

(昭和62年度 第91回総会)

宿題報告

2. 硝子体腔からの物質の能動輸送をめぐって (図37, 表1)

三宅 謙 作 (医療法人湘山会眼科三宅病院)

共同研究者

萱澤 文男 原 恵子 George Tolentino DeJesus 前久保久美子 堀口 正之* 大槻 潔**

研究協力者

朝倉 当子 三宅 武子 三宅千佳子 小林 弘子 三宅 芳子 窪田 正明

*名古屋大学医学部眼科学教室, **東北通信病院眼科

Experimental and Clinical Studies on the Active Transport of Substances from the Vitreous Cavity :

Kensaku Miyake

Shohzankai Medical Foundation Miyake Eye Hospital

要 約

硝子体腔の恒常性維持機構の一つとしての硝子体腔からの物質の能動輸送について、2～3の基礎的臨床的検討を行った。Fluoresceinの硝子体腔からの能動輸送が各眼内細胞によってどのように分担されているかを量的比であらわすと、虹彩対毛様体対神経上皮対色素上皮脈絡膜で、家兎で8対34対7対51、カンクイザルで8対31対25対36、ヒトで7対17対43対33であった(百分率で示した)。ヒトの病的眼による検討で当機能が病巣に一致して低下していた。Fluoresceinの代謝物 fluorescein glucuronide は、fluorescein と比較して能動輸送されにくく、わずかに家兎、カンクイザルの毛様体で fluorescein の1/10の能動輸送をみとめた。臨床的な能動輸送機能の検査法として、動的硝子体蛍光光度測定法において fluorescein と fluorescein glucuronide の混在する早期と、主に fluorescein glucuronide が存在する後期に分けて、蛍光物質の消退挙動を解析する二相分離解析法を提案し、この臨床応用の一部を示した。別に fluorescein glucuronide を実験動物に静注した場合、正常眼球では眼内液中に fluorescein を証明しないが、能動輸送機能に失調があると考えられる2～3の実験病態の眼内液中に fluorescein を証明した。これは眼内組織中の fluorescein glucuronide から fluorescein への分解を背景にした現象と考えられ、fluorescein glucuronide 静注法の能動輸送機能検査法としての可能性を示唆した。能動輸送機能の失調が疾患成立の一因となっている例として、epinephrine 黄斑症をとりあげ、2～3の実験的検討を行った。我々は epinephrine 局所投与により内因性 prostaglandins が生合成され、この能動輸送機能が失調している無水晶体眼で眼内液中に prostaglandins が貯留し、黄斑浮腫を発生せしむると推論した。家兎およびヒトで epinephrine により惹起される眼内関門破壊が亢 prostaglandin 剤で抑制されること、有水晶体眼および無水晶体眼に epinephrine を局所投与すると眼内液中に prostaglandin E を検出し、同じ dose では無水晶体眼により効率よく貯留することをみだした。さらにある種の無水晶体眼あるい

別刷請求先: 462 名古屋市北区東大曽根町上5-1070 医療法人湘山会眼科三宅病院 三宅 謙作
(昭和63年4月6日受付)

Reprint requests to: Kensaku Miyake, M.D. Shohzankai Medical Foundation, Miyake Eye Hospital
1070-Kami 5, Higashiozone-cho, Kita-ku, Nagoya Japan

(Accepted for publication April 6, 1988)

は偽水晶体眼組織による prostaglandin E_2 の能動輸送を調べると、術後長期を経過してもこれが低下していることを発見した。これらの所見は epinephrine 黄斑症や無水晶体眼嚢胞状黄斑浮腫の成因に prostaglandins の能動輸送の失調が大きく関連することを示唆している。(日眼 92: 909—945, 1988)

キーワード: Fluorescein, Fluorescein glucuronide, Prostaglandins, 能動輸送, Epinephrine 黄斑症

Abstract

We have studied the role of the blood-vitreous barrier in maintaining homeostasis of the vitreous cavity, with particular attention to active transport of substances from the vitreous cavity to the blood. First, we examined the active transport and pharmacokinetics of sodium fluorescein and its metabolite, fluorescein monoglucuronide, in vitro and clinically. Secondly, we discussed the pathogenesis of epinephrine maculopathy, an example of a disorder that arises from dysfunction of active transport across the blood-vitreous barrier. We then compared the transport or the up-take of prostaglandin E by the tissues between normal phakic eyes and longstanding pseudophakic or aphakic eyes. The results are discussed in relation to postsurgical inflammation, aphakic cystoid maculopathy, and epinephrine maculopathy. The following are summaries and conclusions of each study: 1. Using an in vitro technique that measured sodium fluorescein accumulation, we were able to compare active transport function in different ocular tissues. The ratios (shown by percent) of active transport function in retinal pigment epithelium-choroid: sensory retina: ciliary body: iris were 33: 43: 17: 7 in man; 36: 25: 31: 8 in cynomolgus monkey; and 51: 7: 34: 8 in rabbit. 2. Using the same technique, we compared the active transport of sodium fluorescein and that of fluorescein monoglucuronide by ocular tissues and found that the latter is negligible compared with sodium fluorescein. Fluorescein monoglucuronide is transported fairly well particularly by the ciliary body, where levels are approximately one tenth those of sodium fluorescein. 3. A new method called biphasal fluorescein decay in kinetic vitreous fluorophotometry has been proposed as a tool for separately evaluating the active transport of sodium fluorescein and fluorescein monoglucuronide in vivo or in a clinical situation. We demonstrated the potential usefulness of the method in cases of uveitis and diabetic retinopathy. 4. Further, we proposed the intravenous fluorescein glucuronide method as another possible method for clinical evaluation of active transport function. This method is based on the experimental findings that following an injection of intravenous fluorescein glucuronide, trace of fluorescein has been detected in normal experimental animals, whereas substantial amount of fluorescein has been detected in animals with experimentally induced pathologies. 5. We propose that epinephrine maculopathy develops when prostaglandins, synthesized in ocular tissues (particularly the anterior uvea) upon topical application of epinephrine, accumulate due to dysfunction of active transport from the vitreous cavity, particularly in aphakic eyes. We supported this hypothesis with experimental evidence. 6. This hypothesis arises from the likelihood that epinephrine maculopathy shares causative factors with aphakic or pseudophakic cystoid maculopathy. 7. We specifically investigated the uptake or the active transport of prostaglandins by ocular tissues in relation to the pathogenesis of aphakic cystoid maculopathy or epinephrine maculopathy. We found reduced active transport of prostaglandin E_2 by several ocular tissues in longstanding aphakic or pseudophakic eyes of experimental animals. (Acta Soc Ophthalmol Jpn 92: 909—945, 1988)

Key words: Fluorescein, Fluorescein glucuronide, Prostaglandins, Active transport, Epinephrine maculopathy

I 緒 言

硝子体腔の生理学的恒常性の維持は、物質の同腔へ

の流入の制限と特に有害物質の場合は、それらの積極的な排除に依存している。硝子体腔をとりまいて血液房水関門と血液網膜関門が認定されており、これらは

元来、形態学的に同定されてきたのだが、今日では血液と硝子体腔の間の物質の出入を規定する方向性や、選択性を含めた高次の barrier complex として理解すべきであるとされる¹⁾²⁾。このような概念で、血液関門を一括して血液硝子体関門（あるいは柵、本編では柵という言葉を使用せず、関門に統一する）と呼ぶこともある³⁾。従来、眼関門に関しては、基礎的にも臨床的にも血液から硝子体腔、あるいは眼内液への物質の流入と、その異常の問題がよく検討されてきた。逆に、硝子体腔から血中への物質の排除の問題の検討は、特に臨床的には極めて乏しい。硝子体腔における諸物質の流入と流出（排除）の imbalance は、眼内液の性状の変化をきたし、そのために眼内における疾患の伝播や、二次的病変の成立に重要な関連を有するものと考えられる³⁾⁴⁾。この報告の目的は、硝子体腔からの物質の排除に関して臨床的な視点から2～3の考察を行い、この問題の重要性に若干の注意を促すことにある。

硝子体腔は当然のことながら細胞外液で構成され、その solute の腔からの排除も、もちろん一般的な細胞内外の膜をへだてた物質の通過の諸原則により行われている。それは大きく受動輸送と能動輸送に分けられる。前者は狭義には solute の濃度勾配に従って輸送される拡散があるが、他に圧力勾配に従うバルクフロー、浸透圧に従う浸透などが含まれる。さらに特異的膜成分と基質との相互作用により特色づけられる担体輸送の1つである促進拡散では、基質は濃度勾配に従っており、一種の受動輸送である。これに対して同じく担体輸送であるが solute の濃度勾配にさからって、あるいは無関係にエネルギーを使用する代謝反応により推進される輸送を能動輸送と定義することが一般的となっている。これらの輸送機序は、硝子体腔と血液の間で各物質ごとに異なった担当細胞と方向性をもって行われている³⁾。本報では硝子体腔から血液への物質の輸送を中心に考察する。このような方向性では、現実の問題としては有害物質、あるいは非生理的物質の排除機構と密接な関連があり、スカベンジングシステム⁵⁾や、異物処理機構としての phagocytosis⁶⁾や pinocytosis と同時に論じられる一面もある。スカベンジングシステムは、能動輸送と一部関連がある生理学的作用と考えられるが、本編ではこれらの解毒機構、異物処理機構まで幅を広げて論ずることはしない。

眼球内における受動輸送は、前房水によって隅角部より排泄されるルートが最も大きなものと想定される。バルクフローの存在は議論が多いが、後房から前

房、さらに隅角部への物質の流れ、uveo-scleral flow⁷⁾、あるいは網膜脈絡膜への水の動きなどがこの機序によるものと考えもある。これらの受動輸送による solute の移動は、眼内液からの諸物質の輸送の1つの型であるが、眼内各細胞層の病態との関連はうすいものと考えられる。

これに対して、特に硝子体腔から血中への物質の排除機構としての能動輸送は、細胞のエネルギー代謝系を利用するため、眼内細胞の健全性を直接反映すると考えられる。硝子体腔における物質の流入、流出の imbalance は各細胞層で行われる能動輸送の失調が大きく影響すると考えられる。各種眼内疾患において、能動輸送という機能がどの程度障害されるか、そしてこれが疾患の成立や進展とどのように関連するかが著者の興味である。今日まで研究者が行ってきた能動輸送に関する研究は各種薬物や solute の動態(kinetics)に関連する能動輸送の意義に関してであった³⁾。この点で検討された薬物などの一部を表1にまとめる^{8)~13)}。この表が示す如く、能動輸送に関連する薬物の挙動は個々で異なっており、これらの差を諸物質の生理物理化学的性状の差から検討することは別の興味があるが、本編では行わない。

本報告では、この表にも示されており、眼科領域で古くから使用されて、かつ近年の眼内蛍光光度測定法

表1 硝子体腔からの各種物質の消失率
(文献13より転載)

Substance	Loss rate from vitreous (% per hour)
Tobramycin ⁸⁾	2
Gentamycin ⁸⁾	3
Streptomycin ⁸⁾	3
Sucrose ⁸⁾	5
Sulfacetamide ⁸⁾	6
Kanamycin ⁸⁾	7
Sodium ⁹⁾	9
Novobiocin ⁸⁾	9
Methicillin ⁸⁾	11
Penicillin ⁸⁾	13
Carbenicillin ⁸⁾	18
Clindamycin ⁸⁾	21
PGEI ⁷⁾	23
Iodopyracet ⁸⁾	23
Dexamethasone ⁸⁾	24
Fluorescein ⁸⁾	28
Indomethacin ¹¹⁾	30
Befunolol ¹²⁾	34
Timolol ¹³⁾	36

の tracer でもある Na-fluorescein (以下 fluorescein) の能動輸送の基礎的、臨床的諸問題を II, III で論じる。IV では能動輸送の失調が疾患成立に関与していると思われる 1 つの例として epinephrine 黄斑症について論じる。V では前章に関連するが、炎症性の mediator 等として今日注目を集めている prostaglandins の能動輸送と、その失調を無水晶体眼と偽水晶体眼を例に論じる。以上の各論を通じて著者の論点は、能動輸送という生理学的によく知られた機能を少しでも臨床の場で問題にすることにある。

II Fluorescein および fluorescein monoglucuronide の能動輸送等に関する *in vitro* の検討

1. 緒言

Fluorescein の能動輸送が知られて久しいが、主な知見は fluorescein が主として網膜神経上皮と色素上皮により能動輸送されていることが示唆されているのみである¹⁴⁾¹⁵⁾。最近 fluorescein が肝で代謝され、fluorescein monoglucuronide (以下 glucuronide) となり、この化合物も fluorescein より微弱ながら蛍光を発するが¹⁶⁾¹⁷⁾、fluorescein と比較し能動輸送されにくいことが示唆された^{18)~21)}。しかし今日まで両化合物の能動輸送に関する眼内各細胞関与の定量的比較はなされていない。また上記についてヒト、サルなどの高等哺乳類に関する検討は皆無である。

従来、諸物質の能動輸送を検討する目的で *in vivo* の方法として眼内液と血液の間の solute の濃度を比較する方法、硝子体腔に物質を注入し消失係数を計測する方法、さらには摘出眼を moist chamber で incubate する方法などが行われてきた³⁾。Moist chamber 法の場合、能動輸送に重要な飽和 (saturation)、競合阻害 (competition)、代謝熱依存 (energy dependency)、選択性 (selectivity) などの属性を併せ検討できる。一方、*in vitro* の方法としては、適当な medium 中で組織への物質の蓄積、あるいは取り込みをみる方法と short-circuited な状態で tracer の flux を定量する Ussing chamber 法²²⁾とその改良法²¹⁾などがある。上記いずれの方法も一長一短があり、互いにおぎなっている 1 つの物質の能動輸送、あるいは輸送の全体像についての結論を得るべきである。

