

結膜下注射した薬物の前眼部への移行に関する研究

山田 成明¹⁾, 開 繁義²⁾

1) 高岡市民病院眼科, 2) 富山医科薬科大学医学部眼科学教室

要 約

家兎眼に sodium fluorescein (FL), cefmenoxim hemihydrochloride (CMX), および chloramphenicol (CP) の混合液を種々の投与量, 投与方法で結膜下注射し, 涙液内, 房水内濃度を測定した. 涙液内濃度は指数関数的に減少し, 特に CP は急峻な減少を示した. テノン嚢内注射は涙液, 房水への移行に関しては結膜下注射と比較して有効ではなかった. 結膜に刺入孔のない経皮的結膜下注射は, 刺入孔のある通常の結膜下注射とほぼ同様な涙液内移行を示し, 刺入孔の有無にかかわらず容易に薬物は涙液に移行した. 角膜の表面にシアノアクリレートを塗布して薬物の経角膜的移行を遮断して結膜下注射を行ったところ, FL の房水内濃度は対照の 30% で, CP は 10% 以下であった. 結膜下注射後, FL の少なくと

も 70% が経角膜的に房水に移行し, CP はほとんどが経角膜的に房水に移行するものと思われた. 薬物の親水性, 疎水性の違いにより眼内への移行経路が異なるものと思われた. また, FL を 0.25% および 1% ヒアルロン酸ナトリウム溶液 (HA) に溶解した注射液を調製して結膜下注射したところ, 0.25% HA での FL は対照である生理食塩水の場合に比して, 硝子体の濃度が有意に高値となった. したがって, HA の濃度を選択することにより, 薬物の眼内への移行性を高めたり, 持続性を得る可能性が見出された. (日眼会誌 99: 262-270, 1995)

キーワード: 結膜下注射, 眼内移行, 家兎眼, フルオレセイン, クロラムフェニコール

Pharmacokinetics of Subconjunctivally Injected Drugs in the Anterior Segment of Rabbit Eyes

Nariaki Yamada¹⁾ and Shigeyoshi Hiraki²⁾

¹⁾Eye Clinic, Takaoka City Hospital

²⁾Department of Ophthalmology, Faculty of Medicine, Toyama Medical and Pharmaceutical University

Abstract

We injected 12.5, 25, 50 and 100 μ l portions of a combined solution of 2.5% sodium fluorescein (FL), 2.5% cefmenoxim hemihydrochloride (CMX), and 0.25% chloramphenicol (CP) subconjunctivally into rabbit eyes by various methods. Drug levels were monitored in the tears and aqueous humor and measured via high performance liquid chromatography. In the tear fluid, the concentrations of CP decreased more rapidly with time than FL and CMX. The drugs penetrated the rabbit's eyes better when injected subconjunctivally than when administered by sub-Tenon's injection. After subconjunctival injection through the eyelid, the drug concentration in the tears decreased with time in almost the same way as for injection through the conjunctival membrane. There was little difference between the presence and absence of a puncture hole in the conjunctiva. When the whole cornea was sealed with cyanoacrylate glue to block transcorneal absorp-

tion, the FL concentration in the aqueous humor was 30% of that in the control and the CP concentration was less than 10% of that in the control. About 70% of FL penetrating the eyes was derived from the transcorneal route but most of the CP was derived from the transcorneal route. FL in 1% or 0.25% sodium hyarulonate (HA) and saline was injected subconjunctivally, and the concentrations of FL in the cornea and vitreous humor were measured. FL in 0.25% HA penetrated rabbit eyes better than that in 1% HA. These findings suggest that by dissolving the drug in an adequate concentration of HA solution, better penetration of drugs into the eye can be obtained. (J Jpn Ophthalmol Soc 99: 262-270, 1995)

Key words: Subconjunctival injection, Intraocular penetration, Rabbit eyes, Sodium fluorescein, Chloramphenicol

別刷請求先: 933 富山県高岡市宝町 4-1 高岡市民病院眼科 山田 成明
(平成 6 年 2 月 10 日受付, 平成 6 年 10 月 7 日改訂受理)

Reprint requests to: Nariaki Yamada, M.D. Eye Clinic, Takaoka City Hospital, 4-1 Takaramachi, Takaoka-shi, Toyama-ken 933, Japan

(Received February 10, 1994 and accepted in revised form October 7, 1994)

I 緒 言

結膜下注射は、点眼とともに有用な眼科的局所投与方法の一つであるが、投与した薬物の眼内移行、特に房水内移行の経路に関しては、今もなお論議のあるところである¹⁾。注射部位から強膜、角膜輪部を透過する直接移行であるという説^{2)~4)}と、涙液を介する経角膜的移行であるとする説^{5)~8)}に大別される。家兎眼でhydrocortisoneを用いたWineら⁵⁾の実験、pilocarpineを用いたConradら⁸⁾の実験などにより、結膜下注射した薬物は、主として注射針の刺入孔を出て涙液に混ざり、経角膜的に房水内に移行するとする説が有力視されている。しかしながら、それらは単一の薬物についてのみ行った実験であり、性質の異なる薬物が同一の移行経路をたどるかどうかは明らかにされていない。また、結膜は生体内において、最も薄く、柔軟性のある粘膜であり⁹⁾、結膜は角膜に比べてbarrier性は低いとされており、刺入孔のみから薬物が漏出し、経角膜的に移行するという経路はすべての薬物に該当するかは疑問の余地がある。

今回著者は、結膜下注射した薬物の涙液への移行率、および房水内への移行経路、ならびに眼組織内移行性を知る目的で、性質の異なる薬物の混合液を用いて、家兎眼の結膜下に各薬物の同時投与を行い、投与方法、および投与量ごとに涙液内、房水内、および他の眼組織内の薬物濃度を測定し、それらの移行率を検討した。

以下涙液への移行、房水への移行の2つの実験系に分けて考察した。

A 涙液への移行

II 実験方法 (涙液)

1. 実験動物

動物は、すべて雄の日本白色家兎(体重2~3 kg) 124匹を用いた。

2. 使用薬剤

1) 3種薬剤の混合液の調製

Sodium fluorescein (フルオレサイト®、日本アルコン社(株)製、以下FL)

Cefmenoxim hemihydrochloride (ペストコール®、武田薬品工業(株)製、以下CMX)

Chloramphenicol (日本薬局方 [XII] 品、以下CP)

