

新規 Ca²⁺拮抗薬・塩酸イガニジピン点眼の 家兎視神経乳頭循環に及ぼす影響

和気 充典¹⁾, 杉山 哲也²⁾, 渡辺 則子¹⁾, 小河 貴裕¹⁾, 白波瀬弘明³⁾, 東 郁郎²⁾

¹⁾千寿製薬株式会社コーベクリエティブセンター新薬研究所, ²⁾大阪医科大学眼科学教室, ³⁾京都薬品工業株式会社研究所

要 約

目 的：新規 Ca²⁺拮抗薬・塩酸イガニジピン水性点眼薬の家兎視神経乳頭血流量および眼圧, 血圧に及ぼす影響を検討した。

方 法：①家兎正常眼にイガニジピン(0.1%)液を 20 μl 点眼し, 視神経乳頭血流量の変化を水素ガスクリアランス法により測定した。②エンドセリン-1 硝子体内注入による眼循環障害モデルを作製し, 注入前または後にイガニジピン(0.0001~0.1%)液を点眼し, 視神経乳頭血流量の変化を測定した。③イガニジピン(0.1%)液点眼後の眼圧, 血圧の変化を測定した。いずれの実験も対照眼を対照とし, 生理食塩液を点眼した。

結 果：①イガニジピン点眼により視神経乳頭血

量は対照眼に比べ点眼 45 分後に最大約 40% 増加した。②眼循環障害モデルにおいて, 0.01, 0.1% 液の前投与は視神経乳頭血流量減少を完全に抑制し, 0.1% 液の後投与はその減少を正常化した。これらの作用は持続的であった。③0.1% 液点眼は眼圧や血圧を変化させなかった。

結 論：イガニジピン点眼により正常家兎および眼循環障害モデルの視神経乳頭血流量を持続的に増加・維持させることが示された。(日眼会誌 104:541—546, 2000)

キーワード：塩酸イガニジピン, Ca²⁺拮抗薬, 点眼, 視神経乳頭血流量, エンドセリン-1

Effect of Topically Applied Iganidipine Dihydrochloride, a Novel Ca²⁺ Antagonist, on Optic Nerve Head Circulation in Rabbits

Mitsunori Waki¹⁾, Tetsuya Sugiyama²⁾, Noriko Watanabe¹⁾, Takahiro Ogawa¹⁾,
Hiroaki Shirahase³⁾ and Ikuo Azuma²⁾

¹⁾Research Laboratories, Senju Pharmaceutical Co. LTD. ²⁾Department of Ophthalmology, Osaka Medical College

³⁾Research Laboratories, Kyoto Pharmaceutical Industries, LTD.

Abstract

Purpose : We studied the effect of topically applied iganidipine dihydrochloride, a novel water-soluble calcium channel blocker on the blood flow of optic nerve head (ONH), intraocular pressure, and blood pressure in rabbits.

Methods : ① 0.1% iganidipine (20 μl) was instilled into a normal eye. The change in blood flow in the ONH was measured using a hydrogen gas clearance flowmeter. ② Iganidipine (0.0001% ~ 0.1%) was instilled into a circulation-disordered eye before or after the intravitreal injection of endothelin-1, and change in the blood flow in the ONH was measured. ③ Changes in intraocular pressure and blood pressure after instillation of 0.1% iganidipine were measured. In all experiments, physiological saline was instilled in each contralateral eye as a control.

Results : ① Instillation of iganidipine significantly increased the blood flow in the ONH by 40%

at 45 minutes after instillation. ② Pre-instillation of 0.01 and 0.1% iganidipine almost completely inhibited the decrease of blood flow in the ONH in the circulation-disordered model. The decrease of blood flow in the ONH was corrected with post-instillation of 0.1% iganidipine. These effects were continuous. ③ Instillation of 0.1% iganidipine did not change either intraocular pressure or blood pressure.

