

博士論文

手術室で使用する医薬品の適正使用に関する研究

2017年

広島大学大学院医歯薬保健学研究科

博士課程 医歯薬学専攻

柴田ゆうか

目次

【序論】	1
【本論】	2
第 I 章 チオペンタールとプロポフォール の血管外漏出に対する罨法の効果に関する基礎的研究	2
第 1 節 チオペンタールとプロポフォールの血管外漏出の傷害リスクと罨法の効果の肉眼的評価	5
第 2 節 チオペンタールとプロポフォールの血管外漏出の傷害リスクと罨法の効果の組織学的評価	8
第 3 節 小括	11
第 II 章 培養ヒト角膜上皮細胞を用いたヨウ素製剤の角膜上皮細胞傷害性評価	14
第 1 節 ポビドンヨードとヨウ素・ポリビニルアルコールの細胞傷害性評価	16
第 2 節 添加物の細胞傷害性評価	18
第 3 節 ラウロマクロゴールの細胞傷害性評価	20
第 4 節 pH の細胞傷害性への影響	21
第 5 節 浸透圧の細胞傷害性への影響	22
第 6 節 小括	23
第 III 章 眼科手術用灌流液に添加するアドレナリンの安定性試験	26
第 1 節 眼灌流液中のアドレナリン含量推移	27
第 2 節 亜硫酸水素ナトリウムがアドレナリンの安定性に及ぼす影響	29
第 3 節 小括	30

【総括】	33
【実験の部】	34
第Ⅰ章 実験の部	34
第Ⅱ章 実験の部	38
第Ⅲ章 実験の部	41
【本論文の基礎となる原著】	43
【参考文献】	44
【謝辞】	52

略号一覽

AUC	: area under the lesion-time curve
CCK8	: cell counting kit-8
CD88	: C5a receptor
DMEM/F12	: Dulbecco's modified eagle's medium/ham's f12 medium
DMSO	: dimethyl sulfoxide
ECCE	: extracapsular cataract extraction
HCE-T	: human corneal epithelial cell
HE	: hematoxylin and eosin
hEGF	: human epidermal growth factor
hFBS	: heat-inactivated fetal bovine serum
HPLC	: high performance liquid chromatography
ID	: intradermally
IL-8RA	: interleukin-8 receptor
PAI	: polyvinyl alcohol-iodine
PBS	: phosphate buffered saline
PEA	: phacoemulsification and aspiration
PRICE	: protection, rest, ice, compression, elevation
PVP-I	: povidone-iodine solution
PVP-I-P	: povidone-iodine powder solution
QOL	: quality of life
SD	: standard deviation
SEM	: standard error of mean
TRPV1	: transient receptor potential vanilloid type 1

【序論】

手術室では刻々と変化する患者状況に迅速に対応しながら薬剤を投与する。特にハイリスク薬の使用頻度が高いことから、医薬品のリスクマネジメントが強く求められる¹⁾。実際に手術室における医薬品使用状況は一般病棟におけるそれとは大きく異なり、さまざまな医薬品が適応外で使用され、手術室では医薬品使用に伴う潜在リスクが高い。

その特徴的な手術室の医薬品使用状況の適正化を推進するためには科学的な根拠に基づいた医薬品情報が必須である。しかしながら、手術室で使用されている多くの薬剤でその特徴的な使用方法についての安全性や有効性に関する情報は少ない。

また、手術中の患者は鎮静状態のため痛みを訴えることができないことから特に薬剤の血管外漏出リスクが高まる。さらに手術中はシリンジポンプを用いて投与する薬剤が多く、漏出量が増し重症化しやすいため注意を要する。特に、麻酔薬の漏出時の傷害リスクやその対処法は明らかとなっておらず、対応に苦慮しているのが現状である²⁾。

本研究では、手術室で汎用される薬剤の適正使用につながるエビデンスの創出を目的として、1) 麻酔薬であるチオペンタールとプロポフォール[®]の血管外漏出時の対処法に関する研究、2) 術後眼内炎の予防に用いられるヨウ素製剤の角膜上皮細胞に対する影響解析、3) 眼灌流液に添加したアドレナリンの安定性に関する研究を実施した。

【本論】

第 I 章

チオペンタールとプロポフォールの血管外漏出に対する 罨法の効果に関する基礎的研究

日本がん看護学会が出版している「外来がん化学療法看護ガイドライン」によると、血管外漏出とは、『薬剤が血管外へ浸潤あるいは血管外へ漏れ出ること。そして、これによって周囲の軟部組織に障害を起し、発赤、腫脹、疼痛、灼熱感、びらん、水疱形成、潰瘍化、壊死などの何らかの自覚的および他覚的な症状が生じることである』と定義されている³⁾。抗がん剤などの細胞傷害性が強い薬剤が血管外に漏出した場合、漏出部位に難治性の潰瘍を生じ、皮膚移植が必要となる事例もある。血管外漏出のマネジメントでは、漏出傷害リスクの高い薬を認識し、漏出が疑われた場合には適切な治療を早期に行うことが重要となる。抗がん剤の漏出傷害リスクについては過去に多くの研究が報告され、血管外漏出による組織傷害の程度に基づき、壊死性 (vesicants)、炎症性 (irritants) および非壊死性 (non-vesicants) の 3 種類に分類されている⁴⁻⁶⁾。壊死性の薬剤は、血管外へ漏れ出た場合に水疱や潰瘍をもたらす可能性がある薬剤である。つまり、組織傷害や組織壊死のような血管外漏出の重篤な副作用が生じる可能性がある。したがって、壊死性抗がん剤の血管外漏出は、その傷害が進行することにより患者の苦痛や入院期間の延長を引き起こす場合が多い⁷⁾。炎症性の薬剤は、注射部位やその周囲の血管に沿って痛みや炎症が生じる可能性がある薬剤である。大量の薬剤が血管外に漏出した場合には潰瘍をもたらす可能性もある。非壊死性の薬剤は、薬剤が漏れ出たときに、組織に傷害をもたらす可能性が非常に低い薬剤である⁸⁾。2006 年の報告によると、抗がん剤による血管外漏出の頻度は 0.1% - 6% であるとされている⁵⁾。近年、米国では抗がん剤による血管外漏出の予防を目的として中心静脈カテーテルの積極的な利用が行われ、さらに漏出時の対応についてのガイドラインが整備されたことや、専門の看護師が血管外漏出の可能性をモニタリングし、漏出が疑われた場合には直ちに投与を中止できる体制が整備されたことなどから、抗がん剤による血管外漏出の発生頻度

は減少傾向にある⁶⁾。

抗がん剤以外の薬剤については、高浸透圧の薬剤や酸性または塩基性を示す薬剤、血管収縮作用を有する薬剤について漏出時の傷害が報告されている⁹⁾。しかし、抗がん剤に比べて研究報告は少なく、傷害の程度やその対処法は明らかでない。そのため、非抗がん剤の血管外漏出については、その傷害リスクが過小視される場合が多く、注意喚起が不十分となりやすい。実際、近年では抗がん剤に比べて非抗がん剤のほうが血管外漏出により引き起こされる傷害の頻度が高く、漏出による重篤な傷害の報告が多いことから日本医療機能評価機構が、医療事故情報収集等事業の報告書で注意喚起している^{10,11)}。

手術室では、麻酔の使用により意識がない患者が痛みを訴えることができないことや、輸液ルートの刺入部位が術野を清潔に保つための布で隠れ、観察が困難であること、シリンジポンプで投与を行う薬剤が多く、漏出した場合でも強制的に投与が継続されやすいなどから、特に血管外漏出のリスクに注意喚起が必要である²⁾。1961年から2014年までの非抗がん剤による血管外漏出の症例報告で、麻酔薬であるチオペンタールやプロポフォールは漏出報告数の多い薬剤であることが指摘されている⁹⁾。この要因として、これらの薬剤の傷害リスクが明らかになっておらず、漏出時の対応が不明確であることが挙げられる。チオペンタールは塩基性 (pH 10.2–11.2) の薬剤であり、強い組織傷害性を有する。一方、中性 (pH 7.0–8.5) の薬剤であるプロポフォールについては、漏出による壊死はみられなかったとする報告が多いが¹²⁻¹⁵⁾、一部の症例では壊死が認められたとの報告もあり¹⁶⁻¹⁸⁾、傷害の程度や対処法については分かっていない。したがって、プロポフォールの血管外漏出による組織傷害性を明らかにし、血管外漏出時の潜在的な傷害リスクを明らかにする必要がある。

血管外漏出のマネジメントでは、薬剤の傷害リスクを把握し、リスクに応じて迅速に対処することが重要である。血管外漏出による傷害の対処法には、漏出した薬液を吸引除去することにより曝露される薬剤の量を減らすことや、漏出部位の拳上、局所の冷罨法・温罨法、外科的手術、中和薬の投与などがある^{6,19)}。冷温罨法は、浮腫や疼痛を減少し、漏出時の主要な対処法とされている^{4,6,8,9)}。血管外漏出のマネジメントの **overview** では、医療機関においては診療科ごとに罨法パック入りの漏出対応キットを配置することを推奨し

ている²⁰⁾。一方、冷温罨法の治療効果についての科学的な根拠は十分ではない。例えば、チオペンタールの添付文書には、「静脈外に漏れた場合はプロカイン注射液等の局所麻酔剤による浸潤、温湿布等の適切な処置を行うこと」と漏出時の対処法が言及されているが、この根拠となる研究報告はなく、漏出時の対応について言及された論文は、リドカインが有効であったとする 1 報告だけである²¹⁾。また、プロポフォールについては、冷却が疼痛の緩和に有効であったことを示す症例報告のみである²²⁾。

このような背景のもと、本研究ではチオペンタールとプロポフォールについて、それぞれの薬剤が漏出した時の組織傷害性を明らかにするとともに、冷温罨法の治療効果について、肉眼的な所見と組織学的な評価を試みた。

第 1 節 チオペンタールとプロポフォールの血管外漏出の傷害リスクと 罨法の効果の肉眼的評価

本節では、チオペンタールとプロポフォールについて血管外漏出時の組織傷害の強さを分類し、血管外漏出時の対処法として罨法の効果を肉眼的に評価した。

8 週齢の Wistar 系雄性ラット背部皮内に、チオペンタールまたはプロポフォールを 0.1 mL 注入し、薬剤漏出モデルを作製した。生食注入無治療群 3 匹、薬剤投与無治療群、冷罨法（18-20℃）3 時間治療群および温罨法（40-42℃）3 時間治療群各 5 匹の皮膚傷害を評価した。皮膚傷害のピーク面積および曲線下面積（AUC）、治癒までの期間を指標として皮膚傷害を評価した。

生理食塩液を漏出させた群では、炎症や壊死の所見がなく、肉眼的な変化は認められなかった。チオペンタールを漏出させた群では、漏出後に発赤や硬化、浮腫、腫脹などの所見を認め、24 時間後に傷害のピークを示した（Fig. 1）。漏出開始から 2-3 日後には表皮で変性が進み、その後、皮膚潰瘍部から痂皮が剥離する壊死性の所見が得られた。傷害像は円形で、硬化、発赤、潰瘍（大きい順）が円の中心から外側に向かって広がっていた。ピークを過ぎた後、皮膚の傷害は経日的に縮小傾向を示し、完全に治癒するのに 18-26 日を要した（Fig. 1）。チオペンタール漏出群に冷罨法を施した場合、無治療群と比較して皮膚傷害の程度は軽減する傾向を示した。また、治癒までの期間も減少した（ $p < 0.05$ ）。一方、温罨法を施した場合には、無治療群よりも皮膚傷害ピーク面積（ $p < 0.01$ ）と時間一傷害面積曲線下面積（area under the lesion-time curve : AUC）（ $p < 0.01$ ）が有意に増加し、治癒までの時間が約 6 日延長した（ $p < 0.01$ ）（Table 1）。

プロポフォール漏出群はチオペンタール漏出群と比較して、皮膚の傷害が軽度であり、漏出部位の硬化や潰瘍を認めず、漏出直後に発赤がわずかに観察されたのみであった。完全に治癒するのに要した時間は 1-2 日とチオペンタールに比べて短期間であった（Fig. 1）。プロポフォール漏出群に冷罨法を施した場合、無治療群と比較して皮膚傷害のピーク面積が減少した（ $p < 0.05$ ）。一方、温罨法を施した場合には、コントロール群と比較して皮膚傷害のピーク面積（ $p < 0.01$ ）、AUC（ $p < 0.01$ ）が有意に増加し、治癒するのに要した時間も増加する傾向を示した（Table 1）。

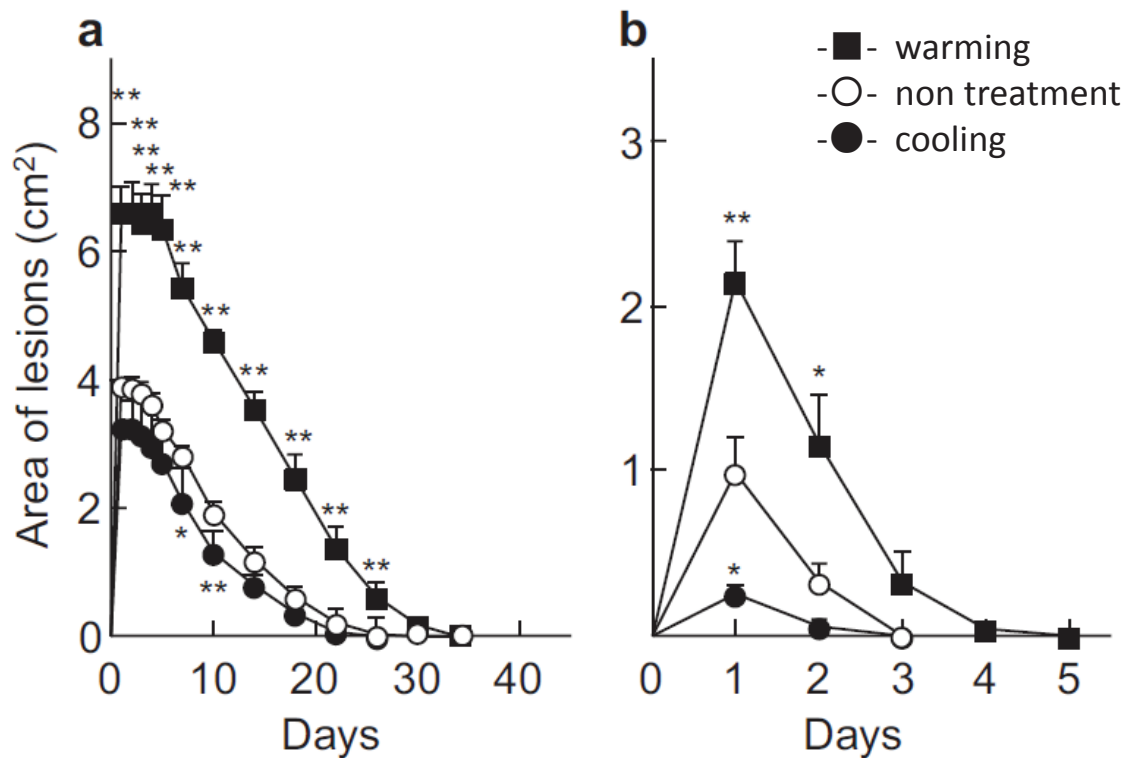


Fig. 1. Effects of local cooling or warming on macroscopic injury induced by thiopental (a) or propofol (b) extravasation in rats.

