

ヒト水晶体核の色調に関する検討

—無機金属4元素含量, 誘電挙動との関連性について—

松岡 里佳, 渡辺 牧夫, 上野 脩幸

高知医科大学眼科学教室

要 約

老人性白内障において, 水晶体核の黄色色調の増加順にグレード1~5に分類し, 白内障手術により得られた摘出核のグレードと湿重量, 含水率(重量%), 金属元素含量(ナトリウム, カリウム, カルシウム, マグネシウム), 誘電挙動との関連性などについて検討した. グレードが進むとともに含水率($p < 0.01$), カリウム含量($p < 0.05$)は低下し, 湿重量($p < 0.01$), ナトリウム($p < 0.05$), カルシウム($p < 0.005$), マグネシウム含量($p < 0.001$)は増加する有意の相関関係が得られた. 誘電挙動の面では, 導電率の低周波収斂値はグレードが高くなるに従って有意に低下し($p < 0.05$), 比誘電率の高周波収斂値は減少したも

の, 有意の変化ではなかった($p = 0.052$). 今回の結果から, 核の着色の進行とともに含水率の低下や金属元素含量の変化が生じており, これらが線維細胞の膜機能と密接に関係していることが示唆された. グレードの進行した核では, 一部の膜の能動輸送系の機能は低下するのに対し, 膜の電気的なバリアーは維持されていると考えられた. (日眼会誌 101: 359-364, 1997)

キーワード: 老人性白内障, 核の色調, 含水率, 無機金属元素, 誘電挙動

A Study of Coloring in Human Lens Nucleus —Association of Four Inorganic Elements and Dielectric Behavior with Nuclear Color—

Rika Matsuoka, Makio Watanabe and Hisayuki Ueno

Department of Ophthalmology, Kochi Medical School

Abstract

We classified senile cataractous lenses before surgery into five grades on the basis of their nuclear color and analyzed the extracted nuclei on wet weight, water content (weight %), inorganic element content (sodium, potassium, calcium and magnesium), and dielectric behavior. With increase in the grade, water content ($p < 0.01$) and potassium content ($p < 0.05$) significantly decreased, and wet weight ($p < 0.01$) and sodium ($p < 0.05$), calcium ($p < 0.01$) and magnesium ($p < 0.001$) content significantly increased. In dielectric behavior, limiting conductivity at low frequencies significantly decreased with increase in the grade ($p < 0.05$), and limiting permittivity at high frequencies showed a trend to decrease, but it was not significant ($p = 0.052$). These

results indicate that changes in water content and in inorganic element content are associated with advancement in color grade, suggesting a close relation between the color grade and the membrane functions of lens fibers. In the nuclei with high color grade, we concluded that part of the active transport systems of the fiber membranes was damaged, although the electrical barrier of the membranes was retained. (J Jpn Ophthalmol Soc 101: 359-364, 1997)

Key words: Senile cataract, Nuclear color, Water content, Inorganic element, Dielectric behavior

I 緒 言

水晶体は無血管組織であり, 高密度の細胞, 高濃度の蛋

白質を持つにもかかわらず, 透明性を維持する特異な組織である. 水晶体の混濁機序については, これまで蛋白質や水, 電解質など水晶体内因子, 房水や硝子体などの水晶

別刷請求先: 783 高知県南国市岡豊町小蓮 高知医科大学眼科学教室 松岡 里佳
(平成8年8月12日受付, 平成8年12月9日改訂受理)

Reprint requests to: Rika Matsuoka, M.D. Department of Ophthalmology, Kochi Medical School, Kohasu, Okochi, Nankoku-shi, Kochi-ken 783, Japan.

(Received August 12, 1996 and accepted in revised form December 9, 1996)

体外因子, ホルモンや耐糖能異常といった生体内因子, 紫外線や温度など体外因子とさまざまな研究がなされている¹⁾. 水晶体内因子のうち, 無機金属元素は, 水晶体全体に占める割合は僅かであるが, 水晶体の透明性に重要な役割を果たし, 水晶体の混濁と関連してその水晶体内レベルが大きく変化することが知られている²⁾. また, 水晶体核の黄色色調の増加については, 不溶性蛋白質や蛍光物質との関連性が指摘されており^{3,4)}, 最近では水溶性分画中に存在するグルコシドとの関連性も示唆されている⁵⁾.

