

電気生理学的手法を基盤とした点眼液の角膜障害性の評価と その低減を目的とした点眼療法の検討

長崎大学大学院医歯薬学総合研究科生命薬科学専攻 荒木 良介

【目的】

眼科薬物療法においては、点眼液に含まれる薬物や防腐剤による角膜の上皮細胞への障害性がしばしば臨床上的問題となる。そのため、点眼液の角膜障害性を評価・予測することに加え、その障害性の低減を目的とした処方設計や製剤設計を検討することは重要である。

近年、点眼液の家兎摘出角膜に対する経上皮電気抵抗値 (TER) を電気生理学的手法により測定することで、点眼液使用時の角膜上皮バリア機能に対する影響を解析する方法が開発された (*J. Ocul. Pharmacol. Ther.*, **24**, 43–51, 2008)。本法は、ヒト涙液のターンオーバーを再現した臨床に近い実験系で、TER をリアルタイムかつ定量的に測定することができるため、点眼液使用時における角膜障害性を簡便に評価・予測する方法としての有用性が期待される。

そこで本研究では、臨床での点眼液の適正使用に資する新たな医薬品情報を構築するため、点眼液の角膜障害性を評価・予測する方法としての本法の有用性を検討した。さらに点眼液使用時の角膜障害性の低減を目的とした点眼療法に関する検討を行った。

【結果・考察】

1. 点眼液の角膜障害性評価法としての電気生理学的手法の有用性の検討

代表的な点眼液の角膜上皮バリア機能に対する影響を、ヒト涙液のターンオーバーを再現した電気生理学的手法により解析し、さらに細胞毒性試験の結果と関連付けることで、点眼液の角膜障害性評価法としての本法の有用性を検討した。8種類の抗緑内障点眼液を対象に角膜 TER を測定した結果、その低下の程度は点眼液に防腐剤として含まれる塩化ベンザルコニウム (BAC) の濃度に依存する傾向が認められた。次に家兎角膜上皮細胞 (NRCE cell) とヒト臍帯静脈内皮細胞 (EA.hy926 cell) を用いて、抗緑内障点眼液の細胞毒性を調べた。その結果、どちらの細胞においても、角膜 TER の低下面積が大きい点眼液ほど細胞生存率が低くなる傾向が見られ、点眼液の角膜 TER の低下面積と細胞生存率の減少には有意な相関性が認められた。そこで、今回得られた 8 種類の抗緑内障点眼液のデータに、既に報告のある 8 種類の抗アレルギー点眼液のデータを加えた 16 種類の点眼液による解析を行った。その結果、角膜 TER の変化と細胞毒性試験の結果には有意な相関性が認められたことから、ヒト涙液のターンオーバーを再現した電気生理学的手法が、点眼液の角膜障害性評価法として有用であることを明らかにした (Fig. 1)。