Thiopental (2.5 mg) or propofol (1.0 mg) were administered intradermally (ID) at a volume of 100 μ L. Local cooling (18–20°C) and warming (40–42°C) were performed for 3 h immediately after ID of thiopental or propofol. Remaining lesions were monitored until the injury was healed completely. Open circles, closed circles and closed squares represent lack of treatment, cooling and warming, respectively. Each value represents the mean \pm SEM of results from five rats. * P <0.05, ** P <0.01: significantly different from controls (non-treatment).

Table 1. Effects of local cooling or warming on thiopental- and propofol-induced skin lesion parameters in rats.

Agent/Treatment	Peak area (cm ²)	AUC (cm ² days)	Damage duration (days)
Thiopental			
None	3.9 ± 0.2	42.0 ± 2.3	20.9 ± 0.9
Cooling	3.3 ± 0.2	31.5 ± 2.1	17.6 ± 1.1*
Warming	6.6 ± 0.5**	98.4 ± 6.2**	26.8 ± 1.3**
Propofol			
None	1.0 ± 0.2	1.3 ± 0.3	1.5 ± 0.2
Cooling	0.3 ± 0.1*	0.3 ± 0.1	1.1 ± 0.2
Warming	2.2 ± 0.2**	3.7 ± 0.7**	2.2 ± 0.3

AUC, area under the lesion-time curve. Thiopental (2.5 mg) and propofol (1.0 mg) were administered intradermally (ID) at a volume of 100 µL. Local cooling (18–20°C) and warming (40–42°C) were performed for 3 h immediately after ID of thiopental or propofol. Remaining lesions were monitored until the injury was completely healed. Each value represents the mean ± SEM of results from five rats. **P*<0.05, ***P*<0.01: significantly different from controls (non-treatment).

第 2 節 チオペンタールとプロポフォールの血管外漏出の傷害リスクと 罨法の効果の組織学的評価

本節では、チオペンタールとプロポフォールについて血管外漏出時の組織傷害の強さと血管外漏出時の対処法として罨法の効果をヘマトキシリン-エオジン (hematoxylin and eosin : HE) 染色を用いて組織学的に評価した。

生理食塩液を漏出させた皮膚では組織学的な変化が認められず、表皮、真皮、皮筋などの皮膚組織の構造は保たれていた。一方、チオペンタール漏出群では、漏出 24 時間後にすべて表皮が脱落し、真皮構造の消失と膠原繊維の変性・壊死が認められた。また、皮筋の細胞間隙が拡大、すなわち浮腫が認められた。冷罨法処置群では、無処置群よりも浮腫が軽減していたが、温罨法群では、真皮深層の膠原繊維まで細かく断裂し、表皮、真皮の変性・壊死にとどまらず、傷害が広範囲に拡大し、皮下組織、皮筋組織の無構造化、核崩壊、変性、壊死がみられた (Fig. 2)。

プロポフォール漏出群は、発赤と真皮や皮筋への炎症性細胞の浸潤が観察されたが、壊死は認められなかった。また、冷温罨法の処置による組織学的な変化は認められなかった (Fig. 3)。

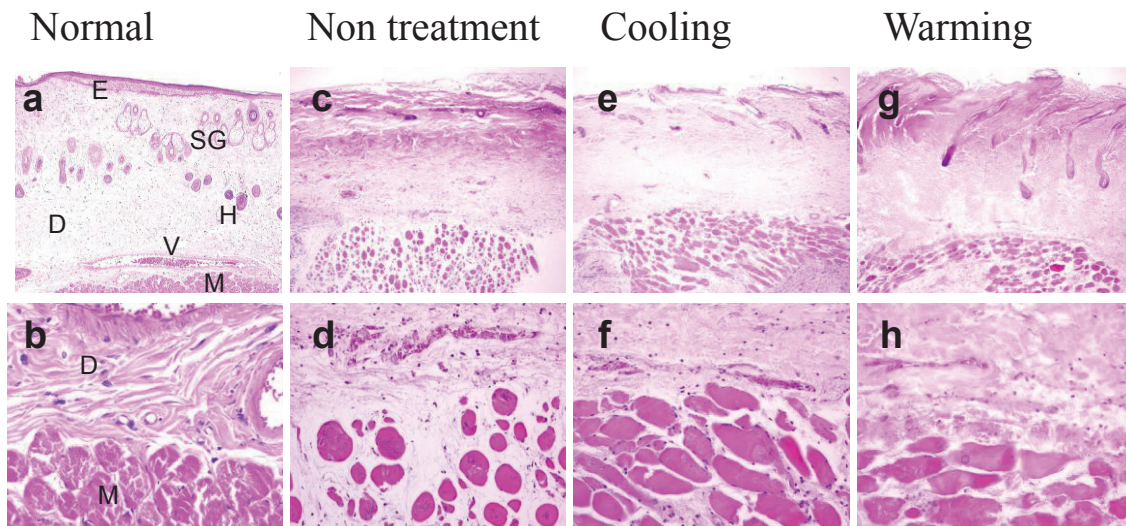


Fig. 2. Effects of local cooling or warming on histopathological skin lesions at 24 hours after thiopental extravasation in rats.

Normal skin (a, b) at 24 hours after intradermal injection (ID) of saline shows complete architectural construction of dermis, skin appendixes, epithelium (E), dermis (D), muscle (M), hair follicle (H), sebaceous glands (SG), vessel (V). Control (c, d) is a group without any treatment after ID of thiopental (2.5 mg). Cooling treated with cold pack (18–20°C) for 3 h immediately after thiopental ID, reduced edema (e, f). Warming treated with hot pack (40–42°C) for 3 h immediately after thiopental ID, caused degeneration and necrosis in the deep dermis and muscle (g, h). Hematoxylin and eosin stain: (a, c, e, g) magnification $\times 4$; (b, d, f, h) magnification $\times 20$.

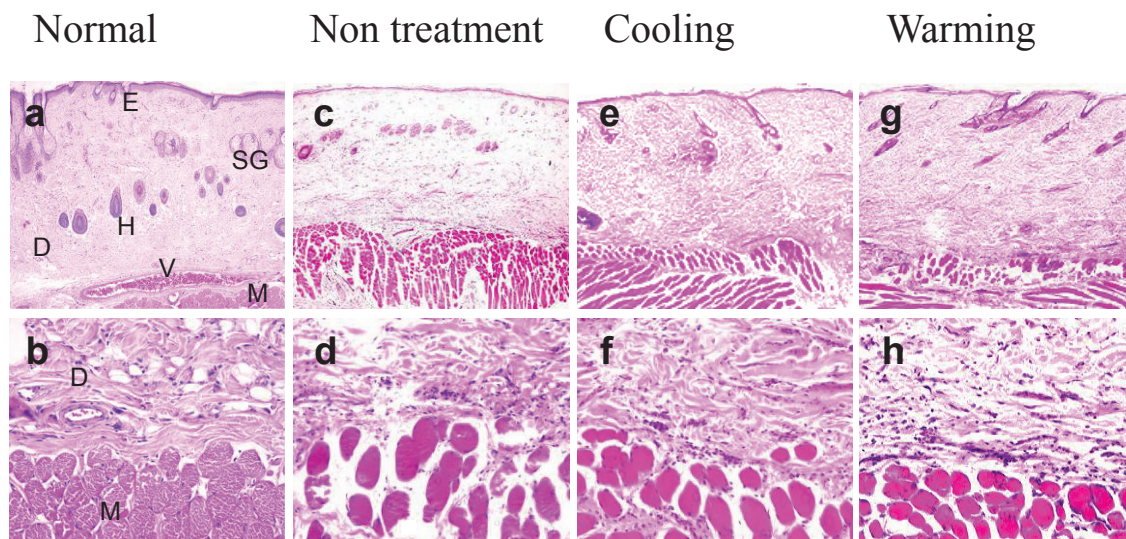


Fig. 3. Effects of local cooling or warming on histopathological skin lesions at 24hours after propofol extravasation in rats.

Normal skin (a, b) at 24hours after intradermal injection (ID) of saline shows complete architectural construction of dermis, skin appendixes, epithelium (E), dermis (D), muscle (M), hair follicle (H), sebaceous glands (SG), vessel (V). Control (c, d) is a group without any treatment after ID of propofol (1.0 mg). Cooling (e, f) treated with cold pack (18–20°C) for 3 h immediately after propofol ID and warming (g, h) treated with hot pack (40–42°C) for 3 h immediately after propofol ID. Skin tissues were biopsied at 24 h after ID of saline or propofol. Hematoxylin and eosin stain: (a, c, e, g) magnification ×4; (b, d, f, h) magnification ×20.

第 3 節 小括

本章では、チオペンタールおよびプロポフォール漏出時の傷害リスクと冷温罨法の治療効果を明らかにすることを目的に、血管外漏出モデルラットを用いて両薬剤の漏出による皮膚傷害を肉眼的及び組織学的に評価した。

薬剤の血管外漏出による皮膚傷害性は、使用する薬剤の種類によりその程度に組織学的、質的な相違があることが知られている。チオペンタールを漏出させた場合、肉眼的に炎症所見や壊死が認められ、その傷害は 24 時間後にピークを示した (Fig. 1)。また、漏出 24 時間後に漏出部位より採取した皮膚では真皮深層や皮筋に至るまで壊死が進んでいることが組織学的に示された (Fig. 2)。このことから、チオペンタールは壊死性の薬剤であると定義することができる。非抗がん剤の漏出による組織傷害の機構については、浸透圧や溶液の pH、血管収縮を示すことなどが報告されている⁹⁾。本研究で使用したチオペンタール製剤 (ラボナール®) は、浸透圧比 0.8、pH 10.2–11.2 を示す。したがって、本研究で認められたチオペンタールの漏出による強い皮膚傷害性は、体液と薬液の浸透圧差によるものではなく、塩基性によるものであると考えられる。

チオペンタールとは異なり、プロポフォールは局所的な発赤などの炎症所見のみを示し、壊死には至らなかった。この結果から、プロポフォールは既報¹²⁻¹⁵⁾と同様、炎症性の薬剤と定義づけられた。本研究で使用したプロポフォール製剤 (ディプリバン®) は、浸透圧比 1、pH 7.0–8.5 を示す薬剤である。このことから、プロポフォールの漏出による炎症の原因として、浸透圧や pH の影響はないと考えられる。これまでに、プロポフォールの漏出による炎症の原因として、プロポフォール自身が炎症を誘発する活性を有していることが指摘されている²³⁾。また、製剤中に含まれる脂肪乳剤の粒子径が変化することにより、毛細血管の脂肪塞栓が起こりうることも指摘されている²⁴⁾。これらの報告から、プロポフォールの漏出による炎症の惹起機構として、プロポフォール自身の炎症を誘発する活性や、ダイズ油などの添加物による毛細血管の塞栓などが考えられる。本研究では、プロポフォールの漏出による壊死の所見は認められなかった。一方、過去の症例で、プロポフォールの血管外漏出による皮膚組織の壊死が報告されている¹⁶⁻¹⁸⁾。プロポフォールは通常、シリンジポンプを用いて投与される薬剤であり、漏出した場合でも強

制的に投与が継続されやすい。したがって、薬剤の溶液が大量に血管外に漏出し、組織内圧が亢進することで物理的な組織傷害が惹起される可能性がある^{25,26)}。また、いくつかの論文で、プロポフォールの漏出による皮膚の壊死と栄養不良や敗血症、糖尿病などの疾患との関連が報告されている^{16,27,28)}。したがって、プロポフォールの血管外漏出による壊死の報告は主に過量の溶液の漏出と患者背景で説明できるかもしれない。本研究の結果では、これらの因子を排除してプロポフォールの漏出リスクを評価することができ、組織学的に壊死性を裏付ける結果は得られなかったことから、プロポフォールは炎症性薬剤と定義することができた。

本研究で、冷罨法（18–20℃で3時間）は、チオペンタールの漏出により惹起された真皮、皮下組織、皮筋の浮腫と壊死を軽減した。この機構として、漏出直後の局所の冷却が表層の血管を収縮させ、薬剤を局在化させたことが考えられる²⁹⁾。

温罨法による傷害の治癒機構として、局所の血管を拡張することによる漏出した薬剤の吸収の促進が考えられている^{4,8,9)}。さらに、温罨法による漏出部位の加温は漏出した薬剤の分散を促進することが知られている。このことから、チオペンタール漏出時に温罨法と酸性の局所麻酔薬を併用した場合には、チオペンタールのもつ塩基性の中和を促進し、傷害の進行を弱める可能性がある⁹⁾。しかしながら、本研究で実施した温罨法の処置（40–42℃で3時間）はチオペンタールやプロポフォールの漏出による傷害を増悪させた。温罨法は、ピンカアルカロイド系抗がん剤等、一部の抗がん剤による薬剤漏出傷害に対して有効性を示す方法とされているが³⁰⁾、その有効性に関するエビデンスは乏しい。これらの結果を合わせて考えると、チオペンタールの血管外漏出に対する処置として添付文書で推奨されている温罨法は、不適切な処置であると考えられる。

