腔に注入した場合、硝子体濃度が110 μ g/ml では網膜障害は認められなかったが、BSS に FP を100 μ g/ml 添加して用いると BSS 単独の場合と比べて、O₁, O₂ 頂点潜時を一過性に延長させる傾向が認められた。BSS に FP を100 μ g/ml 添加して用いると、網膜内層の細胞質内に空胞形成を認めた。この形態学的所見は、FP を硝子体腔に注入した場合の、FP 濃度160 μ g/ml に類似するものであり、したがって一過性的変化と考えている。FP による網膜毒性の原因の一つとして、高濃度の FP がライソゾームからの acid phosphatase の遊離を促進させた可能性が考えられる。舛本・増田は、ラット肝を用いた in vitro の実験で、1,000 μ M (244 μ g/ml) 濃度の FP はライソゾームからの acid phosphatase の遊離を促進させた

と報告¹⁴⁾している。したがって、高濃度のFPを用いると、逆に眼内の炎症を強めてしまうことになる。

臨床的に0.1%FP点眼がlentectomy以外の硝子体手術時の散瞳保持効果があり、特にfluid-gas exchangeを行った症例でも有意に効果を認めている¹⁸⁾。灌流液にFPを添加させて使用する場合には、手術早期には虹彩・毛様体組織に十分な濃度が達しないと我々は推測している。したがって、FP添加した灌流液の使用に際しては、術前からのFP点眼との併用が、より効果を示すものと考えている。最近、眼内レンズ挿入後に起こるフィブリン析出が問題となってきている¹⁹⁾。FP含有灌流液は、計画的囊外摘出術の際に用いれば、術中の縮瞳予防、術後炎症の抑制にも有効であると考えている。

今回の実験は、臨床例での硝子体手術と異なり灌流量・灌流時間が短い事、また家兎眼と人眼との形態学的差異も考慮しなければならない。この点については、さらに猿眼を用いて、より臨床に近い条件下にFP含有灌流液の網膜²⁰⁾、毛様体など²¹⁾に及ぼす影響を検討している。

なお薬剤の提供を受けた科研製薬株式会社およびPGs測定を行った同社研究所の方々に深く感謝します。

Legend of Figures

The scale of each figure indicates one micron.

Fig. 1 This photo shows the retina one day after the 0.3ml vehicle injection. There was no histological damage that can be seen. (Toluidine blue. $\times 100$)

Fig. 2 This photo shows the retina one day after the injection of 0.3ml of a solution containing 225 μg of flurbiprofen (vitreous concentration: 160 $\mu\text{g}/\text{ml}$). The vacuoles in the nerve fiber layer and in the cells of inner cell layer are observable microscopically. (Toluidine blue. $\times 100$)

Fig. 3 This shows the retina one day after the injection of 0.3ml of a solution containing 300 μg of flurbiprofen (vitreous concentration: 210 $\mu\text{g}/\text{ml}$).

The vacuoles of the nerve fiber, horizontal cells and outer segment of cone cells can be observed. (Toluidine blue. $\times 100$)

Fig. 4 This shows the retina one day after the injection of 0.3ml of a solution containing 500 μg of flurbiprofen (vitreous concentration: 320 $\mu\text{g}/\text{ml}$).

Degeneration of some cone and rod cells can be seen. (Toluidine blue. $\times 100$)

Fig. 5 This shows the retina seven days after the injection of 0.3ml of a solution containing 300 μg of flurbiprofen.

Degeneration of some photoreceptor cells can be seen. (Toluidine blue. $\times 100$)

Fig. 6 This shows the retina one day after the injection of 0.3ml of a solution containing 600 μg of flurbiprofen (vitreous concentration: 430 $\mu\text{g}/\text{ml}$). Inflammatory cells can be seen in the vitreous and all retinal cells show marked degeneration. (Toluidine blue. $\times 100$)

Fig. 7 This shows the retina seven days after the injection of 0.3ml of a solution containing 600 μg of flurbiprofen. Almost all of the retinal cells have disappeared and a thin retina can be seen. (Toluidine blue. $\times 100$)

Fig. 8~10 These micrographs show the retina one day after the injection of a solution containing 300 μg of flurbiprofen. Degeneration of the nerve fiber (**Fig. 8**), horizontal cells (**Fig. 9, ***) and the outer segments of the cone cells (**Fig. 10, ***) can be seen. (Fig. 8: $\times 2,000$) (Fig. 9: $\times 1,900$) (Fig. 10: $\times 2,400$)

Fig. 11~13 These micrographs show the retina one day after the injection of a solution containing 500 μg of flurbiprofen. Many membranous bodies (**Fig. 11, ***) can be seen in the outer cell layer. Outer and inner segments of the photoreceptor cells shows marked degeneration (**Fig. 12**) Many lamellar structures are present within the cytoplasm of the retinal pigment epithelial (RPE) cells (**Fig. 13**). (Fig.11: $\times 10,300$) (Fig. 12: $\times 3,200$) (Fig. 13: $\times 9,800$)

Fig. 14 Photo shows the retina one day after vitrectomy using BSS without flurbiprofen. The degree of intracellular in the retina, intracellular edema in the inner retina and hypermia of the choroidal vessels can easily be observed. (Toluidine blue. $\times 100$)

Fig. 15 Photo shows the retina one day after vitrectomy using BSS containing 4 $\mu\text{g}/\text{ml}$ of flurbiprofen. Histological changes of the vitrectomized eye using BSS without flurbiprofen (**Fig. 14**) are more prominent than those using BSS with 4 $\mu\text{g}/\text{ml}$ of flurbiprofen. (Toluidine blue. $\times 100$)

Fig. 16 Photo shows the retina one day after

vitrectomy using BSS containing 100 μ g/ml of flurbiprofen.

