

8-Hydroxy Carteolol 局所投与による 眼圧動態とメラニン色素

広田 篤*, 三嶋 弘*, 木内 良明*, 永田 淳士*, 黒川 知則**, 石橋 貞彦**

*広島大学医学部眼科学教室, **広島大学医学部総合薬学科教室

要 約

8-Hydroxy carteolol (8-OH CA) は, carteolol (CA) の主要代謝産物であるが, CA と異なった薬理作用をもつ。今回, 白色及び有色家兎に8-OH CA を点眼し, 眼圧下降作用について検討した。また, 薬剤と合成メラニンとの結合実験を併せて行った。2%CA 点眼では, 白色, 有色家兎ともに有意な眼圧下降作用を認めなかった。8-OH CA 点眼では, 白色家兎が0.01, 0.05, 0.1, 1.0%, 有色家兎が0.1, 1.0%で有意な眼圧下降を認めた。最高眼圧下降幅は, 白色家兎が $3.5 \pm 0.45 \text{ mmHg}$, 有色家兎が $3.0 \pm 0.33 \text{ mmHg}$ であった。最大眼圧下降までの時間は, 白色家兎が点眼後30分であったのに比べ有色家兎では1時間以降であった。メラニンとの結合実験では, どの濃度でも CA に比べ8-OH CA が吸着が少なかった。これらの実験から, 8-OH CA はメラニン色素の影響が CA より少ない可能性があり, CA に比べ低濃度で有効な眼圧下降が得られることがわかった。(日眼会誌 95:752-757, 1991)

キーワード: 8-ハイドロキシカルテオロール, β -遮断剤, メラニン, 結合実験, 点眼実験

Effect of Topical 8-Hydroxy Carteolol on Intraocular Pressure and Melanin Granules

Atsushi Hirota*, Hiromu Mishima*, Yoshiaki Kiuchi*,
Atsuhito Nagata*, Tomonori Kurokawa** and Sadahiko Ishibashi**

*Department of Ophthalmology, Hiroshima University School of Medicine

**Department of Physiological Chemistry, Hiroshima University School of Medicine

Abstract

It was reported that 8-Hydroxycarteolol (8-OH CA), the major metabolite of carteolol hydroxychloride (CA), has a slightly different pharmacological effect from CA. We studied the reduction of intraocular pressure (IOP) on a single eyedrop application of 8-OH CA in albino and pigmented rabbit eyes. To determine the characteristic of 8-OH CA and CA, we investigated the binding ability of these drugs to synthetic melanin. In the present study, topically applied 2% CA did not significantly decrease IOP in albino and pigmented rabbit eyes. Topically applied 0.01, 0.05, 0.1 and 1.0% 8-OH CA significantly decreased the IOP of albino rabbit as did 0.1 and 1.0% 8-OH to pigmented rabbit eyes. The maximum reduction of IOP was $3.5 \pm 0.33 \text{ mmHg}$ (mean \pm SEM) in albino rabbit and $3.0 \pm 0.45 \text{ mmHg}$ (mean \pm SEM) in pigmented rabbit. Maximum IOP reduction was obtained after 30min. from topical

別刷請求先: 734 広島市南区霞 1-2-3 広島大学医学部眼科学教室 広田 篤

(平成2年11月30日受付, 平成2年12月25日改訂受理)

Reprint requests to: Atsushi Hirota, M.D. Department of Ophthalmology, Hiroshima University School of Medicine.

