

機関番号：11401

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2008 ～ 2010

課題番号：20592070

研究課題名（和文）

毛様動脈血管平滑筋に対するプロスタグランジン製剤の効果についての薬理学的研究

研究課題名（英文）

Pharmacological effect of various Prostaglandin analogues on ciliary artery smooth muscle cells

研究代表者

吉富 健志（YOSHITOMI TAKESHI）

秋田大学・大学院医学系研究科・教授

研究者番号：60191623

研究成果の概要（和文）：

プロスタグランジン製剤は眼圧下降剤として最も使用頻度の高い緑内障治療薬である。その血流に対する影響を薬理学的に検討した。この薬剤は点眼でも眼血流に影響することをレーザースペックル法で確認した。また、*in vitro* で血管弛緩作用を持っていることが明らかとなった。この弛緩作用はFP受容体ノックアウトマウスでも観察された。従ってこの薬剤がFP受容体を介さない機序で血管弛緩作用を持っていることが明らかとなった。

研究成果の概要（英文）：

Prostaglandin (PG) analogues lower IOP and have been widely used as ocular hypotensive drugs for the treatment of glaucoma. We investigated the effect of this drugs on ocular circulation. Topical PG also increases ocular blood flow measured by the laser speckle method. PG analogues also concentration-dependently relaxed mouse ciliary artery *in vitro*. This relaxation was also observed in prostanoid FP receptor-deficient mouse ciliary arteries. Thus, we conclude that the PG analogues relaxes ciliary arteries not dependent on prostanoid FP receptors

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	1,400,000	420,000	1,820,000
2009年度	1,200,000	360,000	1,560,000
2010年度	900,000	270,000	1,170,000
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：眼薬理学

科研費の分科・細目：外科的臨床医学・眼科学

キーワード：緑内障、眼循環、血管収縮、正常眼圧緑内障、眼血流、血管平滑筋
細胞内カルシウム動態、プロスタグランジン

1. 研究開始当初の背景

緑内障は日本人の失明原因の1位を占めるきわめて重要な疾患である。緑内障の進行に関して眼圧が非常に重要な危険因子であることは論を待たないが、眼圧の高くない、いわゆる「正常眼圧緑内障」が緑内障の病

型の中で最も多くを占めることもわかってきた。正常眼圧緑内障の治療には眼圧を下降させるだけでは十分でない症例もあり、眼圧下降以外の治療法が求められている。我々は以前から視神経近傍の循環が正常眼圧緑内障の進行に関与しているのではないかと興味を持って研究を進めてきた。種々

の緑内障治療薬が眼血流に影響を与えることが報告されているが、なぜこれらの薬物が血流に影響するのかという機序は全く明らかになっていない。そこで我々は今まで各種緑内障治療薬が眼循環にどのような影響を与えるかを *in vitro* で検討してきた。(Exp Eye Res 2007, Jpn J Ophthalmol. 2006, Exp Eye Res. 2004, Curr Eye Res 2004, Exp Eye Res. 2002, Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol. 2002)その結果、眼圧下降効果をねらって開発されている薬剤に血管平滑筋に対する作用があることを報告してきた。我々の研究の特色は「なぜ」血流に作用するのか、という作用機序を明らかにしようとする点に特徴がある。血流改善の作用を検討することによって新しい眼血流改善薬の開発にもつながってゆくと考えられる。