Conclusion : It was shown that instillation of iganidipine continuously increased and maintained the blood flow in the ONH in normal and circulation-disordered rabbit eye models. (J Jpn Ophthalmol Soc 104 : 541—546, 2000)

Key words : Iganidipine dihydrochloride, Calcium channel blocker, Instillation, Blood flow of optic nerve head, Endothelin-1

別刷請求先：651-2241 神戸市西区室谷1-5-4 千寿製薬株式会社コーベクリエティブセンター新薬研究所 和気 充典 (平成 11 年 7 月 21 日受付, 平成 12 年 2 月 29 日改訂受理)

Reprint requests to: Mitsunori Waki Research Laboratories, Senju Pharmaceutical Co, LTD. 1-5-4 Murotani, Nishi-ku, Kobe 651-2241, Japan

(Received July 21, 1999 and accepted in revised form February 29, 2000)

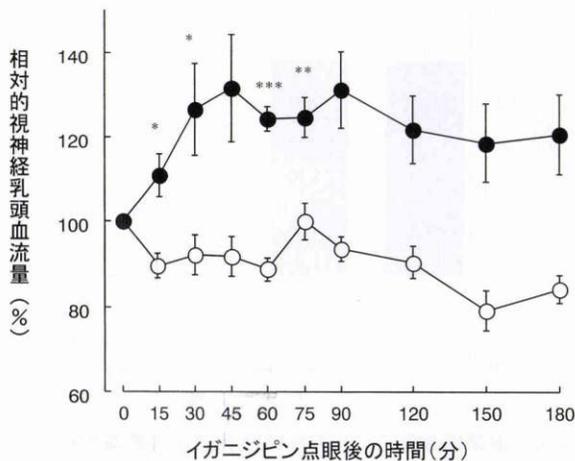


図2 イガニジピン点眼による視神経乳頭血流量の変化(正常眼)。

●: イガニジピン点眼眼, ○: 対照眼。値は平均値±標準誤差 (n=6) を示す。

対照眼に対する有意差: *: p<0.05, **: p<0.01, ***: p<0.001

食塩液(対照眼)を点眼した。血流量の測定は1)項と同様に行い、イガニジピン点眼前、点眼30,60分(ET-1注入直前)後、その後は30分間隔でET-1注入180分後まで行った。血流量減少に対する薬剤の抑制効果を総合的に評価するために各個体のイガニジピン点眼眼および対照眼についてET-1注入時点の血流量を100%とし、その時点から注入180分後までの時間—曲線上面積を台形公式から求め、計算式: $(1 - \text{イガニジピン点眼眼の面積} / \text{対照眼の面積}) \times 100$ から抑制率(%)を求めた。

3) 眼循環障害モデルに対する作用(後投与)

家兎6匹を用いた。ET-1の注入は2)項と同様に行った。ET-1注入30分後に、両眼の視神経乳頭血流量が同程度減少しているのを確認後、0.1%イガニジピン溶液は片眼に20 μ l点眼し、反対眼には生理食塩液(対照眼)を同様に点眼した。血流量の測定は1)項と同様に行い、ET-1注入前、注入30分後(イガニジピン点眼直前)、その後は30分間隔でイガニジピン点眼210分後まで行った。

実験2: 眼圧に対する影響

家兎8匹を用いた。眼圧の測定は0.04%塩酸オキシブプロカイン(アネロカール®, 千寿)点眼麻酔下でAlcon Applanation Pneumatograph®を用いて測定した。点眼は、片眼に0.1%イガニジピン溶液を、反対眼に生理食塩液をそれぞれ20 μ lずつ行った。眼圧の測定は、イガニジピン点眼前、点眼30分、1,2および4時間後に行った。

実験3: 血圧に対する影響

家兎6匹を用いた。血圧はウレタン麻酔下で家兎の耳動脈に24G留置針(テルモ)を留置し、圧トランスデューサー(TP 200 T, 日本光電)を接続した血圧計(AP-641 G, 日本光電)で測定した。点眼は片眼に0.1%イガニジピ

ン溶液を、反対眼に生理食塩液をそれぞれ20 μ lずつ点眼した。血圧の測定はイガニジピン点眼前、点眼後1時間までは15分間隔で、それ以降は1時間間隔で点眼3時間後まで行った。

4. 統計処理

視神経乳頭血流量については対照眼に対する有意差検定を、眼圧および血圧については初期値に対する有意差検定をBonferroniの方法で多重性を補正したpaired t-testにより行い、危険率5%未満を有意差ありとした。