1-2-3 Kasumi, Minami-ku, Hiroshima 734, Japan

(Received November 30, 1990 and accepted in revised form December 25, 1990)

application in albino rabbit, but in pigmented rabbit after 1 hour or later. Our binding studies to melanin show that the melanin binding ability is less for 8-OH CA than for CA at any concentrations. These results may indicate that lower concentrations of topically applied 8-OH CA profoundly reduce IOP compared to CA, and 8-OH CA has less effect on melanin than CA. (Acta Soc Ophthalmol Jpn 95: 752-757, 1991)

Key words: 8-Hydroxycarteolol, β -Blocker, Melanin, Binding ability, Topical application

I 緒 言

8-Hydroxycarteolol (8-OH CA) は、わが国で開発された代表的な β -遮断剤である carteolol (CA) の主要代謝産物であり¹⁾、CA と若干異なった薬理作用を持つことがすでに報告されている²⁾³⁾。点眼で投与された CA が8-OH CA に代謝されること⁴⁾や、8-OH CA にも眼圧下降作用があること⁵⁾⁶⁾が最近報告され、8-OH CA は CA の眼圧下降作用の一端を担っている可能性があり、近年注目を集めている。

これまでに、抗緑内障薬の眼圧下降作用は個人差や人種差があり、白人にくらべ黒人で効果が少ないとされている⁷⁾⁸⁾。この原因は不明であるが、眼内のメラニン色素がこれらの薬剤を吸着させ薬理作用に影響を与えているのではないかとこの考えがある⁹⁻¹⁰⁾。

そこで今回、8-OH CA 点眼後の眼圧動態を白色および有色家兎を用いて経時的、濃度別に測定し、CA の眼圧下降作用と比較検討した。また、分光光度計を用いて合成メラニンに吸着した8-OH CA の量を測定し、メラニン色素の眼圧動態に対する影響を考察した。

II 実験方法

CA、8-OH CA (ともに大塚製薬(株)) は、ともに水溶性の白色粉末であり、生理食塩液、リン酸緩衝液に溶解すると無色透明となる。8-OH CA の化学構造式は、CA の carbostyryl 基の 8 位が水酸化したものである

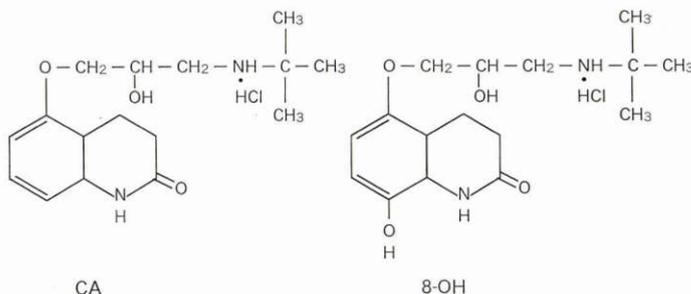


図1 carbostyryl 基の 8 位が水酸化されている。

(図1)。CA、8-OH CA の点眼実験では、生理食塩液に、メラニン結合実験ではリン酸緩衝液に溶解し、ともに約 pH7.0 に調整して使用した。

1. 点眼実験

点眼実験には、健康成熟白色家兎及び有色家兎(2~3 kg) を、雌雄の区別なく 8 羽使用した。

点眼方法は、1 眼に薬剤を 50 μ l、他眼には同量の生理食塩液をコントロールとして投与した。眼圧の測定はすべて暗室で行い、点眼麻酔後に Pneumatometer (PTG, Alcon 社) を用いて点眼前、点眼後 30 分、1、2、3、4、5、6、8 時間に測定した。測定結果は student T test にて有意差検定を行った。

2. メラニンとの結合実験

合成メラニンの作成は、Potts らの方法¹¹⁾に従い、d, 1-dihydroxyphenylalanine (DOPA, 東京化成) 1g と polyphenoloxidase (mashroom tyrosinase 2,200 Unit/mg, シグマ) 20mg を 0.1M リン酸緩衝液 300ml に混合し、37°C で 4 時間インキュベートした。ついで 15,000g で 20 分間遠心分離し、得られた沈澱物を約 5 回蒸留水で洗浄して合成メラニンとした。最終的に得られた合成メラニンを 0.066M リン酸緩衝液に混合した後、15,000g で 15 分間遠心分離し、上清に 200~300nm の紫外領域において、光吸収のピークがないことを確認した。DOPA 1g から凍結乾燥後約 150mg の合成メラニンが得られた。

