

初期糖尿病患者における網膜機能の解析

1. 網膜症発現前における血液網膜柵の透過性機能と

ERG 律動様小波の動態の比較 (図1, 表6)

吉田 晃敏・三浦 恵子 (旭川医科大学眼科)

小島 満 (旭川医科大学実験実習機器センター)

Permeability of the Blood-Retinal Barrier and Oscillatory
Potential of ERG in Diabetics without Retinopathy

Akitoshi Yoshida*, Keiko Miura* and Mitsuru Kojima**

*Department of Ophthalmology, Asahikawa Medical College

**Central Laboratory for Research and Education, Asahikawa Medical College

要 約

本研究では、網膜症を有しない糖尿病患者に対し、Vitreous Fluorophotometry (VFP) および Electroretinogram (ERG) の手法を同時に用いることにより、網膜機能の解析を行った。対象は40歳から59歳までのインスリン非依存型糖尿病患者29人52眼と、同一年齢群の正常者21人30眼で、蛍光眼底造影検査にて、糖尿病群および正常群ともに網膜に異常所見を認めないことを確認した。なお両群とも屈折範囲を $\pm 1.0D$ 以内と限定し、後部硝子体剝離眼はすべて対象から除外した。血液網膜柵の内方透過性係数 (Pin) は、baseline 補正した60分 VFP 値および血漿中 free fluorescein 濃度を基に computer simulation 法により算出した。ERG では、特に律動様小波に着目し、 O_1 頂点潜時などの解析を行った。その結果、正常群と比較して糖尿病群では、Pin には有意差を認めず、一方 O_1 頂点潜時は明らかな延長を示した。従って、糖尿病患者における網膜では、網膜症発現前から O_1 頂点潜時の延長、すなわち neuropathy が認められ、血液網膜柵の透過性亢進は、これに遅れて発現することが推測される。(日眼 91: 599—603, 1987)

キーワード：糖尿病性網膜症，血液網膜柵，律動様小波，硝子体蛍光測定法，網膜電図

Abstract

Vitreous fluorophotometry and electroretinography were carried out in 52 eyes of 29 noninsulin-dependent diabetics and 30 eyes of 21 normal subjects, ranging in age from 40 to 59 years. Fluorescein fundus angiograms revealed abnormal finding in neither diabetics nor normal subjects. The refractive error of eyes, if any, was limited to within ± 1.0 diopter. Eyes which showed any type of posterior vitreous detachment were excluded. Baseline corrected vitreous fluorescein concentrations 60 minutes following fluorescein injection and measurements of protein-unbound fluorescein concentration in the plasma were used to calculate the inward permeability of the blood-retinal barrier (Pin) by a computer simulation method. The peak latency of the first deflection (O_1) of the oscillatory potential (O_1 peak latency), the interpeak interval between O_1 and the second deflection (O_2) of the oscillatory potential (T_1) and the summed amplitude of the upward deflections ($O_1 \sim O_4$) (ΣO) were analyzed on ERG recordings. A comparison was made between the diabetic group and the control group in terms of four parameters (Pin, O_1 peak latency, T_1 , ΣO). The O_1 peak latency was significantly longer in diabetics

別刷請求先：078 旭川市西神楽 4-5-3-11 旭川医科大学眼科学教室 吉田 晃敏

Reprint requests to: Akitoshi Yoshida, M.D. Dept. of Ophthalmol., Asahikawa Medical College
4-5-3-11 Nishikagura, Asahikawa 078, Japan

(昭和62年2月17日受付) (Accepted February 17, 1987)

without retinopathy than in normal subjects. No significant difference was observed between the two groups in terms of the other three parameters. Our results indicated that the earliest retinal change in diabetics without retinopathy is the selective delay of the peak latency of O_1 (retinal neuropathy) rather than increased permeability of the blood-retinal barrier. (Acta Soc Ophthalmol Jpn 91: 599—603, 1987)

Key words: Diabetic retinopathy, Blood-retinal barrier, Oscillatory potential, Vitreous fluorophotometry, Electroretinogram

I 緒 言

糖尿病性網膜症を管理、治療する上で、その初期病態を解明することは極めて重要である。糖尿病患者の網膜では、網膜電図 electroretinogram (以下 ERG と略す) を記録すると網膜症の発現以前から律動様小波 oscillatory potential (以下 OP と略す) の選択的異常すなわち neuropathy がしばしば検出されることが報告されている¹⁾²⁾。一方硝子体蛍光測定法 vitreous fluorophotometry (以下 VFP と略す) により、同様に網膜症の発現以前から血液網膜柵の透過性亢進が検出されとの報告もある³⁾⁴⁾。

