

令和 2年 1月

三宅瞳 学位論文審査要旨

主 査 山 本 一 博
副主査 千 酌 浩 樹
同 井 上 幸 次

主論文

Toxicities of and inflammatory responses to moxifloxacin, cefuroxime, and vancomycin on retinal vascular cells

(網膜血管細胞に及ぼすモキシフロキサシン、セフロキシム、バンコマイシンの毒性および炎症反応)

(著者：三宅瞳、宮崎大、清水由美子、佐々木慎一、馬場高志、井上幸次、松浦一貴)

令和元年 Scientific Reports DOI:10.1038/s41598-019-46236-2

参考論文

1. High interleukin-8 level in aqueous humor is associated with poor prognosis in eyes with open angle glaucoma and neovascular glaucoma

(房水のインターロイキン8-高値は開放隅角緑内障と血管新生緑内障の予後不良に関連する)

(著者：蝶野郁世、宮崎大、三宅瞳、小松直樹、江原二三枝、永瀬大輔、川本由紀美、清水由美子、出田隆一、井上幸次)

平成30年 Scientific Reports DOI:10.1038/s41598-018-32725-3

学 位 論 文 要 旨

Toxicities of and inflammatory responses to moxifloxacin, cefuroxime, and vancomycin on retinal vascular cells

(網膜血管細胞に及ぼすモキシフロキサシン、セフロキシム、バンコマイシンの毒性および炎症反応)

白内障術後眼内炎の発症予防のために、抗菌薬の前房内投与が推奨されつつある。しかし近年、抗菌薬の前房内投与症例において、予後不良な網膜血管炎 (HORV) の術後発症が知られるようになった。そこで本研究は、培養ヒト網膜血管細胞を用いて、眼内投与抗菌薬として使用されるセフロキシム、バンコマイシン、モキシフロキサシンの細胞毒性および炎症惹起反応を検証した。

方 法

初代培養ヒト網膜血管内皮細胞 (RVEC) およびpericytesを用いて、以下の実験を行った。

1. 抗菌薬による細胞膜損傷と細胞死の測定。
2. 抗菌薬による細胞活性の低下の測定。
3. 抗菌薬による細胞の経時的な内因性還元力活性低下の測定。
4. 抗菌薬による炎症性サイトカイン産生刺激の定量。
5. 抗菌薬をマウス硝子体内に投与し、細胞損傷を蛍光顕微鏡下に観察。

結 果

モキシフロキサシンに暴露させた培養網膜血管細胞 (RVECおよびpericytes) において、細胞膜損傷とエステラーゼ活性低下が誘発された (RVEC \geq 125 μ g/mL; pericytes \geq 1000 μ g/mL)。セフロキシムも細胞膜損傷とエステラーゼ活性低下を認めたが、モキシフロキサシンよりは少なかった。バンコマイシンは2000 μ g/mLでもほとんど細胞へのダメージは認められなかった。経時的な細胞活性低下の測定においては、500 μ g/mLのモキシフロキサシンに暴露したRVECおよびpericytesは、1時間後には著明な内因性還元力活性低下 (29%) を認めた。18時間後には50%の活性低下を来しており、30時間後にはほとんどの細胞が死滅していた。セフロキシムとバンコマイシンにおいては、1時間後ではほとんど内因性還元力活性低下は認めておらず、30時間後でも20%ほどの活性低下であった。抗菌薬による炎症反応測定では、セフロキシムおよびバンコマイシンにおいて著明なIL-8の産生誘導を認め、特にセフロキシム125 μ g/mlでは8000 pg/mLに

も及んだ。セフロキシムおよびバンコマイシンのIL-8産生は、Tri-DAP（細菌の細胞壁分解生成物質）を添加したRVECにおいて、より顕著に認めた。

マウスの硝子体注射においてはセフロキシムとバンコマイシンで、内顆粒層まで広がる網膜毒性と網膜血管毒性が引き起こされていた。モキシフロキサシンの毒性は限定的であった。

考 察

HORVは網膜血管を主座とした強い炎症反応を特徴としており、バンコマイシンやセフロキシムが発症に影響していると考えられているが、その機序は明らかになっていない。実験結果では、*in vitro*においてモキシフロキサシンの細胞毒性がもっとも強く示された一方、バンコマイシンとセフロキシムはIL-8の著明な産生を認めた。また*in vivo*の結果では網膜毒性を引き起こしたのはセフロキシムとバンコマイシンであった。網膜血管系においてIL-8は重要な炎症性サイトカインであり、IL-8の産生によって網膜血管の炎症や破綻を引き起こす可能性が示唆された。HORVは非常に稀な疾患であり、抗菌薬の予防投与が全世界的に行われていることを考えると、抗菌薬単独が原因ではない可能性もある。一説として、グラム陽性菌による汚染が関連している可能性が考えられる。Tri-DAPはグラム陽性菌の細胞壁から産生される物質であり、本実験結果でもTri-DAP存在下ではよりIL-8の産生が活性化されている。

また、モキシフロキサシンの強い細胞毒性についても注意する必要がある。臨床において使用されるモキシフロキサシンの前房内投与の濃度は100~1700 $\mu\text{g}/\text{mL}$ であり、硝子体の容量を4 mlと考えると硝子体内での濃度は7.5~127.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ まで減少する。そのため現時点ではモキシフロキサシンによる重篤な合併症の報告はないが、適正な濃度での使用が重要と考えられる。また、モキシフロキサシンが*in vivo*で網膜毒性を引き起こさなかった理由については、それぞれの抗菌薬のクリアランスが関連していると考えられる。バンコマイシンの半減期は25.5~56時間、 β -ラクタム系抗菌薬の半減期は8~12時間とされているのに対し、モキシフロキサシンの半減期は1.75時間と非常に短い。そのため、モキシフロキサシンは炎症を引き起こす前にクリアリングされてしまい、硝子体内に滞留しやすいバンコマイシンは強く炎症反応を惹起することが示唆された。

結 論

セフロキシムとバンコマイシンは網膜血管に対して著明な炎症反応を誘発し、網膜毒性を引き起こす一方、モキシフロキサシンは*in vitro*において即効性のある細胞毒性を引き起こした。抗菌薬の予防的投与を特に硝子体内へ行う場合に、術者はその毒性について注意する必要がある。