メラニンと薬剤の結合実験で、まずインキュペー

ション時間の影響を調べた。それぞれの 10^{-4} Mの各薬剤3mlと合成メラニン12mgを混合し、37°Cで0, 20, 40, 60分間インキュベーションした。インキュベーション後混合液を15,000gで15分間遠心分離し、その上清の吸光度を各薬剤の極大吸光波長で測定(Beckman分光光度計)し、メラニンに結合した薬剤量を計算した。CAの極大吸収波長には259nm, 8-OH CAには253nmを使用した。

次に、それぞれの薬剤の濃度とメラニンに結合する量を調べた。まず各薬剤の $0.5 \sim 3.0 \times 10^{-4}$ Mの溶液を作成し、各3mlと合成メラニン3mgとを37°C, 60分間インキュベーションした。インキュベーション後、混合液を15,000gで15分間遠心分離し、得られた上清の吸光度を測定してメラニンに結合した薬剤の量を計算した。

III 結果

1. 点眼実験

2%CA点眼では、白色家兎が有色家兎にくらべ眼圧下降傾向を示したが、ともに有意差を認めなかった(図2)。0.1%8-OH CAの点眼では、白色家兎は0.5~4時間後まで、有色家兎では0.5~5時間後まで有意な眼

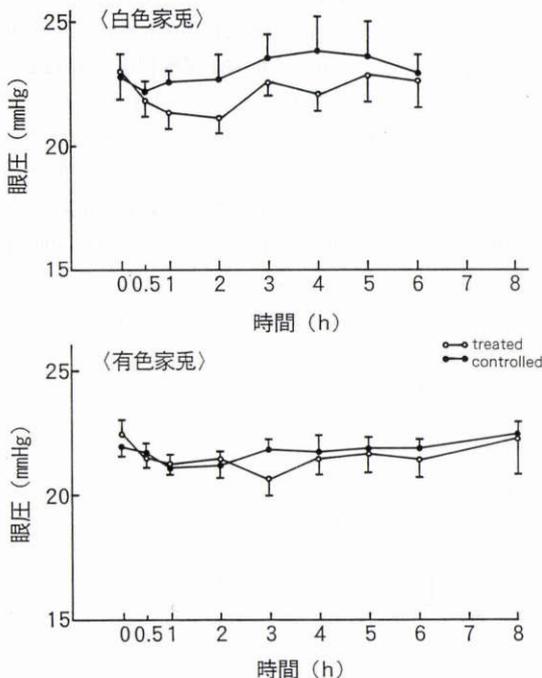


図2 白色家兎で眼圧下降傾向を認めたが、白色、有色家兎ともに有意差を認めなかった。

圧下降を示した(図3)。

次に、対照眼との眼圧差を縦軸として種々の濃度の8-OH CA点眼後の眼圧動態を示す。白色家兎は0.01, 0.05, 0.1, 1.0%の濃度で、有色家兎は0.1, 1.0%の濃度で有意な眼圧下降を示した。眼圧下降動態については、各濃度とも最大眼圧下降までの時間は、白色家兎が点眼後30分と有色家兎に比べ有意に早く、また、眼圧下降の回復も白色家兎が有意に早かった(図4, 5)。なお、8-OH CA点眼による最大の眼圧下降は、白色家兎が 3.5 ± 0.45 mmHg, 有色家兎が 3.0 ± 0.33 mmHgであった。

0.01~1.0%の8-OH CA点眼による最大眼圧下降は、白色、有色家兎ともに0.1%で最大の眼圧下降が認められたが、1.0%ではむしろ眼圧下降作用は減弱することが分かった(図6, 7)。

2. メラニンとの結合実験

インキュベーション時間とメラニン結合量との関係を示す(図8)。種々の薬剤がメラニンに結合した量は、常温で混合するだけで、かなりの結合量が認められ、約40分間インキュベーションするとほぼ平衡状態に達