Hyperemia of choroidal vessels of the vitrectomized eye using BSS without flurbiprofen (Fig. 14) is more prominent than using with 100 μ g/ml of flurbiprofen. Otherwise, intracellular vacuole of ganglion cells and cells in the inner cell layer can be seen. (Toluidine blue. $\times 100$)

Fig. 17~19 Micrographs show the retina one day after vitrectomy using BSS with 4 μ g/ml of flurbiprofen. The vacuoles in the inner retina (Fig. 15) is observable electron-microscopically as an enlargement of intercellular space (**Fig. 17, ***) between Müller cells.

However there are no high density materials are observable in the intercellular edema between Müller cells.

There was no histological damage that can be seen in the nerve fiber, ganglion cells (Fig. 17) or cells in inner cell layer (**Fig. 18**). There is no breakdown of the tight junction between RPE cells. However high density materials (*) that are thought to be protein can be seen in enlarged spaces between RPE cells and enlarged basal infoldings (**Fig. 19**). (Fig. 17: $\times 3,500$) (Fig. 18: $\times 3,800$) (Fig. 19: $\times 5,600$)

文 献

- 1) 島田宏之: 硝子体手術に関する基礎的研究. その3. 猿眼血液眼関門の障害と prostaglandins の関与に関する電子顕微鏡的研究. 日眼 86: 1667—1682, 1982.
- 2) 石井幸久, 坂井康雄, 増田 清, 松村 譲, 増田寛次郎, 高瀬正弥: 非ステロイド性抗炎症例. Flurbiprofen 点眼液の基礎的研究. 眼臨 75: 1298—1302, 1981.
- 3) 玉田玲子, 切道 彰, 佐藤 勝, 西川憲清, 田野保雄: 糖尿病性牽引性網膜剝離に対する硝子体手術後のフィブリン析出. 臨眼 39: 661—665, 1985.
- 4) **Peyman GA, May DR, Ericson ES, Apple D:** Intraocular injection of gentamicin. Toxic effects and clearance. Arch Ophthalmol 92: 42—47, 1974.
- 5) **Gary WA, Rexler T, Machmer R:** An improved method for practice vitrectomy. Arch Ophthalmol 96: 521—528, 1978.
- 6) **Collins WP, Hennam JF:** The measurement of local hormone and metabolites. Recommended method. Mol Asp Med 1: 107—128, 1976.
- 7) **Sebestyen JG:** Fibrinoid syndrome. Ann Ophthalmol 14: 853—856, 1982.
- 8) **Sinclair SH, Aaberg TM, Meredith TA:** A pars plana filtering procedure combined with lensectomy and vitrectomy for neovascular glaucoma. Am J Ophthalmol 93: 185—191, 1982.
- 9) **Edelhauser HF, Hyndiuk RA, Zeeb A, Schultz RO:** Corneal edema and intraocular use of epinephrine. Am J Ophthalmol 93: 327—333, 1982.
- 10) **Tano Y, Sugita G, Abrans G, Machemer R:** Inhibition of intraocular proliferations with intravitreal corticosteroids. Am J Ophthalmol 89: 131—136, 1980.
- 11) **Chandler DB, Rozakis G, Juan E, Machemer R:** The effects of triamcinolone acetate on a refined experimental model of proliferative vitreoretinopathy. Am J Ophthalmol 99: 686—690, 1985.
- 12) **Kass MA:** Systemic aspirin and indomethacin do not prevent the response of the monkey eye to trauma. Invest Ophthalmol 14: 604—606, 1975.
- 13) 平光忠久, 上村健太郎, 三浦嘉久, 今川 昂: アスピリン静注剤の血液房水柵破綻に対する抑制効果. あたらしい眼科 2: 128—130, 1985.
- 14) 舩本省三, 増田千春: 2-(2-Fluoro-4-biphenyl) propionic acid (Flurbiprofen) の抗炎症作用機序の検討. 日薬理誌 72: 753—762, 1976.
- 15) 増田寛次郎, 東野正男, 小西与志昭, 小嶋 博, 松村美佐子: 非ステロイド性抗炎症 Flurbiprofen 点眼後の家兎眼内移行. あたらしい眼科 2: 441—444, 1985.
- 16) 岡本 平, 松村 譲, 倉崎 茂, 石井幸久: 非ステロイド性抗炎症剤 Flurbiprofen 点眼液の基礎的研究. 眼紀 37: 180—185, 1986.
- 17) **Nozu K:** Flurbiprofen: Highly potent inhibitor of prostaglandin synthesis. Biochem Biophys Acta 529: 493—496, 1978.
- 18) 佐藤幸裕, 島田宏之, 松井瑞夫: 硝子体手術における Flurbiprofen 点眼液の散瞳維持効果について. 眼臨 81: 567—571, 1987.
- 19) 前久保美子, 三宅謙作: IOL 挿入後の Fibrin 反応. 第40回日本臨床眼科学会総会, (1986年11月, 東京) 19席.
- 20) **Shimada H, Kawamura A, Shingyouchi F, Koga S:** Effects of an antiprostaglandin agent added to the irrigation solution on the retinal edema in monkey eyes induced by pars

- plana vitrectomy. 7th International Congress of Eye Research, Nagoya, 1986, 9. 25-10. 1
- 21) **Shimada H, Kawamura A, Shingyouchi F, Koga S**: Effects of an antiprostaglandin agent added to the irrigation solution on the

edema of ciliary body in monkey eyes induced by pars plana vitrectomy. International Symposium in Prostaglandins and Related Compounds in Ophthalmology, Tokyo, 1986, 10. 2-4

(第89回日眼総会原著)