薬剤漏出に対する罨法の方法は、現在までその温度や時間は定まっていない²⁶⁾。既報で行われている20分4回/日の罨法は³¹⁾、足関節の捻挫等への対処である **protection, rest, ice, compression, elevation (PRICE)**³²⁾ および **cryotherapy**³³⁾ の応用であると考えられる。Oyama ら³⁴⁾ は、ドキシソルビシン漏出モデルマウスを用いた検討により、20℃で3時間継続した冷罨法は、20分間の冷罨法を繰り返す方法よりも **C5a receptor (CD88)** や **インターロイキン (IL)-8RA** を発現した炎症性細胞数と末梢神経線維束および表皮にお

ける transient receptor potential vanilloid type 1 (TRPV1) の発現を減少させることを報告している。IL-8RA や C5a は炎症部位へ好中球やマクロファージの遊走を促進する。また、TRPV1 は温度感受性のチャネルであり、炎症反応の惹起に伴い発現が増加することが知られている³⁵⁾。このことから、既報で行われている 20 分の処置では炎症性薬剤の漏出による傷害の治療に不十分である可能性がある。本研究では 3 時間の冷罨法により、チオペンタールとプロポフォルの漏出による傷害が緩和した。したがって、これらの薬剤の漏出時には 3 時間の冷罨法が適していると考えられる。

本研究では、肉眼的及び組織学的な観点から、チオペンタールとプロポフォルの漏出傷害リスクに関する情報を提供した。医療従事者は、非抗がん剤でも漏出時の傷害の高い薬について抗がん剤と同様に注意し、創傷治癒過程を理解した上で、予防および早期発見に努めることが重要であると考えられる。

第Ⅱ章

培養ヒト角膜上皮細胞を用いたヨウ素製剤の角膜上皮細胞傷害性評価

白内障や緑内障等眼科手術の技術は年々向上し、術後合併症の少ない安定した成績を得られる手術となっている。しかし術後合併症が発生する危険性は皆無ではなく、とくに術後眼内炎は永久的な視力障害を残すことが多い点で、発生頻度は低くても危険性が高い合併症である。

術後眼内炎の主要起炎菌である *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Enterococcus faecalis*, *Propionibacterium acnes* は患者結膜嚢の常在菌であり、術中、術後に、術創から眼内に持ち込まれ、これが眼内炎を惹起していると考えられている³⁶⁾。したがって術後眼内炎の予防には、角膜、結膜、眼瞼の滅菌が重要である。

2002年 Ciulla ら³⁷⁾による術後眼内炎予防法についての evidence rating によると、唯一「ポビドンヨード (povidone-iodine solution : PVP-I) による結膜嚢消毒」が B ランク(臨床経過に中等度重要と考えられ推奨される)と評価され、他の手段はいずれもエビデンスに乏しいとされた。また、米国感染症学会の改訂版ガイドライン 2013 でも、術後眼内炎の予防策として PVP-I による結膜嚢の消毒がエビデンスに基づき推奨されている³⁶⁾。PVP-I は水にわずかしか溶解しないヨウ素をポリビニルピロリドンと複合体を形成することによって水溶化した製剤で、生体に使用できる消毒薬として広く使用されている。

しかし本邦では PVP-I 製剤の結膜嚢への適応は承認されていない。実際には使用されてきた結果、角膜上皮傷害の副作用が報告され、取扱い上の注意として眼には使用しないよう指示されている。したがって、本邦において眼消毒に適応のあるヨウ素製剤はヨウ素・ポリビニルアルコール (polyvinyl alcohol-iodine : PAI) 製剤に限られている。両剤ともその作用機序は遊離ヨウ素 I_2 が水を酸化して生じる H_2OI^+ が、細菌およびウイルス表面の膜タンパク (-SH グループ、チロシン、ヒスチジン) と反応することにより細菌およびウイルスを死滅させると推定されている³⁸⁾ (Table 2)。

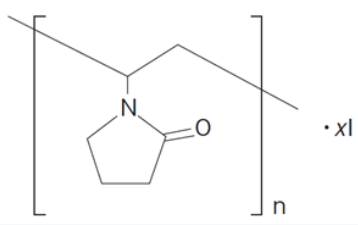
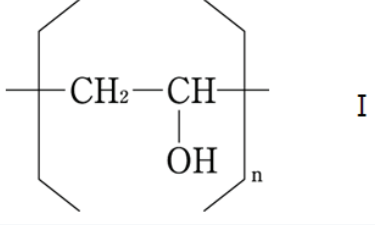
ところが、この PAI が PVP-I と比べて角膜上皮傷害への影響が少ないかどうかについては、臨床研究で両剤とも重篤な角膜上皮傷害はみられなかった

という報告³⁹⁻⁴¹⁾があるものの細胞レベルでの比較研究はなされていない。

角膜は直径が 1.2 cm、厚さ 0.5 mm の小さな組織で、透明性と視機能を保つために微細な構造をしている。消毒剤による角膜傷害には消毒剤自体の影響だけでなく、角膜知覚神経による上皮のメンテナンス機構や涙液層の状態が関与するため、消毒剤の角膜細胞への直接作用の検出は臨床研究だけでは不十分であり、細胞毒性試験等の単純系試験により基礎研究と両面からの評価が重要であることが報告されている⁴²⁾。

そこで今回、PVP-I と PAI の角膜上皮細胞の傷害性について、培養ヒト角膜上皮細胞 (human corneal epithelial cell : HCE-T) を用いて検討した。

Table 2. ポビドンヨードとヨウ素・ポリビニルアルコール

	ポビドンヨード (イソジン®液、PVP-I)	ヨウ素・ポリビニルアルコール (PA・ヨード点眼液、PAI)
構造式		
薬理作用	遊離ヨウ素I ₂ の酸化作用による殺菌効果	
有効成分	ヨウ素10 mg/mL ポビドンヨード100 mg/mL	ヨウ素2 mg/mL ポリビニルアルコール80 mg/mL
添加物	濃グリセリン、クエン酸水和物 無水リン酸-水素ナトリウム ラウロマクロゴール、pH調整剤	溶解補助剤 (ヨウ化カリウム)
pH	3.0-5.5	4.0-6.0

第 1 節 ポビドンヨードとヨウ素・ポリビニルアルコールの 細胞傷害性評価

本節では PVP-I と PAI を HCE-T 細胞に 30 秒処理後の細胞生存率から各々の細胞傷害性を検討した。

各消毒剤の角膜上皮細胞傷害性を Fig. 4a、Fig. 4b に示した。いずれの処理群においても処理濃度の上昇とともに細胞生存率の低下が認められた。臨床で使用される PVP-I 16 倍希釈液の 30 秒処理における細胞生存率 $39.1 \pm 2.5\%$ は、PAI 6 倍希釈液の $57.5 \pm 7.2\%$ と比較しその細胞傷害性は有意に低かった ($p < 0.01$)。

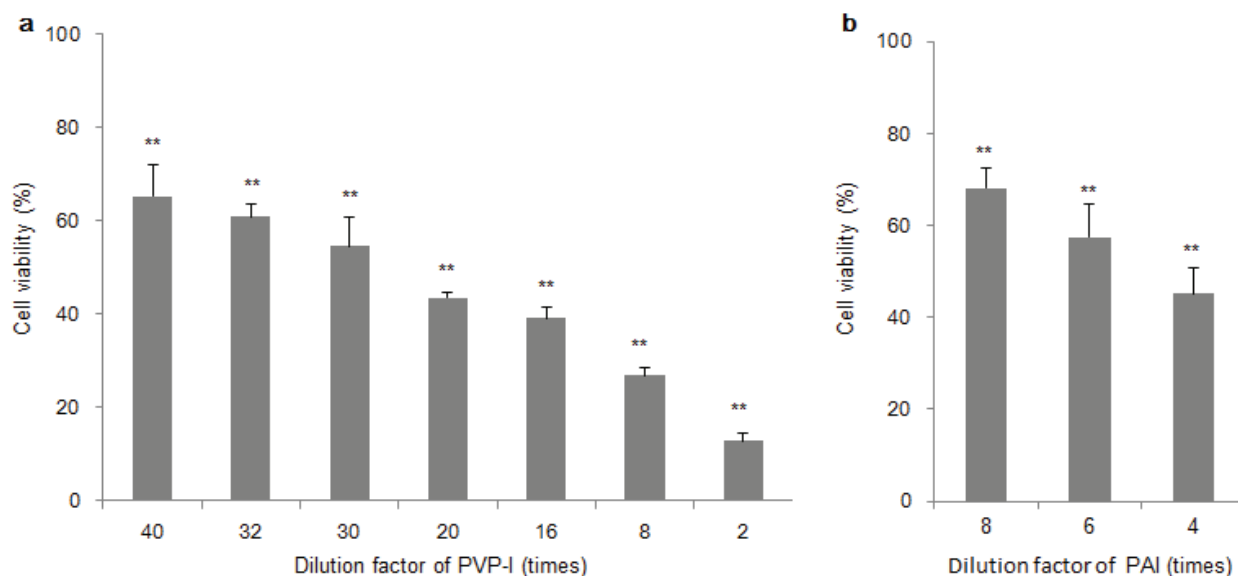


Fig. 4. HCE-T cell viability following exposure to PVP-I and PAI for 30 sec. The mean and standard deviations of viable cell numbers following exposure to PVP-I (a) and PAI (b) assessed in duplicate (five separate experiments) using the CCK8 assay. **: $P < 0.01$ versus saline (Dunnett's multiple comparison)

また PVP-I と PAI のうち、有効ヨウ素濃度が等しい希釈液による角膜上皮傷害を比較したところ、製剤間で差がなく、有効ヨウ素濃度が等しい溶液は角膜上皮傷害の程度が同程度であった (PVP-I 20 倍希釈液 vs PAI 4 倍希釈液 (有効ヨウ素 0.05%)、PVP-I 30 倍希釈液 vs PAI 6 倍希釈液 (有効ヨウ素

0.033%)、PVP-I 40 倍希釈液 vs PAI 8 倍希釈液 (有効ヨウ素 0.025%) (Fig. 4)。このことから細胞傷害性は主に有効ヨウ素濃度に依存していることが示唆された。

また、臨床における実際の使用濃度である PVP-I 16 倍希釈液および PAI 6 倍希釈液の細胞傷害を直接比較した (Fig. 5)。両群において、処理時間の増加とともに細胞生存率の低下が認められた。PVP-I 16 倍希釈液に比べ PAI 6 倍希釈液のほうが角膜上皮細胞傷害が軽度であったことは、有効ヨウ素濃度に細胞傷害性が依存していることを示唆する。

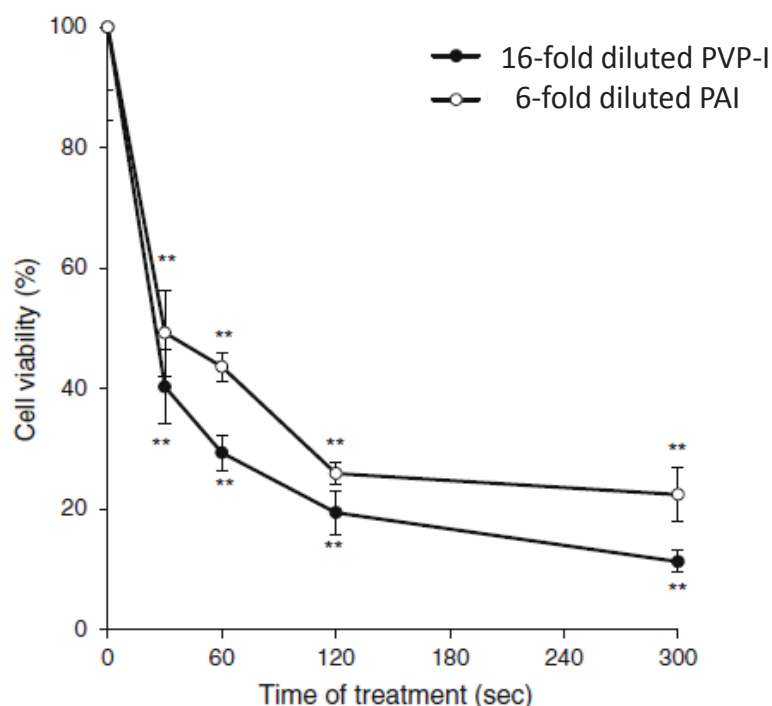


Fig. 5. HCE-T cell viability following exposure to PVP-I and PAI for 30, 60, 120, and 300 sec.

