

哺乳動物瞳孔はアトロピン存在下で対光反応は可能か

(I) ハムスターと可視光線の場合

芳野 秀晃, 鈴木 亮, 栗本 晋二

山口大学医学部眼科学教室

要 約

網膜を除去した虹彩筋標本を用い、光刺激による瞳孔の反応を調べた。ハムスター虹彩は死後も光で縮瞳した。眼球を摘出して網膜を除去しても瞳孔は光で縮瞳した。摘出筋標本は照度に依存して収縮した。収縮高または瞳孔径維持能はハムスターでは光遮断の時間(30秒~2時間)に無関係であった。紫外線と可視光線では瞳孔反応に差がみられた。光照射による収縮は tetrodotoxin, 交感, 副交感神経遮断薬($10^{-5}M$), substance P 遊離阻止薬 ($10^{-5}M$), indomethacin や ascorbic acid で顕著な抑制を受けなかった。高等哺乳動物にも網膜機能を介さない瞳孔の反応があることがわかった。昼行性動物と夜行性動物とで光の感受性が変化している可能性がある。(日眼会誌 94:627-631, 1990)

キーワード: 瞳孔, 可視光線, 縮瞳, ハムスター, 摘出虹彩標本

Mammalian Pupil Constriction to Light in the Presence of Atropine in Hamster
Part I Hamster and Visual Rays

Hideaki Yoshino, Ryo Suzuki and Shinji Kurimoto

Department of Ophthalmology, Yamaguchi University School of Medicine

Abstract

Mammalian pupils constrict in reaction to lights. Miosis occurs via afferent and efferent nerves. Therefore, once the pupil is pretreated with atropine, miosis no longer occurs, even when the retina is intact. We found that hamster pupil constricts in reaction to light in the presence of atropine. We examined the relationship with pupillary size, light intensity, wavelength and intervals of darkness. Pupillary constriction was found when the retina was withdrawn, and the miosis was not affected by autonomic blocking agents, capsaicin pretreatment and tetrodotoxin, a nerve blocking agent. Hamster pupil reacts to lights (visible rays-ultraviolet) in the presence of atropine and in the absence of retinal function. (Acta Soc Ophthalmol Jpn 94: 627-631, 1990)

Key words: Pupil, Visible rays, Miosis, Hamster, Isolated iris muscle

I 緒 言

網膜がなくても下等の脊椎動物(カエル, ウナギ等)

の虹彩は光刺激に収縮することがよく知られている^{1)~4)}。しかし高等の哺乳動物では光に対する瞳孔の反応は網膜と副交感神経を介したものである¹⁾⁵⁾。直接

別刷請求先: 755 宇部市西区小串1144 山口大学医学部眼科学教室 鈴木 亮

(平成元年8月14日受付, 平成元年12月28日改訂受理)

Reprint requests to: Ryo Suzuki, M.D. Dept. of Ophthalmol., Yamaguchi Univ. School of Med.

1144 Kogushi, Nishi-ku, Ube 755, Japan

(Received August 14, 1989 and accepted in revised form December 28, 1989)

反応と間接反応で瞳孔の反応量は動物種で異なるが、それが網膜を介した瞳孔の反応であることは当然のことと考えられている⁵⁾。

最近増田⁶⁾等はラット瞳孔散大筋の光反射を記録している。すなわち網膜を介さない瞳孔散大筋の反応も報告されているが、極めて強力な非現実的な光量を用いている。

内眼筋の研究中⁷⁾⁸⁾に、摘出内眼筋が光に反応することを偶然見いだしたので哺乳動物に網膜を介さない瞳孔反応が存在するか否か、ハムスターを用い、網膜を完全に除去した虹彩標本をつくって光の影響を調べた。

II 方 法

ハムスターを殺し死亡させた後眼球を摘出し、強膜、網膜、硝子体、水晶体を除去しチャンパー内に固定し、実体顕微鏡で瞳孔径を測定した。この顕微鏡には接眼レンズに1目盛 $100\mu\text{m}$ のスケールが組み込んであり、4倍(1目盛 $=25\mu\text{m}$)まで拡大できる。この方法は内在性の筋のドーナツや薬物洗浄後の筋機能回復を知ることができないが、簡便なので、本実験に用いた。

