

エンドセリン-1 眼循環障害モデルを用いた塩酸ブナゾシンの評価

杉山 哲也, 奥 英弘, 守屋 伸一, 清水 一弘, 東 郁郎

大阪医科大学眼科学教室

要 約

現在開発中の抗緑内障薬である塩酸ブナゾシン（選択的 α_1 遮断剤）の硝子体内投与が、正常眼およびエンドセリン-1 投与眼（眼循環障害モデル）の乳頭循環に及ぼす影響を白色家兎で検討した。電解式組織血流計（水素クリアランス法）を用いた乳頭組織血流量の測定（5時間）や、眼底写真を用いた相対的網膜動脈径（乳頭縁の網膜動脈径/乳頭径）の計測を行った。正常眼では塩酸ブナゾシン投与による乳頭組織血流量の有意な変化を認めなかったが、エンドセリン-1 投与眼では塩酸ブナゾシン前投与によって乳頭組織血流量の減少が測定時間中、有意

に抑制された。また、相対的網膜動脈径はエンドセリン-1 投与眼で5時間後を最大として減少したが、塩酸ブナゾシンを前投与すると、その減少は抑制される傾向にあり、一部で有意差も認められた。塩酸ブナゾシンはエンドセリン-1 による乳頭循環障害を抑制することが明らかとなり、眼循環の観点からも有用性が期待される。（日眼会誌 98：63—68, 1994）

キーワード：塩酸ブナゾシン, エンドセリン-1, 視神経乳頭, 組織血流量, 相対的網膜動脈径

Evaluation of Bunazosin Hydrochloride with a Model of Ocular Circulation Disturbance Induced by Endothelin-1

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

Department of Ophthalmology, Osaka Medical College

Abstract

We studied the effect of bunazosin hydrochloride, a selective α_1 blocker under development as an antiglaucomatous drug, on the circulation of the optic nerve head (ONH) in normal and endothelin-1 treated albino rabbit eyes. The effect was investigated by measurement of the capillary blood flow in the ONH, using a hydrogen gas clearance flowmeter (for 5 hours). The relative caliber of the retinal artery (the caliber of the retinal artery at the edge of the ONH/that of the ONH) was also measured, using fundus photography. Administration of bunazosin hydrochloride had no significant effect on the capillary blood flow in the ONH in normal eyes, but it inhibited the decrease of blood flow for at least 5

hours in the endothelin-1 treated eyes. The relative caliber of the retinal artery decreased in the endothelin-1 treated eyes (maximum at 5 hours), but previous administration of bunazosin hydrochloride inhibited the decrease. Thus, Bunazosin hydrochloride inhibits the disturbance of ONH circulation induced by endothelin-1 and promises to be useful also with regard to the ocular circulation. (J Jpn Ophthalmol Soc 98: 63—68, 1994)

Key words: Bunazosin hydrochloride, Endothelin-1, Optic nerve head, Capillary blood flow, Relative caliber of the retinal artery

I 緒 言

塩酸ブナゾシンは本邦で近年開発された選択的 α_1 遮断剤であるが、その点眼液は健康者や高眼圧症患者の眼

圧を有意に下降させ、しかも血圧、脈拍数など心血管系に対する影響を含めて臨床的に問題となる副作用を認めない¹⁾ことから、緑内障治療薬としての臨床応用が見込まれ、現在多施設での臨床試験中である。その眼圧下降

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

(平成5年7月19日受付, 平成5年8月12日改訂受理)

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

(Received July 19 1993 and accepted in revised form August 12 1993)

機序は既存の眼圧下降剤と異なり, uveoscleral flow の増加によるものと考えられている²³⁾.

一方, 低眼圧緑内障を始めとする緑内障の一部では血管性障害が病因に関わっていることが示唆されており⁴⁵⁾, 実際に Ca^{2+} 拮抗剤の内服により低眼圧緑内障の一部の症例で視野障害の改善が認められたという報告⁶⁾もある. したがって, 緑内障治療薬の眼循環への影響を検討することは重要なことと思われる.