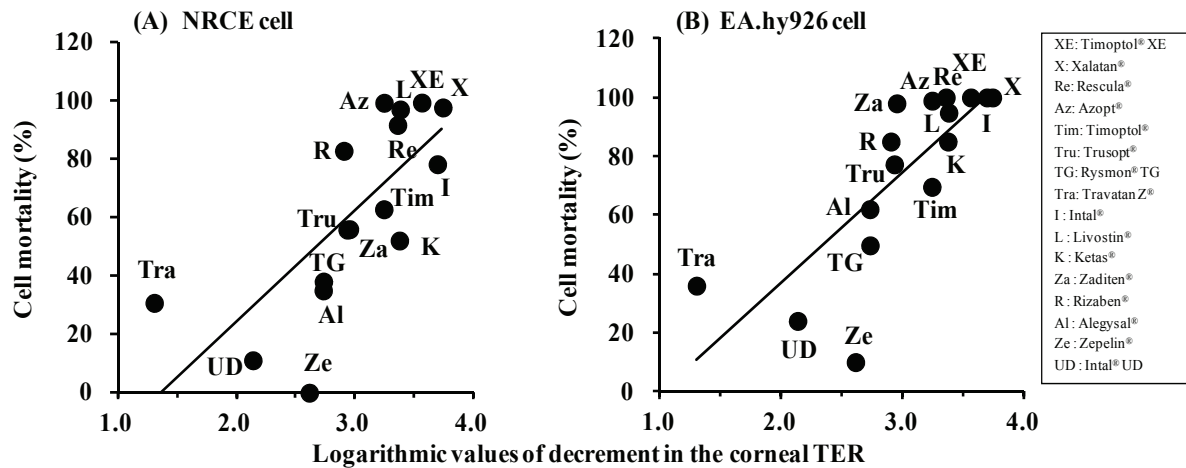


Figure 1. Correlation between logarithmic values of decrement in the corneal transepithelial electrical resistance (TER) and cell mortality against normal rabbit corneal epithelial (A) and EA.hy926 (B) cells. TER significantly correlated with cell mortality (NRCE cell; $r = 0.812$ and EA.hy926 cell; $r = 0.890$).

2. 電気生理学的手法による角膜障害性の低減を目的とした処方設計の検討¹⁾

ヒアルロン酸ナトリウム (HA) の点眼液には角膜障害性が無いことが知られている。実験の結果、HA 点眼液であるヒアレイン[®]ミニ点眼液の角膜 TER は、コントロールと同様、変化しなかった。そこで、前章において角膜 TER の低下が認められた BAC を含有する抗緑内障点眼液の角膜障害性に対する HA 点眼液の併用効果を検討した。ヒアレイン[®]ミニ点眼液を前処置した結果、角膜 TER の低下面積は、抗緑内障点眼液単独時と比べて有意に減少した (Fig. 2)。さらに、ヒアレイン[®]ミニ点眼液の前処置による角膜 TER 低下面積の減少率が、抗緑内障点眼液に含まれる BAC 濃度の違いにより異なることを明らかにした。今回の解析により、抗緑内障点眼液の角膜障害性に対する HA 点眼液の併用効果を定量的に示すことができ、HA 点眼液の前処置により点眼液の角膜障害性が低減できることを明らかにした。

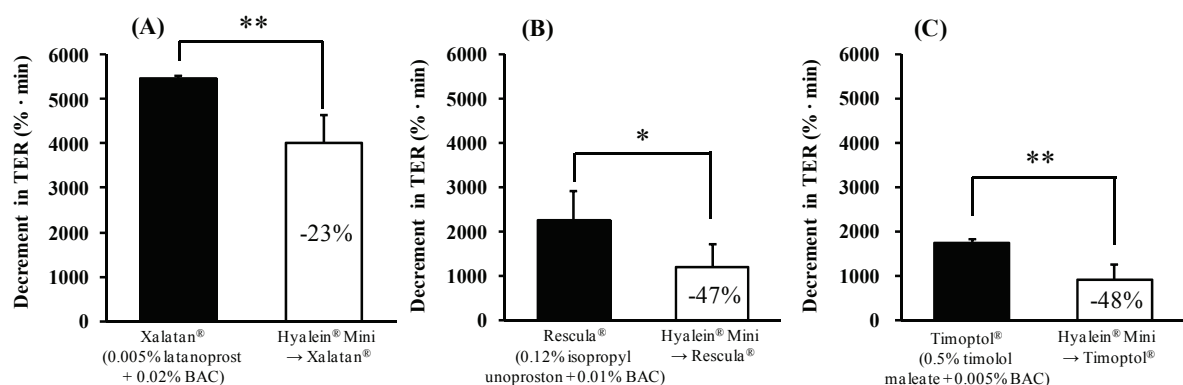


Figure 2. Effects of the pretreatment with Hyalein[®] Mini (0.3% sodium hyaluronate ophthalmic solution) before application of antiglaucomatous eyedrop on the corneal transepithelial electrical resistance (TER) in the electrophysiological experimental system with the donor-phase turnover.

