

原 著

緑内障患者における血中エンドセリン-1濃度の低下と病態への関与

大黒 幾代¹⁾ 大黒 浩¹⁾ 大黒 博²⁾ 中沢 満¹⁾

抄録 目的：緑内障病態における血中エンドセリン-1 (ET-1) の関与の有無を検討する。

対象と方法：正常眼圧緑内障 (NTG) 患者 102 例, 原発開放隅角緑内障 (POAG) 患者 90 例および緑内障のない成人 (CONT) 78 例を対象に, 血中 ET-1 濃度を enzyme-linked immunosorbent assay 法により測定し比較した。また緑内障患者では, 病期との関連についても検討した。

結果：血中 ET-1 濃度 (平均値±標準偏差) は NTG, POAG, CONT の順にそれぞれ 3.34 ± 1.27 pg/ml, 3.80 ± 1.40 pg/ml, 4.39 ± 1.34 pg/ml で, NTG ($P < 0.01$), POAG ($P < 0.05$) は CONT 群に比し有意に低かった。緑内障病期と血中 ET-1 濃度には明らかな関連はみられなかった。

結論：緑内障患者では血中 ET-1 濃度が慢性的に低く, 緑内障病態に関与している可能性が示唆される。

弘前医学 57: 59–64, 2006

キーワード: 血中エンドセリン-1; 正常眼圧緑内障; 原発開放隅角緑内障; 緑内障性視神経障害。

ORIGINAL ARTICLE

STUDY OF CONTRIBUTION OF LOW LEVEL OF PLASMA ENDOTHELIN-1 CONCENTRATION TO PATHOGENESIS OF GLAUCOMATOUS OPTIC NEUROPATHY

Ikuyo Ohguro¹⁾, Hiroshi Ohguro¹⁾, Hiroshi Ohkuro²⁾, and Mitsuru Nakazawa¹⁾

Abstract Purpose: To study of contribution of plasma endothelin-1 (ET-1) concentration to pathogenesis of glaucomatous optic neuropathy.

Subjects and Methods: We examined plasma ET-1 concentrations in 102 patients with normal tension glaucoma (NTG), 90 patients with primary open-angle glaucoma (POAG) and 78 age-matched non-glaucomatous subjects (CONT). In addition, the relationship between the plasma ET-1 concentrations and glaucoma stages were also studied.

Results: Plasma ET-1 concentrations of patients with NTG (3.34 ± 1.27 pg/ml, $P < 0.01$) and POAG (3.80 ± 1.40 pg/ml, $P < 0.05$) were significantly lower than those of CONT (4.39 ± 1.34 pg/ml). No relation was observed between these plasma ET-1 concentrations and glaucoma stages in NTG and POAG.

Conclusions: These results indicate that plasma ET-1 may be involved in the pathogenesis of glaucomatous optic neuropathy.

Hirosaki Med. J. 57: 59–64, 2006

Key words: the plasma endothelin-1; normal tension glaucoma; primary open-angle glaucoma; glaucomatous optic neuropathy.

¹⁾ Department of Ophthalmology, Hirosaki University School of Medicine

²⁾ Shichinohe Town Hospital

Correspondence: I. Ohguro

Received for publication, September 13, 2005

Accepted for publication, October 17, 2005

¹⁾ 弘前大学医学部眼科学教室

²⁾ 公立七戸病院

別刷請求先: 大黒幾代

平成17年9月13日受付

平成17年10月17日受理

緒言

緑内障性視神経障害の発生および進行に眼圧が関与していることは周知の事実であり、眼圧下降療法のみがエビデンスのある治療法である。しかし、眼圧を正常域に保っても視野障害が進行する症例を日常経験すること、原発開放隅角緑内障 (POAG) 患者の管理には眼圧を20mmHg以下の正常眼圧に保つだけでは不十分で、疾患の重症度、すなわち病期に合わせた目標眼圧の概念が提唱されていること¹⁾等から、緑内障病態に眼圧に依存しない因子が関与していることが一般に信じられるようになってきている。特に、正常眼圧緑内障 (NTG) 患者に乳頭出血が多くみられること²⁾や、膠原病を有する女性が緑内障になり易いこと³⁾等から、視神経乳頭部での血液循環障害が緑内障性視神経障害に関与している可能性が考えられている。