水晶体内の無機金属元素含量の動態を水晶体混濁状態と比較した研究は, これまで数多く報告^{2,6)~8)}されているが, 核の色調との関連についての報告^{9)~11)}は少ない. 今回, 老人性白内障において, 核の色調を5段階に分類し(グレイド1~5), 白内障手術によって得られた摘出核の湿重量, 含水率, ナトリウム, カリウム, カルシウム, マグネシウム含量とともに組織インピーダンスを測定し, 核の色調と線維細胞の膜機能の関連性について検討した. なお, 今回の金属4元素含量にはイオン型, 組織結合型の両者が含まれる.

II 対象と方法

1. 対象

高知医大附属病院および関連病院眼科において, 平成5年4月から半年間に水晶体囊外摘出手術(超音波白内障乳化吸引術からのコンパート例を含む)を受けた老人性白内障患者31例33眼を対象とした. 年齢は48~96歳で, 平均値±標準偏差は75.4±9.3歳であった. 摘出核は保湿の上, 2時間以内に湿重量を測定した. このうち, 摘出後30分以内に実験に供することが可能であった17眼については, 同時に組織インピーダンス測定を行った.

2. 核のグレイド

水晶体核の色調は, 術前に細隙灯顕微鏡検査およびフोटスリット写真から, 胎生核の部位の色調を基に, Oxford分類¹²⁾に準じて分類した. 核の分類方法としては, 他に日本白内障疫学研究班分類¹³⁾やEmery分類があるが, 今回はグレイドの高い色調の分類がより詳細であり, 我々が日常臨床的に用いている分類に最も近いOxford分類を採用した. 33眼の内訳を表1に示す.

3. 方法

手術により得られた摘出核は, 直ちに付着した残留皮

質, 血液塊および粘弾性物質をガーゼで物理的に取り除き, 電子天秤で湿重量を測定した後, 電気乾熱滅菌器を用いて一定重量に達するまで乾燥させ(70°C, 48時間)乾燥重量を測定し, 含水率(重量%)を計算した. 乾燥核は, それぞれ湿式灰化の上, ナトリウム, カリウム, カルシウム, マグネシウム含量をゼーマン偏光原子吸光光度計(日立180-80)を用いて測定し, 核湿重量当たりの含有量を計算した.

4. 誘電測定

17眼は, 表面電極法を用いてインピーダンス測定を行い, 誘電挙動¹⁴⁾¹⁵⁾を観察した. 今回使用した測定電極は, 眼科手術時に使用する止血用ジアテルミー電極(ウェットフィールドタイプ)を改造した同心円状表面電極(外径1.3mm)で, 測定時のオシラトリ・ポテンシャルは0.5Vとした. インピーダンス測定は, ヒューレットパッカード社インピーダンス・アナライザ(4194A)を用い, 測定周波数は10kHz~100MHzで, 81周波数点をカバーした. 1回の周波数走査に要する時間は約40秒であった.

5. 統計処理

核の色調に関する分類は規準写真などを基に主観的に判定するものが多く¹²⁾¹³⁾¹⁶⁾, また, 主観的に判定したグレイドと客観的な評価結果がよく対応するという報告¹⁷⁾¹⁸⁾もあるが, グレイドはあくまで主観的な非計量値であり, 計量値として数学的に扱うことには問題がある. そのため今回我々は, グレイドと各計量値データの統計学的検討ではSpearmanの順位相関係数(r_s)を求め検定し, また, 含水率や元素含量などの計量値同士の場合では, 一回帰から相関係数(r)を求め検定した. いずれの場合も, $p < 0.05$ を統計学的に有意とした.

III 結果

1. 湿重量および含水率

グレイドの進行とともに, 水晶体核部の湿重量は増加するのに対して(図1a), 含水率は有意に低下した(図1b). なお, 年齢とグレイド, 湿重量, 含水率の間には, いずれも有意の関係を認めなかった.

2. 無機金属元素含量

グレイドの進行と各元素含量の関係をみると, ナトリウム, カルシウム, マグネシウム含量は増加し, カリウム含量は減少する, いずれも有意の相関が得られた(図2). それぞれグレイド1と5における含有量の平均値の変動をみると, ナトリウムは約2倍に増加し, カリウムは約1/3に減少していた. マグネシウムは約1.5倍の増加であった. カルシウム含量のグレイドに伴う増加は, 82.6 $\mu\text{g/g}$ 核湿重量から691.6 $\mu\text{g/g}$ 核湿重量と10倍近くであった.

