

# 交感神経関連薬の房水流出率への効果

—毛様体筋との関連から—

芳野 秀晃

山口大学医学部眼科学教室

## 要 約

房水流出率に及ぼす交感神経関連薬の効果を毛様体筋との関連から摘出ウシ眼で検討した。Epinephrine と isoproterenol はともに房水流出率を有意に変化させなかったが、theophylline, caffeine, isobutylmethylxanthine (IBMX) などの phosphodiesterase (PDE) 抑制薬はいずれも濃度依存性に房水流出率を著明に増加させた。Epinephrine は通常の濃度では毛様体筋のトーンスや神経原性収縮を変化させなかった。PDE 抑制薬は毛様体筋の神経原性収縮を抑制したが、トーンスへの作用は各々で異なっていた。すなわち、theophylline と IBMX は筋を弛緩させたが、N-ethylmaleimide, iodoacetamide, iodoacetic acid は筋のトーンスをわずかに上昇させた。摘出ウシ眼においては、房水流出率は  $\beta$  刺激薬単独では上昇せず、 $\beta$  刺激薬が房水流出を増加させるという予想とは異なった結果が得られた。PDE 抑制薬は、房水流出路や毛様体筋により著明な作用を有しており、経隅角的な房水流出を増加させる可能性が示唆された。(日眼会誌 97: 162-168, 1993)

キーワード：房水流出率，交感神経関連薬，phosphodiesterase 抑制薬，毛様体筋

## Adrenergic Influence on the Outflow Facility and the Ciliary Muscle of Enucleated Bovine Eyes

Hideaki Yoshino

Department of Ophthalmology, Yamaguchi University School of Medicine

### Abstract

In an effort to understand the aqueous outflow mechanism, the author compared changes in the outflow facility with the response of ciliary muscle, using fresh bovine eyes. Neither epinephrine nor isoproterenol alone increased the outflow facility, regardless of their concentrations. However, theophylline, caffeine, isobutylmethylxanthine (IBMX), and other phosphodiesterase (PDE) inhibitors, increased facility in a dose-dependent manner. Epinephrine alone neither relaxed the tone nor inhibited the nerve-mediated contraction of bovine ciliary muscle. Theophylline and IBMX relaxed the tone and inhibited the nerve-mediated contraction, whereas N-ethylmaleimide, iodoacetamide and iodoacetic acid also inhibited the nerve-mediated contraction, and elevated the tone of the ciliary muscle. All PDE inhibitors tested increased the outflow facility and inhibited the nerve-mediated contractions of the ciliary muscle, however, the effect of such drugs on the ciliary muscle tone varied. These results suggest that PDE inhibition may increase the conventional outflow of aqueous humor. PDE inhibitors has much greater influence on and around the outflow channels, from the viewpoint of change of outflow facility and ciliary muscle contraction. (J Jpn Ophthalmol Soc 97: 162-168, 1993)

Key words: Outflow facility, Adrenergic drugs, Phosphodiesterase inhibitor, Ciliary muscle

別刷請求先：755 宇部市小串 1144 山口大学医学部眼科学教室 芳野 秀晃

(平成 4 年 3 月 31 日受付，平成 4 年 7 月 9 日改訂受理)

Reprint requests to: Hideaki Yoshino, M.D. Department of Ophthalmology, Yamaguchi University School of Medicine. 1144 Kogushi, Ube 755, Japan

(Received March 31, 1992 and accepted in revised form July 9, 1992)

## I 緒 言

毛様体上皮や房水流出路には交感神経末端が存在することが知られており<sup>1)2)</sup>、交感神経は房水の産生と流出の両面から眼圧を調節している可能性がある。