ET-1は1988年Yanagisawaら⁴⁾によって発見された血管内皮由来の生理活性ペプチドで、非常に強力かつ持続的な血管収縮作用を有している。In vivoでET-1を家兎の硝子体に投与すると、用量依存的に網膜血管の収縮が生じ⁵⁾、視神経乳頭で3時間以上持続する血流減少がみられる⁶⁾ことが確認されている。また実際にET-1を健常者の静脈内に投与すると、視神経乳頭や脈絡膜の血流量が約20%減少すること⁷⁾も確認されている。このようにET-1は眼循環障害を惹起することから、網膜血管閉塞症⁸⁾、糖尿病網膜症⁹⁾等の眼疾患の他、緑内障、特にNTG⁶⁾との係わりが最近注目されてきている。

緑内障とET-1に関しては、これまでにET-1の血中濃度が少数のNTG患者で有意に高かったという報告^{6,10,11)}がある一方、緑内障患者と非緑内障者とで血中ET-1濃度に差はなかったとする報告^{12,13)}もあり一定しておらず、多数例での詳細な検討が望まれている。そこで今回我々は、弘前大学眼科に通院中の緑内障患者の血中ET-1濃度を測定し、緑内障病態との係わりについて検討した。

対象と方法

対象は弘前大学附属病院眼科緑内障専門外来に通院中のNTG患者102例 (男性32例, 女性70

例) およびPOAG患者90例 (男性46例, 女性44例) で、緑内障のない成人78例 (男性36例, 女性42例) を正常対照者 (CONT) とした。NTGの診断基準は、無治療下で目を替え、時間を替え測定したGoldmann圧平眼圧計測定値が常に21mmHg未満で、正常開放隅角、緑内障性視神経乳頭変化に対応する視野異常を有するもの、視神経および視野に影響する眼内および頭蓋内病変がないものとした。またPOAGの診断基準はNTGのそれとほぼ同様であるが、無治療下で測定したGoldmann圧平眼圧計測定値が一度でも21mmHg以上を示した場合、POAGとした。CONTは公立七戸病院の人間ドック受診者のうちで、眼科医により緑内障や網膜血管病変がないと判断された者である。

採血は患者あるいは人間ドック受診者の文書同意を得た後、午前9~11時の間に外来にて約30分間座位安静を保った後に施行した。採血の時期は、NTGおよびPOAG患者は平成16年2月から4月にかけて、CONTは同年3月で、採血後血漿に分離して-30度で凍結保存した。血中ET-1濃度の測定には、enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) 法を用いた。凍結保存した血漿を測定直前に自然解凍し、測定キット (Parameter®, R&D SYSTEMS社製) を用いて血中ET-1濃度を算出し、NTG群、POAG群およびCONT群で比較した。またNTGおよびPOAG両群では、緑内障病期と血中ET-1濃度との関連についても検討した。

なお、統計学的解析にはScheffe's F-testを用い、有意水準5%未満を有意差ありと判定した。

結果

(1)患者および正常対照者の背景 (表1)

患者の年齢 (平均値±標準偏差) はNTG、POAG、CONT群の順に66.9±8.1歳、66.4±9.9歳、60.5±5.0歳で、CONT群に比べ、NTGおよびPOAG群で有意に高かった (P<0.01)。性別ではNTG群の女性が同男性の2倍以上を占めていたが、3群間で有意な差はみられなかった。また、血中ET-1濃度に影響を与えると思われる動脈硬化疾患、すなわち高血圧、糖尿病、虚血性心疾患、高脂血症の有無についても表1に併せて示した。高血圧はPOAG群でやや合併率が高い傾向にあつ

たが有意差はなく、糖尿病、虚血性心疾患、高脂血症に関しても、3群に有意差はみられなかった。

(2)患者および正常対照者の血中ET-1濃度(表2)

NTG群、POAG群の血中ET-1濃度はそれぞれ $3.34 \pm 1.27^{**}$ pg/ml, $3.80 \pm 1.40^{*}$ pg/mlで、CONT群の 4.39 ± 1.34 pg/mlに比べて有意に低かった (**P<0.01, *P<0.05).

