

エンドセリン-1の眼循環に及ぼす影響

杉山 哲也, 奥 英弘, 守屋 伸一, 清水 一弘, 浜田 潤, 東 郁郎

大阪医科大学眼科学教室

要 約

エンドセリンは近年発見された、強力な血管収縮物質の一つであり、眼内循環調節への関与が示唆されている。今回、エンドセリン-1が家兔の視神経乳頭や脈絡膜の組織血流量に及ぼす影響を電解式組織血流計(水素クリアランス法)により検討した。エンドセリン-1 (10^{-5}M , 10^{-6}M) 0.1 ml を硝子体内に投与すると、視神経乳頭では75分後をピークに3時間後でも有意な血流量減少を示したのに対し、脈絡膜では30~60分後をピークに血流量が減少したが3時間後には回復した。眼圧は時間とともに下降した。 10^{-10}mol/kg を静脈内に投与すると、血流量は視神経乳頭では3時間後でも減少を認めたのに対し、脈絡膜では一過性に減少したものの90分後には回復した。眼圧は3時間の観察期間中下降した。エンドセリン-1による視神経乳頭の血流量減少はカルシウム拮抗剤(ニカルジピン)を前投与しておくことで抑制され、その作用機序としてカルシウムチャンネルの関与が考えられた。(日眼会誌 97:678-682, 1993)

キーワード: エンドセリン-1, 組織血流量, 視神経乳頭, 脈絡膜, カルシウム拮抗剤

Effect of Endothelin-1 on Ocular Circulation

Tetsuya Sugiyama, Hidehiro Oku, Shinichi Moriya,
Kazuhiro Shimizu, Jun Hamada and Ikuo Azuma

Department of Ophthalmology, Osaka Medical College

Abstract

Endothelin (ET)-1, a potent vasoconstrictor which was discovered recently, might be involved in the regulation of ocular circulation. In this paper, we studied the effects of ET-1 on capillary blood flow of the optic nerve head and choroid in rabbits, using a hydrogen gas clearance flowmeter. Intravitreal injection of 0.1 ml of ET-1 at 10^{-5}M and 10^{-6}M caused a significant decrease in blood flow, which in the optic nerve head continued more than 3 hours, but in the choroid recovered at 3 hours after the injection (maximum decrease occurred at 75 minutes and at 30~60 minutes, respectively). Intraocular pressure was reduced as the time passed. Intravenous administration of 10^{-10}mol/kg of ET-1 induced a reduction in blood flow, which in the optic nerve head continued more than 3 hours, but in the choroid recovered at 90 minutes after the administration. Intraocular pressure was reduced during 3 hours' observation. The decrease in blood flow in the optic nerve head was inhibited by previous administration of calcium antagonist (nicardipine), so the calcium channel was thought to be involved in this reaction. (J Jpn Ophthalmol Soc 97: 678-682, 1993)

Key words: Endothelin, Capillary blood flow, Optic nerve head, Choroid, Calcium antagonist

別刷請求先: 569 高槻市大学町2-7 大阪医科大学眼科学教室 杉山 哲也

(平成4年10月30日受付, 平成4年12月28日改訂受理)

Reprint request to: Tetsuya Sugiyama, M.D. Department of Ophthalmology, Osaka Medical College,
2-7 Daigaku-cho, Takatsuki 569, Japan

(Received October 30, 1992 and accepted in revised form December 28, 1992)

I 緒 言

エンドセリンは1988年に柳沢ら¹⁾によって発見された、強力かつ持続的な血管収縮作用を有する生理活性ペプチドで、眼内でも虹彩、毛様体、網脈絡膜などに受容体の存在が証明されている²⁾。臨床的には虚血性心疾患の冠血管攣縮や、クモ膜下出血後の脳血管攣縮の発生との関連性が報告されている³⁾⁴⁾他、眼科領域でも低眼圧緑内障患者の血中エンドセリン活性値が正常者より高値であるという報告⁵⁾がある。エンドセリンを家兎・硝子体内に投与すると眼圧低下²⁾、網膜血管の収縮²⁾⁶⁾⁷⁾、視神経乳頭の蒼白化と視覚誘発電位(VEP) N_1 潜時の延長⁸⁾を生じるというこれまでの報告を踏まえ、エンドセリン-1 (ET-1) 投与が家兎の視神経乳頭や脈絡膜の組織血流量に及ぼす影響を水素クリアランス法により検討した。