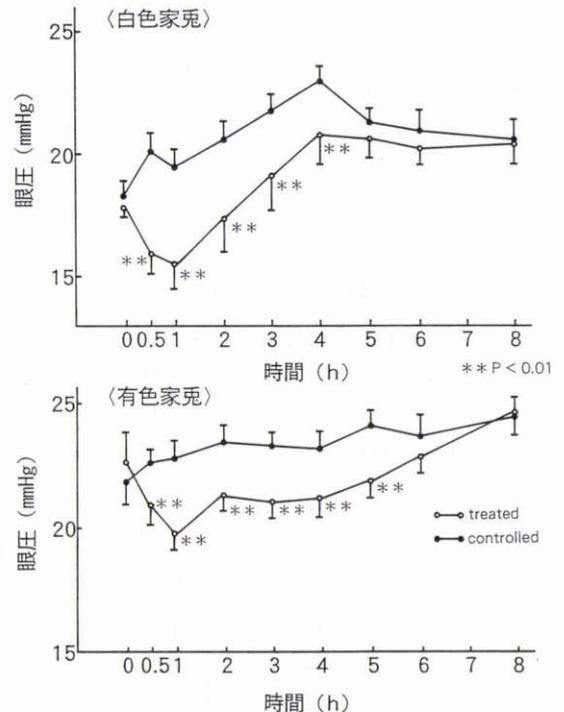


図3 白色家兎では点眼後0.5から4時間まで、有色家兎では点眼後0.5から5時間まで有意(p < 0.01)な眼圧下降を認めた。

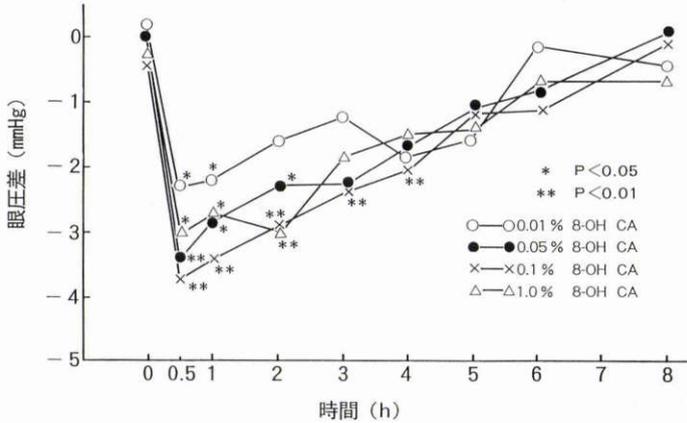


図4 点眼後の眼圧下降は、0.01、0.05、0.1、1.0%の濃度で有意差を認めた。最大眼圧下降時間は、各濃度とも0.5時間後で、最大眼圧下降幅は $3.5 \pm 0.45 \text{ mmHg}$ であった。*は、Student T 検定にて $p < 0.01$ を、また、**は $p < 0.05$ を示す。最大眼圧下降までの時間は、白色家兎が有色家兎に比べ有意 ($p < 0.01$)に早かった。最大の眼圧下降からの回復時間も白色家兎が有意 ($p < 0.05$)に早かった。

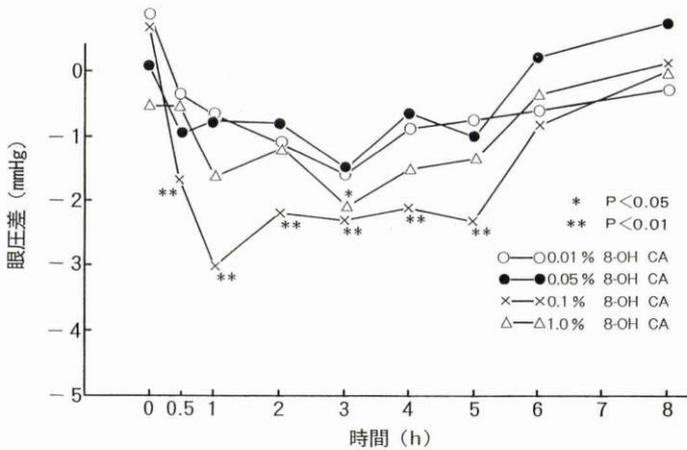


図5 点眼後の眼圧下降は、0.1% ($p < 0.01$) および1.0% ($p < 0.05$)の濃度で有意差を認めた。最大眼圧下降時間は、各濃度とも1時間以降で、最大眼圧下降幅は $3.0 \pm 0.33 \text{ mmHg}$ であった。