(3)血中ET-1濃度と緑内障病期(表3)

緑内障病期 (Aulhorn-Greve's classification) 別の血中ET-1濃度を表4に示した。POAG群では病期によりばらつきがみられるものの、両群ともに病期による差および規則的なパターンはみられなかった。

表1. 患者および正常対照者の年齢・性別および基礎疾患

	年齢(歳) 性別(男/女)	高血圧	糖尿病	虚血性心疾患	高脂血症
NTG (102例)	$66.9 \pm 8.1^{**}$ 32 / 70	36例 (35.3%)	14例 (13.7%)	10例 (9.8%)	12例 (11.8%)
POAG (90例)	$66.4 \pm 9.9^{**}$ 46 / 44	45例 (50.0%)	15例 (16.7%)	8例 (8.9%)	14例 (15.6%)
CONT (78例)	60.5 ± 5.0 36 / 42	30例 (38.5%)	11例 (14.1%)	6例 (7.7%)	10例 (12.8%)

年齢は平均値±標準偏差で示した。 **P<0.01: Scheffe's F-test.

表2. 患者および正常対照者の血中ET-1濃度

	NTG	POAG	CONT
ET-1 (pg/ml)	$3.34 \pm 1.27^{**}$	$3.80 \pm 1.40^{*}$	4.39 ± 1.34

*P<0.05, **P<0.01: Scheffe's F-test.

表3. 血中ET-1濃度 (pg/ml) と緑内障病期

	緑内障病期 (Aulhorn-Greve's classification)					
	0-1	1	2	3	4	5-6
NTG (102例)	3.22 ± 1.51 (24例)	3.43 ± 1.27 (26例)	3.30 ± 1.14 (27例)	3.41 ± 1.33 (7例)	3.05 ± 1.74 (6例)	3.59 ± 0.95 (12例)
POAG (90例)	3.94 ± 1.98 (9例)	4.22 ± 0.63 (9例)	3.21 ± 1.52 (27例)	3.56 ± 0.56 (8例)	3.61 ± 1.05 (6例)	4.26 ± 1.38 (31例)

考 按

ET-1は非常に強力かつ持続的な血管収縮作用を有する血管内皮由来の生理活性ペプチドで、眼循環障害を惹起することから緑内障、特に正常眼圧緑内障⁶⁾との係わりが注目されている。

緑内障とET-1に関しては、NTG患者では年齢をマッチさせた正常対照者に比べて血中ET-1濃度が35~70%程度高いこと^{6,10,11)}、POAG患者の房水中ET-1濃度が非緑内障者に比べて高いこと^{14,15)}が報告されている。しかし一方で、緑内障患者と非緑内障者とで血中ET-1濃度に差はなかったとする報告^{12,13)}もある。さらに、今回の我々の結果はこれまでのものとは異なり、緑内障患者の血中ET-1濃度は正常対照者に比べて有意に低いというものであった。何故、報告によってこれだけ結果が異なるのであろうか。この原因の一つとして、ET-1が微量であることに加え、生理活性物質であるが故に血圧等の全身状態¹⁶⁾や気温等の環境因子に大きく左右されることが考えられる。

そこで我々はなるべく一定条件の下に、多数例に採血を行い今回の結果を得た。NTG群、POAG群の血中ET-1濃度はCONT群に比べて有意に低いというものであった。表1からわかるようにNTGおよびPOAG群とCONT群では年齢に差がみられているので、この年齢差が血中ET-1濃度差に影響している可能性は否定できない。これまでの多くの研究から、血中ET-1濃度は加齢とともに増加することが知られている^{17,18)}。したがって、CONT群に比べて有意に年齢が高いNTGおよびPOAG群でより低い血中ET-1濃度値を示したことは、緑内障病態との係わりを強く示唆するものと考えられる。特に、年齢差のないNTG群とPOAG群を比較した場合、血流障害の影響がより大きいと予想されるNTG群でより低い血中ET-1濃度値を示したことは非常に興味深い。

ET-1は血管平滑筋のET_A受容体に作用して血管収縮させる一方、近隣の血管内皮細胞のET_B受容体に結合しNO等を介して血管を弛緩させることが知られている¹⁹⁾。免疫組織化学的研究から、ET_AおよびET_B受容体が虹彩、毛様体および網脈絡膜のような眼内でも血流の豊富な組織に広く分布していることが証明されており²⁰⁻²²⁾、このこと

