

前眼部虚血後に発生する角膜新生血管とプロスタグランディンの 関係 (その3) (図6)

山根 淳志・戸倉 敬雄 (関西医科大学眼科学教室)
佐野 貴之・三木 弘彦

The Prostaglandin and the Occurrence of Corneal Edema and Neovascularization in Anterior Segmental Ischemia Induced in Rabbit Eyes

Atsushi Yamane, Takao Tokura, Takayuki Sano
and Hirohiko Miki

Department of Ophthalmology Kansai Medical University

要 約

白色家兎の前部ぶどう膜虚血後に発生する角膜の浮腫と新生血管をステロイド(0.1%ベータメサゾン)と非ステロイド系抗炎症剤(0.1%フルルビプロフェン)で治療して臨床所見の改善性と房水中のPG濃度の変化について調べた。その結果、角膜浮腫はいずれの治療でも改善されたが、角膜新生血管はベータメサゾン点眼だけではあまり抑制されず、フルルビプロフェン点眼ではかなり抑制され、両者の点眼を併用すると最も抑制された。前部ぶどう膜虚血後の房水中のPG濃度の上昇はベータメサゾンの点眼ではほとんど抑制されず無治療のものと同様の高濃度となった。フルルビプロフェン点眼で濃度の上昇がかなり抑制され、両者併用点眼で最も抑制された。ステロイド治療群では角膜浮腫がなくても房水中のPG濃度の上昇により角膜新生血管が発生したことから、PGと血管新生には関連性があり、又、前眼部虚血後の角膜病変の治療には両者の併用が有効であると思われる。(日眼 91:1079-1085, 1987)

キーワード：前部ぶどう膜(前眼部)虚血、ベータメサゾン、フルルビプロフェン、角膜新生血管、プロスタグランディンズ

Abstract

The improvement of corneal lesion and changes of levels of PGs in aqueous humor by instillation of a steroid (0.1% betamethasone) and/or a non-steroidal antiinflammatory agent (0.1% flurbiprofen) were investigated in white rabbits undergoing anterior uveal ischemia. Corneal edema was improved by treatment of either betamethasone or flurbiprofen ophthalmic solutions. Corneal neovascularization was moderately suppressed by flurbiprofen ophthalmic solution but scarcely by betamethasone ophthalmic solution. The combined administration of both ophthalmic solutions was the most effective in suppressing occurrence of corneal edema and neovascularization. Increases of levels of PGs in aqueous humor after anterior uveal ischemia could not be suppressed by betamethasone and were similar to those of the non-treated group. The increases in the levels of PGs were moderately suppressed by flurbiprofen and most effectively by combined administration of both ophthalmic solutions. In the steroid-treated group, the increases in levels of PGs induced corneal neovascularization independently of the presence of corneal edema. From these results, it is considered that PGs in

別刷請求先：570 大阪府守口市文園町1 関西医科大学眼科学教室 山根 淳志

Reprint requests to: Atsushi Yamane, M.D. Dept. of Ophthalmol., Kansai Medical Univ.

1 Fumizono-cho, Moriguchi 570, Japan

(昭和62年6月3日受付) (Accepted June 3, 1987)

aqueous humor may be mainly related to occurrence of corneal neovascularization and that the combined administration of both ophthalmic solutions may be most effective in treating corneal lesions after anterior uveal ischemia. (Acta Soc Ophthalmol Jpn 91: 1079—1085, 1987)

Key words: Anterior uveal (segment) ischemia, Betamethasone, Flurbiprofen, Corneal neovascularization, Prostaglandins

I 緒 言

家兎眼の前部ぶどう膜への血流を途絶すると、その翌日に角膜浮腫が出現して次第に増強し、3日目には拡張蛇行した輪部血管網から角膜内に向かって全周性に新生血管が増殖侵入して来る。この角膜浮腫と角膜新生血管の発生には高濃度に増加した房水中のプロスタグランディン (PG) が関与している事を見つけて、前回 (第89回日眼総会及び第51回日本中部眼科学会) 報告した。