The mean and standard deviation of viable cell numbers following treatment with 16-fold diluted PVP-I and 6-fold diluted PAI for 30–300 sec assessed in duplicate (five separate experiments) using the CCK8 assay. **: $P < 0.01$ versus saline (Dunnett's multiple comparison)

第 2 節 添加物の細胞傷害性評価

本節では、添加物の影響を検討する目的で、添加物を含有するポビドンヨード (PVP-I) 液、添加物を含有しないポビドンヨード原末 (PVP-I-P) を溶解した原末液、ヨウ素・ポリビニルアルコール液 (PAI) の細胞傷害性を比較検討した。

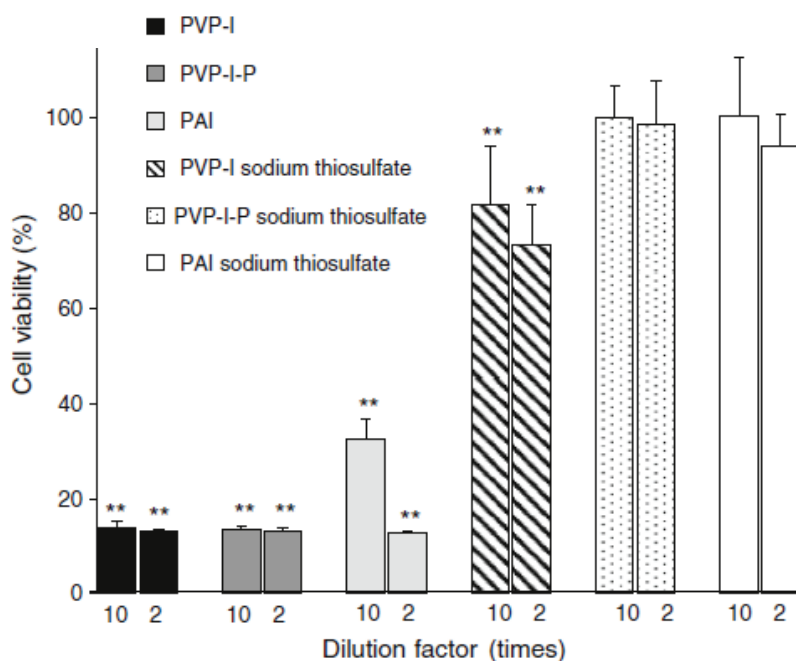


Fig. 6. HCE-T cell viability following exposure to PVP-I and PAI and solutions with inactivated iodine after achromatization with sodium thiosulfate.

The mean and standard deviation of viable cell numbers following treatment with various concentrations of PVP-I, PVP-I-P, and PAI, as well as each solution achromatized in sodium thiosulfate for 30 sec assessed in duplicate (five separate experiments) using the CCK8 assay. **: $P < 0.01$, * $P < 0.05$ versus saline (Dunnett's multiple comparison)

チオ硫酸ナトリウムで各液のヨウ素を失活させ、失活前後の溶液の HCE-T 細胞の生存率を検討した。チオ硫酸ナトリウムでヨウ素を失活後は、PVP-I、PVP-I-P、PAI ともに細胞傷害性が緩和された。失活後の PAI の細胞生存率は生理食塩液と同程度であったのに対し、PVP-I は濃度依存性に細胞傷害が残存していた (Fig. 6)。失活前、PVP-I-P と PVP-I は細胞傷害性が同程度であったが、失活後は PVP-I-P の細胞傷害性は消失したのに対し、PVP-I は濃度依存性に細胞傷害性が残存した (Fig. 6)。これらのことから、PVP-I の細胞傷害性については添加物の影響が示唆された。

第 3 節 ラウロマクロゴールの細胞傷害性評価

第 2 節では、PVP-I の細胞傷害性について添加物の影響が示唆された。このため本節では、PVP-I に含有されている添加物のうち、発泡性、洗浄性等を増加するために添加されている界面活性剤の影響を調査した。PVP-I に含有される界面活性剤であるラウロマクロゴールは、1 mg/mL 以上の濃度で毒性が認められた ($p < 0.01$) (Fig. 7)。PVP-I に含有されるラウロマクロゴール濃度は非公開であるが、一般的には 5%程度が使用されていることから、PVP-I は、ヨウ素だけでなく界面活性剤ラウロマクロゴールも細胞傷害の原因となっている可能性が考えられた。

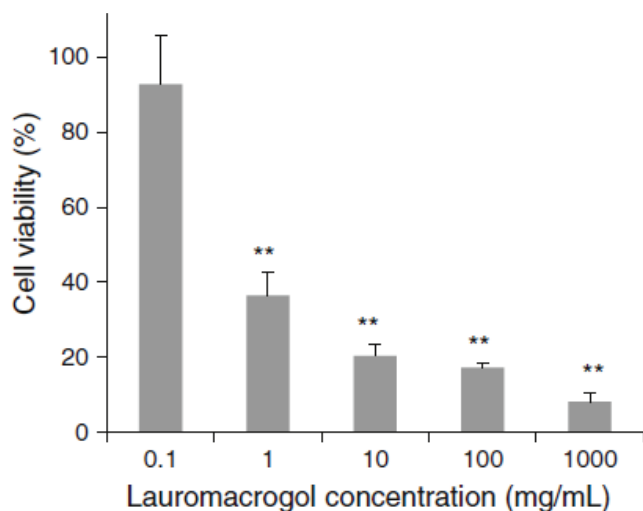


Fig. 7. HCE-T cell viability following exposure to Lauromacrogol for 30sec. The mean and standard deviation of viable cell numbers following treatment with various concentrations of Lauromacrogol for 30 sec assessed in duplicate (five separate experiments) using the CCK8 assay. **: $P < 0.01$ versus saline (Dunnett's multiple comparison)

第 4 節 pH の細胞傷害性への影響

本節では各液の主成分および添加物以外に細胞生存率へ影響すると予測される因子として pH の細胞傷害性を検討した。生理食塩液処理後に比べて pH 6 以下では有意に HCE-T 細胞の細胞生存率は低下した (Fig. 8)。PVP-I 16 倍希釈液の pH は 4.0、PAI 6 倍希釈液の pH は 5.2 であり、細胞傷害が認められる pH 値であることから各消毒剤の pH も細胞傷害性に関与する可能性が示唆された。

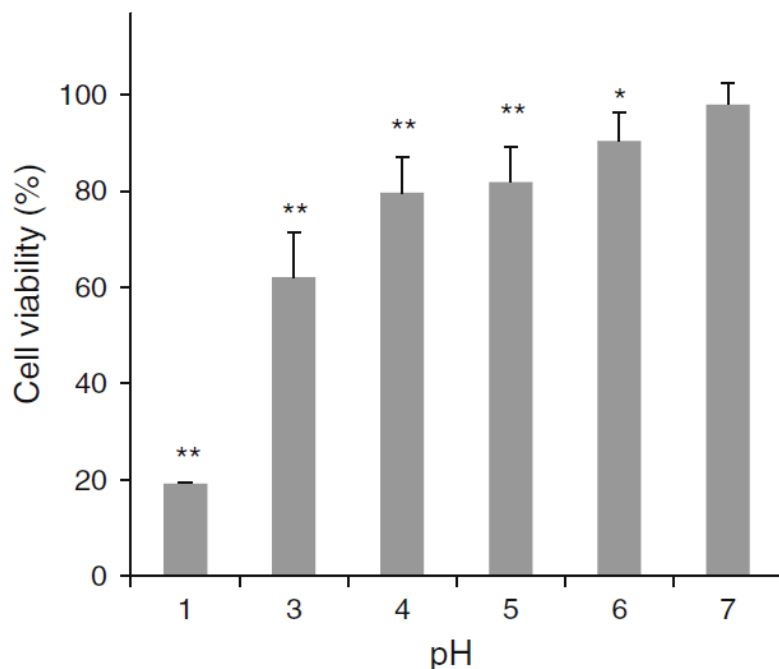


Fig. 8. Effect of pH on HCE-T Cells.

The mean and standard deviation of viable cell numbers following 30 sec exposure to a pH range of 1 to 7 assessed in duplicate (five separate experiments) using the CCK8 assay. **: $P < 0.01$, * $P < 0.05$ versus saline (Dunnett's multiple comparison)

第 5 節 浸透圧の細胞傷害性への影響

本節ではスクロースで調製した 0–300 mOsm/kg の各浸透圧液を用いて、浸透圧による HCE-T 細胞の細胞傷害性を検討した。生理食塩液（300 mOsm/kg）に比べて、0、50、100 mOsm/kg の各浸透圧液処理後の細胞生存率は、有意に低下した ($p < 0.01$) (Fig. 9)。

16 倍 PVP-I 希釈液および 6 倍 PAI 希釈液を注射用水で調製した場合の各希釈液の浸透圧は、13 mOsm/kg および 7 mOsm/kg であった。一方、生理食塩液で調製した場合の各希釈液の浸透圧は、278 mOsm/kg および 240 mOsm/kg であり角膜上皮細胞にとって影響しない範囲内にあることから、両剤とも生理食塩液で希釈した場合の浸透圧が細胞傷害性に与える影響は低いと考えられた。

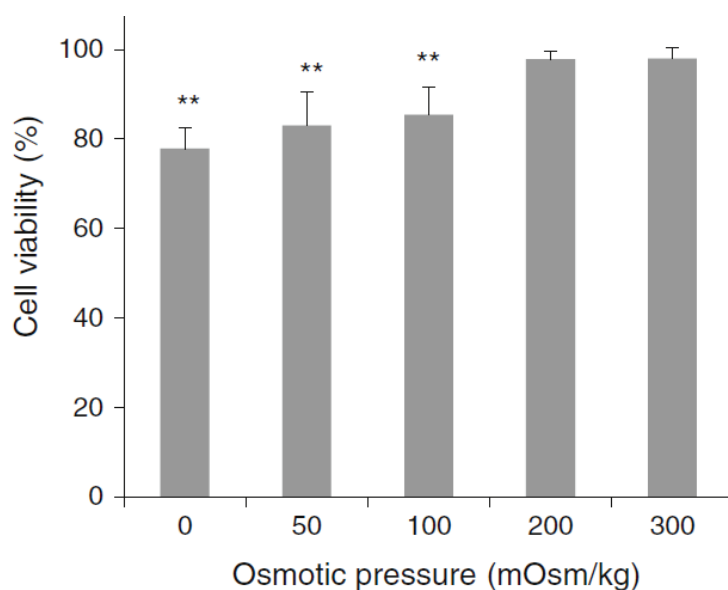


Fig. 9. Effect of osmotic pressure on HCE-T Cells.

The mean and standard deviation of viable cell numbers following 30 sec exposure to 0, 50, 100, 200, 300 mOsm/kg solutions assessed (five separate experiments) using the CCK8 assay. **: $P < 0.01$ versus saline (Dunnett's multiple comparison)

第 6 節 小括

HCE-T 細胞を用いた角膜傷害評価実験は、個体差や眼表面の状態の要因をすべて同一条件の状態で評価することが可能なため、薬剤自身が有する角膜上皮細胞傷害性を検討するのに適している。本研究では、この HCE-T 細胞を用い、現在臨床現場で多用されている PVP-I と PAI の *in vitro* 角膜上皮細胞傷害性評価を行った。

*In vivo*では、点眼薬は点眼後涙液により希釈され、その後涙点から鼻涙管を経て鼻に流れることが知られている⁴³⁾。結膜囊内の涙液量は約7 μL で通常1.2 $\mu\text{L}/\text{min}$ の割合で涙液が産生され、結膜囊の涙液は5分で完全に置き換わる⁴⁴⁾。このように *in vivo*では薬剤が長時間角膜に滞留しないことから、本実験のような *in vitro*実験系では臨床よりも短時間で強い傷害性が認められる。したがって、角膜上皮細胞傷害性評価を行う上で、消毒薬処理時間の設定は重要である。臨床での術前消毒は3-5分程度であるが、*in vitro*実験系ではそれより短時間での時間設定の必要がある。実際にPVP-IとPAIの添付文書の *in vitro*実験系では、ほとんどの細菌について最小殺菌時間30秒と設定している点を参考にし、本研究では消毒時間30秒として実験を行い、消毒剤自身の角膜上皮細胞への傷害性評価を行った。

日本眼感染症学会は、全国12施設の術前滅菌法多施設共同研究でPVP-IとPAIによる消毒効果の比較を行い、PVP-I 16倍希釈液(0.625 mg/mL)とPAI 6倍希釈液(0.33 mg/mL)の消毒効果は同等と結論付けた。これは、PVP-I群とPAI群の洗眼直後、手術終了時の結膜ぬぐい液および手術直後の前房水からの菌検出率に有意差がなかったことに基づいている³⁹⁾。一方で両剤の角膜上皮傷害についての比較研究は報告されていなかった。

本研究結果から、PAIは角膜上皮傷害に濃度依存性が認められたが、PAI 4、6および8倍いずれの希釈液においても、PVP-I 16倍希釈に比べ角膜上皮傷害は低かった。また、PAI 6倍希釈とPVP-I 16倍希釈液は消毒効果が同等とされているが、その角膜上皮傷害作用は、PAI 6倍希釈液のほうが有意に低いことを明らかにした。

さらにPVP-IとPAIのうち、有効ヨウ素濃度が等しい溶液を比較したとき、PAIの角膜上皮傷害性が低い傾向がみられたが、有意差がなかったことから両剤の角膜上皮傷害の程度は、主に有効ヨウ素濃度に依存していると思われる。

た。一方、PVP-Iの細胞毒性の一部は界面活性剤に起因するとの報告もある⁴⁵⁾。そこでヨウ素の殺菌酸化力をチオ硫酸ナトリウムで失活させ検討を行った。チオ硫酸ナトリウム処理後の細胞に対する影響は、PAIとPVP-I-Pの細胞生存率はすべての希釈濃度において生理食塩液と同程度まで毒性が緩和されたのに対し、PVP-Iは毒性の緩和はあるものの、製剤濃度に比例して依然として濃度依存性に細胞傷害性が認められた。この結果から、PVP-Iの細胞傷害性には、添加物として含まれている界面活性剤等が影響している可能性がある⁴⁵⁾。このため、PVP-Iに含有される界面活性剤であるラウロマクロゴールの細胞傷害性を評価した。界面活性剤の一般的な局所刺激作用は、陽イオン性>陰イオン性>非イオン性の順に低下するとされ⁴⁶⁾、非イオン界面活性剤であるラウロマクロゴールは局所刺激作用が低い。しかし濃度の上昇に伴い、細胞生存率は低下しており1 mg/mLの濃度においても毒性が認められた。PVP-I中のラウロマクロゴールの濃度は公表されておらず不明であるが、含有量が1 mg/mL以上の場合は角膜傷害を起こす可能性がある。