緑内障治療薬の一つである交感神経作働薬 epinephrine は、緑内障治療薬として1930年代から使用されており<sup>3)</sup>、その有用性から今日もなお広く用いられている。Epinephrineによる眼圧下降作用の一部は、隅角線維柱帯に作用し房水流出を増加させることによるものとされており<sup>4)~6)</sup>、 $\beta$ 刺激薬である isoproterenol にも眼圧下降作用のあることが知られている<sup>7)</sup>が、房水流出路の交感神経の分布はわずかなうえ、それが実際にどのような役割を果たしているのかわかっていない。

一方、毛様体筋にも交感神経の関与があることが知られている<sup>8)9)</sup>が、その生理的な役割はあまり調べられていない。毛様体筋は遠近調節ばかりではなく、房水流出にも関係していると考えられている。すなわち、毛様体筋のトーンスは pilocarpine などの縮瞳薬の眼圧下降作用に関係し<sup>10)~12)</sup>、その収縮は経隅角的な房水流出を増加させるといわれている。しかしながら、交感神経や交感神経作働薬がいかにして毛様体筋や房水流出率を調節しているか、実験的根拠がない。

房水流出に交感神経がどのように関わっているか調べるため、摘出眼を用いて *in vitro* で房水流出率を測定し、あわせて摘出毛様体筋標本を用いて筋の反応を記録し、交感神経関連薬の房水流出に及ぼす効果を毛様体筋との関連から検討した。

## II 実験方法

### 1. 房水流出率

屠殺場にて入手したウシ眼をクレブス液に入れて実験室に持ち帰り、摘出後3時間以内に実験を行った。Brubaker<sup>13)</sup>の方法に準じた後房灌流法を行った。

球結膜および結膜下組織を眼球から切除し、ウシ眼の大きさに合わせて作製した容器内に眼球を固定し、周囲をシリコンの充填剤で覆うことにより眼球的膨張を防いだ。眼球を固定した容器ごと34°Cの浴槽内で灌流した。自家製の台に水平に固定した3mlのピペットの先端に三方活栓と直径1mmのシリコンチューブを接続し、チューブの先端に23G針を接続し、各々をクレブス液で充たした。23G針をウシ眼の輪部より刺入し、その先端を瞳孔を通して対側の後房内に固定した。

灌流圧はピペットの高さを変えることにより調節した。すなわち、角膜輪部からの高さが10mmHgでは13.6cm、30mmHgでは40.8cmとなるようにピペットの高さを調節した。灌流圧は10mmHgを基準としたが、高眼圧下での作用をみるため30mmHgでも実験を行った。23G針を後房内に刺入後、三方活栓を開くと圧差によりピペット内のクレブス液が眼内に流入する。ピペットの目盛りを読み、パーソナルコンピュータ(PC-9801)に入力すると、時間ごとの流出率を求められるようにプログラムを設定した。流出率は定常状態では流入量と流出量が等しくなるという原理に基づき、時間あたりの流量を灌流圧で除することにより求めた。実験開始直後は前房水が灌流液により洗い流され流出率が変動するため、測定値の安定するのを待ち、実験開始後約90分の時点で三方活栓より薬物を投与した。まず刺入してある23G針を用いて前房水をゆっくりと抜き(約2ml)、その後所定の濃度の薬物を溶解した灌流液を同量前房内に注入した。その後同様に薬物を溶解した灌流液でピペットを充たし、三方活栓を開き、灌流を再開した。

薬物の効果は投与前の流出率を基準として、薬物投与により流出率が何%に上昇したかで判定した。同じ時間クレブス液で灌流したものを対照とした。

### 2. 毛様体筋

房水流出率の実験と同様に屠殺場でウシ眼を入手した。眼球摘出後30分以内に5~7mmの強膜切開を行い、毛様体筋標本を採取した。容積3mlのチャンパー内に標本を固定し、一端を絹糸にてtransducerに接続した。この標本は既報<sup>9)</sup>と異なり、毛様体筋だけでなく強膜、脈絡膜、毛様体上皮、結合織を含んだやや粗い筋組織である。ペリスタポンプ(アトー)により34°Cのクレブス液で持続的に灌流しながら、銀-塩化銀電極を介して電気刺激(1msec, 20pulse, 3秒)を行い、筋の反応を等張性に記録した。筋張力の記録はFD-pick up(TB-612 T, 日本光電), carrier amplifier(AP-620 G, 日本光電), recorderによる。クレブス液に95% O<sub>2</sub>-5%CO<sub>2</sub>ガスを通気し、pH 7.4を維持した。