しかしながら、今日まで網膜症を呈しない同一糖尿病患者群について、これら二つの観点を併せて詳細に検討した報告はない。そこで今回我々は、網膜症を呈しない糖尿病患者を対象として、ERG における OP の変化と VFP による血液網膜柵の透過性機能の関連を同時に検討することで、糖尿病患者の網膜初発病変に関して解析を行い興味ある知見を得たので報告する。

II 実験方法

1. 対象

本研究では糖尿病群として40歳から59歳までのインスリン非依存型糖尿病患者29人(男性15人、女性14人)52眼を用いた。これらの対象は、双眼倒像鏡検査および蛍光眼底検査のいずれによっても糖尿病性網膜症を認めなかったものである。一方正常群として同一年齢群の正常者21人(男性11人、女性10人)30眼を用いた。正常群に対しても双眼倒像鏡検査および蛍光眼底造影検査を行い、正常眼底であることを確認した。さらに眼科の見地から以下の3点を選択基準として設け、両群ともにこれらに適合するものを対象として選んだ。すなわち、血液網膜柵の機能に影響を与える屈折異常の因子⁵⁾を除くため屈折範囲を $\pm 1.0D$ 以内に限定すること、中間透光体に混濁を認めないこと、さらに血

液網膜柵の透過性機能の評価を複雑にする後部硝子体剝離を有しないこと⁶⁾である。また全身的選定基準としては、糖尿病群では糖尿病以外に高血圧症等の全身の疾患を認めないこと、正常群では尿糖を検出せずしかも糖尿病の家族歴および他の全身の疾患を有しないこととした。

対象の内訳を表1に示す。正常群の年齢の平均 $\pm S.D.$ は 50.4 ± 5.7 (歳)で、一方糖尿病群のそれは 50.2 ± 5.4 (歳)であり、両群間において統計学的な有意差を認めなかった。また糖尿病群における推定罹病期間(年)は 7.1 ± 5.7 (平均 $\pm S.D.$)であった。

2. Vitreous Fluorophotometry (VFP)

VFP には、我々の開発した高精度な fluorophotometer⁷⁾を使用した。本検査に用いた fluorescein-Na の静注量は、被検者の体重(kg)あたり7mgとし、その静注前および静注後60分に VFP を施行した。また、静注後10分と65分に、先に報告した限外濾過法⁸⁾ (MPS-1, Amicon, Co.) を用いて血漿中の protein-unbound fluorescence (以下 PUF と略す) を fluorophotometer で測定した。

血液網膜柵の透過性機能を解析するにあたり、VFP によって得られた連続した測定値から以下の離散した sampling 点での値を採用した。すなわちまず前部硝子体値として水晶体中央より2.5mm 後方の点から0.5mm 間隔で後方に7点を、さらに後部硝子体値としては網膜表面より3.0mm 前方の点から6.0mm 前方まで、0.5mm 間隔に7点の総計14点を採用した。本研究に用いる VFP 値としては、fluorescein-Na 静注60分

表1 対象の内訳

	正 常 群	糖 尿 病 群
眼数 (人数)	30 (21)	52 (29)
年 齢 〔歳〕	50.4 ± 5.7	50.2 ± 5.4
推定罹病期間 〔年〕	—	7.1 ± 5.7

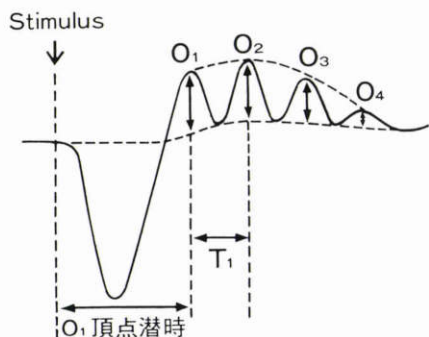


図1 律動様小波の計測法。O₁～O₄の振幅の和をΣOとした。T₁はO₁とO₂との頂点間隔。

後の硝子体蛍光値と静注前の眼内自然蛍光値との差を用いた。

次に、実測したVFP値およびPUF値を基に、先に報告した正視眼の眼球model⁹⁾を用いて、血液網膜柵の内方透過性係数(inward permeability, Pin)および後部硝子体内拡散係数(diffusion coefficient in the posterior vitreous, D-p)をcomputer simulation法⁹⁾により推定した。