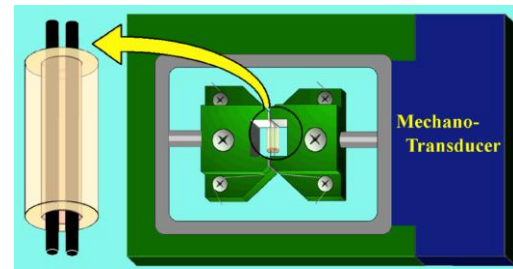
2. 研究の目的

我々は目の血管平滑筋に対する薬物の作用を薬理的に明らかにしようとしているが、このような試みは世界的に見てもあまり行われていない。一方で、眼以外の臓器の血管平滑筋に対する薬物の作用は非常に精力的に行われており、高血圧や心臓病の治療薬の開発に貢献している。例えば冠動脈を摘出した標本を使って、心筋梗塞に至る冠動脈スパズムの機序の研究や、冠動脈拡張を誘発する薬剤の研究、開発が行われている。その他にも脳血管を用いた実験では脳血管障害の機序や治療薬の研究が、腎血管標本では高血圧の研究、治療薬の開発が行われている。血管に対する薬剤の作用機序の検討、治療薬の開発などには欠くことの出来ない手法である。ところが眼循環に対してはそのような研究はあまり行われていない。血管平滑筋の性質には臓器特異性があり、眼循環が緑内障の治療にとっても重要であることが明らかになってきた今、目の血管を使ってこのような研究を押し進めることは将来の治療薬の開発の基礎的データを提供する意味でも非常に重要だと考えている。今回、最も使用頻度の高い緑内障治療薬であるプロスタグランジン製剤についてその血流に対する影響を薬理的に検討するのが今回の目的である。

3. 研究の方法

(1) ウサギ眼球より毛様動脈を摘出して等尺性収縮記録法を用いて張力を測定する実験を行い、各種 PG 製剤の血管拡張作用を調べる。

等尺性収縮記録法



(2) マウス毛様動脈血管平滑筋標本に fura2 などの蛍光プローブを取り込ませ、細胞内イオン濃度測定装置を使って細胞内のカルシウムイオン濃度を生きたままリアルタイムに測定した。



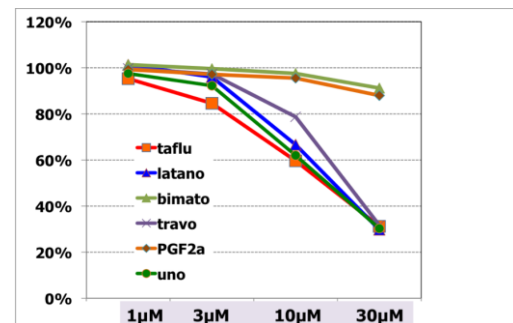
コントロール

高カリウム溶液

各種 PG 製剤の毛様動脈血管平滑筋に対する弛緩作用、細胞内 Ca 濃度に対する影響を検討した。また、同じ薬物でも高血圧や糖尿病などがあると薬剤に対する感受性に変化が生まれる可能性もある。高血圧ウサギを用いて同じような実験を行い、眼動脈血管平滑筋に与える影響を多面的に検討した。また、プロスタグランジン FP レセプターのノックアウトマウスを用いて、PG 製剤の毛様動脈に対する作用を検討した。

4. 研究成果

(1) PG 製剤のウサギ毛様動脈に対する効果を検討した。下のグラフにあるように様々な PG 製剤は毛様動脈弛緩作用を示した。眼圧下降効果が比較的弱いとされるウノ



プロストンが強い弛緩作用を示した反面、比較的強力な眼圧下降作用を有するとされるビマトプロストの弛緩作用は弱く、眼圧下降作用と血管弛緩作用の機序は異なると考えられた。

- (2)タフルプロストは PG 骨格の 15 位にフッ素を有する新規 PG 関連薬だが、今回我々はエンドセリン-1(ET-1)によって惹起される毛様動脈収縮に対するタフルプロスト及びラタノプロストの効果を検討した。更に、ET-1 によって惹起される眼血流障害に対するラタノプロスト点眼薬、タフルプロスト点眼薬及びタフルプロストの 15 位を水酸基に置換したタフルプロスト点眼薬(15-OH タフルプロスト)の作用を家兎にて検討した。家兎摘出毛様動脈に 10^{-8} M の ET-1 を投与して収縮させ、タフルプロストとラタノプロストの効果を Myograph System で評価した。タフルプロスト およびラタノプロストは 3×10^{-6} M の濃度から濃度依存的に弛緩作用を示した。
- 次にラタノプロスト、タフルプロストおの ET-1 惹起眼血流障害に及ぼす効果を検討した。家兎 ET-1 惹起眼血流障害モデルは、5 pmol の ET-1 溶液を硝子体内へ投与して作成し、レーザースペックル血流計を用いて視神経乳頭部の組織血流を覚醒下で測定した。まず 0.005% ラタノプロスト、0.0015% タフルプロストを ET-1 投与 120 分前、あるいは 240 分前に点眼し、ET-1 投与前、投与後 30、60、120 分後に組織血流を測定した。ラタノプロストは ET-1 投与 120 分前の点眼により有意な血流改善作用を示したが、240 分前点眼では効果を示さなかった。タフルプロストは ET-1 投与 120 分前点眼、240 分前点眼のいずれも有意な血流改善作用を示した。タフルプロスト およびラタノプロストは ET-1 惹起眼血流障害に対し、改善作用を示した。ラタノプロストに比してタフルプロストはより持続的な改善作用を示した。タフルプロストおよびラタノプロストの眼血流改善効果は、眼血管の弛緩作用によると考えられた。弛緩作用はタフルプロストの方がやや強力であった。(Kurashima H, Yoshitomi T, et. al. Exp Eye Res. 2010, Dong Y, Watabe H, Yoshitomi T et. al, Exp Eye Res. 2008)。
- (3) FP レセプターのノックアウトマウスでは PG 製剤の眼圧下降効果が減弱することが示されているが、我々の今までの実験から、眼圧下降効果と血管平滑筋に対する作用は基本的に異なることが示されているため、眼圧下降効果と異なることは十分に考えられる。そこで、FP レセプターのノックアウトマウスで毛様動脈の血管弛緩