今回測定した各金属元素含量の関係をみると, グレイドとともに含有量が増加するナトリウム, カルシウム, マ

表1 核の分類と内訳

グレイド	色調	眼数
1	淡黄色	5
2	黄色	6
3	橙黄色	6
4	赤褐色	9
5	黒褐色	7

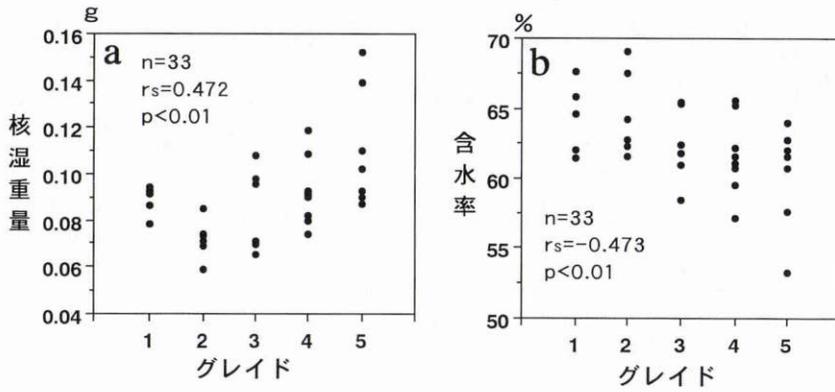


図1 グレードと核湿重量(a), 含水率(b)の関係。
 r_s は Spearman の順位相関係数。

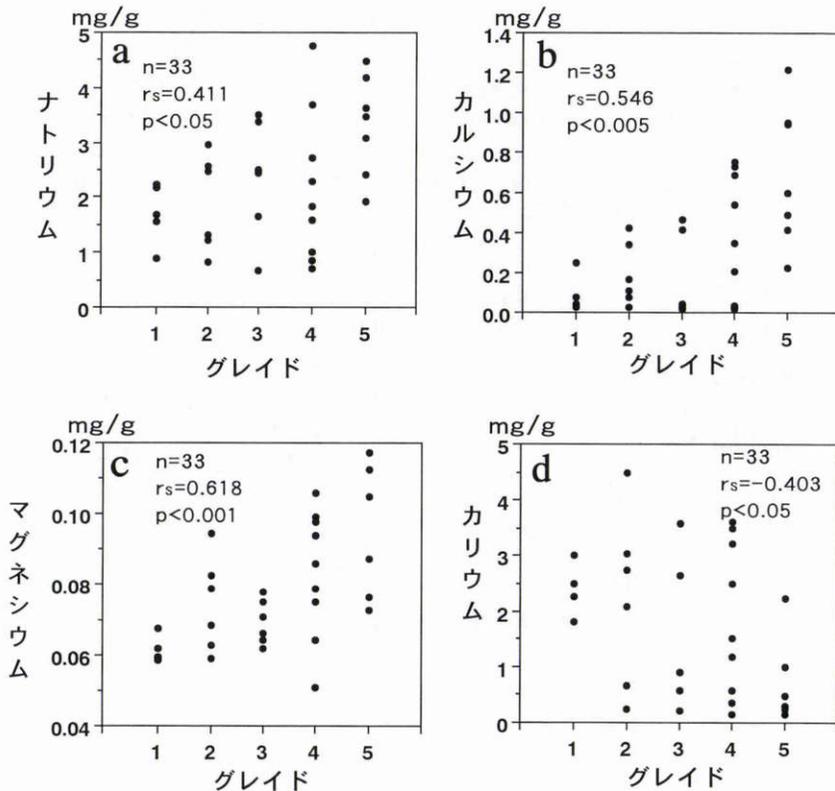


図2 グレードとナトリウム(a), カルシウム(b), マグネシウム(c), カリウム(d)含量の関係(核湿重量当たりの元素含有量で表示)。

r_s は Spearman の順位相関係数。

グネシウムについては、それぞれナトリウム-カルシウム間(図3 a), ナトリウム-マグネシウム間(図3 b), カルシウム-マグネシウム間(図3 c)で有意の正の相関が得られた。グレードとともに含量が減少するカリウムについては、ナトリウム(図3 d), カルシウム(図3 e)との間で有意の負の相関が得られたが、マグネシウムとの間(図3 f)では有意の関係は得られなかった。