II 実験対象ならびに方法

実験動物として白色家兎22匹(体重2.5~4 kg) 44眼を用いた。全身麻酔薬としてウレタン1.3 g/kgを腹腔内投与し、約2時間後の安定した麻酔深度下で実験を行った。組織血流量測定には電解式組織血流計RBF-222(バイオメディカルサイエンス社製)を用いた。視神経乳頭の血流量測定時は眼球をやや上転位に固定した上で、輪部より3 mm後極側の強膜から針状関電極を硝子体中に挿入し、ビトレクトミーレンズを用いた直視下で下側乳頭へ血管を損傷しないように注意しながら浅く刺入した(図1, 2)。刺入部は実験終了後、組織学的に検討し比較的表層にとどまっていることを確認した。脈絡膜の血流量測定時は眼球を下転位に固定した上で、輪部より5 mm後極側の強膜に小切開を加え、最後の一層を残してほぼ全層を切開し、針状関電極をできるだけ眼球の接線方向から脈絡膜内に刺入した。なお、不関電極は頭部皮下に埋没した。いずれの血流量も15分ごと3回以上の測定値が安定していることを確認して実験を進めた。眼圧測定にはAlcon Applanation Pneumatograph[®]を用いた。試薬としてendothelin-1 (Human) (ペプチド研究所)を眼内灌流液(オベガードMA[®])で 10^{-6} Mおよび 10^{-6} Mに調整したもの(以下、ET-1)、また同様に 10^{-4} Mに調整した塩酸ニカルジピンを用いた。

1. 硝子体内投与による影響

輪部から3 mm後極側の強膜から30G針にてET-1またはオベガードMA[®]を0.1 ml硝子体内に注入し、



図1 ビトレクトミーレンズを用いて家兎・視神経乳頭に刺入した針状関電極。

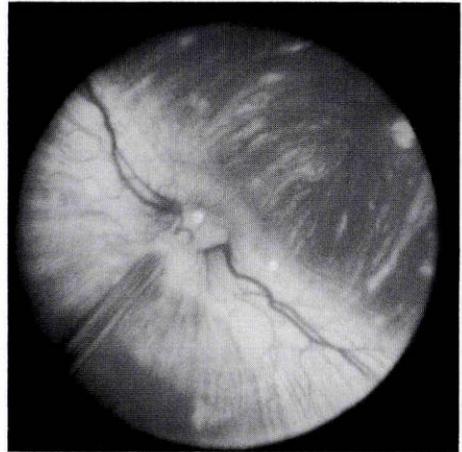


図2 針状関電極を視神経乳頭に刺入した家兎眼底。

同時に輪部から30 G針にて前房穿刺し、眼圧を処置前と同じになるよう調節した。この時の視神経乳頭および脈絡膜の組織血流量を15分ごと3時間にわたって測定した。同じ条件で眼圧の経時的変化も30分ごと3時間にわたって測定した。

2. 静脈内投与による影響

耳静脈から27 G針にてET-1 (10^{-6} M) 0.1 ml/kg、すなわち 10^{-9} mol/kgを投与し、実験1と同様の測定を行った他、同時に大腿動脈圧を圧トランスデューサーで測定し、血圧変化についても検討した。

3. カルシウム拮抗剤前投与による影響

カルシウム拮抗剤として塩酸ニカルジピン ($10^{-4}M$) $10 \mu l$ を 30 G 針にて硝子体内に投与し、20 分後に ET-1 ($10^{-6}M$) $10 \mu l$ を同様に硝子体内に投与した。対照として塩酸ニカルジピンの代わりにオベガード MA® $10 \mu l$ を前投与し、同様に ET-1 ($10^{-6}M$) $10 \mu l$ を投与した。この時の視神経乳頭の組織血流量を 15 分ごと 3 時間にわたって測定した。