ところで, エンドセリンは近年本邦で発見された, 強力かつ持続的な血管収縮物質⁷⁾であるが, 冠血管攣縮や脳血管攣縮などへの関与についての報告⁸⁾⁹⁾の他, 眼科領域では低眼圧緑内障で血中エンドセリン-1活性値が正常者より高値であるとの報告¹⁰⁾や家兎・硝子体内への投与により網膜血管の収縮¹¹⁾¹²⁾, 視神経乳頭や脈絡膜の血流量減少¹³⁾¹⁴⁾, 視覚誘発電位の潜時延長¹⁵⁾などを生じたとの報告があり, 眼循環調節因子としても注目されつつある. 今回, エンドセリン-1による眼循環障害モデルを用いて, 塩酸ブナゾシン点眼液が乳頭循環に及ぼす影響を検討した.

II 実験方法

実験動物として, 成熟白色家兎26匹(体重2.5~3.5 kg)52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バイオメディカルサイエンス社製・電解式組織血流量計RBF-222を用いた. 視神経乳頭の血流量測定法の詳細は前報¹³⁾の通りである. 眼圧測定にはAlcon Applanation Pneumatograph[®]を用いた. 眼底撮影には興和社製・手持ち眼底カメラRC-2を用いた. 使用薬剤として0.01%塩酸ブナゾシン(DE-070)点眼液(参天製薬)(以下, BZ)およびendothelin-1(Human)(ペプチド研究所)を人工眼内灌流液(オベガードMA[®])で 10^{-6} Mに調整したもの(以下, ET-1)を用い, 硝子体内注入に際してはハミルトン社製・マイクロシリンジ#705(50 μ l)を用いた.

実験1: 正常眼における塩酸ブナゾシンの影響

輪部より3 mm後極側の強膜から30 G針にて一眼にBZを, 他眼に对照としてオベガードMA[®]を10 μ l硝子体内に注入した. なお, ごく微量の注入なので注入そのものによる眼球容積の増加は無視できると考え, 前房穿刺は行わなかった(以下, 同様). この時の視神経乳頭・組織血流量を30分ごと5時間にわたって測定した. 同じ条件で眼圧の変化も30分ごと5時間にわたって測定した. なお, 眼圧測定時の眼球圧迫が乳頭・組織血流量に及ぼす影響を排除するため, 組織血流量と眼圧とは別の個体で測定した(以下, 同様).

実験2: 眼循環障害モデルにおける塩酸ブナゾシンの影響(乳頭血流量, 眼圧)

輪部より3 mm後極側の強膜から30 G針にて一眼に

BZを, 他眼に对照としてオベガードMA[®]を10 μ l硝子体内に注入し, その1時間後に同様な方法でET-1を10 μ l両眼の硝子体内に注入した. この時の視神経乳頭・組織血流量と眼圧の経時変化を30分ごと5時間にわたって測定した(ET-1投与の時点をも0分とした).

実験3: 眼循環障害モデルにおける塩酸ブナゾシンの影響(眼底所見)

実験2と同様の薬剤投与を行う前と行った後1, 2, 3, 5時間および1, 7, 21日の眼底写真をミドリンP[®]点眼による散瞳下で撮影した. 得られたスライドを映写して約40倍に拡大し, 乳頭縁での網膜動脈の径(耳側と鼻側の2か所)および乳頭の縦径を測定することにより相対的網膜動脈径(網膜動脈径/乳頭径)を算出し, 平均した. 投与前の相対的網膜動脈径を100%として, その経時変化を求めた.

III 結果

実験1: 正常眼における塩酸ブナゾシンの影響

視神経乳頭・組織血流量はBZ(0.01%塩酸ブナゾシン点眼液)投与により5時間の観察時間中, 对照に比べて

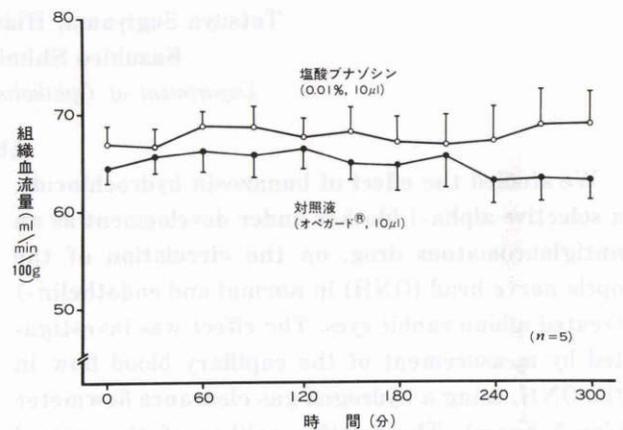


図1 塩酸ブナゾシン硝子体内投与による視神経乳頭・組織血流量の変化(正常眼).