上記3種の薬剤を生理食塩水で溶解・希釈し、2.5% FL, 2.5% CMX, 0.25% CPの混合液を無菌的に調製した。混合液のpHは約6.9 (6.7~7.2)であった。FL 1gは水1.5 mlに溶解(40%)する。CMX 1gは水100 mlに溶解(約1%)し、通常溶解補助剤として無水炭酸ナトリウムを含有することによりCMXの溶解性が増す。CPは水に難溶性で、0.25%以上では沈澱を生じた。

3. 投与方法

注射はすべて顕微鏡下で行い、注射針は27 G針を用いた。原則として耳側上方の角膜輪部から約4 mmの位置に行った。点眼麻酔は角結膜障害を生ずる可能性があり、行わなかった。

4. 試料の採取方法

涙液の採取は角結膜プール法を用いた^{10)~12)}。角結膜プール法は、下眼瞼を保持し、結膜嚢内に一定量の生理食塩水を添加し、約30秒間軽く眼瞼を動かして液の混和を計った後、ガラス製のマイクロピペットでその液を採取する方法である。この方法は、ある時点における結膜嚢内に存在するすべての薬物を採取しようとするものである。注射後、30分毎に300分まで連続して同一眼の涙液を採取した。涙液の連続採取については、1回採取後、次のデータはそれから新たに涙液中に移行した薬物を採取することになるが、1回に採取される薬物量は少なく、一時点のみの採取との差は少ないものと思われる。房水の採取は、注射後の定めた時間の1回のみで、塩酸オキシプロカイン(ベノキシール®)で点眼麻酔後、角膜輪部に27 G針を刺入して採取した。組織中のFLについては、塩酸ケタミン(ケタラール®)+キシラジン塩酸塩(セラクター®)の家兎に筋注、屠殺後速やかに眼球を摘出し、各組織の試料重量を調べた後、一定倍量の生理食塩水でホモジナイズし、その上清液について濃度測定を行った。

5. 測定方法

試料中の薬物濃度測定は既報¹³⁾に準じた高速液体クロマトグラフ法で全成分を同時測定する条件で行った。

6. 実験内容

以下の投与方法の各群について、上記の薬物混合液を注射した後、試料を採取した。

1) 通常結膜下注射群

経結膜的に混合液を投与した。すなわち、結膜に注射針による刺入孔を有する群である。投与量は12.5, 25, 50, および100 μ lとした。

2) テノン嚢内注射群

結膜下注射と同様の部位からテノン嚢内に達するように刺入し、投与量は100 μ lのみとした。テノン嚢内に注射された場合、結膜下に投与された場合と異なり、FLの明瞭な黄赤色は光沢を失い、やや白濁して見える。

3) 注射刺入孔の焼灼群

経結膜的に25, 100 μ lの混合液を投与し、直後に刺入孔を閉鎖する目的で焼灼装置(ウェットフィールドコアギュレイター、イナミ社製)で刺入孔を焼灼した。結膜が軽く収縮する程度の強度で2~3回焼灼した。

4) 経皮的結膜下注射群

結膜に全く刺入孔のない投与方法で、上眼瞼から刺入し結膜下を通して耳側上方球結膜下に投与した。顕微鏡下で結膜に穿孔したものは除外した。投与量は12.5, 25,

50 および 100 μ l とした。

5) 涙点閉塞後の結膜下注射群

涙液および投与した薬物が涙道系に流出するのを防ぐ目的で、家兎の涙点を接着剤シアノアクリレート（アロンアルファ[®]，東亜合成（株）社製）で閉塞した後，25，100 μ l の薬剤混合液を投与し，90 分まで涙液を連続的に採取した。なお，本研究における実験データの統計処理には Student の t 検定，および多重比較（LSD 法）を用いた。

III 結果（涙液）

涙液への移行について

1. 投与量による移行性の相違

結膜下注射後の涙液内の薬物濃度の時間的推移は，いずれの投与量でも指数関数的な減少を示した。300 分後には 1/100~1/1,000 の濃度となった。100，50，25 μ l と投与量を減ざると，初期の投与量の差は時間とともに少なくなった（図 1~3）。12.5 μ l はいずれも 25 μ l と類似した変化を示した（図は省略した）。

2. 薬剤による移行性の相違

FL，CMX を比較すると後半で CMX がやや低い濃度を示したが，ほぼ同様な変化を示した。CP はいずれの投与量でも FL，CMX に比較して減少傾向が急峻であった（図 1~3）。

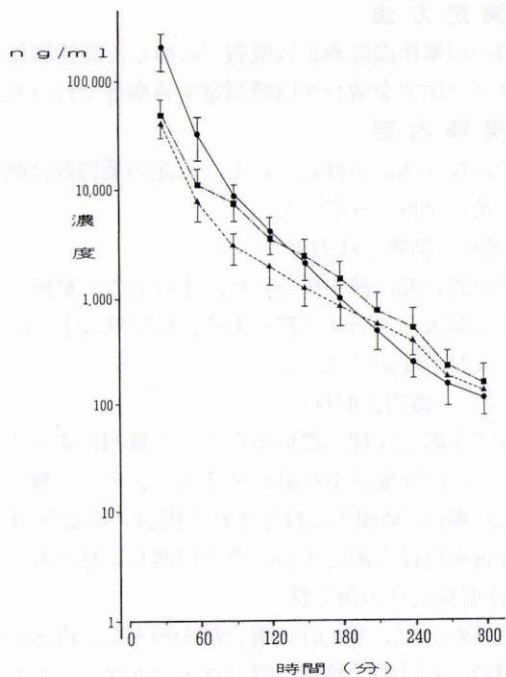


図 1 通常の結膜下注射による涙液内 sodium fluorescein (FL) の経時的変化。

平均値±標準誤差 (n=7)。縦軸は対数で濃度 (ng/ml)，横軸は時間 (分)。時間経過とともに涙液内濃度は指数関数的に減少し，投与量の差も時間経過とともに縮小した。