今回著者等は、前記目的にそった方法として medium 中で fluorescein, fluorescein glucuronide と眼内各組織を培養し、両者の組織への取り込みを代謝

抑制剤の有無で比較した。また同時に fluorescein, fluorescein glucuronide を各々別に静注し、血中および眼内各組織中分布量を経時的に測定し、眼内動態考察の基礎資料とした。

2. 実験方法

1) 各動物およびヒト摘出眼球組織による fluorescein および fluorescein glucuronide の取り込み

実験動物として成熟白色家兎 (2.5~3.0kg) と同じく成熟カニクイザルを使用し、致死量のペントバルビタール (ネンブタール、アボットラボラトリーズ) を静注後、眼球摘出した。ヒトについては 55 歳男性で悪性腫瘍にて死亡。眼球は正常で、強角膜ボタンを切除し、角膜移植に供した後、後述の行程に供した。終了後速やかに焼却した。ヒトの病的眼として、75 歳女性、陈旧ぶどう膜炎、続発緑内障、虹彩 rubeosis、前房蓄膿を起し光覚を弁せず眼痛が著しいため、眼球摘出に至った症例を使用した。

いずれの場合も眼球摘出後、網膜神経上皮、色素上皮脈絡膜、虹彩、毛様体に分離した。この場合、網膜神経上皮、色素上皮脈絡膜は赤道部より後部を意味し、毛様体とは毛様体および虹彩根部を意味する。

各組織を図 1 に従って処理した。すなわち $2.66 \times 10^{-6} \text{M}$ の fluorescein (アルコンラボラトリーズ) または fluorescein glucuronide (長滝重智博士のご厚意により提供をうけた) を含む MEM 培養液 (イーグル MEM 培地、日本製薬) 3.0ml 中、37°C 遮光下において

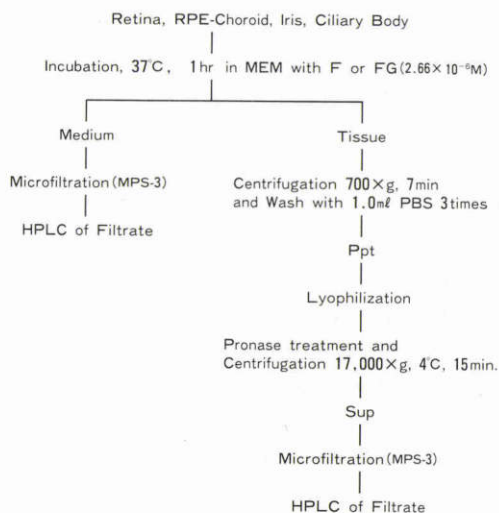


図1 眼球各組織による fluorescein (F), あるいは fluorescein glucuronide (FG) 取り込み定量実験の行程図。

1時間および24時間培養した、取り込みの性格を検討するため代謝抑制剤である 5×10^{-4} M の 2,4-ジニトロフェノール添加でも同様の条件下で培養を行った。培養終了後、培養液を一定量採取し、10mM リン酸緩衝液、pH 8.0 で希釈後、MPS-3 フィルター（アミコン）で濾過し、その濾液を測定試料とした。また組織中の fluorescein および fluorescein glucuronide の測定のために組織を PBS で 3 回洗浄した後、湿潤重量を測定して凍結乾燥を行い、乾燥後重量を測定して含水量を求めた。

次に、この試料にタンパク分解酵素溶液（アクチナーゼ E、科研製薬 2mg/ml 2mM CaCl_2 を含む 0.1M Tris-HCl 緩衝液、pH 8.0）1.0ml を添加し、37°C、18時間消化した後、17,000×g、15分間遠心を行い、上清を MPS-3 で濾過し、その濾液を試料とした。

これらの試料中の fluorescein および fluorescein glucuronide の分離定量には、高速液体クロマトグラフィー（TRIROTAR III, 日本分光）を用いた。条件は、カラムに Cosmosil (4.6×100 mm) と 5C₁₈（半井化学薬品）を用い、10mM リン酸緩衝液（pH 8.0/アセトニトリル（90:10）1.0ml/min で溶出を行った。

予備実験として、家兎において能動輸送の属性としての飽和 (saturation) をみる目的で、fluorescein の各眼組織の取り込みを各種条件下で検討した。また代謝熱依存 (energy dependency) をみる目的で 0°C に組織を冷却した効果を検討した。

2) Fluorescein あるいは fluorescein glucuronide を静注後の眼内外分布

成熟白色家兎（2.5～3.0kg）に 10mg/kg の fluorescein あるいは fluorescein glucuronide を静注し、前者では、1, 5, 10, 20時間後に、後者では、3, 5時間後に各々採血し、致死量のペントバルビタール（ネプタール、アボットラボラトリーズ）を静注後、眼球摘出を行い、房水、硝子体、網膜、色素上皮脈絡膜、虹彩、毛様体に分離した。この時、網膜、色素上皮脈絡膜は赤道部より後部を示し、また毛様体とは毛様体および虹彩根部を示す。血液は遠心後の血清を、房水はそのまま、硝子体はホモジナイズしたものを MPS-3 フィルター（アミコン）で濾過し、その濾液を測定試料とした。一方、分離した網膜、色素上皮脈絡膜、虹彩、毛様体は湿潤重量を測定して凍結乾燥を行い、乾燥後重量を測定して含水量を求めた。

次に、この試料にタンパク分解酵素溶液（アクチナーゼ E、科研製薬 2mg/ml 2mM CaCl_2 を含む 0.1M Tris-

HCl 緩衝液、pH 8.0）1.0ml を添加し、37°C、18時間消化した後 17,000×g、15分間遠心を行い、上清を MPS-3 で濾過し、その濾液を測定試料とした。

これらの試料中の fluorescein および fluorescein glucuronide の分離定量には、高速液体クロマトグラフィー（TRIROTAR III, 日本分光）を用いた。条件はカラムに Cosmosil (4.6×100 mm) の 5C₁₈（半井化学薬品）を用い、10mM リン酸緩衝液（pH 8.0）/アセトニトリル（90:10）1.0ml/min で溶出した。

3. 結果

1) 各動物およびヒト摘出眼球による fluorescein および fluorescein glucuronide の取り込み

(1) 予備実験の結果

図 2 に 2.66×10^{-7} , 2.66×10^{-6} , 2.66×10^{-5} M の 3 種類の濃度の fluorescein を含む MEM 培養液で 2,4-ジニトロフェノール存在下、非存在下の家兎眼各組織による取り込みの差を示す。各組織における fluorescein の取り込みカーブから、取り込み挙動に飽和 (saturation) があることが示唆される。

図 3 に対照とともに 2,4-ジニトロフェノールあるいは 0°C 処理した家兎眼組織による fluorescein 取り込みを示す。MEM 培養液中で 1 時間培養した結果である。いずれの処理によっても fluorescein の取り込みは低下しており、取り込み挙動が代謝熱依存であることが示唆された。

(2) 眼組織による Fluorescein の取り込みとその家兎、カンクイザル、ヒトの比較

上記予備実験から 1 時間培養における 2,4-ジニトロフェノール処理と対照の取り込み量の差をもって能動輸送を示す指標とした。図 4 に 1 時間培養のカンクイザルの結果を示す。これらの基礎データをもとに、実

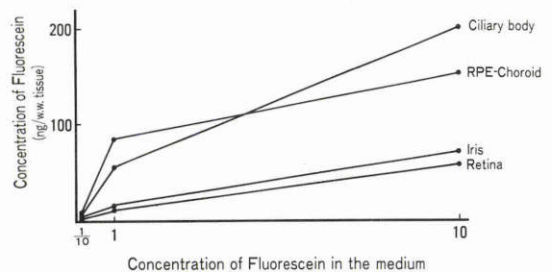


図 2 3 種類の濃度の fluorescein を含む MEM 培養液における 2,4-ジニトロフェノール処理と対照の眼球各組織による fluorescein の取り込みの差。各組織の湿重量にみあう取り込み量で示している。

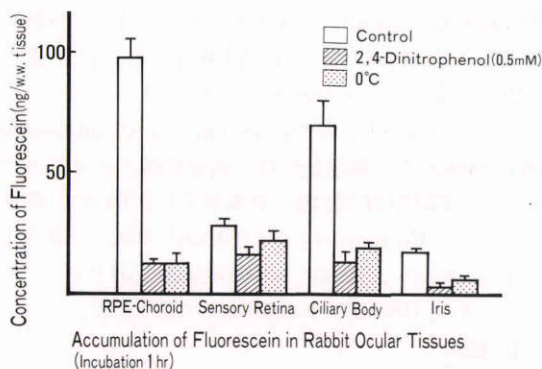


図3 家兎眼における各組織による fluorescein の取り込み量を、対照、2,4-ジニトロフェノール処理、0℃ (cooling) 処理で比較。単位は ng/wet weight tissue で、各眼組織の湿重量にみあう平均(平均±標準偏差) 取り込み量で示している。

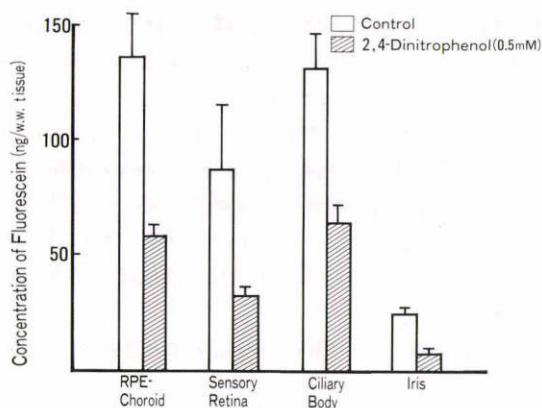


図4 カニクイザル眼組織 1 時間培養における対照と 2,4-ジニトロフェノール処理による fluorescein 取り込み量(n=4, 平均±標準偏差)。各組織の湿重量にみあう平均取り込み量で示している。すべての組織で有意に (p<0.01) 2,4-ジニトロフェノール処理により取り込み量が減少した。

実験対象となった2つの動物とヒトにおける眼内各組織による能動輸送の相対量を比較し易いように、対象の各組織の平均 wet weight を出し、取り込み量をその重量値に換算した値で示した。図5から図8に結果を示す。円内の数字は全体の能動輸送量を100とした場合の各組織の分担量を%で示し、()内は各眼組織の wet weight にみあう平均取り込み量で、単位は nano-gram である。いずれも 1 時間培養値を基にして算出した。色素上皮脈絡膜、網膜神経上皮、毛様体、虹彩における能動輸送分担量の比は家兎で51%対7%対

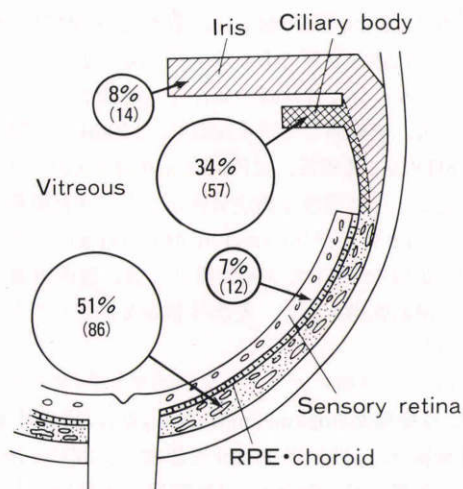


図5 家兎眼球内組織による fluorescein の能動輸送量。円の大きさは円内の%に一致し、眼球内組織全体の輸送量を100として比較している。()内の数値は各組織の湿重量にみあう取り込み量を示している(単位 ng)。(図5から図8まで同様である。)

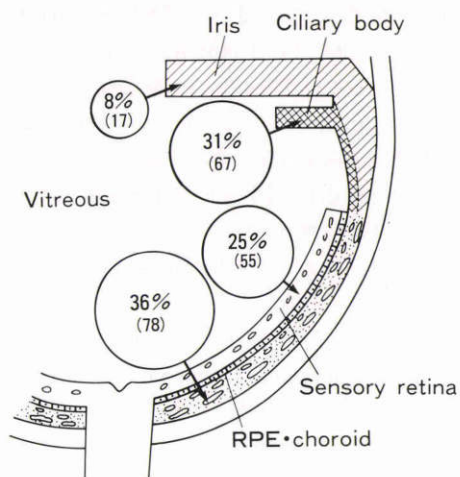


図6 カニクイザル眼球内組織による fluorescein の能動輸送量 (図5 参照)。

34%対8%, カニクイザルで36%対25%対31%対8%, ヒトで33%対43%対17%対7%, であった。陳旧ぶどう膜炎、絶対緑内障を有する病的眼では正常人眼の総量を100として%で表したが、正常に比し能動輸送量は全体で45%に低下しており、色素上皮脈絡膜、網膜神経上皮、毛様体、虹彩の分担量の比は5%対36%対4%対0%, であった。