図1に実験系の概要を示す。図左の照明装置(FI-150, 杉浦電子, 東京)から、集光器により均一なスポット照明をファイバーで導き、照射光量は照度計によりルクス単位で測定し、各々専用のフィルターで目的とする波長を得た。光量は分光感度特性を補正し、虹彩面上と同じ照度と積算照度を測定出来るよう工夫した。すなわち、あらかじめ照度計(T-1H, ミノルタ)を照明の先端から虹彩までの距離と同じ間隔に設置すると共に、虹彩と同形のドーナツ型の薄板を作製し、受光面に置くことにより、同じ面積の照度が測定できるようにした。目的とする光以外の影響を除くため、暗室で実験し、基準照度との偏差値測定を行った。紫外線は図右の蛍光顕微鏡の光源にUVフィルターをかけ、ミラーを用いて標本に照射した。温度によって虹彩筋のトームスの変化したので、コールドミラーとコールドフィルターおよび外液に灌流液を流すことによりハロゲン光源の熱を遮断し、中央の恒温槽により温度を一定($35.5\pm 0.3^\circ\text{C}$)に保った。恒温槽の中央に固定した各チャンパーの容積は5mlである。虹彩標本の外周の液は、実験中はもちろん、実験前にも95% $\text{O}_2 + 5\% \text{CO}_2$ で充分に通気した。光を照射する間は酸素の供給がないが、薬物処理をしなければ数時間にお

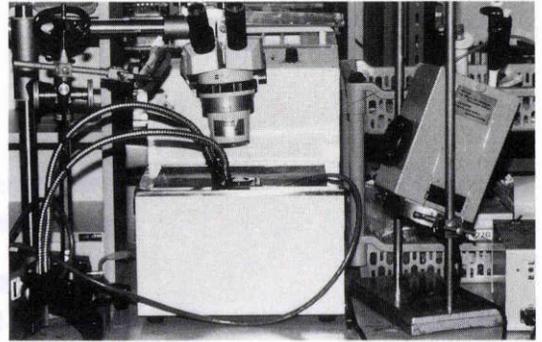


図1 実験装置の概要。光源をファイバーで虹彩面に導き、瞳孔径の変化を上方の実体顕微鏡で測定した。虹彩を入れたチャンパーは中央の恒温槽によって一定の温度($35.5\pm 0.3^\circ\text{C}$)に保たれている。右手の直方体は紫外線の発生装置(自家製)である。

たって光に対する一定の瞳孔反応を得ることが出来た。灌流液の組成は $\text{Na}^+137.4$, $\text{K}^+5.9$, $\text{Mg}^{2+}1.2$, $\text{Ca}^{2+}2.5$, $\text{Cl}^-134.0$, $\text{H}_2\text{PO}_4^-1.2$, $\text{HCO}_3^-15.5$, グルコース 11.5mM である。使用した薬物は acetylcholine chloride (和光), carbamylcholine chloride (carbachol, 和光), DL-propranolol HCl (和光), atropine sulfate (和光), pilocarpine HCl (Sigma), 8-methyl-N-vanillyl-6-nonenamide (capsaicin, Sigma), tetrodotoxin (Sigma), ascorbic acid, (AsA, Sigma), phenolamine methylate (CIBA), nembutal (Abbot) である。特に *in vivo* の実験ではハムスターに 0.08cc nembutal を皮下注射した。

III 結 果

1. ハムスター瞳孔

ハムスターの眼は生後4週間で角膜径約 $4\times 4\text{mm}$ 、生後3カ月以上で角膜径 $5\times 5\text{mm}$ となる。図2のごとく dim light 下で瞳孔径は $300\sim 500\mu\text{m}$ と極度に縮瞳している。角膜と虹彩が接しているかのごとく、前房が極めて浅い。

暗室ではハムスターの瞳孔は散大し、光刺激で縮瞳した。1% atropine 点眼で散瞳させた後、光遮断をおこなうと瞳孔はわずかながら更に散瞳した。光刺激を行なうと atropine 存在下でも瞳孔は更に縮瞳した。

ハムスターを nembutal 0.1cc で麻酔させても瞳孔径は有意に散瞳しなかった。しかし死亡後は瞳孔は散大し、光刺激で縮瞳した。光刺激による縮瞳は少なくとも死亡1時間後にも観察された。以上の結果を模式

