

網膜症発現前の糖尿病患者における 血液眼内柵透過性機能の解析 (表5)

吉田 晃敏*・小島 満** (* 旭川医科大学眼科
奈良 諭一*・太田 勲男* (** 旭川医科大学実験実習機器センター)

Permeability of the Blood-Ocular Barrier in Diabetics Without Retinopathy

Akitoshi Yoshida, Mitsuru Kojima*, Yuichi Nara
Isao Ohta

Department of Ophthalmology, Asahikawa Medical College
Central Laboratory for Research and Education, Asahikawa Medical College

要 約

本研究では、網膜症発現前の糖尿病患者において、血液網膜柵 (BRB) と血液房水柵 (BAB) との透過性機能の関連を、fluorophotometry により解析した。対象として網膜症を呈しない30歳から59歳までのインスリン非依存型糖尿病患者51人96眼と、同一年齢群の正常者32人45眼を用いた。Fluorophotometry の測定結果を基に simulatoin 法により BRB の透過性機能の指標として内方透過性係数 (Pin) と後部硝子体内拡散係数 (D-p) を推定し、一方 BAB における透過性機能の指標としては前房値および水晶体後方の前部硝子体値を血漿中色素濃度で補正した AQ および AV 値を用いた。これら4つの parameter を検討した結果、40代および50代の糖尿病患者とは異なって30代の糖尿病患者でのみ同年代の正常群にくらべて AQ および AV 両値が有意に高く、一方、Pin には有意差を認めなかった。従って、若年の糖尿病患者では、網膜症の発現前から BAB の透過性機能が BRB のそれに先行して亢進している可能性が示唆された。(日眼 92:1016—1020, 1988)

キーワード：糖尿病，血液網膜柵，血液房水柵，眼内蛍光測定法

Abstract

The permeability function of the blood-retinal barrier (BRB) in comparison with that of the blood-aqueous barrier (BAB) was analyzed using fluorophotometry in diabetics prior to onset of retinopathy. The eyes used consisted of 96 from 51 non-insulin-dependent diabetics without retinopathy, ranging in age from 30 to 59 years, and 45 from 32 age-matched normal subjects. Based on the results obtained from fluorophotometry, a computer simulation method was used to postulate inward permeability coefficient of the BRB (Pin) and diffusion coefficient in the posterior vitreous (D-p) as an index of the permeability of BRB. As a guide for permeability of BAB, we used AQ and AV values, which were calculated using the aqueous value and anterior vitreous value respectively corrected by measured plasma dye concentrations. These four parameters obtained revealed a significantly high level in both AQ and AV values in diabetic patients in their 30s alone except those in a higher age distribution as compared to age-matched normal persons. No significant difference in Pin was noted between diabetics and normal controls in either age distribution. This suggested the possible acceleration in permeability function of BAB, preceding that of BRB, prior to onset of

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 (昭和63年2月5日受付)

Reprint requests to: Akitoshi Yoshida, M.D. Dept. of Ophthalmol., Asahikawa Medical College

4-5-3-11 Nishikagura, Asahikawa 078, Japan

(Accepted for publication February 5, 1988)

diabetic retinopathy in younger patients with little influence of aging. (Acta Soc Ophthalmol Jpn 92: 1016—1020, 1988)

Key words: diabetics, blood-retinal barrier, blood-aqueous barrier, fluorophotometry

I 緒 言

糖尿病患者では、その初期から血液網膜柵 blood-retinal barrier (BRB と略) や¹⁾²⁾、血液房水柵 blood-aqueous barrier (BAB と略)³⁾における透過性機能が亢進していることが知られている。すなわち、BRB に関しては、その透過性機能の亢進が糖尿病性網膜症の発症と進行に密接に関与していることからその機能解析は極めて重要である。一方、BAB に関しては、近年糖尿病患者にも眼内レンズを挿入する機会が多くなってきたことから、これらの患者においてその柵の透過性機能がどの程度障害されているかという点が注目されてきた。しかしながら、糖尿病患者において、これら BRB と BAB との両者の透過性機能がどのような関連のもとに障害されるかという点に関しては未解明な点が多い。

