

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 5 月 31 日現在

機関番号：11401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25462750

研究課題名(和文) 眼圧下降以外の緑内障治療薬の開発に関する基礎的、臨床的研究

研究課題名(英文) Development of new glaucoma therapy other than decreasing intraocular pressure

## 研究代表者

吉富 健志 (Yoshitomi, Takeshi)

秋田大学・医学(系)研究科(研究院)・教授

研究者番号：60191623

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：緑内障治療薬として知られる炭酸脱水酵素阻害剤はレーザースペックル血流測定装置を用いたin vivo実験でウサギの眼血流増加作用があり、この薬理作用として血管平滑筋弛緩作用が考えられた。さらにウサギの摘出眼動脈を用いたin vitro実験では、Acetazolamideで血管弛緩作用がほとんどないにもかかわらず、Dorzolamideには血管弛緩作用があることから、炭酸脱水酵素阻害作用とは異なる、すなわち眼圧下降機序とは全く異なる作用機序で血管平滑筋に作用することを認め、報告した(Jpn J Ophthalmol. 2016;60:103-10)。

研究成果の概要(英文)：Topically applied carbonic anhydrase inhibitor can increase optic disc blood flow in rabbit which was assessed using laser speckle flowgraphy analyzer. Further, we investigate the direct pharmacological effect of acetazolamide and dorzolamide on isolated ciliary arterial smooth muscle. Acetazolamide had little effect compared with dorzolamide on isolated rabbit ciliary arteries in vitro using isometric tension recording method. Those results indicate that carbonic unhydrase inhibitor increase optic nerve blood flow with different pharmacological mechanisms from decreasing intraocular pressure Jpn J Ophthalmol. 2016;60:103-10)。

研究分野：眼科 緑内障

キーワード：緑内障 眼循環 血管平滑筋 薬理学

## 1. 研究開始当初の背景

緑内障の治療として眼圧下降以外の治療として、神経保護と眼循環改善が候補としてあげられているが、臨床的応用になかなか至らないのが現状である。

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。その結果、 $\beta$ 遮断剤には電位依存性の  $Ca^{2+}$  チャネルに対する拮抗作用を持つ薬剤 (Betaxolol; Graefe's Arch Clin Exp Ophthalmol 1999; 237: 661-7) 薬剤分子に含まれる NO (一酸化窒素) によって血管平滑筋弛緩を惹起する薬剤

(Nipradilol; Exp Eye Res. 2002; 75: 669 - 76) 電位非依存性  $Ca^{2+}$  チャネル拮抗作用と細胞内収縮蛋白に対する  $Ca^{2+}$  感受性低下作用を持つ薬剤 (Levobunolol; Exp Eye Res. 2007; 84:1039-46) があることを明らかにしてきた。また、様々なプロスタグランジン製剤についてもその血管平滑筋に対する薬理作用を検討してきた。その結果眼圧下降作用として最も重要な FP 受容体をノックアウトしたマウスでも血管平滑筋に対する作用は変わらず、眼圧下降機序とは全く異なることを明らかにした。さらにその作用機序としてストア作動性  $Ca^{2+}$  チャネル拮抗作用が関与することも明らかにしてきた (Exp Eye Res. 2008; 87: 251-6)。さらに動物実験用にレーザースペックル血流測定装置を導入し、緑内障治療薬が血流にどのように影響するかをプロスタグランジン製剤を用いて検討して発表している (Exp Eye Res. 2010; 91: 853-9)。

## 2. 研究の目的

緑内障治療薬の中で、血管平滑筋に対する作用をまだ調べていない Brimonidine と Dorzolamide についてその作用機序を *in vitro* で調べる。また、レーザースペックルを用いてその眼循環効果を *In vivo* で調べていない  $\beta$  遮断薬、Brimonidine と Dorzolamide について効果を比較するさらに多施設共同研究によってプロスタグランジン製剤のなかで血管弛緩作用が異なる tafluprost, と latanoprost について、その視野進行に対する効果を比較検討する。

## 3. 研究の方法

ウサギ眼球より毛様動脈を摘出し、摘出した血管より実体顕微鏡下で血管平滑筋条片を作成し、等尺性収縮記録法を用いて張力を測定する。この収縮に対する

薬物や生体内活性物質の作用を測定することにより、細胞内のシグナル伝達への作用などの薬理学作用機序を検討する。このシステムを使って Brimonidine と Dorzolamide についてその血管平滑筋に対する作用機序を *in vitro* で調べる。さらにレーザースペックル計を用いて緑内障治療薬点眼後の眼血流の変化を調べる。この実験は同じ薬剤の眼循環に対する効果を *in vitro* と *in vivo* で比較するために行うもので、Brimonidine と Dorzolamide について行う予定である。