(3) Fluorescein と fluorescein glucuronide の取り

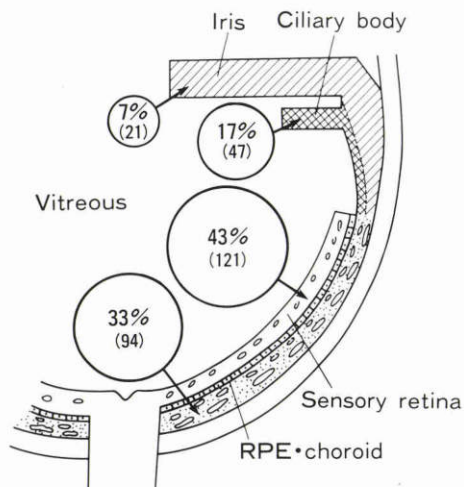
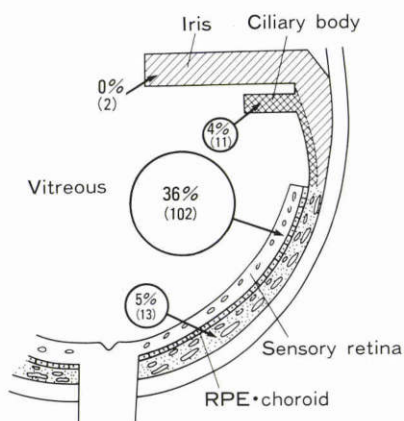


図7 ヒト正常眼球内組織による fluorescein の能動輸送量 (図5 参照)



伊○こ○子 75才 女
陳旧ぶどう膜炎、続発緑内障
虹彩ルベオージス、前房蓄膿
光覚(-), 眼痛(+) → 眼球摘出

図8 病的人眼球内組織による fluorescein の能動輸送量、図7の正常ヒト眼球内組織の能動輸送量を100とし、これに対する%で示している。即ち、この病的眼では全体の輸送量が正常の45%である。(その他図5 参照)。

込みの比較

ここではカニクイザルにおいて fluorescein と fluorescein glucuronide の眼組織による取り込みを比較した結果を示す。図4が fluorescein、図9が fluorescein glucuronide の結果である。前項で述べた如く、fluorescein は各組織で対照と2,4-ジニトロフェノール処理群の取り込み量に有意差 ($p < 0.01$, $n=4$) がみ

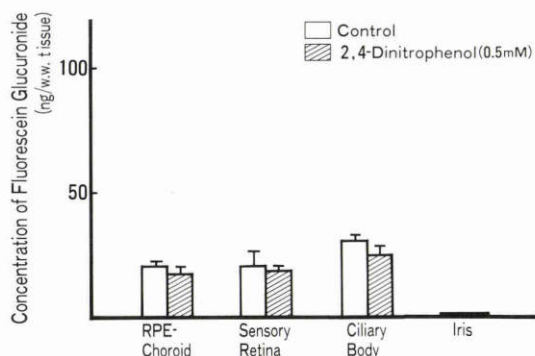


図9 カニクイザル眼組織1時間培養における対照と2,4-ジニトロフェノール処理による fluorescein glucuronide 取り込み量 ($n=4$, 平均±標準偏差)。各組織の湿重量にみあう平均取り込み量で示している。毛様体で有意に ($p < 0.05$), 2,4-ジニトロフェノール処理による取り込み量が減少した。

られたが、fluorescein glucuronide では色素上皮脈絡膜、神経上皮、虹彩で有意差はなかったが、毛様体で2,4-ジニトロフェノール処理群に対照より有意に ($p < 0.05$, $n=4$) 取り込みの低下がみられた。これらの結果は fluorescein glucuronide は fluorescein と比較し、眼組織による能動輸送の対象とならないが、毛様体ではわずかに fluorescein の1/10程度の能動輸送が行われていることが示唆された。

(4) Fluorescein glucuronide とともに培養した組織等での fluorescein への分解の所見

家兎およびカニクイザルで fluorescein glucuronide とともに培養した各眼組織と培養液中に fluorescein を証明した。図10に家兎、図11にカニクイザルの各々培養1時間の所見を示す。対照、2,4-ジニトロフェノール処理でいずれの群でも種々な程度の fluorescein への分解所見をみとめた。

2) Fluorescein あるいは fluorescein glucuronide を静注後の眼内外分布

(1) Fluorescein 静注後の経時的分布

Fluorescein 静注後1時間の fluorescein と fluorescein glucuronide の分布を表2に示す。血漿中では、fluorescein の15%程度の量の fluorescein glucuronide がみられ、房水でも10%強の fluorescein glucuronide がみられる。これに対し、硝子体ではなお大半が fluorescein である。

静注後5時間の分布を表3に示す。血漿中の蛍光物質はすでに大半 fluorescein glucuronide になって

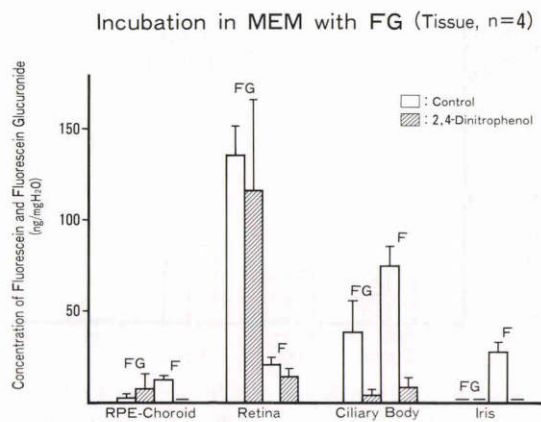


図10a 家兎眼組織を fluorescein glucuronide (FG) とともに1時間培養した。Control および2,4-ジニトロフェノール処理でいずれも fluorescein (F) への分解所見を得た。すべて平均±標準偏差。

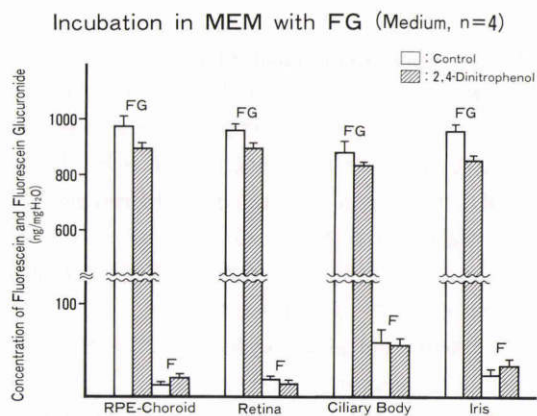


図10b aの培養液内の所見。培養液にも fluorescein glucuronide (FG) と培養したにもかかわらず, fluorescein (F) を証明した。すべて平均±標準偏差。

いる。房水、硝子体中の fluorescein と fluorescein glucuronide は20.7, 42.9および3.7, 1.7 (ng/wet weight tissue. 以下同じ) でなお相当量の fluorescein が存在する。

静注後10時間の分布を表4に示す。血漿中では大半が fluorescein glucuronide である。房水、硝子体中の fluorescein と fluorescein glucuronide は6.4, 8.3および0.8と0.4であり、両者ともに減少しているが、なお相当量の fluorescein が存在している。

静注後20時間の分布を表5に示す。血漿中にわずかにみられる蛍光物質は全て fluorescein glucuronide になっている。房水、硝子体中にはなお fluorescein,

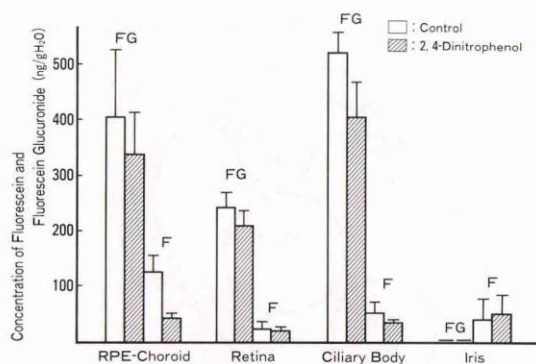


図11 カニクイザル眼組織を fluorescein glucuronide (FG) とともに1時間培養した。対照および2,4-ジニトロフェノール処理でいずれも fluorescein (F) への分解所見を得た。すべて平均±標準偏差。

表2 10mg/kg の fluorescein 静注後1時間における血漿および眼組織中の fluorescein (F) と fluorescein glucuronide (FG) の濃度 (平均±標準偏差, ng/g H₂O, n=2)

	FG	F
Plasma	165.8 ± 0.0	1,106.1 ± 0
Aqueous Humor	7.2 ± 2.1	68.1 ± 2.9
Vitreous Body	0.3 ± 0.2	14.1 ± 1.6
Retina	—	50.1 ± 7.5
RPE-Choroid	153.9 ± 30.5	1,473.4 ± 63.1
Iris	30.3 ± 16.8	497.1 ± 33.1
Ciliary Body	191.1 ± 154.2	1,002.0 ± 85.1

表3 10mg/kg の fluorescein 静注後5時間における血漿および眼組織中の fluorescein (F) と fluorescein glucuronide (FG) の濃度 (平均±標準偏差, ng/g H₂O, n=2)

	FG	F
Plasma	71.9 ± 0.0	0.5 ± 0.0
Aqueous Humor	42.9 ± 10.3	20.7 ± 3.8
Vitreous Body	1.7 ± 0.6	3.7 ± 0.2
Retina	—	4.6 ± 0.5
RPE-Choroid	109.3 ± 10.5	261.2 ± 22.8
Iris	36.1 ± 1.4	102.5 ± 35.9
Ciliary Body	112.1 ± 17.8	226.1 ± 25.6

fluorescein glucuronide が微量ながら存在する。

全過程を通じて、色素上皮脈絡膜、虹彩、毛様体には血漿中の fluorescein, fluorescein glucuronide の量と無関係に、両者の貯留あるいは吸着がみとめられ、

表 4 10mg/kg の fluorescein 静注後10時間における
血漿および眼組織中の fluorescein (F) と fluorescein
glucuronide (FG) の濃度 (平均±標準偏差, ng/g
H₂O, n=2)

	FG	F
Plasma	8.4± 0.0	0.1± 0.0
Aqueous Humor	8.3± 1.3	6.4± 0.4
Vitreous Body	0.4± 0.3	0.8± 0.1
Retina	—	0.3± 0.4
RPE-Choroid	10.8± 4.5	107.1±31.5
Iris	—	21.9± 5.4
Ciliary Body	13.1±13.4	75.4± 2.4

表 5 10mg/kg の fluorescein 静注後20時間における
血漿および眼組織中の fluorescein (F) と fluorescein
glucuronide (FG) の濃度 (平均±標準偏差, ng/g
H₂O, n=2)

	FG	F
Plasma	1.7±0.0	—
Aqueous Humor	0.5±0.2	1.3±0.1
Vitreous Body	0.1±0.0	0.1±0.0
Retina	—	—
RPE-Choroid	3.3±0.6	20.7±3.9
Iris	—	6.6±0.8
Ciliary Body	2.7±0.2	10.1±0.7

表 6 10mg/kg の fluorescein glucuronide 静注後
3時間における血漿および眼組織中の fluorescein
glucuronide (FG) と fluorescein 濃度 (平均±標
準偏差, ng/g H₂O, n=4)

	FG	F
Plasma	809.0±291.3	—
Aqueous humor	372.3± 14.4	0.3± 0.2
Vitreous body	12.5± 3.0	—
Retina	17.7± 13.9	7.3± 2.0
RPE-choroid	2,231.6±139.9	166.7±16.3
Iris	388.8±231.7	54.0±19.8
Ciliary body	1,075.0±560.6	191.5±88.8

これらの量は眼内液中の両者のその10～30倍に達する。

(2) Fluorescein glucuronide 静注後の経時的分布

Fluorescein glucuronide 静注後 3 時間の結果を表 6 に示す。色素上皮脈絡膜を最高値として、各組織に種々の濃度の fluorescein glucuronide をみとめる。血漿、房水、硝子体中には fluorescein をみとめないが、眼内各組織には、高値の fluorescein をみとめた。

表 7 10mg/kg の fluorescein glucuronide 静注後
5時間における血漿および眼組織中の fluorescein
glucuronide (FG) と fluorescein 濃度 (平均±標
準偏差, ng/g H₂O, n=2)

	FG	F
Plasma	175.0± 0.0	0.3± 0.0
Aqueous humor	126.0± 2.8	0.5± 0.1
Vitreous body	8.5± 3.5	—
Retina	4.6± 6.4	—
RPE-choroid	754.1±159.0	48.3±10.2
Iris	54.4± 19.4	1.1± 1.5
Ciliary body	501.6± 46.0	65.6± 1.1

Fluorescein glucuronide 静注後 5 時間の結果を表 7 に示す。ここでも fluorescein glucuronide は色素上皮脈絡膜で最高値を示し、他の組織でも静注後 3 時間と同様の傾向を示した、また fluorescein も血漿、房水、硝子体中では微量をみとめるか、これを検出しないのに対して、色素上皮脈絡膜、毛様体で高値を検出した。

4. 考察

この項では、fluorescein およびその代謝物 fluorescein glucuronide の主に *in vitro* における能動輸送の検討と、これらを全身投与した場合の眼内外の動態に関し、検討を行った。