今回は、PG 合成系酵素の作用を阻害する2種類の異なる抗炎症薬であるステロイド剤と非ステロイド系抗炎症剤を投薬し、前部ぶどう膜虚血後の角膜病変の臨床症状及び房水中の PG 濃度の変化について調べ、その効果について比較すると共に内因性 PG が角膜の病態発現にどの様に関与しているのかを考察した。

II 材料と方法

実験動物は成熟白色家兎 (体重1.2~1.8kg) 12羽12眼を用いた。これらを以下の4群に分けて実験を行った。I群; 無治療のコントロール群, II群; 0.1% ベータメサゾン点眼薬 (リンデロン点眼薬®塩野義製薬) 治療群, III群; 0.1% フルビプロフェン点眼薬 (科研製薬) 治療群, IV群; ベータメサゾン及びフルビプロフェン点眼薬の両者で治療した併用群とした。点眼は1日4回とし、処置の1時間前から開始して、その後4日間継続した。尚、IV群の点眼は先ずベータメサゾンを点眼して、5~10分の間隔を開けてフルビプロフェンを点眼した。又、各1回の点眼量はマイクロピペットを用いて50 μ lとした。

ベントバルビタール (ネンブタール®) の耳静脈注入により、全身麻酔をかけた後、鼻側及び耳側の球結膜を切開して、内外側の直筋を出して切断し、その直下の強膜上にある内外両側の長後毛様動脈を露出した。両側の動脈の強膜貫入部位の前方3mmの中枢側と末梢側をバクレンで焼灼凝固し、その中央部で切断して、前部ぶどう膜への血流を完全に途絶させた。切断した

直筋と球結膜は特に縫合せず自然癒着にまかせ、術後、生食水で洗浄して抗生剤の点眼を1回行なった。

処置後、家兎の前眼部を細隙灯顕微鏡で毎日観察し、3日目に前眼部撮影と前眼部蛍光造影を施行した。

処置後各家兎の同一眼に於いてそれぞれ30分目、3日目、7日目に27ゲージ針の注射筒を用いて12時の角膜上で輪部より2mm内側の処で前房穿刺を行ない、一次房水を可能な限り全量採取した。それを直ちに0.1 Mol のリン酸緩衝液で10倍に希釈し、速やかに-80℃ディープフリーザーで氷結させた。後日、Collins と Hennan の方法¹⁾に石油エーテル洗浄法を加えて PG 物質を抽出し、PGE と PGF_{2 α} の濃度をラジオイミューノアッセイ法 (日本トラベノール社 [³H] prostaglandin F_{2 α} radioimmunoassay kit CAT. NO. CA-503) を用いて定量した。

III 結 果

1) 各群の臨床経過

I 群 (無治療群); 処置翌日より角膜浮腫が出現して次第に増強して、3日目には拡張蛇行した輪部毛細血管網から角膜内に向かう新生血管が全周囲より発生し、角膜実質内に増殖侵入し始めた (図 1a)。前眼部蛍光造影を行なうと、角膜新生血管が細網を形成しつつ全周囲より角膜中央に向かって増殖している様子がよくわかる (図 1b)。

II 群 (0.1% ベータメサゾン点眼治療群); 処置翌日より角膜浮腫が発生したが、増強せず軽度のままであった。輪部血管の拡張も中等度に抑制されていたが、角膜内に明らかに新生血管が侵入している症例 (図 2a) を認めた。前眼部蛍光造影では角膜新生血管の存在が更に明白となるが、蛍光色素の漏出傾向は極く軽度であった (図 2b)。1例には血管新生は全く認めなかった。

III 群 (0.1% フルビプロフェン点眼治療群); 処置後の角膜浮腫や輪部血管の拡張は軽度となり、角膜新生血管の発生はほとんど見られなかった (図 3a)。前眼部蛍光造影でも角膜新生血管の発生は認められなかつ

た(図3b).

IV群(ベータメサゾンとフルルビプロフェンの両者点眼治療群);角膜浮腫と輪部血管の拡張は弱く,角膜新生血管の発生は認められなかった(図4a).前眼部螢光造影でも角膜新生血管の発生は認められなかった(図4b).