房水流出率、毛様体筋の研究で使用したクレブス液の組成は同じで、Na<sup>+</sup>137.4, K<sup>+</sup>5.9, Mg<sup>2+</sup>1.2, Ca<sup>2+</sup>2.5, Cl<sup>-</sup>134.0, H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub><sup>-</sup>1.2, HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>15.5, グルコース11.5(mM)である。使用した薬物は、caffeine(半井), carbachol (Sigma), epinephrine (ボスミン<sup>®</sup>, 第一製薬), isoproterenol(プロタノールL<sup>®</sup>, 日研化学), isobutylmethylxanthine (IBMX, Sigma),

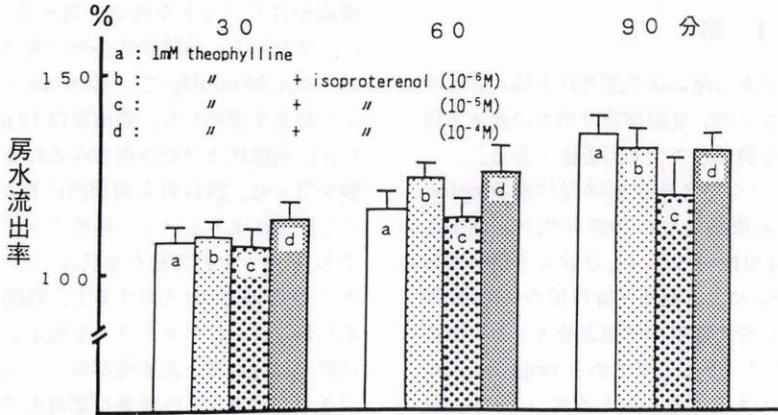


図1 1 mM theophylline と isoproterenol のウシ眼房水流出率への効果。  
a は theophylline のみ, b~d は各々  $10^{-6}$ ,  $10^{-5}$ ,  $10^{-4}$  M の isoproterenol を theophylline と組合せ投与した。それぞれ投与後 30 分, 60 分, 90 分の値を示す。各濃度とも 5 例の平均で, 縦のバーは標準偏差。

iodoacetamide (和光), iodoacetic acid (半井), N-ethylmaleimide (NEM, 半井), theophylline (半井) である。

### III 結果

#### 1. 房水流出率 (図1~3)

後房を  $34^{\circ}\text{C}$ , 10 mmHg で灌流したときの房水流出率は実験開始後 15 分で  $1.09 \pm 0.34$ , 30 分で  $1.50 \pm 0.41$ , 60 分で  $1.64 \pm 0.47$ , 90 分で  $1.80 \pm 0.65$ , 120 分で  $2.02 \pm 0.79$ , 150 分で  $2.05 \pm 0.77$ , 180 分で  $2.00 \pm 0.66$  ( $\mu\text{l}/\text{min}/\text{mmHg}$ ) であった。同様に 30 mmHg で灌流した時の房水流出率は 15 分で  $1.05 \pm 0.14$ , 30 分で  $1.27 \pm 0.21$ , 60 分で  $1.39 \pm 0.29$ , 90 分で  $1.56 \pm 0.43$ , 120 分で  $1.68 \pm 0.52$ , 150 分で  $1.77 \pm 0.58$ , 180 分で  $1.91 \pm 0.64$  ( $\mu\text{l}/\text{min}/\text{mmHg}$ ) と 10 mmHg の場合よりもやや低い値を示した (各々 5 例の平均値  $\pm$  標準偏差)。いずれの場合も流出率は実験開始後 60 分までは比較的急に上昇し, 以後は徐々に上昇していく傾向がみられた。

