

氏 名 ・ (本籍)	太田 悠介 (秋田県)
専攻分野の名称	博士(医学)
学位記番号	医博甲第 945 号
学位授与の日付	平成 29 年 9 月 27 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当
研究科 ・ 専攻	医学系研究科医学専攻
学位論文題名	Effects of ripasudil hydrochloride hydrate(K-115), a Rho-kinase inhibitor, on ocular blood flow and ciliary artery smooth muscle contraction in rabbits(兎の眼血流および毛様動脈に対する Rho キナーゼ阻害薬リパスジルの効果)
論文審査委員	(主査) 教授 尾野 恭一 (副査) 教授 久場 敬司 准教授 渡邊 博之

学位論文内容要旨

論文題目

(論文題目の和訳)

Effects of ripasudil hydrochloride hydrate (K-115), a Rho-kinase inhibitor, on ocular blood flow and ciliary artery smooth muscle contraction in rabbits (兎の眼血流および毛様動脈に対する Rho キナーゼ阻害薬リパスジルの効果)

申請者氏名 太田 悠介

研究目的

緑内障は世界的に主要な失明原因となっている疾患の一つである。眼圧の上昇は緑内障進行に対する危険因子であると同時に、眼圧下降が現状ではエビデンスに基づく唯一の治療法である。しかし、十分な眼圧コントロールを得られたにも関わらず視野障害が進行する症例が存在する。眼圧以外の眼血流の低下が、緑内障における視野障害の進行因子の一つとして考えられている。

Rho キナーゼ (Rho-associated protein kinase : ROCK) 阻害薬であるリパスジルは、近年、日本で開発され承認された新しい作用機序の緑内障治療薬である。同薬剤は、線維柱帯に直接作用し房水流出量を増加されることにより眼圧を下降させる。また、ROCK 阻害薬は血管拡張作用を有しており、Y-27632 および Y-39983 では *in vitro* における兎の毛様動脈の拡張作用、またリパスジルにおいては結膜血管を拡張させることが知られている。しかし、視神経乳頭などの後眼部の眼血流に対する影響に関しては不明な点も多い。

今回我々は、兎を用いて Laser Speckle Flowgraphy (LSFG) と摘出毛様動脈血管平滑筋収縮測定装置 (Myograph) による *in vivo*、*in vitro* 両面からリパスジルの眼血流効果を検討した。

研究方法

in vivo の実験には雄の有色家兎を用い、LSFG にて生体での眼血流を測定した。兎を専用のケージに固定し 1 時間安静状態にした後、LSFG による視神経乳頭部の血流測定とアイクア®による眼圧を測定し、ベースラインとした。眼血流低下させる作用として 5% フェニレフリンを点眼し、5 分後に 0.8% リパスジルあるいはコントロールとして生理食塩水を点眼、30 分、60 分、90 分、120 分に視神経乳頭部血流と眼圧を測定した。これらの過程において、麻酔や開眼器を用いずに施行された。眼血流の解析においては、LSFG 固有の値である Mean Blur Rate (MBR) を用いた。リパスジルを点眼した群とコントロール群とで、眼血流ならびに眼圧の変化を比較検討した。

In vitro の実験には白色家兎のより摘出した単離毛様動脈を用いた。2mm 程度にカットした毛様動脈にワイヤーを通し、Myograph 専用チャンパーに固定した。High K 溶液にて血管を収縮させた後、リパスジルを 10nM~30 μ M で濃度を上げながら投与し、血管収縮の変化を測定した。また、NO 合成酵素阻害剤である L-NAME (0.3mM)、シクロオキシゲナーゼ阻害剤であるインドメタシン (10 μ M)、大コンダクタンスカルシウム依存性カリウム (BKCa) チャネル阻害剤であるイベリオトキシン (0.1 μ M) を各々前投与し、同様に血管収縮の変化を測定した。

研究成績

in vivo の実験において、リパスジル群は点眼後 30 分、60 分、90 分で有意な眼圧低下を認めた。リパスジル単独での点眼は眼血流の変化に影響を与えなかったが、フェニレフリンを点眼し、リパスジル点眼群とコントロール群で比較した場合は、30 分と 120 分においてリパスジル群は有意に眼血流の低下を抑制した。また、眼圧の変化率と MBR の変化率には相関関係は認められなかった。

In vitro の実験において、High K で収縮した毛様動脈にリパスジルを投与すると濃度依存性に血管の弛緩を認めた。また、L-NAME、インドメタシン、インドメタシンを前投与した場合、いずれの薬剤においてもリパスジルによる毛様動脈の弛緩効果に有意な影響を与えなかった。

結論

本研究では、生体内でのリパスジルによる眼圧低下の他、フェニレフリンによる眼血流の低下が本剤により抑制されることが明らかとなった。眼圧変化と眼血流の変化との間に相関関係が認められなかったことより、血管に対する直接作用と考えられた。また、点眼後 30 分後に血流変化の差が最大となっており、過去の研究報告から点眼後眼球後極に達した薬剤が血管を拡張させ、血流を増大させたと考えられた。単離毛様動脈の実験では、リパスジルの濃度依存性に血管の拡張を認め、さらに L-NAME、インドメタシン、イベリオトキシンの影響を受けなかったことから、本剤は NO や prostacyclin のような血管内皮由来の弛緩因子に関連した作用とは異なる作用機序と考えられた。

