

Effects of Antibiotics on the In Vitro ERG  
IV. Investigation of Antifungal Agent (Amphotericin  
B) on the Albino Rabbit Eye-Cup

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	<a href="http://hdl.handle.net/2297/7878">http://hdl.handle.net/2297/7878</a>

# In vitro ERG に対する抗生剤の影響

## Ⅳ. 家兎眼における抗真菌剤 (アンホテリシン B) の検討

金沢大学医学部眼科学講座 (主任: 米村大蔵教授)

大野 木 淳 二

(昭和61年5月20日受付)

アンホテリシン (amphotericin B, AMPH) が網膜におよぼす急性障害を白色家兎 in vitro 網膜電図 (electroretinogram, ERG) の a 波, b 波, 律動様小波 (oscillatory potentials, OPs) および c 波を指標として検討した。摘出眼杯 (網膜, 脈絡膜および強膜から成る) を2個の浸漬液容器間に装着した。浸漬液 pH を 8.0~8.2 に, その温度を  $31 \pm 1^\circ\text{C}$  に維持した。a 波, b 波, OPs および c 波は AMPH  $1 \mu\text{M}$  では変化せず,  $5 \mu\text{M}$  では軽度で減弱した。この変化は可逆的であった。AMPH  $50 \mu\text{M}$  では b 波および OPs は著明に減弱したが, c 波振幅はむしろ増大し, その頂点潜時が短縮した。これらの変化は対照液を再灌流して約 75 分経過した時点でようやく軽減し, ERG 波形は AMPH 添加前の対照波形に近づいた。AMPH の家兎 ERG に対する最小作用濃度は  $3.3 \mu\text{M}$  (約  $2.8 \mu\text{g/ml}$ ) であり, *Candida albicans*, *Aspergillus fumigatus* などの真菌に対する AMPH の最小発育阻止濃度を凌駕した。

---

**Key words** Amphotericin B, albino rabbit, eye-cup, electroretinogram, minimum inhibitory concentration

---

真菌細胞は人体細胞のように真核細胞であるので<sup>1)</sup> 選択毒性の高い抗真菌剤の開発は容易ではない。1957 年頃から臨床応用されてきたアンホテリシン B (amphotericin B, AMPH) は強い副作用にもかかわらず<sup>2)</sup>, それに優る抗真菌剤の開発の遅れのため現在もなお抗真菌剤の第一選択剤として用いられている。

真菌性眼内炎は比較的緩慢な進行をとるので, その早期診断は困難であり, ついには重篤な状態に陥りやすい。従来, 抗真菌剤のうち AMPH の静脈内注入法によって重篤な真菌性眼内炎を治癒させた幾つかの報告がある<sup>3)-6)</sup>。一方, 不良な全身状態が真菌性眼内炎の素因となった症例の中には眼球摘出を行わざるをえなくなったものもある<sup>7)</sup>。このような状況を考慮した上で, 近年, 本疾患の治療に際して AMPH の硝子体内注入<sup>8)</sup>, さらに硝子体手術と AMPH の硝子体内注入との併用療法が注目されてきている。副作用が強い<sup>2)</sup> とされる AMPH を眼内投与するに当たっては, その硝子体内の適切な濃度をとくに慎重に決定しなければならない。しかし, AMPH による網膜毒性に関する基

礎研究としては, Axelrod ら<sup>13)</sup> および Huang ら<sup>14)</sup> の報告がわずかに散見されるのみである。ゆえに, 本編においては in vitro 網膜電図 (electroretinogram, ERG) の a 波, b 波, 律動様小波 (oscillatory potentials, OPs) および c 波を指標として, AMPH の網膜毒性について検討を加え, AMPH の眼内投与のための基礎知見を提供することを目的とした。

### 材料および方法

体重 2~3 kg の成熟白色家兎 (家兎) 5 羽 9 眼を用いて, 暗室内赤色光下にて摘出眼杯を作製した。眼杯の作製方法, 浸漬液容器, 灌流装置, 灌流条件ならびに ERG の記録条件・方法については第 I 編<sup>15)</sup> と同様であった。長山第 II 液<sup>16)</sup> を対照灌流液として用い, ERG 記録時には温度  $31 \pm 1^\circ\text{C}$ , pH 8.0~8.2 に維持した。AMPH (ファンギゾン® 50 mg (力価), スクイブ社) を長山第 II 液に添加し, AMPH 添加液の灌流開始 15 分後に白色弱刺激光 (網膜面照度  $1.0 \times 10^{-3}$  lux, 持続時間 500 msec の矩形波光) による ERG を, その

---

Abbreviations: AMPH, amphotericin B; ERG, electroretinogram; MIC, minimum inhibitory concentration; OPs, oscillatory potentials.