次に房水流出率に及ぼす薬物の効果を調べた。Epinephrine ( $10^{-6}$ ~ $10^{-4}$ M), isoproterenol ( $10^{-6}$ ~ $10^{-4}$ M) はいずれもウシ摘出眼の房水流出率を変化させなかった。あらかじめ 1 mM theophylline で灌流した後, isoproterenol を投与した場合でも, 経時的に流出率は上昇したものの, theophylline 単独で灌流した場合と比べ差は認められなかった (図1)。

これに対し, theophylline と IBMX は濃度依存性に

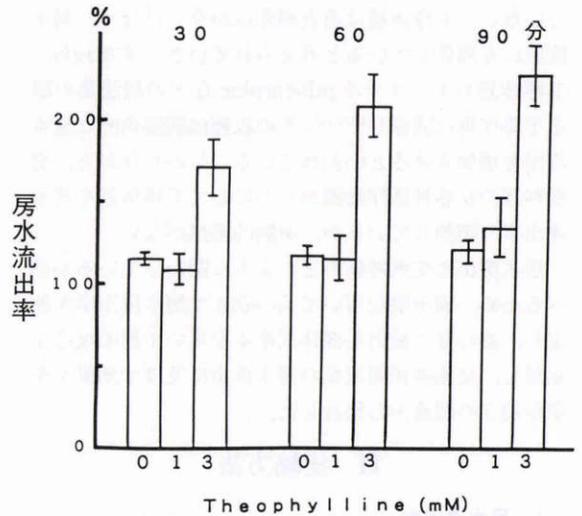


図2 Theophylline のウシ眼房水流出率への効果。  
それぞれ投与後 30 分, 60 分, 90 分の値を示す。各濃度とも 5 例の平均で, 縦のバーは標準偏差。

房水流出率を上昇させた。Theophylline は 1 mM から房水流出率を上昇させ, 3 mM, 投与後 90 分では流出率は投与前と比べ 228% に上昇していた (図2)。IBMX は 0.3 mM から房水流出率を上昇させ, theophylline と同等か, 濃度によってはそれ以上の効果を示した (図3)。

他の薬物, caffeine, iodoacetamide, NEM, iodoacetic acid はいずれも房水流出率を上昇させた。投与後 90 分値でみると 10 mM という高濃度ではあ

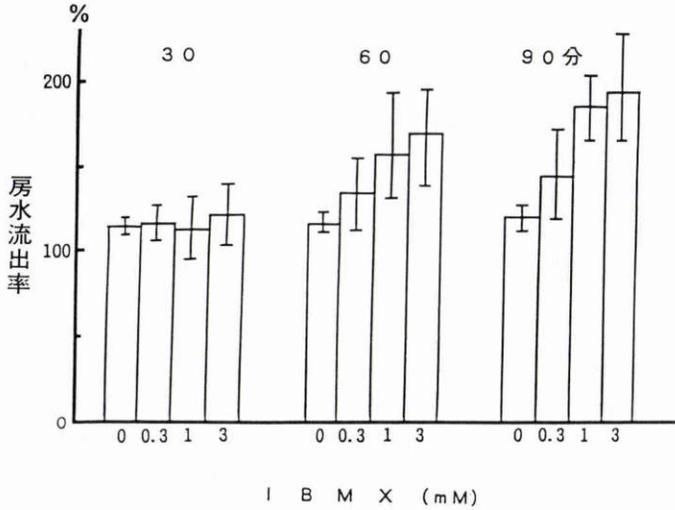


図3 IBMXのウシ眼房水流出率への効果。

それぞれ投与後30分, 60分, 90分の値を示す。各濃度とも5例の平均で, 縦のバーは標準偏差。

るが, iodoacetic acid の作用が最も強力で 245%, ついで caffeine が 190% であり iodoacetamide と NEM は 130~150% と効果が弱く, 特に NEM は後房灌流中に全例に角膜浮腫を生じた。