## 4. 研究成果

緑内障治療薬として知られる炭酸脱水酵素阻害剤はレーザースペックル血流測定装置を用いた *in vivo* 実験でウサギの眼血流増加作用があり、この薬理作用として血管平滑筋弛緩作用が考えられた。さらにウサギの摘出眼動脈を用いた *in vitro* 実験では、Acetazolamide で血管弛緩作用がほとんどないにもかかわらず、Dorzolamide には血管弛緩作用がある事から、炭酸脱水酵素阻害作用とは異なる、すなわち眼圧下降機序とは全く異なる作用機序で血管平滑筋に作用することを認め、報告した (Jpn J Ophthalmol. 2016;60:103-10)。さらに臨床で用いられている2種類のプロスタグランジン製剤を無作為に割り付けて視野の経過を見ている多施設スタディでは3年の観察期間を終了し、解析を進めている。

## 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 8件)

- 1) Dong Y, Sawada Y, Cui J, Hayakawa M, Ogino D, Ishikawa M, Yoshitomi T. Dorzolamide-induced relaxation of isolated rabbit ciliary arteries mediated by inhibition of extracellular calcium influx. Jpn J Ophthalmol. 2016; 60:103-10. doi: 10.1007/s10384-015-0423-z. (査読有り)
- 2) Fujiwara K, Yasuda M, Ninomiya T, Hata J, Hashimoto S, Yoshitomi T, Kiyohara Y, Ishibashi T. Insulin Resistance Is a Risk Factor for Increased Intraocular Pressure: The Hisayama Study. Invest Ophthalmol Vis Sci. 2015; 56:7983-7. doi: 10.1167/iovs.15-16766. (査読有り)
- 3) Sawada Y, Hangai M, Murata K, Ishikawa M, Yoshitomi T. Lamina Cribrosa Depth Variation Measured by Spectral-Domain

Optical Coherence Tomography Within and Between Four Glaucomatous Optic Disc Phenotypes. Invest Ophthalmol Vis Sci. 2015; 56:5777-84. doi: 10.1167/iovs.14-15942. (査読有り)

- 4) Ishikawa M, Yoshitomi T, Zorumski CF, Izumi Y. Experimentally Induced Mammalian Models of Glaucoma. Biomed Res Int. 2015;2015:281214. doi:10.1155/2015/281214. (査読有り)
- 5) Ishikawa M, Sawada Y, Yoshitomi T. Structure and function of the interphotoreceptor matrix surrounding retinal photoreceptor cells. Exp Eye Res. 2015;133: 3-18. doi: 10.1016/j.exer.2015.02.017. (査読有り)
- 6) Ishikawa M, Yoshitomi T, Zorumski CF, Izumi Y. Neurosteroids are endogenous neuroprotectants in an ex vivo glaucoma model. Invest Ophthalmol Vis Sci. 2014; 55:8531-41. doi: 10.1167/iovs.14-15624. (査読有り)
- 7) Abe S, Watabe H, Takaseki S, Aihara M, Yoshitomi T. The effects of prostaglandin analogues on intracellular Ca<sup>2+</sup> in ciliary arteries of wild-type and prostanoid receptor-deficient mice. J Ocul Pharmacol Ther. 2013; 29:55-60. doi: 10.1089/jop.2011.0197. (査読有り)
- 8) 早川真弘, 澤田有, 阿部早苗, 渡部広史, 石川誠, 藤原聡之, 吉富健志. ドルゾラミド/チモロールマレイン酸塩配合点眼液への切り替え経験, あたらしい眼科, 30(2), 261-264, 2013(査読有り)

〔学会発表〕(計 18件)

- 1) Fujiwara K, Yasuda M, Ninimiya T, Hata J, Hashimoto S, Ikeda Y, Yoshitomi T, Kiyohara Y, Ishibashi T : Insulin resistance is a risk factor for the elevation of intraocular pressure: the Hisayama Study. The 8<sup>th</sup> Joint Meeting of JAPAN-CHINA-KOREA Ophthalmologists. Fukuoka, October 17-18, 2015
- 2) 石川 誠, 吉富健志, 和泉幸俊 : 眼圧上昇と 24S-hydroxycholesterol の発現上昇の関連について. 第 35 回日本眼薬理学会, 2015 年 9 月 5・6 日, 東京
- 3) 石川誠, 吉富健志, 和泉幸俊 : 眼圧上昇時の神経ステロイドの誘導メカニズム. (優秀展示賞受賞) 第 26 回日本緑内障学会, 2015 年 9 月 11 ~ 13 日, 名古屋