していることが分かった。

10^{-4} M の8-OH CA 3mlと合成メラニン12mgの結合量は、平衡状態で約70%であった。これはチモロールやCAのメラニン結合量よりも低く、ピロカルピンより多く結合していることが分かった。

薬剤の濃度変化とメラニン結合量との関係を見ると、8-OH CAでは他の薬剤と同様に濃度依存性で、ピロカルピンより多く、チモロールやCAより少量であることが分かった(図9)。

IV 考 按

CAは、長時間の眼圧下降作用をもち、瞳孔作用をもたない抗緑内障薬として、我が国で広く使用されている。CAは、強力な β -遮断作用(propranololの20~30倍)をもつことが知られている¹²⁾。これに対し、8-OH CAの薬理作用は、摘出心(モルモット)及び静脈麻醉下(イヌ)の心拍数を濃度依存性に増加させる³⁾⁵⁾と同時に、isoprenalineの気管拡張作用、心拍数増加作用(モルモット)には拮抗的に作用する³⁾ことが報告さ

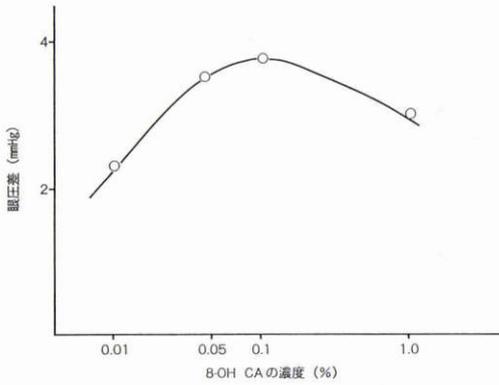


図6 白色家兎における0.01から1.0%までの8-OH CA点眼後の最大眼圧下降を、対照眼との差で示す。0.1%で最大の眼圧下降が得られた。

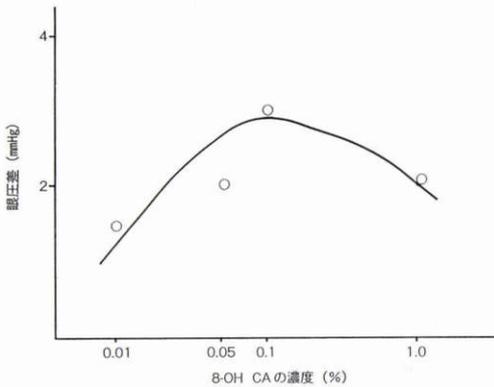


図7 有色家兎における0.01から1.0%までの8-OH CA点眼後の最大眼圧下降を、対照眼との差で示す。白色家兎と同様に、0.1%で最大の眼圧下降が得られた。

れ、 β -遮断作用と刺激作用をもつ β -受容体の partial agonist と思われる。内服、静脈内投与された CA は、ヒト、イヌ、ラットでその一部が8-OH CA に代謝され、残りが未変化体として排泄される¹⁾ことが報告されている。しかし、8-OH CA の β -刺激作用は、CA によって拮抗され、CA が投与された場合に、生体内で8-OH CA が β -刺激作用を発現している可能性は少ない⁵⁾。このように、CA と8-OH CA の投与では8-OH CA が CA の代謝産物であるにもかかわらず、 β -受容体に対する作用はかなり異なっている。