バーは標準誤差を示す(以下, 同様).

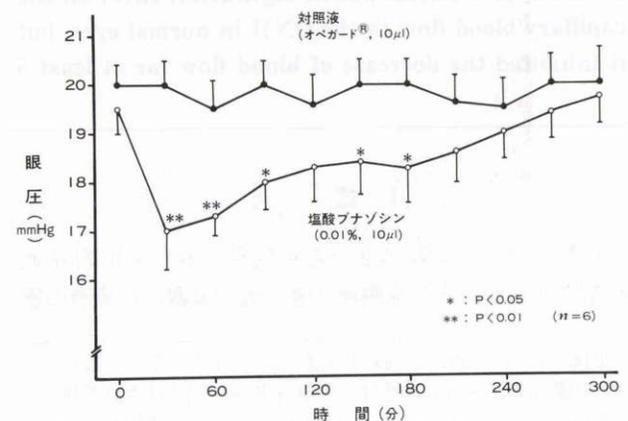


図2 塩酸ブナゾシン硝子体内投与による眼圧の変化(正常眼).

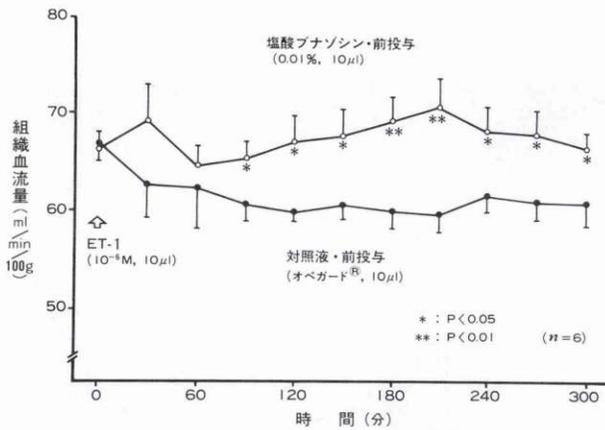


図3 塩酸ブナゾシン前投与による視神経乳頭・組織血流量の変化 (ET-1眼循環障害モデル)。

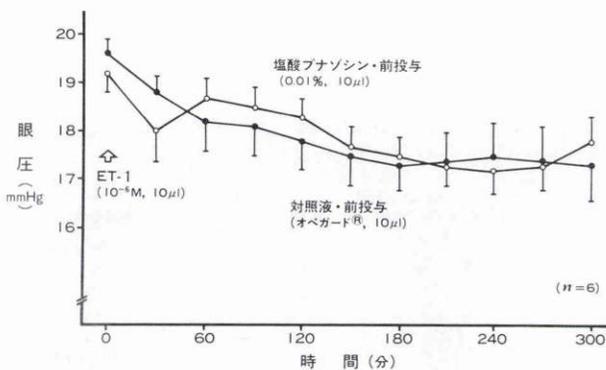


図4 塩酸ブナゾシン前投与による眼圧の変化 (ET-1眼循環障害モデル)。

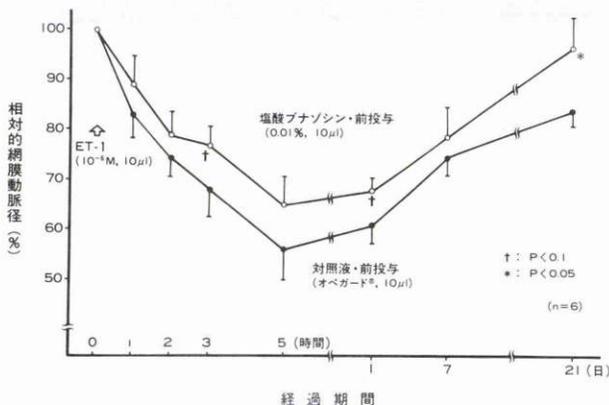


図5 塩酸ブナゾシン前投与による相対的網膜動脈径の変化 (ET-1眼循環障害モデル)。

有意な変化を認めなかった(図1)。一方、眼圧はBZ投与により30分後から3時間後まで対照に比べて有意な下降を認めた。最大下降は30分後で、対照に比し3.0 mmHgであった(図2)。

