Prostaglandin は *in vitro* で内眼筋の反応と 房水流出率を促進する

山口大学医学部眼科学教室

鈴木 亮

PROSTAGLANDINS INCREASE THE RESPONSE OF INTRAOCULAR
MUSCLE AND OUTFLOW FACILITY OF THE EYE

Ryo SUZUKI

Department of Ophthalmology, Yamaguchi University School of Medicine

The function and sites of action of prostaglandins (PGs) vary in different animal species and tissues. In this study the effects of PGs (E_1 , E_2 , $F_{2\alpha}$, D_2) on intraocular muscles and outflow facility of the eye were investigated, using enucleated bovine eyes. None of these PGs exogenously applied influenced the neuromuscular transmission. By contrast, after treatment with indomethacin, all PGs tested contracted the muscle much more than in the absence of indomethacin, and under these conditions the PGs potentiated responses to cholinergic nerve stimulation. Whereas $PGF_{2\alpha}$ was less potent in the absence of indomethacin, $PGF_{2\alpha}$ had more potent action primarily on nerves and partly on muscles after treatment with indomethacin. PGs also increased outflow facility of the eye, after the treatment with indomethacin. In order to understand the site and action of PGs, pretreatment with indomethacin may be useful in the intraocular muscle and outflow facility of the eye.

Key words: intraocular muscle, iris sphincter muscle, glaucoma, outflow facility, prostaglandins

緒 言

Prostaglandin (PG) は虹彩や毛様体に多量に存在し、瞳孔を収縮させる (Ambache *et al.*, 1965; Eakins, 1977) といわれてきたが、動物種差やその tone によっては弛緩させることもある。PG の作用と作用機構を明らかにするために内眼筋と房水流出率に PG がどのような効果を持っているか *in vitro* で調べることにした。

PG は正と負の両方のフィードバックをかけるので、PG の種類によってあるいは組織によってまたは動物によってその効果は一様ではない (Bennett *et al.*, 1975; Eakins, 1977; Hedqvist, 1976; Bito, 1983)。PG は眼圧に影響

する (Bito, 1984; Crawford and Kaufman, 1991) が、房水流出量を増加させるのか否か、その程度、作用の仕方は知られていない。PGs の眼圧下降機序については conventional outflow の増加ないし uveoscleral outflow の増加のいずれかが考えられる。

摘出ウシ眼で実験したところ、indomethacin の存在下では PG が異なった効果を示すことを見いだした。我々の調べた限り *in vitro* で PG が流出量を調節している可能性を示した報告は末だないようである。

方 法

動物はウシを用いた。内眼筋を取り出し、瞳孔括約筋は等張性に、瞳孔散大筋と毛様体筋は等尺性に発生張力を測定した。神経刺激は 20 msec, 30 Hz, 60-80 pulses を用いた。房水流出率は今回は 20 mmHg で灌流した。

ウシを用いた理由は灌流に際し、流出量が著明に上がらないこと、時間が経過しても比較的

安定した結果が得られるからである。筋収縮と眼の灌流の詳細は既に報告した通り (Suzuki, 1983) である。また房水流出率は定常状態では、液の流入量と流出量が等しくなることを利用し、通常通り液の流入量を、それに要した時間 (分) と圧 (mmHg) の積で除することによって求めた。

Fig. 1. Dose-response curves of PGs on the tone of bovine iris sphincter muscle, with comparison to carbachol, after the muscle was treated with 3×10^{-6} M indomethacin. Vertical line represents S.D. Number of experiments is 4-7.

実 験 結 果

内眼筋への PGs の効果を、摘出ウシ瞳孔括約筋、瞳孔散大筋、毛様体筋で調べた。それぞれの内眼筋は報告 (Posner, 1973; Suzuki and Kobayashi, 1984) されているように神経刺激にすばやく応答し PG にも反応した。神経興奮性収縮高は PGs によって変わらなかった。また、神経毒によってその神経興奮を抑制した状態でも PGs は筋に直接的に作用した (Suzuki and Kobayashi, 1984)。内眼筋においては PGs の効果は carbachol よりは著しく弱かった。また流出率に及ぼす影響も、PGs 単独投与ではわずかであった。