そこで今回我々は、この点を解明するため、まず網膜症発現前の糖尿病患者において、BRB と BAB の両者の透過性機能を fluorophotometry を用いて解析した。その結果、若年者では、網膜症を呈しない糖尿病患者でも、両眼内柵のうち BAB の透過性機能が亢進していることが示唆されたので報告する。

II 実験方法

1. 対象

糖尿病群としては、30歳から59歳までのインスリン非依存型糖尿病患者51人（男性24人、女性27人）96眼を用いた。これらの対象は、前報⁴⁾と同基準で選定されたものである。すなわち、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32人（男性17人、女性15人）45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。さらに眼科的見地から以下の3点を選択基準として設け、両群ともこれらに適合するものを対象としと選んだ。すなわち、1) 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、2) 中間透光体に混濁を認めないこと、さらに、3)

表 1 対象の内訳

	30 代	40 代	50 代
糖尿病群 (N)	11人22眼	19人35眼	21人39眼
推定罹病期間(年)	3.6 $\pm$ 2.9	5.1 $\pm$ 3.9	7.7 $\pm$ 5.5
平均年齢(歳)	35.4 $\pm$ 3.2	45.1 $\pm$ 2.6	54.0 $\pm$ 2.9
正常群 (N)	11人15眼	8人13眼	13人17眼
平均年齢(歳)	35.4 $\pm$ 1.7	45.3 $\pm$ 4.1	54.4 $\pm$ 2.7

血液網膜柵の透過性機能に大きな影響を与える後部硝子体剥離を有する症例を除外すること⁶⁾である。全身の選定基準としては、糖尿病群では糖尿病以外に高血圧等の全身の疾患を認めず、また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。糖尿病群と正常群との間で、各年代別の平均年齢については統計学的に有意差を認めなかった。

2. Fluorophotometry

Fluorophotometry 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 fluorophotometry 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。

3. Blood-retinal barrier (BRB) の透過性機能の解析

血液網膜柵 (BRB) の透過性機能を解析するにあたり、連続した硝子体蛍光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0.5 mm 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 前方の点まで、0.5mm 間隔に7点の総計14点を用いた。本研究に用いる硝子体蛍光値としては、fluorescein-Na 静注60分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、実測した硝子体蛍光値および 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。

4. Blood-aqueous barrier (BAB) の透過性機能の解析

血液房水柵 (BAB) の表面積が計算できないため、先に述べた simulation 法⁹⁾によっては BAB の透過性機能を推測することは不可能である。そこで今回は、fluorophotometry によって得られた前房値と水晶体後方の前部硝子体値という実測値を用いて BAB の透過性機能を推測した。

すなわち、次の 2 つの指標を用いた。まず前房値 (AQ) とは、fluorescein-Na 静注 60 分後の前房内中央の蛍光値からその部位の自然蛍光値を減じ、さらにこれを静注後 0 分から 60 分までの色素濃度時間曲線下の面積 (積算色素濃度) で除した値¹⁰⁾とした。また、前部硝子体値 (AV) は fluorescein-Na 静注 60 分後の水晶体中央より 4.5mm 後方の硝子体蛍光値 (後房および前部硝子体を sampling した値) からその部位の自然蛍光値を減じ、さらにこれを静注後 0 分から 60 分までの積算色素濃度で除した値¹⁰⁾とした。すなわち、

$$AQ = \frac{\text{自然蛍光で補正した60分前房値}}{\int_0^{60} C_p(t) dt}$$

$$AV = \frac{\text{自然蛍光で補正した水晶体中央より4.5mm後方の60分硝子体値}}{\int_0^{60} C_p(t) dt}$$

である。ここで $C_p(t)$ は色素濃度時間曲線を表わし、積算色素濃度、すなわち $\int_0^{60} C_p(t) dt$ の計算法は過去に報告した手法によった⁸⁾。

5. 糖尿病患者における内科的因子

本研究では糖尿病患者における内科的因子として、先に示した推定罹病期間のほかに空腹時血糖 (以下 FBS と略) 値、HbA_{1c} 値を測定した。これらの測定は fluorophotometry 検査の当日に施行した。なお、HbA_{1c} 値は high pressure liquid chromatography で測定した。

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。

表 2 正常群と糖尿病群との比較 (全例)

	BRB		BAB	
	Pin ($\times 10^{-6}$ cm/min)	D-p ($\times 10^{-4}$ cm ² /min)	AQ ($\times 10^{-2}$ hr ⁻¹)	AV ($\times 10^{-4}$ hr ⁻¹)
正常群 (n=45)	8.1 $\pm$ 3.1	15.6 $\pm$ 12.9	2.0 $\pm$ 1.1	9.3 $\pm$ 5.7
糖尿病群 (n=96)	8.2 $\pm$ 3.7	17.6 $\pm$ 10.2	2.5 $\pm$ 1.1	11.2 $\pm$ 5.5
	NS	NS	p=0.02	NS (p=0.053)

BRB: blood-retinal barrier,

BAB: blood-aqueous barrier.

Pin, D-p, AQ および AV に関しては本文参照。

NS: 統計学的有意差なし。

表 3 正常群と糖尿病群との比較 (40代+50代)

	BRB		BAB	
	Pin ($\times 10^{-6}$ cm/min)	D-p ($\times 10^{-4}$ cm ² /min)	AQ ($\times 10^{-2}$ hr ⁻¹)	AV ($\times 10^{-4}$ hr ⁻¹)
正常群 (n=30)	9.1 $\pm$ 3.1	18.4 $\pm$ 14.7	2.3 $\pm$ 1.1	10.9 $\pm$ 6.1
糖尿病群 (n=74)	8.6 $\pm$ 3.6	17.9 $\pm$ 10.8	2.5 $\pm$ 1.1	10.9 $\pm$ 5.1
	NS	NS	NS	NS

BRB: blood-retinal barrier,

BAB: blood-aqueous barrier.

Pin, D-p, AQ および AV に関しては本文参照。

NS: 統計学的有意差なし。

III 結 果

1. 正常群と糖尿病群との比較

まず、全症例を対象に正常群 (n=45) と糖尿病群 (n=96) とを BRB と BAB の透過性機能を評価する 4 つの parameter に関し比較した (表 2)。その結果、BRB に関する Pin, D-p という 2 つの parameter については、両群間で統計学的有意差を認めなかった。ところが BAB に関する前房値 (AQ) については、糖尿病群が正常群より有意に高い値を示した。

つぎに、血液眼内柵透過性機能の加齢変化⁹⁾に基づき、30代のみの症例と、40代と50代とを統合した症例との 2 つのグループに分類した。そしてまず、後者のグループを対象に正常群 (n=30) と糖尿病群 (n=74) とを 4 つの parameter に関し比較した (表 3)。その結果、4 つの parameter すべてについて、両群間で統計学的有意差を認めなかった。一方、前者すなわち 30代のみのグループを対象として同様の比較を行った結果 (表 4)、まず BRB の Pin については、糖尿病群では正常群にくらべて有意差はないが増加傾向を示した。そ

表4 正常群と糖尿病との比較(30代)

	BRB		BAB	
	Pin ($\times 10^{-6}\text{cm/min}$)	D-p ($\times 10^{-4}\text{cm}^2/\text{min}$)	AQ ($\times 10^{-2}\text{hr}^{-1}$)	AV ($\times 10^{-4}\text{hr}^{-1}$)
正常群 (n=15)	6.1 $\pm$ 1.8	10.1 $\pm$ 5.2	1.3 $\pm$ 0.6	5.9 $\pm$ 2.6
糖尿病群 (n=22)	7.2 $\pm$ 3.9	16.8 $\pm$ 8.1	2.3 $\pm$ 0.9	12.2 $\pm$ 6.3
	NS (p=0.34)	n=0.009	p=0.001	p=0.001

BRB: blood-retinal barrier,
BAB: blood-aqueous barrier.
Pin, D-p, AQ および AV に関しては本文参照.
NS: 統計学的有意差なし.

して D-p に関しては、糖尿病群が正常群にくらべて有意に高い値を示した。さらに、BAB の透過性機能の指標となる AQ, AV という 2 つの parameter と、糖尿病群では正常群にくらべて有意に高い値を示した。

2. BRB および BAB 透過性機能と内科的因子との関連

糖尿病群の全例において、BRB および BAB 透過性機能の指標となる 4 つの parameter を別な観点から、すなわち糖尿病患者の推定罹病期間および血糖コントロール状態によりどのように影響を受けているかを探索した。すなわち、上記 4 つの parameter と 3 つの内科的因子との間での関連性を検討するために、すべての組合せについて単相関を求めた(表 5)。その結果、Pin と HbA_{1c} との間にのみ有意な相関を認めた。AQ および AV と 3 つの内科的因子との間には有意な相関を認めなかった。

IV 考 按

今回の研究結果から特筆すべき点としては、まず 30 代の網膜症を呈しない糖尿病患者においてのみ、同年代の正常者にくらべ BAB 透過性機能の指標である AQ および AV の 2 つの parameter が有意に高値を示した点である。ここで、これら 2 つの parameter が高値を示した意味について考えてみたい。これらの 2 つの値は、BAB の透過性係数そのものではなく、それぞれ前房中あるいは水晶体後方の硝子体中に BAB から漏出した蛍光色素の濃度および血漿中の蛍光色素動態から導出したいわゆる透過性機能の指標である。従って、この 2 つの parameter は以下の 3 つの機能の統合されたものと考えられる。すなわちそれらは、① BAB を構成する 2 つの嚢、すなわち虹彩血管内皮細胞と毛様体無色上皮細胞層の内方透過性機能、②上記の嚢からの能動輸送能、そして、③前房隅角を主とするいわゆる房水流出機能の 3 つである。従って、30 代の網膜症を呈しない糖尿病患者では、これら 3 つの機能のいずれかがあるいは合併した形で障害されていることが推測される。我々は、これら 3 つの機能のなかで特に BAB の内方透過性機能の亢進をその原因と考えている。その理由は、第 1 に、AQ および AV の両 parameter は、色素静注後比較的早期である 60 分値を基に算出したもので、この時間内での蛍光値は BAB の内方透過性機能に最も影響され、一方、静注後数時間を経た後の蛍光値に影響を与える BAB の能動輸送能との関連性は小さい¹¹⁾こと、さらに、第 2 として、これらの患者においては AQ および AV の値が高値を示すほど前房隅角からの色素排出能が障害されていることは考えにくいことの 2 つの理由による。

表5 糖尿病群内(n=96)における各因子間の相関。
数値は相関係数(r)

	推定罹病期間	FBS	HbA _{1c}
Pin	0.068	0.087	0.260*
D-p	-0.053	-0.091	0.038
AQ	-0.037	-0.153	-0.133
AV	-0.051	-0.111	0.033

*: p=0.011, 他は有意な相関なし.

この結果は、過去の臨床成績とよく一致する。島川ら¹²⁾は、糖尿病患者に合併した虹彩炎を分析した結果、糖尿病患者では非糖尿病患者にくらべて虹彩炎の頻度が高い、すなわち BAB の透過性亢進が起こっていることを報告した。さらに網膜症を呈しない糖尿病患者においては虹彩炎の頻度が若年者例に多いことも、今回の我々の結果、すなわち 30 代の若年糖尿病患者でのみ BAB の透過性機能が亢進しているという結果と類似する。また、水川¹³⁾、佐野ら¹⁴⁾は若年者の虹彩炎は逆に糖尿病を疑う 1 つの指標となることを強調している。さらに、病理組織学的研究からも、糖尿病患者あるいは糖尿病動物では虹彩血管の内皮細胞、基底膜そして周辺細胞には著しい変化を認め^{15)~17)}、また虹彩色素上皮にも種々の変化を認めることが報告され¹⁸⁾、これらの変化が BAB の透過性機能の異常と関連していることが推測されている¹⁶⁾。