- 4) 太田悠介, 高関早苗, 吉富健志 : LSVG を用いたウサギ眼血流と摘出毛様動脈平滑筋の収縮弛緩に及ぼす Rho キナーゼ阻害薬リパスジルの影響. 第 26 回日本緑内障学会, 2015 年 9 月 11 ~ 13 日, 名古屋
- 5) Ishikawa M, Yoshitomi T, Izumi Y : Upregulation of neurosteroid synthesizing enzyme in an *ex vivo* rat glaucoma model. The 6<sup>th</sup> world glaucoma congress. Hong Kong, June 6-9, 2015
- 6) Sawada Y, Ishikawa M, Fujiwara K, Yoshitomi T : Lamina cribrosa anterior surface depth and morphology in normal eyes. The 6<sup>th</sup> world glaucoma congress. Hong Kong, June 6-9, 2015
- 7) 荻野 大, 渡辺 駿, 太田悠介, 藤原康太, 齊藤裕輔, 吉富健志. ウサギ毛様動脈に対するカブサイシン血管収縮抑制作用. 第 34 回日本眼薬理学会, 2014 年 9 月 13 日 ~ 14 日, 岐阜
- 8) 渡辺 駿, 董 雅儒, 高関早苗, 吉富健志. 炭酸脱水酵素阻害剤の眼動脈平滑筋に対する効果の検討 (第 2 報) 第 34 回日本眼薬理学会, 2014 年 9 月 13 日 ~ 14 日, 岐阜
- 9) 石川 誠, 吉富健志, 和泉幸俊. ラット *ex vivo* 加圧モデルにおけるアロプレグナノロンの発現. 第 25 回日本緑内障学会, 2014 年 9 月 19 ~ 21 日, 大阪
- 10) 藤原康太, 安田美穂, 二宮利治, 秦 淳, 橋本佐和子, 池田康博, 吉富健志, 清原裕, 石橋達朗. Insulin resistance is a risk factor for the elevation in intraocular pressure: the Hisayama Study. 第 25 回日本緑内障学会, 2014 年 9 月 19 ~ 21 日, 大阪
- 11) Makoto Ishikawa, Takeshi Yoshitomi, and Yukitoshi Izumi . Pressure-dependent changes of glutamate transporters in the *ex vivo* rat retinal preparation. WOC2014 - APAO2014 - 118 t h JOS 2014 年 4 月 2 日 ~ 6 日, Tokyo
- 12) Dai Ogino, Shun Watanabe, Yusuke Ohta, Kota Fujiwara, Takeshi Yoshitomi . Effects of Histamine on Rabbit Ciliary Artery . WOC2014 - APAO2014 - 118 t h JOS 2014 年 4 月 2 日 ~ 6 日, Tokyo
- 13) Dai Ogino, Takeshi Yoshitomi, Motoi Miyazu, Ryohei Koide, Akira Takai . Effect of Capsaicin on Bovine Trabecular

Meshwork. 第28回アジア太平洋眼科学会議 (APAO-AIOS 2013) 2013年1月17日～1月20日

14) Dai Ogino, Shun Watanabe, Yusuke Ohta, Kota Fujiwara, Takeshi Yoshitomi. Effects of Calcitonin Gene Related Peptide on Bovine Trabecular Meshwork and Ciliary Muscle. Association for Research in Vision and Ophthalmology 2013 (ARVO 2013) 2013年5月5日～5月9日

15) Ishikawa, M., Yoshitomi, T., Izumi, Y. Pressure-dependent changes of GLT-1 splice variants in the isolated rat retinal preparation. WGA: World Glaucoma Congress. 2013年7月17日～20日, 2013 Vancouver Canada

16) 石川誠, 吉富健志, 和泉幸俊. In vivo ラット緑内障モデルにおけるタモキシフェンの神経保護効果の検討. 第117回日本眼科学会総会, 2013年4月4日～7日, 東京

17) 渡辺駿, 太田悠介, 高関早苗, 吉富健志. ドルゾラミドの視神経乳頭血流と摘出眼動脈平滑筋に対する効果の比較検討. 第33回日本眼薬理学会, 2013年9月21日～22日, 東京

18) 渡辺駿, 吉富健志, 石川誠, 澤田有. 原発解放隅角緑内障におけるタフルプロスト点眼液およびラタノプロスト点眼液の視野障害進行に関する研究. 第24回みちのく緑内障懇話会, 2013年10月21日, 岩手

〔図書〕(計 4 件)

- 1) 吉富健志: “緑内障診断における眼底検査の意義(巻頭言)”, 視神経乳頭・視野でみる緑内障確定診断. メジカルビュー社, 2015
- 2) 吉富健志: “4 その他の視野検査 瞳孔視野(110-112)”, “CQ-他覚的視野はどのような症例に有効ですか?”, 専門医のための眼科診療クオリファイ 27 視野検査とその評価. 中山書店, 121-123, 2015
- 3) 吉富健志: “第3章眼疾患の診断と治療 E. 眼疾患の診断と治療-11 瞳孔疾患-”, 眼科 研修ノート. 診断と治療社, 350-354, 2015
- 4) 吉富健志: “緑内障(薬物療法)”, 今日の治療指針 2015. 医学書院, 1372-1374, 2015

〔産業財産権〕  
出願状況(計 件)

名称:  
発明者:  
権利者:  
種類:  
番号:  
出願年月日:  
国内外の別:

取得状況(計 件)

名称:  
発明者:  
権利者:  
種類:  
番号:  
取得年月日:  
国内外の別:

〔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

石川誠 (ISHIKAWA, Makoto)

秋田大学大学院医学系研究科・准教授

研究者番号: 10212854

(3) 連携研究者

( )

研究者番号: