Intraocular Pharmacokinetics and Retinal Tolerance of Fluconazole

メタデータ	言語: jpn 出版者: 公開日: 2017-10-04 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/2297/8591

金沢大学十全医学会雑誌 第103巻 第6号 938－958 (1994)

フルコナゾールの眼内動態およびその網膜におよぼす影響

金沢大学医学部眼科学講座（主任：河崎一夫教授）
山 下 陽 子

抗真菌剤フルコナゾール (fluconazole, FLCZ) を1回または連続して全身投与 (静脈内注射) した際の眼組織内移行を白色ウサギの正常眼 (非硝子体切除眼) および硝子体切除眼において検討した．また FLCZ を硝子体内注入した際の FLCZ の眼内動態についても検討した．さらに FLCZ の網膜におよぼす影響を検討する目的で，FLCZ 灌流下での摘出眼杯網膜電図 (electroretinogram, ERG), FLCZ 硝子体内注入後の ERG，視覚誘発電位 (visually evoked potential, VEP) および網膜組織学的所見，FLCZ の連日全身投与後の ERG および VEP を検討した．白色ウサギにおいて FLCZ 5mg/kg あるいは 25mg/kg を静脈内注射 (静注) した後の血清中，前房水中および硝子体中 FLCZ 濃度は投与量に比例した．FLCZ 25mg/kg 静注後の眼組織 (角膜，虹彩毛様体，水晶体，網脈絡膜，強膜，前房水，硝子体および視神経) 中 FLCZ 濃度は静注1時間後では水晶体を除いて 10μg/ml 以上となり，静注12時間後の FLCZ 濃度と1時間後の FLCZ 濃度との間に有意差はなかった．硝子体切除眼における眼組織中 FLCZ 濃度は正常眼 (非硝子体切除眼) に比べ有意には相違しなかった．FLCZ 25mg/kg/日の連日全身投与 (静注) 第4日および第7日の眼組織中 FLCZ 濃度は1回静注した際の濃度に比していずれも有意に高値であった．FLCZ 200μg 硝子体内注入後の硝子体中 FLCZ 濃度は注入8時間後までほぼ指数関数的に減少し，その半減期は約1.5時間であった．FLCZ 200μg 硝子体内注入後における網脈絡膜および虹彩毛様体中の FLCZ 濃度は硝子体中濃度とほぼ同じ速度で減少し，角膜および前房水中からは FLCZ はほとんど検出されなかった．FLCZ 20μg/ml の15分間灌流後のウサギ摘出眼杯 ERG および FLCZ 200μg 硝子体内注入3時間後～2週間後の ERG ならびに VEP には変化はみられず，また組織学的にも網膜に異常はみられなかった．FLCZ 25mg/kg/日の8日間連日静注後の ERG および VEP には静注前に比べて明らかな変化はなかった．FLCZ 400mg/日が連日静注されていた真菌性眼内炎の症例での血清中 FLCZ 濃度は投与12時間後においても 20μg/ml 以上であり，前房水および硝子体中 FLCZ 濃度はそれぞれ血清中濃度の70～90%および60～80%であった．全身投与された FLCZ はほぼすべての眼組織内に高濃度に移行し，連日静注を行うことによって眼内移行はさらに高められた．また FLCZ 200μg 硝子体内注入および FLCZ 25mg/kg/日の8日間連日静注は電気生理学的および組織学的に網膜に影響を与えなかったので，FLCZ の全身投与は真菌性眼感染症の治療に安全かつ有用であると考えられる．

Key words fluconazole, systemic administration, intravitreal injection, intraocular pharmacokinetics, retinal tolerance

化学療法剤や免疫抑制剤の頻用および経中心静脈高カロリー輸液 (intravenous hyperalimentation, IVH) の普及に伴い，深在性真菌症の増加が問題となっており，眼科領域においても内因性真菌性眼内炎の報告が増加している[1]．また，外因性真菌性眼内炎では主に眼外傷後の発症が問題であったが，眼内レンズ移植術後の遅発性の真菌性眼内炎が近年報告されており[2)~4)]，今後重要な疾患になると考えられる．真菌性眼内炎では細菌性眼内炎に比べればその進行速度は遅いとされる[5]が，炎症が眼全体に波及した場合には失明に至る危険性を有しており，的確な治療が不可欠である．従来用いられてきた抗真菌剤の多くは眼血液関門のために全身投与では眼内で十分な濃度に達しないので，硝子体内への直接注入や硝子体切除術時の眼内灌流液中に添加する方法が試みられている[6)~8)]．内因性真菌性眼内炎の症例に対して積極的に硝子体切除術を行う報告[9]もみられるが，全身状態が不良で観血的治療が行えないことも多い．したがって，全身投与で眼内に有効な薬剤濃度を与えることができ，さらに全身的副作用の少ない薬剤が待ち望まれている．また，真菌性眼感染症の中で角膜真菌症も重要な疾患である．本症は難治性の場合が多く，有効な治療法が求められている．

近年開発されたトリアゾール系抗真菌剤フルコナゾール (fluconazole, FLCZ) は，その体組織内移行が良好であり，全身的副作用が少なく，血中半減期が長いことから1日1回の投与で血中での有効濃度が維持でき，静脈内注射 (静注) および経口投与の両者が可能であるなどの利点をもち，さらに内因性真菌性眼内炎の主な起因菌である *Candida* 属に強い抗菌力を持つとされる[10]．したがって眼科領域においてもその有用性が期待され，臨床的には真菌性眼内炎や角膜真菌症での奏効例[11)~13)]が報告されている．本研究では全身投与 (静注) された FLCZ の

平成6年10月4日受付，平成6年11月30日受理

Abbreviations: CSF, cerebrospinal fluid; ERG, electroretinogram; FLCZ, fluconazole; HPLC, high performance liquid chromatography; IC_{99}, 99% inhibitory concentration; IVH, intravenous hyperalimentation; OP, oscillatory potential; VEP, visually evoked potential; GA 液，グルタールアルデヒド液－0.1Mリン酸緩衝液

眼組織内移行および FLCZ 硝子体内注入後の FLCZ の眼内動態を明らかにし，さらに FLCZ の全身投与あるいは硝子体内注入がウサギ網膜におよぼす影響を調べることにより FLCZ 投与の安全性についても検討を行い，その結果から真菌性眼感染症に対する FLCZ の的確な使用法を確立することを目的とする．

対象および方法

Ⅰ．全身投与後の眼内移行

1．正常眼における前房水および硝子体内移行（投与量による検討）

実験動物としてウサギ用固型飼料 RM-3（船橋農場，千葉）にてあらかじめ1週間以上飼育した体重 2～3kg の白色ウサギ31匹62眼を使用した．14匹に FLCZ（ジフルカン®静注液0.2%，ファイザー製薬，東京）5mg/kg を，17匹に FLCZ 25mg/kg を耳静脈内に静注した．静注後1，2，4および12時間に FLCZ 5mg/kg を静注したウサギではそれぞれ3匹，4匹，4匹および3匹，25mg/kg を静注したウサギではそれぞれ5匹，4匹，4匹および4匹においてペントバルビタール（ネンブタール®，大日本製薬，大阪）200mg の静注で屠殺し，直ちに両眼球を摘出した．摘出眼球を直ちに生理食塩水にて洗浄して眼球に付着した血液成分などを除去し，濾紙にて水分を吸着後，角膜輪部から26ゲージ注射針を刺入して前房水を約 0.15ml 採取した．その後18ゲージ注射針を輪部より約 3mm 後方で眼球のほぼ中央に向かって刺入して硝子体を約 1ml 採取した．またほぼ同時に心腔内より約 5ml の動脈血を採取し，直ちに 3,000rpm で10分間遠心して血清を分離した．採取した前房水，硝子体および血清を－80℃にて凍結保存して FLCZ 濃度測定に供した．なお FLCZ 25mg/kg 静注では体重 2kg のウサギに対して 25ml と大量静注を要するので，約10分間かけて緩徐に注入し，静注後

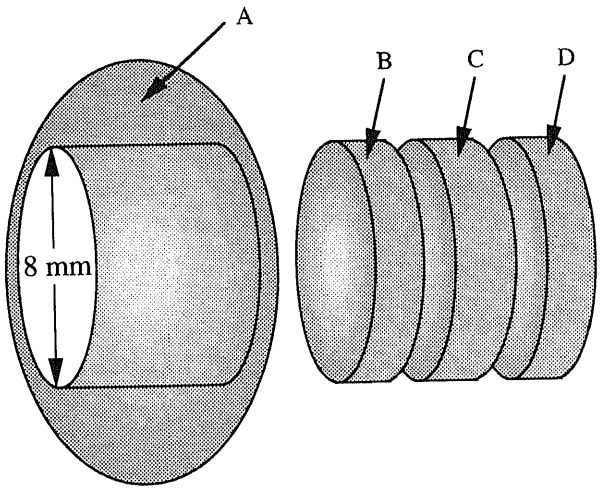

Fig. 1. Schematic illustration of sectioning the lens. A, equatorial ring; B, anterior part; C, nuclear part; D, posterior part.

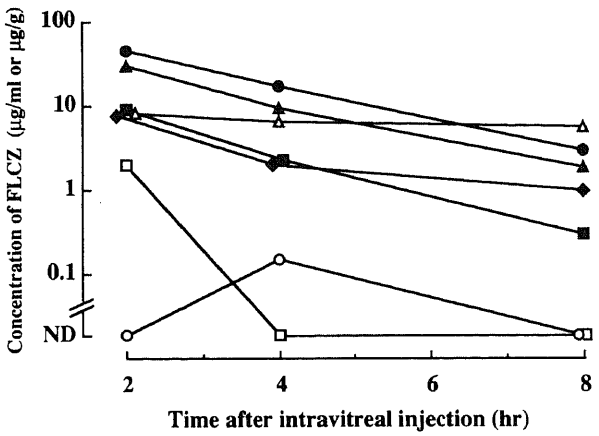

Fig. 3. Concentration of FLCZ in the ocular tissues of albino rabbits 2, 4 and 8 hr after intravitreal injection of 200 μg FLCZ. Each data point shows the mean. □, cornea; ■, iris-ciliary body; △, lens; ▲, choroid-retina; ◆, sclera; ○, aqueous humor; ●, vitreous humor. FLCZ was not detectable in the optic nerve, the cerebrum or the serum at the all times after injection. ND, not detectable.

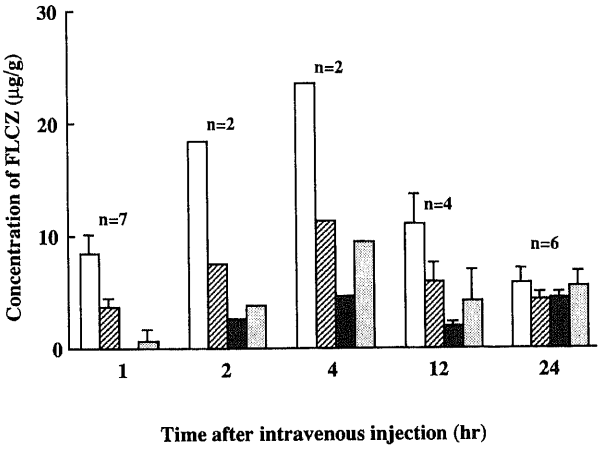

Fig. 2. Concentration of FLCZ in the lens after an intravenous injection of 25 mg/kg FLCZ. □, equatorial ring; ▨, anterior part; ▩, nuclear part; ▩, posterior part. Each data bar shows the mean+SD or the mean only. Numerals above data bars indicate number of specimens.

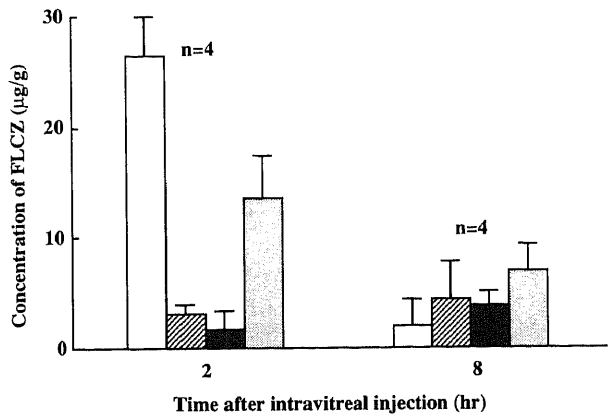

Fig. 4. Concentration of FLCZ in the lens after an intravitreal injection of 200 μg FLCZ. □, equatorial ring; ▨, anterior part; ▩, nuclear part; ▩, posterior part. Each data bar shows the mean+SD. Numerals above data bars indicate number of specimens.

の時間は静注終了時から計測した．

2．正常眼における眼組織内移行

体重 2～3kg の白色ウサギ13匹26眼を使用した．I-1 と同様に耳静脈より FLCZ 25mg/kg を静注し，1，2，4，12および24時間後にそれぞれ4匹，1匹，1匹，4匹および3匹において両眼球を摘出した．その直後に心腔内より血液を採取し，血清を遠心分離した．摘出した眼球より前房水を約0.15ml吸引採取した後に液体窒素にて眼球を凍結し，角膜，虹彩毛様体，水晶体，硝子体，網脈絡膜および強膜に分離した．一部のウサギでは眼球を凍結せずに眼球組織の分離を実体顕微鏡 SMZ-2T (ニコン，東京) 下で行い，水晶体を－20℃で凍結した後に Müller ら[14]の方法に準じて直径 8mm のトレパンで赤道部と中心部に分割し，さらに中心部を前皮質部，核部，後皮質部に分割した (図1)．また血液採取後に頭蓋骨を除去し視覚領に相当する部位の両側の大脳皮質および視神経を摘出した．血清，前房水および硝子体を除く各組織の湿重量を測定した後，すべての検体を－80℃で凍結保存し，FLCZ 濃度測定に供した．

3．硝子体切除眼での検討

白色ウサギ26匹を用いた．4匹では両眼に，22匹では片眼に硝子体切除術を行った．眼内灌流液には BSS PLUS® (参天製薬，大阪) を使用した．硝子体切除術に先立ち，瞳孔は0.5%トロピカミドと0.5%塩酸フェニレフリン (ミドリン®P，参天製薬) の点眼により十分に散大された．

1）硝子体切除術

塩酸ケタミン (ケタラール®50，三共，東京) およびキシラジン塩酸塩 (セラクタール®2%注射液，バイエル，レバークーゼン，ドイツ) の7：1の混合液 0.5～1ml/kg の筋肉内注射によって全身麻酔[15]を行い，四肢および頭部を固定した．ついで眼球を前方に脱臼させ，硝子体切除術を開始した．まず手術用顕微鏡 OMS-80GT (トプコン，東京) 下で切開予定の強膜創に対応した部位の結膜を切開し，角膜輪部から約 2mm の強膜2か所にマイクロビトレオレチナルブレード (アルコン，テキサス，アメリカ合衆国) で小切開を加え，一方 (右眼の場合には9時方向，左眼の場合には3時方向) にはインフュージョンニードルを 5-0 ダクロン (日本レダリー，東京) を用いて縫着して眼内灌流液 (BSS PLUS®，参天製薬) を灌流し，他方の切開創から硝子体切除器具 (オキュトーム®，バークレイ，カリフォルニア，アメリカ合衆国) を眼内に挿入し (ほぼ6時方向から)，水晶体に接触しないよう留意しながらできるかぎり硝子体を切除した後，この器具を抜去し 7-0 バイクリル (ジョンソン・エンド・ジョンソンメディカル，東京) を用い強膜創を縫合し，次にインフュージョンニードルを抜去して同様の縫合糸を用い創を閉じた．術直後に著しい低眼圧を認めた場合には同様の眼内灌流液を硝子体腔内に注入して眼圧を調整した．結膜切開創を 7-0 バイクリル (ジョンソン・エンド・ジョンソンメディカル) で縫合した．一眼についての硝子体切除時間は約10分間で，眼内灌流量は約 50ml であった．眼内灌流液の温度を20～24℃とした．硝子体切除術の際には硝子体手術用コンタクトレンズを用い，手術用顕微鏡 OMS-80GT (トプコン) の同軸照明のみで眼内を観察しながら手術を行い，眼内照明を用いなかった．

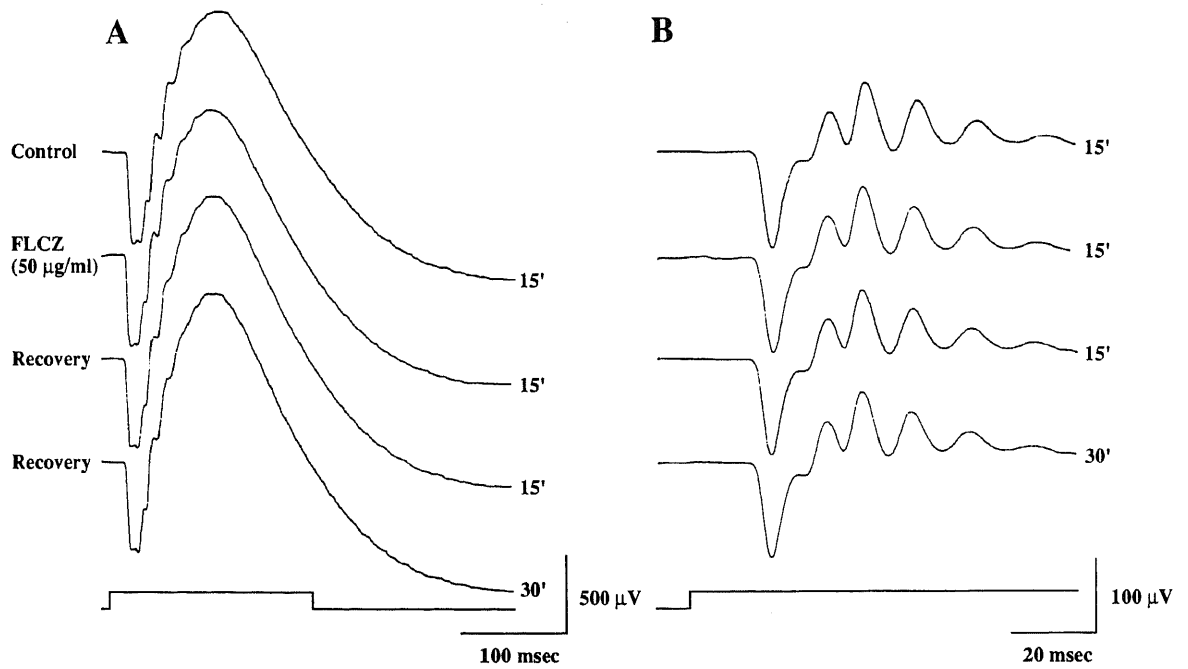

Fig. 5. Effects of 50 μg/ml FLCZ on the ERG of the in-vitro eye-cup of an albino rabbit. The a-wave, the b-wave and the oscillatory potentials were not deteriorated by 50 μg/ml FLCZ. Amplifier time constant was 0.3 sec in A and 3 msec in B. Responses in A and B were obtained from the same eye-cup. The uppermost traces show responses during initial perfusion with Nagayama's control solution. The second traces show responses during perfusion with the FLCZ-containing solution. The third and fourth traces show responses after the FLCZ-containing solution was washed out by Nagayama's control solution. Upward deflection indicates positivity of the vitreous side in reference to the scleral side in all figures showing the ERG in the present paper. Rectangular waveforms at the bottom indicate the onset (upward deflection) and cessation (downward deflection) of stimulus light in this figure and all other figures showing the ERG. Numerals at the right indicate the time after onset of perfusion with the FLCZ-containing solution or Nagayama's control solution. The stimulus intensity was 3.5×10^2 lux at the retina.