3. Electroretinogram (ERG)

ERGの記録にはKOWA製ERG-50を使用した。コンタクト電極には、プラチナ製の野寄式電極を用いた。測定に際しては散瞳後15分間の暗順応を行い、25jouleのXenon閃光放電による刺激光を被検眼の角膜より25cmの距離から照射した。これによって発生するERG電位は時定数3msecの増幅器を介して、オシロスコープに表示され、その波形を写真撮影した。

OPの解析は、米村ら¹⁰⁾の方法に従って行った(図1)。本研究では特に、O₁からO₄までの振幅の和(ΣO)、O₁頂点潜時、そしてO₁とO₂の頂点間隔(T₁)の三つのparameterについて計測した。

なお、本研究に用いた統計学的検定では、有意水準が5%未満のものを統計学的に有意と判定した。

III 結 果

1. VFPに関する正常群と糖尿病群との比較

VFPとcomputer simulation法とにより求めたPinおよびD-pの二つのparameterに関して、正常群(n=30)と糖尿病群(n=52)との間で比較した(表2)。その結果Pinに関しては両群間で統計学的に有意差を認めなかった。また同様にD-pに関しても、両群間で統計学的に有意差を認めなかった。

表2 VFPに関する比較

	Pin ($\times 10^{-6}$ cm/min)	D-p ($\times 10^{-4}$ cm ² /min)
正常群 (n=30)	9.13 $\pm$ 3.06	18.4 $\pm$ 14.7
糖尿病群 (n=52)	9.19 $\pm$ 3.87	18.1 $\pm$ 11.9
	NS	NS

表3 ERGに関する比較

	ΣO (μV)	T ₁ (msec)	O ₁ 頂点潜時 (msec)
正常群 (n=30)	223.5 $\pm$ 54.2	8.2 $\pm$ 1.4	15.6 $\pm$ 0.7
糖尿病群 (n=52)	215.1 $\pm$ 49.3	8.8 $\pm$ 1.4	17.1 $\pm$ 0.8
	NS (p=0.07)	NS (p=0.052)	p<0.001

2. ERGに関する正常群と糖尿病群との比較

ERGによって得られたOPに関するΣO、T₁およびO₁頂点潜時の三つのparameterについて、正常群(n=30)と糖尿病群(n=52)との間で比較した(表3)。ΣO(μV)に関して、糖尿病群の値(平均 $\pm$ S.D.)は215.1 $\pm$ 49.3で正常群の値223.5 $\pm$ 54.2に比較して低下傾向を示したが統計学的に有意差を認めなかった(p=0.07)。またT₁(msec)に関して、糖尿病群の値は8.8 $\pm$ 1.4であり、正常群の値8.2 $\pm$ 1.4にくらべて延長傾向を認めたが、統計学的には有意な差を認めなかった(p=0.052)。一方OPに関するもう一つのparameterであるO₁頂点潜時については、糖尿病群では17.1 $\pm$ 0.8であり、正常群の値、15.6 $\pm$ 0.7に比較して有意の延長を示した(p<0.001)。

3. 糖尿病群内におけるO₁頂点潜時の評価

次に、正常群と糖尿病群との比較で統計学的に有意差を認めた唯一のparameterであるO₁頂点潜時に着目し、このparameterが糖尿病群内において他のparameterとどの様に関連しているかを検討した。まず、O₁頂点潜時とΣOとの関係を検討した(表4)。O₁頂点潜時およびΣOのそれぞれについて、正常群における平均 $\pm$ 2S.D.という値の範囲にある被検眼を正常、平均+2S.D.以上のものを延長、また平均-2S.D.以下のものを低下と定義して分類した。糖尿病群(n=52)において、ΣOに関し正常でしかもO₁頂点潜時に延長を示す被検眼は31眼(59.5%)あり、一方その逆であるO₁頂点潜時が正常範囲でしかもΣOが低下を示すものは皆無であった。

表4 O₁頂点潜時とΣOとの関係(糖尿病群 n=52)

	O ₁ 頂点潜時 正 常	O ₁ 頂点潜時 延 長
Σ 正 常		31眼 (59.6%)
Σ 低 下	0眼 (0%)	1眼 (1.9%)

2つのparameterにおいて、正常域は正常群におけるそれぞれの値の平均±2S.D.の範囲とした。

表5 O₁頂点潜時とT₁との関係(糖尿病群 n=52)

	O ₁ 頂点潜時 正 常	O ₁ 頂点潜時 延 長
T ₁ 正 常		30眼 (57.7%)
T ₁ 延 長	2眼 (3.8%)	2眼 (3.8%)

2つのparameterにおいて、正常域は正常群におけるそれぞれの値の平均±2S.D.の範囲とした。

表6 O₁頂点潜時とPinとの関係(糖尿病群 n=52)

