

エンドセリン拮抗薬の脈絡膜循環に及ぼす影響

—— 第二報 SHR について ——

岡山大学眼科学教室 (指導: 松尾信彦教授)

永 山 幹 夫

(平成9年1月20日受稿)

Key words : BQ-123, 水素クリアランス法, エンドセリン, SHR, 脈絡膜循環

緒 言

エンドセリン1 (以下ET-1と略す) は、おもに血管内皮から生成される生理活性ペプチドであり、オートクリン、パラクリン因子としてさまざまな作用を持つことが知られている¹⁾。ET-1は高血圧、動脈硬化、急性心虚血、肺高血圧症、脳血管障害、心不全、急性腎不全などの疾患において血中濃度が上昇しており²⁻⁷⁾、その病態に関係があるといわれている。その作用は多岐にわたっており、鰓弓由来の組織や心血管系の発生においてもエンドセリンA受容体 (以下ET-A受容体) の刺激が関与することが判明している。さらにメラノサイトや小腸壁内神経節細胞の発生においてもエンドセリンB受容体 (以下ET-B受容体) 刺激が関与している可能性が指摘され、エンドセリンが神経節細胞の発生分化に心須なものであることが確立している⁸⁾。

ET-1の血管収縮作用は、強力かつ持続的であり、以前よりさまざまな臓器で循環に関与していることが報告されている。眼科領域においては正常眼圧緑内障、高血圧網膜症、糖尿病網膜症、ぶどう膜炎などの疾患で循環血流量を減少させる因子となっている⁹⁻¹¹⁾といわれており、動物実験においてもET-1の眼循環障害作用が認められ、家兎の硝子体に投与したものが眼循環障害モデルとして使用されている¹²⁾。

BQ-123はET-A受容体に対するペプチド系の選択的拮抗薬である。著者は前回、ウイスタ

ー系ラットに対してET-1の全身投与を行うと、脈絡膜組織血流量が著明に減少するのに対し、BQ-123の静脈内投与を行った後にET-1投与を行ったところ、脈絡膜組織血流量が逆に増加したことにより、BQ-123はET-1の関与する脈絡膜循環障害を改善する可能性があることを報告した¹³⁾。またこの際到大腿動脈圧の下降がみられなかったことから、他の臓器と比較して、脈絡膜においてはET-B受容体の作用がET-A受容体よりも優位であると推測した。

ウイスター系ラットを用いた実験では、BQ-123のみの投与では脈絡膜循環血流量の変化は生じなかった。しかし、ET-1は高血圧の発症に関与すると考えられており、高血圧自然発症ラット (以下SHR) においてはその活性が強まっていることが予想される。したがって、SHRで脈絡膜循環においても内因性のET-1が関わっているとすれば、BQ-123を投与することによって脈絡膜組織血流量に何らかの影響が生じるはずである。以上の仮説に基づいて、本実験ではSHRに対し、ET-1の投与を行わない状態でBQ-123を投与し、ウイスター系ラットでの投与結果との比較を行い、脈絡膜循環における内因性ET-1の作用の関与について検討を行った。

対象と方法

実験動物には、19~29週齢の雄性SHR (体重300~390g) を用いた。tail cuff methodで測定した尾動脈収縮期血圧が160mmHg以上に達し

ていた16匹16眼を脈絡膜組織血流量測定に使用した。

そのうち8匹8眼をBQ-123群とし、大腿静脈に留置したシリコンカテーテルからデジタルインフュージョンポンプ(221W, ハーバード)を用いて総量13.3mg/kg(0.2ml)のBQ-123を120分間持続的に点滴した。対照群には0.2mlの生理食塩水を同様に投与した。両者とも、まず投与前に水素クリアランス法を用いて脈絡膜組織血流量を測定し、さらに投与開始後より15分ごとに測定を行った。そのほかに血圧測定用に8匹を用いた。