2）FLCZ 投与および検体の採取方法

硝子体切除術を行ったウサギのうち，手術直後，1日後，1週後および4週後にそれぞれ8匹，5匹，7匹および6匹に耳静脈から FLCZ 25mg/kg を静注した．すべてのウサギにおいて静注1時間後に眼球摘出および採血を行った．I-2 と同様に前房水を吸引採取した後に摘出眼球を凍結し，角膜，虹彩毛様体，水晶体，硝子体，網脈絡膜および強膜に分離した．血液からは血清を遠心分離し，さらに頭蓋骨を除去して両側の大脳皮質および視神経を採取した．以上の検体を−80℃で凍結保存して FLCZ 濃度測定に供した．

4．連日投与での検討

白色ウサギ14匹を使用した．このうち白色ウサギ3匹の片眼および4匹の両眼には I-3 と同様に硝子体切除術を行った．各ウサギに FLCZ 25mg/kg を1日1回毎日ほぼ同時刻（午後5時から6時）に耳静脈から静注した．硝子体切除術を行ったウサギでは1回目の静注を手術直後に行った．

静注開始第4日（静注5回目）および第7日（静注8回目）の静注1時間後にそれぞれ8匹（正常眼9眼，硝子体切除眼7眼）および6匹（正常眼8眼，硝子体切除眼4眼）において I-2 と同様に眼球摘出および採血を行った．前房水を吸引採取した後に摘出した眼球を液体窒素にて凍結して角膜，虹彩毛様体，水晶体，硝子体，網脈絡膜および強膜の各組織に分離し，血液から血清を分離した．さらに大脳皮質および視神経を採取した．以上の検体を−80℃にて凍結保存し FLCZ 濃度測定に供した．

5．FLCZ 濃度測定の方法

高速液体クロマトグラフィー（high performance liquid chromatography, HPLC）により FLCZ 濃度を測定した．カラムには ODS-M（内径 4.6mm，長さ 250mm，島津テクノリサーチ，京都）を用い，送液ユニット LC-4A（島津製作所，京都），紫外線吸光度検出器 SPD-2AS（島津製作所）およびデータ処理装置 C-R2AX（島津製作所）を使用した．注入量を 60μl とし，移動相として0.5%酢酸アンモニウム（pH 3.8）とアセトニトリルの3：1の混合液を用いて毎分 1ml で展開し，260nm の吸光度を用いて FLCZ を検出した．カラム温度を室温とした．

試料の処理を以下のように行った．内部標準物質であるフルコナゾール2,4-ジクロル体を 80μg/ml に溶解したメタノール溶液 0.5ml を試験管に取り，窒素気流下で溶媒を留去し，その試験管に各組織（角膜，虹彩毛様体，水晶体，網脈絡膜，強膜，視神経および大脳皮質）および 0.5N 水酸化ナトリウム 3ml および酢酸エチル 8ml を加えて粉砕均等化し，これを10分間遠心分離した．液体検体である血清，前房水および硝子体ではそれぞれ 0.2ml, 0.1ml および 0.2ml にフルコナゾール2,4-ジクロル体 40μg を加え，これに 0.5N 水酸化ナトリウム 0.5ml および酢酸エチル 5ml を加え振盪，遠心分離を各5分間行った．これ以降の処理は組織検体と液体検体とでは同様であった．酢酸エチル層に1N塩酸 2ml を加え振盪，遠心分離を各5分間行った．この塩酸層に5N水酸化ナトリウム 1ml および酢酸エチル 5ml を加えて，振盪，遠心分離を各5分間行った後，酢酸エチル層を窒素ガスにて濃縮・乾固し，前述の移動層 0.5ml に溶解して HPLC による濃度測定に用いた．以上の方法による FLCZ の回収率は約90%であった．液体検体の場合には得られた FLCZ 濃度と処理に用いた検体量（0.2 または 0.1ml），組織検体

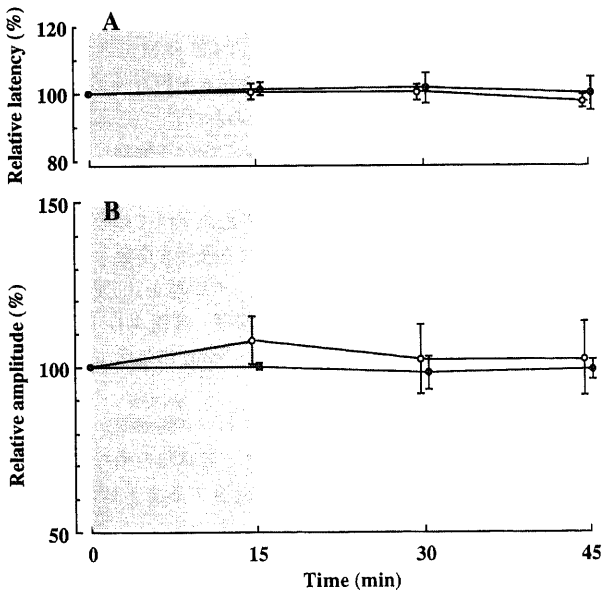

Fig. 6. Changes of the latency (A) and amplitude (B) of the a-wave with the FLCZ-containing solution in the in-vitro eye-cup of the albino rabbits. The concentrations of FLCZ in the irrigation solution were 20 μg/ml (○) and 50 μg/ml (●). The stimulus intensity was 3.5×10^2 lux. The percentages of the latencies and amplitudes in the FLCZ-containing solutions to those at the end of the initial perfusion of the control solution (time 0), (tested solution/control solution)×100, were plotted against time after onset of perfusion with the FLCZ-containing solution (time 0). The shaded areas indicate the period of perfusion of the FLCZ-containing solution. Each data point shows the mean±SD.

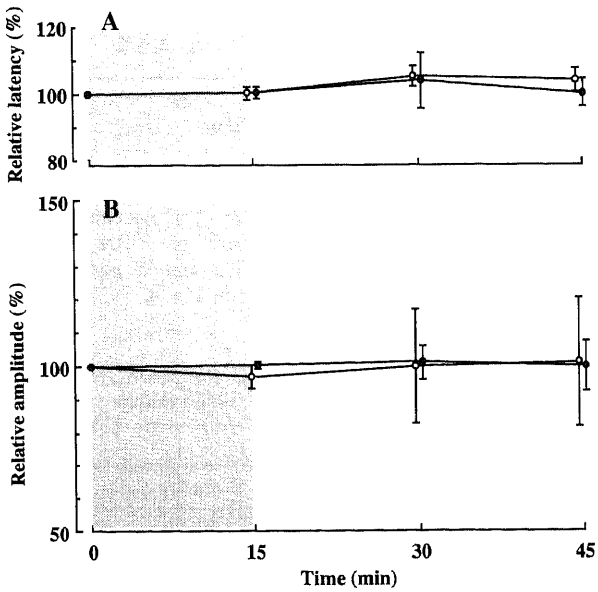

Fig. 7. Changes of the latency (A) and amplitude (B) of the b-wave with the FLCZ-containing solution in the in-vitro eye-cup of the albino rabbits. The concentrations of FLCZ in the irrigation solution were 20 μg/ml (○) and 50 μg/ml (●). Other conditions were the same as in Fig. 6.

の場合には得られた FLCZ 濃度と湿重量から，それぞれ 1ml または 1g あたりの FLCZ 量 (μg/ml または μg/g) を算出した．

ウサギ血清に FLCZ を添加した試料を用いて検量線を作成した．予備実験においてウサギの前房水，硝子体，角膜および水晶体について既知量の FLCZ を添加し，血清で作成した検量線で測定したところ，ほぼ同濃度となったので，その他の眼組織においてもウサギ血清を用いて作成した検量線上で眼組織中 FLCZ 濃度を換算することが可能であると判断した．測定限界は 0.1μg/ml または μg/g であった．測定値を平均値±標準偏差 ($\bar{x}$±SD) で表示した．2群間の有意差検定には Wilcoxon 順位和検定を用い，危険率 5％未満の場合を有意差ありと判定した．また，統計学的処理にあたっては，測定限界未満を 0 とした．

Ⅱ．硝子体内注入後の眼内動態

1．硝子体内注入法

FLCZ 注入前に硝子体内注入による眼圧上昇を防ぐために，前房水を吸引排除した．すなわち，まずウサギに0.4％塩酸オキシブプロカイン (ベノキシール®，参天製薬) による点眼麻酔を行った後に球結膜上より上直筋付着部を固定鑷子で固定し，角膜輪部より 1ml 用注射器に接続した26ゲージ注射針を前房内にその切り口を角膜側に向け約 4mm 刺入し，約 0.1ml の前房水を排除した．次に上直筋付着部を固定鑷子で固定したまま，1ml 用注射器に接続した30ゲージ注射針を用いて角膜輪部から後方約 2mm で硝子体内ほぼ中央に向かって針の切り口を水晶体側に向けて刺入し，FLCZ を緩徐に注入した．

2．硝子体内注入後の眼内動態

体重 2～3kg の白色ウサギ11匹を使用した．上記の方法を用いて両眼の硝子体内に FLCZ 200μg {静注用 0.2% FLCZ (ジフルカン®注射液 0.2%，ファイザー製薬) 0.1ml} を注入した．硝子体内注入 2，4 および 8 時間後にそれぞれ 4 匹，3 匹および 4 匹において両眼球を摘出し，血液を採取した．I-2 と同様に前房水を採取した後に摘出した眼球を液体窒素で凍結し，角膜，虹彩毛様体，水晶体，硝子体，網脈絡膜および強膜に分離した．FLCZ 静注 2 時間後および 8 時間後のウサギの一部では I-2 と同様に眼球を凍結せずに眼球組織を分離し，水晶体を −20℃で凍結した後に赤道部，前皮質部，核部，後皮質部に分割した．血液から血清を分離し，大脳皮質および視神経も同様に採取し，以上の検体を −80℃で凍結保存して FLCZ 濃度測定に供した．FLCZ 濃度を I-5 と同様に HPLC 法にて測定した．予備実験として白色ウサギ 4 匹を用い，右眼のみに FLCZ 200μg の硝子体内注入を行なった．注入 2 時間後および 4 時間後にそれぞれ 2 匹から両眼を摘出し，上記と同様の検体を採取して FLCZ 濃度を測定したところ，FLCZ 硝子体内注入を行なわなかった左眼ではすべての検体で FLCZ は検出されなかった．よって，両眼の硝子体内に FLCZ 注入を行なっても対側眼内の FLCZ 濃度に影響はないと考えられた．

Ⅲ．網膜への影響 (摘出眼杯 ERG における検討)

体重 2～3kg の白色ウサギ 5 匹10眼を使用した．ウサギに24時間以上の暗順応を行った後に，暗赤色光下にて以下の手順によって網膜，脈絡膜および強膜からなる眼杯を作製した．すなわち I-1 と同様に眼球を摘出し，摘出した眼球を100％酸素ガスを 1.0 l/分の割合で通気した対照浸漬液 (容積 4 l，組成は後述) に入れ，角膜輪部より後極側約 2～3mm の位置で前後に分割し，後半の眼杯を実験に使用した．

浸漬液容器は 2 個の相対するプラスチック製容器から成り，各容器の容積はともに 125ml であった．各容器の相対応する面にはウサギ眼の強膜曲率半径にほぼ適合するように半球状の

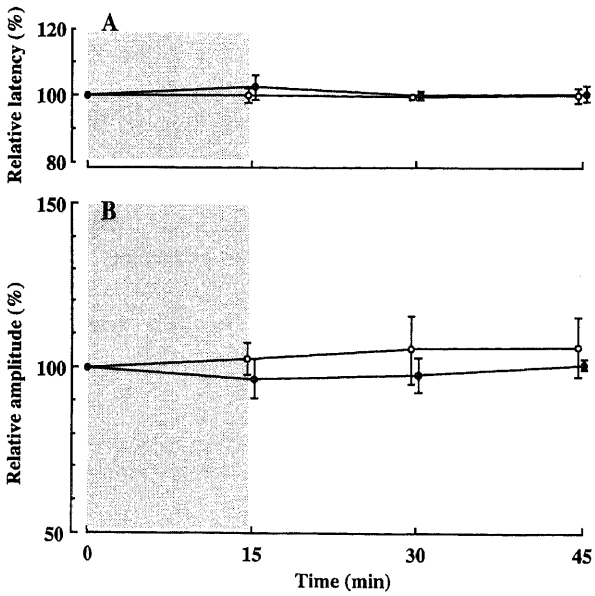

Fig. 8. Changes of the latency (A) and amplitude (B) of the second peak (O_2) of the oscillatory potential with the FLCZ-containing solution of the in-vitro eye-cup of the albino rabbits. The concentrations of FLCZ in the irrigation solution were 20 μg/ml (○) and 50 μg/ml (●). Other conditions were the same as in Fig. 6.

Table 1. Concentration of FLCZ in the aqueous humor, the vitreous humor and the serum after an intravenous injection of 5 mg/kg or 25 mg/kg FLCZ in albino rabbits

Time after injection (hr)	Concentration of FLCZ ($\bar{x}$ ±SD, μg/ml)					
	5 mg/kg I.V.			25 mg/kg I.V.		
	Aqueous	Vitreous	Serum	Aqueous	Vitreous	Serum
1	2.87±0.22 (6)	1.72±0.31 (6)	4.60±0.72 (3)	16.54±2.67 (10)	9.54±3.35 (10)	22.72±3.39 (5)
2	3.34±0.85 (8)	2.45±0.77 (8)	4.53±1.36 (4)	18.00±1.58 (8)	15.28±6.81 (8)	22.68±2.29 (4)
4	2.89±0.54 (8)	2.51±0.45 (8)	3.38±0.61 (4)	14.65±2.02 (8)	14.50±3.42 (8)	17.13±3.60 (4)
12	2.25±0.49 (6)	2.08±0.13 (6)	2.50±0.20 (3)	11.50±1.09 (8)	12.33±2.11 (8)	13.23±0.95 (4)

Numerals in parentheses indicate number of eyes or rabbits tested.
I.V., intravenous injection.

カップが取付けられており，この中央には直径約10mmの孔があり，この孔を塞ぐように両容器間に眼杯を固定した．灌流液を塩化ビニール製のチューブ（内径 3mm）に流し，ウオーマーコイルを経由することによって31±1℃に加温した後に，浸漬液容器の底部より流入させ，上部から吸引排除して各容器に25ml/分の流速で灌流した．また各容器の浸漬液には100%酸素ガスを 1.0 l/分の割合で通気し，浸漬液の pH を8.0～8.2に維持した[16]．

対照浸漬液には長山第Ⅱ液[17]を使用した．長山第Ⅱ液の組成は NaCl 119.50mM, KCl 3.60mM, $CaCl_2$ 1.15mM, $MgSO_4$ 1.06mM, グルコース 26.00mM, $NaHCO_3$ 25.10mM および NaH_2PO_4 3.00mM である．その浸透圧は 300±3mOsmol であり，FLCZ を 50μg/ml (163μM) に添加した場合にもこの範囲内にとどまった．

刺激光源には直流安定化電源 Xenon ARC45 (Xebex，東京) にて点灯したキセノン・アーク灯を光源とする網膜電図 (electroretinogram, ERG) 用刺激装置（三双製作所，東京）を使用した．光路には中性フィルター，中性ウエッジおよび集光レンズが組み込まれ，刺激光強度を調節して得られた白色矩形波光（網膜面照度 3.5×10^2 lux，持続時間200ミリ秒）を直径約6mm の硝子繊維束を介して刺激光を眼杯網膜側に照射した．眼杯をはさむ2個の浸漬液容器内に固定された一対の銀・塩化銀電極（臨床心電図用円盤状電極 NS 型，日本光電，東京）によって ERG を導出し，交流増幅器（366型ポリグラフ，日本電気三栄，東京）で増幅した後，信号加算機（シグナルプロセッサー 7TO7A，日本電気三栄）上に表示した．表示された ERG 波形を ERG 解析プログラム（参天製薬）を用いてコンピューターに入力し解析を行った．増幅器の時定数をａ波およびｂ波記録には0.3秒，律動様小波 (oscillatory potential, OP) の記録には３ミリ秒とした．

対照浸漬液を灌流して ERG（ａ波，ｂ波および OP）を記録し，その15分後に再び ERG を記録して両者の波形の振幅および潜時に変化がないことを確認してこの波形を対照波形とした．対照浸漬液を20あるいは 50μg/ml に FLCZ を添加した浸漬液に交換し15分後に ERG を記録した後，浸漬液を対照浸漬液にもどしてさらに15および30分後に ERG を記録した．

ERG のａ波およびｂ波の振幅値をａ波では基線からａ波の底まで，ｂ波ではａ波の底よりｂ波の頂点までとした．OP 振

Table 2. Penetration of FLCZ into the aqueous humor and the vitreous humor after an intravenous injection of 5 mg/kg or 25 mg/kg FLCZ in albino rabbits

Time after injection (hr)	Ratio to FLCZ concentration in the serum ($\bar{x}\pm$SD)			
	5 mg/kg I.V.		25 mg/kg I.V.	
	Aqueous	Vitreous	Aqueous	Vitreous
1	0.63±0.08 (6)	0.37±0.04 (6)	0.73±0.10 (10)	0.41±0.09 (10)
2	0.75±0.06 (8)	0.54±0.05 (8)	0.79±0.03 (8)	0.66±0.25 (8)
4	0.85±0.06 (8)	0.74±0.04 (8)	0.85±0.06 (8)	0.85±0.06 (8)
12	0.89±0.13 (6)	0.84±0.07 (6)	0.87±0.03 (8)	0.93±0.12 (8)

Numerals in parentheses indicate number of eyes tested.
I.V., intravenous injection.