III 結果

1. 硝子体内投与による影響 (図 3 ~ 5)

視神経乳頭の組織血流量は ET-1 投与 75 分後をピークとして有意に減少し、3 時間後でも対照に比し有意に低値であった。その傾向は $10^{-5}M$ の方が $10^{-6}M$ より明確であった。最大減少率は $10^{-5}M$ で約 18.5%、 $10^{-6}M$ で約 15.7% であった。対照では測定時間中、有意な変動を認めなかった。一方、脈絡膜の組織血流量は ET-1 投与後 30 分から 60 分をピークとして有意に

減少したが、徐々に回復し、3 時間後には投与前の値に回復した。減少率は $10^{-5}M$ の方が $10^{-6}M$ よりやや大きかった。最大減少率は $10^{-5}M$ で約 14.8%、 $10^{-6}M$ で約 11.0% であった。対照では 60 分後をピークにやや増加を認めた。眼圧は対照で 30 分後をピークに一過性に上昇し、 $10^{-6}M$ の ET-1 投与でも程度はやや小さいものの同様の傾向を認めた。 $10^{-5}M$ の ET-1 投与で

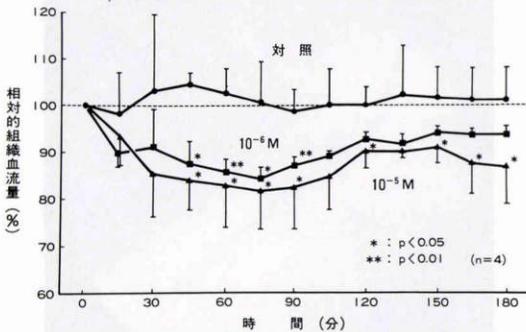


図3 エンドセリン-1 (0.1 ml) 硝子体内投与による視神経乳頭・組織血流量の変化。バーは標準偏差を示す (以下同様)。

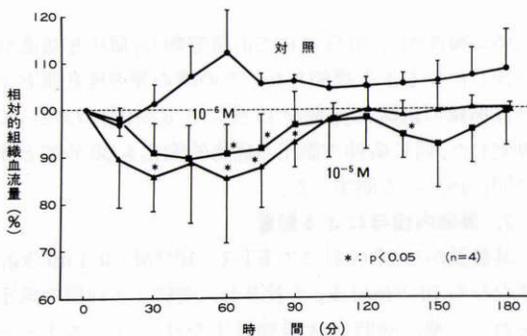


図4 エンドセリン-1 (0.1 ml) 硝子体内投与による脈絡膜・組織血流量の変化。

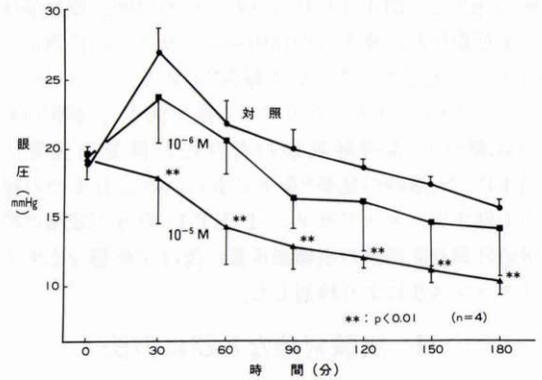


図5 エンドセリン-1 (0.1 ml) 硝子体内投与および前房穿刺による眼圧変化。

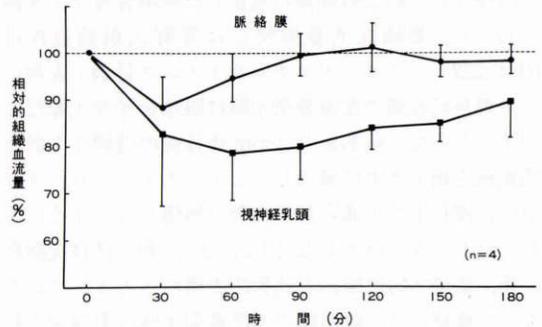


図6 エンドセリン-1 ($10^{-10}mol/kg$) 静注による組織血流量の変化。

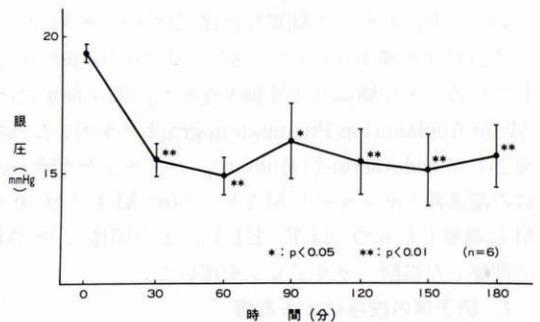


図7 エンドセリン-1 ($10^{-10}mol/kg$) 静注による眼圧変化。