麻酔は塩酸ケタミン50mg/kgを臀部に筋肉内注射し、半覚醒の状態を維持するよう呼吸状態を観察しながら適宜追加した。ラットの背部皮下に皿状不関電極(UHE-001, ユニークメディカル)を留置した後、仰臥位に固定した。顕微鏡下に、下眼瞼を切除し輪部に制御糸を通して眼球を上転した。さらに結膜を切開し、下直筋を切離したのち2本の渦静脈の中間部で輪部より4mmの部に強膜全層切開を加え、直径80 μ mの針状関電極(OH 93-036, ユニークメディカル)を眼球子午線方向に刺入し、脈絡膜内に埋没した。皿形不関電極(OH 88-056B, ユニークメディカル)は背部皮下に埋没させた。測定にはUHメーター(PHG-201, ユニークメディカル)とLOGアンプ(LOG-100, ユニークメディカル)を使用し、自動平衡型記録計ユニコーダー(UR-4P, 日本電子化学)に記録した。0.3~0.6L/分の水素ガスを経鼻的に7~12秒間吸入させ、LOGアンプ出力の最も直線的に減少する部分で、水素濃度の半減時間を求め組織血流量を算出した。まず投薬前に脈絡膜組織血流量の測定を5回行い、最高値と最低値を除いて平均を出した代表値(以後初期値と呼ぶ)を算出した。薬物投与は大腿静脈にシリコンカテーテルを挿入し、デジタルインフュージョンポンプを用いて行った。投与終了から5分後、10分後に血流量を測定し、以後10分ごとに60分後まで測定を行った。

またパラメーターとして、脈絡膜組織血流量測定用とは別のラットそれぞれ4匹に対し、投薬に用いた側の対側の大腿動脈にシリコンカテ

ーテルを留置し圧カトランスデューサー(AP-620G, 日本光電工業)に接続し、脈拍数及び体血圧の変化をペンレコーダー(VP-6523A, ナショナル)で記録した。

結果の統計解析には、Wilcoxonの符号付順位検定を用いた。

結 果

1. 脈絡膜組織血流量

投与前の脈絡膜組織血流量はBQ-123群が 239.1 ± 20.6 ml/min/100g(平均土標準偏差, n=8)対照群が 243.0 ± 30.8 ml/min/100gで両

表1 脈絡膜組織血流量

	BQ-123群	対 照 群
投与前	239.1 ± 20.6	243.0 ± 30.8
15分	250.4 ± 19.9	250.0 ± 31.6
30分	248.3 ± 22.7	242.2 ± 32.8
45分	252.2 ± 29.1	239.2 ± 32.8
60分	253.5 ± 30.8	237.0 ± 34.6
75分	254.5 ± 29.3	237.4 ± 36.7
90分	256.6 ± 28.6	233.3 ± 29.4
105分	255.7 ± 27.1	234.5 ± 32.2
120分	259.9 ± 31.0	235.9 ± 35.0
	平均土標準偏差	(ml/min/100g)

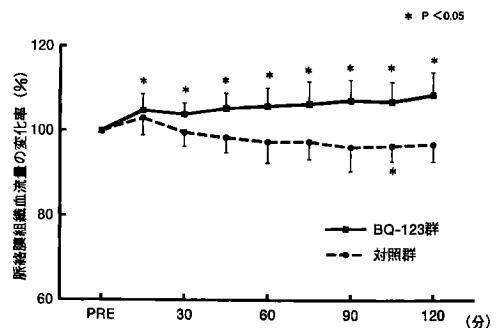


図1 脈絡膜組織血流量の変化率

投与前のBQ-123群および対照群それぞれの脈絡膜組織血流量の値を100として経時的な変化率を算出し、その平均値と標準偏差値を示している。BQ-123群では血流量は投与15分後より全経過を通じ有意な増加を示し、120分後には投与前の109%に達した($P < 0.05$)。対照群では血流量の増加はみられなかった。

