

学位論文要旨

氏名 龍井苑子 

論文題目

「Pre- and postsynaptic effects of brimonidine on isolated rabbit iris dilator muscles.」

(摘出家兎瞳孔散大筋における brimonidine の節前、節後への薬理作用)

指導教授承認印

庄司信行 

【目的】

α_2 受容体作用薬である **brimonidine** 酒石酸塩はイミダゾリン化合物であり、眼圧下降作用、神経保護作用を有し、眼科領域では緑内障治療薬として用いられている。そのほかに副作用としてわずかな縮瞳作用を持つことが報告されており、近年ではむしろ、その縮瞳作用を利用し、屈折矯正術後のグレア、ハローの治療薬としても注目が集まっている。同種の α_2 受容体作用薬である **para-aminoclonidine** のように、多くのイミダゾリン化合物は α_1 受容体への親和性が高く瞳孔散大をもたらすが、**brimonidine** 酒石酸塩はそれに比較し、瞳孔散大作用は有しない。そのため今回、我々は **brimonidine** 酒石酸塩の瞳孔反応に対するメカニズムを研究するため摘出家兎瞳孔散大筋を用い、節前・節後の α アドレナリン受容体における **brimonidine** 酒石酸塩の相対的な親和性を計測し *in vitro* に薬理的に検討した。

【方法】

雄性白色家兎（4羽6眼）に過剰量の **pentobarbital sodium**（ソムノペンチル®）を耳静脈から注射し屠殺後、眼球を摘出し、以下に示す組成のクレブス液中（mM）に眼球を保存した（NaCl 94.8, KCl 4.7, MgSO₄ 1.2, CaCl₂ 2.5, KH₂PO₄ 1.2, NaHCO₃ 25.0, Glucose 11.7）。その後、顕微鏡下で幅 1~2mm、長さ 3~4mm の瞳孔散大筋条片を作製した。その標本の両端を 6-0 絹糸で結び、一端を灌流槽底部へ固定し、もう一方を **mechano-transducer**（Nippon Koden Co, EF-601G）に接続し散大筋に 50mg の初期張力を加えた。本実験系を用い、**brimonidine** 酒石酸塩の α_1 アドレナリン受容体へ親和性を検討するため等尺性収縮記録法を用い機械的反応を測定した〔第 1 実験〕。

また **brimonidine** 酒石酸塩の α_2 アドレナリン受容体に対する効果を検討するため、フィールド刺激（FS）実験を行った。雄性白色家兎（3羽6眼）を用い、標本は第 1 実験同様に作製した瞳孔散大筋条片を容量 1.5ml のクレブス溶液で満たされた灌流槽内に縦方向に懸垂した。矩形波パルス通電を灌流槽中に固定した 1 対の塩化銀電極を通して行い、FS とし、機械的反応を測定した〔第 2 実験〕。用いた矩形波パルス通電の強さは 100V、パルス幅は 0.5mm sec、20Hz にて頻回刺激を行った。刺激間隔は 5 分間隔とした。安定した収縮が得られることを確認した後、試験薬の投与を開始した。結果は全く前処置を行わない状態で得られた収縮を 100%として計算した。

【試薬】

brimonidine 酒石酸塩の薬の原末は米国 Allergan 社、および千寿製薬株式会社より提供を受けた。また **phenylephrine** (PE)、**tetrodotoxin** (TTX) は Wako chemical Inc., Osaka Japan より購入した。

【結果】

第 1 実験：

懸垂した散大筋は、60 分の灌流にて徐々に弛緩し、一定の静止張力を示していた。実験中、自発収縮は認めなかった。瞳孔散大筋は PE 100nM 投与後から用量依存性に収縮し、100 μ M 投与で最大収縮に達した。brimonidine 酒石酸塩は 10 μ M までほとんど収縮反応を示さず、100 μ M でわずかに収縮した (8.5%、PE 最大収縮=100%)。