3. 誘電挙動

グレードと誘電挙動の関係を図4に示す。プロットは摘出核の周波数依存性誘電分散曲線の各グレードの平均値を示す。水晶体核においても、他の生体組織と同様に、比誘電率(以下、誘電率)は周波数とともに低下し、反対に

導電率は増加する誘電分散現象を認めた。また、今回用いた表面電極法による水晶体の誘電測定の結果は、従来の平行板コンデンサー型の測定セルによるもの¹⁹⁾²⁰⁾と比較して大きな差は認められなかった。グレードの進行に伴い、導電率のレベルは大きく低下し、また、誘電率は特に高周波側で低下する傾向を認めた。誘電率の高周波収斂値(今回は周波数100 MHzでの誘電率)を ϵ_h 、導電率の低周波収斂値(周波数10 kHzでの導電率)を χ_1 と呼び、試料の誘電的指標として用いるが、これらのグレードとの関係についても検討した。 ϵ_h , χ_1 ともにグレードが進むに従い低下する傾向を認めたが、 χ_1 は有意の低下を示した(図4 b)のに対し、 ϵ_h の低下は有意ではなかった(図4

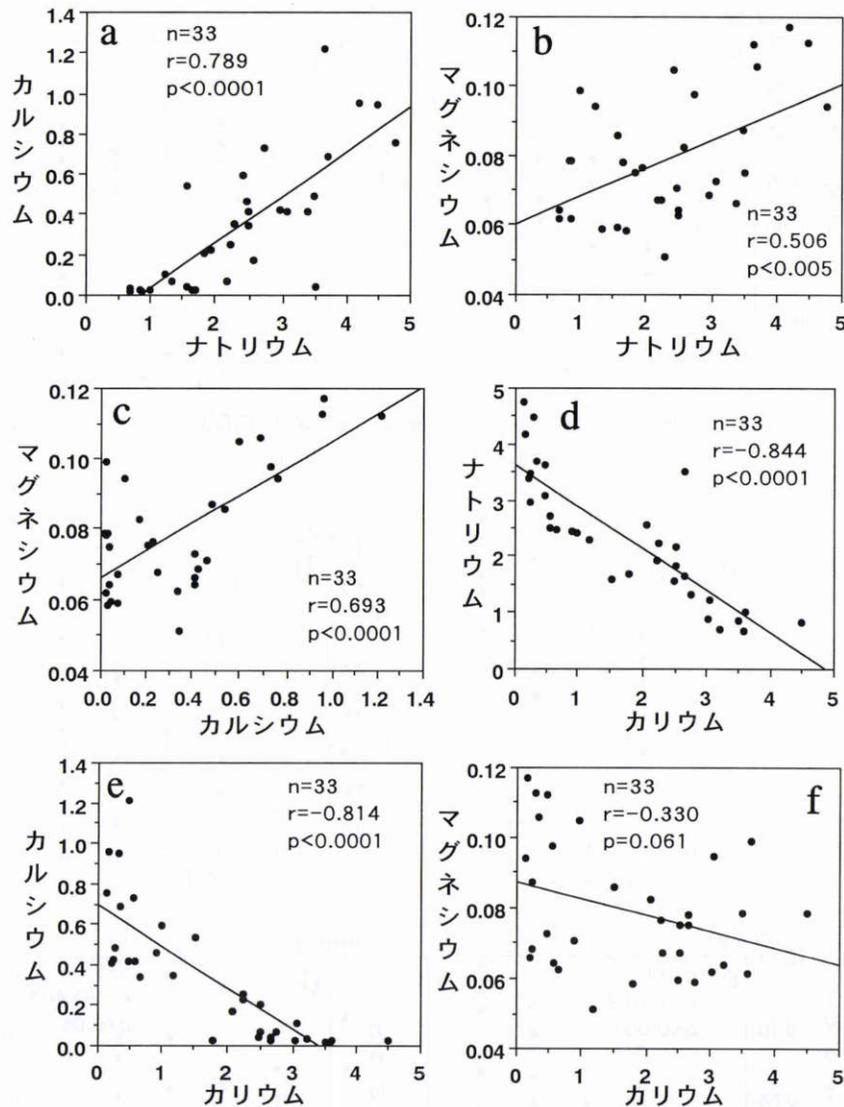


図3 各金属元素含量の関係(単位はすべてmg/g)。

a: ナトリウム-カルシウム間, b: ナトリウム-マグネシウム間, c: カルシウム-マグネシウム間, d: カリウム-ナトリウム間, e: カリウム-カルシウム間, f: カリウム-マグネシウム間の関係, r は一次相関係数, — は一回帰直線。

c)。

この他, ① 含水率とナトリウム, カリウム, カルシウム, マグネシウム含量の関係, ② 含水率と誘電挙動の関係, ③ ナトリウム, カリウム, カルシウム, マグネシウム含量と誘電挙動の関係を調べたが, いずれも有意の相関関係は得られなかった。