からもET-1が眼血流と深く関係していることが予想される。すなわち、血中ET-1は眼局所のET_AおよびET_B受容体に作用して血管の緊張を変化させることによって眼血流に変化をもたらすと考えられる。我々の結果ではNTG群およびPOAG群の血中ET-1濃度はCONT群に比べて有意に低いというものであった。ここで、血管緊張性が血中ET-1濃度に完全に依存すると考えれば、緑内障群では血管緊張性が低下し、正常対照者よりも眼血流が良いとも考えられる。しかし、ET-1の作用効果は血中ET-1がその受容体に結合して初めて生じるものであるから、単に血中濃度の高低だけはその作用効果を論じるべきではなく、受容体との関連性ととも検討すべきである。

一般に、急激な濃度変化に関連して起きる変化は、その濃度に100%依存すると考えられる。しかし、血中濃度が慢性的に低く抑えられていると、その受容体がhypersensitivityを獲得し、わずかな血中濃度の変化にも過剰に反応して効果が発現する可能性があることが知られている。緑内障のような慢性疾患で慢性的に血中ET-1濃度が低い場合、これと同様の機序で、ET-1受容体がhypersensitivityを獲得している可能性が考えられる。その場合、血中ET-1濃度のわずかな変化でも、過剰な血管収縮が起きることが予想される。Gassら²³⁾はPOAG、NTG患者および年齢と性別をマッチさせた正常対照者にET-1を腕動脈から投与し、末梢での血流障害と血圧との関係を測定している。それによると、緑内障患者では血圧の低い患者ほど血流障害が強くみられたのに対し、正常対照者では血圧との関連性は見られなかったことから、緑内障患者と正常対照者とではET-1に対する反応性に違いがあると報告している。また、緑内障患者では正常者に比べ、寒冷刺激でより強い血管収縮が起こりその回復も有意に遅いことが知られている¹²⁾。これらの事実は、我々の仮説と矛盾しない。すなわち、緑内障患者では、ET-1受容体がhypersensitivityを獲得し血中ET-1濃度が慢性的に低く抑えられているが、分泌刺激や血中濃度の僅かな変化にも過剰に反応するためその作用がより強く表現され、眼循環障害を惹起して緑内障病態に影響を及ぼしているのではないかと推測される。

以上、今回の研究結果から、緑内障患者では病期によらず血中ET-1濃度が正常対照者に比べて有意に低いことが判明し、ET-1が緑内障病態に関与している可能性が示唆された。しかし、その詳細な機序については不明であり、今後もより一層の症例研究の積み重ねが必要と考えられる。