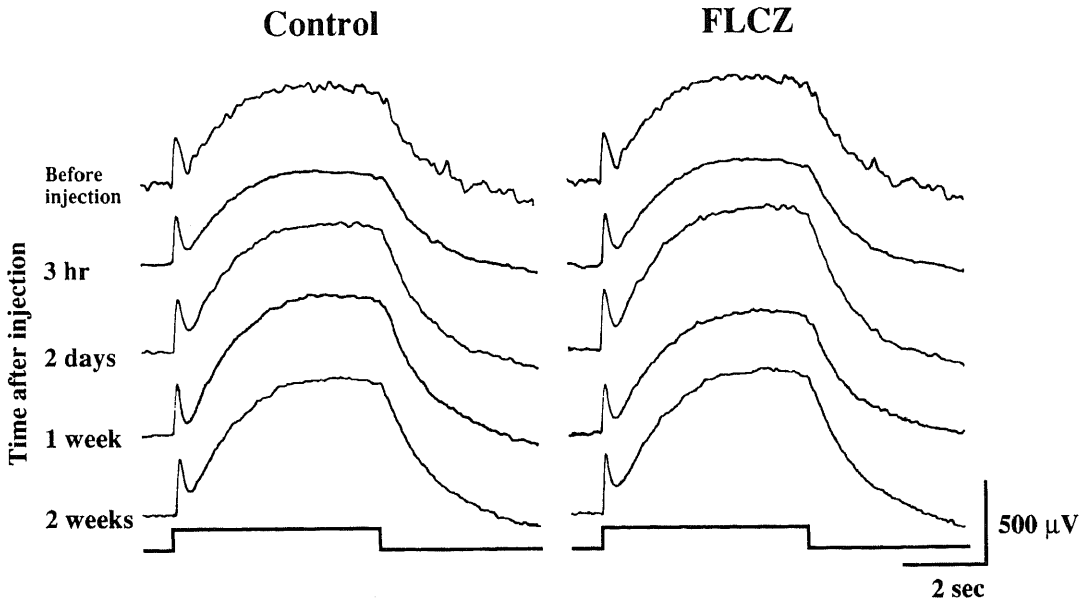

Fig. 9. Effects of an intravitreal injection of 200 μg FLCZ on the ERG of an albino rabbit. The b- and c-waves were not deteriorated throughout the follow-up period up to 2 weeks. The right and left tracings show the responses from the FLCZ-injected eye and the control fellow eye, respectively. Direct-coupled amplification. Stimulus intensity was 5 lux at the cornea. Stimulus duration was 5 sec.

幅の計測は米村ら[18]の方法に準じた．略記すると，時定数3ミリ秒で記録したOPの上向き（硝子体側陽性方向）および下向きの振れをそれぞれ頂点潜時の短い順に O_1 および O_2, N_1 および N_2 と呼称した．O_1 振幅はERG波形のa波の底から O_1 に至る曲線と基線との交点と N_1 を結ぶ直線に O_1 の頂点より垂線をおろしその交点までを，O_2 振幅は N_1 と N_2 を結ぶ直線と O_2 の頂点よりの垂線との交点までとした．

対照波形のa波，b波およびOPの振幅ならびに頂点潜時のそれぞれの値を100%として，FLCZ添加後および対照灌流液に戻した後に記録されたそれぞれの波形の値を百分率で表して検討した．対照波形に対する有意差検定にはWilcoxon符号付き順位和検定を用い，危険率5%未満の場合を有意差ありと判定した．

Ⅳ．網膜への影響（硝子体内注入）

1．硝子体内注入法

Ⅱ-1と同様に片眼の硝子体内にFLCZ 200μg｛静注用0.2% FLCZ（ジフルカン®注射液0.2%，ファイザー製薬）0.1ml｝を，他眼（僚眼）の硝子体内には対照として眼内灌流液（オペガード®MA，千寿製薬，大阪）0.1mlを注入した．Ⅱ-2の予備実験において，片眼の硝子体内にFLCZ 200μgを注入した場合の他眼の眼組織内のFLCZ濃度はすべて検出限界未満であったので，本研究では同一個体の片眼に被験薬剤（FLCZ）を注入して被験眼とし，眼内灌流液（オペガード®MA，千寿製薬）のみを注入した他眼を対照眼として同時にERGあるいは視覚誘発電位（visually evoked potential, VEP）を記録し，両眼を比較することによって被験薬剤の網膜への影響を検討した．

Table 3. Concentration of FLCZ in the ocular tissues, the cerebrum and the serum after an intravenous injection of 25 mg/kg FLCZ in albino rabbits

Tissues	Concentration of FLCZ ($\bar{x}\pm$SD or $\bar{x}$, μg/ml or μg/g tissue)				
	Time after injection (hr)				
	1	2	4	12	24
Cornea	14.85±1.31 (8)	24.55 (2)	18.70 (2)	16.50±1.93 (8)	5.78±1.39 (4)
Iris-ciliary body	17.76±1.97 (8)	19.65 (2)	16.20 (2)	16.28±2.02 (8)	3.53±0.61 (6)
Lens	2.33±0.84 (8)	——	——	7.43±0.64 (3)	4.92±0.66 (6)
Choroid-retina	14.49±2.69 (8)	18.70 (2)	16.65 (2)	14.50±2.36 (7)	4.00±0.82 (6)
Sclera	14.70±4.67 (8)	14.25 (2)	14.65 (2)	10.90±2.50 (8)	3.00±0.70 (6)
Aqueous	13.50±3.80 (8)	18.40 (2)	14.45 (2)	11.50±1.09 (8)	2.38±0.61 (6)
Vitreous	10.68±2.44 (8)	17.55 (2)	15.95 (2)	12.33±2.11 (8)	2.98±0.54 (6)
Optic nerve	21.71±1.87 (7)	20.50 (2)	17.25 (2)	12.13±2.60 (6)	ND (6)
Cerebrum	18.90±2.97 (8)	20.15 (2)	15.25 (2)	12.86±2.18 (8)	3.37±0.52 (6)
Serum	19.47±3.62 (4)	22.40 (1)	18.00 (1)	13.23±0.95 (4)	3.20±0.95 (3)

Numerals in parentheses indicate number of eyes or rabbits tested.
ND, not detectable. ——, not, tested.

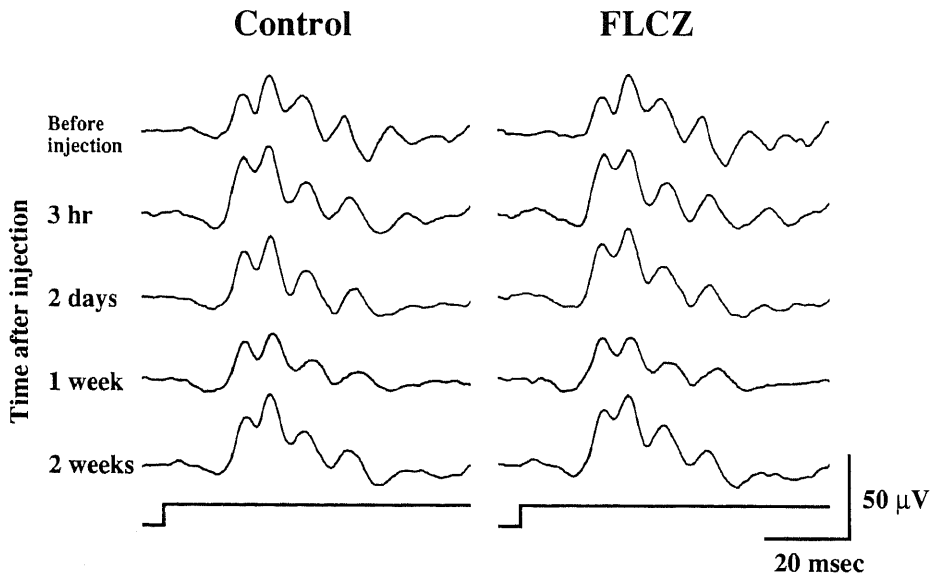

Fig. 10. Effects of an intravitreal injection of 200 μg FLCZ on the oscillatory potential of an albino rabbit. The right and left tracings show the responses from the FLCZ-injected eye and the control fellow eye, respectively. The oscillatory potential was not deteriorated. Each trace shows the averaged waveform of 10 responses.. Amplifier time constant was 3 msec. Stimulus intensity was 5×10^3 lux at the cornea. Stimulus frequency was 1/3 Hz. Stimulus duration was 500 msec.

なお薬剤の硝子体内注入後（注入後3時間の ERG の記録後）に眼底検査を行い眼底に出血あるいは網膜剝離などの注入による重篤な偶発症がないことを確認した．

2．電気生理学的検査

ERG 記録前に瞳孔をミドリン®P（参天製薬）の点眼により十分に散大した．I-3-1）の硝子体切除術の際と同様に，塩酸ケタミン（ケタラール®50，三共）およびキシラジン塩酸塩（セラクタール®2％注射液，バイエル）の7：1の混合液 0.5～1ml/kg の筋肉内注射[15]によって全身麻酔を行った．ERG 記録用電極として，銀・塩化銀電極 NT-614U（日本光電）を生理食塩水で満たした 10ml 注射筒の中に置き，注射筒の先端にシリコンチューブを接続しウサギ用に作製した開瞼器にこのチューブの他端を取り付け，この先端に充填した白綿を角膜輪部に置いた．不関電極にも同様の電極を使用し，剃毛した頭頂部皮膚正中線上に置いた．刺激光はⅢと同様に ERG 用光刺激装置（三双製作所）を用いた．刺激光はレンズにて集光後にY字型硝子繊維束を介して両眼に送られた．硝子繊維束の射出端（直径 4mm）を両眼の角膜前方約 1cm に置いた．これらの準備を 8 lux の赤色光下で行った．

角膜面照度 5 lux，持続時間5秒の単発矩形波光（b波およびc波用）あるいは角膜面照度 5×10^3 lux，持続時間0.5秒，刺激頻度 1/3Hz の矩形波光（a波，b波および OP 用）によって惹起された ERG を両眼同時に記録した．a波，b波および OP を観察するには，ERG 電位を交流増幅器 AB-622M（日本光電）で増幅し，FM データレコーダー NFR-3515（ソニー，東京）に記録し，応答加算平均装置 ATAC-350（日本光電）で10回加算平均した波形を写真撮影した．増幅器の時定数をa波およびb波では2秒，OP では3ミリ秒とした．c波の観察には ERG 電位を直流増幅器 RM-5（日本光電）で増幅し，ペンレコーダー WX4401（グラフィック，東京）で描出した．

FLCZ 硝子体内注入2週後の ERG 記録終了後に VEP を記録した．VEP 用関電極としてコルチコ電極 Type UD（ユニークメディカル，東京）を用い，ラムダ（lambda）の前方 6mm かつ側方 6mm の大脳硬膜上[19)~21)]（左方および右方にそれぞれ1個）に置いた．VEP の不関電極として ERG と同様の銀・塩化銀電極 NT-614U（日本光電）を用い，前頭部皮膚切創上に置いた．VEP 電位を交流増幅器 AB-622M（日本光電）で増幅し，応答加算平均装置 ATAC-350（日本光電）で10回加算平均した．増幅器の時定数を2秒とした．刺激光強度，持続時間および刺激頻度はそれぞれ 5×10^3 lux（角膜面照度），1秒および 0.2Hz であった．

体重 2～3kg の白色ウサギ4匹および有色ウサギ2匹を使用し，以上の方法で FLCZ 硝子体内注入前および注入3時間，2日，1週および2週後に ERG を，また2週後には VEP も記録した．

「成績」で示す ERG および VEP 波形では上向きの振れが関電極側の陽性を意味する．ERG のa波，b波および OP 振幅の計測はⅢの摘出眼杯 ERG と同様とした．c波の振幅値は基線からc波の頂点までとした．またウサギ VEP には初期陽性応答と遅発陰性徐波がみられる．初期陽性応答では個体差が小さいが，遅発陰性徐波では種々の要因によって変化しやすいという[22)]．したがって本研究では VEP の初期陽性応答すなわち

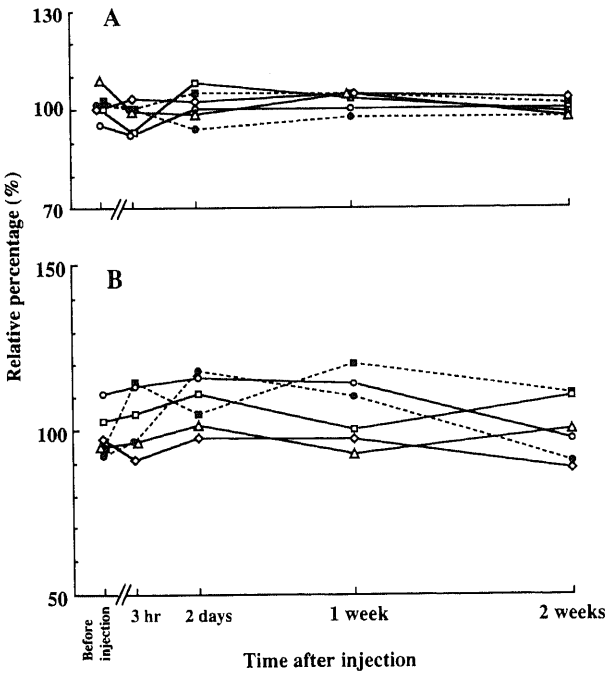

Fig. 11. Changes of the latency (A) and amplitude (B) of the a-wave induced by an intravitreal injection of 200 μg FLCZ in albino and pigmented rabbits. The percentages of the latencies and amplitudes in the tested eye to those in the control fellow eye, (tested eye / control fellow eye)×100 (%), were plotted against time before and after injection in this figure and Figs. 12～14. Stimulus intensity was 5×10^3 lux at the cornea. The same symbols indicate the same rabbits in this figure and Figs. 12～14. —○—, albino rabbit 1; —□—, albino rabbit 2; —△—, albino rabbit 3; —◇—, albino rabbit 4; ···●···, pigmented rabbit 1; ···■···, pigmented rabbit 2.

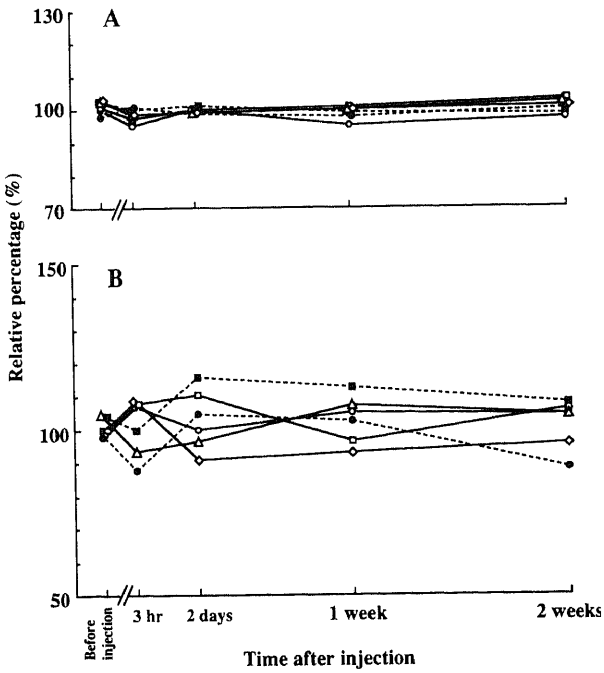

Fig. 12. Changes of the latency (A) and amplitude (B) of the b-wave induced by an intravitreal injection of 200 μg FLCZ in albino and pigmented rabbits. Stimulus intensity was 5 lux at the cornea. Other conditions were the same as in Fig. 11.