実験2：眼循環障害モデルにおける塩酸ブナゾシンの影響(乳頭血流量、眼圧)

視神経乳頭・組織血流量は対照液・前投与では90分後から5時間後まで初期値に対する有意な減少を認めた

(最大減少は210分後で、初期値の10.3%)が、BZ・前投与では5時間の観察時間中、初期値に対する有意な変化を認めないものの、90分後から5時間後まで対照に比べて有意差(最大の差は210分後)を認めた(図3)。一方、眼圧はいずれの場合も初期値に対して有意に下降した(最大下降はBZ・前投与では4時間後で2.0 mmHg、対照液・前投与では3および5時間で2.3 mmHg)が、観察時間中、両者間で有意差を認めなかった(図4)。

実験3：眼循環障害モデルにおける塩酸ブナゾシンの影響(眼底所見)

相対的網膜動脈径はBZ・前投与、対照液・前投与いずれの場合も観察期間内では5時間後をピークに(BZ・前投与では65%に、対照液・前投与では56%に)減少したが、全経過を通して前者の方が後者より減少率が少ない傾向を示し、特に21日後では有意差を認めた(図5)。典型例を図6に示したが、BZ・前投与では対照液・前投与に比べ、網膜血管収縮の程度のみならず、乳頭の蒼白化も比較的軽度であった。

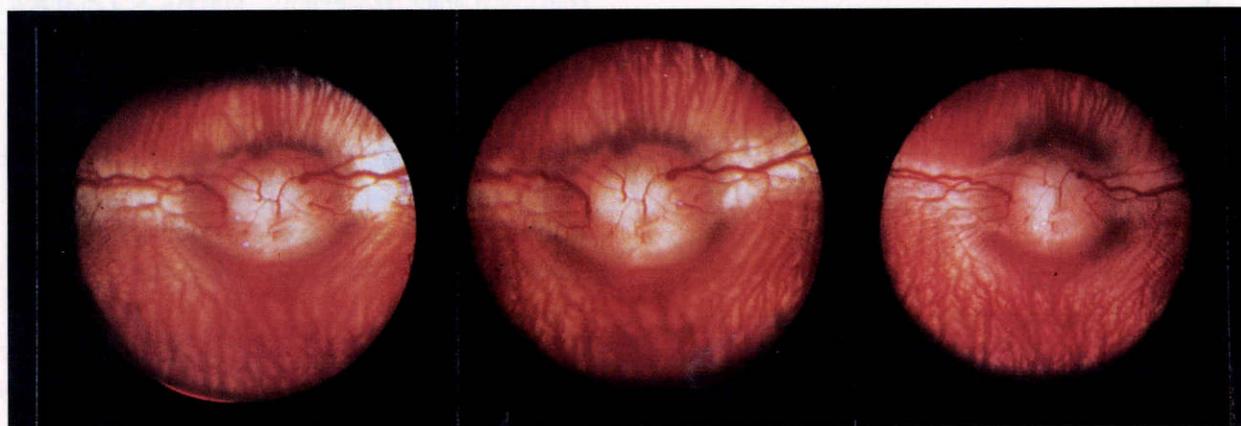
IV 考 按

塩酸ブナゾシン点眼液は近年、緑内障治療薬として開発中の選択的 α_1 遮断剤であり、眼循環との関連では、眼脈流量への影響を臨床的に調べた報告¹⁶⁾や摘出眼動脈の灌流圧への影響¹⁷⁾、脈絡膜組織血流量への影響を調べた報告¹⁸⁾は認められるが、視神経乳頭循環に及ぼす影響を検討した報告は今のところ見当たらない。