(図 1)

第 2 実験：

第 1 実験と同様に灌流槽中に懸垂した散大筋条片は 30~60 分の灌流によって徐々に弛緩した後、一定の静止張力を示した。懸垂した筋条片に FS を加えると、一過性の早い収縮が生じた。散大筋の収縮はフグ毒である TTX (0.1 μ M) を投与すると消失し、その後も外因性に投与した PE により FS で収縮を呈した。すなわち FS によって起こる散大筋収縮は、内在神経を介した神経原性の収縮であると考えられた。(図 2) 100 μ M まで容量依存的に収縮は抑制された (図 3)。

【結論】

以上の実験結果より、brimonidine 酒石酸塩は節後に存在する α_1 受容体への親和性は非常に低く、一方で節前 α_2 受容体に対する親和性が選択的に高い事が示された。同様の手技を用いた過去の報告では、同じイミダズリン化合物である para-aminoclonidine の散大筋収縮は 51% (PE 最大収縮=100%) の収縮を呈しており、我々の brimonidine 酒石酸塩の結果と比べると約 17 倍であった。

以上の結果より brimonidine 酒石酸塩は para-aminoclonidine と比較して α_2 受容体の親和性が高くそのため、瞳孔散大筋の神経末端からのノルエピネフリンの放出を抑制し、散大筋の収縮を抑制する効果が強く、点眼後、縮瞳傾向になると考えられた。このため brimonidine 酒石酸塩は、屈折矯正術後に認める夜間視界不良の防止への効果が期待できると考えられた。

参考文献

Kern R, Die adrenergischen receptoren der intraocularen muskeln des menschen, Albrecht Von Graefes Arch Klin Exp Ophthalmol. 120 (1970) 231-248.

Hitoshi Ishikawa, Duane D. Miller, Popat N. Patil. Comparison of post-junctional α -adrenoceptors in iris dilator muscle of humans, and albino pigmented rabbits. *Naunyn-Archmiedeberg's Arch Pharmacol.* 1996; 354: 765-772

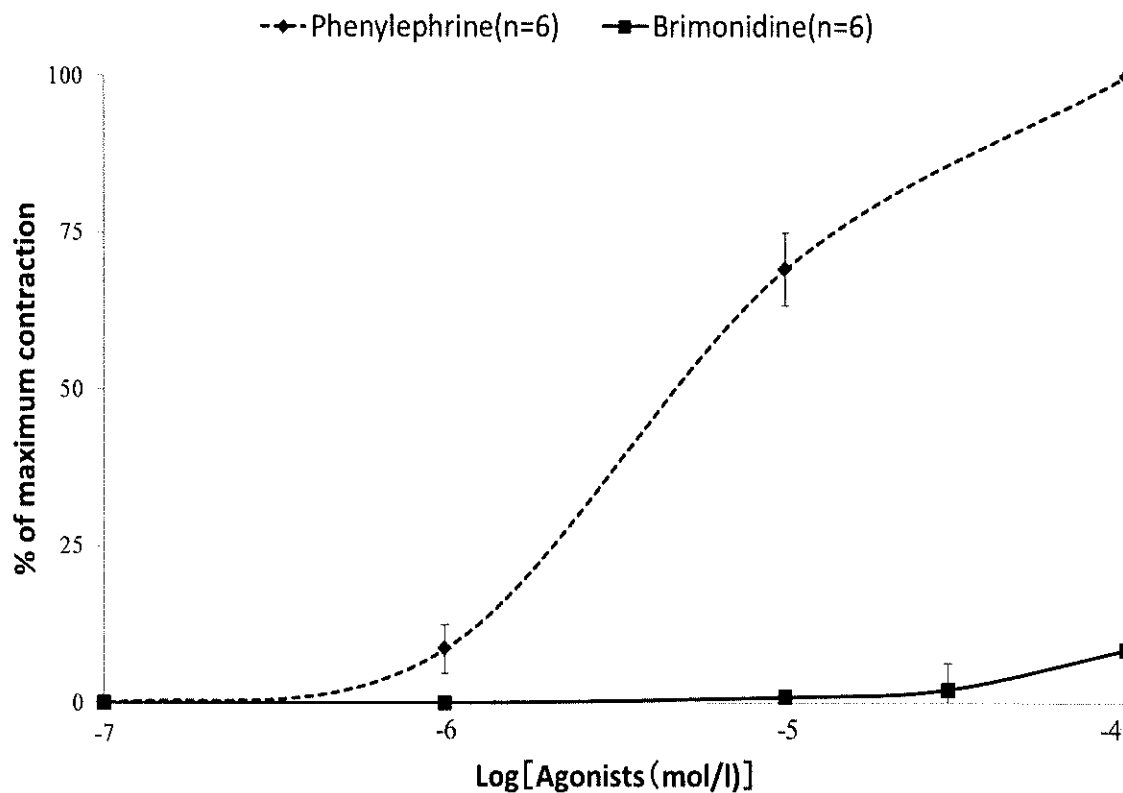


図 1：摘出家兔瞳孔散大筋の phenylephrine、brimonidine 酒石酸塩における容量反応曲線
 PE に比較し、brimonidine 酒石酸塩の収縮作用は極わずかである