2) 房水中の PGE と PGF_{2α} の濃度の測定結果

(1) PGE の濃度の変化について(図5):

I群(無治療群);処置30分後までは測定下限値以下であったが,3日目に急激に増加して平均87,650pg/mlと高値となり,7日目には7,600pg/mlと低下した.

II群(0.1%ベータメサゾン点眼治療群);処置30分後では平均260pg/mlと僅かに上昇し,3日目には,I群の無治療群と同様に急激に増加して101,000pg/ml

と高値となり,7日目には2,970pg/mlと低下した.

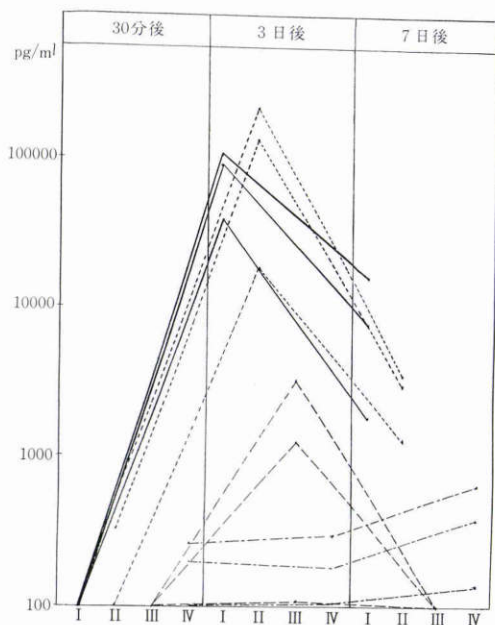
III群(0.1%フルルビプロフェン点眼治療群);処置30分後では測定下限値以下で,3日目に軽度増加して平均1,250pg/mlとなり,7日目には測定下限値以下に低下した.

IV群(ベータメサゾンとフルルビプロフェンの両者点眼治療群);処置後の経過中の測定値は平均で30分後から7日目まで200~500pg/mlの軽度上昇を示した.

(2) PGF_{2α} の濃度の変化について(図6):

I群(無治療群);処置30分後では平均で220pg/mlと僅かに上昇し,3日目に9,000pg/mlと高濃度となり,7日目は760pg/mlと低下した.

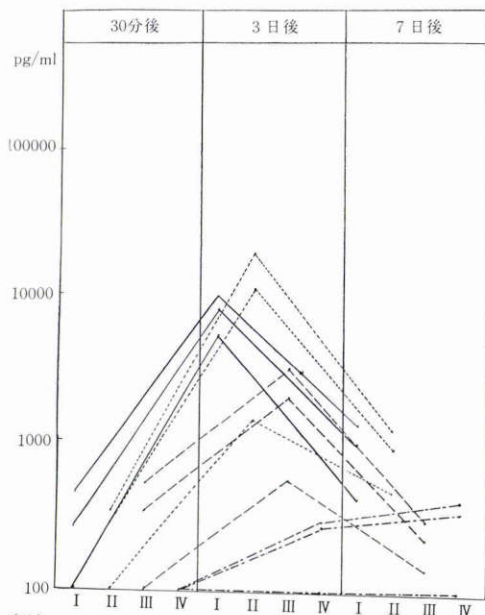
II群(0.1%ベータメサゾン点眼治療群);無治療のI群と同様の变化を示し,処置30分後に平均で260pg/ml



[註]

I: 無治療群
II: 0.1%ベータメサゾン点眼群
III: 0.1%フルルビプロフェン点眼群
IV: ベータメサゾンとフルルビプロフェン両者点眼群

図5 各群の前眼部(前部ぶどう膜)虚血後3日目の房水中のPGE濃度の変化:無治療群と比較して,0.1%ベータメサゾン点眼治療群もほぼ同等量の高濃度に上昇した.0.1%フルルビプロフェン点眼治療群では,濃度の上昇がかなり抑制され,低濃度となった.0.1%ベータメサゾン点眼と0.1%フルルビプロフェン点眼の両者併用治療群では,更に高度に抑制され,僅かな濃度の上昇に留った.