さて、エンドセリンと眼との関わりについては、最近各方面から研究が進められており、瞳孔、眼圧、調節、眼循環、血液・眼関門などへの関与^{19)~22)}が報告されているが、エンドセリン投与による眼循環障害をモデルとして薬物の効果を検討した報告はまだほとんどない。著者らは前報でエンドセリン-1の硝子体内投与により、視神経乳頭の血流量減少が3時間以上にわたって続くこと、同時に眼圧下降も持続することを報告した¹³⁾。さらに、低眼圧緑内障で血中エンドセリン-1活性値が高値であることから、低眼圧緑内障の病態にエンドセリン-1が関わっている可能性について報告した¹⁰⁾。これらのことから、エンドセリン-1による眼循環障害モデルを、低眼圧緑内障も含めた緑内障に対する治療薬の評価に用いることは意義のあることと考え、今回の実験を進めた。

今回用いた電解式組織血流計による測定の妥当性については前報¹³⁾でも述べたように、電極による侵襲性は避けられないが、微小循環の変化を知る上で広く受け入れられている水素クリアランス法をもとにしたものであり、同一個体の他眼を対照としているので問題がないと考える。また、実験3で用いた、眼底写真をスライド映写により拡大して相対的網膜動脈径の変化を求める方法は人眼で薬剤の影響を見る際に用いた報告²³⁾もあり、焦点の合った写真を用いる限り、適切であると考えられる。

<塩酸ブナゾシン・前投与>



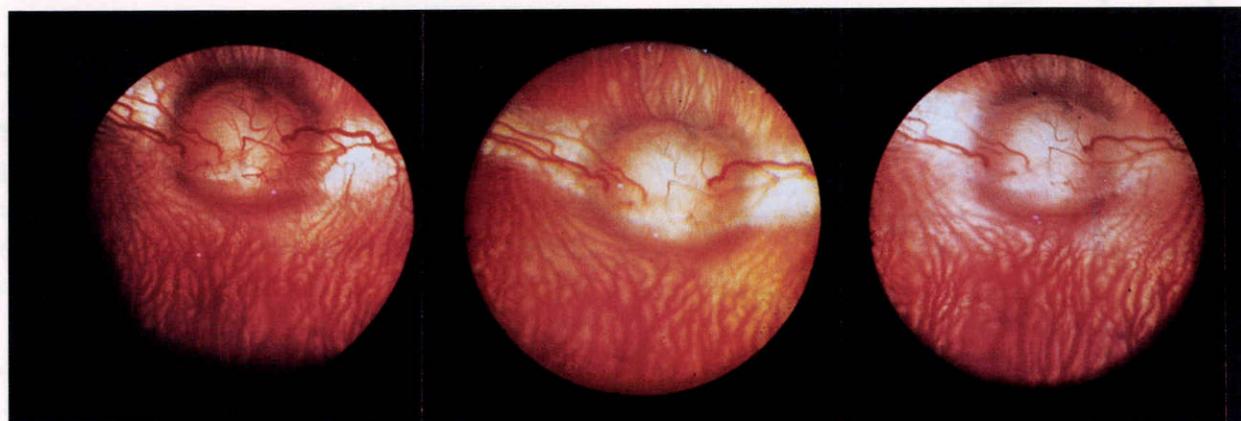
ET-1 注入前

注入後 1 時間

注入後 21 日

a

<対照液・前投与>



ET-1 注入前

注入後 1 時間

注入後 21 日

b

図 6 a, b 塩酸ブナゾシン前投与による眼底所見の変化 (ET-1 眼循環障害モデル).

今回の実験で用いた塩酸ブナゾシン点眼液の濃度は第 III 相臨床試験において用いられている濃度と同一の 0.01% である。ただし、乳頭循環への影響を水素クリアランス法によって検出しようとしたため、後極部へ十分な濃度が到達するよう、硝子体内に直接注入したが、容量は通常点眼量 (50 μ l) の 1/5 (10 μ l) とした。一方、エンドセリン-1 については、前報¹³⁾の実験 3 で容量が 10 μ l、濃度が 10^{-6} M について検討したところ、3 時間以上持続する乳頭血流量の減少を認めた。今回も前房穿刺を必要としないよう、なるべく少ない容量として 10 μ l の注入で、濃度を 10^{-6} M とした。