黒丸：100 μ l，黒四角：50 μ l，黒三角：25 μ l

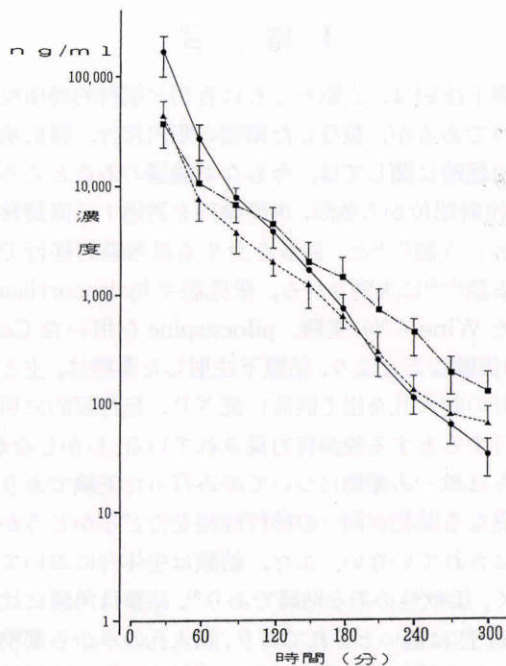


図 2 通常の結膜下注射による涙液内 cefmenoxin hemihydrochloride (CMX) の経時的変化。

平均値±標準誤差 (n=7)。縦軸は対数で濃度 (ng/ml)，横軸は時間 (分)。CMX は FL とほぼ同様の挙動を示した。

黒丸：100 μ l，黒四角：50 μ l，黒三角：25 μ l

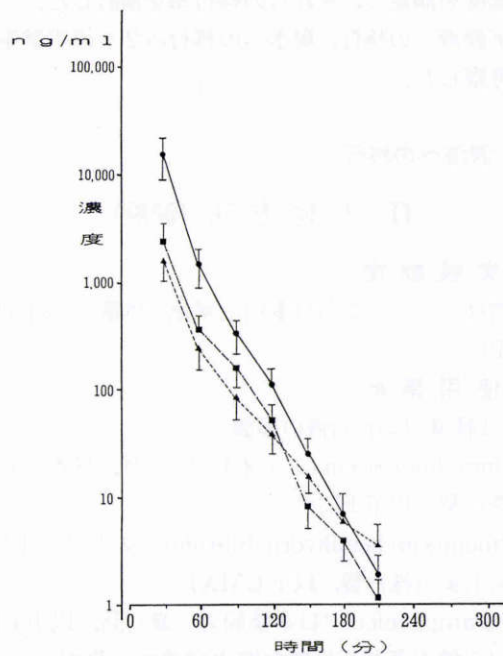


図 3 通常の結膜下注射による涙液内 chloramphenicol (CP) の経時的変化。

平均値±標準誤差 (n=7)。縦軸は対数で濃度 (ng/ml)，横軸は時間 (分)。CP は FL，CMX に比して涙液内濃度の急峻な減少傾向を示した。

黒丸：100 μ l，黒四角：50 μ l，黒三角：25 μ l

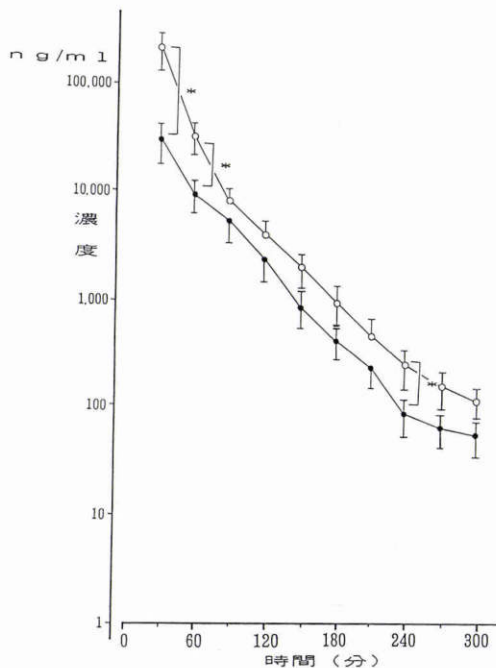


図4 テノン嚢内注射群と通常の結膜下注射群の涙液内FLの経時的変化。

投与量 100 μ l (n=7). SCI: 通常の結膜下注射, STI: テノン嚢内注射. テノン嚢内注射群の涙液内FL濃度は結膜下注射群よりも低値を示した. *: p < 0.05, Student の t 検定
白丸: SCI, 黒丸: STI

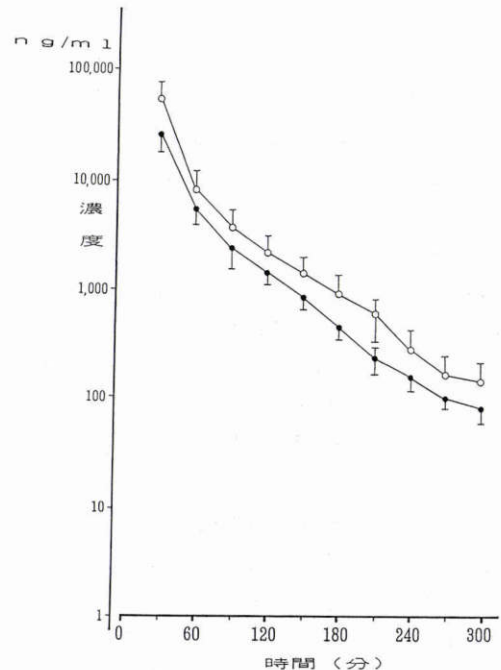


図6 刺入孔焼灼群と通常の結膜下注射群の涙液内FLの経時的変化。

投与量 25 μ l (n=7). SCI: 通常の結膜下注射, SCI-Caut: 刺入孔焼灼群. 25 μ l では刺入孔焼灼群が通常の結膜下注射群とほぼ同様な変化を示した.
白丸: SCI, 黒丸: SCI-Caut

