

鬼塚尚子 論文内容の要旨

主 論 文

Influence of different additives and their concentrations on corneal toxicity and antimicrobial effect of benzalkonium chloride

(塩化ベンザルコニウムに起因する角膜上皮障害と防腐効果に対する異なる2種類の添加剤とその濃度の影響)
(鬼塚尚子、上松聖典、草野真央、佐々木均、鈴間潔、北岡隆)

(CORNEA 掲載時期未定)

長崎大学大学院医歯薬学総合研究科医療科学専攻眼科・視覚科学
(主任指導教員：北岡隆教授)

緒 言

角膜は眼の最表層の組織であり、眼表層のバリア機能を担う。点眼治療は眼科疾患に対する主な治療法として重要であるが、その薬物や添加物は角膜上皮の障害を引き起こすことがある。塩化ベンザルコニウム(BAC)は主要な防腐剤として広く使用されているが、時に角膜上皮障害を起こすことが、経上皮電気抵抗値(TER)測定や培養角膜細胞に対する毒性試験で明らかになった。特に角膜TER測定は、角膜障害の量的な評価や、数秒単位の角膜障害性の評価に優れている。これまでの研究でポリオキシエチレン硬化ヒマシ油(HC040)などの可溶化剤がBACの角膜上皮障害の抑制効果を持つことが示された。今回の研究では角膜TER測定と走査型電子顕微鏡によりHC040とポリソルベート80(PS80)によるBACの角膜上皮障害の抑制程度を比較検討した。また、BAC本来の防腐剤としての効果が可溶化剤の添加によって損なわれていないか、最小発育阻止濃度(MIC)の測定で評価した。

対象と方法

雄性日本白色ウサギ(n=3~4)に全身麻酔をかけ、角膜上と前房内に電極を留置し、試薬点眼60秒後の角膜TERを測定した。試薬は0.02%BAC単剤と0.01%, 0.1%, 1%の濃度の異なるHC040またはPS80を添加した混合試薬6剤である。実験後、ネンブタールの過剰投与で安楽死させ、角膜を切除後に電子顕微鏡で観察した。最小発育阻止濃度は、黄色ブドウ球菌、アクネ菌、緑膿菌、肺炎球菌、大腸菌について調べた。

結 果

生体ウサギの角膜 TER は試薬投与前を 100%とすると、0.02% BAC 投与で $10 \pm 8\%$ に有意に低下した。0.01% HC040 または PS80 の添加では $11 \pm 5\%$, $21 \pm 4\%$ だったが、0.1% HC040 または PS80 で $50 \pm 10\%$, $58 \pm 11\%$ に上昇し、1% HC040 または PS80 の添加では $96 \pm 4\%$, $96 \pm 7\%$ とさらに上昇した。角膜上皮を走査型電子顕微鏡で観察すると、0.02% BAC 投与では表層細胞の破壊と細胞間の解離を認めた。0.01% HC040 または PS80 の添加では、表層細胞は破壊されたままだが、可溶化剤の濃度が濃くなるに従い、表層細胞は正常の形態を保てるようになった。最小発育濃度は 0.01%~0.03% 程度の低濃度の可溶化剤の添加では BAC の防腐効果に影響なかったが、0.3%~1% 程度の可溶化剤の添加では緑膿菌、肺炎球菌、大腸菌に対する防腐効果が減弱した。

考 察

BAC は点眼薬に含まれる主な防腐剤であるが、その障害性は多くの報告で指摘されている。その界面活性作用は強力で、表層細胞の細胞表面だけでなく、細胞間接着も破壊し、最も強力な細胞間接着であるタイトジャンクションを破壊する。上皮細胞の TER は表層細胞とそのタイトジャンクションによる電気抵抗が大部分を占めており、これらが破壊されることで、電流が流れやすくなり、TER は減少する。点眼薬に添加される BAC の濃度は 0.005%~0.02% 程度だが、本実験で 0.02% BAC でも角膜 TER が急激に低下することが明らかとなり、また本来は点眼薬に可溶化剤として添加されている HC040 や PS80 に BAC の角膜障害抑制効果があることが、今回の実験で確認できた。その一方で可溶化剤の添加によって BAC 本来の防腐効果も減少することがわかり、配合濃度には留意する必要がある。本実験で使用した試薬の角膜 TER 値と走査型電子顕微鏡による角膜上皮障害の程度は相応した結果となり、角膜 TER 値の測定は薬剤や物理的刺激による角膜障害性の比較、市販点眼薬の角膜障害の判定に非常に有用な実験系であると考えられる。

(備考) ※日本語に限る。2000 字以内で記述。A4 版。