

抗生剤および抗菌剤の眼内移行動態に関する実験的研究

II. 抗生剤および抗菌剤の点眼法に関する検討 (図5, 表6)

富 井 隆 夫 (金沢医科大学眼科学教室)

Studies on the Maintenance of Antimicrobial Agents in
Aqueous Humor Following Topical Administration

Takao Tomii

Department of Ophthalmology, Kanazawa Medical University

要 約

抗生剤および抗菌剤を種々の点眼法で局所投与し、房水内移行濃度を指標として薬剤の眼内移行動態を検討した。使用した薬剤は1% Disodium sulbenicillin (SBPC), 0.3% Ofloxacin (OFLX), 0.3% Sisomicin sulfate (SISO) の3種の点眼液でそれぞれ、1) 1滴 (40 μ l) 単独点眼群, 2) 5分毎3回集中点眼群, 3) 5分毎5回集中点眼群, 4) 1滴1時間毎連続点眼群, 5) 5分毎5回1時間毎連続点眼群の5種類の点眼方法を用いた。実験動物は成熟白色家兎を使用し、高速液体クロマトグラフィー法で房水内濃度を測定した。各薬剤とも集中点眼群は1滴点眼群に比し高い房水内移行を示したが、最も良好な房水内移行を示した点眼法は5) の5分毎5回1時間毎連続点眼群であった。薬剤別ではSBPC<SISO<OFLXの順で房水内移行は良好で、OFLXは1滴点眼のみでも投与後30分時点で $0.71 \pm 0.38 \mu\text{g/ml}$ の移行濃度を認めた (日眼 92: 850—856, 1988)

キーワード: 点眼法, 抗生剤, 家兎眼, 房水内移行, 高速液体クロマトグラフィー法

Abstract

Aqueous humor levels of topically applied antimicrobial agents were determined following several dosage schedules in rabbit eyes. The agents consisted of 1% Disodium sulbenicillin (SBPC) solution, pH 6.7 MW 485.42, 0.3% Ofloxacin (OFLX) solution, pH 7.16 MW 361.37, and 0.3% Sisomicin sulfate (SISO) solution, pH 7.0 MW 692.71, were administered respectively to albino rabbit (2.0-2.5kg) eyes on the following schedules: a single instillation, one drop every 5min. for 10min., one drop every 5min. for 20min., one drop hourly for 8h., one drop every 5min. for 20min. hourly for 8 hours. The drop size was approximately 40 μ l. Aqueous humor samples were obtained for intervals up to 8 hours and examined by high performance liquid chromatography. Doses consisting of one drop every 5min. for 10 or 20min. produced higher levels in the aqueous humor than regimens using single instillations. Extended dose consisting of one drop hourly were observed to maintain low drug concentration levels in the aqueous humor up to 8 hours. However, one drop every 5min. for 20min. hourly for 8 hours produced remarkably high concentration in the aqueous humor. OFLX produced the highest penetration in the aqueous humor for a longer period than the other drugs. (Acta Soc Ophthalmol Jpn 92: 850—856, 1988)

別刷講求先: 920-02 石川県河北郡内灘町大学1-1 金沢医科大学眼科学教室 富井 隆夫
(昭和63年1月25日受付)

Reprint requests to: Takao Tomii, M.D. Dept. of Ophthalmol., Kanazawa Medical Univ.
1-1 Daigaku, Uchinada-machi, Kahoku-gun, Ishikawa 920-02, Japan

(Accepted January 25, 1988)

Key words: Topical administration, Antimicrobial agents, Rabbit eyes, Aqueous humor concentrations, High performance liquid chromatography