(A) Xalatan[®], (B) Rescula[®], (C) Timoptol[®]. The value of corneal TER 80 min after mounting the cornea is 100%. Decrement in the corneal TER is sum of decrease in the corneal TER from its initial value (100%) for first 60 min after application. * $P < 0.05$, ** $P < 0.001$ compared with single application of each antiglaucomatous eyedrop. Each value represents the mean \pm S.D. of three experiments.

3. 電気生理学的手法によるヒアルロン酸ナトリウム配合 OTC 点眼液の角膜障害性の検討

医療用医薬品の点眼液で HA を配合した点眼液は未だ製剤化されていない。しかし、OTC 医薬品の点眼液には、既に HA を配合した点眼液が製剤化されている。そこで、HA を配合した OTC 点眼液の製剤が発売されている抗アレルギー薬クロモグリク酸ナトリウム (DSCG) と抗ヒスタミン薬マレイン酸クロルフェニラミン (CPM) の配合剤をモデル点眼液に選び、HA 配合 OTC 点眼液の角膜障害性を本法により解析した。その結果、HA も防腐剤の BAC も含まない点眼液 (OTC eyedrop A と B) では、角膜 TER の変化は見られなかった (Table 1)。一方、BAC を含むが HA を配合していない点眼液 (OTC eyedrop C と D) では、角膜 TER の速やかな減少が見られ、BAC による角膜上皮バリア機能に対する影響が観察された。しかし、HA を配合した BAC 含有点眼液 (OTC eyedrop E と F) では、角膜 TER の変化が見られず、HA の配合により BAC の角膜障害性が低減されていることが示された。これらの結果から、OTC 点眼液の製剤設計において HA を配合することは、BAC の角膜障害性を防ぐ製剤化を行う上で有用であることを明らかにした。

Table 1. Decrement in the corneal transepithelial electrical resistance (TER) for initial 60 min after application of disodium cromoglicate and chlorpheniramine maleate combined OTC eyedrops.

Treatments	Components	Decrement (%·min)
OTC eyedrop A	(1% DSCG + 0.015% CPM)	137 ± 237 ^{†,‡}
OTC eyedrop B	(1% DSCG + 0.015% CPM)	107 ± 171 ^{†,‡}
OTC eyedrop C	(1% DSCG + 0.015% CPM + 0.01% BAC)	2541 ± 339*
OTC eyedrop D	(1% DSCG + 0.015% CPM + 0.01% BAC)	2504 ± 924*
OTC eyedrop E	(1% DSCG + 0.015% CPM + 0.01% BAC + 0.1% HA)	92 ± 120 ^{†,‡}
OTC eyedrop F	(1% DSCG + 0.015% CPM + 0.01% BAC + 0.1% HA)	249 ± 276 ^{†,‡}
Control		0 ± 0

DSCG: disodium cromoglicate, CPM: chlorpheniramine maleate, BAC: benzalkonium chloride, HA: sodium hyaluronate. * $P < 0.05$ compared with control. [†] $P < 0.05$ compared with OTC eyedrop C.

[‡] $P < 0.05$ compared with OTC eyedrop D. Each value represents the mean ± S.D. of three experiments.

【結論】

ヒト涙液のターンオーバーを再現した電気生理学的手法により、様々な点眼液の角膜障害性を評価・予測できることを明らかにした。そして、この方法を用いて、HA 点眼液の前処置および HA を配合した点眼液の製剤化により、点眼液の角膜障害性が低減できることを明らかにした。さらに、電気生理学的手法による解析結果に基づき、角膜障害性の少ない OTC 点眼液を選択できる可能性を示した。本研究で得られた知見は、臨床において点眼液の適正使用を図る上で、有益な医薬品情報となることが期待される。

【参考文献】

- 1) Araki R., Nakashima M., Teshima M., Owaki Y., Nakashima N. M., Uematsu M., Kitaoka T., Nakamura T., Kitahara T., Sasaki H.: Investigation of protective effects of sodium hyaluronate eyedrop against corneal epithelial disorders using an electrophysiological method. *J. Ocul. Pharmacol. Ther.*, **28**, 251-258, 2012.