	O ₁ 頂点潜時 正 常	O ₁ 頂点潜時 延 長
Pin 正 常		29眼 (55.8%)
Pin 増 大	2眼 (3.8%)	3眼 (5.8%)

2つのparameterにおいて、正常域は正常群におけるそれぞれの値の平均±2S.D.の範囲とした。

次に、同様にしてO₁頂点潜時とT₁との関係を糖尿病群内で検討した(表5)。O₁頂点潜時とT₁の値の正常域はそれぞれ正常群における平均±2S.D.の値と定義し、この範囲よりも大きな値の被検眼を延長として分類した。T₁に関し正常でしかもO₁頂点潜時が延長を示す被検眼は30眼(57.7%)あり、一方O₁頂点潜時に関し正常でしかもT₁が延長を示すものはわずか2眼(3.8%)であった。

さらにO₁頂点潜時とPinとの関連を糖尿病群内において検討した(表6)。O₁頂点潜時およびPinの値の正常域は、それぞれ正常群における平均±2S.D.の範囲とし、延長および増大は平均+2S.D.の値を越えるものと定義した。その結果Pinに関し正常でしかもO₁頂点潜時が延長を示す被検眼は29眼(55.8%)あり、一方O₁頂点潜時に関し正常でしかもPinが増大を示すものはわずかに2眼(3.8%)であった。

IV 考 按

糖尿病患者における網膜症発現前の網膜に対し、今日までおもに二つの異なった立場からその機能変化に関する研究がなされてきた。第一は、ERG等を用いた電気生理学的立場からの検討であり、第二はVFPを用いた血液網膜柵の透過性機能に関する研究である。そこで本研究では、網膜症を呈しない糖尿病患者を対象として、これら二つの立場から同時に網膜機能を検討した。

我々の得た結果から特筆すべき点としては、まず蛍光眼底造影検査を行って網膜症を認めないことを確認した糖尿病患者群においても、ERG律動様小波の一つのparameterであるO₁頂点潜時の平均値が正常群にくらべて明らかに延長していた点である。さらにO₁頂点潜時とΣO、T₁とを比較した結果、O₁頂点潜時は律動様小波のparameterの中で最も敏感に糖尿病患者における初期の網膜機能異常を把握できることが判明した。Yonemura¹⁾はいち早く律動様小波の異常が糖尿病患者、とりわけ網膜症発現前の患者から検出されることを発見したが、本研究も彼らの一連の結果を支持するものである。律動様小波の起源については、今日でもなお論議のあるところであるが、双極細胞やアマクリン細胞などの網膜内顆粒層付近の神経細胞系の細胞群がその起源として有力視されている²⁾¹⁰⁾¹¹⁾。従って、律動様小波の選択的異常はこれらの神経細胞系の機能異常を意味するので、我々の結果および過去の研究成績から糖尿病患者においては網膜症発現前から網膜のneuropathyが存在することが推測される。

一方、VFPを用いた検討により、糖尿病患者における血液網膜柵の透過性機能の亢進が、網膜症の発現に先行するという報告がある³⁾⁴⁾。しかしながら、これらの研究成績に対してその後の追試研究で、対象の選択、測定装置の精度および測定結果の解析方法等の観点から問題提起がなされ^{6)12)~19)}、見解の一致が得られていなかった。そこで我々はこれらの点を踏まえて、今回の研究ではまず対象の選定を厳密に行った。すなわち糖尿病群、正常群とも蛍光眼底造影検査という定性的検査レベルで網膜に解剖学的異常を認めないことを確かめ、両群の年齢幅を統一し、屈折範囲を制限し(±1.0D)、また後部硝子体剝離眼を除外した。次に測定装置には我々の開発した高精度な装置を用いた。さらに測定値の解析にあたっては次の点に留意した。硝子体内の蛍光値は、おもに血液網膜柵の透過能と硝子体内

の拡散能という二つの因子によって規定される。対象とした40歳代、50歳代の硝子体ゲルには液化等の変化が種々の程度に認められ、これらは硝子体内の拡散能と強く関連しており、血液網膜柵の透過能とは無関係に硝子体蛍光値を上昇させる可能性がある。そこで本研究では、血液網膜柵の透過性係数と硝子体ゲルの性状に依存する硝子体内色素拡散係数とを明らかに分離して解析することを目的として computer simulation 法を用いた。このように対象の選択、VFP 測定から解析に到るまで細心の注意を払ったにもかかわらず、正常群と糖尿病群との間には、血液網膜柵の内方透過性係数に関し有意差を認めなかった。すなわち、40歳代および50歳代のインスリン非依存型の糖尿病患者においては、網膜症発現前では血液網膜柵の内方透過性機能には同年代の正常眼に比較して差を認めないことが判明した。