3分後に白色強刺激光(網膜面照度  $3.3 \times 10^2$  lux, 持続時間 200 msec の矩形波光)による ERG を観察した。

網膜側浸漬液容器内浸漬液の pH および浸透圧をそれぞれ pH メーター(堀場製作所, type F-7) および浸透圧計(Knauer 社)にて実測した。

本編で添加した商用 AMPH (ファンギゾン®) はごく低濃度 ( $1 \mu\text{M}$ ,  $5 \mu\text{M}$  および  $50 \mu\text{M}$ ) であったが, 商用 AMPH が水に対して低い溶解度を有する点を考慮して, 最初に一定量の AMPH を大量(10 l)の長山第 II 液に加え溶液が透明になるまでゆっくりと振盪し, さらに, 稀釈法を用いて所定濃度に調整した。本編では AMPH 濃度を  $\mu\text{M}$  で表示した。前編<sup>19)17)19)</sup>に準じて, AMPH 添加による ERG 変化の程度を grade 0~3 に分類した。この程度分類にもとづき, AMPH の家兎 ERG に対する最小作用濃度について検索した。

## 成 績

網膜側浸漬液容器内浸漬液の pH および浸透圧は長山第 II 液灌流中ではそれぞれ 8.0~8.2 および  $300 \pm 3$  mOsmol であり, AMPH 灌流中においても本編で用いた濃度では長山第 II 液灌流中の実測値(上記)内にとどまった。

9 眼を用いた。いずれにおいても同様の成績を得た。その典型例を以下に示す。

b 波に関しては, AMPH  $1 \mu\text{M}$  では変化なく(図 1 A, 1 B),  $5 \mu\text{M}$  では弱刺激光にても強刺激光にても b 波振幅は軽度到低下したが, その頂点潜時は有意に変化しなかった(図 2 A, 2 B)。この b 波の変化は対照液の再灌流後に軽減した(図 2 A, 2 B)。AMPH  $50 \mu\text{M}$  では弱刺激光にても強刺激光にても b 波振幅は著しく低下した(図 3 A, 3 B)。この変化は対照液の再灌流後 75 分経過した時点でようやく軽減した(図 3 A, 3 B)。

OPs に関しては, AMPH  $1 \mu\text{M}$  では振幅および頂点潜時は変化せず(図 1 C),  $5 \mu\text{M}$  では  $O_1 \sim O_4$  の振幅は軽度到低下したが, 各頂点潜時は有意に変わらなかった(図 2 C)。これらの変化は対照液の再灌流後に軽減した。すなわち, 変化はほぼ可逆的であった(図 2 C)。AMPH  $50 \mu\text{M}$  では OPs ( $O_1 \sim O_4$ ) はほぼ消失したが, 対照液を再灌流して約 75 分後によりやく OPs 波形は回復傾向を呈した(図 3 C)。

a 波に関しては, AMPH  $1 \mu\text{M}$  では変化なく(図 1),  $5 \mu\text{M}$  では a 波振幅は軽度到低下したが, その頂点潜時は有意に変化しなかった。対照液の灌流にもどすと, この変化は軽減した。すなわち, 変化はほぼ可逆的であった(図 2)。AMPH  $50 \mu\text{M}$  では a 波振幅は

低下し, その頂点潜時は軽度に延長した。これらの変化は対照液の再灌流後 75 分経った時点でようやく軽減した(図 3)。

c 波に関しては, AMPH  $1 \mu\text{M}$  では振幅および頂点潜時は変化せず(図 1 D),  $5 \mu\text{M}$  では c 波振幅は軽度到低下した。これらの変化は対照液の再灌流後に軽減した。すなわち, 変化は可逆的であった(図 2 D)。AMPH  $50 \mu\text{M}$  では c 波振幅は著しく増大し, その頂点潜時は著しく短縮した。これらの変化は対照液を再灌流して 75 分後によりやく軽減し, c 波波形は AMPH 添加前の対照波形に近づいた(図 3 D)。

## 考 察

Peyman ら<sup>19)</sup>によれば, 家兎硝子体内に注入された horse raddish peroxidase (molecular weight 40000, molecular size  $25 \sim 30 \text{ \AA}$ ) は, 注入後 15 分には網膜色素上皮の tight junction まで到達しうる。ゆえに, 本編で用いた AMPH の molecular weight および molecular size がそれぞれ 924.09 および  $28 \text{ \AA}$  である<sup>20)</sup>ことを考慮すれば, 本実験において ERG 記録時点(灌流開始 15~18 分後)では, AMPH は網膜色素上皮の tight junction まで達しうると解される。

AMPH 添加液灌流時の浸漬液容器内 pH および浸透圧が対照灌流液での実測値内にとどまることから, 本編における AMPH 添加(濃度  $50 \mu\text{M}$  以下, 作用時間約 20 分以内)による ERG 変化は, pH や浸透圧の変化に起因するものではないと解される。

商用 AMPH (ファンギゾン®) には溶解補助剤としてデソキシコール酸ナトリウムが AMPH に対して 4 : 5 の割合で含まれるので, 商用 AMPH (ファンギゾン®) は水に対して低い溶解度(水に対する溶解性は  $0.75 \text{ mg/ml}$  である)を有する<sup>21)</sup>。本編では商用 AMPH (ファンギゾン®, デソキシコール酸ナトリウムを含む)を用いたので, 本編での成績が AMPH 自体による ERG 変化を反映するか否かを検討せねばならない。Axelrod ら<sup>13)</sup>の白色家兎を用いた慢性実験によると, デソキシコール酸ナトリウム溶液は低濃度(ファンギゾン®濃度  $66 \mu\text{g/ml}$  に含まれる量と等量)では網膜障害を惹起しない。この報告<sup>13)</sup>に立脚すれば, 本編での商用 AMPH (ファンギゾン®) 添加による ERG 変化は AMPH 自体によるとみなしえよう。