I 緒 言

外眼部感染症においてまず第一に挙げられる治療法は、抗生剤や抗菌剤の点眼療法であろう。一般的には一日数回の点眼で治療効果が期待できるが、症例によっては投与薬剤の眼内濃度を高め、これを維持する目的で一分毎、或いは5分毎回数集中点眼を行う方法、さらには一時間毎連続点眼法などが考案され臨床の場で使用されている¹⁾²⁾。一方、点眼された薬剤の眼内での移行動態は、薬剤自体の分子量や脂溶性、或いは溶液の濃度、浸透圧、pH などによって左右されることが知られている^{3)~5)}。これらの問題に対しては、多くの先人により詳細な検討がなされてきたが^{6)~8)}、新薬の開発はめざましく、常に新しい検討がなされてよい課題であると考え、今回、家兎眼房水内への薬剤移行濃度を指標として、現在の点眼療法において主流を占めると考えられる3種の抗生剤、および抗菌剤の種々の点眼方法による眼内への薬剤の移行動態を検討したので以下に報告する。

II 実験材料および薬剤投与方法

実験に用いた薬剤は1%disodium sulbenicillin (以下SBPCと略)、0.3%ofloxacin(以下OFLXと略)および0.3%sisomicin sulfate (以下SISOと略)の3種である。表1にはそれぞれの薬剤および溶液の性状を示した。実験動物は成熟白色家兎(2.0~2.5kg)を用いた。

上記の3種の点眼剤一滴40 μ lを1回点眼(単独投与群)、5分毎3回および5分毎5回点眼(集中点眼群)した2群につき点眼終了後5、15、30、60、120、180、240、360、480分の各時点で房水を採取した。これとは別に、1滴点眼を1時間毎8時間まで繰り返し点眼した群、5分毎5回の集中点眼を1時間毎8時間まで繰り返した群(連続点眼群)につき点眼開始時点よりそ

れぞれ2、3、4、6、8時間の5時点で房水を採取した。

房水の採取は0.4%塩酸オキシプロカインを点眼後、27ゲージ針を12時の輪部より前房内に刺し吸引した。全ての検体は一家兎、一眼一時点で採取したもので、一時点で4~8眼を使用した。

III 薬剤濃度測定方法

房水内移行濃度の測定方法は3種の薬剤とも高速液体クロマトグラフィー法(以下HPLC法と略)を用いた。使用機器は島津LC-5Aで、カラムはOFLXの測定にはzorbaxC-8を、SBPCとSISOではshimpack-CLC-ODSを使用した。検体の前処理、および測定方法はSISOとOFLXは既報に準じた⁹⁾¹⁰⁾、SBPCについては検体200 μ lを同量の1/15M PBS pH7.0で2倍希釈した後、0.40 μ mのミリポアフィルターで濾過し、直接HPLCに100 μ l注入した。移動相は0.1M硫酸アンモニウムとアセトニトリルを94:4の割合で用い、UV230nmでSBPCのピークを検出した。SBPCは光学異性体を持つためクロマトグラム上2つのピークが検出されるが、retention timeの遅いメジャーピークについて面積百分率法で濃度換算を行った。最小測定可能濃度は0.2 μ g/mlであった。

IV 結 果

1滴単独点眼群:SBPCは何れの時点でも房水内移行はみられなかった。OFLXは点眼後15分で房水内移行を認め、30分時点で0.71 $\pm$ 0.38 μ g/mlのピークを示した後、120分時点まで房水内移行をみた。SISOでは30、60、120分時点で0.1~0.2 μ g/ml程度の房水内移行をみた(図1、表2)。

5分毎3回点眼群:SBPCは点眼終了後60分と120分時点で0.2 μ g/ml程度の房水内移行を示した。OFLXは点眼後5分時点から240分時点まで薬剤の検出は可能で、そのピーク値は、60分時点の2.38 $\pm$ 1.00 μ g/mlで、15分~120分まで1.0 μ g/ml以上の移行濃度を示した。SISOは15分~180分の間で房水内移行をみたが、60分と120分の2時点で0.7 μ g/mlの房水濃度を認めた(図2、表3)。