[註]

I: 無治療群
II: 0.1%ベータメサゾン点眼群
III: 0.1%フルルビプロフェン点眼群
IV: ベータメサゾンとフルルビプロフェン両者点眼群

図6 各群の前眼部虚血後3日目の房水中のPGF_{2α}濃度の変化:無治療群と比較して,0.1%ベータメサゾン点眼治療群もほぼ同等量の高濃度に上昇した.0.1%フルルビプロフェン点眼治療群では,濃度の上昇は抑制されて低濃度となり,0.1%ベータメサゾン点眼と0.1%フルルビプロフェン点眼の両者併用治療群では,更に高度に抑制されて殆ど濃度の上昇を示さなかった.

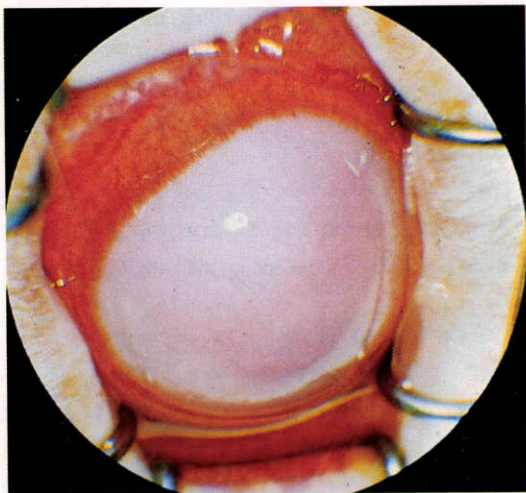


図1a I群（無治療群）の処置後3日目の前眼部写真：角膜の浮腫性混濁は高度で、拡張蛇行した輪部毛細血管網から角膜内に向かって新生血管が発生し、増殖侵入し始めている。

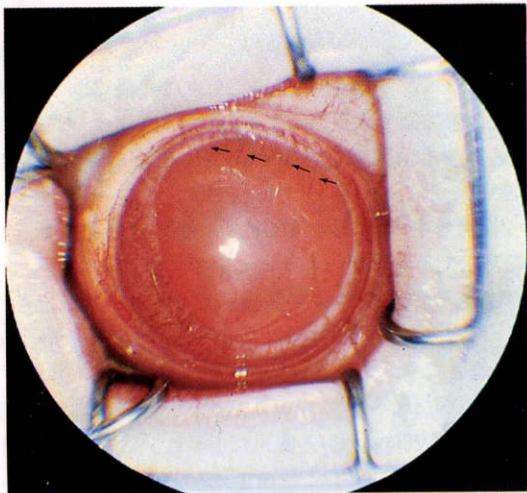


図2a II群（0.1%ベータメサゾン点眼治療群）の処置後3日目の前眼部写真：角膜浮腫は極く軽度となり、虹彩の観察が容易である。しかし、角膜新生血管は発生している（矢印）。