III 結果

実験1: 視神経乳頭血流量に対する作用

1) 正常眼視神経乳頭血流量に対する作用

イガニジピン点眼眼および対照眼の視神経乳頭血流量の初期値(ml/min/100g, 平均値±標準誤差, n=6)はそれぞれ38.3±7.3および38.6±2.9で、両眼の間に有意差はなかった。0.1%溶液イガニジピン点眼眼の視神経乳頭血流量は点眼15分後から対照眼に対して有意に増加し、45分後には最大39.9%増加した。点眼180分後でも視神経乳頭血流量の増加は持続していた(図2)。

2) 眼循環障害モデルに対する作用(前投与)

イガニジピン点眼眼および対照眼の血流量の初期値は0.1%溶液群(n=7)で46.1±3.8および46.6±4.0, 0.01%溶液群(n=6)で58.2±5.7および60.2±7.0, 0.001%溶液群(n=6)で60.7±8.2および82.7±14.3, 0.0001%溶液群(n=6)で53.9±4.5および48.8±4.6であった。各群の両眼の視神経乳頭血流量の間に有意差はなかった。

対照眼では視神経乳頭血流量はET-1注入30分後には初期値から各試験で平均約20%減少し、その後、徐々に減少した。ET-1注入180分後には約34%の最大減少を示した。0.1%溶液点眼眼において、点眼30分後からET-1注入直前の60分後にかけて視神経乳頭血流量は対照眼と比較して有意に増加した。ET-1を注入後も180分までいずれの測定時点においても初期値を下回ることではなく、0.1%溶液点眼眼は視神経乳頭血流量の減少を抑制した(図3)。0.01%溶液点眼眼では、点眼60分後まで対照眼と比較して有意な視神経乳頭血流量の増加はなかった。ET-1注入後180分まで視神経乳頭血流量は0.1%点眼と同様にいずれの測定時点においても大きく初期値を下回ることではなく、ET-1による視神経乳頭血流量の減少を抑制した(図4)。0.001%溶液点眼眼では、点眼60分後まで対照眼と比較して有意な視神経乳頭血流量の増加はなかった。ET-1を注入後180分までいずれの時点においても点眼眼の視神経乳頭血流量は対照眼の血流量よりも高い値を示したが、その減少抑制効果は有意ではなかった。0.0001%溶液点眼眼では、点眼60分後まで対照眼と比較して視神経乳頭血流量の増加がなく、ET-1注入以降も視神経乳頭血流量の変化は対照眼

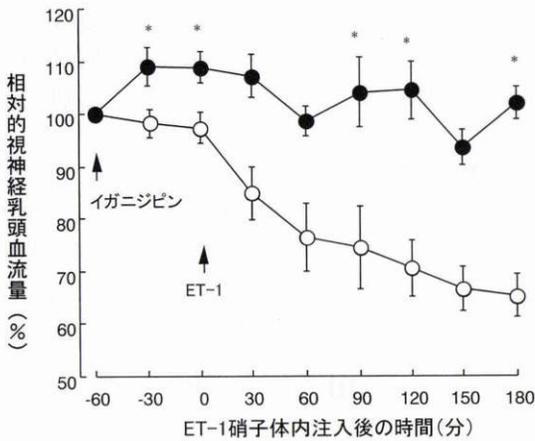


図3 眼循環障害モデルの視神経乳頭血流量減少に対する0.1%イガニジピン溶液点眼の影響(前投与)。
●：イガニジピン点眼眼，○：対照眼。値は平均値±標準誤差(n=7)を示す。
対照眼に対する有意差：*：p<0.05 ET-1：エンドセリン-1

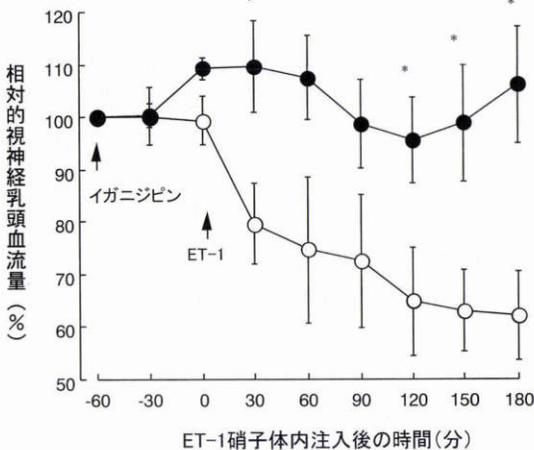


図4 眼循環障害モデルの視神経乳頭血流量減少に対する0.01%イガニジピン溶液点眼の影響(前投与)。
●：イガニジピン点眼眼，○：対照眼。値は平均値±標準誤差(n=6)を示す。
対照眼に対する有意差：*：p<0.05