5分毎5回点眼群:3群とも房水内への移行パターンは5分毎3回点眼群と同様であったが、SBPCは

表1 点眼液の性状

	分子量	溶液のpH	浸透圧比
SBPC	458.42	6.7	約1.0
OFLX	361.37	7.16	約1.0
SISO	692.71	7.0	約1.0

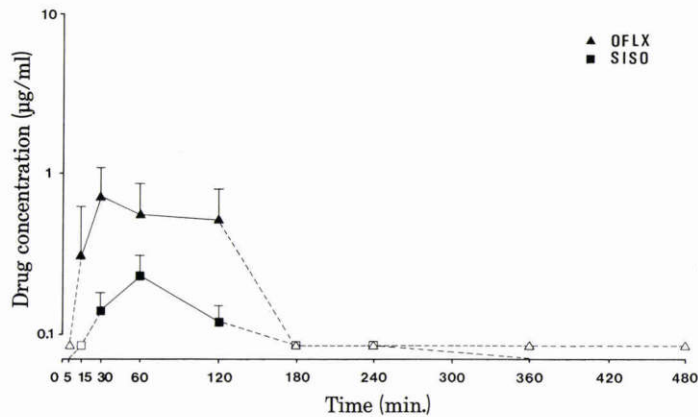


図1 1滴単独点眼群の房水内移行濃度
□, △は trace

表2 1滴単独点眼群の房水内移行濃度

	5min.	15	30	60	120	180	240	360	480
OFLX	trace	0.31±0.31	0.71±0.38	0.55±0.35	0.51±0.30	trace	trace	trace	trace
SISO	(-)	trace	0.14±0.04	0.23±0.08	0.12±0.03	trace	trace	(-)	(-)

(μg/ml) n=4~8

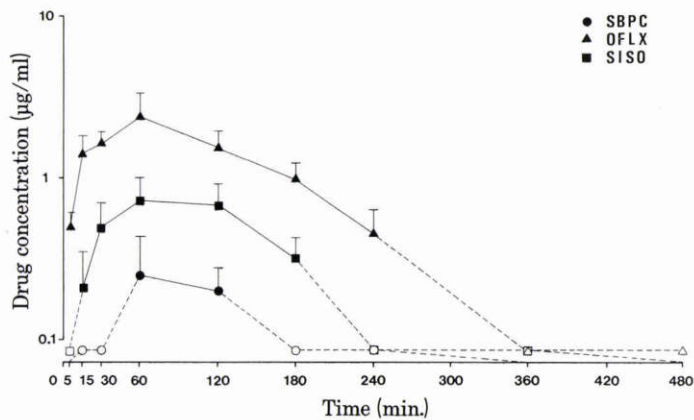


図2 5分毎3回集中点眼群の房水内移行濃度
○, □, △は trace

表3 5分毎3回集中点眼群の房水内移行濃度

	5min.	15	30	60	120	180	240	360	480
SBPC	(-)	trace	trace	0.25±0.19	0.20±0.08	trace	trace	(-)	(-)
OFLX	0.50±0.11	1.42±0.41	1.62±0.31	2.38±1.00	1.55±0.41	0.97±0.25	0.46±0.18	trace	trace
SISO	trace	0.21±0.14	0.49±0.22	0.72±0.27	0.67±0.25	0.32±0.11	trace	trace	(-)

(μg/ml) n=4~7

表 4 5 分毎 5 回集中点眼群の房水内移行濃度

	5min.	15	30	60	120	180	240	360	480
SBPC	trace	trace	0.23 ± 0.05	0.50 ± 0.08	0.28 ± 0.10	trace	trace	(-)	(-)
OFLX	0.89 ± 0.21	1.79 ± 0.37	2.63 ± 0.96	3.56 ± 1.53	2.42 ± 1.18	1.22 ± 0.49	0.61 ± 0.21	0.58 ± 0.04	trace
SISO	0.30 ± 0.08	0.55 ± 0.26	0.78 ± 0.30	0.98 ± 0.25	0.90 ± 0.36	0.51 ± 0.17	0.28 ± 0.10	trace	trace