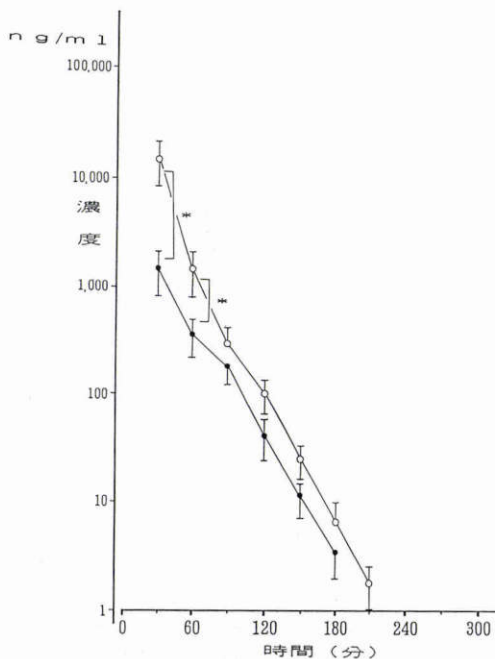


図5 テノン嚢内注射群と通常の結膜下注射群の涙液内CPの経時的変化。

投与量 100 μ l (n=7). SCI: 通常の結膜下注射, STI: テノン嚢内注射. テノン嚢内注射群の涙液内CP濃度は結膜下注射群よりも低値を示した. *: p < 0.05, Student の t 検定
白丸: SCI, 黒丸: STI

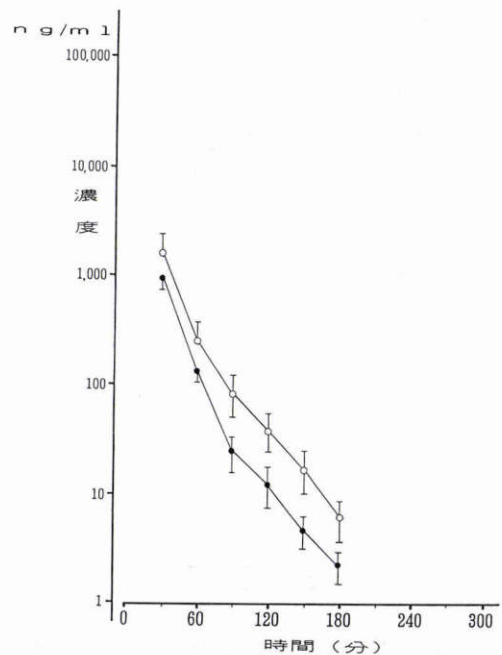


図7 刺入孔焼灼群と通常の結膜下注射群の涙液内CPの経時的変化。

投与量 25 μ l (n=7). SCI: 通常の結膜下注射, SCI-Caut: 刺入孔焼灼群. CP の 25 μ l では刺入孔焼灼群の涙液内濃度が低い傾向であった.
白丸: SCI, 黒丸: SCI-Caut

3. 投与方法による移行性の相違

テノン嚢内注射では、涙液への移行は通常の結膜下注射に比べてFL, CPともにすべての時点で少なかった(図4, 5). CMXについても同様であった. 刺入孔焼灼群 25 μ l 投与ではやや低濃度であり, 特にCPで著明であった(図6, 7). 100 μ l 投与では通常の結膜下注射よりやや高濃度で推移した(図8). 経皮的結膜下注射の 25 μ l, 100 μ l 投与でのFLは通常の結膜下注射とほぼ同様であった(図9, 10). CPは 25 μ l 投与でやや低濃度であったが(図11), 100 μ l 投与ではFLとともに通常の結膜下注射とほぼ同様であった.

4. 涙点閉塞による結膜下注射後に涙液へ移行した薬物の投与量に対する割合(表1)

薬物の涙液中への総移行量を涙点を塞ぐことにより算出した. 90分までに連続的に涙液から回収された薬物の総量を投与量に対する割合で示した. 図1, 3からも示されるように, 100 μ l 投与では30分までにほとんどが流出し, 90分後でCMX, FLともに投与量の16.4%が涙液に移行した. CPは14.0%であり, その割合には有意差を認めなかった. 25 μ l 投与ではCMX 7.4%, FLは7.0%, CPは4.2%であった.

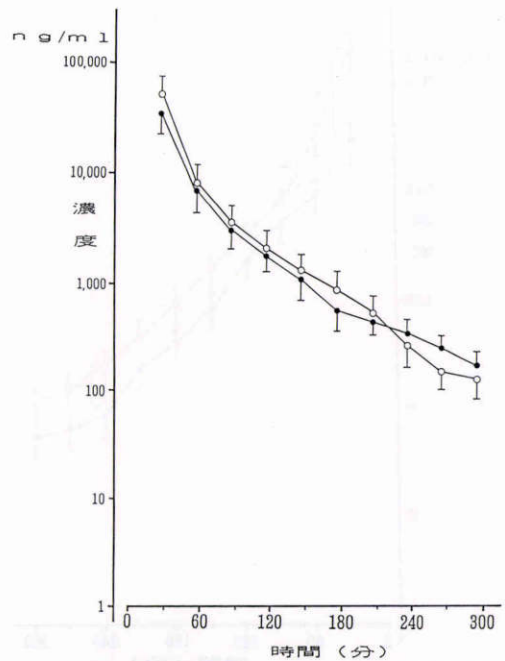


図9 経皮的結膜下注射群と通常の結膜下注射群の涙液内FLの経時的変化.

投与量 25 μ l (n=7). SCI: 通常の結膜下注射, LID: 経皮的結膜下注射(結膜面に刺入孔がない). 25 μ l でも刺入孔の有無にかかわらず, FLは同様の变化を示した.
白丸: SCI, 黒丸: LID

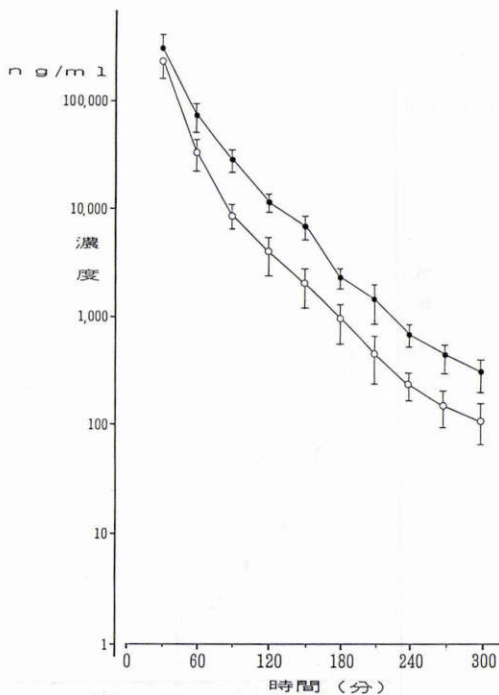


図8 刺入孔焼灼群と通常の結膜下注射群の涙液内FLの経時的変化.