2. 毛様体筋 (図4~6)

図4に epinephrine, isoproterenol のウシ毛様体筋への作用を示す。Epinephrine, isoproterenol は 10<sup>-5</sup> M 以下の濃度ではともにウシ毛様体筋の神経原性収縮

縮やトーンを変化させなかった (図4 a, b)。両者とも非常に高濃度では神経原性収縮をわずかに抑制したが, その濃度でもトーンには作用しなかった。毛様体筋のトーンは低かったので, 10<sup>-7</sup> M carbachol で前処置しトーンを上昇させて同様に epinephrine と isoproterenol を投与したが, やはり著明な作用は認められなかった (図4 c)。ただし, isoproterenol は 10<sup>-5</sup> M 以上で筋をわずかに弛緩させた。

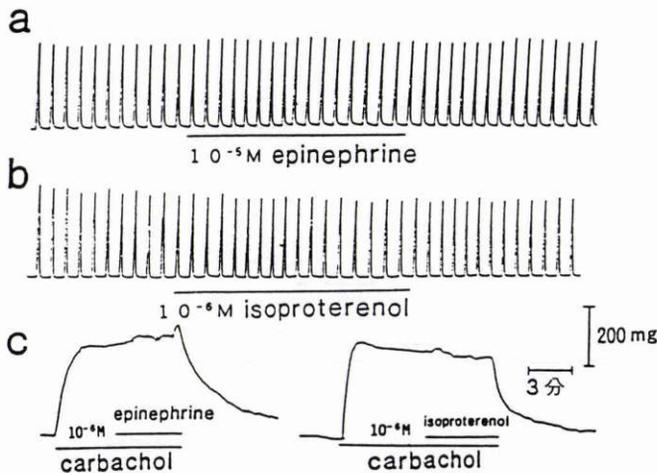


図4 ウシ毛様体筋の収縮に及ぼす epinephrine, isoproterenol の効果。

cでは, 10<sup>-7</sup> M carbachol でトーンを上昇させてから 10<sup>-6</sup> M epinephrine, 10<sup>-6</sup> M isoproterenol を投与した。

Phosphodiesterase (PDE)を抑制することにより、 $\beta$ 作用が発現してくるか否か、0.5~1mM theophyllineで前処置した後、isoproterenolを投与した。1mM theophyllineでは、長時間作用させると毛様体筋の神経原性収縮が抑制されたが、isoproterenolを加えたことによる効果は認められなかった。Theophylline自体は高濃度でより著明な収縮抑制作用を示した。他のPDE抑制薬であるIBMX, iodoacetamide, iodoacetic acid, NEMはいずれも毛様体筋の神経原性収縮を抑制したが、後三者は洗浄しても筋の収縮が回復せず、筋のトーンスを上昇させた(図5)。Theophylline, IBMXはcarbacholで前処置しトーンスを上昇させておくと筋を弛緩させた。図6にtheophyl-

lineの例を示す。 $10^{-7}$ M carbacholを投与し、毛様体筋を軽く収縮させておき、2mM(上段)、3mM(下段)のtheophyllineを作用させると、筋は弛緩し、carbacholのみの溶液にもどし、theophyllineを洗浄することにより再び筋は収縮した。ついでcarbacholを洗浄すると筋のトーンスはもとにもどった。