界面活性剤等の添加物による細胞傷害があるとすると、ヨウ素失活前は、PVP-I-Pに比べPVP-Iの細胞傷害は強いはずであるが、実際には同程度であった。これについては、PVP-I-P希釈液(pH 1.5-3.5)とPVP-I希釈液(pH 3.0-5.5)のpHの違いの影響が考えられる。角膜内皮細胞が生存可能なpHは、6.5-8.5⁴⁷⁾、浸透圧は200-400 mOsm/kg⁴³⁾といわれている。本研究の結果より角膜上皮細胞の培養における至適pHおよび浸透圧は、角膜内皮細胞で報告されている至適pHおよび浸透圧とほぼ同じであった。生理食塩液で希釈した場合の各希釈用液の浸透圧は、220-278 mOsm/kgであり、角膜上皮細胞にとって適切な範囲にあることから、生理食塩液で希釈した場合の消毒剤希釈濃度の違いによる浸透圧の差が細胞傷害性に与える影響は低いと考えられた。しかし、注射用水で希釈した場合の浸透圧は4-101 mOsm/kgで、生食希釈液と比べて極端に低い。このため角膜内皮細胞が傷害されバリア機能の障害がおこる可能性は否定できない。PAIの添付文書には、生理食塩液か精製水で希釈するように記載があるが、眼に使用する消毒剤の希釈液としては浸透圧による細胞傷害を考慮して、生理食塩液を使用するのがより適切と考えられた。

本研究結果より、眼に適応のあるPAI 4-8倍希釈液と汎用されているPVP-I 16倍希釈液の角膜上皮傷害の程度には差があり、適応のあるPAIの

方がより安全に術前消毒に使用できると思われた。また、米国で実施されている PVP-I 2 倍希釈液による点眼に比べ、本邦における PVP-I 16 倍希釈液による 3-5 分洗眼は、消毒薬の接触時間が長く細胞傷害のリスクとなる一方、低濃度であり傷害が軽減されていると思われる。

術後、眼の不定愁訴の原因となる術中の角膜上皮傷害は、開眼保持、顕微鏡の強い光による角膜乾燥、角膜知覚神経切断、器具による機械的傷害等複数の要因が原因となり、術後数ヶ月はドライアイマネジメントが重要とされている。消毒剤による角膜上皮細胞傷害は、このような術中操作に追加して上皮のバリア機能維持に悪影響を与え術後感染のリスクとなるうえ、早期の回復を妨げる懸念があることから、可能な限り傷害性の少ない消毒剤を選択することが求められる。

実際には、PVP-I を眼科手術前消毒に使用しても角膜内皮細胞数や角膜厚に有意な変化はみられないという報告⁴⁸⁾があるほか、これまでに蓄積された症例実績に基づく高い安全性および術後眼内炎予防の国際的標準薬であることなどから現在も PVP-I を使用している施設も多くあるのが現状である。今後さらに細胞傷害性を少なくするための適正濃度を検討し、より安全な使用法を明らかにすることが必要である。さらに、両剤とも細胞傷害作用を有することから、消毒終了後は眼内の消毒剤を生理食塩液で洗い流すことにより細胞傷害を最小限に抑える配慮が必要であると考えられる。

第Ⅲ章

眼科手術用灌流液に添加するアドレナリンの安定性試験

超音波乳化吸引術 (phacoemulsification and aspiration: PEA) や白内障囊外摘出術 (extracapsular cataract extraction: ECCE) では、手術を安全に行うために術中瞳孔を十分に散瞳させておくことが重要であるが⁴⁹⁾、著明な縮瞳反応のため困難な手術手技を余技なくされることも少なくない。そのため術中の縮瞳反応を抑制する目的で、術前に散瞳薬やプロスタグランジン合成阻害薬を頻回に点眼することが行われている。しかし術前に投与された薬物は、術中に使用される眼灌流液によって作用部位である瞳孔括約筋あるいは瞳孔散大筋から wash out されることが指摘されている⁵⁰⁾。その点、散瞳薬を含む灌流液を用いた場合には持続的な散瞳が期待され、実際にアドレナリン添加灌流液を使用した群では灌流中も縮瞳率の上昇は認められなかったとの報告がある⁵¹⁾。これらの結果は眼灌流液へのアドレナリン添加が術中の散瞳を維持する上で効果的であることを示している。これらの報告をもとに、現在では術中の縮瞳を予防するため、術中使用する眼灌流液にアドレナリンを添加することにより、散瞳を維持する方法が広く行われている⁵²⁻⁵⁴⁾。

眼灌流液の組成はヒトの房水に近い成分であり、有効成分として眼の組織を保護するオキシグルタチオンが含まれている。臨床使用では使用直前にオキシグルタチオン溶液を希釈液で希釈して使用するのが原則であるが、手術の進行状況や患者状態により、希釈後すぐに使用できないケースも多い。さらにアドレナリンを添加する場合、アドレナリンは pH の変動等により不安定となりやすいため希釈後の安定性に疑問がある。またこの使用法は本邦においては適応外使用であり、安定性や混合後の使用期限に対し各施設で実際に安定性試験を行うなど、その体制を整備するのは困難であるのが実情である。そのため、今回各施設での自主管理推進のための基礎データおよび指針を提供することを目的として安定性試験を実施した。

第 1 節 眼灌流液中のアドレナリン含量推移

本節ではアドレナリン添加眼灌流液におけるアドレナリン安定性試験を行った。アドレナリン添加眼灌流液 (1 ug/mL) を pH 7.2、7.5、8.0 に調製後 24 時間までの pH に有意な変化はみられなかった。各製剤の経時的アドレナリン含量の推移を Fig. 10 に示す。眼灌流液に添加 24 時間後のアドレナリン残存率はそれぞれ 66.8 (pH 7.2)、64.1 (pH 7.5)、35.4% (pH 8.0) であり、pH が高いほどアドレナリン残存率が低下する傾向にあった。添付文書で指示されている眼灌流液の使用期限である希釈混合 6 時間後には、pH 7.2、7.5 の眼灌流液のアドレナリンはそれぞれ 90.6、91.1%といずれも 90%以上含量が保たれていたが、pH 8.0 では調製直後から顕著に含量低下がみられ、6 時間後にはアドレナリン含量が 65.2%まで低下した。24 時間後に 35.4%まで低下した際には外観上も無色透明から淡紅色へ変化が認められた。pH 7.2 および 7.5 の眼灌流液はいずれも無色透明で、試験期間中に外観上の変化は認められなかった。

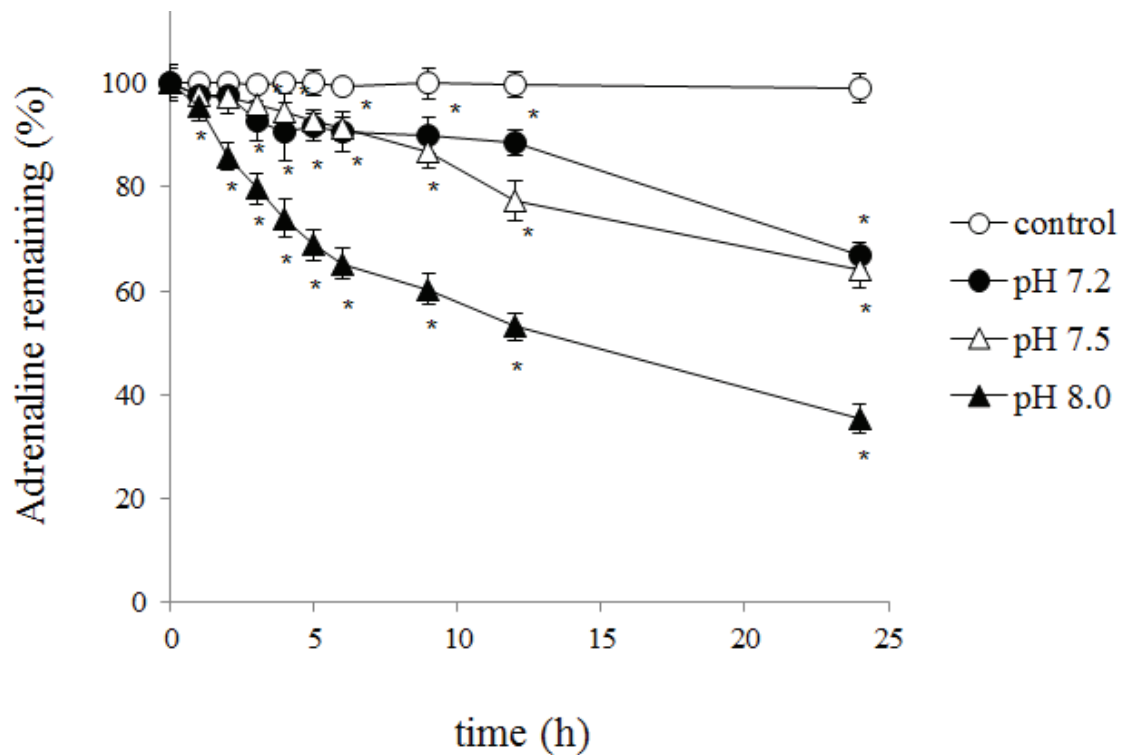


Fig. 10. Stability of adrenaline in irrigating solution.

Irrigating solutions at pH 7.2 (-●-), pH 7.5 (-△-), and pH 8.0 (-▲-) containing adrenaline (1 µg/mL), or adrenaline injectable solution (1 mg/mL, pH 2.3–5.0) as a control were incubated at room temperature for 24 h. Each value was expressed as mean±SD of three replicates: *p<0.01 compared with initial amount.

第 2 節 亜硫酸水素ナトリウムがアドレナリンの安定性に及ぼす影響

本節では、抗酸化剤としてアドレナリン注射液に添加されている亜硫酸水素ナトリウムの希釈がアドレナリンの安定性に与える影響を検討した。亜硫酸水素ナトリウムが 0.5（臨床で汎用されているアドレナリン添加眼灌流液中の濃度）、5、50 および 500 $\mu\text{g/mL}$ （アドレナリン注 0.1% に添加されている亜硫酸水素ナトリウムと同じ濃度）の濃度になるように混合したアドレナリン添加眼灌流液を pH 8.0 に調製した。調製 6 時間後のアドレナリン含量はそれぞれ 57.5、57.9、61.2、97.3% であった (Fig. 11)。

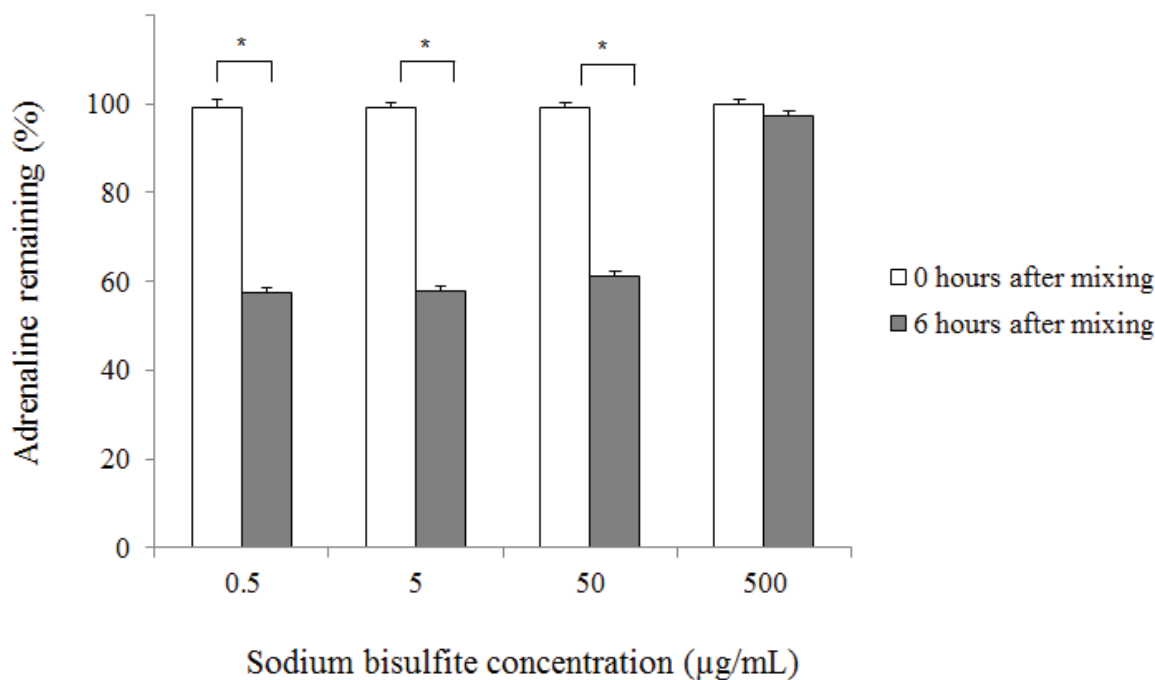


Fig. 11. Effect of sodium bisulfite on the stability of adrenaline.