以上より、ROCK 阻害薬であるリパスジルは、点眼によってウサギ視神経周囲の血流改善作用があることが LSFG によって認められ、さらにウサギ摘出毛様動脈に対して弛緩効果がある事が明らかとなり、眼圧下降のみならず、眼血流改善に寄与している可能性が示唆された。

学位(博士一甲)論文審査結果の要旨

主査：尾野 恭一

申請者：太田 裕介

論文題名：Effect of ripasudil hydrochloride hydrate (K-115), a Rho-kinase inhibitor, on ocular blood flow and ciliary artery smooth muscle contraction in rabbits.
(兎の眼血流及び毛様動脈に対する Rho キナーゼ阻害薬リスパジルの効果)

要旨

本研究は、緑内障治療薬として最近臨床使用されている Rho キナーゼ阻害薬リスパジルの眼血流に対する薬理学的作用を明らかにすることを目的としたものである。Rho キナーゼの阻害が眼房水の産生を抑えることで眼圧を下げることで 2000 年代に動物実験で報告され、2014 年には特異的 Rho キナーゼ阻害薬リスパジルが国内で初めて緑内障の治療に臨床応用されるに至っている。一方、眼圧が正常であるにも関わらず緑内障を発症する症例も少なからずいることから、眼圧以外の発症要因の存在が示唆されている。眼血流低下もそのひとつであり、実際多くの緑内障治療薬に血管平滑筋弛緩作用があることが実験的に示されている。そこで、Rho キナーゼ阻害薬リスパジルが眼血流に対して何らかの効果を示すのではないかと仮説を、家兎を用いての眼圧及び視神経乳頭血流測定、さらには摘出毛様動脈標本の張力測定により実験的に検証した。その結果、1) リスパジル点眼は有意な眼圧低下をもたらした。2) リスパジルはフェニレフリン投与による眼血流の低下を抑制した。3) 高カリウム液で収縮させた単離毛様動脈に対してリスパジルは有意な弛緩効果を示した。以上により、リスパジルは、眼圧下降のみならずがん血流改善作用を有することが示唆された。

本論文の斬新さ、重要性、実験方法の正確性、表現の明瞭さは以下の通りである。

1) 斬新さ

Rho キナーゼ阻害薬は比較的新しい薬物であり、眼科領域においては眼房水の産生抑制により緑内障に対し治療効果をもたらすことが期待されている。申請者は、緑内障と視神経乳頭眼血流の関連を追求する過程において、Rho キナーゼ阻害薬が眼血流を改善し緑内

障治療に好影響を及ぼすという新たな仮説を提唱している。また、生体での眼血流測定にレーザースペックル法という新たな手法を用い、麻酔や開眼器を用いることなく、非拘束下での測定をおこなっている。眼血流測定は麻酔や動物の興奮状態にも影響されやすく、測定が比較的難しいとされている。非侵襲的な測定法の正確性を示した本研究は斬新であり、今後の発展が期待できる。

2) 重要性

緑内障において、低い眼圧を維持することは、本領域における唯一の Evidence-based Therapy であるが、臨床においては眼内圧の軽減が十分に得られた患者においても視野欠損が進行することがしばしば知られており、眼圧以外の病因解明と治療法開発は急務である。

申請者らは、視神経乳頭部の血流にいち早く着目し、緑内障治療薬の眼血流に対する作用を検討している。本研究において、リスパジルがフェニレフリン投与による眼血流の低下を抑制したことは、申請者らの作業仮説を支持する所見である。単離摘出血管標本においても強い弛緩作用を示しており、このことは従来から指摘されている Rho キナーゼ阻害薬の血管平滑筋弛緩作用と一致する。申請者が所属する研究室では、緑内障と眼血流低下との関連を長きに渡っておこなっており、プロスタグランジン化合物や炭酸脱水酵素阻害薬など一連の研究成果と合わせて、臨床的にも重要な研究結果を提供している。今後の研究の発展を期待したい。

3) 実験方法の正確性

レーザースペックル法については、麻酔の影響を除去するために無麻酔下でおこなっている。一方、無麻酔下での家兎の取り扱いについては可能な限り生理的に近い状態を維持するなど細心の配慮がうかがえる。また、申請者の所属する研究室において継続的に行われている実験手法であり、既に確立されていると言っても過言ではない。摘出標本での収縮実験も申請者の研究室においてはルーチンの実験手法であり、薬理学的な考察が行き届いた実験手法を採用している。正確性に何ら問題はない。

4) 表現の明瞭さ

研究の背景、研究方法・方法・結果および考察が明瞭に記載されている。

以上述べたように、本論文は学位を授与するに十分値する研究と判定された。