($\mu\text{g/ml}$) n=4~8

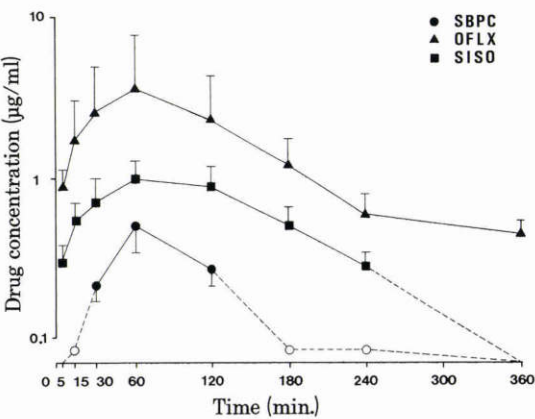


図 3 5 分毎 5 回集中点眼群の房水内移行濃度
○は trace

表 5 1 滴 1 時間毎連続点眼群の房水内移行濃度

	2hr.	3	4	6	8
SBPC	trace	trace	trace	0.23 ± 0.05	0.25 ± 0.06
OFLX	0.54 ± 0.17	0.89 ± 0.34	1.24 ± 0.58	1.08 ± 0.20	1.40 ± 0.56
SISO	0.20 ± 0.10	0.19 ± 0.07	0.30 ± 0.12	0.27 ± 0.15	0.35 ± 0.18

($\mu\text{g/ml}$) n=4~5

ピーク時点で $0.50 \pm 0.08 \mu\text{g/ml}$ と他の 2 剤に比し低濃度で、濃度の維持も30~120分間であったのに対し、OFLX は点眼終了後360分まで $0.5 \mu\text{g/ml}$ 以上の移行濃度を維持し、ピーク時点では $3.56 \pm 1.53 \mu\text{g/ml}$ であった。SISO は各時点で SBPC と OFLX の中間の値を示したが、60分と120分の間で移行濃度に差はなく、 $0.9 \mu\text{g/ml}$ 程度の近似した値であった(図3、表4)。

1 滴 1 時間毎連続点眼群：SBPC は6時間目と8時間目に $0.2 \mu\text{g/ml}$ の移行を示した。OFLX では3時間目より8時間目まで $1.0 \mu\text{g/ml}$ 前後のはぼ一定の房水内移行を示した。SISO は2時間~8時間までの4時

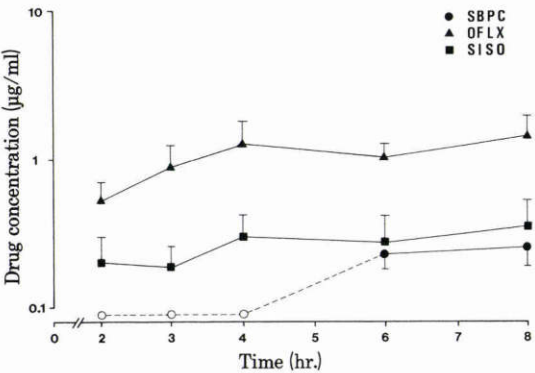


図 4 1 滴 1 時間毎連続点眼群の房水内移行濃度
○は trace

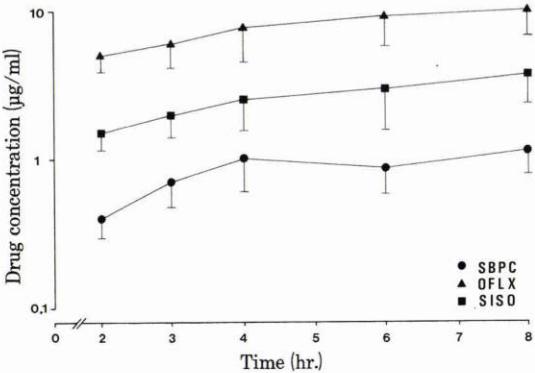


図 5 5 分毎 5 回 1 時間毎連続点眼群の房水内移行濃度

点で $0.2 \mu\text{g/ml}$ 前後の近似した値を示した(図4、表5)。

5 分毎 5 回 1 時間毎連続点眼群：3 剤とも高い房水内移行を示した。SBPC は4時間目に $1.03 \pm 0.46 \mu\text{g/ml}$ の移行をみた後、 $1.0 \mu\text{g/ml}$ 前後の濃度を8時間まで維持した。OFLX と SISO は8時間まで漸次移行濃度の上昇を示し、OFLX では $5.19 \pm 0.52 \mu\text{g/ml}$ から $9.93 \pm 2.01 \mu\text{g/ml}$ 、SISO では $1.50 \pm 0.52 \mu\text{g/ml}$ から $3.70 \pm 1.72 \mu\text{g/ml}$ の房水内移行の増加をみた(図5、