IV 考 按

一般に, 色調の強い核ほど物理的に硬く²¹⁾, 白内障手術時に超音波手術の適用上問題が生じることが知られている。今回の結果から, グレイドとともに核の硬度が増す一因として含水率の低下が考えられる。また, 湿重量が増加するにもかかわらず, 含水率は有意に低下することから, 水晶体核の色調は線維細胞が周辺から中央に押し込められ, 細胞密度が高くなり, 脱水・硬化を起こしていく現象と関係していると考えられる。今回我々は, こうした変化

を生じる原因を核線維細胞の膜機能と関連づけて検討した。

細胞膜機能に関する研究は, イオンポンプ, イオンチャンネルなどを対象にして, 微小電極やパッチクランプなどを用いた方法が通常用いられるが, ヒト水晶体核の線維細胞の場合, これらの手法を適応することは困難である。そのため, 我々は電気生理学的手法の一つとして組織インピーダンス測定を用い, また, 膜機能の変化の結果生じるであろう金属元素含量の変化を定量し, 両者を組み合わせて線維細胞膜の膜機能と核着色の進行との関連性を検討した。

白内障の進行に伴い, 水晶体内ナトリウム, カルシウム含量は増加し, カリウム含量が減少することは, これまで数多く報告されている。マグネシウム含量は従来から, 白内障の進行に伴っての変動はしないとされているが²²⁾, 多くは全水晶体中でのマグネシウム含量に関する報告

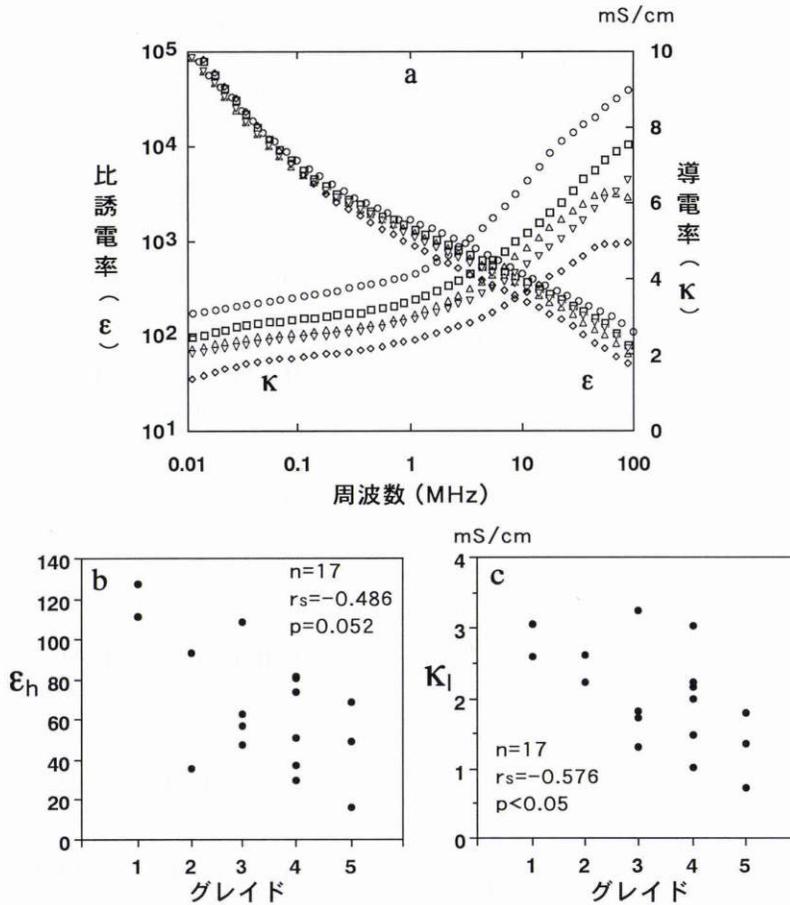


図4 グレードと誘電挙動の関係。

a: 周波数依存性の誘電分散曲線(○:グレード1, □:グレード2, △:グレード3, ▽:グレード4, ◇:グレード5). プロットは各グレードの平均値を示す. b: グレードと比誘電率の高周波取値値(ε_h)の関係. c: グレードと導電率の低周波取値値(κ_l)の関係. r_sは Spearman の順位相関係数.