Fluorescein の能動輸送は現在まで主に網膜で行われ¹⁴⁾¹⁵⁾、前部ぶどう膜でも行われていることが示唆されていた²³⁾。しかし、各眼内組織細胞層の量的分担や高等哺乳類の状況については不明であった。本報で、虹彩毛様体など、前部ぶどう膜が家兎、カンクイザルで約40%の能動輸送を分担し、ヒトでも24%を分担していることが示され、これらの分担量から硝子体腔の恒常性維持には、前部ぶどう膜も予想以上に関与していることが示唆された。Cunha-Vaz と Maurice の古典的な実験は *in vivo* で行われ¹⁴⁾¹⁵⁾、彼等の方法で行うと、網膜の能動輸送量が強調され過ぎるようになる。さらに彼等は、得られた結果の分布から、家兎においても網膜毛細管の働きを強調している。しかし今回の我々の結果では家兎の神経網膜上皮は全体のわずか7%の分担しか行っておらず、網膜の働きが旺盛にみえたが、この大半は網膜色素上皮の機能に依存していることが示された。このことは euangiotic retinal capillaries を有するカンクイザルやヒトの神経上皮が各々25%、43%の分担量であったこととよい対比を示している。今回の実験では、重篤な病的眼についても *in vitro* の能動輸送機能を検討した。この例は陳旧

ぶどう膜炎、虹彩 rubeosis など、前部ぶどう膜に重篤な病変が存在した。これを正常人眼と対比すると、病変部に一致して前部ぶどう膜は極めて低い能動輸送機能が残存しているのみであり、逆に神経上皮はなお比較的良好な能動輸送機能を維持しており、このような例での網膜血管系の健常性が示唆された。この検討から、能動輸送機能は眼内病変に一致し、敏感にこれを反映する重要な機能であることが分る。またこのような例では、硝子体腔の恒常性が失われ、当症例が併発していた白内障や緑内障の成因の1つになっている可能性がある。

Fluorescein glucuronide が fluorescein と比較し、能動輸送されにくいことが *in vivo* および *in vitro* の実験で示されている^{18)~21)}。これらは、全て家兎を使用した実験であったが、本報ではカンクイザルを使用した実験で検討した。既報²⁰⁾で述べた家兎の場合と同様、カンクイザルでも fluorescein glucuronide は fluorescein と比較し、能動輸送されていないが、やはり毛様体では少量であるが能動輸送されていることが示され、毛様体の生理学的特異性が示唆された。Eguchi 等は、これを Ussing chamber 改良法を使用して検討して、毛様体でも fluorescein glucuronide は能動輸送されていないと結論している²¹⁾。結果の差は方法論の差によると思われるが、なお検討を要する問題であろう。もし、我々の得た結果が正しいとするなら、毛様体が健常の場合、fluorescein 静注後後期の眼内液中の fluorescein glucuronide の消失は主として前方ルートの受動輸送と、少量ながらも毛様体の能動輸送に依存する。これに対し、毛様体に疾患がある場合、後者の機能がなく、消失は正常の場合より slow になる。後期の fluorescein glucuronide 消失の解析により、毛様体疾患の診断の一助になる可能性がある。

Fluorescein は静注されると肝で速やかに fluorescein glucuronide に代謝され、この物質も蛍光を発する¹⁶⁾¹⁷⁾。Fluorescein は fluorophotometry の tracer として利用されてきたが、前述の如く能動輸送挙動の異なる2つの物質が体内で混然として存在することは、fluorophotometry の後期の解析を困難なものにしている。この解析の一助とする目的と、fluorescein および fluorescein glucuronide の眼内外における動態を知る目的で本項では両者を各々静注し、それらの眼内外における分布を経時的に調べた。Fluorescein を静注すると血中では1時間で約15%が、5時間でほぼ100%が fluorescein glucuronide になっており、既報

の結果にそれぞれ一致する¹⁹⁾²⁴⁾。一方、fluorescein glucuronide を静注しても、血中に当然のことながら fluorescein が現れることはない。他方、fluorescein 静注の場合の眼内の両色素の分布については、全身血中の fluorescein glucuronide の増加を反映して時間の経過とともに fluorescein glucuronide が房水、硝子体中に増加するものの、fluorescein も予想以上の量、眼内液に存在していた。両者の能動輸送挙動を考慮すれば、眼内液中でも静注後後期になれば大半が fluorescein glucuronide であると想像されたのであるが、これは意外な結果であった。今回の検討結果によると、色素上皮脈絡膜、虹彩、毛様体などの眼内組織が予想以上の量の fluorescein の貯留をゆるし、かつ長期間血中濃度と無関係に高濃度を保っていることが判明した。この傾向は今回検討しなかったが、角膜、強膜などの眼組織においても同様の傾向があると思われる。これらの眼組織はすべて fluorescein の貯蔵庫となり、微量の fluorescein を眼内液中へ関門を越え、提供している可能性がある。静注された fluorescein glucuronide について2~3の興味のある事実がまとめられた²⁵⁾。第1に fluorescein glucuronide は *in vitro* の培養された眼組織でも、静注後の眼組織でも、fluorescein に分解されることをみい出した。第2に、分解された fluorescein は、色素上皮脈絡膜、虹彩、毛様体の眼組織でいずれも相当濃度検出されたにもかかわらず、房水、硝子体中には、ほとんど検出されなかったことである。これらの知見についても著者は以下の如く考察する。第1点は、おそらく眼内における β -グルコニダーゼの作用²⁶⁾によるものと考える。分解された fluorescein が房水、硝子体中に証明されなかった理由は、正常家兎では fluorescein に対する能動輸送機能が作動し、一度房水硝子体中に出た fluorescein は速やかに再吸収されると推理される。この推理が正しければ、能動輸送に障害のある眼球では fluorescein glucuronide を静注すると、眼内液中に相当量の fluorescein を検出する可能性がある。この考え方に立脚し、後項で2~3の実験的病的眼で fluorescein glucuronide 静注を行い、本項と全く同様の行程で実験を行った結果を述べる。この実験は fluorescein glucuronide 静注後の眼内液を適切な filter で differential fluorophotometry し、fluorescein と fluorescein glucuronide を分離定量することにより、能動輸送の検討を行うための基礎実験となる。

実験的な生体組織における能動輸送機能の検討方法

は多いが、当項では眼球内各組織が量的にどれだけ能動輸送機能を分担するか、また各実験動物やヒトの間でこの分担量にどれ程の差があるかという、今まで未検討の問題を検討するため、*in vitro* で各組織による fluorescein と fluorescein glucuronide の取り込み量を検討する方法を採用した。能動輸送機能の検討方法は一長一短があり、取り込みを検討する方法は対象組織のどこで、どのような方向で能動輸送が行われているかは不正確であるが、例えば Ussing chamber 法²²⁾などはこの点で正確な情報をもたらす可能性がある。1つの物質の能動輸送機能を理解するためには、いづれにしろ *in vivo*, *in vitro* の方法論の結果を総合的に考えなくてはならない。本項で対象とした fluorescein, fluorescein glucuronide の如く、全身、局所で各々が代謝あるいは分解される場合はなおさらである。

5. 小括

Fluorescein, fluorescein glucuronide の眼内組織による能動輸送挙動や眼内外における動態を検討する目的で、培養液中における眼組織による取り込み実験と、両色素を別個に静注し、血中および眼組織中の濃度の経時的定量を行った。得られた結果は以下の如くであった。

1) 網膜色素上皮脈絡膜、神経上皮、毛様体、虹彩における fluorescein の能動輸送の比はヒトで 33:43:17:7、カニクイザルで 36:25:31:8、家兎で 51:7:34:8、であった。

2) Fluorescein glucuronide は fluorescein に比較し能動輸送されにくい、カニクイザル、家兎では毛様体でわずかに行われていた。

3) ヒトの病的眼では病巣に応じ、fluorescein の能動輸送機能の低下がみられた。

4) Fluorescein glucuronide は眼内組織で一部 fluorescein に分解された。

5) Fluorescein glucuronide は静注 (10mg/kg) した場合も眼内各組織で fluorescein に分解されたが、この fluorescein は正常家兎では房水、硝子体中には出現しなかった。

6) 静注された fluorescein は全身血中で 1~2 時間中に大半が fluorescein glucuronide になるが、眼内組織中では後期まで相当量の fluorescein が存在した。

III 眼内細胞の能動輸送機能の臨床的検出に関する 2~3 のアプローチ

1. 緒言

臨床の場で眼内各細胞の能動輸送機能検出は、緒についたといったところで問題が多い。今日まで比較的収獲のあった研究は、2~3 の臨床病態を擬した実験で、fluorescein を硝子体腔に注入し、fluorophotometry の手技で fluorescein の消失係数などを正常と比較するものが報告された^{14)18)19)27)~29)}。他に、fluorophotometry の動的手技や computer simulation 法を使用したものがある^{30)~53)}。これらの方法は前項で述べた fluorescein の fluorescein glucuronide への代謝の問題や、この fluorescein glucuronide と fluorescein の能動輸送挙動の差異の問題が明らかになるにつれ得られた結果の解釈には議論が多い。

ここでは fluorophotometry と computer simulation を使用した能動輸送機能検出法を糖尿病性網膜症等で行った結果を批判し、我々が開発した二相分離解析法と fluorescein glucuronide 静注法の 2 つの試みと、それらの結果について予報的に報告する。

2. 2~3 の網膜疾患の vitreous fluorophotometry と computer simulation 法による検討結果と批判

1) 症例と方法

実験対象とした症例は正常眼10例20眼(年齢40.1±3.2)、網膜症をみとめない糖尿病患者18例36眼(年齢53.4±12.8)、背景型網膜症12例24眼(年齢54.4±8.2)、前増殖型網膜症7例14眼(年齢57.3±7.9)、増殖型網膜症5例10眼(年齢62.4±5.1)、比較的早期の網膜色素変性症10例20眼(年齢42.4±3.56)、網膜中心静脈閉塞症6例6眼(年齢58.9±4.7)であった。

硝子体検査により、後部硝子体剝離を糖尿病性網膜症で84眼中66眼に、網膜色素変性症で全例に、網膜中心静脈閉塞症で全例にみとめた。

硝子体内蛍光光度を Fluorotron Master (Coherent 社製) を使用し測定した。10mg/kg の fluorescein の静注後、1, 2, 5, 24, 48時間後測定を行った。血漿中蛋白非結合の fluorescein の濃度は静注後 1, 2, 5 時間後に Amicon 社製 MPS-III を使用し測定した。

以下に解析に使用した computer simulation 法について述べる。

Fluorophotometer を用いて測定した硝子体内蛍光

強度は、色々の因子によって修飾されている。重要な因子としては、①血液網膜関門の内方透過性（網脈絡膜より硝子体へ、 P_{in} ）、②血液網膜関門の外方透過性（①の逆、 P_{out} ）、③血漿内蛍光色素濃度（ Cs ）、④硝子体内の色素拡散速度（ D ）、⑤血液房水関門透過性などが考えられている。

眼球内での物質（色素）の移動が、一定の法則に従って行われるという仮定（simulation model）のもとで、色素静注後の眼内蛍光強度、分布の経過を解析し、上記の P_{in} 、 P_{out} 、 D を求める試みが、Palestine & Brubaker³⁰⁾、Zeimer ら³¹⁾、小椋ら^{33)~35)}、吉田ら⁴⁹⁾によって行われている。

報告者によって若干の創意工夫はみられるが、simulation model の基本的考え方は次のようである。

硝子体腔を半系 R の球とみなし、厚さ Δr の薄い n 個の同心円状の shell に分割する。球の後半部は血液網膜関門のみが、前半部は血液房水関門のみが関与すると仮定する。眼球後半部では硝子体—網膜界面で、血液—網膜関門との間の物質の内・外透過の動きがなされ、硝子体内部は単純な拡散によってのみ色素の移動が行われると仮定される。

そのように仮定すると、色素静注 t 時間後の shell n における蛍光色素の濃度

$Cv(n,t)$ は $n=1$ $Cv(n,t) = Cv(n,t-\Delta t) + [P_{in} \cdot Cs(t) - P_{out} \cdot Cv(n,t-\Delta t)] \cdot S(n) \cdot \Delta t / V(n) - [Cv(n,t-\Delta t) - Cv(n+1,t-\Delta t)] \cdot S(n+1) \cdot D \cdot \Delta t / \Delta r \cdot V(n)$

$n \geq 2$ $Cv(n,t) = Cv(n,t-\Delta t) + \{ [Cv(n-1,t-\Delta t) - Cv(n,t-\Delta t)] \cdot S(n) - [Cv(n,t-\Delta t) - Cv(n+1,t-\Delta t)] \cdot S(n+1) \} \cdot D \cdot \Delta t / \Delta r \cdot V(n)$

$S(n)$ 、 $V(n)$: shell n の外側の表面積および体積

理論的には、以上の各係数を computer に入力して、任意の時間までの硝子体内の色素の動態を simulation することができる。

Pharmacokinetic な考え方によると、硝子体内の色素の時間的濃度変化 dF は、 $dF = P_{in} Cs - P_{out} Cv$ と表わされる。静注後早期では $Cs > Cv$ であるため、静注後早期においては、硝子体蛍光色素の濃度、分布状態は P_{in} 、 Cs 、 D によって決定され、静注後期では、 P_{out} が影響を与えるようになる。

$$P_{in} \text{は、} P_{in} = \frac{\int_0^t dFt}{\int_0^t Csdt}$$

D は後部硝子体の蛍光色素濃度勾配より求めることができる。 P_{in} 、 D を入力して静注後期の測定結果とよく

一致するように、 P_{out} を求めることができる。

我々は以上の Zeimer ら、小椋らの方法を基に、computer simulation 法により、 P_{in} 、 D 、 P_{out} を求めた。我々は病的眼を測定目標としたため、静注後 1 時間で P_{in} 、 D を求めた。 P_{in} は Cs を 2 項の指数関数に回帰させ、最小二乗法により我々のデータをもとにして係数を決定して求め、網膜ピークより 0~6mm 間の蛍光色素量をその積分値で除した。