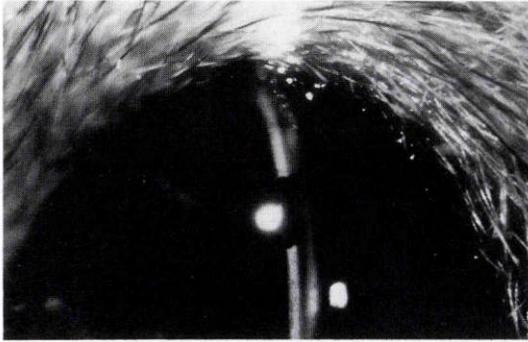


図 2 ハムスターの瞳孔。縮腫が著しい。

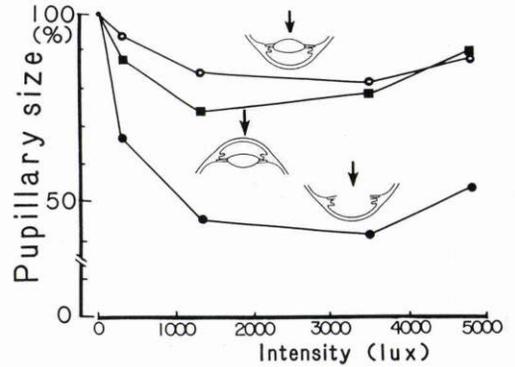


図 4 瞳孔径と光照射法。虹彩上皮側より照射した場合が縮腫効果が大きかった。4 例の平均値

IN VIVO

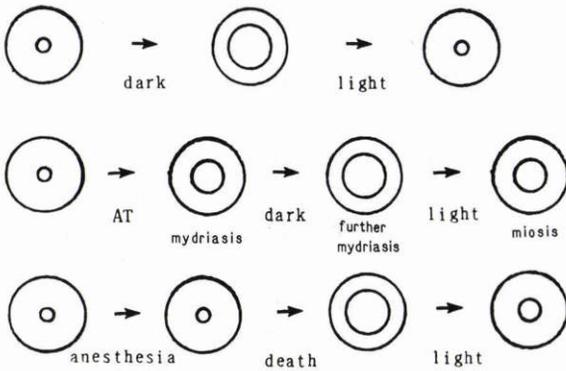


図 3 ハムスター瞳孔の模式図 (in vivo)

的に図 3 に示した。

2. 光照射法

ハムスター瞳孔は chamber 内で 30 分以上灌流すると 2~2.5mm に散瞳した。この状態から光を角膜側、水晶体後方、水晶体を除去して虹彩後方から照射した (n=4)。同じ光量であっても光の照射条件によって瞳孔径の変化に著明な差がみられた。すなわち図 4 に示したごとく、虹彩後方から照射した場合が一番効果があり、水晶体後方から照射すると最も効果が少なかった。

光は角膜より進入するので、角膜による光の吸収や乱反射をさけるために光は虹彩前面より照射するのが適当と考えられる。しかし、ハムスターの角膜を切除して筋浴槽に固定することはかなり困難なので、便宜的に虹彩上皮側より光を照射した。

3. 光遮断時間と瞳孔径

光刺激による瞳孔径の変化が光遮断時間と関係する

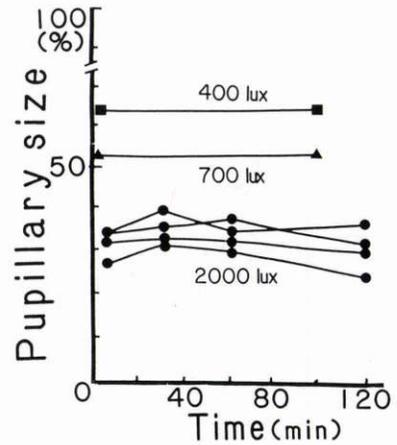


図 5 光遮断時間と瞳孔径。光遮断を長時間行っても縮腫率は有意に変化しなかった。

か否かを調べた。光遮断を 30sec~120分まで変化させたときの光刺激効果は図 5 のごとくで、顕著な変化は得られなかった。これは照度の強弱と無関係であった。

4. 光照射の時間経過

可視光線では照射後の縮腫は速やかに生じ、10~20 sec で最大に達し、照射を続けることにより縮腫が維持されたが、60sec 以上の照射では徐々に縮腫が弛緩する傾向があった。これに対し、紫外線での縮腫はゆっくりと生じ最大に達するまでに 60~80sec を要した。光照射と縮腫の過程を各々 4 例で調べ、その平均を図 6 に示した。