Adrenaline (1 $\mu\text{g/mL}$) in irrigating solution at pH 8.0 containing various concentrations of sodium bisulfite: 0.5, 5, 50 and 500 $\mu\text{g/mL}$ were incubated at room temperature for 6 hours. * $p < 0.01$

第 3 節 小括

アドレナリン注射液は、抗酸化剤である亜硫酸水素ナトリウムと、保存剤であるクロロブタノールを含む。これらはいずれも網膜や角膜内皮細胞を傷害するため、縮瞳抑制効果が得られる範囲で最小の濃度を用いることが望ましい⁵⁵⁾。

PEA や ECCE では手術時、灌流前の瞳孔径の絶対値は 6.2 から 7.1 mm に分布し、この瞳孔径が手術中維持できれば手術は支障なく行われるが、瞳孔径が 5 mm 以下に縮瞳すると手術操作は困難になる⁵⁶⁾。そこで 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ アドレナリン添加灌流液を使用すると 83% が 5 mm 以上に瞳孔径を保つことができたとの報告⁵⁷⁾など、1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ アドレナリン添加灌流液が瞳孔径を維持するために、臨床的に有用な最小アドレナリン濃度として推奨されている^{52,54,58)}。アドレナリン注射液は、アドレナリン受容体作動薬として交感神経節後線維支配下の効果器細胞に直接作用し、 α 受容体、 β 受容体と結合する。 α_1 、 α_2 、 β_1 、 β_2 受容体への作用比はほぼ等しいが、投与量により作用発現が異なる。散瞳は α 受容体に関連した作用であるが、少量では β 受容体刺激作用が優位となるため注意が必要である。特に糖尿病を合併した症例は、縮瞳傾向が指摘されており⁵⁹⁾、眼灌流液中のアドレナリン濃度の維持が重要である。

Edelhauser ら⁶⁰⁾は傷害を起こすことなく眼内灌流が可能な pH は 6.8—8.2 であるとしており、これらの報告を根拠に眼灌流液の pH は 7.2—8.2 に設定されている。この pH の範囲において眼灌流液中のアドレナリン濃度を経時的に見た結果、pH 8.0 では、混和 2 時間後にはアドレナリン濃度が 90% 以下に低下した。アドレナリンは、水溶液中で容易に酸化されるため、眼灌流液に混和することで酸化されることにより含量が低下することが考えられる。またこの含量低下は、希釈による pH の上昇、熱、光、金属イオンで促進される^{61,62)}。アドレナリンは pH の上昇による分解を避けるため、その成分が安定である pH 3.0—4.0 に調整されている。またアドレナリンの酸緩衝能は弱く、pH 7.2—8.2 の眼灌流液に混和した際、容易に塩基性に傾くことでアドレナリンが分解されると考えられる。アドレナリンの分解は、カテコール部分の酸化によるキノン体→直鎖アミン部の環化によるインドール体→重合体の生成と進む。重合体の一部はメラニンに転換されるか、アドレノク

ロム型となり、重合体と重合した共重合体を形成する⁶³⁾。

アドレナリン注射液のインタビューフォームによると⁶⁴⁾、生理食塩液でアドレナリン注射液を希釈した直後の含量は 92.1% (10 倍希釈)、62.3% (100 倍希釈) と希釈倍率の上昇に伴い顕著な低下が認められている。今回の研究で、眼灌流液にアドレナリンを添加して 1,000 倍希釈した直後の含量は 83% であり、希釈倍率が高いにも関わらず、生理食塩液で希釈した場合に比べて含量低下率が小さい。この低下率の差の原因として眼灌流液の主成分であるオキシグルタチオンが抗酸化作用をもつため、アドレナリン分解の進行が抑制されたことが考えられる。また眼灌流液に含有される pH 調整剤の作用により、生理食塩液で希釈した場合と比べ希釈によるアドレナリンの pH の変動が少ないことも推察される。グルタチオンによるカテコールの酸化防止機構を Fig. 12 に示す。カテコールが酸化されるとオキシグルタチオンが還元され、グルタチオンに変換される。グルタチオンは、キノンを還元しカテコールに変換する。グルタチオンは酸化によりオキシグルタチオンに戻り、眼灌流液中のオキシグルタチオンの濃度は変化しないため、眼組織保護作用に影響はない。

さらにアドレナリン含量低下の原因として、pH の上昇以外の要因として抗酸化剤として添加されている亜硫酸水素ナトリウムの希釈の影響が考えられる。アドレナリン添加眼灌流液 (1 $\mu\text{g}/\text{mL}$) にさまざまな濃度の亜硫酸水素ナトリウムを加え、アドレナリン濃度を調査した。亜硫酸水素ナトリウムの濃度が 500 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (アドレナリン注 0.1% に添加されている亜硫酸水素ナトリウムと同じ濃度) ではアドレナリン含量低下はほとんど認められなかったが、0.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (臨床で汎用されているアドレナリン添加眼灌流液中の濃度) では顕著に低下した。本調査より、アドレナリン添加眼灌流液中のアドレナリンの濃度は、主にその抗酸化剤である亜硫酸水素ナトリウムの希釈が原因で、経時的に含量低下する可能性が考えられた。

眼灌流液はオキシグルタチオンの安定性確保のため用時希釈製剤となっており、混合希釈後の使用を 6 時間以内としている。今回の試験結果から、アドレナリンは眼灌流液に混和後 pH によっては 2 時間で 90% 以下の含量まで低下していた。アドレナリン 0.6 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 濃度は散瞳効果が得られなかったとする報告等から⁵⁴⁾、散瞳効果を得るためには 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ が最小有効アドレナリン濃度であるとされている⁵²⁾。眼灌流液の使用期限である 6 時間後には

70%以下に含量低下し、散瞳効果が不十分になる可能性が懸念されるため、アドレナリンは使用直前に混和し、手術準備段階で予製しないことを周知する必要がある。

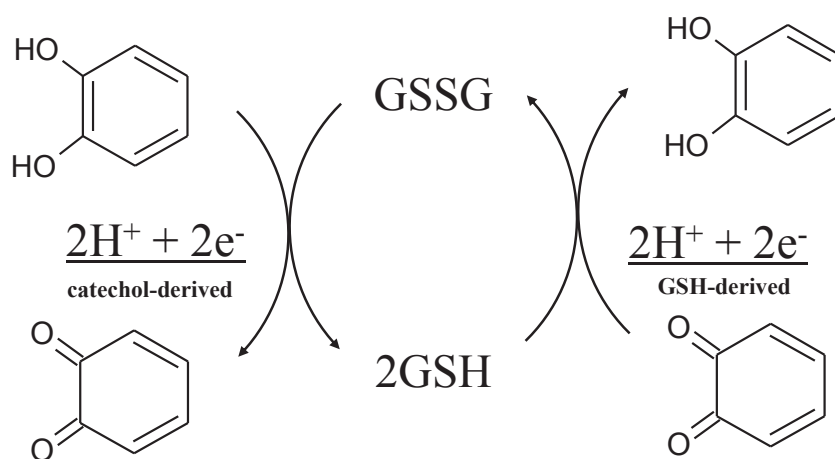


Fig. 12. Antioxidant mechanism of the catechol by glutathione.

【総括】

本研究は、手術室で汎用される薬剤の適正使用につながるエビデンスの創出を目的として実施した。非抗がん剤の血管外漏出の皮膚傷害の重症度とその対処法が薬剤ごとに解明されれば、非抗がん剤の血管外漏出の予防と治療法の確立が可能となる。薬剤自身の漏出時傷害リスクについての情報の記載は整合性を保つことが必要であり、薬物療法の基礎となる添付文書情報の整理が求められる。これらをもとにした患者への情報提供と指導の徹底も課題であろう。また眼科手術時の消毒方法、術中の散瞳維持が適正に行われることで、眼科手術の治療効果や患者の QOL の改善が望めるものと推察される。

【実験の部】

※用いた試薬、機器の中で、それぞれの章で重複するものは省いた。

【 I 】 第 I 章 実験の部

【 I -1】 使用薬剤

チオペンタール（ラボナール®注射用 0.5 g、田辺三菱製薬株式会社）、プロポフォール（1%ディプリバン®注、アストラゼネカ株式会社）を使用した。

【 I -2】 実験動物

Wistar 系雄性ラット(8 週齢、体重 250–270g)

広島大学動物実験倫理委員会およびヘルシンキ宣言に従い動物の取り扱いを行った。餌、水ともに常時摂取可能とし、12 時間サイクルの明暗条件下に設定した室温 23℃、相対湿度 50%の動物室において飼育した。試験前の 1 週間馴化させた。

【 I -3】 漏出モデル作製

漏出モデル作製は Dorr らの方法⁶⁵⁾を参考に行った。

ラットにペントバルビタールナトリウム（ソムノペンチル®、共立製薬株式会社）40 mg/kg を腹腔内投与し、麻酔をかけた。麻酔下で背部を電気バリカン（THRIVE トリマ-MODEL2100 大東電機工業株式会社）0.5 mm 刃を用いて剃毛した。24 時間後に除毛部を観察して皮膚に異常のないラットのみを使用した。ラット背部の皮膚をつまみあげ、26G 注射針を 45 度で 2/3 挿入し皮内組織に刺入し、1 匹につき背部の左右二カ所に薬液 0.1 mL を注入し皮膚が膨隆したのを確認して漏出した状態とした。投与部位の中心はラットの耳介から尾方向に 7 ± 1 cm とした。チオペンタールおよびプロポフォールの使用濃度は、それぞれ添付文書に記載されている用量 2.5% (25 mg/mL)、1% (10 mg/mL) に調製した。チオペンタールは添付文書に従い注射用水で希釈した。ネガティブコントロールとして生理食塩液を薬剤の代わりに漏出させた。右側は肉眼所見を観察するため、治癒するまで観察し、左側は組織学的評価のための採取用とした。

【 I -4】 罨法

群構成は、生理食塩液漏出・無治療群 3 匹、薬剤漏出・無治療群、薬剤漏出・冷罨法処置（18－20℃）群および薬剤漏出・温罨法処置（40－42℃）群各 5 匹とした。本研究では、薬液漏出時の急性傷害に対する罨法の効果について検討するため、薬液漏出直後に罨法を 3 時間施行し、罨法には Cold/Hotpack™（3M ヘルスケア）を用い⁶⁶⁾、温罨法は、加温したゲルパックをラット背部漏出部全面にあて薬液漏出部位を 40－42℃に保持することにより行った。冷罨法は、冷却したゲルパックをラット背部漏出部全面にあて薬液漏出部位を 18－20℃に保持することにより行った。各罨法において、ラット背部の漏出部位に、温度センサーを貼付し、皮膚表面温度をデジタル温度計（12 チャンネルデータロガー温度計 BTM BTM-4208SD SATO TECH）で 3 時間、適用部位の温度を 10 分毎に継続して観察しながら罨法を実施した。

【 I -5】 漏出部位の肉眼的所見⁶⁵⁾

肉眼的検討として、漏出後 1 週間目までは連日、1 週間後からは 4 日おきに漏出部の観察を行い病変部位の長径を 2 辺測定した。発赤、浮腫、硬化、潰瘍、壊死をまとめて傷害と定義し観察した。傷害のピーク面積、治癒までの期間、AUC で評価した。AUC は台形法で算出した。すべての傷害は完全に治癒するまで観察した。

【 I -6】 漏出部位の組織学的所見

1) 組織採取

組織学的検討として漏出 24 時間後に投与部位の皮膚組織を直径 4 mm パンチ（デルマパンチ、マルホ）で摘出した。組織採取時間は、チオペンタールと同様に塩基性を示すフェニトインの傷害ピーク時間を参考とし、漏出 24 時間後とした⁶⁷⁾。

2) ホルマリン固定、パラフィン包埋、薄切

摘出皮膚組織は 10%ホルマリン（病理組織固定用容器 10%ホルマリン、武藤化学）に室温で 6 時間以上浸漬しホルマリン固定した。組織片をティシューカセット（ティシューテックユニカセットスタンダード、サクラファイナ

テック) に入れ、80%エタノール(エタノール 99.5、Wako) に 30 分間、90%エタノール(エタノール 99.5、Wako)に 30 分間浸漬、さらに 100%エタノール(エタノール 100 病理用染色溶剤、武藤化学) に 30 分間浸漬を 2 回繰り返すことで、組織の水分をエタノールに置換し脱水した。この後、キシレン (キシレン、ナカライテスク) に 20 分間 2 回浸漬した後、60℃パラフィン (パラフィンワックス II 60 ティッシュテック、フナコシ株式会社) に 20 分間、60℃パラフィン 30 分間 2 回浸漬した。パラフィンビーカーの中のティッシュカセットを取り出し、ティッシュカセット内の組織片を、70℃温子で温めたパラフィン入り永久標本用のプラスチック容器スーパーフロストホワイト MAS、松浪硝子工業株式会社) に入れた。このとき組織のカット面が垂直になるように配置した。-10℃冷子で試料を固定しパラフィン包埋とした。室温で 24 時間以上経過後、ミクロトームにパラフィンブロックをセットし、5 µm 厚に薄切りを行った。薄切りした組織を 50℃の湯に浮かべスライドガラス上で乾燥させたものを観察用プレートとした。

3) HE 染色

HE 染色は細胞および組織構造の全体像を観察する目的で、ヘマトキシリンで細胞核、エオジンで細胞質を染色する最も基本的な一般染色法である。

観察用プレートをキシレンに 5 分間 3 回浸漬することで脱パラフィンをした後、100%エタノール 5 分間 2 回浸漬することでキシレンをエタノールで置換し、エタノールを洗い落とすため、水洗い 2-3 回行った。その後、ヘマトキシリン (マイヤーヘマトキシリン溶液顕微鏡用 1.09249、E.Merck、和光純薬工業) へ 2-3 分浸漬し核の染色を行い、水洗いによりヘマトキシリンの色出し定着を行った。さらにエオジン (エオシン Y アルコール溶液 (HT110116、sigma-aldrich) に 3 分浸漬し細胞質等の染色後水洗いし、90%エタノールに 5 回数秒浸漬、その後 100%エタノールに 5 回数秒浸漬、再度新しい 100%エタノールに 5 回数秒浸漬することで脱水、キシレンに 3 分間 2 回浸漬することで透徹を行った。キシレンからプレートを取りだし接着ボンド (マウントクイックチューブ、大道産業)をつけたカバーガラス (NEO カバーガラス、松浪硝子工業株式会社) で封入した後 30 分乾燥させた。組織標本における病変部を HS オールインワン蛍光顕微鏡 BZ9000 (KEYENCE、東京) で確認後、病変部を中心に撮影、組織学的に検討した。組織学的評価

は実験経過をブラインドした病理専門医により行われた。

【 I -7】 統計学的処理

実験結果は、平均値±標準誤差 (SEM) で表した。各群間の差異を、ANOVA、多重比較には *post hoc test* として Student Newman-Keuls 法を用いて分析した。危険度 5%を有意水準とした。

【Ⅱ】 第Ⅱ章 実験の部

【Ⅱ-1】 使用薬剤

PVP-I (ポビドンヨード ; イソジン®液 10%、明治製菓ファルマ)、PAI (ヨウ素・ポリビニルアルコール ; PA・ヨード点眼洗眼液、株式会社日本点眼薬研究所)、ポビドンヨード原末 (LKT) を生理食塩液で 10%にした溶液 (以下 PVP-I-P) を用いた。