実験 1 の結果、塩酸ブナゾシン点眼液の硝子体投与は正常家兎の眼圧を有意に下降させたが、乳頭・組織血流量には有意な変化を生じなかった。塩酸ブナゾシンの点眼が家兎・眼圧を有意に下降させることについては既にいくつかの報告があり、0.005% の場合、最大の下降は点

眼 1 時間後で 3.3 mmHg であった¹⁸⁾。今回の場合は 30 分後で既に最大下降となったが、硝子体内投与により、作用部位への移行に要する時間が短縮された結果であろう。なお、眼圧の最大下降量は 3.0 mmHg で点眼の場合とあまり変わらなかった。にもかかわらず、既報で脈絡膜組織血流量が有意な増加を認めたのと異なり、今回、乳頭・組織血流量が有意な変動を示さなかったのは、乳頭循環が脈絡膜循環と違って、ある程度の (少なくとも今回の眼圧変動内での) 自動調節機構を有しているためと考えられた。

実験 2 の結果、塩酸ブナゾシン点眼液は対照液前投与と同程度の眼圧下降を生じた一方で、エンドリセン-1 による眼循環障害モデルの乳頭血流量減少を抑制した。なお、追加実験として、同条件下での大腿動脈平均血圧の変化も検討したが、両群とも有意な変化を認めなかった。したがって、両群間で眼灌流圧 (全身平均血圧 - 眼圧)

には差がないことになり、この結果は、おそらく乳頭循環の自動調節機構に関わりをもつと思われるエンドセリン-1¹³⁾¹⁵⁾に対して塩酸ブナゾシン点眼液が拮抗作用を発揮し得ることを示している。さらに、実験3の結果、乳頭縁での網膜動脈径の比較的長期間にわたる観察でも実験2と同様のことがいえた。今回の投与により生じたエンドセリン-1、塩酸ブナゾシンの硝子体内濃度は、それぞれ生理的または臨床的なものより高いものであり、この結果をそのまま臨床に結びつけることにはやや無理があるものの、低眼圧緑内障の病態にエンドセリン-1が関わっている可能性があること¹⁰⁾も考え合わせると、少なくとも低眼圧緑内障の治療にひとつの示唆を与える結果といえる。その臨床的検討については著者ら¹⁶⁾や東²⁴⁾の報告が一端を示しているが、今後、より多くの臨床データの積み重ねが必要であろう。

最後に、塩酸ブナゾシン点眼液がエンドセリン-1による乳頭循環障害を抑制した作用機構について薬理学的な考按を加える。エンドセリン-1の作用は血管平滑筋膜に存在するエンドセリン-1特異的受容体と結合することにより始まる。受容体の活性化により、Ca²⁺チャンネルを介するCa²⁺流入が促進されたり、イノシトール三リン酸(IP₃)による筋小胞体からのCa²⁺遊出が促進される結果、細胞内遊離Ca²⁺濃度が上昇する。そして、ミオシン軽鎖キナーゼが活性化されて筋収縮が開始されるものと推定されている²⁵⁾。一方、塩酸ブナゾシンはα₁受容体に選択的な遮断剤であるが、α₁受容体を介する作用発現の際には他の交感神経受容体(βやα₂の受容体)と異なり、細胞内遊離Ca²⁺が重要な役割を果たしている。すなわち、電位依存性Ca²⁺チャンネルやIP₃系を介する細胞内遊離Ca²⁺濃度上昇がCキナーゼ活性化とともにα₁作用発現の引き金になると考えられている²⁶⁾。したがって、塩酸ブナゾシンによってα₁受容体が遮断される際には細胞内遊離Ca²⁺濃度上昇も抑制されることになり、エンドセリン-1の作用発現も抑えられるのではないかと推測される。しかし、塩酸ブナゾシンがエンドセリン-1受容体に直接作用した可能性も否定はできず、今後の検討を要する。

本論文の要旨は第97回日本眼科学会総会(平成5年6月、札幌)において発表した。

文 献

- 1) 杉山哲也, 中島正之, 松田公夫, 徳岡 覚, 西川潤子, 東 郁郎: 塩酸ブナゾシン(選択的α₁遮断剤)点眼のヒト眼圧に対する効果. 臨眼 44: 821-824, 1990.
- 2) 杉浦康広, 新家 真: 塩酸ブナゾシンの家兎眼圧および房水動態に及ぼす影響. 日眼会誌 92: 1202-1207, 1988.
- 3) Oshika T, Araie M, Sugiyama T, Nakajima M, Azuma I: Effect of bunazosin hydrochloride on intraocular pressure and aqueous humor dynamics in normotensive human eyes. Arch Ophthalmol 109: 1569-1574, 1991.