これまでで点眼で投与された CA も、静注、内服時と同様に、前房中に8-OH CA 及び未変化体として認められた(ラット)とされており⁴⁾、また、8-OH CA の

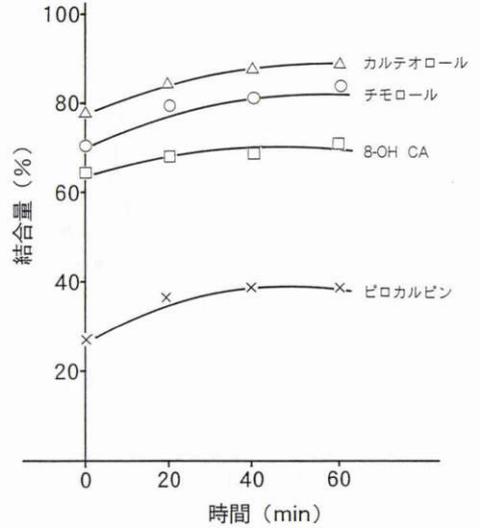


図8 常温で混合するだけでかなりの薬剤がメラニンに結合している。各薬剤ともインキュベーション開始後40分で、ほぼ平衡状態に達している。

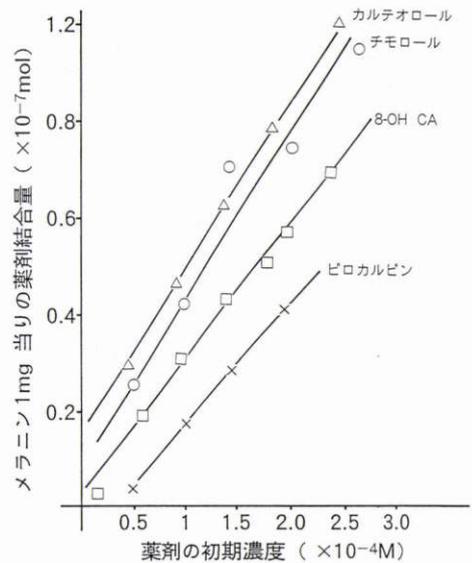


図9 各薬剤とも濃度依存性に、合成メラニンに結合し、8-OH CA は、ピロカルピンより多く、カルテオロールやチモロールより少ない結合量であった。

点眼で、ヒト、有色家兎で CA よりも低濃度で有意な眼圧下降が得られたとの報告がある⁵⁾⁶⁾。これらのことから、CA の眼圧下降作用には8-OH CA が関与している可能性があるのではなからうか。しかし、この点についての詳細な機序は現時点では不明で、今後解決さ

れるべき重要な課題である。

今回の点眼実験では、家兎に2%CAの点眼をしても有意な眼圧下降が認められなかったのにくらべ、8-OH CAの点眼では、白色家兎では0.01, 0.05, 0.1, 1.0%の濃度で、有色家兎では0.1, 1.0%の濃度で有意な眼圧下降が認められた。さて、 β -遮断剤の眼圧下降作用は、これまでにフルオロフォトメトリーを使用した多くの報告から一般に房水産生の抑制にあるとされている¹²⁾¹³⁾。しかし、眼圧調整機構は非常に複雑であり、CAにくらべ、 β -刺激作用の強い8-OH CAで、より強い眼圧下降作用があることは興味もたれる。

これまで、抗緑内障薬の眼圧下降作用の個人差や人種差についてのいくつかの報告⁷⁾⁸⁾があるが、眼内のメラニン色素に薬剤が吸着し、そのために薬剤に差がでるとの説^{7)~10)}がある。著者らは、すでにピロカルピン、エピネフリン、チモロール、CAとメラニンとの結合実験、ならびに同じ薬剤の白色、有色家兎に対する眼圧下降作用について検討し、メラニンとの結合実験の結果から、メラニンに多く結合する薬剤ほど有色家兎に対する眼圧下降作用は減弱していたと報告した⁹⁾¹⁰⁾。今回の家兎における単回点眼実験では、有色家兎が白色家兎より最大眼圧下降出現時間が遅かったこと、眼圧下降幅が低かったことから他の β -遮断剤と同様に、8-OH CAの眼圧下降作用にはメラニン色素の影響があった可能性がある。しかし、今回のメラニン結合実験から8-OH CAは、チモロール、CAよりメラニンに結合しにくかった。メラニンとの結合量の違いが8-OH CAの薬剤特性になるか否かは不明である。しかし、8-OH CAはCAより低濃度でより強い眼圧下降作用をもつこと、また β -刺激作用をもつことから、喘息や不整脈をもつ症例には、従来の β -遮断剤の欠点を補う可能性があると思われる。