このように、PDE抑制薬は全て毛様体筋の神経原性収縮を抑制したが、トーンスの作用は各々で異なっていた。

#### IV 考 按

房水流出率におよぼす交感神経関連薬の効果を実測するため、著者はウシ摘出眼を用いて一定の灌流圧で房水流出率を測定した。

まず、灌流圧を30mmHgに上げると、10mmHgの場合より流出率がやや低下したが、いずれの場合も流出率は経時的に上昇し、諸家の報告と類似していた<sup>13)~15)</sup>。薬物の投与は流出率が安定するのを待ち、実験開始後90分に行ったが、epinephrine, isoproterenolとも房水流出率に対する作用は認められなかった。PDEを抑制することによりcyclic AMPの分解を抑え、 $\beta$ 作用が発現増強されることを期待し、theophyllineで前処置した後、isoproterenolを投与したが、その効果はtheophylline単独と比べ有意差がなかった。

これに対し、PDE抑制作用を有する薬物は、全て単独で房水流出率を上昇させた。TheophyllineとIBMXの房水流出に及ぼす効果は類似していたが、IBMXの方がより低濃度から房水流出率を上昇させた。他の薬物のうち、iodoacetic acidは非常に強力な作用を有していたが、iodoacetamideとNEMの作用は弱く、特にNEMは灌流中全例に角膜浮腫を生じ、角膜内皮細胞に対する障害性が示唆された<sup>16)</sup>。

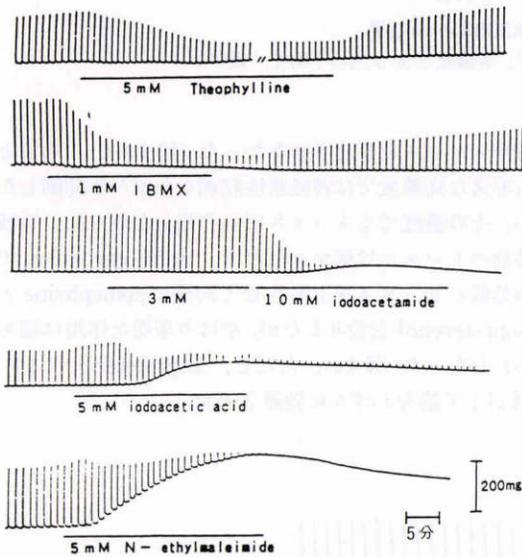


図5 ウシ毛様体筋の収縮に及ぼす種々の phosphodiesterase 抑制薬の効果。

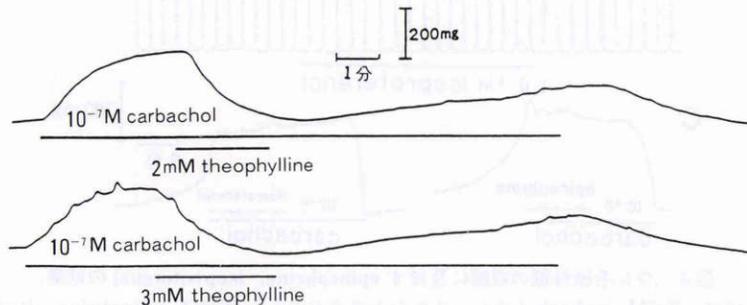


図6 ウシ毛様体筋のトーンスに及ぼす theophylline の効果。

Epinephrine は線維柱帯に作用し房水流出を増加させるといわれている<sup>4)~6)</sup>。これまでの報告と異なり、epinephrine や isoproterenol が房水流出率を上昇させなかったのは *in vivo* と *in vitro* の違い、灌流液の温度や前方灌流か後房灌流かなどの実験系の違い<sup>14)15)</sup> が関与しているのかも知れない。動物の種差も考えられるが、*in vitro* でこれらの薬物が房水流出率を変化させたという実験的証拠はどの動物においても報告されていない。

これらの PDE 抑制薬の房水流出に及ぼす作用を毛様体筋の収縮、弛緩の面から考察するため、毛様体筋の実験を併せて行った。まず、epinephrine と isoproterenol は  $10^{-5}$ M までは濃度を上げてウシ毛様体筋に反応しなかったため、毛様体筋の反応には種差があるものの、ウシ眼においては交感神経の関与は少ないものと考えた。ウシ毛様体筋の場合、theophylline で前処置しておいても  $\beta$  作用は増強されず、灌流実験での結果と類似していた。