表6 5分毎5回1時間毎連続点眼群の
房水内移行濃度

	2hr.	3	4	6	8
SBPC	0.40± 0.14	0.73± 0.33	1.03± 0.46	0.85± 0.26	1.15± 0.35
OFLX	5.19± 1.28	6.25± 1.93	7.99± 2.28	9.08± 2.44	9.93± 2.01
SISO	1.50± 0.52	1.94± 0.74	2.56± 1.00	3.04± 1.46	3.70± 1.72

(μg/ml)

n=4~5

表6).

V 考 按

細菌性眼感染症に対する薬物療法は、感染症が遷延する前に効果的な抗生剤投与を開始する事が理想であるが、日常臨床の場では必ずしもこれが行えるわけではない。抗生剤の局所投与が何らかの形で行われることは必須であるが、その目的とするところは可能な限り有効な濃度を、眼組織内に維持させることである。感染眼では正常眼よりも血液房水柵の破綻のため、眼内への薬物濃度が高まることは既に多くの報告で実証されている¹¹⁾¹²⁾が、この他にも薬剤の性状、投与方法なども眼内移行の良否を左右する因子となる。集中心眼法や連続点眼法なども、眼内への薬剤の有効濃度の維持を目的として考案された局所投与方法の一手段である。

今回の一連の実験の目的は、点眼剤として現在主流を占めている抗生剤、および抗菌剤を種々の方法で投与し、それぞれに特有な薬剤の眼内移行動態を把握することで、この結果をより効果的な臨床成績を得るための一つの指針とすることにある。

房水内移行濃度を指標とした今回の検討では、SBPCはその溶液濃度が1%と他の2剤より高濃度ではあるが、1滴(40μl)点眼では房水中には検出されなかった。0.3%OFLXは点眼後15分で房水内より検出され30分でピークに達した。0.3%SISOでは60分でピークを認め、その移行濃度はOFLXの約3分の1であったが、120分でも移行を確認した。1滴単独点眼ではSBPCは他の2剤に比べ房水内移行は不良であるのに対し、OFLXの房水内移行は良好で、早い時点で眼内に達すること、SISOはOFLXに比し房水内への移行が遅れることが確認された。

点眼剤の眼内移行の良否を左右する因子のうち、薬剤に関しては脂溶性、分子量、蛋白結合率などが挙げ

られるが、なかでも重要な因子は薬剤の脂溶性である³⁾⁴⁾。今回検討した3剤のうち、OFLXは最も脂溶性が良く、SBPCを含むペニシリン系薬剤は一般に脂溶性の低いことが知られている¹³⁾。3剤の分子量はOFLXの361.37からSISOの691.71まで差はあるものの、溶液のpHや浸透圧はほぼ同様で、1%濃度のSBPCが0.3%のOFLXとSISOより房水内移行が不良であったことは、薬剤の有する本来の性状に起因するものと考えられる。

集中心眼療法では今回検討の3剤とも1滴単独点眼群より房水内移行は良好であった。総投与量の多い5分毎5回点眼が、5分毎3回点眼より各時点で高い移行濃度を示した。3剤ともピーク値は点眼後60分であったが、OFLXでは他の2剤に比べ早期に高い房水内移行を認め、長時間房水内に残留した。SISOは60分値と120分値が近似した結果で、高い濃度の維持時間が延長する傾向を示した。分子量の小さな薬物は大きな薬物に比し眼内移行は良好で、その境界は分子量500前後にあると指摘されている³⁾。OFLXとSISOの房水内への移行動態の若干の差は、この分子量の差も一因かと考える。連続点眼群のうち1時間毎1回点眼群の房水内移行は、集中心眼に比べ低く、3剤とも各時点でそれほど差のない結果であった。著者らは、前報で0.3%OFLX点眼液の結膜嚢内残留濃度について、1回1滴点眼と2滴点眼の検討を報告したが¹⁴⁾、いずれの場合も時間の経過と共に結膜嚢内残留濃度は急速に低下し、約1時間で測定限界迄に減少した。永田らは0.3%tobramycin点眼液を用いて、12名16眼の健康人を対象に1滴点眼でのヒト結膜嚢内残留濃度を報告したが、その結果も同様であった¹⁵⁾。今回の検討で1時間毎1回点眼群が経時的に明らかな房水内移行を示さなかった理由の一つは、結膜嚢内残留濃度の低下が一因であると推測している。