作用が Wild Type のマウスとどのように異なるか検討した。様々なプロスタグランディン製剤は FP レセプターのノックアウトマウスでも Wild type マウスと同様に毛様動脈血管弛緩作用を持っていることが確認された。現在論文は投稿中である。今回の研究で、様々なプロスタグランディン製剤による血管弛緩作用には PG 受容体の関与が少ないことが示唆された。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 10 件)

1. Sawada Y, Ishikawa M, Sato N, Yoshitomi T. Optic Nerve Head Morphology Assessed by Laser Scanning Tomography in Normal Japanese Subjects. J Glaucoma 2010 Sep 16.[Equb ahead of print]
2. Makoto Ishikawa, Yoshitomi T, Charles F. Zorumski, and Yukitoshi Izumi. Effects of Acutely Elevated Hydrostatic Pressure in a Rat Ex Vivo Retinal Preparation. IOVS, 査読有, 51(12), 2010, 6414-6423
3. Abe S, Fujiwawa T, Yoshitomi T. Spontaneous closure of a stage 2 macular hole without detachment of the posterior hyaloid. Japanese journal of ophthalmology, 査読有, 54(6), 2010, 633-635
4. Kurashima H, Watabe H, Sato N, Abe S, Ishida N, Yoshitomi T. Effects of prostaglandin F(2 α) analogues on endothelin-1-induced impairment of rabbit ocular blood flow: Comparison among tafluprost, travoprost, and latanoprost. Experimental Eye Research, 査読有, 91(6), 2010, 853-859
5. Dong, Y., Watabe, H., Cui, J., Abe, S., Sato, N., Ishikawa, H., Yoshitomi, T. Reduced effects of endothelium derived hyperpolarizing factor in ocular ciliary arteries from spontaneous hypertensive rats. Experimental Eye Research, 査読有, 90(2), 2010, 324-329
6. Chen, W., Lin, H., Dong, N., Takaseki, S., Liu, Z., Yoshitomi, T. Cauterization of Central Cornea Induces Recruitment of Major Histocompatibility Complex Class II+ Langerhans Cells From Limbal Basal Epithelium. Cornea, 査読有, 29(1), 2010, 73-79
7. Ishikawa M, Fujiwara T, Yoshitomi T.

- Temperature-dependent ultrastructural changes in the cone interphotoreceptor matrix. *Jpn J Ophthalmol.*, 査読有, 53, 2009, 536-540
8. Ishikawa M, Watabe H, Hayakawa M, Yoshitomi T. Peripheral T-cell Lymphoma of the Eyelid. *Clinical Ophthalmol.*, 査読有, 3, 2009, 527-529
 9. Ishikawa M, Yoshitomi T. Effects of brinzolamide vs. timolol as an adjunctive medication to latanoprost on circadian intraocular pressure control in primary open-angle glaucoma Japanese patients. *Clinical Ophthalmol.*, 査読有, 3, 2009, 493-500
 10. Dong Y, Watabe H, Su G, Ishikawa H, Sato N, Yoshitomi T. Relaxing effect of tafluprost on isolated rabbit ciliary. *Exp Eye Res.*, 査読有, 87, 2008, 251-256