投与量 100 μ l (n=7). SCI: 通常の結膜下注射, SCI-Caut: 刺入孔焼灼群. 100 μ l では刺入孔焼灼群が通常の結膜下注射群よりも高い涙液内濃度を示した.
白丸: SCI, 黒丸: SCI-Caut

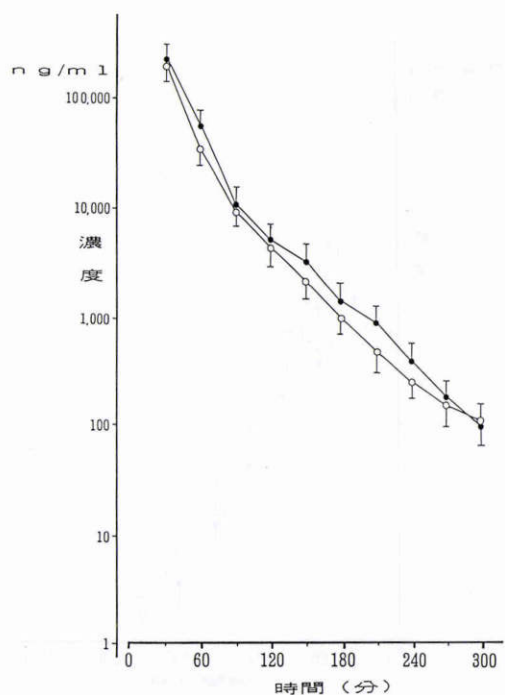


図10 経皮的結膜下注射群と通常の結膜下注射群の涙液内FLの経時的変化.

投与量 100 μ l (n=7). SCI: 通常の結膜下注射, LID: 経皮的結膜下注射(結膜面に刺入孔がない). 刺入孔の有無にかかわらず, FLは同様の变化を示した.
白丸: SCI, 黒丸: LID

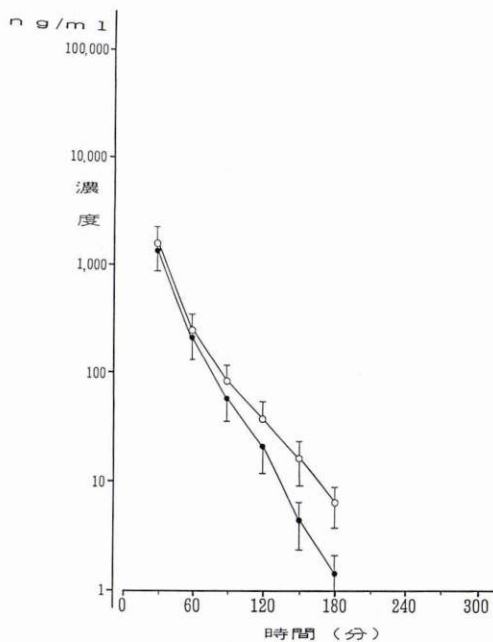


図 11 経皮的結膜下注射群と通常の結膜下注射群の涙液内 CP の経時的変化。
 投与量 25 μ l (n=7). SCI: 通常の結膜下注射, LID: 経皮的結膜下注射 (結膜面に刺入孔がない). CP では経皮的結膜下注射群がやや低値を示した. 白丸: SCI, 黒丸: LID

表 1 結膜下注射後に涙液へ移行した薬物の投与量に対する割合 (%)

	100 μ l	25 μ l
CMX	16.41 \pm 3.71	7.35 \pm 2.50
FL	16.36 \pm 3.73	7.04 \pm 2.55
CP	13.99 \pm 3.90	4.22 \pm 0.46

CMX: cefmenoxim hemihydrochloride FL: sodium fluorescein CP: chloramphenicol
 n=5 平均値 \pm 標準誤差

IV 考 按 (涙液)

結膜下注射した薬物の涙液内濃度は、投与後指数関数的に減少し、これは点眼した薬物の挙動¹³⁾と類似している。投与量を 100 μ l, 50 μ l, 25 μ l と変えても時間とともにその差は少なくなり、注射による bleb の大きさと結膜の透過性、張力、眼瞼の圧迫などに影響され⁸⁾、bleb の大きさが小さくなり、濃度が低下すると涙液への放出も一定化するものと思われる。薬物の違いによる涙液への移行の差をみると、CP よりも親水性である CMX と FL はどの投与方法によっても同様の挙動を示した。疎水性である CP の 30 分値は CMX, FL の約 1/10 で投与量の比であったが、その後、涙液内濃度の減少傾向が急峻であった。これらは著者ら¹³⁾が行った点眼実験と同様な傾向であった。初期は注射による bleb が大きいため漏出が多く、その差は少なく、bleb が小さくなると組織親和性が

高いために結膜から涙液への移行が少なくなったものと思われる。

結膜下注射はテノン嚢内注射としばしば比較され⁶⁾⁷⁾¹⁴⁾、いずれが角膜潰瘍などの角膜疾患に有効なのか、前房内炎症に有効なのかは未だに明らかにされていないようである。テノン嚢内注射は、前眼部への移行について結膜下注射より有利であるとする説もあるが、今回の研究では、涙液への移行、房水内への移行ともに結膜下注射に比較して有用な投与方法とは考えられなかった。Hardy ら⁶⁾は CP を用いて、両者を比較し、テノン嚢内注射の有用性は低いとしており、また、船橋ら¹⁵⁾もテノン嚢内注射の球後への高い移行性について述べていることなどから、テノン嚢内注射は前眼部よりも後眼部、球後への効果を意図した場合か、前眼部への移行をある程度制限したい場合に考慮すべき手段と思われる。

結膜下注射した薬物の移行経路に関して、Wine ら⁵⁾は hydrocortisone の懸濁液を用いて経皮的結膜下注射を行い、経結膜的注射と比較して、涙液、房水ともに著しく低濃度を示し、結膜下注射した薬物の移行経路は結膜の刺入孔から涙液へ流出し、経角膜的に房水に移行するとした。今回行った刺入孔焼灼群では刺入孔が塞がるのみでなく、焼灼により結膜が障害されて薬物の透過性に影響を及ぼしたものと思われた。bleb の小さい 25 μ l の投与では結膜面の収縮などが関与したものと思われた。bleb の結膜が生理的に近いと考えられる刺入孔のない経皮的結膜下注射では 3 種のどの薬物も通常の刺入孔のある結膜下注射とほぼ同様な涙液移行を示した。刺入孔の有無に関わらず、薬物は結膜から比較的容易に涙液中に透過するものと思われる。懸濁液の場合は、その製剤学的特徴から単位時間当りの結膜の透過性が低く、刺入孔—涙液—角膜—房水という単一経路が引き出されたのではないと思われる。しかし、結膜下に正確に投与するのは困難とも述べられており、無色の注射液を用いて正確に結膜下に投与するのは非常に難しく、Conrad ら⁹⁾も経皮的に結膜下注射を行うのは困難と記述している。一方、FL などの有色化合物を用いることにより結膜下、テノン嚢内を明確に区別して投与できることが確認されたことから、本実験の妥当性が高いといえる。

結膜下注射した薬物がどの程度涙液中に移行するかを、涙道系への排出を抑える涙点閉塞を行って算出した。100 μ l と 25 μ l を比較すると、25 μ l は涙液へ移行した投与量に対する割合が低く、リンパ管系、血管系などの排泄経路が関与する他に、bleb の大きさ、眼瞼の圧迫などによる影響が加わるものと思われた。Barza ら¹⁶⁾は鼻涙管を cyanoacrylate で閉塞し、gentamicin (750 μ l) を結膜下注射した後に濾紙で涙液を集めたところ、移行量は投与量の約 10% であったと述べているが、濾紙よりも角結膜プール法の方が結膜への刺激が少なく、かつ、妥当性のある方法と思われる¹⁰⁾¹¹⁾¹³⁾。薬物投与後の涙液採取

法としては濾紙法, microcapillary method などがある. 石田ら¹⁰⁾は濾紙法に角結膜障害性があり, microcapillary method の有用性を報告している. 一方, 角結膜プール法に関しては, 生理食塩水の連続点眼の前後に涙液中のグルタチオン, アスコルビン酸, 血清アルブミンの濃度に変化はほとんどなく, 角結膜障害性の極めて少ない方法であることを開ら¹¹⁾が報告している. また, 回収率に関しては, 著者ら¹²⁾が行った FL の点眼実験で5分後であるが, 1 μ l 点眼で40%以上を回収した. 生理食塩水の点眼により, 結膜からの薬物の diffusion の可能性はあるが, それは極少量と思われる. 涙液採取には microcapillary method が有効な方法であるが, 角結膜プール法は, ある時点での涙液中に移行した薬物を涙液より大量の生理食塩水を加えて全量を回収しようとする方法であり, 結膜嚢内に存在する薬物の総量を測定するには有効な方法と思われる.

B 房水への移行

II 実験方法 (房水)

1. 動物, 使用薬剤, 投与方法, 試料の採取方法, 測定方法は涙液への移行実験に準じて行った

0.1% FL 高粘性液の調製: 1.0% ヒアルロン酸ナトリウム (ヒーロン®, カピファルマシア社製, 以下 HA) 10 ml に 10% FL の 0.1 ml を加え, 1% HA を溶媒とする 0.1% FL 液とした. また, 上記の溶液に生理食塩水で調製した 0.1% FL を 4 倍に希釈し, 0.25% HA の 0.1% FL 液とした. 対照として 10% FL 液を生理食塩水で希釈して 0.1% FL 液とした.

2. 実験内容

a) 涙液採取後の房水内濃度

涙液への移行実験での通常の結膜下注射, テノン嚢内, 刺入孔焼灼, 経皮的注射の涙液採取後に 300 分でのみ房水を 1 回採取し, FL, CP の薬物濃度を測定した.

b) 角膜遮蔽眼の房水内濃度

結膜下注射した薬物の房水への移行経路を知るために, 角膜全体に接着剤シアノアクリレート (アロンアルファ®, 東亜合成 (株) 製) を塗布し, 経角膜的移行を遮断した. 100 μ l を結膜下注射し, 1 眼につき 1 回のみ房水を採取した. 採取時間は 15, 30, 60, 120 および 180 分後とし, 採取した房水中の FL, CP の薬物濃度を測定した.

c) 高粘性注射液の投与による薬物の眼内移行に関する実験

1% HA 中の 0.1% FL 液, 0.25% HA 中の 0.1% FL 液, および対照として生理食塩水中の 0.1% FL 液 100 μ l を結膜下注射し, 1 時間および 4 時間後に眼球を摘出し, 硝子体の FL 濃度を測定した. また, 注射後に 30, 60, 90, 120 分まで連続して同一眼の涙液を採取した.

表 2 涙液採取後の房水内 FL 濃度 (300 分後) (ng/ml)

	SCI 群	焼灼群	経皮的 SCI	STI
25 μ l	118.5 \pm 48.4	31.5 \pm 8.1	101.7 \pm 28.6	未測定
100 μ l	235.5 \pm 133.4	185.9 \pm 33.6	230.1 \pm 37.7	87.7 \pm 20.3*

n=7 平均値 \pm 標準誤差 SCI: 通常の結膜下注射群 焼灼群: 刺入孔焼灼群 経皮的 SCI: 経皮的結膜下注射群 STI: テノン嚢内注射群

*: p<0.05, 多重比較検定 (LSD 法)

表 3 涙液採取後の房水内 CP 濃度 (300 分後) (ng/ml)

	SCI 群	焼灼群	経皮的 SCI	STI
25 μ l	4.35 \pm 1.78	検出不能	4.99 \pm 1.49	未測定
100 μ l	20.07 \pm 1.94	18.55 \pm 4.20	12.90 \pm 3.51	1.17 \pm 0.795*

n=7 平均値 \pm 標準誤差 SCI: 通常の結膜下注射群 焼灼群: 刺入孔焼灼群 経皮的 SCI: 経皮的結膜下注射群 STI: テノン嚢内注射群

*: p<0.05, 多重比較検定 (LSD 法)

III 結果 (房水)

1. 涙液採取 300 分後の房水内濃度 (表 2, 3)

投与量 100 μ l の各投与方法での結膜下注射群の FL の房水内濃度はほぼ同様であったが, テノン嚢内注射ではその半分以下で, 通常の結膜下注射群に比し有意に低値であった (多重比較 LSD 法). 25 μ l では涙液内への移行の少なかった刺入孔焼灼群の房水内濃度が他の投与群に比して低い傾向にあった. 100 μ l 投与の各結膜下注射の CP の房水内濃度もほぼ同様な濃度であったが, テノン嚢内注射ではその約 1/10 で通常の結膜下注射群と有意差を認めた. 25 μ l 投与後の CP は, 涙液内濃度の低い方が房水内濃度も低い傾向が認められたが, 有意差は認められなかった.