なお瞳孔径が回復するには数分を要したが、次の光照射に際して縮腫はくり返し観察された。

5. 虹彩に分布する神経と光縮腫効果の関係

ハムスター瞳孔は acetylcholine (10⁻⁴~10⁻⁶M),

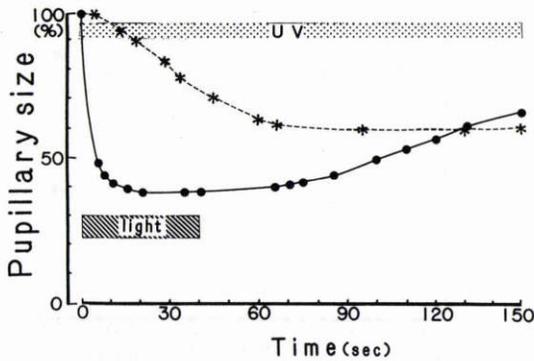


図6 可視光線の瞳孔径におよぼす効果。可視光線の効果は紫外線の効果より速やかに生じた。4例の平均値。

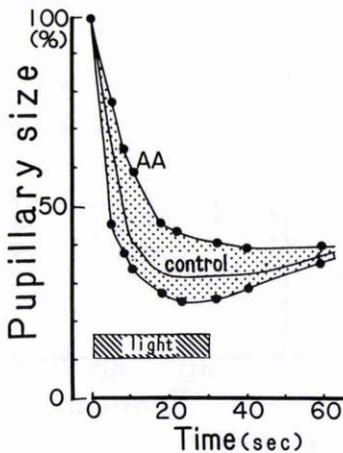


図7 2mM アスコルビン酸の光収縮に及ぼす効果。対照はアスコルビン酸存在下の瞳孔径の変化の中に含まれている。4例の平均。コントロールは15眼以上。

carbachol (10^{-5} – 10^{-7} M)で縮瞳した ($n=3$)。照射前に atropine, phentolamine, propranolol (各々 10^{-5} M) を単独であるいはそれらを組み合わせて標本を処理しておいても、光縮瞳効果はコントロールとの差は認められなかった。

Capsaicin (10^{-5} M) を投与するとわずかに縮瞳した。洗浄と capsaicin の投与をくり返し、Substance P (SP) を遊離させた。3 回くり返したあとの状態で光を照射すると、十分に縮瞳が生じた。

6. AsA の効果

照射効果 AsA によって変化を受けるか否か検討した。1–3mM AsA は虹彩筋の収縮に著明な変化

を与えなかった。図7に2mMの結果(4例の平均)を示す。

7. 可視光線の波長差

光の波長はUV, BG38, K510, K530のフィルターを用いて得ることができた。

分光光度計により、BG38は380–550, K510は520以上, K530 (以上 Leitz Wetzlar 社, 西独) は540nm以上の各波長を得た。各々のフィルターを用いて、照度が一定となる様に光刺激の強さを調節した。その結果BG38はK510, K530に比べ光刺激の効果が大きかったが、差は10%以内であった。

IV 考 察

ハムスターの瞳孔は可視光線に対し縮瞳した。この縮瞳は *in vivo* でも *in vitro* でも観察された。死亡1時間後も光で縮瞳した。眼球を摘出して、眼球を切除して網膜を除去しても光照射で縮瞳したので、網膜機能を介さない縮瞳で、虹彩筋自体の特徴と考えた。

下等の脊椎動物ではこのように虹彩の平滑筋自体が光で収縮することが知られている^{1)–4)}。高等哺乳動物ではこのような例は我々の調べた限りあまり報告されていない。

ハムスター瞳孔では、刺激光の波長により瞳孔の反応に差がみられた。特に可視光線と紫外線では反応の様式が大きく異なっていたので、他の動物でも波長を変えて検討すれば同様な反応が認められる可能性がある。昼行性動物と夜行性動物は波長等、光の感受性に差がみられるのかもしれない。

AsA は活性化酸素群のスカベンジャーないし還元剤である。充分高濃度の AsA でも光収縮に変化を与えなかった。夜行性動物では AsA の濃度が低いことが知られている¹⁾¹⁰⁾。夜行性動物で AsA が効果を持たなかったけれども、ヒトを含め昼行性動物において光に対する虹彩の感受性が AsA で変化する可能性は否定できず、現在検討中である。

この現象が波長をかえればヒトで生じるかどうか興味がある。細隙灯顕微鏡の最大光量でも、アトロピン点眼後の瞳孔は僅かなりとも縮瞳がみられない。直接反応と間接反応は神経を介し、ヒトでは同等に生じるはずであるのに、しかし無散瞳眼底カメラで強力な一過性の光を照射すると、瞳孔不同が生じることがある。もしかするとヒトでも網膜機能を介さない縮瞳反応が存在するのかもしれない。我々の虹彩の摘出実験^{8)–10)}ではウシや白色家兎ではこの光収縮反応は大きくな