早期成分の頂点潜時を指標とした．ウサギ VEP の早期成分の頂点潜時には15.1～19.5ミリ秒[23]，19～28ミリ秒[24] および30～40ミリ秒[22] などの報告があるが，本研究の対照眼を刺激することによって誘起された VEP の早期成分の頂点潜時は20～30ミリ秒であり，これらの値にほぼ近似していた．

ERG 波形は刺激および記録条件を一定に保っても記録時毎の電極の位置，電極と生体間の電気抵抗，動物の全身状態などの些細な差異によっても影響を受ける[25)~27)]．このため長期間にわたる慢性実験において ERG を反復して記録する際に ERG 波形に変化を来たし得る諸因子の影響を完全に排除することは不可能であり，ERG の変動に対する有意性の判定が問題となる．また ERG の個体内変動（日内変動，日差変動など）を避けることはできない．Lawwill[26] はウサギ ERG（a 波および b 波振幅）日差変動を検討し，同一眼の日差変動が左右眼の間での相違よりも大きいので，ウサギ ERG 変化を長期にわたって観察するには片眼を被験眼とし他眼を対照として左右眼で比較することが適切であると報告した．ゆえに本研究では日内変動の影響をなるべく少なくするために ERG 記録を1日のうち一定時間帯（午後2時～6時）に行い，ERG 変化については左右眼で比較検討を行った．すなわち硝子体内注入前および注入後の各測定時点に記録した対照眼の a 波，b 波，c 波および OP の振幅を100％として，薬剤注入眼のそれぞれの振幅変化を百分率（100×薬剤注入眼の振幅/対照眼の振幅）で表示した．Zachary ら[28] は b 波振幅が対照眼の振幅の平均値の86％以下を有意な減少と判定した．本研究での各波形の振幅変化に対する有意性の判定基準として Zachary ら[28] の報告ならびに硝子体内注入という手技の網膜に対する影響を考慮して b 波振幅の±20％以内の変化を有意とみなさなかった．a 波，b 波および OP の頂点潜時においても同様に百分率を求めて検討した．

3．組織学的検討

白色ウサギ2匹4眼および有色ウサギ1匹2眼にて，上記の ERG および VEP 記録後，すなわち片眼に FLCZ 200μg/0.1ml，他眼にオペガード®MA 0.1ml を硝子体内注入した2週後に I-1 と同様の方法で両眼球を摘出した．摘出する直前に前房水を約 0.1ml 吸引排除し，硝子体内に4％グルタールアルデヒド液－0.1Mリン酸緩衝液（GA 液）(pH 7.2) を 0.2ml 注入した．摘出眼球を 4% GA 液に1分間浸漬した後に，眼球の矢状面に沿って割面を入れ，さらに 2.5% GA 液に15分間浸漬固定した．ついで眼球を二分し，網膜に触れないように注意して硝子体を除去し，光学顕微鏡（光顕）用の標本は10％ホルマリン液

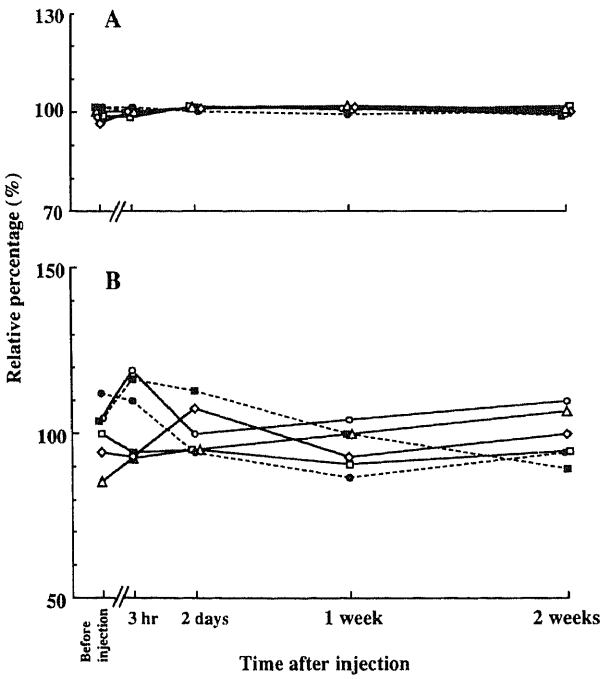

Fig. 13. Changes of the latency (A) and amplitude (B) of the second peak (O_2) of the oscillatory potential induced by an intravitreal injection of 200 μg FLCZ in albino and pigmented rabbits. Stimulus intensity was 5×10^3 lux at the cornea. Other conditions were the same as in Fig. 11.

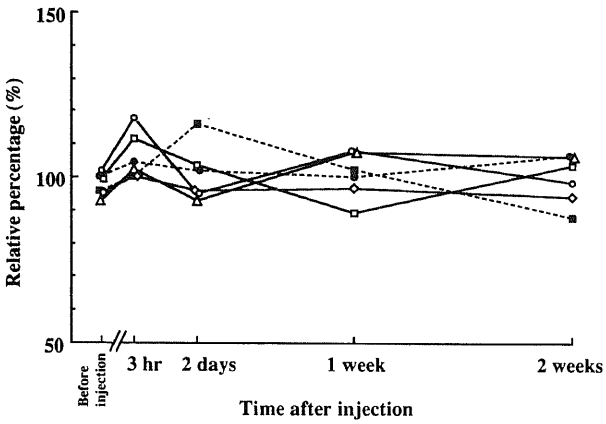

Fig. 14. Changes of the amplitude of the c-wave induced by an intravitreal injection of 200 μg FLCZ in albino and pigmented rabbits. Stimulus intensity was 5 lux at the cornea. Other conditions were the same as in Fig. 11.

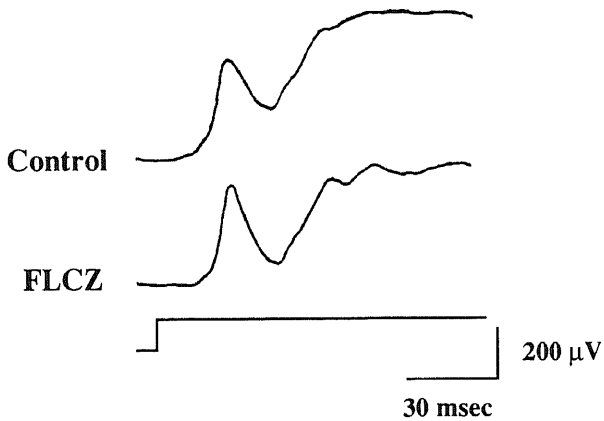

Fig. 15. Effects of an intravitreal injection of 200 μg FLCZ on the visually evoked potential (VEP) of an albino rabbit. The initial positive response of the VEP remained unchanged 2 weeks after injection. Each trace shows the averaged waveform of 10 responses. The uppermost and second traces show the responses to the stimulation of the control fellow eye and the FLCZ-injected eye, respectively. Amplifier time constant was 2 sec. Stimulus intensity was 5×10^3 lux at the cornea. Stimulus frequency was 0.2 Hz. Stimulus duration was 1 sec. Upward deflection indicates positivity of the electrode on the dura mater in this figure and Fig. 18. The upward deflection at the bottom trace indicated the onset on stimulus light.

中に，一部は電子顕微鏡（電顕）観察用に 2.5% GA 液に固定・保存した．光顕用の標本ではエタノール系列にて脱水し，パラフィン包埋を行い，5μm に薄切して HE 染色を施して観察した．電顕用の標本では1%オスミウム酸で後固定後，エタノール系列にて脱水した後エポキシ樹脂に包埋し，超薄切切片を作成して酢酸ウランおよび鉛の二重染色を施して電顕にて観察した．

Ⅴ．網膜への影響（連日静注）

白色ウサギ3匹6眼を用いた．Ⅰ-4 と同様に FLCZ 25mg/kg を1日1回ほぼ同時刻に静注した．静注前，静注第2日（静注3回目）および静注第7日（静注8回目）のそれぞれ1時間後に ERG および VEP を記録した．ERG および VEP の記録方法は Ⅳ-2 と同様であった．VEP 記録を長期的に反復して行うために以下のように脳硬膜上に電極を固定した．すなわち直径 0.3mm のステンレス線2本をよりあわせて作製した電極をラムダの前方 6mm かつ側方 6mm の左右各1か所の頭蓋骨にあけた直径約 2mm の孔を通じて脳硬膜上におき，歯科用セメント（松風パイル，松風陶歯製造，京都）で頭蓋骨に固定した．皮膚を縫合し電極の反対側を皮膚面から突出させこれを通じて VEP 電位を記録できるようにした．VEP 用電極の設置を FLCZ 投与の1か月以上前に行い，創口が安定したことを確認した後に実験に供した．

Ⅵ．臨床例での検討

真菌性眼内炎患者5例を対象として，FLCZ の血清中濃度および眼内濃度を検討した．硝子体手術を行った3例4眼では術前に FLCZ 200mg を点滴静注し，術中に硝子体を採取した．眼内灌流液（BSS PLUS®，参天製薬）の灌流を開始する前に空気灌流下で硝子体の採取を行い，被検硝子体への灌流液の混入を防止した．水晶体嚢外摘出術を同時に行った例では前房水および水晶体核も採取した．すなわち強角膜切開を行う前に角膜輪部から前房内に刺入した27ゲージ注射針を用いて前房水を吸引採取した．これらの検体の採取とほぼ同時に静脈血を採血して血清を遠心分離し，眼内からの検体と共に−80℃で凍結保存して FLCZ 濃度測定に供した．また，3例では手術以外の時期の FLCZ 投与中あるいは投与中止後に採血を行い，FLCZ 投与中あるいは投与中止後の血清中濃度を検討した．FLCZ 濃度の測定方法は Ⅰ-5 と同様であった．

成　　績

Ⅰ．全身投与後の眼内移行

1．正常眼における前房水および硝子体内移行

白色ウサギに FLCZ 5mg/kg または 25mg/kg を静注した後の前房水，硝子体および血清中の FLCZ 濃度の経時的変化を表1に，前房水および硝子体中 FLCZ 濃度の血清中濃度に対する比を表2に示した．5mg/kg および 25mg/kg 静注後の血清中 FLCZ 濃度はほぼ指数関数的に減少した．得られた濃度の実測値から回帰直線を求め，その勾配から得られた血清中 FLCZ 濃度の半減期は 5mg/kg および 25mg/kg 静注でそれぞれ12.8時間および14.0時間であった．前房水中および硝子体中 FLCZ 濃度は静注2時間後で最も高値であり，その減少速度は血清中濃度より遅かった．血清中濃度に対する硝子体中および前房水中濃度の比は時間とともに増大し（表2），12時間後には前房水，硝子体および血清中 FLCZ 濃度は同程度であった（表1）．各測定時点において 25mg/kg 静注後の血清，前房水および硝子体中 FLCZ 濃度は 5mg/kg 静注後のそれぞれの濃度の約5倍であった（表1）．

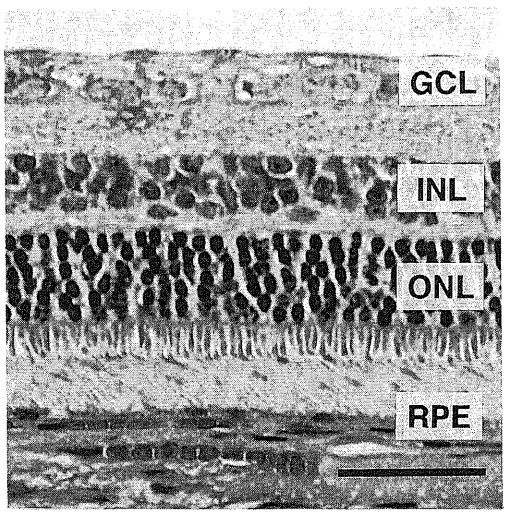

Fig. 16. Light micrograph of the retina of an albino rabbit 2 weeks after an intravitreal injection of 200 μg FLCZ. No abnormal change was observed in the retinal histology. HE stain. Bar indicates 40 μm. GCL, ganglion cell layer; INL, inner nuclear layer; ONL, outer nuclear layer, RPE, retinal pigment epithelium.

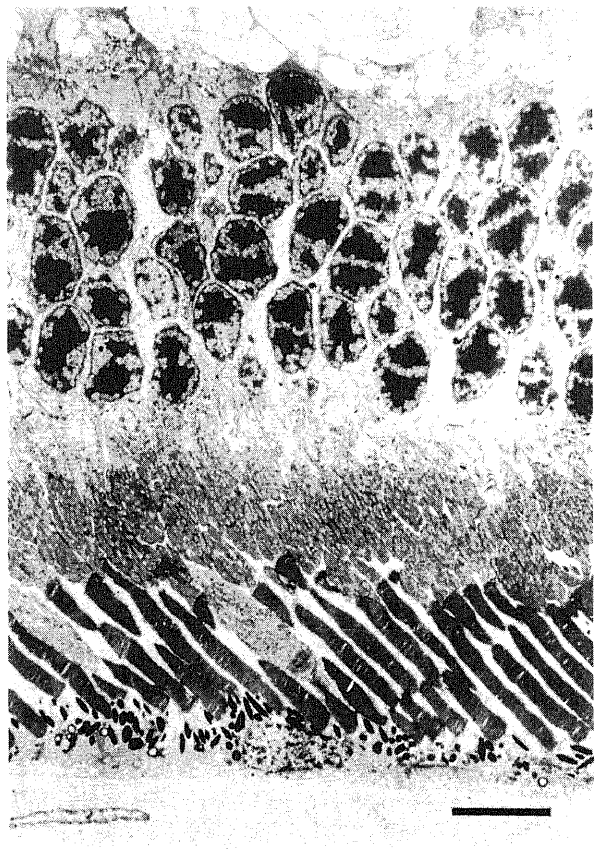

Fig. 17. Electron micrograph of the retina of a pigmented rabbit 2 weeks after an intravitreal injection of 200 μg FLCZ. No abnormal change was observed. Uranyl acetate and lead citrate stain. Bar indicates 5 μm.

2．正常眼における眼組織内移行

白色ウサギでの FLCZ 25mg/kg 静注1，2，4，12および24時間後の各検体中の FLCZ 濃度の平均値および標準偏差を表3に，各検体中 FLCZ 濃度の血清中濃度に対する比を表4に示した．静注1時間後では水晶体を除く各組織における FLCZ 濃度の平均値は 10μg/ml または μg/g 以上であり血清中濃度に対する比は0.5以上であった．12時間後でも角膜，虹彩毛様体，網脈絡膜，強膜，前房水，硝子体，視神経および大脳皮質において 10μg/ml または μg/g 以上の濃度の FLCZ が検出され，このうち視神経および大脳皮質を除く各組織においては1時間後の濃度との間に有意差はみられなかった．24時間後においては水晶体を除く各組織において FLCZ 濃度は1および12時間後の2分の1以下に減少したが，各組織中 FLCZ 濃度の血清中濃度に対する比は12時間後と同程度であった（表4）．水晶体では12時間後では1時間後の約3倍の濃度の FLCZ が検出され，また24時間後でも1時間後より高い濃度が得られ，他の組織とは異なる動態を示した．さらに水晶体を赤道部，前皮質部，核部，後皮質部に分割して FLCZ 濃度を測定した21眼では，FLCZ は1時間後では主に赤道部と前皮質部で検出されたのに対し，24時間後では水晶体各部分からほぼ同程度の FLCZ が検出された（図2）．

3．硝子体切除眼での眼組織内移行

表5に正常眼，硝子体切除眼（硝子体切除術直後，1日後，1週後および4週後）における FLCZ 25mg/kg 静注1時間後の各組織中の FLCZ 濃度の平均値および標準偏差を示した．硝子体切除術後のいずれの期間においても各検体共に正常眼（非手術眼）との間に FLCZ 濃度に有意差はみられなかった．

4．連日投与後の眼組織内移行

正常眼において眼各組織，視神経，大脳皮質および血清中の FLCZ 濃度はいずれも1回静注1時間後のウサギに比べて連続静注第4日および第7日のウサギで有意に高かった（表6）．

Table 4. Penetration of FLCZ into the ocular tissues and the cerebrum after an intravenous injection of 25 mg/kg FLCZ in albino rabbits

Tissues	Ratio to FLCZ concentration in the serum ($\bar{x}$ ±SD or $\bar{x}$)				
	Time after injection (hr)				
	1	2	4	12	24
Cornea	0.75±0.15 (8)	1.10 (2)	1.04 (2)	1.26±0.19 (8)	1.49±0.38 (4)
Iris-ciliary body	0.91±0.24 (8)	0.88 (2)	0.90 (2)	1.24±0.21 (8)	1.04±0.17 (6)
Lens	0.11±0.03 (8)	——	——	0.59±0.06 (3)	1.44±0.12 (6)
Choroid-retina	0.75±0.21 (8)	0.83 (2)	0.93 (2)	1.10±0.23 (7)	1.17±0.22 (6)
Sclera	0.71±0.11 (8)	0.64 (2)	0.81 (2)	0.83±0.20 (8)	0.80±0.09 (6)
Aqueous	0.66±0.07 (8)	0.82 (2)	0.80 (2)	0.87±0.03 (8)	0.76±0.05 (6)
Vitreous	0.52±0.05 (8)	0.78 (2)	0.89 (2)	0.93±0.12 (8)	0.90±0.06 (6)
Optic nerve	1.09±0.21 (7)	0.92 (2)	0.96 (2)	0.91±0.22 (6)	ND (6)
Cerebrum	0.94±0.12 (8)	0.90 (2)	0.85 (2)	0.97±0.12 (8)	0.93±0.11 (6)

Numerals in parentheses indicate number of eyes tested.
ND, not detectable. ——, not tested.