ところが、indomethacin で内眼筋を処理しておくと、PGs の作用は一転した (図 1)。すなわち PGD₂ が例外であるが他の PGs は内眼筋にとって強力な agonist である carbachol より、さらに強力な効果を濃度作用曲線で示した。

神経刺激に及ぼす効果をみても、indomethacin で処理すると、神経興奮性収縮高が著明に増強した (図 2)。

灌流実験

PGE₁, E₂ と F_{2α} について房水流出量を調べると、10⁻⁵ M の高濃度でも対照と比較してはほとんどかわらなかった。Indomethacin のみでは房水流出率は対照と差がなかった。一方、予め indomethacin で処理しておく と PGE₁, E₂ と F_{2α} では房水流出率が上昇した。すなわち図 3 に示す通り、indomethacin がいない場合には PGs の効果は少ない。しかし indomethacin 存在下では PGE₁, E₂, F_{2α} ともに流出率が上昇した。したがって流出量に対しては、検討した PGs はすべて同じ方向に作用した。これらは indomethacin がいないとみられない現象であった。

超音波生体顕微鏡

これを超音波生体顕微鏡でみると、indomethacin で処理して PG を灌流した 3 時間後の眼では、対照と比べ浮腫状になりさらにうっすらと液面がみられた。これは PGs 単独や Cch ではみられなかった現象である (図 4)。

Fig. 2. Effects of several PGs on the electrically-stimulated contraction of bovine iris sphincter muscles. The amplitude of contraction from the basal line was represented by unbroken line (●—●), and the height from the developed muscle tone was shown by dotted line (□····□). Electrical stimulation was applied at 0.5 msec, 30 Hz and 60 pulses. Vertical line represents S.D. Number of experiments is 4 or 5.

Fig. 3. Effects of several PGs on the outflow facility of the eye. Either PGs or indomethacin alone did not increase the outflow facility. By contrast, after treatment with 10⁻⁵ M indomethacin, PGs E₁, E₂ and F_{2α} increased the outflow facility of the bovine eye.

薬 物

実験に使用した薬物は carbachol, PGE₁, E₂

F_{2α}, indomethacin で, すべて Sigma 社製である。

考

瞳孔括約筋, 瞳孔散大筋, 毛様体筋それぞれの内眼筋への PGs 単独の作用は様々である。すなわち, 主として筋は PG で収縮するがトーンズや濃度の違いにより弛緩することもあった (Posner, 1973; van Alphen *et al.*, 1977)。それぞれの内眼筋は神経刺激にすばやく反応し, また, 神経毒によってその神経興奮を抑制した状態でも PGs は筋に直接的に作用した。内眼筋においては PGs の効果は, carbachol より著しく弱かった (Suzuki and Kobayashi, 1984; Yoshitomi and Itoh, 1988)。また房水流出率に及ぼす影響も, わずかであった。

ところが, 本実験で indomethacin で内眼筋を処理しておくと, PGs の作用は一転した。内眼筋にとって強力な agonist である carbachol

察

より, PGs ははるかに強力な効果をもつようになった。神経刺激に及ぼす効果をみても, indomethacin で処理すると, 神経興奮性収縮高が著明に増強した。そのため, 少なくとも内眼筋では indomethacin で処理をすることが本来の PGs の作用をみるために重要だと考えた。

PGs E₁, E₂, F_{2α} 単独では 10⁻⁵ M の高濃度でも対照と比較して房水流出率はほとんど変化しなかった。indomethacin のみでも対照と差がなかった。しかしながら, 予め indomethacin で処理しておくと PGs E₁, E₂, F_{2α} 投与により房水流出率が上昇した。したがって流出量に対しては, PGs E₁, E₂, F_{2α} はすべて同じ方向に作用した。

超音波生体顕微鏡で観察すると, indometh-

Fig. 4. Uveoscleral route of the bovine eye. (top) pretreated with 10^{-5} M indomethacin, (bottom) pretreated with 10^{-5} M indomethacin and 10^{-6} M $\text{PGF}_{2\alpha}$. Note the fluid level shown by a black thin layer.