稿を終えるにあたり、御校閲を賜りました広島大学眼科学教室調枝寛治教授に深謝いたします。

文 献

- 1) 森 英雄, 水戸 勝, 村上七美, 他: 新 β -遮断剤 Carteolol Hydrochloride の生体内運命. 薬学雑誌 97: 350—358, 1977.
- 2) Watanabe K: Pharmacology of 8-OH carteolol, a major metabolite of carteolol. Pharmacometrics 38: 271—277, 1989.
- 3) 渡辺耕三, 河村公太郎, 山下修司, 他: Carteolol の主要代謝産物 8-Hydroxycarteolol の β -adrenaline 受容体に対する作用. 応用薬理 38: 271—277, 1989.
- 4) 藤尾直希, 北沢克明: 白色家兎における¹⁴C-Carteolol 点眼後の眼内組織への移行. 日眼会誌 88: 236—241, 1984.
- 5) 佐々木隆弥, 加藤祐造, 塚原重雄: 8-Hydroxycarteolol 点眼の眼圧下降効果. あたらしい眼科 7: 579—582, 1990.
- 6) Sugiyama K, Enya T, Kitazawa Y: Ocular Hypotensive effect of 8-Hydroxy carteolol, a metabolite of carteolol. Int Ophthalmol 13: 85—89, 1989.
- 7) Melikian HE, Liberman TW, Leopold LH: Ocular pigmentation and pressure and outflow responses to pilocarpine and epinephrine. Am J Ophthalmol 72: 70—73, 1971.
- 8) Lyons JS, Krohn DL: Pilocarpine uptake by pigmented uveal tissue. Am J Ophthalmol 75: 885—888, 1973.
- 9) 永田淳士: 緑内障治療薬とメラニン色素の相関. 日眼会誌 95: 644—649, 1991.
- 10) Nagata A, Mishima KH, Hirota A, et al: Binding ability of hypotensive drugs to synthetic melanin. Curr Eye Res (in press).
- 11) Potts AM: The reaction of uveal pigment in vitro with polycyclic compounds. Invest Ophthalmol 3: 405—416, 1964.
- 12) Yabuuchi Y, Kinoshita D: Cardiovascular studies of 5-(3-tert-butylamino-2-hydroxy) propoxy-3, 4-dihydrocarbostyryl hydrochloride, (OPC-1085) a new potent β -adrenergic blocking agent. Jpn J Pharmacol 24: 853—861, 1974.
- 13) 新家 真, 高瀬正弥: ピロカルピン及び新 β -遮断剤カルテオロールの人眼房水動態に及ぼす作用. 日眼会誌 84: 2085—2091, 1980.
- 14) 松生俊和, 新家 真, 高瀬正弥: カルテオロール点眼液の緑内障及び高眼圧症眼房水流出率などに及ぼす影響. 眼臨 77: 1654—1657, 1983.
- 15) 三嶋 弘: 緑内障の薬物療法, 点眼療法を中心として. あたらしい眼科 6: 1289—1295, 1989.
- 16) 三嶋 弘, 木内良明: 緑内障の新薬(1). 細胞の情報伝達機構に作用する薬物について. 東 郁郎編, 眼科 Mook 40, 緑内障の診療ガイド. 東京, 金原出版, 206—219, 1989.