西塚らは家兎の実験的緑膿菌性角膜炎に対し、0.3% gentamicin sulfate (以下GMと略)と1%SBPCをそれぞれ5分毎6回朝夕2回点眼と、1時間毎1日12回点眼の2群について治療効果を比較した結果、GMについては5分毎6回朝夕点眼群が、SBPCについては1時間毎1日12回点眼がすぐれた効果が得られたと報告している。その理由として第一にGMとSBPCの抗菌作用の違いを指摘している¹⁶⁾。今回の著者の検討結果では、GMと同じ系統のSISOは集中心眼により房水内移行は増加し、持続も延長しているのに対し、脂溶性が低く組織親和性の劣るSBPCでは、集中心眼

の有効性が十分期待できる結果ではなかった。実際の炎症眼での治療には様々な因子が絡み単純に比較することは出来ないが、SBPCのような脂溶性の低い薬剤は眼内濃度を維持するためには、集中点眼よりむしろ投与間隔を短くし、頻回に投与する法が効果的であることは十分予測出来ることである。

連続点眼群のうち5分毎5回の集中点眼を1時間毎繰り返した実験群では、3剤ともその房水内移行は他の方法に比し最も良好であったが、4時間時点から8時間まで房水内移行の増加は顕著なものではなかった。GlasserらのGMを用いた頻回点眼での実験でも、1分毎5回点眼を毎時間繰り返した結果、2時間目から12時間までその角膜内濃度はほぼ一定の値であった¹⁷⁾。実際の臨床治療に際しては起炎菌に対する薬剤の抗菌活性や副作用、あるいは手技の煩雑さも考慮する必要がある。GlasserらはGMについては初期集中点眼で眼内濃度を高め、以後連続点眼する方法を提案している¹⁷⁾。

今回の検討結果は使用薬剤や投与方法により、房水内移行に大きな差が生ずることを立証したものと考ええる。この種の基礎実験にもとずき臨床の場で適切な治療を行うことが、より良い治療成績を挙げるための一つのポイントであろう。

本検討では薬剤の眼内移行濃度測定にHPLC法を用いた。従来主に用いられてきた生物学的測定法に比べると、試料の前処理や移動相の選択、クロマトグラム上での妨害ピークの除去など、濃度測定までの手技が若干煩雑なことが欠点と思われる。しかし、Rubinsteinらはcefotaximeの眼内移行の検討で、HPLC法を用いて、cefotaximeと代謝物であるdesacetyl cefotaximeを同時に測定した結果を報告している¹⁸⁾。HPLC法の利点の一つは、薬剤とその代謝物も同時に測定できることであり、試料採取後速やかに前処理を行うことで、抗菌活性に影響のある代謝物も含めて、再現性の高い結果を得ることが可能である。

著者はこれまでに複数の抗生剤を投与した際の眼内移行の同時測定、あるいは単独測定、その際の移行動態の変化等、生物学的測定法では困難と思われる検討をHPLC法を用いて報告して来た^{19)~23)}。局所投与法が化学療法の重要な位置を占める眼科領域においては、複数の薬剤を局所と全身から同時に投与するケースは日常臨床で一般的に行われ、動物実験の段階でも臨床に則した投与方法による実験データが要求されるものとする。代謝物を含めた薬剤自体の眼内での挙動