次に ERG 記録時点において AMPH が果たして所定濃度で網膜に作用しているか否かを検討を要する。AMPH は pH 3~11 の範囲内の pH 域で少なくとも 24 時間安定であり, また溶解後  $30^\circ\text{C}$  に 1 週間においても AMPH の力価は低下しなかったという<sup>22)</sup>。ゆえに,

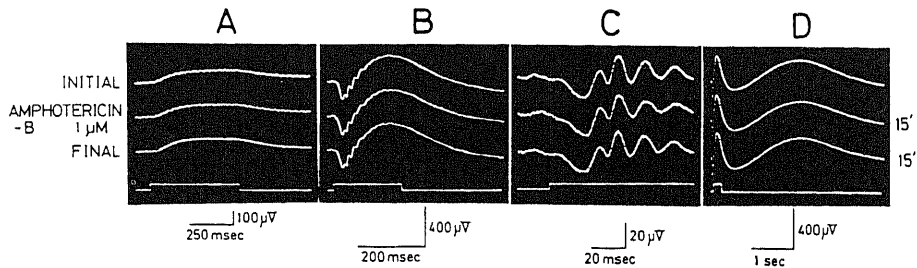


Fig. 1. Effect of amphotericin B (AMPH) on the ERG of the in vitro eye-cup of the albino rabbit. The a-wave, b-wave, oscillatory potentials and c-wave were not deteriorated by  $1 \mu\text{M}$  AMPH. Responses in this figure were obtained from the same eye-cup. The uppermost traces show responses during initial perfusion with the control solution (Nagayama's solution). The second traces show responses during perfusion with an antibiotic-containing solution. The lowest traces show responses after the antibiotic was washed out by perfusion with Nagayama's solution. Numerals at the right indicate the time (minutes) after onset of perfusion with Nagayama's solution or AMPH-containing solution. These hold in all figures in the present paper. The stimulus intensity was  $1.0 \times 10^{-3}$  lux in A and  $3.3 \times 10^2$  lux in the others (B, C, D). Direct-coupled amplification was used in A, B and D. The amplifier time constant was 3 msec in C.

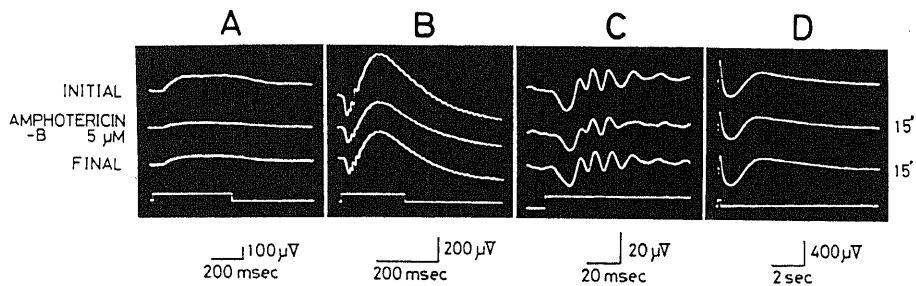


Fig. 2. Effect of amphotericin B (AMPH) on the ERG of the in vitro eye-cup of the albino rabbit. The a-wave, b-wave, oscillatory potentials and c-wave were slightly suppressed by  $5 \mu\text{M}$  AMPH. These changes in the ERG were mostly reversible. Other conditions were the same as in Fig. 1.

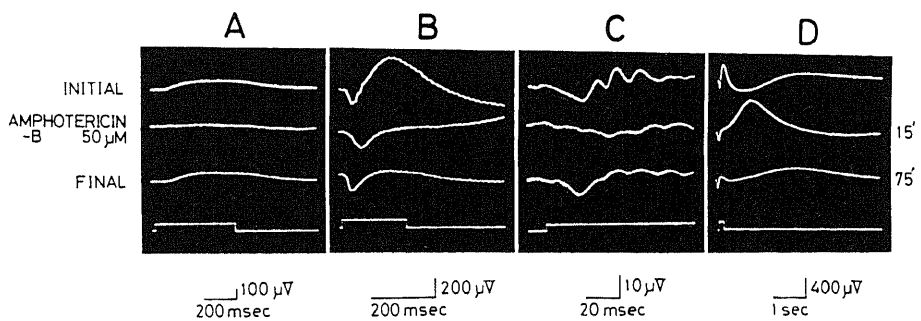


Fig. 3. Effect of amphotericin B (AMPH) on the ERG of the in vitro eye-cup of the albino rabbit. The b-wave and oscillatory potentials were greatly suppressed by  $50 \mu\text{M}$  AMPH, but the amplitude of the c-wave was enhanced and its peak latency was shortened. The changes in the ERG were partially reversible 75 minutes after Nagayama's solution was re-perfused. Other conditions were the same as in Fig. 1.