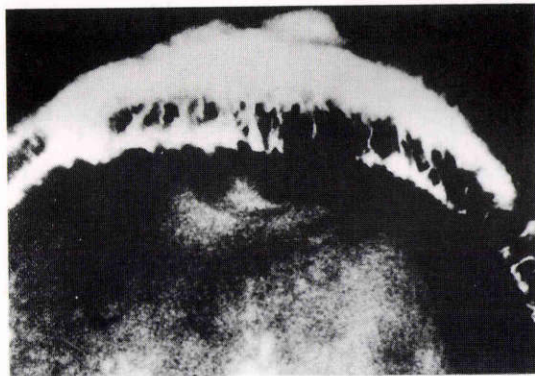


図1b I群の処置後3日目の前眼部蛍光造影写真：蛍光造影検査では角膜新生血管は密度が濃く、互いに細網を形成しながら増殖している。

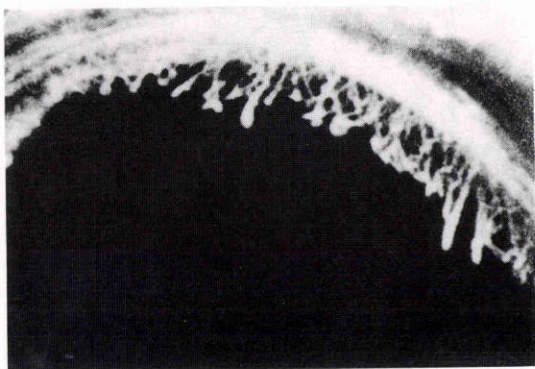


図2b II群の処置後3日目の前眼部蛍光造影写真：蛍光造影検査を行なうと、角膜新生血管が存在しているのが明白となる。新生血管からの蛍光色素の漏出はI群と比較して極く軽度である。

と増加し、3日目に9,900pg/mlと高濃度に増加して、7日目に860pg/mlと低下した。

III群（0.1%フルビプロフェン点眼治療群）：処置30分後では、やはり平均で260pg/mlと僅かに増加したが、3日目は1,860pg/mlの増加に留り、7日目には220pg/mlと低下した。

IV群（ベータメサゾンとフルビプロフェンの両者点眼治療群）：処置後の経過中、30分後から7日目まで、平均で500pg/ml前後の軽度増加を示した。

IV 考 按

今回の角膜浮腫と角膜新生血管の発生へのPGの関与について行なった実験結果より、興味ある点をまとめると、次の様になる。

1) 0.1%ベータメサゾン（ステロイド）を処置1時間前より点眼した群では、無治療のコントロール群と比較して、前眼部（前部ぶどう膜）虚血後の角膜浮腫の増悪は抑制されたが、角膜新生血管の発生は抑制す

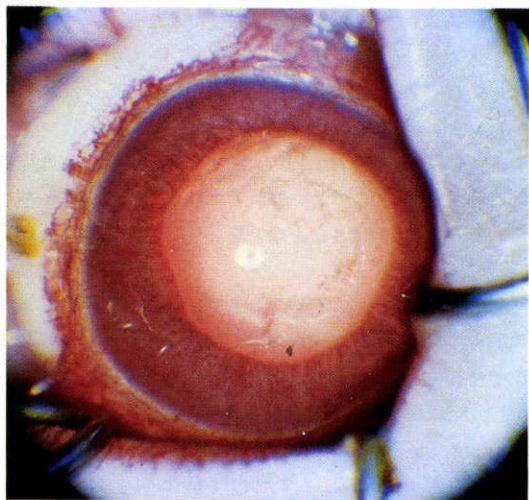


図 3a III群 (0.1%フルビプロフェン点眼治療群) の処置後 3 日目の前眼部写真: 角膜浮腫が極く軽度となると共に角膜新生血管の発生も抑制された。

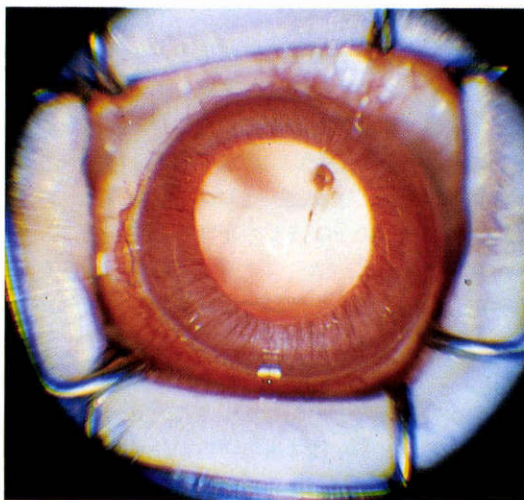


図 4a IV群 (0.1%ベータメサゾン点眼と0.1%フルビプロフェン点眼の両者治療群) の処置後 3 日目の前眼部写真: 角膜浮腫は殆ど認められず、角膜新生血管の発生も認めない。