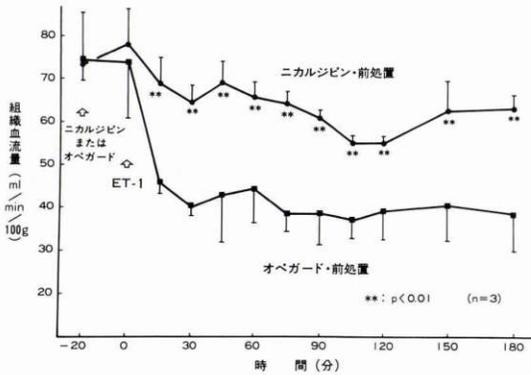


図8 ニカルジピン (10^{-4}M , $10\ \mu\text{l}$) 前処置後のエンドセリン-1 (10^{-6}M , $10\ \mu\text{l}$) 硝子体内投与による視神経乳頭・組織血流量の変化。

は30分毎の測定で眼圧上昇は認められなかった。いずれの場合もその後徐々に下降し、3時間後でもさらに下降傾向を呈したが、 10^{-6}M のET-1投与では対照に比し有意に大きな眼圧下降を認めた。最大下降幅(mmHg)は 10^{-5}M で約8.7、 10^{-6}M で約5.5、対照で約3.3であった。

2. 静脈内投与による影響 (図6, 7)

視神経乳頭の組織血流量はET-1投与60分後をピークとして有意に減少し、3時間後でも投与前のレベルには回復しなかったのに対し、脈絡膜の組織血流量は30分後をピークとして一過性に減少したものの、90分後には投与前のレベルに回復した。最大減少率は視神経乳頭で約20.1%、脈絡膜で約11.7%であった。眼圧は60分後をピークとして有意に低下し、3時間後でも回復傾向を認めなかった。最大下降幅は4.5 mmHgであった。なお、血圧については、この量のET-1投与では有意な変動を認めなかった。

3. カルシウム拮抗剤前投与による影響 (図8)

視神経乳頭の組織血流量はこの投与方法ではET-1によって最大49.8% (105分) 減少したが、塩酸ニカルジピンを前投与しておくと、最大29.5% (105分, 120分) の減少にとどまった。

IV 考 按

エンドセリンが発見されて以来、眼との関連性についてはいくつかの報告がある。眼組織の中では虹彩、毛様体に特に多く、次いで網脈絡膜に多く存在することが知られており²⁾、その薬理作用として瞳孔、眼圧、調節、網脈絡膜血流などへの関与を示唆する報告もあ

る²⁾⁶⁾⁷⁾⁹⁾。一方、エンドセリン-1によってVEP頂点潜時の延長を生じるという報告⁸⁾から、視神経乳頭への影響も大きいと思われるが、実際にその血流変化を測定した報告は今のところ見当たらない。網脈絡膜血流への影響についても詳細な報告はまだ数少ないのが現状である。