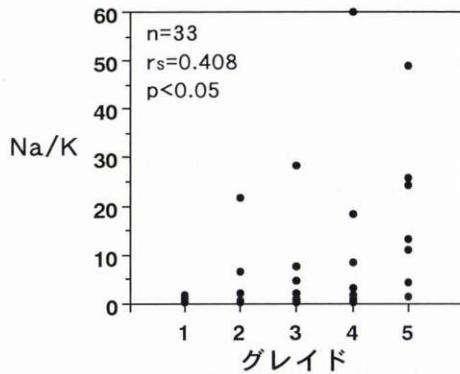


図5 グレードとNa/K比の関係.
r_sは Spearman の順位相関係数.

であった. 今回のデータは, 摘出核に限定したマグネシウム含量の定量であるが, 変動幅は小さいものの, グレードの進行(核の着色)とともにマグネシウム含量が有意の増加を認めたことは著者らの知る限り初めての報告である(図2c). 金属元素の変化は, 一般には1価陽イオンや2価陽イオンの能動輸送の障害, あるいは受動的膜透過性の亢進により説明されている. 特にカルシウムの変動は水晶体の透明性に関係し, 水晶体内部のカルシウムが増

加すると, 蛋白質の会合を来し, 水晶体混濁を引き起こすと考えられ, 膜および水不溶性蛋白結合カルシウムが水晶体混濁と関係するとされる¹¹⁾. これら金属元素の変動は, 白内障のタイプや部位により異なり, また, グレードの進行が白内障の進行と一致するとは限らず, 一概にはいえないが, 今回測定した金属4元素の含量の変化とグレードとの間には, すべて有意の相関関係が得られたことから(図2), 無機金属元素と核の色調の関わりが予想される.

無機金属元素のうち, ナトリウムとカリウムは膜機能と関わりが深いことが知られる. グレードに対し, ナトリウムとカリウムの比(Na/K)をみると(図5), グレードとともにNa/K比が増加する有意の相関が得られた. 細胞内ナトリウム, カリウムの変動は主としてNa⁺/K⁺-ATPaseにより制御されているため, グレードが進むに従いNa⁺/K⁺-ATPaseを介しての能動輸送が低下している可能性がある. 今回測定した元素含量には, 細胞内のみでなく細胞外液の元素を含み, また, イオン化したものだけでなく結合型も含み得る. このため, 核のグレードの進行に伴うNa/K比の増加は, 直接的に能動輸送の低下を意味するとはいえないが, 何らかの膜機能の変化を反

映している可能性が高い。そこで今回、我々はインピーダンス測定を行い、電気生理学的な側面からも検討を加えた。

一般に組織や細胞懸濁系のインピーダンスを測定すると、試料の示す誘電率は周波数とともに低下し、反対に導電率は増加するという周波数依存性を示す。この現象は誘電分散といわれ、組織や細胞の形態や電気的狀態を反映することから、インピーダンス測定により、特に細胞膜に関する多くの情報を得ることができる。今回の誘電測定では、 ϵ_n はグレイドの進行に伴い低下する傾向を示した。この ϵ_n の低下は、グレイドとともに低下するであろう細胞内外の水分の減少を反映すると考えられるが、高周波 100 MHz 付近の誘電率は、結合水、自由水の他、蛋白質の誘電挙動をも反映し得るため、グレイドの間にはっきりとした有意の相関関係が得られなかったと考えられる。また、グレイドの進行に伴う κ_1 の有意の低下は、線維細胞膜の導電率が十分低く保たれていることを意味し、同時に核中心部に押し込められた線維細胞の細胞密度がグレイドとともに高くなることを反映している。以上のことから総合的に判断して、核の着色の進行とともに一部の能動輸送系の障害は生じているが、膜の電氣的バリアー機能は維持されていると考えられた。