なおこの方法の妥当性を検定する目的で、数例において静注後 6、8 時間後のデータと P_{in} 、 D 、 P_{out} を入力して得た結果と比較した。

2) 結果

図 12 に computer simulation 法により算出した P_{in} (inward permeability) を示す。各種網膜疾患を有する症例で統計学的有意に P_{in} の高値をみとめた。

図 13 に P_{out} 、図 14 に Kv 、図 15 に $P_{in} \cdot Cs / Cv$ を示す。3 指標において、各種網膜疾患を有する症例は正常者と比較して、一定の傾向はみられなかった。 P_{out} では増殖型網膜症や網膜中心静脈閉塞症などにおいて正常者よりむしろ高値をみとめた。

3) 考察

Fluorophotometry は古くから存在する方法⁵⁴⁾であったが、信頼度の高い objective fluorophotometry の開発がこの分野の研究を活発にした^{55)~57)}。近年、Cunha-Vaz によりこの方法が vitreous fluoro-

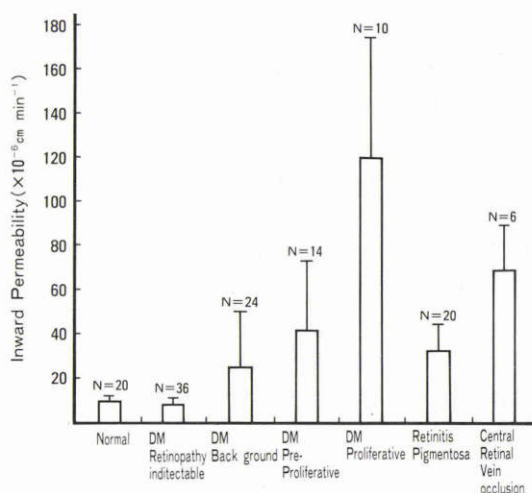


図 12 Computer simulation で算出した各種網膜疾患における inward permeability。網膜症を有さない糖尿病患者以外の疾患で正常者より有意に ($p < 0.01 \sim p < 0.05$) 高値の inward permeability をみとめた。

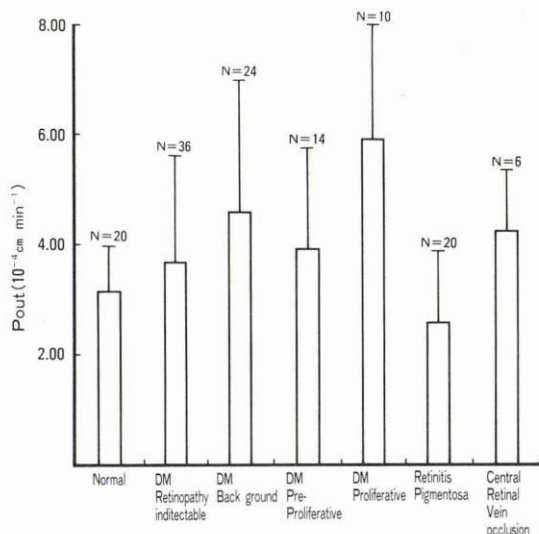


図13 Computer simulationで算出した各種網膜疾患における P_{out} 。一定の傾向をみとめず、増殖性糖尿病性網膜症や中心静脈閉鎖症では P_{out} は正常者よりむしろ高値を示す。

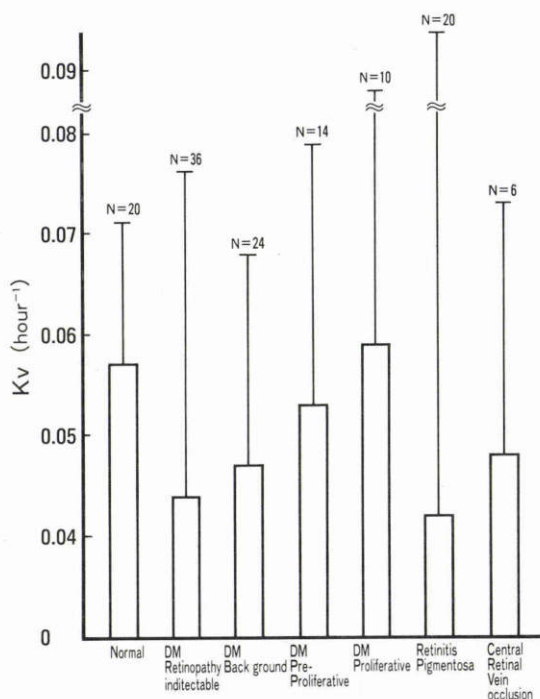


図14 Computer simulationで算出した各種網膜疾患における K_v 。やはり一定の傾向をみとめない。

photometry として硝子体中の fluorescein 濃度を測定することにより、血液網膜関門の検査法として使用

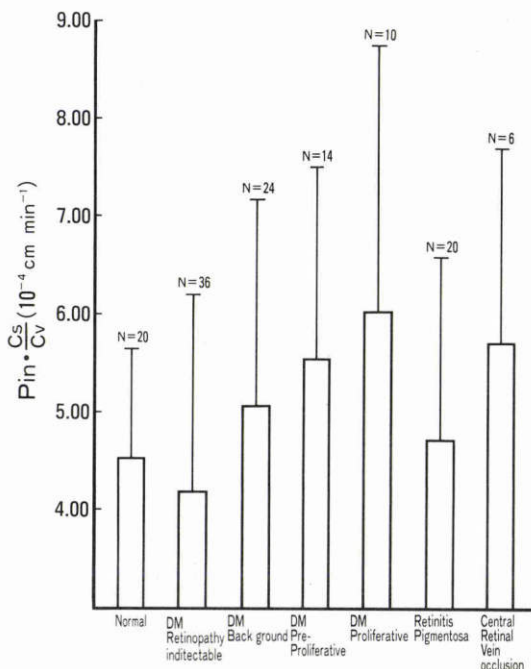


図15 Computer simulationで算出した各種網膜疾患における $P_{in} \cdot C_s / C_v$ 。やはり一定の傾向をみとめない。

しうと報告されて以来、臨床応用された。Fluorescein の内方透過、あるいは P_{in} に関しては、一定の条件下で有意な結果を提供してきた。(この問題に関しては著者等の総説^{58)~60)}に詳細に述べており、文献を含め当報告では P_{in} の知見は概ね割愛した)。一方、外方透過、outward transport、能動輸送、 P_{out} 等に関する fluorophotometry を使用した方法としては、消失速度定数 (K_v , hour^{-1})³⁶⁾、半減期⁶¹⁾、fluorescein を経口あるいは静注投与した後、硝子体中の蛍光濃度が最高となった時点における血漿内 free fluorescein 濃度 (C_s) と硝子体内濃度 (C_v) の比 C_s / C_v ($= P_{out} / P_{in}$) を求める方法³⁷⁾⁵¹⁾、さらには computer simulation 法等により P_{out} を直接算出する方法がある^{31)33)34)38)~40)49)}。

正常眼での種々の方法で得た P_{out} と P_{in} の比は、表 8 に示すとおりで、 P_{out} は、 P_{in} の数十倍と大きな機能であろうと推定されている。

本項では、Fluorescein を静注し、硝子体蛍光を computer simulation 法により 2~3 の網膜疾患において検討した。 P_{in} は疾患の重症度等を比較的よく反映した結果を示したのに対し、outward transport を示すと、想定した 2~3 の指標はいずれも一定した傾向

表8 P in と P out の値 (Ogura, et al³⁵⁾の表に一部追加)

Investigators	Subjects	Pin (cm/min)	P out (cm/min)	P out/P in
Cunha-Vaz and Maurice ¹⁴⁾	Rabbit	9.1×10^{-5}	3.3×10^{-3}	37
Palestine and Brubaker ³⁰⁾	Human	9.1×10^{-5}	3.4×10^{-3}	38
Zeimer, et al ³¹⁾	Human	6.9×10^{-6}	2.1×10^{-4}	30
Blair, et al ³⁷⁾	Human	—	—	31
Miyake, et al ^{151), 140)}	Human	—	—	27
Ogura, et al ³⁵⁾	Human	1.8×10^{-5}	5.6×10^{-4}	31
後藤 ³⁹⁾	Human	1.6×10^{-5}	2.6×10^{-4}	16
萱澤 ⁴⁰⁾	Human	9.9×10^{-6}	3.2×10^{-4}	32

を示さなかった。

この最も大きな理由は前項で示した fluorescein glucuronide の出現による、眼内液における 2 種類の tracer の混在によるためと考えられる。すなわち、fluorescein は眼内各細胞層で、前項で述べた割合いで積極的に能動輸送を受けているのに対して、fluorescein glucuronide では毛様体でわずかな能動輸送を受ける以外は主に受動輸送の対象となっている。静注後、時間経過とともに fluorescein glucuronide の眼内液における割合いは増加する。従って時間的要素を無視してこれら 2 つの tracer を単純に computer 処理しても、有意の結果は得られないことが分る (図13)。Outward transport は inward transport の約30倍、あるいはそれ以上に旺盛であり、病的眼であっても敏感に反映しないとも考えられる。このような背景のため、受動輸送が軽度の能動輸送の低下を補っているのかもしれない。後藤も kinetic vitreous fluorophotometry を computer 処理して糖尿病性増殖型網膜症を検討し、P_{out}はむしろ増加していることをみとめた⁴⁴⁾。

Fluorescein の静注法による outward transport の解析は、時間の経過とともにこれが fluorescein と fluorescein glucuronide に分かれ、この混合液の解析を行うこととなり、このままの方法では多くの困難があり、この問題を computer に入力せずに処理しても得られる結果は特に P_{out}に関し、意味がないと結論できる。

2. Kinetic vitreous fluorophotometry の

新しい解析法—二相分離解析法

1) 症例と方法

同意を得て15眼の正常志願者、24眼の糖尿病患者、14眼の各種ぶどう膜炎を有する患者を対象とした。糖尿病患者は12眼が背景型網膜症、12眼が増殖型網膜症であった。背景型網膜症は全例かなり進行例であり、多数の小動脈瘤、出血斑、硬性白斑、および浮腫をみと

めた。ぶどう膜炎は Behçet 氏病 4 眼、原田病 4 眼、前部ぶどう膜炎 4 眼、病因不明後部ぶどう膜炎 2 眼であった。

Kinetic vitreous fluorophotometry は次の方法で行った。散瞳後10mg/kg の fluorescein を静注した。Fluorotron Master (Coherent 社製) を使用し、fluorescein 静注前、静注後 5, 6, 8, 10, 24 および 48 時間に硝子体蛍光 (中部硝子体) を測定した。

硝子体腔からの fluorescein 消失に関する薬理動態学的解析のために、one compartment model を適応した。この model に従うと、一定時間 t における硝子体 fluorescein 濃度 Cv は次式で表される: $Cv(t) = Coe^{-K_v t}$ (K_v は exponential decay constant, hour⁻¹)。計測結果を semilogarithmic graph で plot し、decay の曲線から K_v は次式で計測される。

$$K_v = \frac{1}{t_1 - t_2} \ln \frac{Cv(t_2)}{Cv(t_1)}$$

(t: 時間, Cv: 中部硝子体における測定時間、fluorescein 濃度—注射前 fluorescein 濃度)。

このようにして静注後 5~24 時間、24~48 時間の expotential decay constant を別々に計測した (二相分離解析)。すなわち

$$5 \sim 24 \text{ 時間の } K_{v1} = \frac{1}{19} \ln \frac{Cv(5)}{Cv(24)},$$

$$24 \sim 48 \text{ 時間の } K_{v2} = \frac{1}{24} \ln \frac{Cv(24)}{Cv(48)}$$

で示される。

2) 結果

図16に正常者と糖尿病性網膜症を有する糖尿病患者の K_{v1}, K_{v2}, K_{v1}-K_{v2}を示す。正常者では K_{v1}は K_{v2}より有意に高値を示し、二相性を示す(図17)。背景網膜症を有する糖尿病患者も二相性が観察される。しかし増殖期の網膜症を有する糖尿病患者では、K_{v2}が大きく、K_{v1}はむしろ小さくなる。この結果二相性は失わ

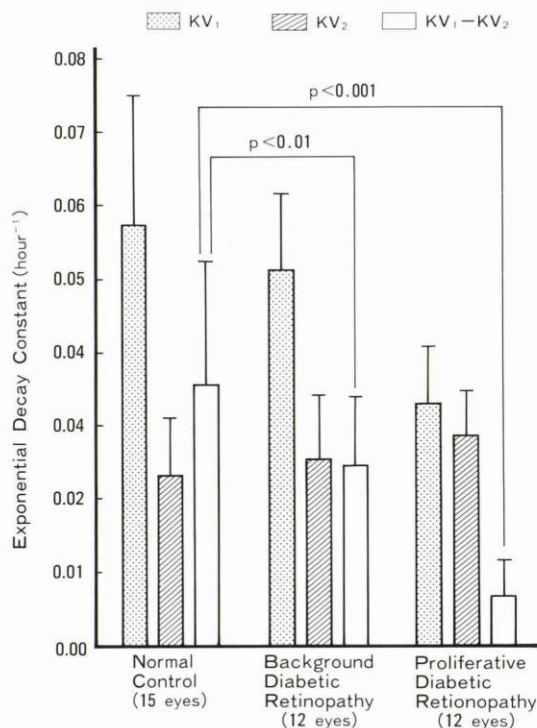


図16 正常眼, 背景型糖尿病性網膜症, 増殖型糖尿病性網膜症における Kv_1 , Kv_2 および Kv_1-Kv_2 . Kv_1-Kv_2 において 2, 3 者の間に統計学的有意差をみとめた.