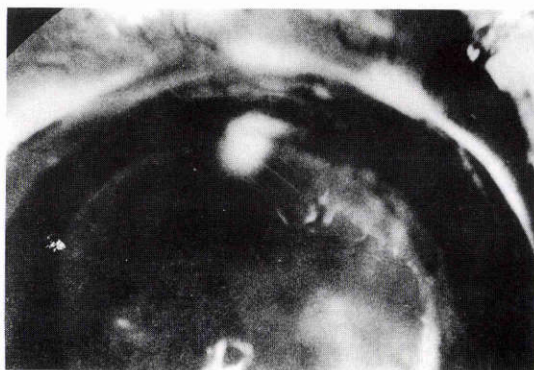


図 3b III群の処置後 3 日目の前眼部蛍光造影写真: 蛍光造影検査を行なっても角膜新生血管の発生は確認されない。

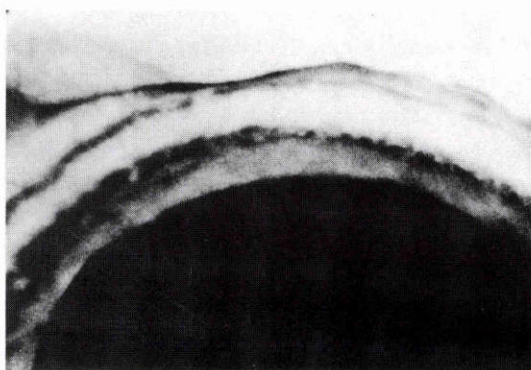


図 4b IV群の処置後 3 日目の前眼部蛍光造影写真: 蛍光造影検査を行なっても角膜新生血管を認めない。

る事ができなかった。また、ステロイドで治療したにも拘らず、房水中の PG 濃度の増加は抑制されず、無治療のコントロール群とほぼ同様の高濃度を示した。すなわち、ステロイド点眼薬は房水中の PGE 及び $\text{PGF}_2\alpha$ の濃度の増加を抑制する事が出来なかったが、角膜浮腫は軽減し得た。しかし、角膜新生血管の発生は認められた。

2) 0.1%フルビプロフェン (非ステロイド系抗炎症剤で脂肪酸シクロオキシゲナーゼ阻害剤) を点眼した群は、角膜浮腫と角膜新生血管の発生が著明に抑制

された。又、房水中の PGE 及び $\text{PGF}_2\alpha$ の濃度の増加も抑制されて、低濃度であった。すなわち、点眼治療により房水中の PG 濃度の増加が抑制され、更に角膜新生血管の発生も抑制された。

3) 0.1%ベータメサゾンと0.1%フルビプロフェンの両者を点眼して治療した群は、前眼部虚血後の臨床所見は著明に改善されて、最も軽度であった。又、房水中の PGE 及び $\text{PGF}_2\alpha$ の濃度の増加も強力に抑制されて、経過中ほとんど増加を示さなかった。

尚、同一眼で反復して前房穿刺を行なうとその都度、

その刺激により虹彩毛様体組織からPG物質が放出されて血液房水柵が破壊され、房水中の蛋白濃度や組成に変化をもたらすのは衆知の事実である。それについては、前報（第89回日眼総会）で正常の対照眼の前房穿刺の反復実験を行ない、房水中のPG濃度への影響は非常に軽微で、大体300~500pg/ml以下で、いずれも処置眼の高値のPG濃度の変動への関与はほとんど無い事を証明している。又、房水中の蛋白濃度も前報の測定では、正常の対照眼では前房穿刺する毎に微増していったが、その量は7日目（3回目）で0.3~0.4mg/ml程度で、処置眼の7日目の30~40mg/mlの測定値に比較したらその影響は少なく、且つ、この実験系そのものが虹彩毛様体組織の虚血生変化に基づいており、例え血液房水柵が破壊されようと、虚血組織の血管から漏出して来る蛋白の量は正常眼より更に少ないと思われるので、前房穿刺による影響はあっても軽微であると思われる。又、各群を比較する上では、それぞれ同様の手術処置を行なっており問題がないものと判断した。