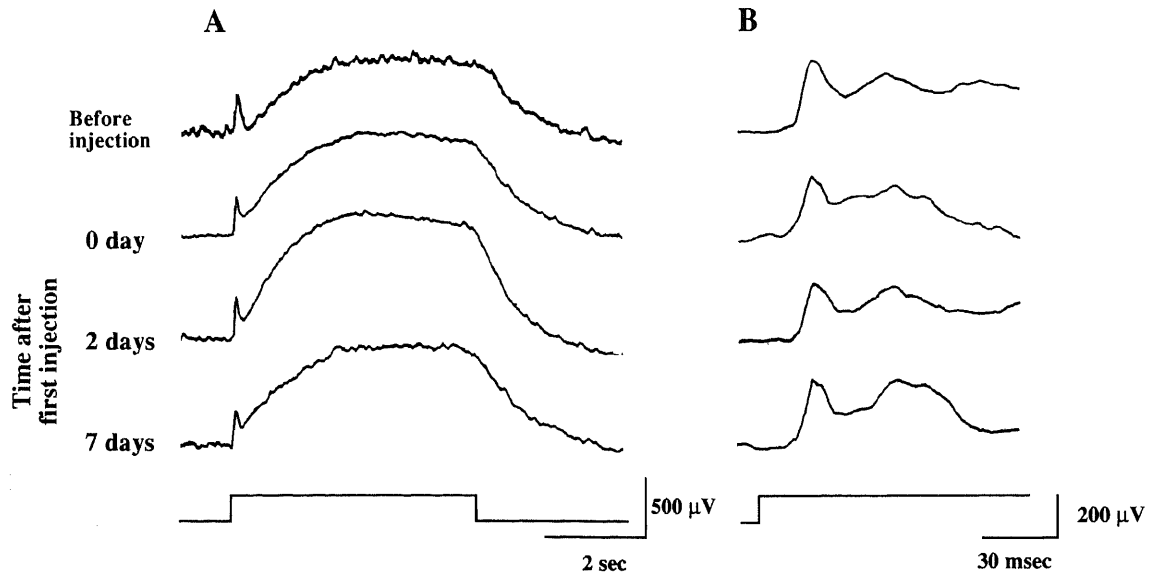

Fig. 18. Effects of daily intravenous injection of 25 mg/kg/day FLCZ for 8 days on the ERG (A) and VEP (B) of an albino rabbit. The ERG and VEP were recorded 1 hr after the latest preceding intravenous injection of FLCZ. The ERG and VEP were not deteriorated throughout the follow-up period. For other recording parameters see the legend for Figs. 9 and 15.

連続静注第4日と連続静注第7日では FLCZ 濃度は虹彩毛様体および水晶体を除く各組織において有意差はみられなかった(表6). 各検体中の FLCZ 濃度の血清中濃度に対する比は1回静注1時間後に比し連続静注第4日および第7日では虹彩毛様体を除き有意に高かった(表7).

硝子体切除眼においても正常眼(非手術眼)と同様に1回静注1時間後に比して連続静注第4日ではいずれの組織においても FLCZ 濃度は有意に高かったが, 連続静注第4日と連続静注第7日の FLCZ 濃度には有意差はみられなかった. 連続静注第4日あるいは第7日において, 各組織とも正常眼(非手術眼)と硝子体切除眼での FLCZ 濃度に有意差はみられなかった(表6).

Ⅱ. 硝子体内注入後の眼内動態

FLCZ 200μg 硝子体内注入後の硝子体, 角膜, 虹彩毛様体, 網脈絡膜, 強膜および前房水中の FLCZ 濃度の推移を図3に示した. 硝子体中 FLCZ 濃度は注入後2, 4および8時間後にそれぞれ 44.70±5.66μg/ml, 17.39±7.20μg/ml および 2.99±0.50μg/ml であり, ほぼ指数関数的に減少しておりその回帰直線から得られた硝子体中 FLCZ 濃度の半減期は約1.5時間であった. 網脈絡膜および虹彩毛様体中濃度は硝子体中濃度とほぼ並行した減少傾向を示した. 前房水中の FLCZ 濃度は硝子体内注入2および8時間後では測定限界未満であり, 4時間後に採取した6眼中1眼で 0.9μg/ml が検出されたのみであった. 角膜中 FLCZ 濃度は2時間後に 1.96±2.04μg/g であったが, 4時間以降では検出限界未満であった. 水晶体では分割しない全体の FLCZ 濃度は8時間後でも2時間後の濃度の約70%と, 他の組織に比べ減少速度が遅かった. 硝子体内注入後2時間および8時間に採取した眼球中のそれぞれ4眼で水晶体を分割して濃度を測定したところ, 2時間後では赤道部および後極部で高濃度の FLCZ が検出されたが, 8時間後では各部でほぼ同じ濃度であった(図4). 血清, 視神経および大脳皮質中 FLCZ 濃度は硝子体内注入後いずれの時間においても測定限界未満であった.

Ⅲ. 摘出眼杯 ERG での検討

FLCZ 20 あるいは 50μg/ml 灌流での摘出眼杯 ERG を記録したそれぞれ5眼においてほぼ同様の結果を得た. FLCZ 50μg/ml 灌流において得られた ERG 波形の典型例を図5に示した. FLCZ 20 および 50μg/ml 灌流15分後には対照波形と比べてa波, b波および OP の振幅および頂点潜時に有意な変化はみられなかった(図6～8).

Table 5. Concentration of FLCZ in the ocular tissues and the cerebrum 1 hr after intravenous injection of 25 mg/kg FLCZ in non-vitrectomized and vitrectomized eyes of albino rabbits

Tissues	Concentration of FLCZ ($\bar{x}$ ±SD, μg/ml or μg/g tissue)				
	Non-vitrectomized eye	Vitrectomized eye (Time after vitrectomy)			
		Immediately	1 day	1 week	4 weeks
Cornea	18.57±5.63 (22)	17.24±4.23 (9)	15.54±3.61 (5)	18.06±4.16 (8)	15.04±4.04 (7)
Iris-ciliary body	18.79±1.92 (22)	21.27±5.56 (9)	17.37±3.51 (6)	19.18±3.68 (8)	16.39±3.86 (7)
Lens	2.14±0.61 (14)	1.64±0.79 (7)	1.57±1.01 (6)	2.10±0.77 (4)	1.45±0.74 (4)
Choroid-retina	18.59±3.69 (19)	19.71±3.99 (8)	18.78±5.44 (6)	20.95±4.74 (8)	18.88±4.55 (6)
Sclera	14.75±3.84 (22)	16.39±6.16 (9)	14.88±3.60 (6)	16.15±3.53 (8)	14.87±4.01 (7)
Aqueous	13.64±3.77 (22)	14.26±5.19 (9)	12.82±3.23 (6)	15.57±3.27 (7)	11.97±4.89 (7)
Vitreous	10.42±3.63 (22)	12.21±3.15 (9)	9.40±2.15 (6)	13.63±4.44 (8)	9.40±3.35 (7)
Optic nerve	21.91±6.21 (22)	22.71±7.09 (9)	21.14±7.68 (5)	20.98±4.43 (8)	20.67±4.20 (7)
Cerebrum	19.17±3.94 (22)	20.34±4.93 (9)	18.85±2.84 (6)	20.36±3.36 (8)	17.13±3.67 (7)

Numerals in parentheses indicate number of eyes tested.

Table 6. Concentration of FLCZ in the ocular tissues, the cerebrum and the serum 1 hr after the final intravenous injection of daily intravenous injections of 25 mg/kg/day FLCZ for 5 or 8 days

Tissues	Concentration of FLCZ ($\bar{x}$ ±SD, μg/ml or μg/g tissue)			
	Non-vitrectomized eye		Vitrectomized eye	
	4th day	7th day	4th day	7th day
Cornea	32.75± 6.23 (8)	29.50± 3.10 (8)	29.77± 4.45 (7)	29.90±5.32 (4)
Iris-ciliary body	27.66± 4.20 (7)	34.91± 5.35 (8)	31.44±12.35 (7)	29.00±5.85 (4)
Lens	13.99± 4.40 (7)	8.68± 1.92 (8)	13.90± 2.57 (5)	9.73±1.14 (4)
Choroid-retina	38.14±14.13 (7)	43.63±10.35 (8)	30.22± 7.26 (6)	35.93±8.14 (4)
Sclera	28.91± 5.54 (9)	32.24± 3.47 (8)	27.19± 5.33 (7)	32.95±5.19 (4)
Aqueous	23.40± 4.00 (9)	23.88± 2.31 (8)	25.69± 5.23 (7)	27.90±4.45 (4)
Vitreous	18.59± 3.00 (9)	19.23± 1.74 (8)	23.70± 9.21 (7)	23.43±7.56 (4)
Optic nerve	26.93± 4.57 (9)	27.51± 6.11 (8)	27.84± 8.48 (7)	34.98±4.83 (4)
Cerebrum	28.17± 3.08 (9)	26.45± 2.06 (8)	29.56± 6.62 (7)	25.68±1.66 (4)
Serum	32.70± 5.90 (8)	32.55± 2.59 (6)		

Numerals in parentheses indicate number of eyes or rabbits tested.

Table 7. Penetration of FLCZ into the ocular tissues and the cerebrum 1 hr after the final intravenous injection of daily intravenous injections of 25 mg/kg/day FLCZ for 5 or 8 days

Tissues	Ratio to FLCZ concentration in the serum ($\bar{x}$ ±SD)			
	Non-vitrectomized eye		Vitrectomized eye	
	4th day	7th day	4th day	7th day
Cornea	1.12±0.35 (8)	0.91±0.09 (8)	0.90±0.13 (7)	0.92±0.06 (4)
Iris-ciliary body	0.83±0.15 (7)	1.08±0.23 (8)	0.96±0.44 (7)	0.89±0.09 (4)
Lens	0.42±0.09 (7)	0.26±0.05 (8)	0.39±0.03 (5)	0.30±0.02 (4)
Choroid-retina	1.28±0.62 (7)	1.33±0.27 (8)	0.93±0.10 (6)	1.10±0.14 (4)
Sclera	0.93±0.21 (9)	0.99±0.06 (8)	0.81±0.03 (7)	1.01±0.07 (4)
Aqueous	0.72±0.03 (9)	0.73±0.06 (8)	0.76±0.05 (7)	0.86±0.07 (4)
Vitreous	0.59±0.04 (9)	0.59±0.04 (8)	0.69±0.17 (7)	0.71±0.16 (4)
Optic nerve	0.87±0.19 (9)	0.84±0.16 (8)	0.83±0.18 (7)	1.09±0.23 (4)
Cerebrum	0.89±0.13 (9)	0.81±0.04 (8)	0.88±0.12 (7)	0.79±0.05 (4)

Numerals in parentheses indicate number of eyes tested.

Table 8. Concentration of FLCZ in the serum, the aqueous, the vitreous and the lens nucleus after FLCZ administration in 5 patients with fungal endophthalmitis

Patient	Age (years)	Sex	Eye	Dose and route of administration of FLCZ (mg/day)	Interval between initial administration and specimen collection	Interval between last administration and specimen collection	Concentration of FLCZ (μg/ml or μg/g tissue)			
							Serum	Aqueous	Vitreous	Lens nucleus
1	84	F	OD	400 (200×2) I.V.	3 days	5 hr	17.4	20.8	15.3	—
2	49	M	OD	400 (200×2) I.V.	5 days	6 hr	17.4	12.8	12.1	6.7
			OD	400 (200×2) I.V.	10 days*	5 hr	32.1	29.2	—	—
				400 (200×2) I.V.	5 days	12 hr	21.1	—	—	—
				400 (200×2) I.V.	14 days	5 days	3.9	—	—	—
				200 P.O.	10 months	24 hr	8.5	—	—	—
3	78	M	OD	400 (200×2) I.V.	20 days	1 hr	73.9	53.3	44.0	34.6
			OS	400 (200×2) I.V.	20 days	4 hr	64.6	58.7	49.6	41.8
4	73	M		400 (200×2) I.V.	3 months	11 hr	25.7	—	—	—
5	85	F		50 P.O.	2 months	24 hr	7.9	—	—	—

M, male; F, female. OD, right eye; OS, left eye. I.V., intravenous injection; P.O., oral administration. —, not tested. *, 5 days after vitrectomy.

Ⅳ．硝子体内注入後の網膜への影響

1．電気生理学的検討

調べた6匹においてほぼ同様の結果を得た．得られた ERG 波形の典型例を図9および10に示した．a波，b波および OP の振幅および頂点潜時，ならびにc波振幅には注入2週間後まで対照眼と FLCZ 注入眼において有意差はみられなかった（図11～14）．

FLCZ 硝子体内注入2週間後に記録した VEP の典型例を図15に示した．VEP 早期成分の頂点潜時には対照眼刺激と FLCZ 注入眼刺激との間では有意差はみられなかった．

2．組織学的検討

光顕的および電顕的検討のいずれにおいても網膜には異常所見はみられなかった（図16，17）．

Ⅴ．連日投与での網膜への影響

調べた3匹においてほぼ同様の結果を得た．左右眼の差もみられなかった．ERG および VEP の典型例を図18に示した．FLCZ 25mg/kg/日の連日静注第2日（3回目の静注1時間後）および第7日（8回目の静注1時間後）において静注前に比べてa波，b波および OP の振幅および頂点潜時ならびにc波の振幅には明らかな変化はみられなかった．

Ⅵ．臨床例での検討

表8に真菌性眼内炎患者より得られた血清，前房水，硝子体および水晶体核中の FLCZ 濃度および FLCZ 投与から検体の採取までの時間を示した．血清中 FLCZ 濃度との比は前房水では70～90%，硝子体では60～80%および水晶体核で40～60%であり，静注からの時間が長くなるのに伴い血清中濃度に対する比は増加する傾向にあった．手術以外の時期に血液を採取した12時間毎の FLCZ 200mg 点滴静注持続中の2症例（表8の症例2，症例4）では血清中 FLCZ 濃度は静注後12時間でも 20μg/ml 以上を維持し，また症例2では静注中止5日後でも FLCZ が検出された（表8）．

考　　察

眼科領域での主な真菌感染症としては真菌性眼内炎と角膜真菌症が挙げられる．真菌性眼内炎は眼外傷後や内眼手術後に発症する外因性と真菌血症から血行性に真菌感染が眼内に波及して起こる内因性とに大別される．内因性真菌性眼内炎ではその原因菌のほとんどは *Candida* 属であり[29]，その病変は脈絡膜から網膜さらに硝子体内へと波及すると考えられている[30]．その進展速度は細菌性眼内炎に比べると遅いので，早期に発見されて適切な治療が行われれば予後は比較的良好とされている[31]．すなわち炎症が硝子体内に播種して硝子体混濁が高度になる前に眼内炎の原因となっている真菌を死滅させるのに十分な量の抗真菌剤が脈絡膜，網膜および硝子体内に達するように抗真菌

剤を投与することが重要である．従来より用いられてきた抗真菌剤アンホテリシンB[32]あるいはミコナゾール[33]では全身投与による眼内移行が不良なので，眼内で有効な濃度を得るには大量の全身投与が必要である．しかしこれらの薬剤の大量の全身投与は全身的副作用を来たしやすく実施が困難になることが多い．そのためこれらの薬剤の眼内への直接投与，すなわち硝子体内への直接注入あるいは硝子体切除術中の眼内灌流液への添加が検討されてきた[6)~8)34)35)]．これに対してFLCZは全身投与でも眼内へ高率に移行することが臨床的および実験的に報告されている[36)~38)]．その上FLCZでは全身投与でも全身的副作用が少なく，点滴静注および内服での長期投与が可能であり，真菌性眼内炎のFLCZ全身投与のみでの奏効例[11)]や角膜真菌症に対するFLCZ全身投与の有用性の報告[13)]も散見される．

本研究では，先ず臨床的な常用量にほぼ相当するFLCZ 5mg/kgおよびその5倍の25mg/kgを白色ウサギに静注し，前房水，硝子体および血清中FLCZ濃度を経時的に測定した．その結果，25mg/kg静注後の上記各検体中FLCZ濃度は5mg/kg静注後の濃度のほぼ5倍であり，全身投与量にほぼ比例することが判明した．また前房水中濃度および硝子体中濃度の血清中濃度に対する比は上記のいずれの静注量においても静注1時間後ではそれぞれ約0.7および約0.4，静注2時間後ではそれぞれ約0.8および約0.6であり（表2），従来の報告[36)37)]とほぼ合致していた．すなわち眼内へのFLCZ移行濃度はその投与量に依存すると推測された．FLCZ 25mg/kgの静注を行ってもウサギには全身的異常はみられなかったので，濃度測定の感度の点から考えて，これ以降の実験においては静注量として25mg/kgを使用した．