かった(未発表)。

この光収縮反応の機構として神経の関与を調べた。ハムスター瞳孔は acetylcholine や carbachol により収縮し、ハムスター虹彩も副交感神経支配の可能性がある。しかしこの光収縮反応への副交感神経、交感神経の関与は各々の遮断薬により縮瞳が影響を受けないことから否定できる。

SP 作働性神経線維はウサギ、ラット、モルモット、イヌ等汎く高等動物に分布していることが知られている¹¹⁾¹²⁾、本実験では SP を放出する capsaicin で処理していても光縮瞳がみられた。もし光が SP 作働性神経の末端を刺激することで何らかの伝達物質の遊離を促進し光縮瞳が生じるのなら、その伝達や遊離の阻害剤や筋側の受容体の遮断薬により光縮瞳が抑制されるはずである。それはおこらなかったため、SP 作働性神経の関与も少ないと考えた。また tetrodotoxin の下でも観察されたので、神経を介さない反応だと考えることが出来る。

ハムスターで網膜機能を介さない光による縮瞳反応があることがわかった。この縮瞳はアトロピン存在下に in vivo でも in vitro でも生じた。死後数時間でも生じるし、眼球を摘出し視神経を切断しても生じる。網膜を除去して虹彩のみの標本にしても収縮した。今後の問題点として収縮発生機構を虹彩平滑筋の細胞膜や筋小胞体からのカルシウムの動態の観点⁸⁾からも検討したい。

本研究は文部省科研(C-02807164)の援助を受けた。厚く感謝します。

本論文は第93回日眼総会で講演した。

文 献

- 1) **Lowenstein O, Loewenfeld IE**: The pupil, In Davson H (ed): The Eye, New York, Academic Press, Vol 3, 255—337, 1969.
- 2) **Weale RA**: Observations on the direct effect of light on the irides of *Rana temporaria* and *Xenopus laevis*. *J Physiol* 132: 257—266, 1956.
- 3) **Seliger HH**: Direct action of light in naturally pigmented muscle fibers. I. Action spectrum for contraction in eel iris sphincter. *J Gen Physiol* 46: 333—342, 1962.
- 4) **Barr L, Alpern M**: Photosensitivity of the frog iris. *J Gen Physiol* 46: 1249—1265, 1963.
- 5) **Thompson HS**: The pupil and the autonomic nervous system, Lessel, van Dalen JTW (eds): *Neuro-Ophthalmology*. Amsterdam, Excerpta Medica, Vol 1, 226—240, 1980.
- 6) **増田 豊, 今泉祐二, 渡辺 稔**: ラット虹彩散瞳筋の光誘発性収縮について. *日本平滑筋誌* 21: 332—334, 1985.
- 7) **Suzuki R**: Neuronal influence on the mechanical activity of the ciliary muscle. *Br J Pharmacol* 78: 591—597, 1982.
- 8) **Suzuki R, Kobayashi S**: Effects of divalent cations on the spontaneous synchronization in mammalian iris sphincter muscle cells. *Exp Eye Res* 42: 407—415, 1987.
- 9) **Suzuki R, Kobayashi S**: Different effects of substance P and vasoactive intestinal peptide on the motor function of bovine intraocular muscles. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 24: 1566—1571, 1983.
- 10) **Spector A, Garner WH**: Hydrogen peroxide and human cataract. *Exp Eye Res* 33: 673—678, 1981.
- 11) **Laties AM, Stone RA, Brecha NC**: Substance P-like immunoreactive nerve fibers in the trabecular meshwork. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 21: 484—487, 1981.
- 12) **Shimizu Y, Kuwayama Y, Fukuda Y**: Localization of substance P-like immunoreactivity in the anterior eye segment of squirrels: An immuno-histochemical analysis. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 22: 259—263, 1982.
- 13) **Ambache N, Kavanagh L, Whiting J**: Effect of mechanical stimulation on rabbits' eyes: Release of active substance in anterior chamber perfusates. *J Physiol (Lond)* 176: 378—408, 1965.
- 14) **Bito LZ, Turansky DG**: Photoactivation of pupillary constriction in the isolated in vitro iris of a mammal (*Mesocricetus Auratus*). *Comp Biochem Physiol* 50A: 407—413, 1975.