AMPH の溶解後の力価低下は本実験条件 (pH 8.0~8.2, 温度  $31 \pm 1^\circ\text{C}$ , 作用時間約 20 分) 下ではほとんどありえない。灌流中の AMPH の網膜側浸漬液容器内での濃度推移は実測されていないが, 本編において灌流系および灌流条件が前編<sup>(5)(17)(18)</sup>と同一であるから, 前編<sup>(5)(17)(18)</sup>で用いた抗生剤と同様な濃度推移を示すであろうと十分に推定される。ゆえに, この推定が許容されるならば, ERG 記録時点において AMPH はほとんど失活しないままで所定濃度に達し摘出家兔網膜に作用したと推察される。

本実験の目的は網膜に対して無害な AMPH 濃度を検索することにある。前編<sup>(5)(17)(18)</sup>同様, AMPH の家兔 ERG に対する最小作用濃度を, ERG 変動の程度が 10% 以内にとどまる (grade 0 に相当する) 最高濃度と ERG 振幅が 20% 以上 40% 未満減弱する (grade 1 に相当する) 最低濃度との中間値と定め, これを指標として AMPH が網膜におよぼす急性障害を検討した。本編で用いた AMPH による b 波の変化は弱光刺激にても強光刺激にても同様な傾向 (ともに減弱) を呈した。本編では a 波, b 波, OPs および c 波の振幅ならびに頂点潜時を指標とした各濃度 (1  $\mu\text{M}$ , 5  $\mu\text{M}$  および 50  $\mu\text{M}$ ) の AMPH による変化の有無や程度を表 1 に示す。AMPH 5  $\mu\text{M}$  では a 波, b 波, OPs および c 波の振幅はいずれも軽度低下した (図 2) ので, この濃度では網膜色素上皮層を含めてほぼ網膜全層に AMPH の影響がおよんでいるかも知れない。また, AMPH 50  $\mu\text{M}$  では b 波および OPs が著しく減弱した (図 3) から, この濃度ではとくに網膜内層に重篤な侵襲がおよんでいると示唆される。AMPH 50  $\mu\text{M}$  では c 波振幅は著明に増大し, その頂点潜時は短縮した (図 3) から, この濃度では c 波発現に關与する機

構に何らかの変化が誘起されたものと推定される。c 波発現には網膜色素上皮ばかりでなく, 光を受容する視細胞も健全であることを必要とし, さらに網膜色素上皮と視細胞との接合状態も正常であらねばならない。また c 波の構成成分には, (1) 網膜色素上皮に由来する電位, 換言すれば, 細胞外カリウム濃度 ( $\text{K}^+$ ) out の低下による網膜色素上皮の apical membrane の過分極<sup>(23)</sup>, (2) 網膜色素上皮の apical membrane における  $\text{Na}^+\cdot\text{K}^+$  pump の活動による電位<sup>(24)</sup>, (3) slow P III (Müller 細胞由来とされる)<sup>(25)</sup> などの網膜色素上皮以外で生じる電位などが想定されている。真菌細胞も人体細胞とともに真核細胞であるから<sup>(1)</sup>, AMPH は真菌細胞ばかりでなく, 人体細胞に対しても膜構造をなすステロールと特異的に反応し, 膜内でステロールの再配列および膜を貫通する細孔の形成を促し, 膜透過性の異常亢進を惹起する結果, AMPH は細胞内カリウムイオンを細胞外へ漏出させるという<sup>(26)~(29)</sup>。これらの観点<sup>(26)~(29)</sup>に立てば, AMPH 50  $\mu\text{M}$  添加によって網膜での細胞膜の破綻が生じた結果, 大きな ERG 変化 (図 3) が発現したとの推定が可能な発生機序の一つとして挙げられよう。

以上, 本編の成績から, AMPH による網膜侵襲は網膜色素上皮を含めてほぼ網膜全層におよぶものであるかも知れないと示唆される。比較的低濃度 (5  $\mu\text{M}$ ) の AMPH は可逆的に軽度の ERG 変化 (図 2) を惹起するにとどまったので, その臨床使用がある程度許容されると考える。しかし, 比較的高濃度 (50  $\mu\text{M}$ ) の AMPH は大きな ERG 変化 (図 3) をもたらし, しかも, 不可逆的な変化を呈した (図 3) ので, 網膜に対する重篤な侵襲が憂慮されよう。ゆえに, 高濃度 (50  $\mu\text{M}$ ) の AMPH の眼内投与は人眼では絶対にさける

Table 1. Effects of Amphotericin B on the b-wave and the oscillatory potentials (OPs) of the albino rabbit

Antibiotic	Concentration ( $\mu\text{M}$ )		1	5	50
	ERG				
Amphotericin-B	b-wave	Amplitude	→	↓	↓↓↓
		Peak latency	N	N	U
	OPs	Amplitude	→	↓	↓↓↓
		Peak latency	N	N	U
	a-wave	Amplitude	→	↓	↓
		Peak latency	N	N	D
	c-wave	Amplitude	→	↓	↑↑↑
		Peak latency	N	N	S

→, amplitude was within 90–110% of the control level; ↓, amplitude decreased to 61–80% of the control level; ↓↓↓, amplitude decreased to 30% of the control level or less; ↑↑↑, amplitude increased to 170% of the control level or more; N, peak latency was within the normal limit; D, peak latency was delayed; U, peak latency was unknown; S, peak latency was shortened.