2. 角膜遮蔽眼の房水内濃度 (図 12, 13)

対照眼の FL と CP を比較すると, CP は投与量が FL の 1/10 であるにもかかわらず, FL と同等の房水内濃度を示し, CP は房水への高い移行性を示した. FL, CP ともに 120 分で最高濃度となった. 角膜遮蔽眼における CP は 60 分に最高値となり, 30 分以後, 濃度は対照眼の 10% 以下であった. 15 分値を除いて有意差を認めた. 角膜遮蔽眼における FL は 120 分に最高値となり, 対照眼の濃度の約 30% であった. 120 分, 180 分値で有意差を認めた.

3. 高粘性注射液における FL の眼内移行

涙液内の FL は, 60 分値で生理食塩水と 0.25% HA がほぼ同様な値を示したが, 1% HA は低値を示した. 120 分値では生理食塩水が 0.25%, 1% HA よりも高値を示したが, 有意差は認めなかった (表 4). 硝子体内 FL

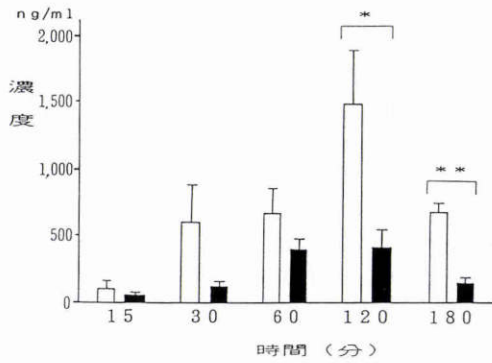


図 12 角膜遮蔽眼における FL の房水内濃度の経時的变化。

投与量 100 μ l, n=5

対照眼と角膜遮蔽眼ともに 120 分に最高濃度となった。角膜遮蔽眼は 60 分で対照眼の 60%, 120 分では 30% を示した。120 分 ($p < 0.05$), 180 分 ($p < 0.01$) で有意差を認めた。*: $p < 0.05$, student の t 検定, **: $p < 0.01$, student の t 検定

黒: 遮蔽眼, 白: 対照眼

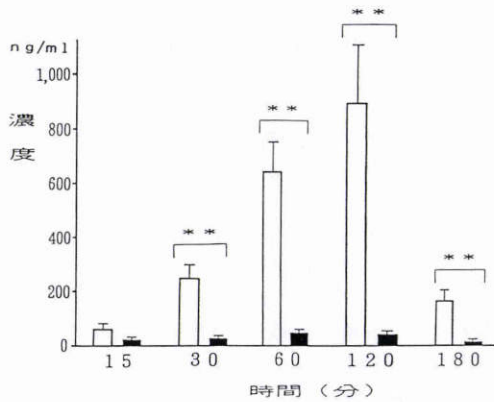


図 13 角膜遮蔽眼における CP の房水内濃度の経時的变化。

投与量 100 μ l, n=5

対照眼では 120 分に最高濃度となり, 角膜遮蔽眼では 60 分であった。30 分以後角膜遮蔽眼の濃度は対照眼の 10% 以下であった。30, 60, 120, 180 分で有意差 ($p < 0.01$) を認めた。**: $p < 0.01$, student の t 検定

黒: 遮蔽眼, 白: 対照眼

濃度は 0.25% HA が最も高値で, 60 分で対照眼の約 10 倍の濃度で有意差を認めた。1% HA は低値であった(表 5)。

IV 考 按 (房水)

結膜下注射した薬物の眼内, 特に房水内への移行経路は, 角膜輪部などを通る直接移行であるとする説と, 涙液を介する経角膜的移行であるとするものに大別される。Wine ら⁵⁾は steroid を用い, Conrad ら⁸⁾は pilocarpine を用い, 注射された薬物は刺入孔を通過して涙液に混入し, 経角膜的に前房に移行するとした。一方, 桐沢²⁾は

表 4 高粘性液中 FL の結膜下注射後の涙液内濃度 (ng/ml)

	生理食塩水	1% ヒアルロン酸	0.25% ヒアルロン酸
30 分	22,714 \pm 9,472	3,678 \pm 1,797	19,714 \pm 4,557
60 分	15,044 \pm 5,162	2,449 \pm 1,042	17,122 \pm 4,524
120 分	5,157 \pm 1,908	1,202 \pm 304.0	3,025 \pm 929.2

n=5 平均値 \pm 標準誤差

表 5 高粘性液中 FL の結膜下注射後の硝子体内濃度 (ng/ml)

	生理食塩水	1% ヒアルロン酸	0.25% ヒアルロン酸
60 分	7.37 \pm 5.25	2.72 \pm 1.69	95.63 \pm 25.69*
240 分	3.31 \pm 3.31		9.82 \pm 4.44

n=5 平均値 \pm 標準誤差

*: $p < 0.05$, 多重比較検定 (LSD 法)

結膜下注射による薬物の移行経路は角膜輪部, 強膜を介する説を提示した。Swann ら¹⁴⁾は強膜, 輪部を通る直接移行であるとした。Prednisolone を用いて Tsuji ら¹⁸⁾は上方の結膜下に投与した場合, 下方に投与した場合よりも有意に角膜, 房水内濃度が高く, 経角膜的経路が主であるとした。近藤¹⁹⁾は 5-fluoro uracil (5-FU: 溶解補助剤として 8.5% trisaminomethan を含む) 100 μ l を家兎眼に結膜下注射して, 組織内濃度を測定し, 対側角膜への移行は主に結膜下を拡散するとした。