[学会発表] (計 8 件)

1. Ishikawa, M., Izumi, Y., Yoshitomi T, Involvement of glutamate in retinal degeneration induced by pressure elevation in isolated retina. **World Ophthalmology Congress, 2010.6.7, The Internationales Congress Centrum Berlin, Berlin, Germany**
2. Ishikawa M, Izumi Y, Sato, N, Sawada, Y, Abe S, Yoshitomi T, The effect of acute elevated hydrostatic pressure on the rat ex vivo eyecup preparation, **World Glaucoma Congress, 2009.7.9, The Hynes Convention Center, Boston, USA**
3. Yoshitomi T, Vasodilative Effects of Antiglaucomatous Prostaglandin Analogues, on Isolated Rabbit and Mouse Ciliary Artery (シンポジウム), **Asia Oceanic Glaucoma Society, 2008.12.6, Guangzhou, China**
4. Yoshitomi T, Effect of various antiglaucoma drugs on ocular blood flow (シンポジウム), **World Ophthalmology Congress, 2008.6.29, HKCEC, Hong Kong, China**
5. Yoshitomi T, Dong Y, Watabe H, Su G, Sato N, Abe S and Ishikawa H, Vasodilative Effects of Various Prostaglandin in F2 α Derivative, on Rabbit Ciliary Artery, **World Ophthalmology Congress, 2008.6.29, HKCEC, Hong Kong, China**

6. Fujiwara T, Iida T, Yoshitomi T, Retinal sensitivity of retinal capillary nonperfusion area associated with branch retinal vein occlusion, **World Ophthalmology Congress, 2008.6.29, HKCEC, Hong Kong, China**
7. Abe S, Sato N, Yoshitomi T, Inakagata S, Objective visual field by pupil perimetry, **World Ophthalmology Congress, 2008.6.29, HKCEC, Hong Kong, China**
8. Watabe H, Sato N, Takaseki S, Ishikawa H, Yoshitomi T, Vasodilatory effect of antiglaucomatous prostaglandin analogues in isolated rabbit and mouse ciliary arteries, **ARVO Annual Meeting, 2008.4.27, Ft. Lauderdale, FL, USA**

[図書] (計 9 件)

1. Changwon Kee, Takeshi Yoshitomi, Neeru Gupta, *Drugs I Cholinergic agents, Medical Treatment of Glaucoma World Glaucoma Association consensus series7*, Kluger Publications, 2010, 31-37
2. 吉富健志, I.トラベクレクトミー 術後管理, 新 Eye Surgery Now 3 緑内障手術これでバッチリ! メジカルビュー社, 2010, 60-65
3. Yoshitomi T, Ishikawa H, Action of various neuropeptides on iris smooth muscles, *Neuropeptides in the eye*, Research Signpost, 2009, 111-121
4. 吉富健志, 瞳孔 pupil, 現代の眼科学改訂第 10 版, 金原出版, 2009, 51-56
5. 吉富健志, 瞳孔疾患, 眼科研修ノート, 診断と治療社, 2009, 344-348
6. 吉富健志, 緑内障薬-副交感神経刺激薬-, 眼科プラクティス 23. 「眼科薬物治療 A to Z」, 文光堂, 2008, 515-516
7. 吉富健志, 術後早期のトラブルへの対処は? 浅前房、脈絡剝離への対処-結膜を大事に扱おう-眼科インストラクションコース 14 「トラベクレクトミー完全マスター」, メジカルビュー社, 2008, 150-152
8. 吉富健志, 15mmHg 未満で進行する正常眼圧緑内障は、どう管理するのか?, 眼科インストラクションコース 17 「眼

科診療のスキルアップ録内障編」, メジカルビュー社, 2008,85-95

9. 吉富健志, 視野進行判定と治療方針, 眼科診療のコツと落とし穴 3. 検査・診断, 中山書店, 2008, 96

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

○取得状況 (計 0 件)

[その他]

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

吉富 健志 (YOSHITOMI TAKESHI)

秋田大学・大学院医学系研究科・教授

研究者番号 : 60191623

(2) 研究分担者

佐藤 徳子 (SATO NORIKO)

秋田大学・大学院医学系研究科・助教

研究者番号 : 60431623

(H20:研究分担者)

(3) 連携研究者

()

研究者番号 :