べきであるといえる。また、本編で示した AMPH の家兔 ERG に対する最小作用濃度（ $3 \mu\text{M}$ 、約  $2.8 \mu\text{g}/\text{ml}$ ）は、第 III 編<sup>10)</sup>で示したゲンタマイシンのそれ（ $35 \mu\text{g}/\text{ml}$ 、約  $0.075 \text{mM}$ ）に比べてかなり小さい値である。

AMPH に関する諸家<sup>13)14)30)</sup>の基礎研究について考察し、本編での成績と比較し若干の考按を加える。Axelrod ら<sup>13)</sup>は白色および有色家兔を用いた慢性実験で、商用 AMPH（ファンギゾン®）の  $5 \sim 10 \mu\text{g}/0.1 \text{ml}$  硝子体内注入（ $3.3 \sim 6.7 \mu\text{g}/\text{ml}$ 、約  $3.5 \sim 7.1 \mu\text{M}$ ）が検眼鏡的、組織学的小さいERG 上何ら網膜毒性を呈さなかったと報告した。また商用 AMPH  $25 \mu\text{g}/0.1 \text{ml}$  以上の硝子体内注入（ $17 \mu\text{g}/\text{ml}$  以上、約  $18 \mu\text{M}$  以上）は網膜に重篤な毒性をもたらしたという<sup>13)</sup>。さらに前述のように彼らは商用 AMPH に溶解補助剤として含まれるデオキシコール酸ナトリウム単独投与が網膜毒性を引き起こさないことを確かめた<sup>13)</sup>。また、Axelrod ら<sup>30)</sup>は白色家兔を用いた実験で商用 AMPH（ファンギゾン®）の  $5 \mu\text{g}/0.1 \text{ml}$  硝子体内注入（ $3.3 \mu\text{g}/\text{ml}$ 、約  $3.5 \mu\text{M}$ ）が *Candida albicans* (*C. albicans*) による実験的眼内炎に対して有効であったと報告した。ゆえに、Axelrod ら<sup>13)30)</sup>は、商用 AMPH  $5 \mu\text{g}/0.1 \text{ml}$  硝子体内注入（ $3.3 \mu\text{g}/\text{ml}$ 、約  $3.5 \mu\text{M}$ ）が安全にしかも有効に *C. albicans* に対して抗菌力を発揮しうると結論した。Huang ら<sup>14)</sup>は白色家兔に硝子体手術を施行し、同時に AMPH の硝子体内注入を実施した後、検眼鏡的、組織学的小さいERG 上の所見を指標として網膜毒性を検討したところ、AMPH の  $5 \mu\text{g}/0.1 \text{ml}$  硝子体内注入（ $3.3 \mu\text{g}/\text{ml}$ 、約  $3.5 \mu\text{M}$ ）はこれらを指標とする限り何ら網膜毒性を示さなかったと述べた。さらに彼ら<sup>14)</sup>は白色家兔を用いて *C. albicans* による実験的眼内炎の治療に際して、AMPH の  $2.5 \mu\text{g}/0.1 \text{ml}$  硝子体内注入（ $1.7 \mu\text{g}/\text{ml}$ 、約  $1.8 \mu\text{M}$ ）の単独療法と硝子体手術および同量の AMPH の硝子体内注入の併用療法との治療効果を比較した結果、両者とも奏効したが、後者は中間透光体の透光性を著しく改善し、良好な視力予後をもたらすであろうと結論した<sup>14)</sup>。以上、彼ら<sup>13)14)</sup>が示した AMPH の安全値（ $3.3 \mu\text{g}/\text{ml}$ 、約  $3.5 \mu\text{M}$ ）は本編での AMPH の家兔 ERG に対する最小作用濃度（ $3 \mu\text{M}$ 、約  $2.8 \mu\text{g}/\text{ml}$ ）とほぼ同程度であり、彼らの成績が合致することに注目したい。

次に、AMPH の硝子体内注入に関する臨床報告<sup>8)~12)</sup>を幾つか挙げ、本編での成績と比較・検討する。Stern ら<sup>8)</sup>は AMPH  $5 \mu\text{g}/0.1 \text{ml}$  硝子体内注入が *C. albicans* による眼内炎を治癒させたと報告した。彼ら<sup>8)</sup>は事故死した同患者の眼球を摘出し、組織学的に検索したところ、網膜に対する AMPH の毒性を示唆する所見が検出されなかったという。この報告<sup>8)</sup>に鑑

み、AMPH の  $5 \mu\text{g}/0.1 \text{ml}$  硝子体内注入が何ら網膜毒性を示すことなく、人眼感染症に対して奏効したことに特に注目したい。Perraut ら<sup>9)</sup>も AMPH の  $5 \mu\text{g}/0.1 \text{ml}$  硝子体内注入が *C. albicans* による眼内炎に奏効したと述べた。さらに、Peyman ら<sup>10)</sup>および Doft ら<sup>11)</sup>は真菌性眼内炎に対して硝子体手術と AMPH の  $5 \mu\text{g}/0.1 \text{ml}$  硝子体内注入との併用療法が奏効したと報告した。一方、花房ら<sup>12)</sup>が真菌性眼内炎の症例に対し硝子体手術を行い、 $10 \mu\text{g}/\text{ml}$  AMPH 液で硝子体腔を置換したところ、視力は光覚弁となったが、患眼は眼球癆に陥ることをまぬがれたという。以上、真菌性眼内炎に対して、AMPH の硝子体内注入量として  $5 \mu\text{g}/0.1 \text{ml}$ （ $1.3 \mu\text{g}/\text{ml}$ 、約  $1.4 \mu\text{M}$ ）を用いるのが諸家<sup>9)~11)</sup>の一致した見解のようである。この値<sup>9)~11)</sup>（ $1.3 \mu\text{g}/\text{ml}$ 、約  $1.4 \mu\text{M}$ ）は、本編での AMPH の家兔 ERG に対する最小作用濃度（ $3 \mu\text{M}$ 、約  $2.8 \mu\text{g}/\text{ml}$ ）に比べ約半値であり、したがって本編の成績からみて網膜に毒性を与えず十分に許容されるであろうと推定される。一方、花房ら<sup>12)</sup>の用いた AMPH 濃度（ $10 \mu\text{g}/\text{ml}$ 、約  $11 \mu\text{M}$ ）は本編で示した安全値をやや上まわる値であるが、真菌性眼内炎が重篤な状態に陥りやすい点を考慮に入れると、やむをえず必要とされた濃度ではないかと考える。