これに対し、theophylline や IBMX などの PDE 抑制薬は、いずれもウシ毛様体筋の神経原性収縮を顕著に抑制した。筋に carbachol を作用させトーンを上げておくと、theophylline や IBMX は筋を弛緩させた。Iodoacetamide, iodoacetic acid や NEM は逆に毛様体筋のトーンを上昇させ、これらの薬物によって抑制された毛様体筋の神経原性収縮は薬物を洗浄しても回復しなかった。

以上のように、今回使用した PDE 抑制薬は、全て房水流出率を上昇させ、毛様体筋の収縮を抑制したが、トーンへの作用は様々であった。

毛様体筋が弛緩すれば、いわゆる uveoscleral outflow は増加する<sup>10)12)</sup>。しかし今回のような *in vitro* の実験においては uveoscleral route は考慮しなくてよい。毛様体筋は *in vitro* では少なくとも弛緩していた。Theophylline や IBMX で筋を弛緩させるにはあらかじめ carbachol でトーンを上昇させる必要があったことを考えると、これらの薬物は経隅角的な房水流出を増加させたものと考えてよい。

Adenylate cyclase の活性を刺激するコレラ毒素<sup>17)</sup> や forskolin<sup>18)~22)</sup> に眼圧下降作用のあることが発見され、毛様体上皮における adenylate cyclase 活性の房水産生への関与が注目されているが<sup>23)24)</sup>、全て毛様体上皮と房水産生系に関する研究で *in vivo* での点眼による実験が主体である。今回のように *in vitro* で房水流出率を測定した報告はない。

PDE 抑制薬は、cyclic AMP の分解を抑制し、細胞内の cyclic AMP 濃度を上昇させるので、adenylate cyclase の活性を上昇させたと同様の効果が期待できる。著者の研究で PDE 抑制薬は、全て房水流出率を増加させたので、毛様体上皮ばかりでなく、房水流出路においても、adenylate cyclase 活性が房水の動態に影響を与えている可能性がある。ただ摘出眼では epinephrine や isoproterenol 単独では房水流出に作用しなかったため、*in vivo* での生理的な状態で房水の流出量がどのような調節を受けているかは不明である。しかし、隅角における細胞の活性が房水流出を変化させる可能性がある。

現在用いられ、あるいは開発されている緑内障治療薬はほとんどが房水産生抑制を目的としたものである。しかし緑内障は房水の流出障害であることを考えると、房水流出率を上昇させることができれば、その方がより合理的で能率的である。今回示した PDE 抑制薬の効果は、まだ臨床応用されていないが、将来の緑内障治療を考える上で興味深いと思われる。

稿を終えるに当たり、ご校閲を賜った山口大学医学部眼科学講座 栗本晋二教授に謝意を表します。また、日常ご指導いただきました山口大学医学部眼科学講座 鈴木 亮助教授に深謝致します。

#### 文 献

- 1) Neufeld AH: Mechanism of action of adrenergic drugs in the eye. In: Drance SM, et al (Eds): Glaucoma: Applied Pharmacology and Medical Treatment. Grune and Stratton Inc, Orlando, 277-301, 1984.
- 2) Wax MB, Malinoff PB: Distribution and properties of  $\beta$ -adrenergic receptors in human iris-ciliary body. Invest Ophthalmol Vis Sci 28: 420-430, 1987.
- 3) Epstein DL: Chandler and Grant's Glaucoma (3rd ed). Lea and Febiger, Philadelphia, 136-137, 1986.
- 4) Bill A: Early effects of epinephrine on aqueous humor dynamics in vervet monkeys (*Cercopithecus ethiops*). Exp Eye Res 8: 35-43, 1969.
- 5) Sears ML, Neufeld AH: Adrenergic modulation of the outflow of aqueous humor. Invest Ophthalmol 14: 83-86, 1975.
- 6) Kaufman PL: The effects of drugs on the outflow of aqueous humor. In: Drance SM, et al (Eds): Glaucoma: Applied Pharmacology and Medical Treatment. Grune and Stratton Inc, Orlando, 429-458, 1984.