今回得られた所見について考察した。先ず、ステロイド剤の点眼治療により、角膜浮腫が改善されたのにも拘らず、房水中のPG濃度の増加がほとんど抑制されなかった理由について次の様に考えた。ステロイド剤によるPG合成阻害作用機序については、従来から述べられている様に²⁾³⁾、投与されたステロイドは細胞質に存在しているステロイドレセプターと結合し、この結合物が原形質から核内へ移動して行き、核内にある特定の制御遺伝子と特異的に結合する。この構造遺伝子のDNAを鋳型としたRNAが合成（転写）され、更にこのRNAは切断、修飾されてmRNAとなり、これらを基にリポカルチンという蛋白質が合成される。この蛋白質がアラキドン酸を細胞膜から遊離させる時に作用する酵素であるフォスホリパーゼA₂と競合してその作用を阻害して、アラキドン酸の遊離を抑え、その結果、アラキドン酸からのPG合成を抑制する。しかし、この実験モデルの様に急激な循環障害によって起こる虚血性の細胞障害は、崩壊細胞から大量のアラキドン酸とライソゾーム酵素が房水中へ放出される。そして、ライソゾーム酵素である脂肪酸シクロオキシゲナーゼが同時に房水中に放出されたアラキドン酸から大量のPG物質を産生してその結果、房水中のPG濃度が高濃度に上昇したものと思われた。又、正常の虹彩毛様体組織にはイリンと呼ばれるPG複合体が含まれており^{4)~6)}、前房穿刺などの刺激で容易にそれ

が房水中に放出されると報告されており⁷⁾⁸⁾、今回の実験の様な強い刺激の場合には、かなり大量のPG物質が房水中に放出されたと考えられる。又、他にステロイドで阻害される事が証明されていないフォスホリパーゼC酵素の作用によるアラキドン酸の放出経路も報告されており⁹⁾¹⁰⁾、ステロイド剤が細胞膜からのアラキドン酸の放出を完全に阻害する事は出来ないのかも知れない。

次に、ステロイド点眼した群では、房水中に大量のPGEが存在しているのにも拘らず、角膜浮腫は非常に軽度であった。これは、PGEがchemical mediatorとして直接に角膜内皮細胞を障害するのではなく、他のchemical mediatorのmodulatorとして、又は、acceleratorとして間接的に作用して角膜内皮細胞を障害した事を示唆している。従って、ステロイド剤が角膜内皮細胞に直接作用するchemical mediatorの作用を阻害してしまえば、房水中に大量のPGが存在しても、それだけでは角膜への影響は少なくなってしまう。又、ステロイド剤には、細胞膜やライソゾーム膜を保護し、安定化させる作用があり¹¹⁾、点眼したステロイド剤が角膜内皮細胞が障害を受けてそれ自身のライソゾームで融解するのを予防する様に働いたのも角膜浮腫の軽減化に役立ったのかも知れない。

3番目に、ステロイド剤を点眼した群では、角膜浮腫が軽減されほぼ透明になったが、角膜内への新生血管が発生した。これは角膜新生血管の発生には角膜浮腫が必要十分条件ではない事と、房水中の大量のPGが血管新生の発生を誘発する強力なchemical mediatorとして作用している事を示唆している。PGE群にneovascuogenic factorの可能性がある事をBen-Ezraが既に報告しているが¹²⁾¹³⁾が、今回の実験でもフルビプロフェンの点眼により房水中のPGE濃度を低濃度に抑制すると角膜新生血管の発生がかなり抑制され、フルビプロフェン点眼とステロイド点眼の併用により房中水のPGE濃度の上昇が完全に抑制されると角膜新生血管の発生も完全に抑制された事から、PGEは血管新生に重要な因子として作用しているものと思われた。

前部ぶどう膜虚血後に発生する角膜浮腫と角膜新生血管の予防や治療には、ベータメサゾンとフルビプロフェンの併用が最も効果的であった。これは、ステロイドであるベータメサゾンが細胞膜からのアラキドン酸の放出を抑制し、更にそれから漏れて細胞質内に放出されたアラキドン酸がPGへと変換される時に作

