

院内製剤 2.0% ガンシクロビル点眼液の安全性に関する検討

中川博雄,* 松丸由美, 能勢誠一, 佐々木 均, 北原隆志

Evaluation of the Safety of 2.0% Ganciclovir Eye Drops for Hospital Preparation

Hiroo Nakagawa,* Yumi Matsumaru, Seichi Nose, Hitoshi Sasaki, and Takashi Kitahara
Department of Pharmacy, Nagasaki University Hospital; 1-7-1 Sakamoto-machi, Nagasaki 852-8501, Japan.

(Received January 19, 2017; Accepted September 4, 2017)

The concentration of ganciclovir eye drops for hospital preparation was changed from 0.5% to 2.0% at the Nagasaki University Hospital from March 2015. We investigated the incidence of side effects in 12 patients using 2.0% ganciclovir eye drops and evaluated the cytotoxicity of 2.0% ganciclovir eye drops using cultured rabbit corneal cells *in vitro*. As a side effect of 2.0% ganciclovir eye drops, three patients exhibited an early feeling of transient stimulation. The 2.0% ganciclovir eye drops did not demonstrate cell cytotoxicity for cultured corneal cells after 5 min, but did after 10 min. These findings suggested that the 2.0% ganciclovir eye drops can be used without corneal epithelium disorder in clinical settings.

Key words—2.0% ganciclovir eye drop; hospital preparation; side effect; corneal cell; cytotoxicity

緒 言

サイトメガロウイルス (cytomegalovirus; CMV) は幼少期に感染し、ほとんどが不顕性感染の形で生涯その宿主に潜伏感染する。眼科領域における CMV 感染症としては、日和見感染症の CMV 網膜炎が知られている。しかし、免疫健全者において発症する CMV 網膜炎の報告もあり、罹患した場合、長引く不明熱や神経障害、肝機能障害を伴うことから、CMV 眼感染症治療の重要性が高まっている。¹⁾ CMV 眼感染症の診断は眼底所見によって判断され、治療には抗 CMV 治療薬であるバルガンシクロビル内服やガンシクロビル (ganciclovir; GCV) 硝子体注射、GCV 点滴、GCV 点眼が用いられる。²⁾

わが国では GCV の局所療法が有効であるとの報告から、多くの医療施設が 0.5% GCV 点眼液を院内製剤として自施設で調製し、臨床にて使用している。^{3,4)} また 2011 年に、日本眼科学会は厚生労働省に対して、1.0% GCV 点眼液が医療上の必要性の高い適応外薬であるとして要望書を提出している。筆者らも 2013 年に 0.5% GCV 点眼液の製剤の安定

性や有効性・安全性の評価を行ったが、現在までのところ GCV 点眼液は市販化に至っていない。⁵⁾ そうした背景の中、長崎大学病院 (以下、当院) において、0.5% GCV 点眼液を継続使用している症例で症状が改善しない患者が認められた。そのような折り、海外において 1.0% よりもさらに高濃度である 2.0% GCV 点眼液の有効性を示す報告がなされた。⁶⁾ それを受け、当院眼科にて、2.0% GCV 点眼液の臨床効果を評価する研究を 2015 年 3 月より開始することとなり、院内製剤 2.0% GCV 点眼液を調製するに至った。

そこで本研究では、院内製剤としての安全性評価のために、当院における 2.0% GCV 点眼液使用患者での副作用の発現状況について調査を行った。さらに、角膜への傷害性について、培養細胞を用いて *in vitro* での評価を行った。

方 法

1. 副作用調査 当院において 2015 年 3 月から 11 月の期間中に 0.5% GCV 点眼液から 2.0% GCV 点眼液に処方切り替えられた 12 例の患者を対象とし、年齢、疾患名、GCV 点眼液の用法、投与期間、使用感及び副作用の記載の有無を電子カルテから後方視的に調査した。なお、2.0% GCV 点