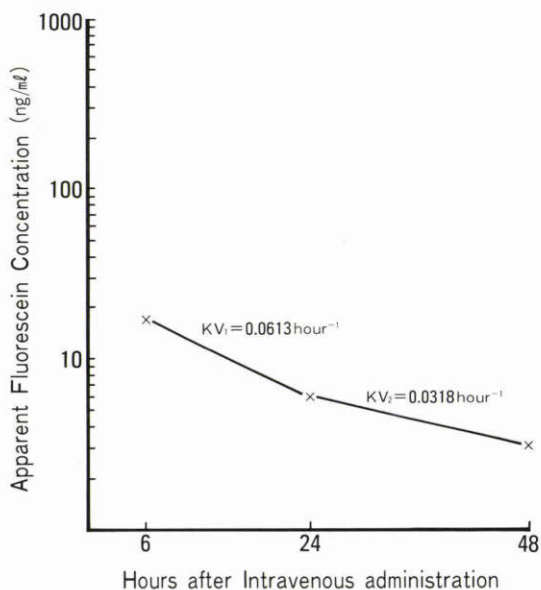


図17 正常者における kinetic vitreous fluorophotometry の二相分離解析. Kv_1 と Kv_2 は二相性を示す.

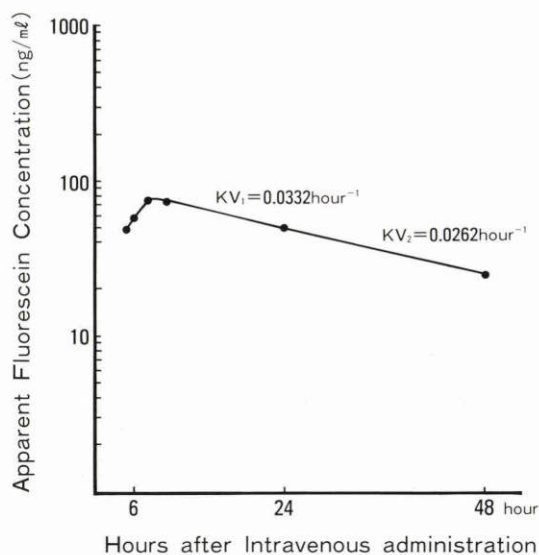


図18 増殖性糖尿病性網膜症の kinetic vitreous fluorophotometry の二相分離解析.

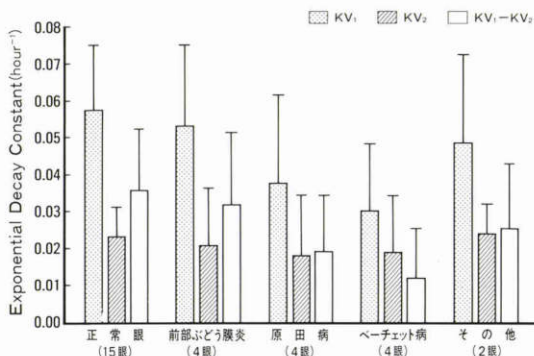


図19 正常眼, 各種ぶどう膜炎における Kv_1 , Kv_2 および Kv_1-Kv_2 . Kv_1-Kv_2 は Behçet 氏病, 原田病, 前部ぶどう膜炎の順に低値を示す.

れる(図18). 背景型網膜症の Kv_1 は正常者と比較して有意差はないが, 増殖型網膜症の Kv_1 は有意に小さい. さらに Kv_1-Kv_2 は正常者, 背景型網膜症, 増殖型網膜症 3 者の間に有意差をみとめ, この指標は病態を反映する敏感なものであることが示唆される.

図19に正常者と各種ぶどう膜炎を有する症例の Kv_1 , Kv_2 , Kv_1-Kv_2 を示す. Kv_1-Kv_2 の値は Behçet 氏病, 原田病, 前部ぶどう膜炎の順に低値であり, 前部ぶどう膜炎は正常者と有意差はなかった.

図20に塚原宇山型の中心性網脈絡膜症の眼底像と蛍光眼底像を示す. 図21にこの症例の二相分離解析法の所見を示す. Inward permeability は図18の糖尿病性



図20 塚原宇山型の中心性網脈絡膜症の（蛍光）眼底所見。

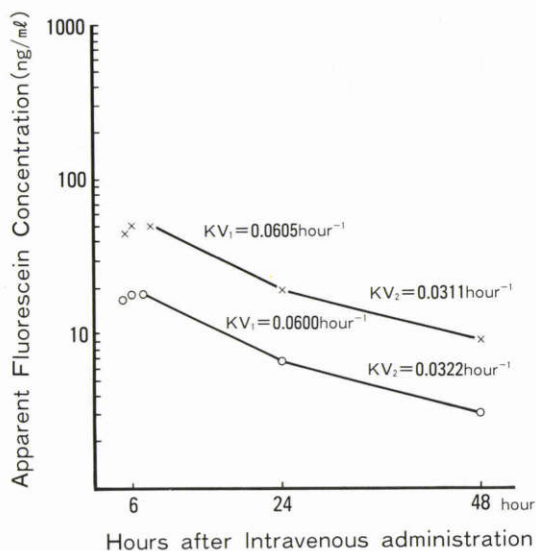


図21 塚原宇山型中心性網脈絡膜症（×—×）と正常の朋眼（○—○）の kinetic vitreous fluorophotometry の二相分離析。初期における inward permeability は病的眼で増加しているが、Kv1とKv2は二相性を示し、あたかも正常朋眼を平行移動したが如くである。

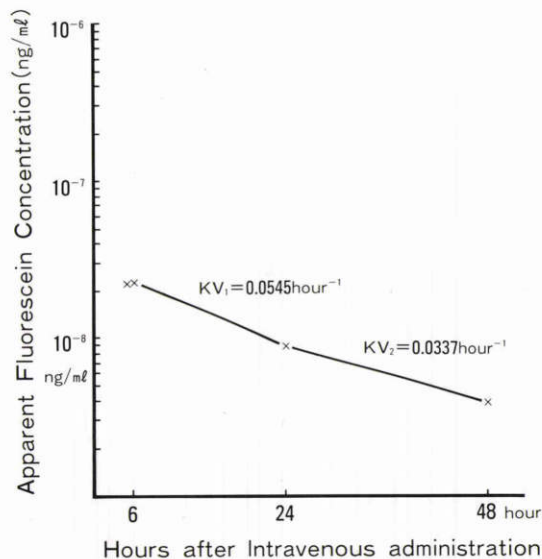


図22 原田病の kinetic vitreous fluorophotometry の二相分離析。

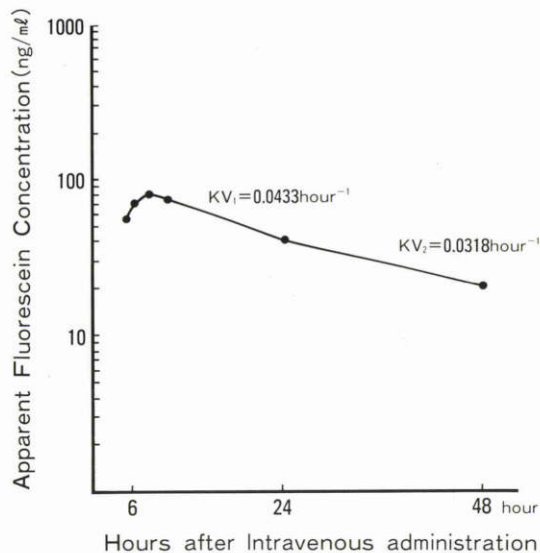


図 23 Behçet 病 の kinetic vitreous fluorophotometry の二相分離析。

網膜症と大差はないが、Kv1-Kv2はなお正常に保たれている。これはこの症例の正常な朋眼の Kv1-Kv2を平行移動した型であることから理解できる。

図22に原田病の二相分離析法の所見を示す。Kv1-Kv2=0.0208と二相性が比較的保たれている。

図23に Behçet 病の二相分離析法の所見を示す。Kv1-Kv2=0.0115で前記原田病と比較し、低値を示

している。

3) 考察

Kinetic vitreous fluorophotometry は fluorescein の outward transport を検討する方法として記載されたが³²⁾⁶¹⁾、静注された fluorescein は体内で速やかに代謝され、fluorescein glucuronide になる¹⁶⁾¹⁷⁾。血漿中の蛍光物質は数時間内に全て fluorescein glucuronide となり、眼内液中には長時間にわたり fluorescein と fluorescein glucuronide が混在し、後期になる程 fluorescein glucuronide が相対的に増加することが前項の検討などで明らかになっている。

Fluorescein と fluorescein glucuronide は分子量、膜透過性、蛍光、励起スペクトル等の物理化学的性状が異なり⁶²⁾、特に kinetic vitreous fluorophotometry の解釈に関連の深いことは、両色素の間で能動輸送挙動が異なることである。前項で述べた如く、fluorescein は fluorescein glucuronide よりすべての眼内細胞において、強く能動輸送され硝子体腔から早く消出する。現在まで kinetic vitreous fluorophotometry ではこの両色素を分離して検討されていない。以下に我々が開発した kinetic vitreous fluorophotometry の二相分離解析法の理論を述べる。

硝子体内に直接 fluorescein、あるいは fluorescein glucuronide を注入してその排出をみた場合、拡散関数的に、即ち縦軸に濃度を対数で、横軸に時間をとって表した場合、ほぼ直線的に減少する¹⁸⁾¹⁹⁾。一方、各々の色素を静注した場合は、前項の検討でも明らかな如くその排出は複雑な曲線となる。この原因は複数であるが、fluorescein の代謝、血漿中よりの inward さらに眼内各組織に貯留、沈着した fluorescein 挙動などが考えられる。血漿からの inward flux は、色素の血漿内濃度に比例する。そのため、inward flux は静注後時間とともに小さくなる。もし正常眼における二相性が inward flux によるものとすれば、Kv1はKv2より小さくなるはずである。しかし実際はKv1はKv2よりも大きく、この差は関門機能の正常なもの程大きい。そこで我々は前項で述べた fluorescein 静注後の fluorescein と fluorescein glucuronide の眼内外の動態の結果などから、Kv1がKv2より大きい理由として、fluorescein と fluorescein glucuronide の能動輸送の差が大きな役割をはたしていると推論した。すなわち早期のKv1はfluoresceinの能動輸送とfluorescein glucuronideの受動輸送の混在する相、後期のKv2はfluorescein glucuronideの受動輸送の相と推定した。

これらのことから、Kv1-Kv2は fluorescein の能動輸送を比較的良好に表現する parameter と考えたのである。この方法にも、しかしながら未解決の問題がある。糖尿病では free の fluorescein が正常と異なる⁶³⁾との報告がみられるし、inward flux の影響も正常眼とは異なる可能性がある。また二相分離する timing も、より適切な時点があるのかもしれない。

Kv1-Kv2なる指標は今回の検討で2~3の興味深い結果を示した。糖尿病では、Kv1-Kv2は正常者、背景型網膜症、増殖型網膜症の順に低値を示した。またぶどう膜炎等では病変の主座の異なる2~3の疾患を検討し、Kv1-Kv2は前部ぶどう膜炎、塚原宇山型中心性網脈絡膜症は比較的高値で、Behçet氏病(眼底型)が低値、原田病がこの中間に位置した。またこれらの疾患のKv1-Kv2値は増殖型糖尿病性網膜症と比較しやや高値であることが判明した。これらの結果と、前項の眼内各細胞層の能動輸送の分担量を併せ考察することは興味がある。前項の検討によると正常人眼では、網膜神経上皮43%、網膜色素上皮33%、虹彩毛様体24%の能動輸送の分担量を示した。重症の糖尿病性網膜症では眼内関門がすべての部分で障害され、Kv1-Kv2が低値を示す。ぶどう膜炎等では、前部ぶどう膜炎とか塚原宇山型中心性網脈絡症では、前者が虹彩毛様体、後者が後極部色素上皮に病変が限局し、Kv1-Kv2が比較的高値を保つ。これに対し、眼底型 Behçet 病では色素上皮、神経上皮(網膜血管)がともに障害され、ぶどう膜炎中ではKv1-Kv2が低値を示した。以上の如く、前項の *in vitro* における fluorescein の能動輸送分担量の結果と、二相分離法で検討された臨床所見は比較的良好に一致をみるのである。

3. Fluorescein glucuronide 静注法の可能性

前項で述べた如く、実験動物家兎に fluorescein glucuronide を静注すると眼内各細胞中で fluorescein glucuronide から fluorescein に分解される所見を得た。正常動物の場合、眼内各組織に fluorescein をみとめても、眼内液(房水硝子体中)には fluorescein をみとめることはなかった。この所見については異なった報告もあるが、これが正しければ次の如き説明も可能である。眼組織中に存在する相当量の fluorescein glucuronide から分解された fluorescein は一度房水、あるいは硝子体に進入するが、正常眼では能動輸送機能により水際の血中へ輸送されてしまうと推理できる(図24)。これに対して能動輸送機能に失調があれば、fluorescein glucuronide を静注した場合、相当量の