と同様であった。対照眼の視神経乳頭血流量減少に対するイガニジピン前投与眼の抑制率(平均値±標準誤差)は、0.1%溶液で120.3±20.0%，0.01%溶液で121.2±27.9%，0.001%溶液で14.9±19.9%および0.0001%溶液で-13.1±10.2%であった(図5)。

3)眼循環障害モデルに対する作用(後投与)

イガニジピン後投与眼および対照眼の視神経乳頭血流量の初期値は、42.7±2.3および46.7±5.7でイガニジピン点眼眼と対照眼の間に有意差はなかった。ET-1を両眼に注入すると、視神経乳頭血流量は注入30分後に両眼ともに注入前の値より約29%減少した。この時点で点眼を行って以降、対照眼においては点眼60分後には

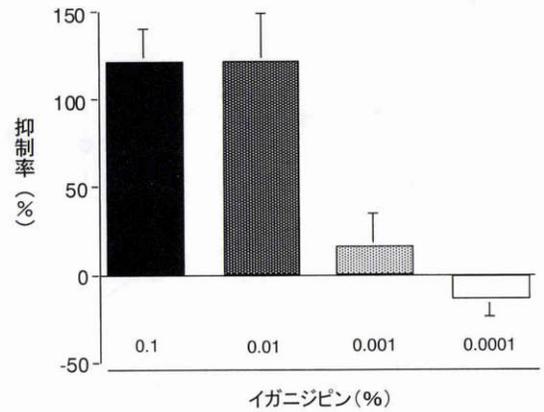


図5 眼循環障害モデルの視神経乳頭血流量減少に対するイガニジピン溶液点眼の抑制効果(前投与)。
値は平均値±標準誤差(n=6~7)を示す。

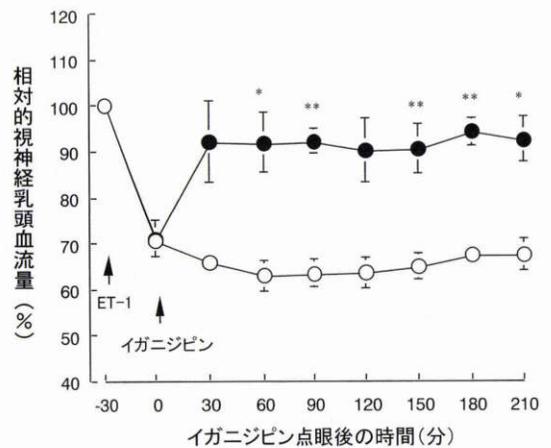


図6 眼循環障害モデルの視神経乳頭血流量減少後の0.1%イガニジピン溶液点眼の影響(後投与)。
●：イガニジピン点眼眼，○：対照眼。値は平均値±標準誤差(n=6)を示す。
対照眼に対する有意差：*：p<0.05，**：p<0.01

37.0%の最大減少を示し、点眼210分後でも減少は持続していた。0.1%イガニジピン溶液点眼においては、点眼30分後にはET-1により減少した血流量がほぼ元の状態に戻った。その作用は点眼210分後まで持続した(図6)。

実験2：眼圧に対する影響

初期値27.3±1.0の眼圧(mmHg, 平均値±標準誤差, n=8)に対し、0.1%イガニジピン点眼後30分, 1, 2および4時間の眼圧値は27.4±1.0, 27.4±0.8, 27.8±0.6および26.4±1.0であり、いずれの時点の眼圧も初期値とほぼ同じであった。

実験3：イガニジピン点眼の血圧に対する影響

初期値92.9±4.6の血圧(n=6)に対し、0.1%イガニジピン点眼後15, 30, 45分および1, 2および3時間の平均血圧は96.7±6.1, 91.4±4.7, 90.9±4.4, 90.9±4.8, 93.4±4.0および96.5±6.2であり、いずれの時点の平均血