実地応用に際し、本編で安全とみなされる AMPH の最小作用濃度（ $3 \mu\text{M}$ 、約  $2.8 \mu\text{g}/\text{ml}$ ）は、果たして原因真菌に対して有効に抗菌力を発揮しうるか否かが重要な論点となるので、文献的に若干の菌株に対する AMPH の最小発育阻止濃度（minimum inhibitory concentration, MIC）（ $\mu\text{g}/\text{ml}$ ）を挙げ、AMPH の最小作用濃度（ $3 \mu\text{M}$ 、約  $2.8 \mu\text{g}/\text{ml}$ ）と以下に比較・検討する。Gold ら<sup>31)</sup>によれば、AMPH の MIC（ $\mu\text{g}/\text{ml}$ ）は例えば *C. albicans*、*Candida parakrusei*、*Aspergillus fumigatus* および *Blastomyces brasiliensis* ではそれぞれ  $0.2 \sim 0.5$ 、 $1.1$ 、 $1.9$  および  $0.2$  である。これらの値に立脚すれば、AMPH の ERG に対する最小作用濃度（ $3 \mu\text{M}$ 、約  $2.8 \mu\text{g}/\text{ml}$ ）（表 1）と上記の MIC との比は、*C. albicans*、*Candida parakrusei*、*Aspergillus fumigatus* および *Blastomyces brasiliensis* ではそれぞれ  $6 \sim 14$ 、 $2.5$ 、 $1.5$  および  $14$  となる。ゆえに、本編で安全とみなされる AMPH の ERG に対する最小作用濃度（ $3 \mu\text{M}$ 、約  $2.8 \mu\text{g}/\text{ml}$ ）は上記の真菌に対して有効に抗菌力を発揮しうると推定される。

真菌性眼内炎の治療に際しては、従来 AMPH の全身投与法が主体をなし、その治療法が奏効した例も幾つか報告された<sup>3)~6)</sup>。他に、AMPH の結膜下投与および前房内注入によって真菌性眼内炎の改善を認めた報告もある<sup>32)~34)</sup>。近年、硝子体手術の普及に伴い、直接

的に病巣あるいは硝子体液を採取・培養することが可能となった<sup>34)</sup>。また、硝子体手術と手術時の抗生剤の硝子体腔内投与の併用療法の導入によって、抗生剤の有効な硝子体内濃度が確保され治癒率が向上したのみでなく、中間透光体の透光性の改善に伴う術後視力の向上がもたらされた<sup>14)</sup>。とくに真菌性眼内炎の特徴として硝子体混濁が挙げられ、その残存が術後視力改善の妨げとなってきた。これらの点<sup>14)35)</sup>を鑑みると、真菌性眼内炎の治療法として、硝子体手術と手術時の抗真菌剤の硝子体内投与の併用療法が有用となろう。ただし、Axelrodら<sup>13)</sup>の報告から推して、AMPHの硝子体内注入に伴う侵襲は水晶体よりも硝子体および網膜に一早くおよぶと解されるため、AMPHによる網膜毒性の評価が優先的になされるべきである。また、AMPHのような副作用の強い<sup>2)</sup>薬剤の眼内投与に当たっては、投与薬剤による網膜毒性の発現が格別に危惧されるため、抗真菌剤の安全でかつ有効な硝子体内濃度の決定が重要となる。ゆえに、本編での成績および真菌性眼内炎の重篤性を勘案すると、硝子体手術時の眼内灌流液添加または硝子体内注入に用いる場合には、AMPHの硝子体内濃度が灌流液添加濃度として $3\mu\text{M}$  ( $2.8\mu\text{g/ml}$ )を、また人眼の硝子体内注入量として約 $11\mu\text{g}/0.1\text{ml}$ を越えないように注意すべきであろう。さらに、Jonesら<sup>36)</sup>の報告に従い、真菌性眼内炎が確定している場合には、AMPHの全身投与法を併用するのが治癒率の向上につながるという。ただし、真菌性眼内炎の治療に際し、他の抗真菌剤(5-フルオロシトシンなど)が必要とされた症例<sup>27)</sup>があったことも念頭におくべきであろう。また最近、LiposomeとAMPHとを結合させると、その副作用が軽減することが実験的に示され<sup>38)39)</sup>、Liposomal AMPHの臨床応用が待望されている点を付記しておく。

要するに、本編で示したようにAMPHのERGに対する最小作用濃度は、 $3\mu\text{M}$  (約 $2.8\mu\text{g/ml}$ )であり、この濃度は*C. albicans*, *Aspergillus fumigatus*などに対するMICを凌駕する。ゆえに、AMPHは真菌性眼内炎の治療のために、硝子体手術時の眼内灌流液添加または硝子体内注入に適量用いられるべき抗真菌剤であるとみなしてよい。