acin で処理して PGs を灌流した毛様体扁平部は、コントロールと比べ浮腫状になりうっすらと液面がみられた。これは PGs 単独や carbachol を灌流してもみられなかった現象である。このことは房水流出量の一部は、隅角経路でなくブドウ膜強膜経路 (Crawford and Kaufman, 1991) を介していることを示唆するかもしれない。家兎眼においては、indomethacin の腹腔内

投与により PGs の眼圧下降効果は抑制されたという。これら PGs が血液眼房水柵を破壊して炎症が生じ眼圧を下げることを示唆している (Crawford and Kaufman, 1991)。

PG の種類と濃度によって眼圧が下がる (Camraas and Podos, 1989; Bito, 1984; Crawford and Kaufman, 1991) といわれているが、この種の *in vitro* の実験では PG の効果

はいままで説明されていない。indomethacin で処理しておくと、少なくともウシの眼においては外来性の PGs が上記の強力な作用を示すことがわかった。

この作用機構を以下のように推測した。すなわち、少なくともウシ眼にあっては、生物活性の少ない eicosanoids も組織に多量にあるか、あるいはこの実験操作のために出現するので、外来性に PGs を単に投与しただけでは PGs の

効果は少ないのであろう、しかしながら indomethacin で PG の生合成を抑制しておくと、生物活性の少ない eicosanoids が内眼筋や隅角流出路の受容体からはずれるので、その条件下で初めて、外来性に投与した PG が眼に強い力を発揮できると考えた。もしそうだとすると、いままでのように PG を単に投与しない点眼だけをしたのでは本来の PG の機能をみていなかった可能性があると考ええる。

文 献

- Ambache, N., Kavanagh, L., and Whiting, J. (1965). Effect of mechanical stimulation on rabbits' eyes: release of active substance in anterior chamber perfusates. *J. Physiol. (Lond)* **176**: 378-408.
- Bennett, A., Eley, K.G., and Stockley, H.L. (1975). The effects of prostaglandins on guinea-pig isolated intestine, and their possible contribution to muscle activity and tone. *Br. J. Pharmacol.* **54**: 197-204.
- Bito, L.Z. (1984). Species differences in the responses of the eye to irritation and trauma: a hypothesis of divergence in ocular defense mechanisms, and the choice of experimental animals for eye research. *Exp. Eye Res.* **39**: 807-829.
- Camras C.B. and Podos S.M. (1989). The role of endogenous prostaglandins in clinically-used and investigational glaucoma therapy. In: The ocular effects of prostaglandins and other eicosanoids, ed. by Bito LZ, Stjernschantz J, Alan R Liss, New York, pp. 459-475.
- Crawford, K.S., and Kaufman, P.L. (1991). Dose-related effects of prostaglandin F_{2a} isopropylester on intraocular pressure, refraction and pupil diameter in monkeys. *Invent. Ophthalmol. Vis. Sci.* **32**: 510-519.
- Eakins, K.E. (1977). Prostaglandin and non-prostaglandin mediated breakdown of the blood aqueous barrier. *Exp. Eye Res.* **25**: 483-498.
- Hedqvist, P. (1976). Further evidence that prostaglandins inhibit the release of noradrenaline from adrenergic nerve terminals by restriction of availability of calcium. *Br. J. Pharmacol.* **58**: 599-603.
- Posner, J. (1973). Prostaglandin E₂ and the bovine sphincter pupillae. *Br. J. Pharmacol.* **49**: 415-427.
- Suzuki, R. (1983). Neuronal influence on the mechanical activity of the ciliary muscle. *Br. J. Pharmacol.* **78**: 591-597.
- Suzuki, R. and Kobayashi, S. (1984). Response of bovine intraocular muscles to transmural stimulation in the presence of various prostaglandins. *Exp. Eye Res.* **36**: 789-798.
- van Alphen, G.W.H.M., Wilhelm, P.B., Elsenfeld, P.W. (1977) Effect of prostaglandins on the isolated internal muscles of the mammalian eye, including man. *Doc. Ophthalmol.* **42**: 397-415.
- Yoshitomi, T. and Itoh, Y. (1988). Effects of indomethacin and prostaglandins on the dog iris sphincter and dilator muscles. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* **29**: 127-132.