用する脂肪酸シクロオキシゲナーゼ酵素の作用をフルビプロフェンが阻害するといった2段階の抑制効果が期待できるためであろう。

人眼は家兎眼と違って、虹彩毛様体への血流は長後毛様動脈からだけではないが、外眼筋を2箇所以上同時に切断する斜視や眼球振盪の手術、又、網膜剥離に対する輪状締結術や広範囲な scleral buckling 法の際に前部ぶどう膜への循環障害を生じると、同様の角膜浮腫や角膜新生血管を続発する事が報告されている^{14)~17)}。この様な合併症が予想される場合の予防として、又、発生してしまった場合の治療としてステロイド剤と非ステロイド系抗炎症剤の併用投与が有効であるかも知れない。

稿を終えるにあたり、宇山昌延教授の御指導に深謝致します。

尚、本論文は、第90回日眼総会に於いて著者が報告した。

文 献

- 1) Collins WP, Hennan JF: The measurement of local hormone and metabolites. *Recom. Method Mol Asp Med* 1: 114—121, 1976.
- 2) 浜名康栄: ステロイドホルモンの受容機構と遺伝子調節. *ホルモンと臨床* 28: 19—27, 1980.
- 3) 市川陽一: ステロイド剤の作用機序. *Medicina* 22: 1164—1165, 1985.
- 4) Ambache N: Properties of irin, a physiological constituent of the rabbits' iris. *J Physiol* 135: 114—132, 1957.
- 5) Ambache N: Effect of mechanical stimulation on rabbits' eyes. Release of active substance in anterior chamber perfusates. *J Physiol* 176: 378—408, 1965.
- 6) Kass MA, Holmberg NJ.: Prostaglandin and thromboxane synthesis by microsome of rabbit ocular tissue. *Invest. Ophthalmol Vis Sci* 18: 166—171, 1979.
- 7) 沖坂重邦: プロスタグランディンの房水動態に及ぼす影響に関する形態的研究—プロスタグランジン E₁ 結膜下注射及び前房穿刺による猿の血

液房水柵破壊の局在について—, *日眼会誌* 80: 436—447, 1976.

- 8) 伊沢保穂, 増田寛次郎: 機械的穿激に対する血液房水柵破壊とプロスタグランディンズ. *日眼会誌* 80: 448—451, 1976.
- 9) 大石幸子: ステロイド剤の生化学的メカニズム. ステロイド性抗炎症薬の抗炎症, 抗アレルギー作用. *最新医学* 39: 1546—1549, 1984.
- 10) 清水孝雄: 特集, プロスタグランジンと関連物質. 生合成—最近のトピックスを中心に—. *日本臨床* 43: 464—471, 1985.
- 11) Duval D, Durant S, Home-Delarche F: Non-genomic effect of steroids. Interaction of steroid molecules with membrane structure and functions. *Biochimica et Biophysica Acta* 737: 409—442, 1983.
- 12) BenEzra D: Neovasculogenic ability of prostaglandins, growth factor, and synthetic chemoattractants. *Am J Ophthalmol* 86: 455—461, 1978.
- 13) BenEzra D: Current research. Neovascularogenesis, triggering factor and possible mechanisms. *Surv Ophthalmol* 24: 167—176, 1979.
- 14) Robertson DM: Anterior segment ischemia after segmental episcleral buckling and cryopexy. *Am J Ophthalmol* 78: 871—874, 1975.
- 15) Saunders RA, Sandall GS: Anterior segmental ischemia syndrome following rectus muscle transposition. *Am J Ophthalmol* 93: 34—38, 1982.
- 16) Simon JW, Price EC, Krohel GB, Poulin RW, Reinecke RD: Anterior segment ischemia following strabismus surgery. *J Pediatr Ophthalmol Strabismus* 21: 179—184, 1985.
- 17) France TD, Simon JW: Anterior segment ischemia syndrome following muscle surgery. *J Pediatr Ophthalmol Strabismus* 23: 87—91, 1986.

(第90回日眼総会原著)