を把握できるHPLC法の応用は幅広く、眼科領域での抗生剤の移行動態の検討に際して、抗菌活性の検討と共に極めて有用な測定方法であると考ええるものである。

稿を終えるにあたり、ご校閲いただきました佐々木一之教授に深謝致します。

文 献

- 1) 大石正夫：眼科における抗生物質療法。日本の眼科 53: 455—466, 1982.
- 2) Starr MB: Prophylactic antibiotics for ophthalmic surgery. Surv Ophthalmol 27: 353—373, 1983.
- 3) Benson H: Permeability of the cornea to topically applied drugs. Arch Ophthalmol 94: 313—324, 1974.
- 4) 沢 充, 増田寛次郎：正常および前房穿刺処置家兔眼における抗生物質の眼内濃度。眼臨 74: 1331—1335, 1980.
- 5) Shell JW: Pharmacokinetics of topically applied ophthalmic drugs. Surv Ophthalmol 26: 207—218, 1982.
- 6) 小池和夫：点眼薬の眼内滞留に関する研究。日眼 61: 63—76, 1957.
- 7) 桐沢長徳：眼科薬剤治療に関する2～3の問題。日眼会誌 72: 18—32, 1966.
- 8) 大石正夫, 中枝武豊, 西塚憲次他：抗生剤の眼内移行に関する最近の知見。眼臨 68: 815—822, 1974.
- 9) 福田正道, 都築春美, 大山智子他：化学療法剤の眼組織内移行濃度測定法の検討。眼紀 37: 1158—1161, 1986.
- 10) 富井隆夫：抗生剤および抗菌剤の眼内移行動態に関する実験的研究I：ブレラベル法(HPLC)によるアミノグリコシド系抗生剤の眼組織内濃度測定法の検討。あたらしい眼科 5: 136—138, 1988.
- 11) 葉田野博, 萱場忠一郎, 斎藤武久他：眼科領域におけるCarbenicillinの基礎的および臨床的応用。臨眼 25: 364—372, 1971.
- 12) Kanski JJ, Young JH, Vogel R: Penetration of intravenously administered cefoxitin into the aqueous humor of inflamed human eyes. Am J Ophthalmol 94: 516—518, 1982.
- 13) 大石正夫：抗生剤の全身投与。眼科 Mook, No. 1, 眼科薬物療法, p6—22, 金原出版, 東京, 1979.
- 14) 福田正道, 富井隆夫, 都築春美他：局所投与された化学療法剤(CER, OFLX)の結膜嚢内濃度測定法の検討。あたらしい眼科 2: 1450—1453, 1985.
- 15) 永田裕二, 中村昌子, 三島恵一郎他：ドブラマイジン点眼液の基礎的臨床的検討。眼臨 72: 175—179, 1978.
- 16) 西塚憲次, 大石正夫, 本山まり子他：抗生剤の集中点眼療法に関する基礎的検討。Chemotherapy 29:

- 357, 1981.
- 17) **Glasser DB, Gardner S, Ellis JG, et al:** Loading doses and extended dosing intervals gentamicin therapy. *Am J Ophthalmol* 99: 329—332, 1985.
- 18) **Rubinstein E, Triester G, Avni I, et al:** The intravitreal penetration of cefotaxime in man following systemic and subconjunctival administrations. *Ophthalmology* 94: 30—34, 1987.
- 19) **福田正道, 佐々木一之, 富井隆夫:** 高速液体クロマトグラフィー (HPLC) 法によるセファロスポリン系抗生剤の眼内移行濃度測定. *眼紀* 34: 1239—1243, 1983.
- 20) **富井隆夫, 佐々木一之, 景 宇光他:** Cefmenoxime 点眼液のヒト房水内移行に関する検討. *眼紀* 34: 2161—2165, 1983.
- 21) **福田正道, 富井隆夫, 佐々木一之:** 同時投与した Aminoglycoside 系抗生剤および β -Lactam 系抗生剤の眼内移行について. *あたらしい眼科* 2: 393—395, 1985.
- 22) **富井隆夫, 福田正道, 高橋信夫他:** 同時投与した β -ラクタム系抗生剤 (T-1982, CMX) と Aminoglycoside 系抗生剤 (Micronomicin) の房水内移行濃度について. *Chemotherapy* 33: 385, 1985.
- 23) **富井隆夫, 福田正道, 佐々木一之:** Azthreonam (SQ26, 776) の人眼および家兎眼内移行の検討. *Chemothejrapy* 33(2-1): 139—142, 1985.
-