【Ⅱ-2】 HCE-T 細胞 ^{68,69)}

独立行政法人理化学研究所バイオリソースセンター (筑波) から購入した。SV40-adenovirus 組換えベクターにより不死化したヒト角膜上皮細胞株であり、細胞増殖性のばらつきが少ない (第 4 世代 HCE-T 細胞増殖性の変動係数:4.7%、0.25 cells/cm²にて播種後 3 日間培養)。64 kD ケラチン産生能がある ⁷⁰⁾。

5% ウシ胎児血清 (heat-inactivated fetal bovine serum: hFBS) (ロンザ)、5 µg/mL insulin (093-06471、Wako)、10 ng/mL human epidermal growth factor: hEGF (P613、Wako)、0.5% DMSO (D2650、SIGMA)、12.5 mL/L L-glutamine (G7513、SIGMA)、100 IU/mL ペニシリンおよび 100 µg/mL ストレプトマイシン (P0781、SIGMA) を含む Dulbecco's modified eagle's medium/ham's f12 medium: DMEM/F12 培地 (D6421、SIGMA) で、37°C、5%CO₂ 条件下で培養した ^{71,72)}。

【Ⅱ-3】 細胞生存率の測定

細胞数を計測後、96 ウェルマイクロプレートに 5×10⁴ 個ずつ播種し、37°C、5%CO₂ インキュベーター内で 24 時間培養したものを実験に用いた。

実際の操作方法として、HCE-T 細胞を各消毒剤 100 µL で処理後、phosphate buffered saline (PBS) で 2 回洗浄し、各ウェルに 100 µL の培地および Cell Counting Kit-8 (CCK8) 試薬 (同仁化学研究所) ⁷³⁾ 10 µL を加え、37°C、5%CO₂ インキュベーター内で 3 時間処理後 450 nm の吸光度 (Abs) を測定した。CCK8 にはテトラゾリウム塩 (WST-8) と電子伝達物質 (1-Methoxy PMS) が含まれており、WST-8 は、乳酸脱水素酵素の補酵素である NADH から 1-Methoxy PMS を介して電子を受け取ることで還元されて

水溶性の WST-8 ホルマザンを生成する。本実験における細胞増殖性は生成したホルマザン量が生細胞数に対応する原理を利用した。各薬剤とも 1 系列 5 ウェルを用いた。

【Ⅱ-4】各消毒剤の角膜上皮細胞傷害性試験

PVP-I と PAI について、HCE-T 細胞を 30 秒処理後の角膜上皮細胞傷害性を検討した。PAI は、添付文書上の適応濃度である 4、6、8 倍希釈液、PVP-I は米国で使用されている 2 倍希釈⁷⁴⁾、国内で汎用されている 8、16、32 倍希釈の各濃度について検討した。あわせて、PVP-I と PAI 間の、有効ヨウ素濃度が等しい溶液間で細胞傷害性を比較検討するため、PVP-I 20、30、40 倍希釈を追加した。つぎに消毒効果が同等³⁹⁾とされる PVP-I 16 倍希釈液および PAI 6 倍希釈液を直接比較し、HCE-T 細胞を各希釈液で 30、60、120、300 秒処理した場合の細胞傷害性を検討した。

【Ⅱ-5】角膜上皮細胞傷害性試験

添加剤による角膜上皮細胞傷害性について検討する目的で、0.02 M チオ硫酸ナトリウムで PVP-I、PVP-I-P および PAI のヨウ素を失活後⁷⁵⁾、2、10 倍濃度になるように生理食塩液で希釈した場合の細胞傷害性を検討した。

【Ⅱ-6】ラウロマクロゴールの細胞傷害性試験

PVP-I に添加されている界面活性剤であるラウロマクロゴール (NIKKOL BL-9EX、和光特級) 0.1、1、10、100、1000 mg/mL の細胞傷害性をあわせて検討した。

【Ⅱ-7】pH の細胞生存率への影響

pH の細胞生存率への影響を検討するため、塩酸-塩化カリウム緩衝液、酢酸緩衝液、リン酸緩衝液を用いて pH 1-7 の溶液を調製した。HCE-T 細胞を各 pH 液 100 μ L で 30 秒処理後、CCK8 法を用いて各 pH 液の細胞傷害性を検討した。PVP-I 16 倍希釈液、PAI 6 倍希釈液の pH を測定し、pH の細胞生存率への影響を検討した。

【Ⅱ-8】浸透圧の細胞生存率への影響

浸透圧による細胞生存率への影響を検討するため、スクロースで 0、50、100、200、300 mOsm/kg 各浸透圧液を調製し、HCE-T 細胞を各液 100 μ L で 30 秒処理後、CCK8 法を用いて各々の細胞傷害を検討した。PVP-I 16 倍希釈液、PAI 6 倍希釈液の浸透圧を測定した。希釈液としてそれぞれ生理食塩液と注射用水を使用した。

【Ⅱ-9】 統計学的処理

実験結果は平均値±標準偏差 (SD) で表した。各々の実験値は単純比較は student's t-test を用い、多群間比較は Dunnet 法により解析した。危険度 5%を有意水準とした。

【Ⅲ】 第三章 実験の部

【Ⅲ-1】 使用薬剤

オキシグルタチオン眼灌流液・洗浄液（ビーエスエスプラス®500 眼灌流液 0.0184%、オキシグルタチオン 1531F、希釈液 5589F）（日本アルコン株式会社）（以下、眼灌流液）、日本薬局方アドレナリン注射液 0.1%（ボスミン®注 1 mg）（CNA1024、第一三共株式会社）（以下、アドレナリン注）、標準試料として(R)-(-)-Epinephrine（PDM3506、和光純薬工業株式会社）（以下、アドレナリン試薬）、亜硫酸水素ナトリウム（YSN7761、和光純薬工業株式会社）を使用した。

【Ⅲ-2】 アドレナリン添加眼灌流液の調製

眼灌流液の添付文書の希釈方法の手順に従い、オキシグルタチオン溶液 20 mL を希釈液 480 mL で希釈した眼灌流液を用いた。眼灌流液の添付文書上の pH 域（7.2－8.2）の範囲で pH によるアドレナリンの安定性の差異を確認するため、アドレナリン添加眼灌流液に 0.1 M NaOH または 0.1 M HCl を滴下し、pH7.2、7.5、8.0 の 3 種類の薬液を調製した。眼灌流液の pH は DIGITAL pH METERV SERIES HM-30V（東亜ディーケーケー株式会社）を用いて測定した。汎用されている使用法^{52,54}に準じて、希釈直後の眼灌流液 500 mL にアドレナリン注 0.5 mL を混和し、アドレナリン添加眼灌流液（アドレナリン 1.0 µg/mL）とした。これを室温、蛍光灯下で 24 時間後まで保存した。

【Ⅲ-3】 アドレナリン含量の測定⁷⁶⁾

アドレナリン含量の測定には high performance liquid chromatography : HPLC 法を用いて行った。保存したアドレナリン添加眼灌流液を攪拌した後、20 µL をとり試料溶液とした。測定時間は、混和直後 1、2、3、4、5、6、9、12、24 時間とし、安定性試験ガイドライン⁷⁷⁾を参考に各項目 3 回ずつ定量を行い、アドレナリン配合直後を 100%としたときの各時点におけるアドレナリン残存率を求めた。また、亜硫酸水素ナトリウム 0.5（臨床で汎用されているアドレナリン添加眼灌流液中の濃度）、5、50 および 500 µg/mL（アドレナリン注 0.1%に添加されている亜硫酸水素ナトリウムと同じ濃度）を加えたアドレナリン添加眼灌流液を pH 8 に調製した際

の、6 時間後のアドレナリン含量を測定した。同時に外観変化を観察するとともに pH を測定した。

【Ⅲ-4】 HPLC による定量

≪ HPLC 条件 ≫

検出器 : EICOM 電気化学検出器 ECD-700、
カラム : EICOMPAK SC-5ODS ϕ 3.0×150 mm
カラム温度 : 30℃
流速 : 0.5 mL/min
印加電圧 : +0.75 V vs Ag/AgCl
移動相 : MeOH と citrate-acetate buffer (pH 2.8) を 15:85 の比で混合し、sodium octane sulfonate 2 mL、EDTA-2Na 4 mL を加え、それぞれ 4%、0.05%としたものを移動相とした。

【Ⅲ-5】 眼灌流液に添加直後のアドレナリン含量

標準試料としてアドレナリン試薬を 0.1 M HCl で溶解した溶液を使用し、ピーク面積による絶対検量線法で標準線を求めた。次に眼灌流液にアドレナリンを添加し、直後のアドレナリン含有量を調べ、標準線からその低下率を求めた。

【Ⅲ-6】 統計学的処理

実験結果は、平均値±標準偏差 (SD) で表した。2 群間の比較は student's t-test により行い、危険度 5%を有意水準とした。

【本論文の基礎となる原著】

Yuuka Shibata, Yuta Tanaka, Takashi Tomita, Takanori Taogoshi, Yasuhiro Kimura, Taiichiro Chikama, Kenji Kihira : Evaluation of corneal damage caused by iodine preparations using human corneal epithelial cells. *Japanese Journal of Ophthalmology*. **58**, 522–527 (2014)

Yuuka Shibata, Yasuhiro Kimura, Takanori Taogoshi, Hiroaki Matsuo, Kenji Kihira : Stability of Adrenaline in Irrigating Solution for Intraocular Surgery. *Biological & Pharmaceutical Bulletin*. **39(5)**, 879-882 (2016)

Yuuka Shibata, Tomoharu Yokooji, Ryo Itamura, Yumeka Sagara, Takanori Taogoshi, Katsunari Ogawa, Maiko Tanaka, Michihiro Hide, Kenji Kihira, Hiroaki Matsuo : Injury due to extravasation of thiopental and propofol: risks/effects of local cooling/warming in rats. *Biochemistry and Biophysics Reports*. **8**, 207–211 (2016)

【参考文献】

1. Shibata Y, Kawamoto M, Kihira K. The necessity for pharmaceutical education on perioperative care -- considering the activities of operating room pharmacists in relation to types of anesthetic operations involved. *Yakugaku Zasshi*. **135**, 163–167 (2015)
2. Schummer W, Schummer C, Bayer O, Müller A, Bredle D, Karzai W. Extravasation injury in the perioperative setting. *Anesth. Analg.* **100**, 722–727 (2005)
3. 日本がん看護学会. 外来がん化学療法看護ガイドライン. 金原出版株式会社. 東京. 2014. p27
4. Dorr RT. Antidotes to vesicant chemotherapy extravasations. *Blood Rev.* **4**, 41–60 (1990)
5. Sauerland C, Engelking C, Wickham R, Corbi D. Vesicant extravasation (partI) : mechanisms, pathogenesis, and nursing care to reduce risk. *Oncol. Nurs. Forum.* **33**, 1134–1141 (2006)
6. Pérez Fidalgo JA, García Fabregat L, Cervantes A, Margulies A, Vidall C, Roila F; ESMO Guidelines Working Group. Management of chemotherapy extravasation : ESMO-EONS clinical practiceguidelines. *Eur. J. Oncol. Nurs.* **16**, 528–534 (2012)
7. Rose RE, Felix R, Crawford-Sykes A, Venugopal R, Wharfe G, Arscott G. Extravasation injuries. *West. Indian. Med. J.* **57**, 40–47 (2008)
8. Schulmeister L. Extravasation management: clinical update. *Semin. Oncol. Nurs.* **27**, 82–90 (2011)
9. Le A, Patel S. Extravasation of Noncytotoxic Drugs: A Review of the Literature. *Ann. Pharmacother.* **48**, 870–886 (2014)
10. 日本医療機能評価機構.医療事故情報収集等事業 第25回報告書.平成23年6月23日. http://www.med-safe.jp/pdf/report_2011_1_R004.pdf. 2016年12月24日参照
11. 日本医療機能評価機構.医療事故情報収集等事業 第37回報告書.平成26年6月26日 http://www.med-safe.jp/pdf/report_2014_1_R002.pdf.

2016 年 12 月 24 日 参 照

12. Glen JB. Animal studies of the anaesthetic activity of ICI35868. *Br. J. Anaesth.* **52**, 731–742 (1980)
13. Findlay JY. White veins after propofol. *Anaesthesia.* **49**, 838 (1994)
14. Stark RD, Binks SM, Dutka VN, O'Connor KM, Arnstein MJ, Glen JB. A review of the safety and tolerance of propofol ('Diprivan'). *Postgrad. Med. J.* **61**, 152–156 (1985)
15. Riley RH, Westhoff GP. Extravasation of propofol. *Anaesth. Intensive. Care.* **21**, 720–721 (1993)
16. Abdelmalak BB, Bashour CA, Yared JP. Skin infection and necrosis after subcutaneous infiltration of propofol in the intensive care unit. *Can. J. Anaesth.* **55**, 471–473 (2008)
17. Basak P, Poste J, Jesmajian S. Propofol extravasation and tissue necrosis. *Indian. J. Dermatol.* **57**, 78–79 (2012)
18. Sharma R, Yoshikawa H, Abisaab J. Chemical burn secondary to propofol extravasation. *West. J. Emerg. Med.* **13**, 121–122 (2012)
19. Jacobson JO, Polovich M, McNiff KK, LeFebvre KB, Cummings C, Galioto M, Bonelli KR, McCorkle MR; American Society of Clinical Oncology; Oncology Nursing Society., American Society of Clinical Oncology/Oncology Nursing Society chemotherapy administration safety standards. *Oncol.Nurs.Forum.* **36**, 651–658 (2009)
20. Mader I, Fürst-Weger PR, Mader RM, Nogler-Semenitz E, Wassertheurer S. Extravasation of cytotoxic agents. 2nd edition. Springer. New York. 2009
21. Mao CC, Hsieh YC, Hseu SS, Tsai SK, Lee TY. EMLA cream and lidocaine local injection in the treatment of extravenous thiopental injection--a case report. *Acta. Anaesthesiol. Sin.* **35**, 103–106 (1997)
22. Huijbers EJ, Baars JW, Schutte PF, Schellens JH, Beijnen JH. Propofol extravasation in a breast cancer patient. *J. Oncol. Pharm. Pract.* **14**, 195–198 (2008)
23. Klement W, Arndt JO. Pain on injection of propofol : effects of