圧も初期値とほぼ同じであった。

IV 考 按

新規 Ca^{2+} 拮抗薬イガニジピン点眼の家兎正常眼視神経乳頭血流量および眼循環障害モデルの視神経乳頭血流量減少に対する作用を検討した。実験動物として視神経乳頭の血管構築がよく解明されており¹⁸⁾、取り扱いやすい家兎を用いた。血流量測定法としては広く汎用されている水素クリアランス法^{19)~23)}を用いた。

正常眼において生理食塩水を点眼した対照眼では軽度視神経乳頭血流量が減少したが、これは、おそらく全身麻酔をはじめとする何らかの因子の影響によると考えられた。イガニジピン溶液は点眼により視神経乳頭血流量を有意に増加させた。これは、イガニジピンはイヌ摘出脳動脈、冠動脈、腸間膜動脈および腎動脈において Ca^{2+} 拮抗作用による強力な弛緩作用を示し¹⁵⁾、正常血圧ラットでは脳、褐色脂肪組織、小腸、大腸および皮膚血流量を増加させる²⁴⁾ことが報告されていることから、イガニジピンは他の組織と同様に視神経乳頭の血管組織に対しても強力に血管拡張作用を示し、血流量を増加させたと考えられる。

イガニジピンは点眼により血圧および眼圧を変化させなかった。視神経乳頭血流量の調節には自動調節機構が存在する²²⁾²⁵⁾にもかかわらずイガニジピン点眼が正常眼視神経乳頭血流量を増加させたのは、イガニジピンの物理学的性質によるものと考えられる。すなわち、イガニジピンは生理的 pH で 91% が解離し、親水基であるピペラジニル基をもつため極めて水溶性が高い一方、ネオペンチル基やアシル基などの親油基をもつため、分子状の脂溶性も高いため組織浸透性が高く、点眼したイガニジピンが速やかに眼内に移行した結果と考えられる。

ET-1 は血管平滑筋細胞膜の ET-1 受容体と結合して受容体を活性化し、その結果、 Ca^{2+} チャンネルを介する Ca^{2+} の流入の促進と筋小胞体からの Ca^{2+} 放出が促進され、細胞内 Ca^{2+} 濃度が上昇することで、ミオシン軽鎖キナーゼが活性化して筋収縮を惹起する²⁶⁾。そして、血管平滑筋が収縮することで血管径が狭くなり血流量が減少する。緑内障においても眼血流量の減少が病因に関与しており¹⁾²⁾⁴⁾⁵⁾²⁷⁾²⁸⁾、特に正常眼圧緑内障において血流を減少させる血管収縮物質として ET-1 が想定されている⁴⁾⁵⁾。そこで、ET-1 を硝子体内に注入することにより持続的な視神経乳頭血流量の減少を惹起し、イガニジピンの点眼による効果を検討したところ、イガニジピン点眼は ET-1 による視神経乳頭血流量の減少を用量依存的に抑制し、0.01% 以上の濃度ではほぼ完全に抑制することが明らかとなった。イガニジピンは ET-1 により収縮させたイヌ摘出腸間膜動脈標本を IC_{50} 値 $5 \times 10^{-10} \text{M}$ で弛緩させ¹⁵⁾、正常血圧ラットの ET-1 による肺・腎臓・褐色脂肪組織および筋肉の血流量減少を阻止し²⁴⁾、これらは

イガニジピンが血管平滑筋細胞膜上の電位依存性 Ca^{2+} チャンネルを遮断することにより、ET-1 による Ca^{2+} チャンネルを介する細胞外からの Ca^{2+} 流入を抑制¹⁵⁾したことによると報告されている。したがって、点眼したイガニジピンが視神経乳頭の ET-1 による血流量の減少を抑制したのは他の組織同様、点眼したイガニジピンがターゲット組織である視神経乳頭部に移行し、ET-1 によって活性化された視神経乳頭血管平滑筋の Ca^{2+} チャンネルを遮断したことによると考えられる。