- 4) 山上淳吉, 白土城照, 山本哲也: 低眼圧緑内障. 東郁郎(編): 眼科 Mook, 40, 緑内障の診療ガイド, 金原出版, 東京, 129-135, 1989.
- 5) 伊藤美樹, 関谷善文, 溝上国義: 低眼圧緑内障(LTG)における循環障害について. 神経眼科 8: 278-285, 1991.
- 6) 白井久行, 浅野紀美江, 北澤克明, 呉 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.
- 7) 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.
- 8) 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.
- 9) 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.
- 10) 守屋伸一, 杉山哲也, 清水一弘, 浜田 潤, 徳岡 覚, 東 郁郎: 低眼圧緑内障とエンドセリン(ET-1). 眼紀 43: 554-559, 1992.
- 11) 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.
- 12) 佐藤 剛, 武井一夫, 野々山智仁, 宮内 卓, 後藤勝年, 本村幸子: エンドセリン-1の家兎網膜血管に対する収縮作用. 日眼会誌 97: 683-689, 1993.
- 13) 杉山哲也, 奥 英弘, 守屋伸一, 清水一弘, 浜田 潤, 東 郁郎: エンドセリン-1の眼循環に及ぼす影響. 日眼会誌 97: 678-682, 1993.
- 14) 浪川雄一, 堀内二彦, 高橋寧子: 眼循環の研究—エンドセリンの脈絡膜血流量に与える影響—. 眼紀 44: 406-410, 1993.
- 15) 奥 英弘, 杉山哲也, 守屋伸一, 浜田 潤, 東 郁郎: エンドセリン硝子体内注入による視機能変化. 日眼会誌 97: 467-473, 1993.
- 16) 杉山哲也, 徳岡 覚, 守屋伸一, 中島正之, 東 郁郎: 低眼圧緑内障に対する塩酸ブナゾシン点眼の効果(眼脈流量を中心に). 臨眼 45: 327-329, 1991.
- 17) Ohkubo H, Chiba S: Pharmacological analysis of vasoconstriction of isolated canine ophthalmic and ciliary arteries to alpha-adrenoceptor agonists. Exp Eye Res 45: 263-270, 1987.
- 18) 杉山哲也: 塩酸ブナゾシン点眼の家兎・脈絡膜組織血流量, 眼圧に及ぼす影響. 日眼会誌 95: 449-454, 1991.
- 19) MacCumber MW, Jampel HD, Snyder SH: Ocular effects of the endothelins. Abundant peptides in the eye. Arch Ophthalmol 109: 705-709, 1991.
- 20) 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.
- 21) **Granstam E, Wang L, Bill A**: Effects of endothelins (ET-1, ET-2 and ET-3) in the rabbit eye; role of prostaglandins. *Eur J Pharmacol* 194: 217-223, 1991.
- 22) **Granstam E, Wang L, Bill A**: Ocular effects of endothelin-1 in the cat. *Curr Eye Res* 11: 325-332, 1992.
- 23) **Martin XD, Rabineau PA**: Vasoconstrictive effect of topical timolol on human retinal arteries. *Graefe's Arch Clin Exp Ophthalmol* 27: 526-530, 1989.
- 24) **東 郁郎**: 緑内障治療薬の進歩. *日眼会誌* 97: 1353-1369, 1993.
- 25) **平田結喜緒**: エンドセリンの作用と放出制御に関わる細胞内情報伝達系. *実験医学* 8: 124-131, 1990.
- 26) **岡島史和, 宇井理生**: α_1 , α_2 受容体の生化学. *最新医学* 41: 733-740, 1986.