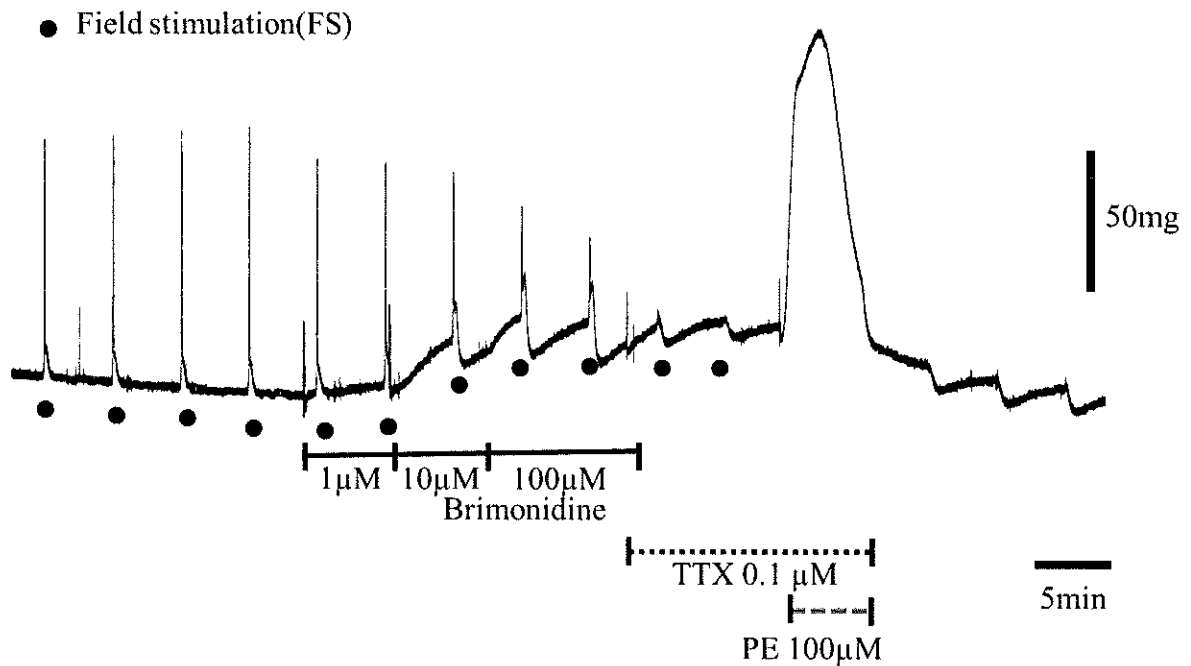


図 2：摘出家兔瞳孔散大筋におけるフィールド刺激（FS）による収縮および、brimonidine 酒石酸塩の作用

FS により瞳孔散大筋は一過性の早い収縮を示した。その収縮は、brimonidine 酒石酸塩の投与により容量依存性に抑制された。TTX の投与により FS による収縮は完全に抑制された。これは FS による収縮は標本中に残存する神経末端より神経伝達物質を放出して収縮しているためと考えられる。そのため TTX 存在下で外因性に投与した PE の収縮は正常に惹起されている。

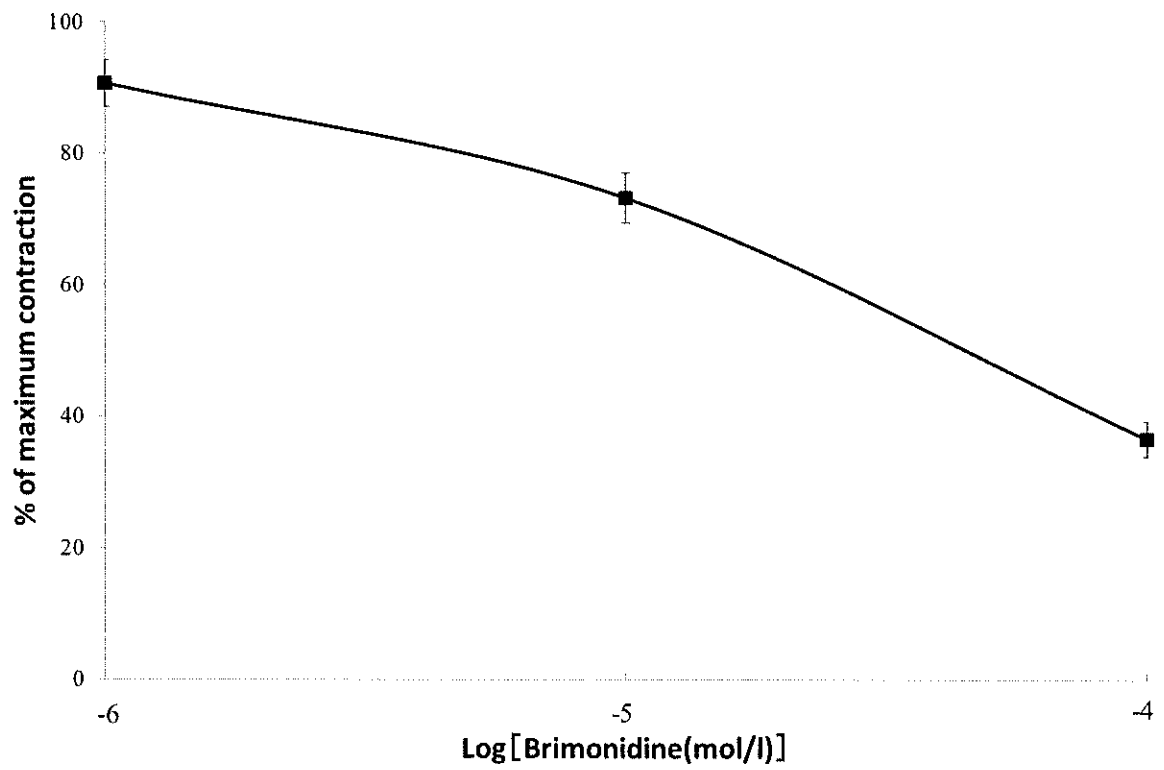


図 3 : 摘出家兎瞳孔散大筋にフィールド刺激による収縮に対する brimonidine 酒石酸塩の容量抑制曲線
brimonidine 酒石酸塩は容量依存性に瞳孔散大筋の収縮を抑制し 10 μ M で 56%抑制された