眼循環障害モデルの血流量が約 30% 減少した後イガニジピンを点眼した場合、血流量は速やかに回復し、その効果は長時間持続した。これは、血流量が減少している病的な状態でもイガニジピン点眼により血流量が増加し得ることが考えられる。特に、緑内障を含む眼血流量減少を生じ得る眼疾患における治療効果を期待できる結果として興味深い。

イガニジピンは前投与においても後投与においても視神経乳頭の血流量減少を持続的に抑制した。イガニジピンは自然発症高血圧ラットにおいて単回静脈内投与で血圧を 4~7 時間にわたり持続的に血圧を低下させることが報告²⁹⁾されている。また、イヌ摘出腸間膜動脈においてイガニジピンの血管壁中濃度はメディウム中濃度の 20 倍以上に達し、反復洗浄しても血管壁中からの薬物の消失は遅く、また血管に対する作用時間も長く¹⁵⁾、これはイガニジピンは Ca^{2+} チャンネルとの結合の解離が遅いためと推察されている。以上のことから、イガニジピンの作用が持続的であったのは、視神経乳頭血管平滑筋においても同様に、イガニジピンの Ca^{2+} チャンネル特異的結合の解離が遅いためと考えられた。

以上の結果から、イガニジピンは点眼により、視神経乳頭血管平滑筋の L 型 Ca^{2+} チャンネルに結合して血管を拡張させ、強力で持続的な視神経乳頭血流量増加作用を示したと考えられ、正常眼圧緑内障を含めて循環障害が関与していると考えられる眼疾患に対する有用性が期待できる。

文 献

- 1) 山上淳吉, 白土城照, 山本哲也: 低眼圧緑内障. 東郁郎(編): 眼科 Mook 40 緑内障の治療ガイド. 金原出版, 東京, 129-135, 1989.
- 2) 伊藤美樹, 関谷善文, 溝上国義: 低眼圧緑内障(LTG)における循環障害について. 神眼 8:278-285, 1991.
- 3) Yanagisawa M, Kurihara H, Kimura S, Tomoe Y, Kobayashi M, Mitsui Y, et al: A novel potent vasoconstrictor peptide by vascular endothelial cells. Nature 332: 441-415, 1988.
- 4) 守屋伸一, 杉山哲也, 清水一弘, 濱田 潤, 徳岡 覚, 東 郁郎: 低眼圧緑内障とエンドセリン(ET-1). 眼紀 43: 554-559, 1992.
- 5) Cellini M, Possati GL, Profazio V, Sbrocca M, Caramazza N, Caramazza R: Color Doppler ima-