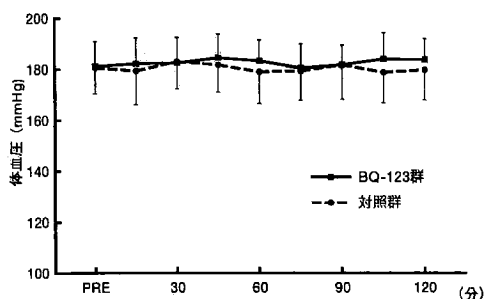


図2 体 血 圧
最大収縮期圧の平均値の比較では投与前と比較して両群とも有意な変化はみられなかった。

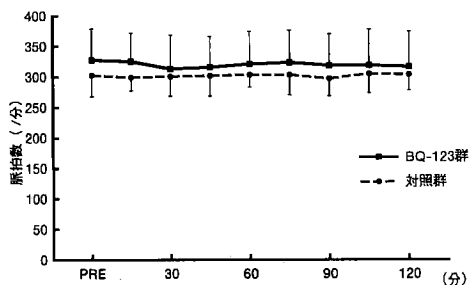


図3 脈 拍 数
投与前と比較して両群とも有意な変化はみられなかった。

者の間には有意な差はみられなかった。(表1)

2. 脈絡膜組織血流量の変化率

投与前の BQ-123群および対照群それぞれの脈絡膜組織血流量の値を100とした経時的な変化率では、BQ-123群では投与15分後より全経過を通じ有意な増加を示し、120分後には投与前の109%に達した。対照群では血流量の増加はみられなかった。(図1)

3. 体 血 圧

大腿動脈の最大収縮期血圧の平均値は、BQ-123群および対照群両群とも、投与前と比較して経過中有意な変化はみられなかった。(図2)

4. 脈 拍 数

脈拍数についても両群とも、投与前と比較して有意な変化はみられなかった。(図3)

考 案

現在エンドセリンには複数の受容体が存在し

ており、血管収縮作用は主として血管平滑筋膜上に存在する ET-A 受容体刺激によるものであることが知られている。また ET-B 受容体は血管内皮細胞に存在し、血管拡張因子の放出を生じると考えられていたが、動物種、臓器、作用血管床などの条件によっては逆に血管収縮を生じるとの報告もみられ、必ずしも一定の反応を生じるわけではない。

エンドセリンの受容体分布は臓器によって特異性が強く、ET-A 受容体は血管平滑筋細胞、肺、心、腸管、脳、腎、ET-B 受容体は脳、肺、腎、副腎、腸管、心、胎盤に多く存在すると言われている。眼科領域では角膜内皮や虹彩毛様体において、ET-B 受容体が非常に優位であることが報告されている¹⁴⁾。網脈絡膜においても、ET-A 受容体と ET-B 受容体両者の存在が確認されているが、PCR 法を用いた解析で網脈絡膜の血管内皮では ET-A 受容体が、網膜では ET-B 受容体がより優位であることが報告されている¹⁵⁾。

今回対象として使用した SHR は、高血圧症の病態モデルとして様々な研究がなされている。高血圧症患者と同様に、SHR における ET-1 の血中濃度は正常血圧ラットの約 2 倍を示し、その病態には ET-1 の関与が疑われている^{16,17)}。またその脈絡膜組織血流量は正常血圧ラットより低値を示す¹⁸⁾。以上から SHR で特異的に ET-1 の作用が亢進しており、このことが SHR で慢性的に高血圧が存在し脈絡膜循環血流量の減少が認められることに関与しているとの考えがある。ただし、エンドセリンはパラクリンとしての作用が中心であり、局所で産生され作用もまたその部位で生じるため、全身の循環における血中濃度の測定から局所における病態を考察することには慎重でなければならないと考える。

SHR で内因性の ET-1 の作用が亢進しているとすればその拮抗薬である BQ-123 の投与によって血圧の下降を生じることが予測されるが、BQ-123 の SHR に対する降圧作用については、開発当初から期待され、すでに現在まで多数の報告がみられるが、最近では降圧は生じないとする考えが主流となっている¹⁹⁾。本実験においても、体血圧は投与後も変化しなかった。しかし