- 7) **Potter DE, Rowland JM**: Adrenergic drugs and intraocular pressure: Effect of selective beta-adrenergic agonists. *Exp Eye Res* 27: 615—625, 1978.
- 8) **Van Alhen GWHM**: The adrenergic receptors of the intraocular muscles of the human eye. *Invest Ophthalmol* 15: 502—505, 1976.
- 9) **Suzuki R**: Neuronal influence on the mechanical activity of the ciliary muscle. *Br J Pharmacol* 78: 591—598, 1983.
- 10) **Bill A**: The effects of atropine and pilocarpine on aqueous humor dynamics in cynomolgus monkeys (*Macaca irus*). *Exp Eye Res* 6: 120—125, 1967.
- 11) **Kaufman PL, Barany EH**: Loss of acute pilocarpine effect on the outflow facility following surgical disinsertion and retrodisplacement of the ciliary muscle from the scleral spur in the cynomolgus monkey. *Invest Ophthalmol* 15: 793—807, 1976.
- 12) **Bill A**: Uveoscleral drainage of aqueous humor in human eyes. *Exp Eye Res* 12: 275—281, 1971.
- 13) **Brubaker RF**: The effect of intraocular pressure on conventional outflow resistance in the enucleated human eye. *Invest Ophthalmol* 14: 286—292, 1975.
- 14) **Van Buskirk EM, Grant WM**: Influence of temperature and the question of involvement of cellular metabolism in aqueous outflow. *Am J Ophthalmol* 77: 565—572, 1974.
- 15) **Moses RA**: The effect of intraocular pressure on resistance to outflow. *Surv Ophthalmol* 22: 88—96, 1977.
- 16) **Epstein DL, Patterson MM, Rivers RC, Anderson PJ**: N-ethylmaleimide increases the facility of aqueous outflow of excised monkey and calf eyes. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 22: 752—756, 1982.
- 17) **Gregory D, Sears M, Bausher L, Mishima H, Mead A**: Intraocular pressure and aqueous flow are decreased by cholera toxin. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 20: 371—381, 1981.
- 18) **Caprioli J, Sears M, Bausher L, Gregory D, Mead A**: Forskolin lowers intraocular pressure by reducing aqueous inflow. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 25: 268—277, 1984.
- 19) **Bartels SP, Lee SR, Neufeld AH**: Forskolin stimulate cyclic AMP synthesis, lowers intraocular pressure and increase outflow facility in rabbits. *Curr Eye Res* 2: 673—681, 1983.
- 20) **Lee PY, Podos SM, Mittag T, Severin C**: Effect of topically applied forskolin on aqueous humor dynamics in cynomolgus monkey. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 25: 1206—1209, 1984.
- 21) **Smith BR, Gaster RN, Leopold IH, Zeleznick LD**: Forskolin, a potent adenylate cyclase activator, lowers rabbit intraocular pressure. *Arch Ophthalmol* 102: 146—148, 1984.
- 22) **Burstein NL, Sears M, Mead A**: Aqueous flow in human eye is reduced by forskolin, a potent adenylate cyclase activator. *Exp Eye Res* 39: 745—749, 1984.
- 23) **Hoyng PFJ, Groeneboer C**: Isobutylmethylxanthine (IBMX), a phosphodiesterase inhibitor, enhances ocular hypotension, induced by adrenergic agents in the pigmented rabbit. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 28(Suppl): 12, 1987.
- 24) **Iijima Y, Nakagawa F, Handa S, Oda T, Naito A, Yamazaki M**: Biological properties of griseolic acid, a cyclic AMP phosphodiesterase inhibitor with an adenine group. *FEBS Letters* 192: 179—183, 1985.