- ging and plasma levels of endothelin-1 in low-tension glaucoma. *Acta Ophthalmol Scand Suppl* 224: 11-13, 1997.
- 6) 坂上 欧, 桐生純一, 竹内 篤, 山本文昭, 本田孔士: エンドセリンの網膜血管に対する収縮作用. *日眼会誌* 96: 469-472, 1992.
 - 7) 佐藤 剛, 武井一夫, 野々山智仁, 宮内 卓, 後藤勝年, 本村幸子: エンドセリン-1の家兎網膜血管に対する収縮作用. *日眼会誌* 97: 683-689, 1993.
 - 8) Sugiyama T, Moriya S, Oku H, Azuma I: Association of endothelin-1 with normal tension glaucoma: Clinical and fundamental studies. *Surv Ophthalmol* 39(Suppl 1): S 49-56, 1995.
 - 9) 浪川雄一, 堀内二彦, 高橋寧子: 眼循環の研究—エンドセリンの脈絡膜血流量に与える影響—. *眼紀* 44: 406-410, 1993.
 - 10) 白井久行, 浅野紀美江, 北澤克明, 呉 輔仁: Ca²⁺拮抗薬の低眼圧緑内障視野変化におよぼす影響. *日眼会誌* 92: 792-797, 1988.
 - 11) 三好輝行: 脈絡膜循環に及ぼす nifedipine の影響 第1報. 成熟家兎における脈絡膜血流量の変化. *眼紀* 35: 664-670, 1984.
 - 12) 三好輝行: 脈絡膜循環に及ぼす nifedipine の影響 第2報. 猿眼における脈絡膜血流量の変化. *眼紀* 36: 1571-1575, 1985.
 - 13) 玉置泰裕, 川本英三, 江口秀一郎, 新家 真, 藤居仁: Ca拮抗薬の家兎脈絡膜末梢循環に及ぼす影響—レーザースペックル末梢循環解析機による検討—. *臨眼* 47: 365-368, 1993.
 - 14) 野口 傑, 木村保孝, 新田安紀芳, 清水 良, 小林和夫, 青木孝一, 他: Ca拮抗薬による視神経乳頭組織血流量の変化. *日眼会誌* 96: 967-972, 1992.
 - 15) Kanda M, Shirahase H, Kurahashi K, Wada K, Nakamura S, Matsui H, et al: Effect of the novel water-soluble calcium antagonist (±)-3-(4-allyl-1-piperazinyl)-2,2-dimethylpropyl methyl 1,4-dihydro-2,6-dimethyl-4-(3-nitrophenyl)-3,5-pyridinedicarboxylate dihydrochloride on the responses of isolated canine arteries. *Arzneim-Forsch/Drug Res* 45: 831-835, 1995.
 - 16) 柳沢輝行, 今井順一, 石井邦明, 平 則夫: 新しい水溶性ジヒドロピリジン系カルシウム拮抗薬 NKY-722 の陰性変力作用—ジヒドロピリジン受容部位と他の受容部位—. *薬理と治療* 18: 127-133, 1990.
 - 17) Sugiyama T, Utsumi T, Azuma I, Fujii H: Measurement of optic nerve head circulation: Comparison of laser speckle and hydrogen clearance methods. *Jpn J Ophthalmol* 40: 339-343, 1996.
 - 18) Sugiyama K, Bacon DR, Morrison JC, Van Buskirk EM: Optic nerve head microcirculation of the rabbit eye. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 33: 2251-2261, 1992.
 - 19) Sugiyama T, Azuma I: Effect of UF-021 on optic nerve head circulation in rabbits. *Jpn J Ophthalmol* 39: 124-129, 1995.
 - 20) 仁禮美奈子: 脳循環・代謝改善剤フマル酸プロピンカミンによる白色家兎視神経乳頭部組織血流量の変化. *日眼会誌* 100: 118-125, 1996.
 - 21) 高橋芳香: アロキササン糖尿病白色家兎における視神経乳頭循環. *日眼会誌* 99: 166-172, 1995.
 - 22) 八田史郎: 眼圧が白色家兎視神経乳頭に及ぼす影響. *日眼会誌* 97: 181-189, 1993.
 - 23) Ernest JT: Optic disc blood flow. *Trans Ophthalmol Soc UK* 96: 348-351, 1976.
 - 24) Takahashi H, Nakamura S, Shirahase H, Nishimura M, Nakanishi T, Yoshimura M: Effect of a novel dihydropyridine derivative calcium channel blocker, NKY-722, on regional hemodynamics and its influences on the effect of endothelin in anesthetized rats. *Hypertens Res* 17: 29-34, 1994.
 - 25) Tamaki Y, Araie M, Kawamoto E, Eguchi S, Fujii H: Noncontact, two-dimensional measurement of microcirculation in choroid and optic nerve head using laser speckle phenomenon. *Exp Eye Res* 60: 373-384, 1995.
 - 26) 平田結喜緒: エンドセリンの作用と放出制御に関わる細胞内情報伝達系. *実験医学* 8: 124-131, 1990.
 - 27) Rankin SJ, Walman BE, Buckley AR, Drance SM: Color doppler imaging and spectral analysis of the optic nerve vasculature in glaucoma. *Am J Ophthalmol* 119: 685-693, 1995.
 - 28) Kaiser HJ, Schoetzau A, Stumpf D, Flammer J: Blood-flow velocities of the extraocular vessels in patients with high-tension and normal-tension primary open-angle glaucoma. *Am J Ophthalmol* 123: 320-327, 1997.
 - 29) Wada K, Nakamura S, Morishita S, Kanda M, Matsui H, Fukata F, et al: Antihypertensive effect of the novel water-soluble calcium antagonist (±)-3-(4-allyl-1-piperazinyl)-2,2-dimethylpropyl methyl 1,4-dihydro-2,6-dimethyl-4-(3-nitrophenyl)-3,5-pyridinedicarboxylate dihydrochloride in rats. *Arzneim-Forsch/Drug Res* 44: 1112-1116, 1994.