長崎大学病院薬剤部

*e-mail: 07-07@umin.net

Table 1. Investigation of Side Effects of 2.0% Ganciclovir Eye Drops

Patient No.	Age (yrs)	Clinical Diagnosis	Usage (times/d)	Administration (d)	Side effects
1	46	CMV Iritis Secondary Glaucoma	6	220	Transient stimulation
2	87	CMV Iritis Secondary Glaucoma	4	224	Transient stimulation
3	76	CMV Endothelitis Secondary Glaucoma	6	237	Transient stimulation
4	77	Vesicular Keratitis	4	194	NA
5	82	CMV Iritis Secondary Glaucoma	3	195	NA
6	55	CMV Iritis Secondary Glaucoma	4-6	202	NA
7	74	CMV Iritis Secondary Glaucoma	4-6	204	NA
8	56	CMV Endothelitis Secondary Glaucoma	4-6	230	NA
9	80	CMV Endothelitis Secondary Glaucoma	4-6	230	NA
10	51	CMV Retinitis Secondary Glaucoma	4-6	231	NA
11	87	CMV Iritis	4-6	237	NA
12	74	CMV Endothelitis	5-6	241	NA

CMV: Cytomegalovirus.

眼液の院内製剤としての使用及び副作用の調査に関しては、長崎大学病院臨床研究倫理委員会の承認を得ている（承認番号：15022327）。

2. 角膜傷害性の評価 GCV点眼液は、デノシン®点滴静注用 500 mg（田辺三菱製薬株式会社）を濃度が 0.5% 又は 2.0% になるように生理食塩液で溶解し、0.22 μm メンブレンフィルター（マイレクス GP, メルクミリポア）でろ過して調製した。調製後の GCV 点眼液の使用期限は冷所保存にて 3 ヶ月と規定した。⁵⁾ なお、メンブレンフィルターによる GCV の吸着率は当院における LC-MS/MS での測定によって 13% 程度であることを確認している。細胞にはウサギ角膜細胞 RC4（理化学研究所より購入）を用い、培養条件は 10% FBS-MEM 培地で 37°C・5% CO₂ とした。96 well プレートに角膜細胞を播種（ $1.0 \times 10^4/\text{well}$ ）し、24 時間培養した。その後、各 well を生理食塩液で溶解した GCV 点眼液に置換し、5 分後、10 分後、20 分後、30 分後、60 分後まで曝露させ、生細胞数を WST-1 法で測定した。その際、薬剤接触 0 分における細胞数を 100% としてそれぞれの細胞生存率 (%) を算出した。実験結果は、平均値 \pm 標準誤差 (S.E.) で表した。なお、各 well を生理食塩液で置換したものをコントロール群とした。一方で、細胞傷害を示

すポジティブコントロールとして 0.01% ベンザルコニウム塩化物 (benzalkonium chloride; BZC) を用いた。角膜傷害性の判定は、コントロール群に対する各群の細胞生存率を Two-way repeated measures ANOVA により検定するとともに、各測定時間におけるコントロール群に対する各群の細胞生存率を Dunnett's test で評価した。

結 果

2.0% GCV 点眼液に関する副作用調査の結果を Table 1 に示す。2.0% GCV 点眼液へ切り替えられたのは 12 例で、CMV 虹彩炎が 6 例、CMV 角膜内皮炎が 4 例、CMV 網膜症が 1 例、水泡性角膜症が 1 例であった。調査時における投与期間は 194-241 日目であった。なお、12 例の患者はすべて、院内製剤の規格変更に伴う切り替えであった。2.0% GCV 点眼液の副作用については 12 例中 3 例で刺激感の訴えが認められた。症例 1 では、初回点眼時のみ 30 分間にわたる刺激感の訴えが認められたが、その後消失した。その際、眼科医は結膜炎や角膜傷害性が認められないことを確認しており、点眼回数も 6 回/日から 4 回/日に変更した。同様に症例 2 でも初回点眼時のみ点眼直後に消失する軽い刺激感の訴えが認められた。症例 3 では、前房炎症増悪の