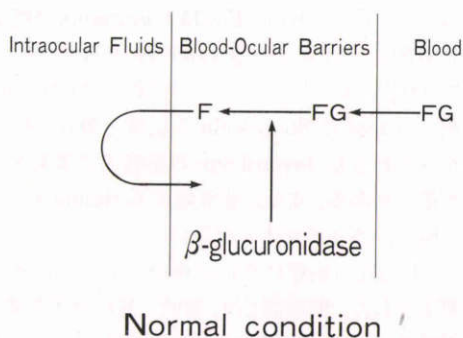
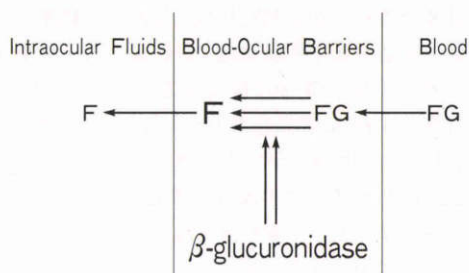


図24 血中の fluorescein glucuronide (FG) は眼関門を構成する細胞で、 β -glucuronidase により fluorescein (F) に一部分解され、一度眼内液に移行する。眼関門の能動輸送機能が正常の場合は、この F は水際的に即時血中に逆輸送される。



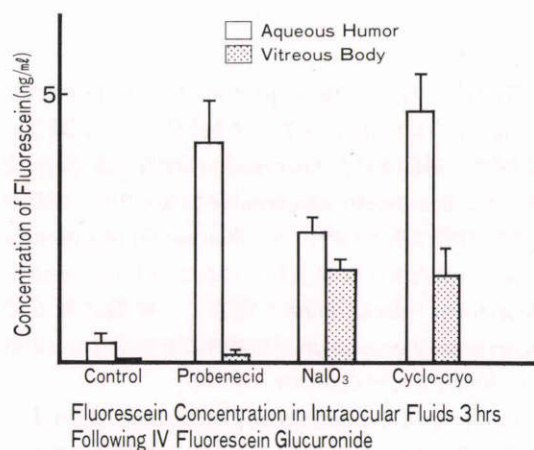
Pathological conditions

図25 病的眼では FG から F への分解が旺盛であり、かつ眼内液に移行した F の血中への逆輸送も低下しており、眼内液に F が相当量検出されることとなる。

fluorescein が眼内液に検出されるのではないかと考えられる(図25)。この仮説が正しければ、fluorescein glucuronide を静注し、房水、硝子体中の fluorescein 量を定量することにより能動輸送機能を検査できるのではなかろうかと考えた。本項では以上の考え方から能動輸送が破壊される2～3の実験的病態で fluorescein glucuronide を静注し、眼内液と組織中の fluorescein と fluorescein glucuronide を定量した。

1) 実験方法

成熟白色正常家兎(2.5～3.0kg)を使用して以下の3種類の実験的病態を作製した。Probenecid 処理群は腹腔内に probenecid 400mg 注射後、ヨウ素酸ソーダ処理群は3%ヨウ素酸ソーダ30mg/kg 3日間静注し1週間で ERG が平坦化後、また毛様体冷凍群は—



Fluorescein Concentration in Intraocular Fluids 3 hrs Following IV Fluorescein Glucuronide

図26 正常および probenecid, ヨー素酸ソーダ, 毛様体冷凍処理した家兎に fluorescein glucuronide 10 mg/kg 静注後3時間における房水と硝子体中の fluorescein 濃度。2つの病的眼の fluorescein 濃度は全て正常より高値 ($p < 0.001 \sim p < 0.01$, $n=3$)。

60℃で全周毛様体を冷凍処理して3日後の動物を対象とした。

これらの家兎に10mg/kgの fluorescein glucuronide 静注後3時間において眼球摘出を行い、前項(II-2-2)と同様の方法に従って眼球各組織中の fluorescein と fluorescein glucuronide を分離定量した。

2) 結果

正常および実験的に作製した3つの病態における房水および硝子体中の fluorescein の濃度を図26に示す。3つの病態における実験動物数は全て3である。各病態における房水および硝子体中の fluorescein 濃度は全て統計学的有意 ($p < 0.001 \sim p < 0.01$) に高値を示した。

3) 考察

Fluorescein glucuronide を静注すると眼内各組織に種々の fluorescein が検出される。これは正常でも病的動物でも同様であった。しかし眼内各液(房水、硝子体)には正常では fluorescein はほとんど検出されない。これに対し、3種類の実験的病態では房水および硝子体中に種々の量の fluorescein を検出した。

上記現象はそれ自体興味深いものであり、このような現象の起るメカニズムは考察に値する。第1は前述の如く、眼内各組織中で β -glucuronidase の作用²⁶⁾により静注された fluorescein glucuronide は fluorescein に分解される。これは正常では眼内液(房水、硝子体)に一度拡散しても、能動輸送により水際的に血

中へ再輸送されてしまい、房水、硝子体には fluorescein を証明しない(図24)。しかし能動輸送機能が障害されると相当量の fluorescein が眼内液にも証明されるようになる(図25)。第2の可能性としては、上記の如き能動輸送機能の関与はなく、単に実験病態における β -glucuronidase の活性化された結果の一つをみているにすぎないという解釈も全く否定はできない。

第1の仮説が正しければ、fluorescein glucuronide 静注法は能動輸送機能の検討法の1つとして注目される。上記はすべて *in vitro* で得られた結果であり、今後まず実験病態で fluorescein glucuronide 静注後の眼内液中の fluorescein glucuronide と fluorescein の定量を経時的に行なえば、何らかの新知見に結びつく可能性がある。著者等は現在適切な filter を使用し、differential fluorophotometry でこの検討をすすめている。

4. 小括

本項では、硝子体腔から血管への能動輸送機能の臨床的検出法に関する2～3の検討を行った。最初に vitreous fluorophotometry と computer simulation 法を使用し、糖尿病性網膜症など、能動輸送機能の失調が想定される2～3の疾患を検討した結果を示し、この方法の各種 parameter でいずれも一定の傾向をみとめなかったことを述べた。次に同じく vitreous fluorophotometry の動的な手技で得られた結果の新しい解析法として、二相分離解析法を提案した。この方法は、硝子体中の fluorescein と fluorescein glucuronide の消退を可及的に分離して解析しようとする試みであり、糖尿病性網膜症、ぶどう膜炎など、各種病態で2～3の興味ある知見を得た。さらに fluorescein glucuronide 静注後に房水、硝子体腔に現れる fluorescein を定量することにより、能動輸送機能を検出し得る可能性があることを、2～3の実験病態と fluorescein glucuronide 静注後の眼組織における *in vitro* の fluorescein glucuronide と fluorescein の定量結果から示唆した。

IV Epinephrine 黄斑症の成因論

以上能動輸送機能に関する2～3の検討を行ってきたが、この機能の失調がどのように疾患の成立に関与するかについても不明の点が多い。そこで、能動輸送機能が疾患成立に関与する一例として、epinephrine 黄斑症、あるいは epinephrine による眼関門の破壊について考察してみる。

Epinephrine 黄斑症はある種の無水晶体眼(特に ICCE 後)に epinephrine を点眼すると起り、これを止めると消退する合併症である^{64)~69)}。この合併症は確立された臨床単位であるが、成因は不明である。我々は10年余り前より無水晶体眼の嚢胞状黄斑浮腫の成因仮説を図27の如く提案している^{70)~72)}。この仮説は無水晶体眼性嚢胞状黄斑浮腫の成因を前部ぶどう膜に対する外科的侵襲により生合成された prostaglandins と、この物質の能動輸送の低下に求めたものである。我々は今回 epinephrine をはじめとする catecholamine が全身の各細胞で prostaglandins を生合成することに着目し、図28に示す作業仮説を立案した。すなわち、epinephrine が局所投与されると前部ぶどう膜において prostaglandins の生合成が起る。これを示唆する *in vitro*, *in vivo* の知見がある⁷³⁾⁷⁵⁾。Epinephrine 自体および prostaglandins は血液房水関門の破壊を起す。またこれらの物質は硝子体中を拡散して網膜血管に働き、血液網膜関門の破壊を起す。そしてついには

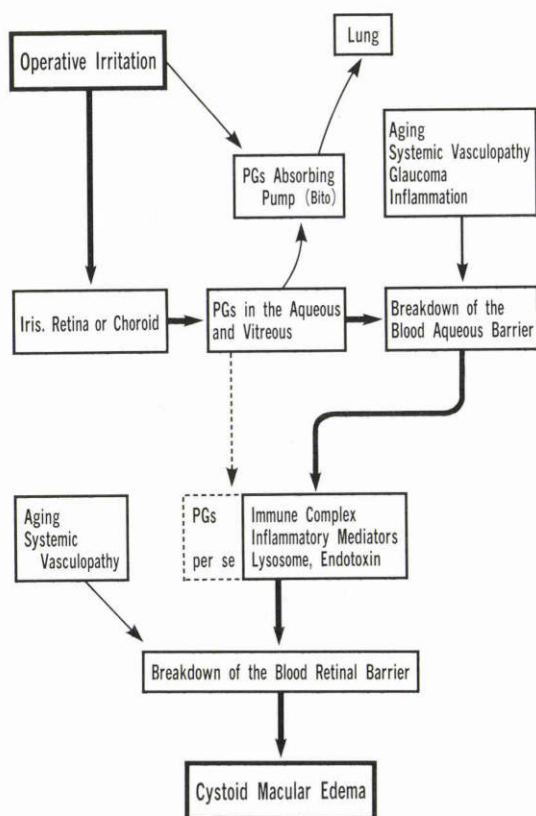


図27 無水晶体眼嚢胞状黄斑浮腫の成因に関する仮説。

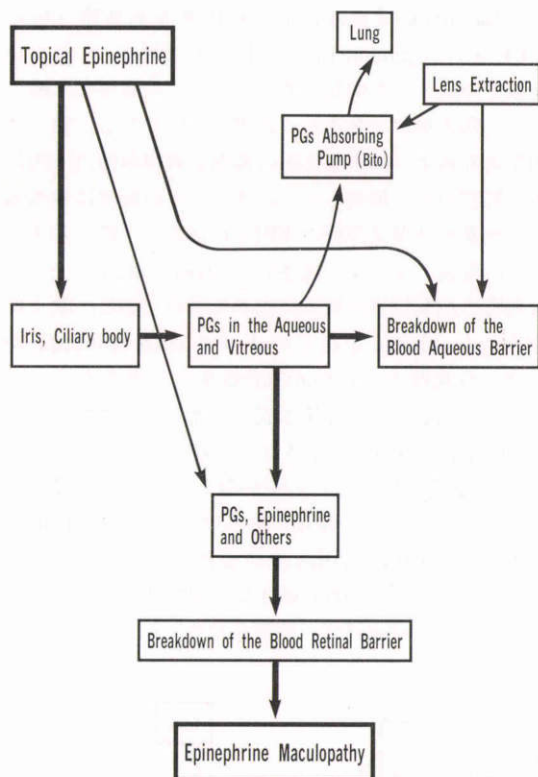


図28 Epinephrine 黄斑症の成因に関する仮説。

黄斑浮腫を惹起するに至る。Epinephrine 自体が黄斑浮腫の原因となるとする説の根拠や、無水晶体眼においてこの合併症が多い根拠として、epinephrine が ICCE 後の無水晶体眼で網膜により多く取り込まれるという Kramer の知見⁷⁶⁾が引き合いに出される。著者はここにもう一つの可能性として、水晶体摘出に伴う prostaglandins の硝子体腔からの能動輸送⁷⁷⁾の障害と、これに伴う prostaglandins の硝子体液、房水への貯留を挙げる。この点も、無水晶体眼性嚢胞状黄斑浮腫と共通の因子である。この作業仮説に立って以下に述べる 2～3 の実験を行った。

1. 家兎における epinephrine 局所投与が血液眼関門におよぼす効果⁷⁸⁾

1) 方法

1.5～2.5kg の有色家兎(雄, Dutch strain)を使用した。実験動物はすべて細隙燈検査および眼底検査を行い、fluorophotometry による検査所見に異常を与える可能性のある炎症性変化などを有するものは対象から除外した。実験動物を次の 5 群に二重盲検的に分類した。第 1 群には 1.25% の epinephrine 点眼(エピスタ

千寿製薬社製, 大阪)を 1 日 5 回, 0.5% indomethacin 点眼(千寿製薬社製, 大阪)を 1 日 3 回, いずれも 3 カ月間投与した。第 2 群には epinephrine と indomethacin placebo を同様の方法で、第 3 群には epinephrine placebo と indomethacin placebo を同様の方法で各々投与した。第 4, 第 5 群の家兎には、いずれも水晶体嚢内摘出を行い、術後 4 カ月後から 3 カ月間、第 4 群には epinephrine と indomethacin placebo を、第 5 群には epinephrine placebo と indomethacin placebo を第 1 群～第 3 群と同様の方法で投与した。薬物投与は実験動物の片眼のみに行った。予備実験で、indomethacin の局所投与は血液眼関門に何ら影響をおよぼさないことを確認している。血液房水関門と血液網膜関門の機能は Waltman と Kaufman により記載された方法⁵⁷⁾と同一の細隙燈式 fluorophotometer (Gamma-Inami 社製, 東京)と Fluorotron Master (Coherent Radiation 社製, Palo Alto, USA)を使用し検査した。細隙燈式 fluorophotometry は 0.5% tropicamide で散瞳後、網脈絡膜、水晶体などの偽蛍光を予め測定した。Fluorophotometry を行っている間には、実験動物の両眼の瞳孔の径に差はなかった。10mg/kg の fluorescein-Na を静注後 1 時間に房水、および後部硝子体の fluorescein 濃度を各々、前房中央と、網膜表面から 3mm、有髄神経線維から 2 mm 離れた位置で測定した。