グレイドと含水率、各元素含量および κ_1 の間には有意の関係が得られたのに対して、グレイドと ϵ_n 、含水率と各元素含量、誘電挙動の間には有意の相関関係が得られなかった。この原因としては前述のごとく、今回測定した含水率には自由水と結合水が含まれ、白内障化により、相対的に結合水は減少し、自由水は反対に増加することが考えられる。今後は、含水率として両者をひとくくりせず、水晶体蛋白の変化を含め核の着色との関連性について、さらに検討を加えていく予定である。

稿を終えるに当たり、御助言・御協力頂きました高知医科大学第2生理学教室の入交昭彦教授、竹内俊二助手、安藤元紀助手および金属元素定量に御協力頂きました同機器センター小西裕子技官に深謝いたします。

なお、本論文の要旨は第100回日本眼科学会総会において発表した(1996年)。

文 献

- 1) 小原喜隆：4. 白内障4.2. 病因。増田寛次郎(編)：眼科学大系，2B，水晶体。中山書店，東京，113—126，1993。
- 2) Duncan G, Bushell AR: Ion analyses of human cataractous lenses. *Exp Eye Res* 20: 223—230, 1975.
- 3) Pirie A: Formation of N'-formylkynurenine in proteins from lens and other sources by exposure to sunlight. *Biochem J* 125: 203—208, 1971.
- 4) van Heyningen R: Assay of fluorescent glucosides in the human lens. *Exp Eye Res* 15: 121—126, 1973.
- 5) Inoue A, Satoh K: Identification of a fluorescent glucoside isolated from the protein-free extract of human lens. *Bioorganic Medical Chemistry Letters* 4: 2303—2306, 1994.
- 6) 亀井 鑠：1. 総論1.4D. 無機イオン，その他。増田寛次郎(編)：眼科学大系，2B，水晶体。中山書店，東京，73—80，1993。
- 7) Stanojević-Paović A, Hristić V, Čuperlović M, Jovanović S, Krsmanović J: Macro-and microelements in the cataractous eye lens. *Ophthalmic Res* 19: 230—234, 1987.
- 8) Rasi V, Costantini S, Moramarco A, Giordano R, Giustolisi R, Gabrieli CB: Inorganic element concentrations in cataractous human lenses. *Ann Ophthalmol* 24: 459—464, 1992.
- 9) Jedziniak JA, Nicoli DF, Yates EM, Benedek GB: On the calcium concentration of cataractous and normal human lenses and protein fractions of cataractous lenses. *Exp Eye Res* 23: 325—332, 1976.
- 10) Duncan G, Bushell AR: Relationships between colour, sodium and protein content in individual senile human cataractous lenses. *Ophthalmic Res* 11: 397—404, 1979.
- 11) Hightower KR, Reddy VN: Calcium content and distribution in human cataract. *Exp Eye Res* 34: 413—421, 1982.
- 12) Sparrow JM, Bron AJ, Brown NAP, Ayliffe W, Hill AR: The Oxford clinical cataract classification and grading system. *Int Ophthalmol* 9: 207—225, 1986.
- 13) 佐々木一之，柴田崇志，尾羽沢大，藤原隆明，小暮文雄，小原喜隆，他：白内障分類試案。日眼会誌 93: 796—800, 1989。
- 14) 入交昭彦，渡辺牧夫：生体組織・細胞の誘電解析。病態生理 11: 372—378, 1992。
- 15) Foster KR, Schwan HP: Dielectric properties of tissues and biological materials: A critical review. *Crit Rev Biomed Eng* 17: 25—104, 1989.
- 16) Chylack LT Jr, Wolfe JK, Singer DM, Leske MC, Bullimore MA, Bailey IL, et al: The lens opacities classification system III. *Arch Ophthalmol* 111: 831—836, 1993.
- 17) Khu PM, Kashiwagi T: Quantitating nuclear opacification in color Scheimpflug photographs. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 34: 130—136, 1993.
- 18) van den Berg TJTP, Felius J: Relationship between spectral transmittance and slit lamp color of human lenses. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 36: 322—329, 1995.
- 19) Watanabe M, Suzaki T, Irimajiri A: Dielectric behavior of the flog lens in the 100 Hz to 500 MHz range. Simulation with an allocated ellipsoidal-shells model. *Biophys J* 59: 139—149, 1991.
- 20) 清家恭三，渡辺牧夫，上野脩幸：寒冷白内障に伴うラット水晶体の誘電挙動の変化。日眼会誌 100: 262—269, 1996。
- 21) 湯浅英治：水晶体硬度の物理学的アプローチ。眼紀 34: 1849—1854, 1983。