文 献

- 1) 岩田和夫. Primary open angle glaucoma and low tension glaucoma—Pathogenesis and mechanism of optic nerve damage—. 日眼会誌 1992;96:1501-31.
- 2) Neufeld AH, Hernandez R, Gonzalez M. Nitric oxide synthase in the human glaucomatous optic nerve head. *Arch Ophthalmol* 1997;115:497-503.
- 3) Maruyama I, Ohguro H, Ikeda Y. Retinal ganglion cells recognized by serum autoantibody against γ -enolase found in glaucoma patients. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2000;41:1657-65.
- 4) Yanagisawa M, Kurihara H, Kimura S, Tomobe Y, Kobayashi M, Mitsui Y, Yazaki Y, et al. A novel potent vasoconstrictor peptide produced by vascular endothelial cells. *Nature* 1988;332:411-5.
- 5) Takei K, Sato T, Nonoyama T, Miyauchi T, Goto K, Hommura S. A new model of transient complete obstruction of retinal vessels induced by endothelin-1 injection into vitreous body in rabbits. *Graefe's Arch Clin Exp Ophthalmol* 1993;231:476-81.
- 6) Sugiyama T, Moriya S, Oku H, Azuma I. Association of endothelin-1 with normal tension glaucoma. Clinical and fundamental studies. *Surv Ophthalmol* 1995;39(Suppl 1):S49-S56.
- 7) Polak K, Petternel V, Luksch A, Krohn J, Findl O, Polska E, Schmetterer L. Effect of endothelin and BQ123 on ocular blood flow parameters in healthy subjects. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2001;42:2949-56.
- 8) 前谷 悟, 杉山哲也, 清水一弘, 奥 英弘, 濱田 潤, 松浦啓太, 守屋伸一, 他. 網膜動脈・静脈閉塞症における血漿エンドセリン活性値とCa²⁺拮抗薬の効果. *臨眼* 1995;49:947-51.
- 9) Oku H, Kida T, Sugiyama T, Hamada J, Sato B, Ikeda T. Possible involvement of endothelin-1 and nitric oxide in the pathogenesis of proliferative diabetic retinopathy. *Retina* 2001;21:647-51.
- 10) Cellini M, Possati GL, Profazio V, Sbrocca M, Caramazza N, Caramazza R. Color Doppler imaging and plasma levels of endothelin-1 in low-tension glaucoma. *Acta Ophthalmol Scand Suppl* 1997;224:11-3.
- 11) Kaiser HJ, Flammer J, Wenk M, Luscher T. Endothelin-1 plasma levels in normal-tension glaucoma. Abnormal response to postural changes. *Graefe's Arch Clin Exp Ophthalmol* 1995;233:484-8.
- 12) Nicoletta MT, Ferrier SN, Morrison CA, Archibald ML, Levatte TL, Wallace K, Chauhan BC, et al. Effects of cold-induced vasospasm in glaucoma. The role of endothelin-1. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2003;44:2565-72.
- 13) Pienkowska Machoy E, Millo B. The endothelin-1 level in blood serum of patients with primary open-angle glaucoma and its influence on the static perimetry and Gdx changes. *Klin Oczna* 2002;104:214-7.
- 14) Noske W, Hensen J, Wiederholt M. Endothelin-like immunoreactivity in aqueous humor of patients with primary open-angle glaucoma and cataract. *Graefe's Arch Clin Exp Ophthalmol* 1997;235:551-2.
- 15) Tezel G, Kass MA, Kolker AE, Becker B, Wax MB. Plasma and aqueous humor endothelin levels in primary open-angle glaucoma. *J Glaucoma* 1997;6:83-9.
- 16) Letizia C, Cerci S, De-Ciocchis A, D'Ambrosio C, Scuro L, Scavo D. Plasma endothelin-1 levels in normotensive and borderline hypertensive subjects during a standard cold pressor test. *J Hum Hypertens* 1995;9:903-7.
- 17) Komatsumoto S, Nara M. Changes in the level of endothelin-1 with aging. *Nippon Ronen Igakkai Zasshi* 1995;32:664-9.

- 18) Dohi Y, Kojima M, Sato K, Luscher TF. Age-related changes in vascular smooth muscle and endothelium. *Drugs Aging* 1995;7:278-91.
- 19) 杉山哲也. Endothelin, renin angiotensin system, 神経伝達物質. 吉田晃敏, 張野正誉, 桐生純一, 玉置泰裕編. *New Mook 眼科No.7 眼循環*. 金原出版; 東京: p.158-163.
- 20) MacCumber MW, D'Anna SA. Endothelin receptor-binding subtypes in the human retina and choroid. *Arch Ophthalmol* 1994;112:1231-5.
- 21) Ripodas A, de Juan JA, Roldan-Pallares M, Bernal R, Moya J, Chao M, Lopez A, et al. Localisation of endothelin-1 mRNA expression and immunoreactivity in the retina and optic nerve from human and porcine eye. Evidence for endothelin-1 expression in astrocytes. *Brain Res* 2001;912:137-43.
- 22) Fernandez-Durango R, Rollin R, Mediero A, Roldan-Pallares M, Garcia-Feijo J, Garcia-Sanchez J, Fernandez-Cruz A, et al. Localization of endothelin-1 mRNA expression and immunoreactivity in the anterior segment of human eye: expression of ETA and ETB receptors. *Mol Vis* 2003;9:103-9.
- 23) Gass A, Flammer J, Linder L, Romerio SC, Gasser P, Haefel WE. Inverse correlation between endothelin-1-induced peripheral microvascular vasoconstriction and blood pressure in glaucoma patients. *Graefe's Arch Clin Exp Ophthalmol* 1997;235:634-8.