脈絡膜では循環動態に変化が生じた。このことは局所の微小循環において生じていた変化が、他の部位での循環変化に相殺された結果、大循環には反映されなかったことによるのではないかと考えられる。エンドセリンの作用は臓器、血管床によってかなりの差があるといわれているが、この結果もそのことを裏付けるものではないかと考えた。

筆者が前回に行った実験ではウイスター系ラットの場合では、BQ-123の単独投与によっても今回と違って、脈絡膜循環血流量は変化しなかった。他の条件は同一に設定されていることから、この2つの結果の違い、すなわちSHRのみでET-A受容体の拮抗が脈絡膜循環を改善したことは、SHRとウイスター系ラットとの生理的状态の差からくるものであると考えられる。したがってSHRでは生理的にET-1が脈絡膜循環血流量の減少にウイスター系ラットより強く働いており、さらにはこのことがウイスター系ラットにはみられない様々な循環動態の違いなどにも関与している可能性があるのではないかと考えた。

今回の結果から、BQ-123の脈絡膜循環障害に対する改善について期待されるところである。しかし先にも述べた通り、どういう病態でET

-1が脈絡膜循環障害に影響を及ぼしているのかの解明はまだ不十分である。さらにエンドセリンの作用は動物の種差による相違が大きいといわれており、人においても同様の改善が生じるのかどうかは不明であり、今後の更なる検討が期待される。

結 論

SHRに対してBQ-123の投与を行うと脈絡膜循環血流量は増加することより、SHRの脈絡膜組織血流量の調節維持には内因性のET-1が関与していることが示唆された。また脈絡膜循環にET-1が関与している場合、BQ-123の投与でそれが改善される可能性があると考えた。

稿を終えるにあたり、ご指導とご校閲を賜りました恩師松尾信彦教授に深謝いたします。また、ご協力をいただきました萬有製薬筑波研究所の矢野光夫博士と岡山大学医学部眼科学教室の諸兄姉ならびに光岡建之、進 輝子の諸氏に感謝いたします。

なお本研究には文部省科学研究費補助金(課題番号04404068、研究代表者 松尾信彦)の援助を受けたことを付記し感謝の意を表す。

本論文は第99回日本眼科学会で報告した。

文 献

- 1) Yanagisawa M, Kurihara H, Kimura S, Tomobe Y, Kobayashi M, Mitsui Y, Yazaki Y, Goto K and Masaki T: A novel potent vasoconstrictor peptide produced by vascular endothelial cells. *Nature* (1988) **332**, 411-415.
- 2) Tomita K, Ujii K, Nakanishi T, Tomura S, Matsuda O, Ando K, Shichiri M, Hirata M and Marumo H: Plasma endothelin levels in patients with acute renal failure. *N Engl J Med* (1989) **321**, 1127.
- 3) Miyauchi T, Yanagisawa T, Tomizawa T, Sugishita T, Suzuki N, Hujino M, Ajisaka R, Goto K and Masaki T: Increased plasma concentrations of endothelin-1 and big endothelin-1 in acute myocardial infarction. *Lancet* (1989) **ii**, 53-54.
- 4) Löffler BM, Roux S, Kalina B, Clozel M and Clozel JP: Influence of congestive heart failure on endothelin levels and receptors in rabbits. *J Mol Cell Cardiol* (1993) **25**, 407-416.
- 5) Rodeheffer RJ and Haas GJ: Increased plasma concentrations of endothelin in congestive heart failure. *Am Heart J* (1993) **125**, 667-672.
- 6) Suzuki R and Masaoka H: The Role of endothelin-1 in the origin of cerebral vasospasm in patients with aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *Stroke* (1993) **24**, 383-386.