全身投与された薬剤が眼内に達する際には眼血液関門が障害となる．眼血液関門は血液房水関門および血液網膜関門からなっており，さらにそれぞれ血液内皮型関門（虹彩血管および網膜血管）と上皮型関門（毛様体無色素上皮細胞および網膜色素上皮細胞）により構成されている[39)]．全身投与された薬剤はごく少数の例外的な薬剤を除いてはこれらの関門により眼内とくに硝子体内にはほとんど到達せず，さらに硝子体内は免疫機構から隔絶されているので，感染による眼内炎は薬物療法に抵抗する場合が多い．たとえばウサギを用いた実験において抗微生物剤の全身投与後の前房水および硝子体中濃度の血清中濃度に対する比はアミノ配糖体系のゲンタマイシンで0.16および0[40)]，βラクタム系ではセファゾリンで0および0[41)]，フロモキセフで0.23および0[42)]，セフタジジムで0.05および0.001[43)]，抗真菌剤ではアンホテリシンBで0および0[32)]，ミコナゾールで0.16および0[33)]，イトラコナゾールで0および0[36)]（測定限界未満を0とした）と報告されており，とくに硝子体内への移行は上記の薬剤ではいずれも極めて不良である．これに対して眼内炎あるいは硝子体手術などの操作によって実験的に眼血液関門を障害させた状態においては全身投与された抗微生物剤の眼内移行が増加するという．たとえばウサギへのセファゾリン50mg/kgの静注1時間後の硝子体中濃度は非炎症眼では検出限界（1.0μg/ml）未満であったのに対して炎症眼では3.0μg/mlであったとの報告[41)]や，ウサギへのフロモキセフ静注後の硝子体中濃度が非手術眼では検出限界以下であったに対して硝子体切除眼では平均10.47μg/mlであったとの報告がある[42)]．これらの結果から，抗微生物剤の多くが眼血液関門によって眼内とくに硝子体内への移行が阻まれていることが推測される．これに対してFLCZは他の抗微生物剤と異なる眼内動態を示した．すなわち，ウサギ正常眼（非手術眼）においてFLCZ 25mg/kgの静注2時間後でFLCZの前房水中濃度および硝子体中濃度がそれぞれ平均18.0および15.28μg/mlの最高値に達し（表1），その後前房水中濃度および硝子体中濃度は血清中濃度に比して緩徐に減少した．このため静注後の時間が経過するにしたがって前房水中濃度および硝子体中濃度の血清中濃度に対する比はそれぞれ増加し，12時間後の前房水中濃度および硝子体中濃度は血清中濃度とほぼ同程度であった（表1）．硝子体切除術直後にFLCZ 25mg/kgを静注した場合には正常眼（非手術眼）に比し硝子体切除眼の前房水中および硝子体中濃度がやや高い傾向がみられたものの，切除術後1日～4週にFLCZを静注した場合では眼内移行は正常眼と硝子体切除眼でほぼ同程度であった（表5）．このことから静注されたFLCZは眼血液関門にほとんど阻まれることなく前房水および硝子体中に移行していると考えられる．Savaniら[36)]は白色ウサギへのFLCZ 80mg/kg静注4時間後の前房水および硝子体中FLCZ濃度は非炎症眼ではそれぞれ21.9±3.4μg/ml（平均値±標準誤差，以下同じ）および16.0±5.3μg/mlであったのに対して眼血液関門が障害されていると考えられる炎症眼ではそれぞれ50.2±6.2μg/mlおよび21.5±0.1μg/mlであり，眼内移行は非炎症眼に比して炎症眼で良好であるものの，他のトリアゾール系抗真菌剤（ケトコナゾールおよびイトラコナゾール）に比較してその差は小さいと報告しており，本研究の結果に矛盾しないと思われる．

そこで本研究では，FLCZの眼内移行を前房水や硝子体のみでなく，眼真菌感染症の感染部位の主座となる網脈絡膜や角膜を含めた他の眼各組織（虹彩毛様体，水晶体，強膜および視神経）についても検討した．さらに大脳皮質内FLCZ濃度を測定して眼血液関門との関連が深い血液脳関門に対するFLCZの動態についても比較検討した．その結果，前房水や硝子体と同様に上記の眼各組織内FLCZ濃度にはいずれの組織においても硝子体切除眼と正常眼（非手術眼）との間で有意差はみられなかった（表5）．内因性真菌性眼内炎の感染経路である網脈絡膜中には血清中濃度に匹敵するほどの濃度のFLCZが検出された（表3）．網脈絡膜中FLCZ濃度の減少速度は血清中FLCZ濃度の減少速度に比して遅く，1時間後と12時間後との間で網脈絡膜中FLCZ濃度に有意差はみられなかった（表3）．虹彩毛様体中FLCZ濃度も網脈絡膜中FLCZ濃度と同様の傾向を示し（表3），血流の豊富な組織にFLCZが高濃度に移行し，長時間持続すると考えられる．O'Dayら[37)]は有色ウサギ（ダッチ種）でFLCZ 20mg/kg内服4および8時間後では網脈絡膜中のFLCZ平均濃度はそれぞれ5.2μg/gおよび3.9μg/g（血清中濃度に対する比はそれぞれ0.81および0.94）と報告しており，内服と静注という投与方法に差異はあるが本研究の結果はこれにほぼ合致した．網脈絡膜の薬物動態を検討する際には，薬物のメラニン親和性を考慮する必要がある[44)]．FLCZのメラニン親和性に関する報告は調べたかぎりなかったが，本研究の白色ウサギでの結果とO'Dayら[37)]の有色ウサギでの結果がほぼ合致した（表3，4）ことから，FLCZの眼内動態にはメラニンの影響は少ないと考えられる．

FLCZ 25mg/kg静注後の角膜中FLCZ濃度は2時間後に最高値となり，静注12および24時間後には血清中FLCZ濃度を凌駕し（表3），時間とともにその血清中濃度に対する比は増加した（表4）．前述のO'Dayら[37)]によればFLCZ 20mg/kg内服4

および8時間後の角膜中 FLCZ 濃度の平均値±標準偏差はそれぞれ 13.3±1.4 および 11.4±0.6μg/g であり，その血清中濃度に対する比はそれぞれ2.09±0.32および2.47±0.03であったとされ，Savani ら[36]は FLCZ 80mg/kg 静注 4 時間後に角膜中 FLCZ 濃度は 6.2±1.0μg/g (平均値±標準誤差) であったと報告している．角膜中の FLCZ の移行経路として前房水から角膜内皮を通して実質内に浸透する経路，輪部血管より直接実質内に拡散する経路あるいは涙液内から角膜上皮を通して実質内に浸透する経路が考えられる．全身投与の場合には涙液からの移行はわずかであると考えられるが，白色ウサギにおいて 0.2% FLCZ の点眼 (5分毎に1時間) によって角膜中 FLCZ 濃度が最高 33.4μg/g に達したとの報告[45]もあることから，角膜の上皮および内皮細胞の FLCZ に対する透過性が良好であると推測される．また，角膜中 FLCZ 濃度の減少速度は血清中濃度の減少速度に比して遅かった (表3)．この理由として前房水中 FLCZ 濃度の減少速度が血清中濃度の減少速度より遅いことや角膜中に取り込まれた FLCZ が排出されにくいことなどが考えられる．以上より，全身投与された FLCZ は角膜内で高濃度に達し，その後の減少も少ないと考えられ，角膜真菌症の治療に有効であると思われた．

一方，水晶体中 FLCZ 濃度は本研究で検討した他の眼内組織に比べて低く，その動態が特異的であった．すなわち他の組織では静注 2 時間後以降は FLCZ 濃度は静注後の時間経過とともに減少したのに対して水晶体では静注12時間後では1時間後に比べて約3倍に増加していた (表3)．さらに水晶体内での FLCZ 濃度の分布を検討したところ，FLCZ は静注1時間後には主に赤道部と前皮質部において検出されたのに対し，静注24時間後では赤道部，前皮質部，核部および後皮質部でほぼ同濃度の FLCZ が検出された (図2)．このことから FLCZ の水晶体中への移行は主に房水からであり，時間が経過するとともに FLCZ が水晶体内部へも浸透することが示唆される．全身投与された薬剤の水晶体内への移行について検討した報告は少ないが，フルオロキノロン系抗菌剤であるロメフロキサシンでは白色ウサギへの 20mg/kg 経口投与 2 時間後における水晶体中濃度は平均 0.044μg/g で血清中濃度に対する比は0.03であるとの報告があり[46]，水晶体は眼組織内でも薬剤の移行しにくい組織のひとつと言えよう．また，局所投与では抗白内障薬 (AL-04114) の点眼後，前房水中濃度は 0.110μg/ml であったが，水晶体内では核部および後皮質部では検出されなかったと報告されており[47]，FLCZ の水晶体内への移行は特徴的であると考えられる．しかし本研究では赤道部を除いた水晶体中央部をほぼ均等に3分割したので，核部には深皮質部も含まれている．よって，本研究では真の意味での「核」内への移行の有無については言及をひかえたい．

全身投与された薬剤の眼内移行が良好となる条件としては，薬剤の血清中濃度が高くその減少速度が遅いこと，血清蛋白との結合率が低いこと，分子量が小さいこと，脂溶性が高いことなどが挙げられる[44]．FLCZ では血清中での半減期が長いこと，分子量が306と小さいこと，血清蛋白との結合率が10～20%と低いこと，水溶性が比較的高いが脂溶性も有することが上記の条件に合致しており，これらの要因によって眼内移行が良好であると考えられる[36]．これに対して同じトリアゾール系抗真菌剤であるイトラコナゾールは分子量が705と大きく血清蛋白との結合率は90%以上と高い．このイトラコナゾールの眼内移行が FLCZ に比べて不良である[36]ことも上記の条件が薬剤の眼内移行を左右する要因として重要であることを支持すると考えられる．

眼血液関門は血液脳関門と類似している[48]．Foulds ら[49]は健常成人男子に FLCZ 50 あるいは 100mg/kg/日を6あるいは7日間静注し，FLCZ の脳脊髄液 (cerebrospinal fluid, CSF) 内への移行を検討している．彼ら[49]は最終静注1時間後の CSF 内 FLCZ 濃度が 50mg/kg 静注で 1.12～1.46μg/ml, 100mg/kg 静注で 2.26～3.17μg/ml であり，血清中濃度との比がそれぞれ0.47～0.52および0.59～0.64であることから，CSF 内への FLCZ の移行が良好であるとしている．また，Perfect ら[50]は白色ウサギにおいて FLCZ 静注1～7時間ではいずれの時間でも CSF 中 FLCZ 濃度は血清中 FLCZ 濃度の60%前後であり，髄膜炎を発症させたウサギと発症させないウサギとでは FLCZ の CSF 内移行に差はなく，FLCZ は血液脳関門を自由に通過すると報告している．これらの報告[49][50]は本研究の結果すなわち FLCZ の眼内移行が眼血液関門にほとんど妨げられないとの結果と一致している．本研究での大脳皮質中の FLCZ 平均濃度は静注1，12および24時間後にそれぞれ18.90，12.86および 3.37μg/g でその血清中濃度に対する比はそれぞれ0.94，0.97および0.93であった．この FLCZ 静注1時間後の大脳皮質中濃度は同時間における網脈絡膜中 FLCZ 濃度より高く，大脳皮質内にも FLCZ が良好に移行していることが判明した．Walsh ら[51]のウサギでの実験では FLCZ 静注後の血清中 FLCZ 濃度が最高に達した時点での各全身組織中 FLCZ 濃度の血清中濃度に対する比は肝臓で0.5，脾臓で0.7，肺および腎臓で0.8であったと報告されており，眼組織内や中枢神経組織内ではこれらの組織に匹敵するほどの FLCZ が移行するといえる．

さて，FLCZ の作用は静菌的である[52]ので，FLCZ を臨床的に使用する場合には長時間連続して投与する必要がある．そこで本研究では FLCZ を連続的に静注した場合の眼組織中 FLCZ 濃度を1日1回の FLCZ 静注を8日間行って検討した．その結果，連日静注第4日 (5回静注1時間後) の FLCZ 濃度は検討したすべての検体において1回投与に比して有意に高く，第4日と第7日では虹彩毛様体で第7日で第4日より高濃度，水晶体で第4日で第7日より高濃度であったが，他の各検体では FLCZ 濃度に有意差はみられなかった (表6) ので，投与開始4～6日間で眼組織中濃度がほぼ定常状態に達すると考えられた．ヒトでは FLCZ 1日1回投与を行った場合には投与5～7日間で血清中濃度は定常状態に達し，血清中 FLCZ 最高濃度は第1日の平均 10.3μg/ml に対して第7日では平均30.6μg/ml と約3倍に達していたと報告されている[53]．血清中 FLCZ 濃度の半減期はヒトの約30時間[54]に対してウサギでは約14時間であったので，臨床的な投与方法により近づけるには，1日2回投与が妥当であるとも考えられるが，定常状態に達するまでの期間はヒトとウサギとでほぼ類似していたのでウサギでの1日1回投与の結果も臨床応用での参考になると思われる．連日投与実験において眼各組織内 FLCZ 濃度は血清中濃度とほぼ並行して推移しており，眼各組織内への蓄積傾向はなかった．連日投与第7日 (8回静注1時間後) における角膜，網脈絡膜，前房水および硝子体中の FLCZ 濃度 (表6) は FLCZ の *Candida albicans* に対する99%発育阻止濃度 (99% inhibitory concentration, IC_{99}) (0.20～0.39μg/ml)[55]を十分に凌駕

しており，真菌性眼内炎治療にFLCZ連続投与は有用であると思われる．FLCZ連日投与後に定常状態に達した眼各組織内FLCZ濃度とその時点の血清中FLCZ濃度との比は第4日と第7日でほぼ同じであった（表7）ので，臨床的にも血清中FLCZ濃度を測定することによって眼内FLCZ濃度を推測でき，投与量の調節などに役立つものと思われる．たとえばFLCZ連続静注を行った真菌性眼内炎患者で測定した血清中FLCZ濃度（表8）は200mg静注約12時間後で20μg/ml前後であったので硝子体中に60％移行すると仮定すると硝子体中FLCZ濃度は12μg/mlと推定され，真菌感染に対して有効な濃度のFLCZが硝子体中に移行していると推測できる．また硝子体切除眼においてもFLCZ 25mg/kg連日静注後の眼組織内濃度の推移は正常眼（非手術眼）とほぼ同様であった（表5）ので，連続投与においても眼血液関門のFLCZ眼内移行に対する影響は少ないと考えられる．

一方，FLCZ 25mg/kg 1回静注後において特徴的な濃度推移を示した水晶体中FLCZ濃度は25mg/kg連日静注においては他の眼組織と同様に第4日（5回静注後）および第7日（8回静注後）で1回静注後に比し有意に高かったが，第4日に比し第7日では水晶体中FLCZ濃度が有意に低かった．水晶体中FLCZ濃度は連日静注開始5～6日間でほぼ定常状態に達すると考えられ，明らかな蓄積傾向を示さなかった．しかし第4日および第7日ともに水晶体中から10μg/g程度のFLCZが検出されており，この濃度は1回静注1および12時間後の濃度（表3）に比べて高く，水晶体中FLCZ濃度は連続的にFLCZを静注した場合には1回静注よりも高い濃度で定常状態にあることが推測される．臨床例では1か月以上FLCZ静注（400mg/日）が行われていた2例3眼（表8の症例2および3）で水晶体核中のFLCZ濃度を測定したところ，FLCZ濃度および同時に採取した血清中FLCZ濃度に対する比はそれぞれ6.7μg/gおよび0.39，34.6μg/gおよび0.47，41.8μg/gおよび0.65と高濃度のFLCZが水晶体核中から検出された．真菌性眼内炎に対する治療などの目的で臨床的にFLCZを使用する場合には，FLCZが奏効した場合でも2か月以上にわたって全身投与すること望ましい[56]とされており，その際には比較的高濃度のFLCZが水晶体中に移行していると推測される．FLCZ長期使用による白内障などの水晶体への合併症の報告は調べたかぎりではなく，本研究でFLCZ濃度を測定した症例においても白内障の進行などはみられなかったが，その長期使用に当たっては留意すべきかもしれない．

次に，FLCZの硝子体内注入後の眼内動態について考察する．硝子体内注入後の薬剤の排出経路は前房を介する前方排出路（anterior route）および網膜を介する後方排出路（posterior route）に大別される．Maurice[57]によれば，硝子体内の薬物がすべて前方排出路から排出されると仮定すると下記の理論式(1)が成立する．kvは単位時間あたりの硝子体中からの薬剤の排出率（%/hr），Cvは硝子体中の平均濃度（μg/ml），Vvは硝子体容積（ml），fは単位時間あたりの房水流量（ml/hr），Caは房水中の平均濃度（μg/ml）を表す．

$$\frac{kv}{100}\,Cv\cdot Vv=f\cdot Ca \quad\cdots\cdots(1)$$

(1)式は(2)式に変形される．

$$kv=\frac{f\ (0.24ml/hr)}{Vv\ (1.7ml)}\times Ca/Cv\times 100 \quad\cdots\cdots(2)$$

fおよびVvは一定値と考えることができるので，kvとCa/Cvは比例関係にあるといえる．薬物が後方排出路からも排出されている場合には(2)式が成立しないはずである．たとえば，アミノ配糖体系抗生剤は主に前方排出路から排出され，その硝子体中濃度の半減期が長く｛ゲンタマイシンでは約24時間（ウサギ）[58]｝，(2)式がほぼ成立する[40]．一方，βラクタム系抗生剤は主に後方排出路から排出され，その硝子体中濃度の半減期は短く｛セファゾリンでは約6.5時間（ウサギ）[59]｝，(2)式は成立しない[42]．FLCZでは硝子体内注入後の前房水中FLCZ濃度は注入2時間後では10眼中9眼，4時間後では6眼中5眼および8時間後では8眼中すべてで検出限界未満であった（図3）ので，これらの眼ではCa/Cvはほぼ0である．一方，硝子体中FLCZ濃度の経時的変化（図3）の回帰式から求めたkvは約34％であったので，(2)式は成立しない．このことから硝子体中のFLCZのほとんどが後方排出路から排出されていると推測される．さらにFLCZ硝子体内注入後の硝子体中濃度の半減期は約1.5時間であり前述のセファゾリンの硝子体中半減期よりさらに短かったので，FLCZは硝子体中からβラクタム系抗生剤よりもはるかに急速に排出されていると考えられる．薬物が後方排出路から排出されるのは網膜に存在する能動輸送（retinal pump mechanism）の働きによると考えられており，炎症あるいはプロベネシドを作用させることによってこのポンプ作用を障害すると後方排出路から主に排出される薬物の硝子体内の半減期が延長することが報告されている[60][61]．FLCZの排出速度がβラクタム系抗生剤などに比べてはるかに速いことから，FLCZの眼外への排出にはこのポンプ機構以外の排出路も関与することも考えられ，FLCZの血中から眼内への移行が眼血液関門にほとんど妨げられないことと眼内からの排出が速いことは関連するのかもしれない．