## 結 論

アンホテリシンB (AMPH) が網膜におよぼす急性侵襲を、家兎in vitro ERGのa波、b波、OPsおよびc波を指標として検討し、下記の結果を得た。

1) a波、b波、OPsおよびc波はAMPH  $1\mu\text{M}$ では変化せず、 $5\mu\text{M}$ ではすべてが軽度に減弱した。これらの変化は可逆的であった。AMPH  $50\mu\text{M}$ ではb波

およびOPsは著明に減弱したが、c波振幅はむしろ増大し、その頂点潜時が短縮した。これらの変化は対照液を再灌流して約75分経過した時点でようやく軽減し、ERG波形はAMPH添加前の対照波形に近づいた。a波、b波、OPsおよびc波に対するAMPHの最小作用濃度は、 $3\mu\text{M}$  (約 $2.8\mu\text{g/ml}$ )であった。

2) AMPHは真菌性眼内炎の治療の目的に、硝子体手術時の眼内灌流液添加または硝子体内注入に適量用いられるべき抗真菌剤であるとみなしてよい。

## 謝 辞

稿を終えるに臨み、御指導、御校閲を賜りました恩師米村大蔵教授に深甚の謝意を表します。また御教示、御援助を賜りました河崎一夫助教授に深謝します。また浸漬液容器の作製にご協力下さいました本学工作係水野清澄技官に感謝いたします。

## 文 献

- 1) 横田 健: 作用機序と不活化酵素感受性. p 31-41, 抗菌薬の評価(桑原章吾, 清水喜八郎監修), 診療新社, 大阪, 1983.
- 2) Tester-Dalderup, C. B. M.: Antifungal drugs. p474-481, In M. N. G. Dukes, (ed.), Meyler's Side Effects of Drugs, Excerpta Medica, Amsterdam-Oxford-Princeton, 1980.
- 3) Green, W. R., Bennett, J. E. & Goos, R. D.: Ocular penetration of amphotericin B. Arch. Ophthalmol., 73, 769-775 (1965).
- 4) Greene, W. H. & Wiernik, P. H.: *Candida* endophthalmitis. Successful treatment in a patient with acute leukemia. Am. J. Ophthalmol., 74, 1100-1102 (1972).
- 5) Blumenkranz, M. S. & Stevens, D. A.: Therapy of endogenous fungal endophthalmitis. Miconazole or amphotericin B for coccidioida and candidal infection. Arch. Ophthalmol., 98, 1216-1220 (1980).
- 6) 小口和子・戸張幾生: 真菌性眼内炎の治療. 臨眼, 37, 1353-1358 (1983).
- 7) 木村好美・永田 誠: *Aspergillus fumigatus* による白内障術後感染例. 眼科, 16, 149-153 (1974).
- 8) Stern, G. A., Fetkenhour, C. L. & O'Grady, R. B.: Intravitreal amphotericin B treatment of *candida* endophthalmitis. Arch. Ophthalmol., 95, 89-93 (1977).
- 9) 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).
- 10) **Peyman, G. A., Huamonte, F. U. & Goldberg, M. F.**: One hundred consecutive pars plana vitrectomies using the vitrophage. Am. J. Ophthalmol., **81**, 263-271 (1976).
- 11) **Doft, BH, Clarkson, J. G., Rebell, G. & Forster, R. K.**: Endogenous *aspergillus* endophthalmitis in drug abusers. Arch. Ophthalmol., **98**, 859-862 (1980).
- 12) 花房 晶・白井正彦・宮沢文明・村松隆次・岩下正美・鈴木弘隆: 術後眼内炎に対する Open-sky vitrectomy と抗生物質溶液による硝子体置換. あたらしい眼科, **1**, 717-722 (1984).
- 13) **Axelrod, A. J., Peyman, G. A. & Apple, D. J.**: Toxicity of intravitreal injection of amphotericin B. Am. J. Ophthalmol., **76**, 578-583 (1973).
- 14) **Huang, K., Peyman, G. A. & McGetrick, J.**: Vitrectomy in experimental endophthalmitis. Part I-Fungal infection. Ophthalmic Surg., **10**, 84-86 (1979).
- 15) 大野木淳二: In vitro ERG に対する抗生剤の影響. I. 家兎眼におけるペニシリン系抗生剤の検討. 十全医会誌, **95**, 468-480 (1986).
- 16) 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, **73**, 1900-1908 (1969).
- 17) 大野木淳二: In vitro ERG に対する抗生剤の影響. II. 家兎眼におけるセファロsporin 系抗生剤の検討. 十全医会誌, **95**, 481-490 (1986).
- 18) 大野木淳二: In vitro ERG に対する抗生剤の影響. III. 家兎眼におけるアミノグリコシド系抗生剤の検討. 十全医会誌, **95**, 491-504 (1986).
- 19) **Peyman, G. A., Spitznas, M. & Straatsma, B. R.**: Peroxidase diffusion in the normal and photo-coagulated retina. Invest. Ophthalmol., **10**, 181-189 (1971).
- 20) **Marty, A. & Finkelstein, A.**: Pores formed in lipid bilayer membranes by nystatin. J. Gen. Physiol., **65**, 515-526 (1975).
- 21) 武田敬一: アンホテリシン B. J. Antibiot. Series B., **15**, 53-57 (1962).
- 22) **Kalmanor, W. J.**: Stability test data. E. R. Squibb & Sons, New Brunswick, 1971.
- 23) **Oakley, B. II. & Green, D. G.**: Correlation of light-induced changes in retinal extracellular potassium concentration with c-wave of the electroretinogram. J. Neurophysiol., **39**, 1117-1133 (1976).
- 24) **Griff, E. R., Shirao, Y. & Steinberg, R. H.**: Light evoked slowing of RPE Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup> pump unmasked by barium. ARVO abstract, Invest. Ophthalmol. Vis. Sci., **25**, 389 (1984).
- 25) **Nilsson, S. E. G.**: Interactions between P I and slow P III in the generation of the electroretinogram c-wave. Dev. Ophthalmol., **9**, 53-58 (1984).
- 26) **Butler, W. T., Bennett, J. E., Hill, G. J. II, Szwed, C. F. & Cotlove, E.**: Electrocardiographic and electrolyte abnormalities caused by amphotericin B in dog and man, Proc. Soc. Exp. Med., **116**, 857-863 (1964).
- 27) **Lampen, J. O.**: Amphotericin B and other polyenic antifungal antibiotics. Am. J. Clin. Pathol., **52**, 138-146 (1969).
- 28) 野沢義則: ポリエン抗生物質と膜. 膜ステロールの意義に関連して. 蛋白質 核酸 酵素, **22**, 115-130 (1977).
- 29) 山口英世: 抗真菌剤の作用機序. 真菌誌, **18**, 342-358 (1977).
- 30) **Axelrod, A. J. & Peyman, G. A.**: Intravitreal amphotericin B treatment of experimental fungal endophthalmitis. Am. J. Ophthalmol., **76**, 584-588 (1973).
- 31) **Gold, W., Stout, H. A., Peyano, J. F. & Donovick, R.**: Amphotericin A and B, antifungal antibiotics produced by a streptomycete. I. In vitro studies. Antibiotics Annual, 579-586 (1955-1956).
- 32) **Allen, H. F.**: Amphotericin B and exogenous mycotic endophthalmitis after cataract extraction. Arch. Ophthalmol., **88**, 640-644 (1972).
- 33) **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).
- 34) 越智通成・青木功喜: 真菌 (*Aspergillus fumigatus*) による眼内炎の 1 例. 臨眼, **20**, 157-169 (1966).
- 35) **Forster, R. K.**: Etiology and diagnosis of bacterial postoperative endophthalmitis. Ophthalmology, **85**, 320-349 (1978).
- 36) **Jones, D. B., Green, M. T., Osato, M. S., Broberg, P. H. & Gentry, L. O.**: Endogenous *candida albicans* endophthalmitis in the rabbit. Chemotherapy for systemic effect. Arch. Ophth-