- 7) Lerman A, Edwards B, Hellett JW, Heublein DM, Sandberg SM and Burnett JC Jr. : Circulating and tissue endothelin immunoreactivity in advanced arteriosclerosis. *N Engl J Med* (1991) **325**, 997—1001.
- 8) Kurihara Y, Kurihara H, Suzuki H, Kodama T, Maemura K, Nagai R, Oda H, Kuwaki T, Cao W, Kamada N, Jishage K, Ouchi Y, Azuma S, Toyoda Y, Ishikawa T, Kumada T and Yazaki Y : Elevated blood pressure and craniofacial abnormalities in mice deficient in endothelin-1. *Nature* (1994) **368**, 703—710.
- 9) 清水一弘, 守屋伸一, 杉山哲也, 奥 英弘, 濱田 潤, 内海 隆 : おどろ膜炎における血漿エンドセリン活性値. *臨眼* (1994) **48**, 1125—1127.
- 10) 庄司信行, 大鹿哲朗, 増田寛次郎 : エンドセリン-1 と前眼部炎症. *日眼会誌* (1993) **97**, 293.
- 11) 守屋伸一, 杉山哲也, 清水一弘, 濱田 潤, 徳岡 覚, 東 郁朗 : 低眼圧緑内障とエンドセリン. *眼紀* (1992) **43**, 554—559.
- 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* (1993) **97**, 683—689.
- 13) 永山幹夫 : エンドセリン拮抗薬の脈絡膜循環に及ぼす影響 — 第 1 報 正常血圧ラットについて —. *眼紀* (1995) **46**, 604—608.
- 14) Osborne NN, Barnett NL and Luttmann W : Endothelin receptors in cornea, iris and ciliary processes. Evidence from binding, secondary messenger and PCR studies. *Exp Eye Res* (1993) **56**, 729—732.
- 15) MacCumber MW and D'Anna SA : Endothelin receptorbinding subtypes in the human retina and choroid. *Arch Ophthalmol* (1994) **112**, 1231—1235.
- 16) Saito Y, Nakao K, Mukoyama M and Imura H : Increased plasma endothelin level in patients with essential hypertension. *N Engl J Med* (1990) **332**, 205.
- 17) Shichiri M, Hirata Y, Ando K, Emori T, Ohta K, Kimoto S, Ogura M, Inoue A and Marumo F : Plasma endothelin levels in hypertension and chronic renal failure. *Hypertension* (1990) **15**, 493.
- 18) 藤本伸一 : 実験的高血圧における脈絡膜循環の研究 第 2 報 高血圧自然発症ラットの脈絡膜組織血流量. *日眼会誌* (1986) **90**, 1203—1210.
- 19) Nisikabe M, Tsuchida S, Okada M, Fukuroda T, Shimamoto K, Yano M, Ishikawa K and Ikemoto F : Antihypertensive effect of a newly synthesized endothelin antagonist, BQ-123, a genetic hypertensive model. *Life Sci* (1992) **52**, 717—724.

**The effects of an endothelin-A receptor antagonist
on choroidal circulation**

— 2. Spontaneously hypertensive rats —

Mikio NAGAYAMA

**Department of Ophthalmology,
Okayama University Medical School,
Okayama 700, Japan**

(Director: Prof. N. Matsuo)

We administered the endothelin-A receptor antagonist BQ-123 to spontaneously hypertensive rats (SHR) and measured choroidal blood flow (CBF) by the hydrogen clearance method (BQ-123 group, n=8). As a control, we administered saline to SHR (control group, n=8). The BQ-123 group demonstrated a significant increase in CBF throughout the period from 15 minutes until 120 minutes after injection. In contrast, the control group did not demonstrate any increase in CBF. These results suggest that endogenous ET-1 may be involved in the decrease in choroidal circulation of SHR and the administration of BQ-123 may improve it. Since this change was not detected in Wistar rats, it is considered that ET-1 works more strongly in SHR. It is also presumed that the function of ET-1 varies greatly depending on the internal organs and vasculature.