今回著者らの行った実験から, 涙液への移行の少なかったテノン嚢内注射群の涙液採取後の房水内濃度は低く, 涙液から角膜を透過して房水内へ薬物が移行する経路が示唆された。また, テノン嚢内注射は房水内移行に関して有効性は低いものと思われた。角膜遮蔽実験から, 薬物を混合液として同時に投与したが, 薬物の物性の違いにより, 結膜下に投与した薬物の房水内への移行経路が異なり, CP のような疎水性の薬物は涙液を介してほとんどが経角膜的に房水内に移行するのに対し, FL のような親水性の薬物は経角膜的な移行が 70% 程度であることから, 残りの 30% は注射部位から直接輪部, 隅角を通過して房水内へ移行する経路などが関与しているものと思われた。Oakley ら¹⁷⁾はペニシリン G, CP, gentamicin を上方結膜下に注射し, 注射部付近, 角膜中央, 対側角膜内濃度を比較し, 親水性の高い gentamicin とペニシリン G は類似した挙動を示し, 疎水性の CP とは異なった移行を示すことを報告しており, 今回の実験に合致するものと思われる。Maurice ら²⁰⁾は 2 μ l の FL を家兎眼と人眼に結膜下注射し, 両者を比較した。刺入孔からの漏出を抑えるため, 家兎眼には cyanoacrylate を塗布し, 人眼では漏出しにくいとの理由から塗布せず比較した。人眼では前房への透過性が家兎眼の 100 倍

であるとし、人眼と家兎眼の相違を強調している。しかし、cyanoacrylate の塗布の仕方によっては刺入孔だけでなく、注射部位の結膜の透過性が抑制され、前房への移行を抑制した可能性もあり、動物を用いた結膜下注射の実験の困難さを示しており、妥当な実験内容やその条件の設定が重要であると考えられる。

高粘性液中の FL の挙動は興味深い結果を示した。注射後 60 分の硝子体内濃度は、0.25% HA 中の FL が最も高値を示した。涙液内 FL 濃度は生理食塩水、0.25% HA に差がほとんどないことから、0.25% HA 中の FL の移行には経角膜的移行以外の経路、すなわち経輪部、経強膜的移行が関与したものとされた。また、初期の FL の移行量が多かったことから 60 分値が高値になり、逆に、1% HA 中では FL の放出量が少なかったものと推測した。ヒアルロン酸の濃度を選択することにより、眼内への高い移行を得る可能性があり、家兎眼での結果が人眼にあてはまるかは今後十分に検討を要するが、硝子体への直接投与によらずに結膜下注射でも、必要な薬物の硝子体への移行が得られる可能性が見出された。ヒアルロン酸中の FL の眼内での挙動、また、FL 以外の薬剤についても今後検討する必要がある。

局所投与方法の一つである結膜下注射の前眼部への移行経路は、刺入孔の有無にかかわらず、主に結膜を透過して涙液に混じり、経角膜的に前房へ移行するという経路であり、その割合は薬物の親水性や分子量などの性質によって異なることが明らかにされた。テノン嚢内注射は後眼部、球後への効果を目的とした場合の投与方法と思われる。また、注射液の溶媒およびその濃度を選択することにより、より高い眼内への移行性、持続性を得る可能性が見出された。種々の薬物について、硝子体への薬物の移行経路の解明、実際の臨床への応用について今後検討していく必要があると思われる。

最後に御校閲を賜りました窪田靖夫教授に深謝いたします。

文 献

- 1) 本田孔士：眼内移行からみた各種薬物投与方法—眼周囲投与（結膜下・テノン嚢内・球後注射）の bioavailability—。眼科 27：911—924, 1985。
- 2) 桐沢長徳：眼科薬剤治療に関する 2～3 の問題。日眼会誌 72：1966—1980, 1968。
- 3) 金 在浩, 太田陽一：Fluorescein 点眼及び結膜下注射。眼臨 6：750—755, 1978。
- 4) 菊地宏子, 大槻 潔：眼局所に投与された sodium fluorescein の眼内移行に関する研究。日眼会誌 83：2045—2054, 1979。
- 5) Wine NA, Gornall AG, Basu PK: The ocular uptake of subconjunctivally injected C¹⁴ hydrocortisone. Am J Ophthalmol 58: 362—366, 1964.
- 6) Hardy RG, Paterson CA: Ocular penetration of ¹⁴C-labeled chloramphenicol following subconjunctival or sub-Tenon's injection. Am J Ophthalmol 71: 1307—1312, 1971.
- 7) Paterson CA: Intraocular penetration of ¹⁴C-labeled penicillin after sub-Tenon's or subconjunctival injection. Ann Ophthalmol 5: 171—174, 1973.
- 8) Conrad JM, Robinson JR: Mechanisms of anterior segment absorption of pilocarpine following subconjunctival injection in albino rabbits. J Pharm Sci 69: 875—884, 1980.
- 9) 北野周作, 森 茂：結膜の解剖・生理。三島濟一, 他(編)：眼科 Mook 33, 結膜疾患。金原出版, 東京, 1—15, 1987。
- 10) 石田俊郎, 開 繁義, 中村泰久：涙液採取法に関する研究。日眼会誌 91: 473—480, 1987。
- 11) 開 繁義, 石田俊郎, 狩野真由美：涙液の生化学的分析による眼局所用薬剤の角膜障害性の評価。日眼会誌 92: 1553—1564, 1988。
- 12) 尾崎真由美, 開 繁義, 沼田このみ：涙液および房水の成分を指標としたアルカリ熱傷の研究。日眼会誌 96: 559—568, 1992。
- 13) 山田成明, 開 繁義, 石田俊郎, 中村泰久：点眼した薬物の涙液内動態に関する研究。眼紀 37: 1713—1717, 1986。
- 14) Swan KC, Crisman HR, Bailey PF: Subepithelial versus subcapsular injections of drugs. Arch Ophthalmol 56: 26—33, 1956。
- 15) 船橋知也, 近藤健太郎, 木村睦子, 忍田紀三郎, 徳田耕司, 関本俊男, 他：視器生体染色。日眼会誌 84: 1826—1880, 1980。
- 16) Barza M, Kane A, Baum J: Excretion of gentamicin in rabbit tears after subconjunctival injection. Am J Ophthalmol 85: 118—120, 1978。
- 17) Oakley DE, Weeks RD, Ellis PP: Corneal distribution of subconjunctival antibiotics. Am J Ophthalmol 81: 307—312, 1976。
- 18) Tsuji A, Tamai I, Sasaki K: Intraocular penetration kinetics of prednisolone after subconjunctival injection in rabbits. Ophthalmic Res 20: 31—43, 1988。
- 19) 近藤正巳, 新家 真：結膜下注射後 5-fluorouracil (5-FU) 濃度経時変化と Iontophoresis 法の可能性。新しい眼科 5: 151—154, 1988。
- 20) Maurice DM, Ota Y: The kinetics of subconjunctival injections. Jpn J Ophthalmol 22: 95—100, 1978。