FLCZ硝子体内注入後の網脈絡膜中FLCZ平均濃度は注入2，4および8時間後でそれぞれ27.0，9.5および2.6μg/gであり，同じ時刻での硝子体中FLCZ平均濃度に対する比はそれぞれ0.64，0.55および0.87と高いこと（図3）も硝子体中のFLCZが網脈絡膜を介して眼外へ排出されているという考えを支持する結果と思われる．しかし網脈絡膜中FLCZ平均濃度はFLCZ 25mg/kg静注を行った場合には12時間後でも15.3μg/gであったのに対し，FLCZ 200μg硝子体内注入では8時間後で2.6μg/gと著しく減少していた（図3）．他の眼組織では硝子体内注入後のFLCZ濃度は網脈絡膜中濃度よりさらに低く，とくに角膜では前房水中と同様に硝子体内注入2時間後にわずかに検出されるのみであった（図3）．硝子体内注入を行う際には注入手技に伴う眼球損傷の危険性があるのに対し，静注ではその危険性はなく，FLCZでは長期全身投与に伴う合併症の発生が少ない[62]ことも考慮すると，FLCZ濃度を眼内で高く維持するためには，硝子体内注入よりも全身投与（静注）の方が優れた投与方法と考えられる．真菌性眼内炎の治療の際には，全身投与で眼内移行の良好なFLCZの全身投与と眼内移行の不良なミコナゾールやアンホテリシンBなどの硝子体内注入の併用療法が有用かもしれない．

ところで静注後に眼内に移行したFLCZも硝子体内注入後のFLCZと同様に急速に眼外へ排出されているはずである．それにもかかわらず静注後の眼組織内FLCZの減少速度が遅いのは，血液中のFLCZ濃度の減少速度が遅いために血液中から常にFLCZが供給されて眼内濃度が保たれていることによる

と考えられる．連日投与の際に眼組織内 FLCZ 濃度が血清中 FLCZ 濃度とほぼ並行して推移した(表6)ことも，眼内に入った FLCZ は速やかに眼外に排出され，新たに FLCZ が血液中から供給されているとの仮説を支持する結果であろう．

以上述べたように，FLCZ の全身投与後には高濃度の FLCZ が眼組織内に移行する．このことは眼組織の真菌感染症の治療には有利なことであるが，高濃度になるにしたがって薬剤の眼組織，とくに視機能に直接影響する網膜および視神経に対する毒性の発現を考慮せねばならない．そこで，本研究では FLCZ の網膜および視神経に対する影響を電気生理学的および組織学的に検討した．

電気生理学的検討として，灌流液中に FLCZ を添加して記録した摘出眼杯 ERG，FLCZ 硝子体内注入後の ERG および VEP，さらに FLCZ 連日静注後の ERG および VEP を記録した．摘出眼杯 ERG では意図した濃度の薬剤が確実に網膜に接触するので薬剤の網膜への影響が直接的に現われるという利点があるが，長時間の ERG 記録は行えないので長期にわたる変化は検討できず，また血流や眼圧が存在しないことに加え灌流液の温度や pH が生理的な状態とは異なるので，ERG 変化が生理的な条件下とは異なる可能性があることが欠点である．一方，硝子体内注入法では硝子体が一種の衝撃吸収体 (shock absorber) として働き[63]，薬剤が網膜に直接作用しない可能性があることおよび注入手技に伴う影響が加わる可能性が問題となるが，前者は硝子体が網膜に接した生理的な状態での薬剤の影響が検討できるという点では利点でもあり，後者については硝子体内注入時に細心の注意をはらうことおよび対照眼にも対照液を注入して比較することでほとんどその影響は除外できる．したがって，薬剤の網膜に対する影響を ERG を用いて検討する際には，この両実験法での結果を考慮すべきであると考える．硝子体内に注入された FLCZ がウサギ硝子体 (容積はほぼ 1.7ml) 内で速やかに均等に拡散すると仮定すると，200μg 注入直後の硝子体中 FLCZ 濃度は約 120μg/ml と推測され，FLCZ 25mg/kg/日 の連日静注第7日 (8回静注1時間後) での硝子体中 FLCZ 平均濃度 18.5μg/ml の5倍以上にあたる．この様に硝子体中 FLCZ が高濃度であったにもかかわらず ERG は2週間にわたって変化せず (図11～14)，さらに摘出眼杯 ERG においても FLCZ 50μg/ml 灌流で ERG に変化はなかった (図6～8)．また，FLCZ 200μg 硝子体内注入2週間後に摘出した眼球において組織学的 (光顕および電顕) にも網膜に異常はみられなかった (図16，17)．Talamo ら[64]のアミノ配糖体系抗生剤の網膜毒性についての研究によれば硝子体内に投与した薬剤の網膜におよぼす毒性はその硝子体内での最高濃度に依存するという．よって本研究の結果から，最高で 100μg/ml 程度の濃度の FLCZ が硝子体内に存在しても，少なくとも短期間では網膜にはほとんど影響はないと考えられた．従来の報告においても，Schulman ら[65]は白色ウサギにおいて FLCZ 100μg 硝子体内注入後8日後まで，三浦ら[66]は同じく白色ウサギにおいて FLCZ 200μg 硝子体内注入8週後までで，両者とも検眼鏡，ERG および組織学的に網膜に変化はみられなかったと報告しており，本研究の結果と合致する．従来より使用されている抗真菌剤の硝子体内注入に関する安全性の検討では，ERG 的および組織学的にアンホテリシンB 5～10μg 注入では網膜障害はみられず，25μg/ml 以上の硝子体内注入では網膜に重篤な障害を生じ[67]，アゾール系抗真菌剤であるミコナゾールにおいては 50μg の硝子体内注入では ERG 変化はみられず，100または 500μg 注入では注入後早期に一過性の ERG 変化がみられた[35]と報告されている．FLCZ では上記の両剤に比較して全身的副作用が少ないことは知られているが[62]，FLCZ は硝子体内注入における網膜への影響も少ない薬剤であることが判明した．

一方，FLCZ 25mg/kg の連日静注を8日間 (8回) 行った後の ERG および VEP には静注前と比べて変化はなかった (図18)．FLCZ 25mg/kg/日 の連日静注において第7日の静注1時間後には網脈絡膜中 FLCZ 平均濃度は 49.5μg/g であり，第4日からほぼ定常状態に達していた (表6)．1回静注24時間後の網脈絡膜中 FLCZ 濃度は静注1時間後の約5分の1であった (表6) ことから，連日静注を行っている際の網脈絡膜中 FLCZ 濃度は 10μg/g 以上に維持されていたと推測される．よって 10～50μg/g 程度の FLCZ は少なくとも1週間にわたって網脈絡膜内に存在してもその影響は少ないものと考えられた．FLCZ 25mg/kg/日 は臨床的な投与量の約5倍に相当するので，臨床常用量の投与では網膜に影響をおよぼす危険性はさらに低いと考えられる．FLCZ は真菌性眼内炎や角膜真菌症の治療の際に安全に全身投与を行える薬剤であるといえよう．

しかし本剤は真菌症の治療に際して2か月以上の長期間にわたって継続して投与すべきであるとされており[56]，本研究の結果からのみではそのような長期間にわたる安全性までは言及できないと思われる．本研究では臨床的に FLCZ の全身投与 (50～400mg/日) が2か月以上にわたって行われた3症例 (表8の症例2，4および5) の血清中 FLCZ 濃度を測定した．1日1回投与 (50mg または 200mg 内服) の投与直前においても血清中濃度は 8μg/ml であった (表8の症例2および5) が，FLCZ によると思われる網膜あるいは他の眼組織での異常はみられず，全身的副作用も生じなかった．臨床的にも FLCZ の長期間の全身投与が眼組織におよぼす影響は少ないと推測される．

以上のように，FLCZ は全身投与で眼内に十分に移行し，眼組織への毒性も少なく，さらに血中半減期が長いため1日1回の投与で十分に血中濃度さらには組織内濃度が維持できるなどの利点が多く，真菌性眼内炎の治療に際して非常に使用しやすい薬剤であるといえる．しかし磯部ら[68]によれば白色ウサギ耳静脈より *Candida albicans* (棟方株) を静注することによって発症させた実験的カンジダ眼内炎に対して，眼内炎発症前である菌接種2日後までに FLCZ 静注を開始した場合には眼内炎発症を阻止できるが，眼内炎所見の発現後に FLCZ 静注を開始した場合では FLCZ 投与群と非投与群との間には眼内炎の程度に差はみられず，FLCZ は内因性カンジダ眼内炎の発症予防には有効であるが眼内炎発症後の治療効果には乏しいと報告している．Savani ら[36]も白色ウサギでの実験的カンジダ眼内炎に対しては *Candida albicans* 接種後早期 (24時間後) に FLCZ 投与を開始した場合には治療効果があるが，接種7日後に投与を開始した場合には治療効果はなかったので早期に治療開始することが治療の成功につながると報告している．また，Filler ら[69]によれば白色ウサギでの実験的内因性カンジダ眼内炎に対して FLCZ 静注を行った場合，静注開始17日目までは硝子体や網脈絡膜内の真菌数を減少させるが，24日目では眼内炎は増悪して対照群との間で眼内炎の程度には差はみられなくなったのに対し，アンホテリシンBでは24日目まで真菌数は減少したと報告している．FLCZ では培養実験により求められた *Candida*

albicans に対する IC_{99} が 0.20～0.39μg/ml である[55]のをはじめ，*Candida* 属に対しては有効な抗真菌活性が指摘されている．それにもかかわらず上述のように実験的内因性カンジダ眼内炎，とくに発症から治療までの期間が長く眼内炎が硝子体内へも波及した状態に対して FLCZ の治療効果が低いことの原因として，FLCZ の作用が静菌的であるため完全に菌を消失できないことや，硝子体内の膿瘍の中では FLCZ が直接作用しにくいこと，あるいは耐性の獲得などが考えられている[69]．一方，矢野ら[70]は同様の実験的ウサギ内因性カンジダ眼内炎において眼内炎発症が始まる *Candida albicans* 接種3日目から大量(10mg/kg) の FLCZ を投与すれば非治療群に比べて有意に網脈絡膜および硝子体内の生菌数の減少がみられるとし，初期大量療法の有効性を示唆している．臨床的には真菌性眼内炎の初期に FLCZ 全身投与が開始できた例において FLCZ の全身投与のみで治療し得たとの報告[11]や，アンホテリシンBの硝子体内注入およびケトコナゾールの全身投与では無効であった *Candida parapsilosis* 眼内炎に対して FLCZ 内服が有効であったとの報告もある[71]．しかし眼内炎が進行して硝子体混濁が高度になってからでは FLCZ の全身投与のみでは消炎させることは困難で，硝子体切除術が必要であると考えられている[9]．抗真菌剤では培養実験により求められた発育阻止濃度から単純にその有効性を判定できないので，実際の臨床では高濃度の抗真菌剤 (FLCZ) が眼内に移行しても必ずしも眼内の真菌を一掃できるとは限らないことを考慮して治療にあたる必要がある．IVH 留置症例の真菌性眼内炎の発症率は0.6%～9.9%[72)~74)]と報告されており，IVH 使用の増加に伴い今後も内因性真菌性眼内炎の発症は増加することも考えられ，その治療はますます重要となってくるもとの思われる．真菌性眼感染症，とくに内因性真菌性眼内炎に対する発症初期からの FLCZ の連続全身投与は有用な治療手段であると考えられる．

結　　論

抗真菌剤フルコナゾール (FLCZ) の全身投与 (単回および連日投与) を行った後の眼内移行，FLCZ の硝子体内注入後の眼内動態および硝子体切除術が FLCZ 眼内移行におよぼす影響を白色ウサギにおいて検討し，さらに真菌性眼内炎症例における FLCZ 全身投与後の血清中および眼内 FLCZ 濃度を検討し，下記の結果を得た．また，FLCZ の硝子体内注入および連日全身投与が網膜におよぼす影響を，ERG, VEP および一部の実験では組織学的検査法を指標として検討し，以下の結果を得た．

1．白色ウサギにおいて FLCZ 5mg/kg あるいは 25mg/kg を静脈内注射 (静注) した後の血清中，前房水中および硝子体中 FLCZ 濃度は投与量にほぼ比例した．血清中濃度はほぼ指数関数的に減少し，その半減期は 5mg/kg および 25mg/kg 静注でそれぞれ約13時間および約14時間であった．FLCZ 25mg/kg 静注後の前房水中および硝子体中 FLCZ 濃度の平均値は静注2時間後でそれぞれ 18.0μg/ml および 15.28μg/ml の最高値となり，その後の FLCZ 濃度の減少速度は血清中濃度の減少速度よりも遅く，静注12時間後では血清中，前房水中および硝子体中 FLCZ 濃度は同程度であった．

2．FLCZ 25mg/kg 静注後の眼内 FLCZ 濃度は静注1時間後では水晶体を除き 10μg/ml または μg/g 以上で，同時に採取した血清中濃度の50%以上であった．静注12時間後の角膜，虹彩毛様体，網脈絡膜，強膜，前房水，硝子体中の FLCZ 濃度では静注1時間後の濃度と比較して有意差はなかった．水晶体中 FLCZ 濃度は静注12時間後では静注1時間後の約3倍に増加していた．硝子体切除眼における FLCZ 眼内移行には硝子体切除術後のいずれの時間に静注した場合も非切除眼に比べて有意差はみられなかった．大脳皮質中 FLCZ 濃度は静注1時間後で血清中 FLCZ 濃度の80%に達しており，静注された FLCZ の中枢神経系への良好な移行が示唆された．

3．FLCZ 連日全身投与 (25mg/kg/日) 第4日の眼各組織，視神経，大脳皮質および血清中の FLCZ 濃度はいずれも1回静注した際に比して有意に高値であった．第4日と第7日ではほとんどの組織において FLCZ 濃度に有意差はなかった．硝子体切除眼と非切除眼との間では連日静注後の眼内移行には有意差はなかった．

4．FLCZ 200μg 硝子体内注入後の硝子体中 FLCZ 濃度は指数関数的に減少し，その半減期は約1.5時間であった．網脈絡膜および虹彩毛様体中の FLCZ 濃度は硝子体中濃度とほぼ並行して減少したが，角膜および前房水中からは FLCZ はほとんど検出されず，硝子体内注入された FLCZ は後方排出路を通って速やかに眼外に排出されると考えられた．

5．FLCZ 20 または 50μg/ml 15分間灌流におけるウサギ摘出眼杯 ERG, FLCZ 200μg 硝子体内注入3時間～2週間後の ERG および VEP には変化はみられず，FLCZ 200μg 硝子体内注入2週間後では組織学的にも網膜に異常所見はみられなかった．FLCZ 25mg/kg/日 8日間の連日静注後の ERG および VEP は静注前に比べて変化しなかった．

6．FLCZ 400mg/日 が連日投与されていた真菌性眼内炎の症例での血清中 FLCZ 濃度は投与12時間後においても 20μg/ml 以上であった．前房水および硝子体中の FLCZ 濃度はそれぞれ血清中濃度の70～90%および60～80%であり，ウサギでの実験結果と類似していた．

7．全身投与された FLCZ はほぼすべての眼組織内に高濃度に移行し，連日静注を行うことによって眼内濃度はさらに高められるが，網膜には影響を与えないことが判明した．FLCZ の全身投与は眼の真菌感染症の治療に有用であると考えられる．

謝　　辞

稿を終えるに臨み，御指導，御校閲を賜わりました恩師河崎一夫教授に深甚の謝意を捧げます．また水晶体の分割に御協力いただきました金沢医科大学眼科学教室佐々木一之教授ならびに小島正美博士に深謝致します．さらに，直接御指導いただきました望月清文博士，鳥崎真人博士をはじめ，本研究にご協力下さいました当教室小松雅樹学士，棚橋俊郎学士，内山佳代学士，東出朋巳学士，浅野直子学士，大久保真司学士，緒方正史学士，酒井宏之学士ならびに実験器具・装置の作製についてご協力下さいました本学工作係水野清澄技官に感謝の意を表します．

文　　献

1)　**石橋康久，本村幸子，渡辺亮子**：本邦における内因性真菌性眼内炎．－1986年末までの報告例の集計－．日眼会誌，**92**，952-958 (1988).

2)　**登坂良雄，藤井　青**：人工水晶体移植術後に発生した真菌性眼内炎の1例．眼紀，**41**，1338-1344 (1990).

3)　**今井正之，金子礼子，荻原博美，谷口重雄，岡田　裕，稲富　誠，深道義尚**：後房レンズ移植後に発生した真菌性眼内炎の1例．IOL，**5**，81-86 (1991).

4) **Kauffman, C. A., Bradley, S. F. & Vine, A. K.:** *Candida* endophthalmitis associated with intraocular lens implantation: efficacy of fluconazole therapy. Mycoses, **36**, 13-17 (1993).

5) **矢野啓子**：真菌性眼内炎の診断と治療．眼科，**33**, 1341-1346 (1991).

6) **Perraut, L. E. Jr., Perraut, L. E., Bleiman, B. & Lyons, J.:** Successful treatment of *Candida albicans* endophthalmitis with intravitreal amphotericin B. Arch. Ophthalmol., **99**, 1565-1567 (1981).

7) **浅井利通，世良佳子，溝上国義，山本　節**：硝子体手術およびアンフォテリシンB硝子体内注入の著効した内因性 *Candida albcans* 眼内炎の1例．臨眼，**41**, 541-545 (1987).

8) **佐々木次壽，白尾　裕，鳥崎真人，望月清文**：ミコナゾールの硝子体内投与と硝子体切除術が著効を呈した内因性 *Candida albicans* 眼内炎の1例．臨眼，**44**, 31-35 (1990).

9) **川添真理子，沖波　聡，齋藤伊三雄，荻野誠周，水谷　聡，直井信久，松村美代，根木　昭，奥平晃久，原田隆文，山川良治，長浜宗信**：内因性真菌性眼内炎に対する硝子体手術．臨眼，**48**, 753-757 (1994).