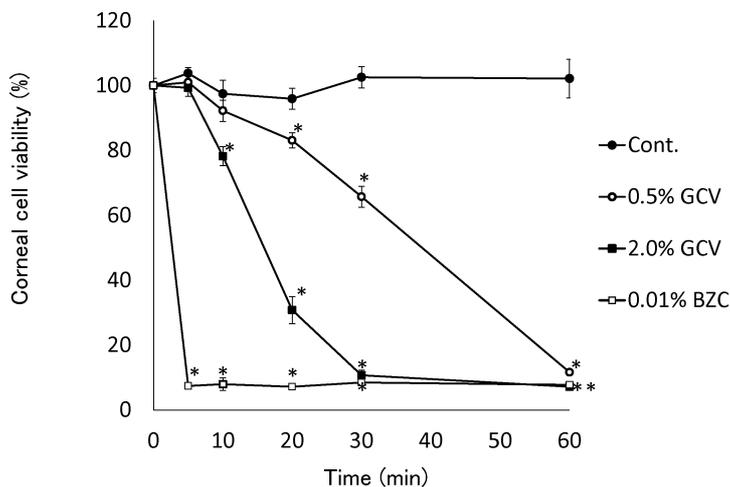


Fig. 1. Comparison of Cultured Corneal Cell Damage by 0.5% or 2.0% Ganciclovir Eye Drops

Data represent the mean \pm S.E. of 12 experiments. The 0.5% ganciclovir eye drops were significantly cytotoxic compared with control at 20, 30 and 60 min. The 2.0% ganciclovir eye drops were significantly cytotoxic compared with control at 10, 20, 30 and 60 min. * $p < 0.01$ compared with control group using Dunnett's test.

ために医師が 2.0% GCV 点眼液の点眼回数を 6 回/日から 12 回/日まで増やしたが、点眼初期より点眼直後に消失する刺激感が認められたため、用法を 12 回/日から 6 回/日に減らしたことで改善が認められた。ただし、その他の副作用はすべての症例において認められなかった。

次に GCV 点眼液を角膜細胞に曝露した際の細胞生存率の結果を Fig. 1 に示す。その結果、0.01% BZC では曝露 5 分後から角膜細胞の細胞生存率が $7.4 \pm 0.7\%$ まで低下し、コントロール群に対して細胞傷害性が認められた。一方、0.5% GCV 点眼液では曝露 5 分、10 分後では生存率がそれぞれ $101.0 \pm 2.0\%$ 、 $92.2 \pm 3.3\%$ であったが、20 分、30 分、60 分後にはそれぞれ $83.1 \pm 2.4\%$ 、 $65.7 \pm 3.2\%$ 、 $11.6 \pm 0.9\%$ に低下し、コントロール群に対して細胞傷害性が認められた。また、2.0% GCV 点眼液では曝露 5 分後までは生存率が $99.3 \pm 2.7\%$ であったが、10 分、20 分、30 分、60 分後にはそれぞれ $78.2 \pm 2.9\%$ 、 $30.8 \pm 4.2\%$ 、 $10.7 \pm 1.5\%$ 、 $7.2 \pm 0.1\%$ まで低下し、コントロール群に対して細胞傷害性が認められた。

考 察

本調査では、2.0% GCV 点眼液へ切り替えとなった眼科受診患者 12 例に対して、カルテを用いて副作用発現の有無を調査した。その結果、3 例において投与初期に刺激感の訴えが認められたのみで、重篤な副作用例や中止例は認められなかった。

また、刺激感の訴えが認められた 3 例において、認められなかった 9 例に比べて、炎症の度合いが高い、眼圧が高いといった違いは認められなかった。さらに、2.0% GCV 点眼液において刺激感の訴えが認められた 3 例中 1 例では、0.5% GCV 点眼液導入期においても一過性の刺激感の訴えが認められていた。一方、当院において院内製剤 2.0% GCV 点眼液を処方した医師に提出が義務付けられている使用結果報告書からも、2016 年 11 月までの間に副作用の報告は認められなかった。なお、筆者らは過去に 0.5% GCV 点眼液の安全性についても報告を行ったが、その際は 8 例中 1 例で点眼初期に軽い刺激感の訴えが認められたのみで、その他の副作用発現は認められなかった。今回の調査結果は 0.5% GCV 点眼液での副作用の調査結果の際と比べても有意な差異は認められなかった。⁵⁾ なお、筆者らの調査では、0.5% GCV 点眼液の pH は 10.5、2.0% GCV 点眼液の pH は 10.9 と強アルカリ性を示した。眼の刺激感の発生に最も重要な要因の 1 つとして点眼液の pH が挙げられる。さらに、涙液減少症患者では刺激を感じ易くなることから、本調査で刺激感の訴えがあった症例 1-3 においても、訴えがなかった患者に比べて涙液量が減少していた可能性が高いことが考えられる。⁷⁾