- concentration and diluent. *Br. J. Anaesth.* **67**, 281–284 (1991)
24. Lilley EM, Isert PR, Carasso ML, Kennedy RA. The effect of the addition of lignocaine on propofol emulsion stability. *Anaesthesia.* **51**, 815–818 (1996)
25. Roth W, Eschertzhuber S, Gardetto A, Keller C. Extravasation of propofol is associated with tissue necrosis in small children. *Paediatr. Anaesth.* **16**, 887–889 (2006)
26. Kähler KC, Mustroph D, Hauschild A. Current recommendations for prevention and therapy of extravasation reactions in dermatology. *J. Dtsch. Dermatol. Ges.* **7**, 21–28 (2009)
27. LeBlanc JM, Lalonde D, Cameron K, Mowatt JA. Tissue necrosis after propofol extravasation. *Intensive. Care. Med.* **40**, 129–130 (2014)
28. Tokumine J, Sugahara K, Tomori T, Nagasawa Y, Takaesu Y, Hokama A. Tissue necrosis caused by extravasated propofol. *J. Anesth.* **16**, 358–359 (2002)
29. Kreidieh FY, Moukadem HA, El Saghir NS. Overview, prevention and management of chemotherapy extravasation. *World. J. Clin. Oncol.* **7**, 87–97 (2016)
30. Dorr RT, Alberts DS. Vinca alkaloid skin toxicity: antidote and drug disposition studies in the mouse. *J. Natl. Cancer. Inst.* **74**, 113–120 (1985)
31. Reynolds PM, MacLaren R, Mueller SW, Fish DN, Kiser TH. Management of extravasation injuries: a focused evaluation of noncytotoxic medications. *Pharmacotherapy.* **34**, 617–632 (2014)
32. Bleakley CM, O'Connor S, Tully MA, Rocke LG, Macauley DC, McDonough SM. The PRICE study (protection rest ice compression elevation): design of a randomized controlled trial comparing standard versus cryokinetic ice applications in the management of acute ankle sprain [ISRCTN13903946]. *BMC Musculoskelet. Disord.* **8**, 125 (2007)
33. Hubbard TJ, Denegar CR. Does cryotherapy improve outcomes with soft tissue injury? *J. Athl. Train.* **39**, 278–279 (2004)

34. Oyama N. Cold protection and heat enhancement of doxorubicin skin toxicity in the mouse. Yamagata University Graduate School of medical science's doctoral thesis. Yamagata University Graduate School of medical science. 2012.
35. Gavva NR, Bannon AW, Hovland DN Jr, Lehto SG, Klionsky L, Surapaneni S, Immke DC, Henley C, Arik L, Bak A, Davis J, Ernst N, Hever G, Kuang R, Shi L, Tamir R, Wang J, Wang W, Zajic G, Zhu D, Norman MH, Louis JC, Magal E, Treanor JJ. Repeated administration of vanilloid receptor TRPV1 antagonists attenuates hyperthermia elicited by TRPV1 blockade. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **323**, 128–137 (2007)
36. Bratzler DW, Dellinger EP, Olsen KM, Perl TM, Auwaerter PG, Bolon MK, Fish DN, Napolitano LM, Sawyer RG, Slain D, Steinberg JP, Weinstein RA; American Society of Health-System Pharmacists (ASHP).; Infectious Diseases Society of America (IDSA).; Surgical Infection Society (SIS).; Society for Healthcare Epidemiology of America (SHEA). Clinical practice guidelines for antimicrobial prophylaxis in surgery. *Am. J. Health-Syst. Pharm.* **70**, 233–237 (2013)
37. Ciulla TA, Starr MB, Masket S. Bacterial endophthalmitis prophylaxis for cataract surgery. An evidence-based update. *Ophthalmology.* **109**, 13–24 (2002)
38. Meiji Seika ファルマ株式会社.イソジン®液 10%インタビューフォーム. 2014年
39. Inoue Y, Usui M, Ohashi Y, Shiota H, Yamazaki T. For the preoperative disinfection study group. Preoperative disinfection of the conjunctival sac with antibiotics and iodine compounds: a prospective randomized multicenter study. *Jpn. J. ophthalmol.* **52**, 151–161 (2008)
40. Ikuno Y, Sawa M, Tsujikawa M, Gomi F, Maeda N, Nishida K. Effectiveness of 1.25% povidone-iodine combined with topical levofloxacin against conjunctival flora in intravitreal injection. *Jpn. J. Ophthalmol.* **56**, 497–501 (2012)
41. Inagaki K, Yamaguchi T, Ohde S, Deshpande GA, Kakinoki K, Ohkoshi K. Bacterial culture after three sterilization methods for cataract surgery. *Jpn. J. Ophthalmol.* **57**, 74–79 (2013)

42. Tokuda N, Aoyama Y, Inoue J, Ueno S. Anti-Glaucoma Eyedrops-Induced Corneal Epitheliopathy. *St. Marianna. Medical Journal*. **32**, 339–356 (2004)
43. Edelhauser HF, Hanneken AM, Pederson HJ, Van Horn DL. Osmotic tolerance of rabbit and human corneal endothelium. *Arch. Ophthalmol.* **99**, 1281–1287 (1981)
44. 社団法人日本眼科医会監修. 点眼剤の適正使用ハンドブック－Q&A－. 一般社団法人くすりの適正使用協議会. 東京. 2011. p4.
45. Iwasawa A, Nakamura Y. Anti microbacterial effects and cytotoxicity of povidone-iodine preparation: influence of additional surfactant. *Jpn. J. Environ. Infect.* **16**, 179–183 (2001)
46. 井上嘉幸. 界面活性剤. 防菌防黴ハンドブック. 日本防菌防黴学会編. 技報堂出版. 東京. 1997. p506–517.
47. Gonnering R, Edelhauser HF, Van Horn DL, Durant W. The pH tolerance of rabbit and human corneal endothelium. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* **18**, 373–390 (1979)
48. Wille H. Assesment of possible toxic effects of polyvinyl-pyrrolidone-iodine upon the human eye in conjunction with cataract extraction. An endothelial specular microscope study. *Acta. Ophthalmol.* **60**, 955–960 (1982)
49. Grob SR, Gonzalez-Gonzalez LA, Daly MK. Management of mydriasis and pain in cataract and intraocular lens surgery: review of current medications and future directions. *Clin. Ophthalmol.* **8**, 1281–1289 (2014)
50. Solomon KD, Turkalj JW, Whiteside SB, Stewart JA, Apple DJ. Topical 0.5% ketorolac versus 0.03% flurbiprofen for inhibition of miosis during cataract surgery. *Arch. Ophthalmol.* **115**, 1119–1122 (1997)
51. Oomijiya T, Matsumura S, Aragaki H, Miyara N, Hayakawa K, Yamakawa R, Nagataki S. Antimiotic effect of epinephrine in the irrigating solution during cataract surgery. *Clin. Ophthalmol.* **48**, 1837–1840 (1994)
52. Corbett MC, Richards AB. Intraocular adrenalin maintains mydriasis

- during cataract surgery. *Br. J. Ophthalmol.* **78**, 95–98 (1994)
53. Behndig A, Korobelnik JF. Mydriatic insert and intracameral injections compared with mydriatic eyedrops in cataract surgery: controlled studies. *J. Cataract. Refract. Surg.* **41**, 1503–1519 (2015)
54. Lundberg B, Behndig A. Intracameral mydriatics in phacoemulsification surgery obviate the need for epinephrine irrigation. *Acta. Ophthalmol. Scand.* **85**, 546–551 (2007)
55. 百瀬皓、笠原淳弘、小島智恵子. 数種の眼内用剤の比較. 眼科臨床医報. **78**, 68–73 (1984)
56. Morgado G, Barros P, Martins J, Lima A, Martins N. Comparative study of mydriasis in cataract surgery: topical *versus* mydriases *versus* intracameral mydriasis in cataract surgery. *Eur. J. Ophthalmol.* **20**, 989–993 (2010)
57. 早川和久. 水晶体計画的囊外摘出術におけるアドレナリン灌流液の縮瞳抑制効果について. 眼科臨床医報. **80**, 1925–1928 (1986)
58. 丸岩太. 硝子体手術による網膜. 視神経障害眼科. **42**, 55–61 (2000)
59. Zaczek A, Zetterström C. Cataract surgery and pupil size in patients with diabetes mellitus. *Acta. Ophthalmol. Scand.* **75**, 429–432 (1997)
60. Edelhauser HF, Hyndiuk RA, Zeeb A, Schultz RO. Corneal edema and the intraocular use of epinephrine. *Am. J. Ophthalmol.* **93**, 327–333 (1982)
61. Myers WG, Shugar JK. Optimizing the intracameral dilation regimen for cataract surgery: prospective randomized comparison of 2 solutions. *J. Cataract. Refract. Surg.* **35**, 273–276 (2009)
62. Vidal-Ollivier E, Schwadrohn G, Maillard C, Balansard G, Ollivier B. Assay for epinephrine and its impurities using reversed-phase high-performance liquid chromatography. *J. Chromatogr.* **396**, 421–424 (1987)
63. Gardella LA, Zaroslinski JF, Possley LH. Intropin (dopamine hydrochloride) intravenous admixture compatibility. part 1: stability with common intravenous fluids. *Am. J. Hosp. Pharm.* **32**, 575–578 (1975)

64. 第一三共株式会社. ボスミン®注 1mg インタビューフォーム. 2016 年
65. Dorr RT, Snead K, Liddil JD. Skin ulceration potential of paclitaxel in a mouse skin model in vivo. *Cancer*. **78**, 152–156 (1996)
66. Bertelli G, Dini D, Forno G, Gozza A, Venturini M, Ballella G, Rosso R. Dimethylsulphoxide and cooling after extravasation of antitumour agents. *Lancet*. **341**, 1098–1099 (1993)
67. Hannon MG, Lee SK. Extravasation injuries. *J. Hand. Surg. Am.* **36**, 2060–2065 (2011)
68. Nagai N, Murao T, Oe K, Ito Y, Okamoto N, Shimomura S. In vitro evaluation for corneal damages by anti-glaucoma combination eye drops using human corneal epithelial cell (HCE-T). *Yakugaku Zasshi*. **131**, 985–991 (2011)
69. Araki-Sasaki K, Ohashi Y, Sasabe T, Hayashi K, Watanabe H, Tano Y, Handa H. An SV40-immortalized human corneal epithelial cell line and its characterization. *Invest. Ophthalmol. Visual. Sci.* **36**, 614–621 (1995)
70. Yamasaki K, Kawasaki S, Young RD, Fukuoka H, Tanioka H, Nakatsukasa M, Quantock AJ, Kinoshita S. Genomic aberrations and cellular heterogeneity in SV40-immortalized human corneal epithelial cells. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* **50**, 604–613 (2009)
71. Toropainen E, Ranta VP, Talvitie A, Suhonen P, Urtti A. Culture model of human corneal epithelium for prediction of ocular drug absorption. *Invest. Ophthalmol. Visual. Sci.* **42**, 2942–2948 (2001)
72. Taliana L, Evans MD, Dimitrijevic SD, Steele JG. The influence of stromal contraction in a wound model system on corneal epithelial stratification. *Invest. Ophthalmol. Visual. Sci.* **42**, 81–89 (2001)
73. Ishiyama M, Miyazono Y, Sasamoto K, Ohkura Y, Ueno K. A highly water-soluble disulfonated tetrazolium salt as a chromogenic indicator for NADH as well as cell viability. *Talanta*. **44**, 1299–1305 (1997)
74. Isenberg SJ, Apt L, Campeas D. Ocular applications of povidoneiodine.

Dermatology. **204**, 92–95 (2002)

75. Iwasawa A, Nakamura Y. Cytotoxic effect and influence of povidone-iodine on wounds in guinea pig. *Kansenshogaku zasshi*. **77**, 948–956 (2003)
76. Hoellein L, Holzgrabe U. Ficts and facts of epinephrine and norepinephrine stability in injectable solutions. *Int. J. Pharm.* **434**, 468–480 (2012)
77. 厚生労働省医薬局審査管理課長.安定性試験ガイドライン.医薬審発第0603001号通知平成15年6月3日
<https://www.pmda.go.jp/files/000156844.pdf>. 2016年12月24日参照

【謝辞】

終わりに臨み、本研究の機会をいただき、終始御懇篤なるご指導、ご鞭撻を賜り、支えてくださった恩師、広島大学医歯薬保健学研究科 松尾裕彰 教授をはじめ、木平健治 広島大学名誉教授、安田女子大学薬学部 木村康浩 教授、広島大学医歯薬保健学研究科 横大路智治 准教授に謹んで感謝の意を表します。

本論文の作成にあたり、有益なるご指導、ご助言を賜りました広島大学医歯薬保健学研究科 高野幹久 教授、小澤孝一郎 教授、森川則文 教授、湯元良子 准教授、埴越崇範 助教に深謝いたします。

本研究を行うに際し、有益なるご助言を賜りました広島大学大学院医歯薬保健学研究科 皮膚科学 秀道広 教授、広島大学大学院医歯薬保健学研究科 視覚病態学 近間泰一郎 准教授、広島大学大学院医歯薬保健学研究科 皮膚科学 田中麻衣子 助教、広島大学病院 病理診断科 小川勝成先生、広島大学病院薬剤部 富田隆志先生、広島大学大学院医歯薬保健学研究科 皮膚科学 石井香研究員に深謝いたします。

本研究の遂行にあたり数多くのご協力を戴いた田中雄太修士、板村亮学士、相良夢香さんをはじめ、広島大学薬学部の皆様、同研究室卒業生の皆様、広島大学病院薬剤部職員の皆様に厚く御礼申し上げます。

最後に、大学院生活を支え続けてくれた家族に、心よりの感謝を表します。

2017年3月
広島大学大学院医歯薬保健学研究科博士課程
薬学専攻病院薬剤学講座
紫田ゆうか