以上、ERG と VFP を用いた成績を総合すると、インスリン非依存型の糖尿病患者における網膜では、網膜症発現前から neuropathy が認められ、血液網膜柵の透過性亢進はこれに遅れて発現することが推測される。

なお今後の研究では、対象とする年齢層を拡大し、また血糖コントロール等の内科的因子と律動様小波および血液網膜柵の透過性機能との関連を解明していきたい。

稿を終えるにあたり、ご校閲を賜りました保坂明郎教授に深謝いたします。本論文の要旨は第90回日本眼科学会総会にて発表した。

文 献

- 1) Yonemura D, Aoki T, Tsuzuki K: Electroretinogram in diabetic retinopathy. Arch Ophthalmol 68: 49—54, 1962.
- 2) 米村大蔵: ERG に現れる律動様小波. 日眼 1566—1584, 1962.
- 3) Cunha-Vaz J, de Abreu JRF, Campos AJ, et al: Early breakdown of the blood-retinal barrier in diabetes. Br J Ophthalmol 59: 649—656, 1975.
- 4) Waltman SR, Oestrich C, Krupin T, et al: Quantitative vitreous fluorophotometry: A sensitive technique for measuring early breakdown of the blood-retinal barrier in young diabetic patients. Diabetes 27: 85—87, 1978.
- 5) 吉田晃敏, 保坂明郎: 近視眼における Blood-Retinal Barrier の研究—Vitreous Fluorophotometry と Computer Simulation 法を用いた解析—. 日眼 90: 527—533, 1986.
- 6) Yoshida A, Furukawa H, Delori FC, et al: Effect of vitreous detachment on vitreous fluorophotometry. Arch Ophthalmol 102: 857—860, 1984.
- 7) 吉田晃敏, 保坂明郎: 新しい硝子体フルオロフォトメーターの試作. 臨眼 38: 1195—1199, 1984.
- 8) 吉田晃敏, 小島 満: Vitreous Fluorophotometry 値の血漿内タンパク非結合フルオレスセイン濃度動態を用いた補正法. (1) 1時間値までの簡便補正法. 臨眼 38: 1287—1291, 1984.
- 9) 吉田晃敏, 村上喜三雄, 小島 満: Vitreo-Retino-Ciliary Barrier の研究. 5. 正常眼における網膜内方透過性係数及び硝子体内拡散係数の加齢による変化. 日眼 90: 589—594, 1986.
- 10) 米村大蔵, 河崎一夫: 律動様小波とその臨床応用. 三島濟一, 塚原 勇, 植村恭夫 編, 眼科 Mook, No. 14, 眼と電気生理, 59—70, 金原出版, 東京, 1980.
- 11) 米村大蔵: 人眼網膜電図の研究. 日眼 81: 1632—1665, 1977.
- 12) Palestine AG, Brubaker RF: Plasma binding of fluorescein in normal subjects and in diabetic patients. Arch Ophthalmol 100: 1160—1161, 1982.
- 13) Prager TC, et al: Vitreous fluorophotometry: Identification of sources of variability. Invest Ophthalmol Vis Sci 21: 854—864, 1981.
- 14) 萱澤文男, 辻 俊明, 松田敏夫ら: Vitreous fluorophotometry の研究. 軽症糖尿病患者. 日眼 87: 595—601, 1983.
- 15) Prager TC, Chu HH, Garcia CA, et al: The use of vitreous fluorophotometry to distinguish between diabetics with and without observable retinopathy: Effect of vitreous abnormalities on the measurement. Invest Ophthalmol Vis Sci 24: 57—65, 1983.
- 16) Bursell S-E, Delori FC, Yoshida A, et al: Vitreous fluorophotometric evaluation of diabetics. Invest Ophthalmol Vis Sci 25: 703—710, 1984.
- 17) 吉田晃敏, Bursell S-E, Delori FC, et al: 糖尿病と血液網膜柵, 硝子体蛍光測定による分析. 臨眼 38: 1059—1064, 1984.
- 18) 藤井正満, 能美俊典, 渡辺正樹ら: 糖尿病性網膜症の Vitreous fluorophotometry. 臨眼 39: 607—612, 1985.
- 19) 萱澤文男, 三宅武子, 三宅謙作: 網膜症を認めない糖尿病患者の血液網膜柵透過性の再検討. 眼紀 37: 290—294, 1986.

(第90回日眼総会原著)