今回用いた電解式組織血流量计は水素クリアランス法を簡便化したもので、非生理的な水素ガス吸入が必要でなく、目的部位において水素電極針に水素を発生させるだけで短時間毎の反復測定が可能であるという利点をもつ¹⁰⁾。電極による組織損傷は避けられないが、対照眼との比較を行っているので、比較的限局した部位での薬剤の影響を見る方法として適切であると思われる。

今回の実験で用いたエンドセリン-1の量(濃度、容積)については、実験1と3では以前の電気生理学的な実験⁹⁾で用いた量(濃度、容積)をもとに決め、視機能と血流量の相関性の有無を見ようとした。実験2ではあらかじめ前置実験として数例で 10^{-12}mol/kg から10倍ずつ量を増していった時の血圧変化を調べ、血圧に有意な変動を認めない最大量を求めた。その量(10^{-10}mol/kg)で血流量や眼圧の変化を検討し、本実験とした。

さて、今回の実験結果で、エンドセリン-1投与(硝子体内、静脈内とも)によって視神経乳頭の方が周辺部脈絡膜よりも長時間にわたる血流減少を生じるという結論を得た。家兎・視神経乳頭の深部は脈絡膜血流系の供給を受けているが、今回の測定部位が視神経乳頭の比較的表層で、脈絡膜血流系よりむしろ網膜血流の供給を受けている¹¹⁾ことから、視神経乳頭と周辺部脈絡膜の血流変化に差異があっても矛盾はなく、エンドセリン-1が周辺部の脈絡膜血管よりも視神経乳頭に流入する網脈絡膜血管に強く作用することが推察される。これまでも家兎や牛摘出眼における網膜血管の持続的収縮についてはいくつかの報告⁷⁾¹²⁾があり、また猫でのマイクロスフェア法による血流量測定ではあるものの、網膜では有意に減少したが、脈絡膜では有意な変化がなかったとする報告¹³⁾もある。視神経乳頭と周辺部脈絡膜のエンドセリンに対する反応性の差の要因として、両者におけるエンドセリン受容体の分布の差が推測されるが、これは今後放射性同位元素などを用いた形態学的な研究による裏付けを要すると思われる。なお、エンドセリン-1によって有意な眼圧下降を生じることも示されており、このことが本来減少

していく脈絡膜血流を増加させる方向に作用し、比較的早期に回復させる結果になったことも考えられる(視神経乳頭の血流は自動調節能によって眼圧の影響を受けにくい)。また、この結果は同条件のエンドセリン-1投与で網膜電位図(ERG)よりもVEPの方が変化を来しやすいという電気生理学的な実験の結果⁸⁾とも合致する。

さらに、血圧に有意な変化を生じない量のエンドセリン-1静脈内投与によっても眼内血流や眼圧に対して硝子体内投与した場合と同様の変化が認められたことから、エンドセリン-1の眼内移行は比較的良好なことが推測されると同時に、低眼圧緑内障患者の血中エンドセリン活性値が正常者より高値であるという事実⁵⁾が、その視神経障害のメカニズムと関連する可能性も高いと考えられた。

カルシウム拮抗剤である塩酸ニカルジピンの前投与によってエンドセリン-1による視神経乳頭の血流減少が抑制されることが示され、エンドセリン-1の視神経乳頭循環への作用機序としてカルシウムチャンネルの関与が考えられた。なお、電気生理学的にも同条件の実験でエンドセリン-1によって生じるVEP N₁潜伏時延長が塩酸ニカルジピンの前投与により抑えられることが明らかになっており¹⁴⁾、視神経乳頭の機能と循環の相関性がここでも認められた。牛摘出眼・網膜細動脈の収縮がカルシウム拮抗剤(ニトレンジピン)によって抑えられるという報告¹²⁾もこれと関連があると思われる。また、このことはカルシウム拮抗剤(ニフェジピン)の内服により低眼圧内緑内障患者の視野障害改善が認められたという臨床的な報告¹⁵⁾を実験的に裏付けるものとも思われた。