almol., 99, 2182-2187 (1981).

37) Snip, R. C. & Michels, R. G.: Pars plana vitrectomy in the management of endogenous *candida* endophthalmitis. Am. J. Ophthalmol., 82, 699-704 (1976).

38) Tremblay, C., Barza, M., Szoka, F., Lahav, M. & Baum, J.: Reduced toxicity of liposome-

associated amphotericin B injected intravitreally in rabbits. Invest. Ophthalmol. Vis. Sci., 26, 711-718 (1985).

39) Barza, M., Baum, J., Tremblay, C., Szoka, F. & D'Amico, D. J.: Ocular toxicity of intravitreally injected liposomal amphotericin B in rhesus monkeys. Am. J. Ophthalmol., 100, 259-263 (1985).

**Effects of Antibiotics on the In Vitro ERG (IV) Investigation of Antifungal Agent (Amphotericin B) on the Albino Rabbit Eye-Cup** Junji Ohnogi, Department of Ophthalmology, School of Medicine, Kanazawa University, Kanazawa 920—J. Jusen Med. Soc., 95, 505—512 (1986)

**Key words:** amphotericin B, albino rabbit, eye-cup, electroretinogram, minimum inhibitory concentration

#### Abstract

This study describes the effect of amphotericin B (AMPH) on the retinal activity of the albino rabbit. The posterior half of the eye-cup, consisting of the retina, choroid and sclera, was mounted between two chambers (the vitreal and scleral chambers). The bathing solution, in which the antibiotic was dissolved, was maintained at  $31 \pm 1^\circ\text{C}$  and pH 8.0~8.2. An in vitro electroretinogram (ERG) was used to study the a-wave, b-wave, oscillatory potentials (OPs) and c-wave. The a-wave, b-wave, OPs and c-wave were not deteriorated by  $1 \mu\text{M}$  AMPH, and all slightly suppressed by  $5 \mu\text{M}$  AMPH. These changes in the ERG were mostly reversible. The b-wave and OPs were greatly suppressed by  $50 \mu\text{M}$  AMPH. The c-wave was enhanced and its peak latency was shortened by  $50 \mu\text{M}$  AMPH. These changes in the ERG were partially reversible 75 minutes after re-perfusion of Nagayama's solution. The minimum concentration affecting the ERG was tentatively defined as the mean of the minimum concentration needed to change the ERG and the maximum concentration which did not induce discernible changes in the ERG. The minimum concentration affecting the ERG for AMPH was  $3 \mu\text{M}$  (approximately  $2.8 \mu\text{g/ml}$ ) and was higher than its minimum inhibitory concentration against *Candida albicans* and *Aspergillus fumigatus*.