さらに今回の調査では、角膜細胞を用いた細胞傷害性の評価も行った。その結果、2.0% GCV 点眼液は角膜細胞に対して曝露 5 分後では傷害性を示さないことが明らかになった。しかし、角膜細胞に対

する曝露時間が10分以上になると細胞生存率は78%程度まで低下し、傷害性が認められた。また、今回の調査は単回投与による傷害性の評価であり、反復投与による傷害性の評価は行っていないが、ヒトの眼の構造として、点眼液は点眼後約5分間で涙点から鼻涙道へと排出されるため、今回の結果を踏まえて、2.0% GCV点眼液が実臨床において角膜に対して傷害性を示す可能性は少ないものと考えられる。

以上の結果より、2.0% GCV点眼液は0.5% GCV点眼液と同様に、臨床使用において重篤な副作用は認められなかった。また、培養細胞における細胞傷害性についても、臨床使用における結果を支持する内容であった。ただし、2.0% GCV点眼液を投与した12例は調査後も点眼を継続していた。そのため、今回の調査のタイミングであった点眼開始後240日間程度を超えてさらに長期投与する症例においては、今後も副作用発現のモニタリングを行う必要があると考える。さらに、本研究は傷害性に関して単層細胞での評価しか行っていない。本来角膜上皮は重層化されているため、今後さらに長期投与により副作用の発現が認められた場合、生体での影響を推察するためにはLDH assay及び角膜抵抗測定法を用いた*in vivo*試験系による検討の必要性も考えられる。⁸⁾なお、本研究では2.0% GCV点眼液の安全性についてのみ調査を実施したが、有効性については当院眼科が現在評価を行っているところであり、その結果を合わせて本点眼剤の有用性を判断する予定である。

謝辞 本研究はJSPS科研費JP16H00564の助成を受けたものです。

利益相反 開示すべき利益相反はない。

REFERENCES

- 1) England A. C. 3rd, Miller S. A., Maki D. G., *N. Engl. J. Med.*, **307**, 94–95 (1982).
- 2) Chee S. P., Bacsal K., Jap A., Se-Thoe S. Y., Cheng C. L., Tan B. H., *Am. J. Ophthalmol.*, **145**, 834–840 (2008).
- 3) Hosotani Y., Kanno S., Yoshida F., Koizumi N., Inatomi T., Mimura O., *Journal of the Eye*, **26**, 105–108 (2009).
- 4) Koizumi N., Suzuki T., Uno T., Chihara H., Shiraishi A., Hara Y., Inatomi T., Sotozono C., Kawasaki S., Yamasaki K., Mochida C., Ohashi Y., Kinoshita S., *Ophthalmology*, **115**, 292–297 (2008).
- 5) Kanda K., Nakagawa H., Kitahara T., Sasaki H., *Medicine and Drug Journal*, **49**, 1553–1557 (2013).
- 6) Su C. C., Hu F. R., Wang T. H., Huang J. Y., Yeh P. T., Lin C. P., Wang I. J., *Am. J. Ophthalmol.*, **158**, 1024–1031 (2014).
- 7) Okamoto S., *Journal of the Eye*, **17**, 1343–1346 (2000).
- 8) Fukuda M., Nakashima H., Haruta J., Shibata S., Shibata N., Osada H., Seki Y., Mita N., Sasaki H., *Journal of the Eye*, **30**, 1467–1471 (2013).