なお、実験3でわずか10 μ lのエンドセリン-1投与であったにもかかわらず、対照群(オペガード群)において、実験1での0.1 ml投与の場合よりも大きい50%に近い血流減少が見られた。実験1と実験3ではエンドセリン投与量の違い以外に前房穿刺を行っているか否かの違いもあり、単純な比較はできないと思われるが、エンドセリンは作用する受容体により血管に対して反対の作用を生じることも報告されており、微量投与の方がより大きな血流減少を生じる可能性も全く否定はできない。今後、同条件(10 μ l投与)でより多くの濃度について調べ、この点を明らかにしていく必要があると思われる。

本論文の要旨は第58回日本中部眼科学会(平成4年10月、大阪)において発表した。

文 献

- 1) Yanagisawa M, Kurihara H, Kimura S, Tomobe Y, Kobayashi M, Mitsui Y, et al: A novel potent vasoconstrictor peptide produced by vascular endothelial cells. *Nature* 332: 411-415, 1988.
- 2) MacCumber MW, Jampel HD, Snyder SH: Ocular effects of the endothelins. Abundant peptides in the eye. *Arch Ophthalmol* 109: 705-709, 1991.
- 3) Kurihara H, Yamaoki K, Nagai R, Yoshizumi M, Takaku F, Satoh H, et al: Endothelin: A potent vasoconstrictor associated with coronary vasospasm. *Life Sci* 44: 1937-1944, 1989.
- 4) Ide K, Yamakawa K, Nakagomi T, Sasaki T, Saito I, Kurihara H, et al: The role of endothelin in the pathogenesis of vasospasm following subarachnoid hemorrhage. *Neuro Res* 11: 101-104, 1989.
- 5) 守屋伸一, 杉山哲也, 清水一弘, 浜田 潤, 徳岡 寛, 東 郁郎: 低眼圧緑内障とエンドセリン(ET-1). *眼紀* 43: 554-559, 1992.
- 6) Chakravarthy U, Archer DB: Endothelin: A new vasoactive ocular peptide. *Br J Ophthalmol* 76: 107-108, 1992.
- 7) 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作用. *日眼会誌* 96: 469-472, 1992.
- 8) 奥 英弘, 杉山哲也, 守屋伸一, 浜田 潤, 東 郁郎: エンドセリン投与による視機能変化. *日眼会誌* 96(抄録): 238, 1992.
- 9) Erickson-Lamy K, Korbmacher C, Schuman JS, Nathanson JA: Effect of endothelin on outflow facility and accommodation in the monkey eye in vivo. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 32: 492-495, 1991.
- 10) 堀内二彦, 椎名一雄, 田島秀樹, 大野理子: 眼血流量の測定—レーザー・ドップラー血流計, 電解式組織血流計ならびに熱勾配式組織血流計の評価—. *あたらしい眼科* 4: 559-564, 1987.
- 11) Sugiyama K, Bacon DR, Morrison JC, Van Buskirk EM: Optic nerve head microvasculature of the rabbit eye. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 33: 2251-2261, 1992.
- 12) Nyborg NCB, Prieto D, Benedito S, Nielsen PJ: Endothelin-1 induced contraction of bovine retinal small arteries is reversible and abolished by nitrendipine. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 32: 27-31, 1991.
- 13) Granstam E, Wang L, Bill A: Ocular effects of endothelin-1 in the cat. *Curr Eye Res* 11: 325-332, 1992.
- 14) 奥 英弘, 杉山哲也, 守屋伸一, 清水一弘, 東 郁郎: エンドセリン-1硝子体内注入による視機能変化とニカルジピンの作用. 第40回日本臨床視覚電気生理学会・抄録集: 26, 1992.
- 15) 白井久行, 浅野紀美江, 北澤克明, 吳 輔仁: Ca²⁺拮抗剤の低眼圧緑内障視野変化に及ぼす影響. *日眼会誌* 92: 792-797, 1988.