一方、今回の研究のもう 1 つの着目点、すなわち網膜症を呈しない糖尿病患者における BRB の透過性機能

能については、どの年代でも正常者にくらべて有意な亢進を示さなかった。しかしながら、30代の糖尿病患者では、同年代の正常者にくらべBRBの内方透過性係数(Pin)の増加傾向を認め、さらに後部硝子体内拡散係数(D-p)は有意に増加していた。このD-pの有意な増加は、後部硝子体ゲルの液化を意味し⁹⁾、この液化は一般にBRBの内方透過性亢進に起因すること⁹⁾から、30代の網膜症を呈しない糖尿患者においては、微少なBRBの内方透過性機能の亢進がすでに起こっている可能性も示唆される。今後症例数を増してこの点を再検討したい。

ここで、BABとBRBに関する結果を総合すると、糖尿病患者ではBABの内方透過性機能の亢進がBRBのそれに先行することが推測される。この見解はKleinら³⁾の研究と一致する。すなわち彼らは、多数例の糖尿病患者に対し網膜と虹彩の蛍光血管造影を施行し、網膜血管に全く異常を認めない症例においても虹彩血管に異常を認めることからBABの透過性機能の亢進がBRBのそれに先行することを推測した。

さらに、BABとBRBとの透過性機能を糖尿病の推定罹病期間および血糖コントロール状態の観点から検討した結果によると、血糖コントロール状態とBRBの透過性機能との間にのみ有意な相関を認めた。すなわち、血糖コントロールの良否は、BABよりもBRBの透過性機能を正常に保つ上で重要な因子であることが推測された。

なお今後の研究では、若年者の糖尿病患者を対象とした血液網膜柵および血液房水柵の透過性機能の変化をさらに詳細に探索するとともに、網膜症出現前後のこれらの柵機能の動態を、fluorophotometryにより解明していきたい。

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。また御助言頂いた京都府立医大眼科の照林宏文先生に深謝致します。本論文の要旨は第41回日本臨床眼科学会(福岡)、グループディスカッション「糖尿病性網膜症」にて発表した。

文 献

- 1) 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.
- 2) 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.
- 3) Klein S, Marré E, Zenker H-J, et al: Zur Korrelation von diabetischer Irido- und Retinopathie. *Fortscher Ophthalmol* 79: 428—430, 1983.
- 4) 吉田晃敏, 三浦恵子, 小島 満: 初期糖尿病患者における網膜機能の解析. I. 網膜症発現前における血液網膜柵の透過性とERG律動様小波の動態の比較. *日眼* 91: 599—603, 1987.
- 5) 吉田晃敏, 保坂明郎: 近眼視における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) 吉田晃敏, 古川英樹, 村上喜三雄他: Vitreous FluorophotometryによるVitreo-Retino-Ciliary Barrierの研究. 1. 正常眼の経年性変化. *日眼* 89: 683—687, 1985.
- 11) Ogawa Y, Tsukahara Y, Saito I, et al: Estimation of the permeability of the blood-retinal barrier in normal individuals. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 26: 969—976, 1985.
- 12) 島川真知子, 小暮美津子: 糖尿病に合併するぶどう膜炎. *日眼* 85: 1986—1992, 1981.
- 13) 水川 孝: 若年性糖尿病と虹彩毛様体炎について. *眼紀* 31: 1688—1689, 1980.
- 14) 佐堀彰彦, 井上正則: 小児および若年糖尿病の眼所見. *眼紀* 38: 162—168, 1987.
- 15) 谷口慶晃, 鮫島宗文: 糖尿病患者虹彩血管の微細構造上の変化. *日眼* 75: 1685—1697, 1971.
- 16) 小嶋一晃, 新美勝彦, 長谷川康紀他: 糖尿病における虹彩細小血管の変状について. *日眼* 77: 485—493, 1973.
- 17) 小嶋一晃, 馬道慶直, 新見勝彦他: 実験的糖尿ラット(Streptozotocin)眼の組織学的研究. *日眼* 76: 1001—1016, 1972.
- 18) Spencer WH: *Ophthalmic pathology*, 2014, Vol 3, WB Saunders Company, Philadelphia, 1986.