10) **渡辺一功**：抗真菌薬．日本臨床，**48**, 2222-2227 (1990).

11) **兼子周一，津島一晃，青沼秀実，中島　徹，上野　眞，渡邉郁緒**：真菌性眼内炎へのフルコナゾールの使用経験．臨眼，**45**, 1389-1392 (1991).

12) **大西克尚，佐川卓司，諸岡居織，宇都裕恵，栗原かすみ，石橋達朗**：内因性真菌性眼内炎に対するフルコナゾールの応用．あたらしい眼科，**9**, 115-119 (1992).

13) **石橋康久，加畑隆通，本村幸子，渡辺亮子**：トリアゾール系抗真菌剤による角膜真菌症の治療．臨眼，**46**, 1437-1443 (1992).

14) **Müller, A., Möller, B., Dragomirescu, V. & Hockwin, O.:** Profiles of enzyme activities in bovine lenses. *In* O. Hockwin (ed.), Drug-Induced Ocular Side Effects and Ocular Toxicology. Concepts in Toxicology, vol. 4, 1st ed., p343-349, Kagar, Basel, 1987.

15) **西　興史**：実験動物における確実な麻酔法．日本の眼科，**60**, 877-878 (1989).

16) **川口博治，米村大蔵，河崎一夫，柴田二郎，臼倉弘子，田辺譲二，中川寛忠**：家兎眼 in vitro ERG におよぼす浸漬液 pH の影響．日眼会誌，**83**, 454-462 (1979).

17) **長山理三郎**：摘出家兎網膜 ERG の実験的研究．第I報 摘出家兎網膜からの ERG の誘導．日眼会誌，**73**, 1900-1908 (1969).

18) **米村大蔵，河崎一夫**：律動様小波とその臨床．眼科 MOOK No. 14. 眼と電気生理（田沢　豊編），第1版，59-70頁，金原出版，東京，1980.

19) **米村大蔵，土田　豊，藤村和昌，山田芳明**：家兎視神経及び視覚領における新誘発電位成分について．日眼会誌，**71**, 230-234 (1967).

20) **米村大蔵，土田　豊，山田芳明，藤村和昌**：家兎 VEP における初期陽性電位について．日眼会誌，**71**, 449-453 (1967).

21) **Hughes, A. & Wilson, M. E.:** Callosal terminations along the boundary between visual areas I and II in the rabbit. Brain Res., **12**, 19-25 (1969).

22) **井上治郎，Potts, A. M.**：家兎の EER (electrically evoked response of the visual system) について．日眼会誌，**75**, 765-772 (1971).

23) **谷口守男**：視覚誘発反応 (VER) に関する研究．第1報．家兎 VER の潜時について．眼紀，**17**, 221-228 (1966).

24) **Thompson, J. M., Woolsey, C. N. & Talbot, S. A.:** Visual areas I and II of cerebral cortex of rabbit. J. Neurophysiol., **13**, 278-288, (1950).

25) **Spivey, B. E. & Pearlman, J. T.:** Day-to-day variations in the ERG of humans and rabbits. Am. J. Ophthalmol., **55**, 1013-1020 (1963).

26) **Lawwill, T.:** Practical rabbit electroretinography. Am. J. Ophthalmol., **74**, 135-141 (1972).

27) **稲富　誠，杉町剛美，中島　章**：麻酔薬のラット ERG におよぼす影響．眼紀，**29**, 737-742 (1978).

28) **Zachary, I. G. & Forster, R. K.:** Experimental intravitreal gentamicin. Am. J. Ophthalmol., **82**, 604-611 (1976).

29) **石橋康久**：眼科における真菌感染症．あたらしい眼科，**9**, 207-213 (1992).

30) **平野洋子**：*Candida albicans* による実験的脈絡網膜炎．日眼会誌，**93**, 109-117 (1989).

31) **秦野　寛**：内因性細菌性・真菌性眼内炎の薬物療法．あたらしい眼科，**7**, 399-402 (1990).

32) **Green, W. R., Bennett, J. E. & Goos, R. D.:** Ocular penetration of amphotericin B. A report of laboratory studies and a case report of postsurgical *Cephalosporium* endophthalmitis. Arch. Ophthalmol., **73**, 769-775 (1965).

33) **Foster, C. S. & Stefanyszyn, M.:** Intraocluar penetration of miconazole in rabbits. Arch. Ophthalmol., **97**, 1703-1706 (1979).

34) **Axelrod, A. J. & Peyman, G. A.:** Intravitreal amphotericin B treatment of experimental fungal endophthalmitis. Am. J. Ophthalmol., **76**, 584-588, (1973).

35) **鳥崎真人，望月清文，山下陽子，佐々木次壽**：真菌性眼内炎の治療をめざして．－ミコナゾールの硝子体内注入－．あたらしい眼科，**5**, 1811-1814 (1988).

36) **Savani, D. V., Perfect, J. R., Cobo, L. M. & Durack, D. T.:** Penetration of new azole compounds into the eye and efficacy in experimental *Candida* endophthalmitis. Antimicrob. Agents Chemother., **31**, 6-10 (1987).

37) **O'Day, D. M., Foulds, G., Williams, T. E., Robinson, R. D., Allen, R. H. & Head, W. S.:** Ocular uptake of fluconazole following oral administration. Arch. Ophthalmol., **108**, 1006-1008 (1990).

38) **阿部真知子，石川明邦**：フルコナゾールの房水内，硝子体内移行．あたらしい眼科，**8**, 1479-1481 (1991).

39) **塩瀬芳彦**：眼内 barrier 機構とその臨床的意義．臨眼，**31**, 875-887 (1977).

40) **望月清文**：網膜におよぼす硫酸ゲンタマイシンの影響．十全医会誌，**101**, 897-939 (1992).

41) **Martin, D. F., Ficker, L. A., Aguilar, H. A., Gardner, S. K., Wilson, L. A. & Meredith, T. A.:** Vitreous cefazolin levels after intravenous injection. Effects

of inflammation, repeated antibiotic doses, and surgery. Arch. Ophthalmol., **108**, 411-414 (1990).

42) **Mochizuki, K., Torisaki, M., Yamashita, Y., Komatsu, M. & Tanahashi, T.**: Intravitreal flomoxef sodium in rabbits. Ophthalmic Res., **25**, 128-136 (1993).

43) **Mochizuki, K., Yamashita, Y., Torisaki, M., Komatsu, M., Tanahashi, T. & Kawasaki, K.**: Intraocular kinetics of ceftazidime (Modacin®). Ophthalmic Res., **24**, 150-154 (1992).

44) **新家　真**：全身投与と薬物の眼内移行．新臨床眼科全書第11巻（三島済一編），第1版，15-32頁，金原出版，東京，1983.

45) **浅野直子，内山佳代，緒方正史，山本恭代，棚橋俊郎，山下陽子，鳥崎真人，望月清文，小島正美，佐々木一之，石橋康久**：局所投与によるフルコナゾールの眼内移行．あたらしい眼科，**10**, 1381-1385 (1993).

46) **鳥崎真人**：塩酸ロメフロキサシンの硝子体内許容投与量とその眼内動態に関する研究．十全医会誌，**103**, 491-516 (1994).

47) **小島正美，佐々木一之**：抗白内障薬（AL-04114）の局所眼内移行．あたらしい眼科，**10**, 296-300 (1993).

48) **Cunha-Vaz, J.**: The blood-ocular barriers. Surv. Ophthalmol., **23**, 279-296 (1979).

49) **Foulds, G., Brennan, D. R., Wajszczuk, C., Catanzaro, A., Garg, D. C., Knopf, W., Rinaldi, M. & Weidler, D. J.**: Fluconazole penetration into cerebrospinal fluid in humans. J. Clin. Pharmacol., **28**, 363-366 (1988).

50) **Perfect, J. R. & Durack, D. T.**: Penetration of imidazoles and triazoles into cerebrospinal fluid of rabbits. J. Antimicrob. Chemother., **16**, 81-86 (1985).

51) **Walsh, T. J., Foulds, G. & Pizzo, P. A.**: Pharmacokinetics and tissue penetration of fluconazole in rabbits. Antimicrob. Agents Chemother., **33**, 467-469 (1989).

52) **平谷民雄，山口英世**：抗真菌剤の作用機作．薬局，**40**, 713-720 (1989).

53) **中島道郎**：原発性肺真菌症に対するFluconazoleの臨床的研究．肺クリプトコックス症並びに肺アスペルギルス症に対する本剤の効果とその血中動態について．Jpn. J. Antibiot., **42**, 127-137 (1989).

54) **柴　孝也，斎藤　篤，宮原　正**：Fluconazole単回使用時の安全性並びに薬物体内動態試験．健常成人男子志願者を対象とした内服及び静注による検討．Jpn. J. Antibiot., **42**, 17-30, (1989).

55) **山口英世，内田勝久，川崎賢二，松永敏幸**：新トリアゾール系抗真菌剤 Fluconazole の *in vitro* 抗真菌活性．Jpn. J. Antibiot., **42**, 1-16 (1989).

56) **大西克尚**：真菌性眼内炎．眼科診療プラクティス No. 11. 眼科治療薬ガイド（本田孔士編），第1版，134-135頁，文光堂，東京，1994.

57) **Maurice, D. M.**: Injection of drugs into the vitreous body. *In* I. H. Leopold & R. P. Burns (eds.), Symposium on Ocular Therapy, vol 9, 1st ed., p59-72, John Wiley & Sons, New York, 1976.

58) **Kane, A., Barza, M. & Baum, J.**: Intravitreal injection of gentamicin in rabbits. Effect of inflammation and pigmentation on half-life and ocular distribution. Invest. Ophthalmol. & Visual Sci., **20**, 593-597 (1981).

59) **Ficker, L., Meredith, T. A., Gardner, S. & Wilson, L. A.**: Cefazolin levels after intravitreal injection. Effects of inflammation and surgery. Invest. Ophthalmol. & Visual Sci., **31**, 502-505 (1990).

60) **Barza, M., Kane, A. & Baum, J.**: The effects of infection and probenecid on the transport of carbenicillin from the rabbit vitreous humor. Invest. Ophthalmol. & Visual Sci., **22**, 720-726 (1982).

61) **Barza, M., Kane, A. & Baum, J.**: Pharmacokinetics of intravitreal carbenicillin, cefazolin, and gentamicin in rhesus monkeys. Invest. Ophthalmol. & Visual Sci., **24**, 1602-1606 (1983).

62) **池本秀雄，渡辺一功，森　健，谷内　昭，赤保内良和，三国主税，吉田弘喜，笠井正晴，川村憲一，吉田　司，今野淳，大泉耕太郎，青沼清一，林　泉，伊藤　章，島田　馨，岡　慎一，中田　光，宮原　正，嶋田甚五郎，堀　誠治，青木延，広沢信作，中村裕一，恵畑欣一，桜井　恵，谷本普一，中谷龍王，小野沢康輔，小田切繁樹，室橋光宇，鈴木周雄，石井俊一，舟田　久，斉藤英彦，下方　薫，大野竜三，堀田智光，山本正彦，伊奈康信，荒川啓基，中島道郎，細田四郎，藤山佳秀，正岡　徹，柴田弘俊，螺良英郎，中川　勝，中山志郎，永井謙一，副島林造，矢木　晋，松島敏春，安達倫文，人見泰，安田英己，入野昭三，窪田良次，澤江義郎，石丸敏之，高木宏治，原　耕平，広田正毅，山口恵三，河野　茂，林　敏明，笹山一夫，安岡　彰，伊藤直美，奥野一裕，小江俊行，松倉　茂，鶴田和仁，那須　勝，重野秀明，後藤陽一郎，山口秀世，内田勝久**：Fluconazoleの深在性真菌症に対する臨床試験成績．Jpn. J. Antibiot., **42**, 63-116 (1989).

63) **島田宏之**：硝子体手術に関する基礎的研究．その1　家兎眼網膜に及ぼす影響に関する実験的研究．眼紀，**33**, 878-890 (1982).

64) **Talamo, J. H., D'Amico, D. J., Hanninen, L. A., Kenyon, K. R. & Shanks, E. T.**: The influence of aphakia and vitrectomy on experimental retinal toxicity of aminoglycoside antibiotics. Am. J. Ophthalmol., **100**, 840-847, (1985).

65) **Schulman, J. A., Peyman, G., Fiscella, R., Small, G., Coats, M., Wajszczuk, C. P. & Steahly, L.**: Toxicity of intravitreal injection of fluconazole in the rabbit. Can. J. Ophthalmol., **22**, 304-306 (1987).

66) **三浦嘉久，兼子周一，三浦恵子，渡邉郁緒**：フルコナゾール硝子体内注入の家兎眼に対する安全性．眼紀，**43**, 35-38 (1992).

67) **Axelrod, A. J., Peyman, G. A. & Apple, D. J.**: Toxicity of intravitreal injection of amphotericin B. Am. J. Ophthalmol., **76**, 578-583 (1973).

68) **磯部　裕，秦野　寛**：家兎内因性カンジダ眼内炎に対するフルコナゾールの抑制効果．日眼会誌，**74**, 1007-1011 (1990).

69) **Filler, S. G., Crislip, M. A., Mayer, C. L. & Edwards, J. E. Jr.**: Comparison of fluconazole and amphotericin B for treatment of disseminated candidiasis and endophthalmitis in rabbits. Antimicrob. Agents Chemother., **35**, 288-292 (1991).

70) 矢野啓子，林 洋一，中谷幸二，大久保敏男，岡崎充宏：実験的家兎内因性カンジダ眼内炎に対するフルコナゾールの効果．あたらしい眼科，10, 267-270 (1993).
71) Borne, M. J., Elliott, J. H., O'Day, D. M. & Tenn, N.: Ocular fluconazole treatment of *Candida parapsilosis* endophthalmitis after failed intravitreal amphotericin B. Arch. Ophthalmol., 111, 1326-1327 (1993).
72) Henderson, D. K., Edwards, J. E. Jr. & Montgomerie, J. Z.: Hematogenous *Candida* endophthalmitis in patients receiving parenteral hyperalimentation fluids. J. Infect. Dis., 143, 655-661 (1981).
73) 矢野啓子，吉野 啓，北島英彰，徳永直記，藤原隆明：IVH 留置症例の真菌性眼内炎発症頻度．あたらしい眼科，7, 1839-1841 (1990).
74) 岡本隆一郎，平松義文，北出浩章，真田俊明，小島善詞，川口雄才，日置紘士郎，山本政勝，三木弘彦，宇山昌延：中心静脈カテーテル留置に伴う合併症．一特に真菌性眼内炎の問題点とその対策一．日消外会誌，23, 2089-2093, (1990).

Intraocular Pharmacokinetics and Retinal Tolerance of Fluconazole Yohko Yamashita, Department of Ophthalmology, School of Medicine, Kanazawa University, Kanazawa 920－J. Juzen Med Soc., **103,** 938－958 (1994)

Key words fluconazole, systemic administration, intravitreal injection, intraocular pharmacokinetics, retinal tolerance

Abstract

The intraocular penetration of fluconazole (FLCZ), one of the triazole antifungal agents, was studied in non-vitrectomized normal eyes and vitrectomized eyes of albino rabbits after single or daily intravenous injections. The intraocular pharmacokinetics of FLCZ after an intravitreal injection of FLCZ were also studied. To evaluate the effect of FLCZ on the retina, the in-vitro electroretinogram (ERG) of the excised eye-cup perfused with a FLCZ-containing solution, the in-vivo ERG, the visually evoked potential (VEP) and the retinal histology after intravitreal injections of FLCZ were studied in albino and pigmented rabbits. After an intravenous injection of 5 or 25 mg/kg FLCZ, the concentrations of FLCZ in the serum, the aqueous humor and the vitreous humor varied according to the dosage administered. The FLCZ concentrations in the ocular tissues 1 hour after an intravenous injection of 25 mg/kg FLCZ were above 10 μg/ml (or μg/g) except for the lens, and were not significantly different from the concentrations 12 hours after injection. The penetration of FLCZ into the ocular tissues after an intravenous injection was similar in both non-vitrectomized eyes and vitrectomized eyes. At the fourth and seventh days the concentrations of FLCZ in the ocular tissues after daily intravenous injections (25 mg/kg/day) were significantly higher than those after a single intravenous injection. In albino rabbits the intravitreal concentration of FLCZ decreased almost exponentially with a half-life of 1.5 hours after an intravitreal injection of 200 μg FLCZ. Although the rates of decrease of the FLCZ concentrations in the choroid-retina and in the iris-ciliary body were similar to those of the intravitreal concentration, FLCZ was hardly detectable in the cornea and in the aqueous humor after an intravitreal injection of FLCZ. The in-vitro eye-cup ERG remained unchanged during perfusion with 20 or 50 μg/ml solution of FLCZ for 15 minutes. The in-vivo ERG and the VEP remained unchanged and the retina was histologically normal 2 weeks after an intravitreal injection of 200 μg of FLCZ. The in-vivo ERG and the VEP were also unchanged after daily intravenous injection of 25 mg/kg/day FLCZ for 8 days. The FLCZ concentration in the serum of 2 patients with fungal endophthalmitis treated by daily intravenous injections of FLCZ (400 mg/day) was above 20 μg/ml 12 hours after the final injection, and the FLCZ concentrations in the aqueous humor and the vitreous humor of 3 patients were respectively 70 to 90% and 60 to 80% of those in the serum. FLCZ highly penetrated into the all ocular tissues except for the lens, and the high concentration of FLCZ in the ocular tissues was attained by daily intravenous injections. Since no deleterious effects on the retina due to the above-mentioned dosage of FLCZ were electrophysiologically and histologically observed, a systemic administration of FLCZ would be useful for treatment of intraocular fungal infections.