Fluorotron Master は家兎眼の中部および後部硝子体の測定に便利である。我々は水晶体の偽蛍光や静注後の網脈絡膜蛍光の影響を除外するため、Zeimer 他により記載された方法⁷⁹⁾を使用した。Pre-scan, bolus scan をまず行い、色素静注後 1 時間に硝子体蛍光を測定した。平均後部硝子体濃度を網脈絡膜 peak から 3～5mm の測定値の平均値より求めた。後部網膜の同一の点から scan を開始するよう特に注意し、神経乳頭および有髄神経の部分は自発蛍光が存在するため、さけるようにした。Fluorophotometry は薬物投与後 1, 2, 3 カ月に行った。血液房水関門機能を示す指標として、房水蛍光濃度の薬物処理眼と朋眼(非処理眼)の比を使用した。この指標は Sanders 他により示されたもの⁸⁰⁾と基本的に同一である。血液網膜関門機能を示す指標として平均後部硝子体蛍光濃度の薬物処理眼/朋眼(薬物非処理眼)の比を使用した。

2) 結果

図 29 と図 30 に結果を示す。統計処理法として、Bartlett 法, Duncan 法を使用した。眼異常所見と死亡など

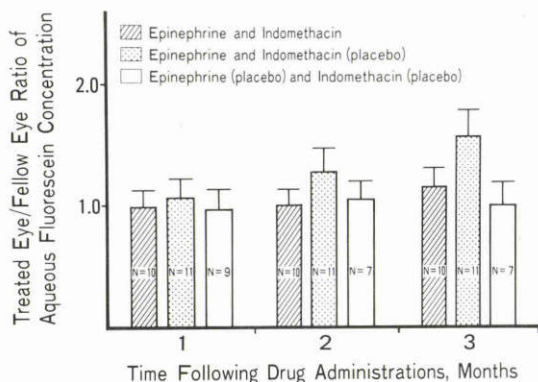


図29 家兎における各薬物投与別の血液房水関門機能の経時的推移 (平均±標準偏差). (Miyake, et al. Invest Ophthalmol Vis Sci 28 : 482—486, 1987より転載.)

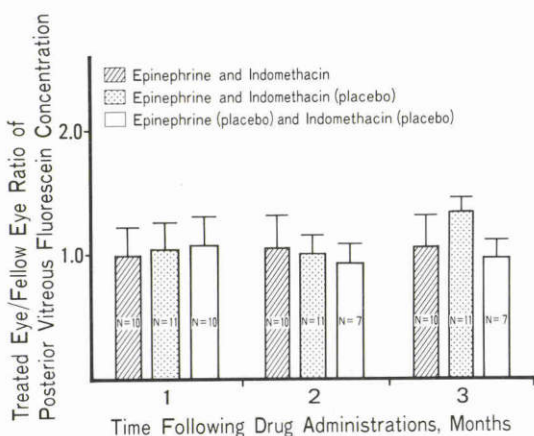


図30 家兎における各薬物投与別の血液網膜関門機能の経時的推移 (平均±標準偏差). (Miyake, et al. Invest Ophthalmol Vis Sci 28 : 482—486, 1987より転載.)

の理由から、第3群で3羽の動物を実験対象から除外した。

薬物投与後1カ月における房水、fluorescein濃度の薬物処理眼/朋眼比は第1群、第2群、第3群において各々 0.98 ± 0.14 (平均±標準偏差), 1.06 ± 0.15 , 0.96 ± 0.18 であった。3者の間に有意差はなかった。同じく2カ月では比は各々 1.00 ± 0.14 , 1.29 ± 0.19 , 1.05 ± 0.16 であった。第1群と第2群に有意差があり ($p < 0.01$)。また第2群と3群にも有意差があった ($p < 0.01$)。第1群と3群には有意差がなかった。同じく3カ月には比は各々 1.16 ± 0.17 , 1.58 ± 0.21 , 1.01 ± 0.19 であった。第1群と第2群には有意差があり ($p <$

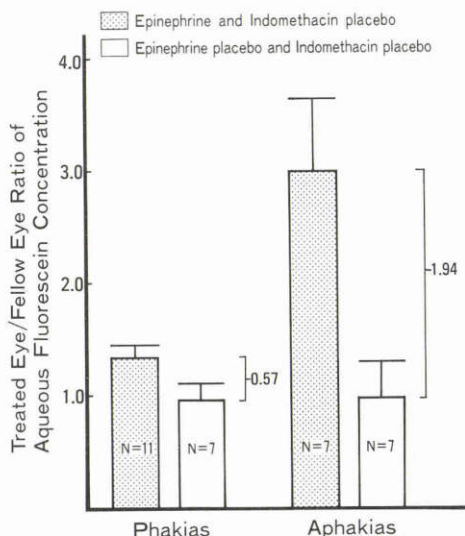


図31 有水晶体眼と無水晶体眼での同一薬物処理による血液房水関門破壊の比較, Epinephrineによる関門破壊が無水晶体眼で有意に ($p < 0.001$) 強く起る。

0.01), また第2群と3群にも有意差があった ($p < 0.01$) が、第1群と3群には有意差がなかった。第2群において3カ月の比は2カ月のそれより有意に大きく ($p < 0.01$)。また1カ月のそれよりも有意に大きく ($p < 0.01$) かった。さらに薬物投与後3カ月において有水晶体眼の第2群と3群の差は、無水晶体の第4群と第5群の差より有意に小さかった ($p < 0.001$, 図31)。

薬物投与後1カ月における後部硝子体の fluorescein濃度の薬物処理眼/朋眼比は、第1, 2, 3群で各々 0.99 ± 0.23 , 1.04 ± 0.23 , 1.07 ± 0.24 であった。3群の間に有意差はなかった。2カ月における比は各々 1.05 ± 0.28 , 1.00 ± 0.16 , 0.93 ± 0.15 であった。3群に間にやはり有意差はなかった。3カ月における比は各々 1.06 ± 0.26 , 1.35 ± 0.11 , 0.97 ± 0.14 であった。第1群と2群の間に有意差があり ($p < 0.01$)。また第2群と3群の間にも有意差があった ($p < 0.01$) が、第1群と3群の間には有意差はなかった。さらに薬物投与後3カ月において有水晶体眼の第2群と3群の差は、無水晶体の第4群と第5群の差より有意に小さかった ($p < 0.001$, 図32)。

3) 考察

本項で我々は1.25%epinephrineを1日5回点眼することにより、投与後2, 3カ月で血液房水関門に、3カ月で血液網膜関門に一定の破壊が起ることを家兎

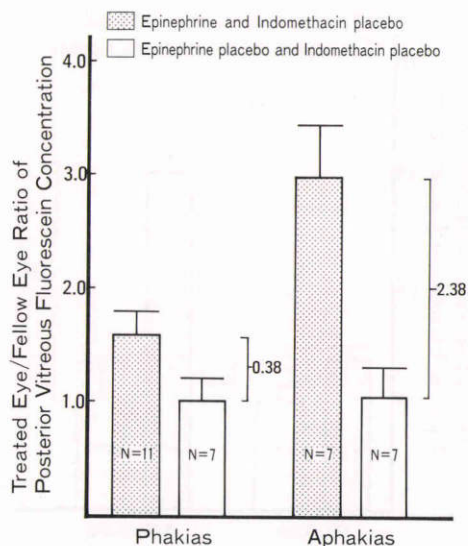


図32 有水晶体眼と無水晶体眼での同一薬物処理による血液網膜関門破壊の比較. Epinephrineによる関門破壊が無水晶体眼で有意に ($p < 0.001$) 強く起る.

で証明した. さらに, この破壊が同時に1日3回点眼した0.5% indomethacinで抑制されることを見いだした. また血液房水関門破壊が網膜関門破壊より薬物投与後早期に起ることも判った. 特に血液房水関門は薬物投与後3カ月までは, 破壊の程度が増加することもみいだされた. さらに, epinephrineとindomethacinを同時投与すると, 血液眼関門の破壊は殆ど起らなかった. また有水晶体眼と無水晶体眼の比較では, 無水晶体眼がより強く epinephrineによる眼関門の破壊が起ることが判明した. これらのことは, epinephrineの薬効の機序, epinephrineによる眼関門破壊や epinephrine黄斑症の成因を考察するための重要な所見である.

Epinephrine黄斑症については, 1968年KolkerとBeckerにより最初の報告⁶⁴⁾があり, その後数編の論文で蛍光眼底造影法による特徴的な所見が明らかにされた^{15)~69)}. この黄斑症は無水晶体眼やその他の眼疾患に併発する嚢胞状黄斑浮腫と同一の所見を示す^{64)~69)}. Thomas他は多くの症例で, これが臨床的に成立した単位であることを述べた⁶⁸⁾. 彼等は無水晶体なるがゆえに, epinephrineやその光化学反応によるtoxicな物質が後極部網膜に影響し易いと推定した⁶⁸⁾. 彼等の推理は, KramerやZigmanの実験的研究⁷⁶⁾⁸¹⁾の結果を基本にしている. これらの文献の考察からは, epinephrineが無水晶体眼に局所投与された場合, epine-

phrine自体が黄斑浮腫を起すと結論できるようにも考えられる. しかし epinephrine自体が一般に血管の透過性を亢進せしめるとの根拠はない. 一方近年の研究によると, adrenergicな諸物質が内因性の prostaglandinsを生合成することが家兎やその他の動物の虹彩で起ることが示された⁷³⁾⁷⁴⁾. さらに prostaglandins生合成抑制剤である indomethacinが, epinephrine関連の眼圧下降作用を抑制するとの報告がある⁷⁵⁾. これらの報告と, 近年の内因性 prostaglandinsの眼内手術後の嚢胞状黄斑浮腫や, 眼内関門破壊の mediatorになっているとの説^{70)~72)82)83)}が, 今回の我々の実験の端緒になっている.

本報で我々は, indomethacinが epinephrine投与で起った血液眼関門の破壊を抑制し得ることを明らかにした. このことは家兎眼で起る関門破壊は少なくとも部分的には内因性 prostaglandinか cyclo-oxygenaseの産物により惹起されていることを示唆している. 家兎とヒトでは, prostaglandinsの代謝系等や, epinephrineに対するこの系の反応に差があるかもしれないが, 今回の結果は epinephrine黄斑症の成因に何らかの示唆を有すると考えられる.

今回の結果から, 家兎においては epinephrineの点眼は有水晶体眼でも血液網膜関門の破壊を起すことが判った. この所見は, 実験動物の特異性や, fluorophotometryの感受性の高さ, さらには通常の臨床doseよりも高い1日5回点眼を行ったことなどが関連している可能性もある. Epinephrine単独投与群では, 血液房水関門破壊が時間的に網膜関門破壊より早く起った. 特に有水晶体眼では, 局所投与された epinephrineは前部ぶどう膜に多く移行し, 網膜には移行しないとする報告がある⁷⁶⁾⁸⁴⁾. この報告は, しかしながら, epinephrineとindomethacinを同時投与した場合, 血液房水関門は極めてわずかの破壊しか起らず, 網膜関門に至っては3カ月まで全く破壊をみとめなかったことの十分な説明にならない. 我々はむしろ上記所見から, epinephrineにより惹起される血液眼関門の破壊は epinephrineにより生合成される prostaglandinsが主な役割をはたすものと推理する.

“Prostaglandin説”から血液房水関門と網膜関門破壊の時間差をどのように説明するか? 虹彩など前部ぶどう膜で合成された prostaglandinsは即時に血液房水関門, あるいは虹彩関門の破壊を起す. 硝子体腔での prostaglandinsの量は正常の有水晶体では毛様体による prostaglandinsの能動輸送⁷⁷⁾が作動し, 房水

中と比べて低下している。このため、網膜関門の破壊を起す十分な量の prostaglandins が硝子体腔に蓄積するため時間を要することとなる。

以上の仮説をさらにつめるために、以下の項でヒトの結果、epinephrine 投与による眼内液中の prostaglandins の bioassay などについて検討する。

4) まとめ

房水および硝子体蛍光測定法を使用し、有色家兎に以下の5群の薬物投与等を行ない、血液房水関門、網膜関門の機能を調べた。第1群は1.25% epinephrine を5回、0.5% indomethacin を3回点眼、第2群は epinephrine と indomethacin placebo を同様な方法で投与、第3群は epinephrine placebo と indomethacin placebo を同様な方法で投与した。第4群と第5群はいずれも水晶体嚢内摘出法にて水晶体を摘出し、4ヵ月後から第4群は第2群と同様な方法で、第5群は第3群と同様な方法で薬物を投与した。蛍光光度測定は有水晶体群では薬物投与開始から1, 2, 3ヵ月後に、無水晶体群では3ヵ月後に行った。有水晶体眼では epinephrine は投与後2, 3ヵ月に血液房水関門破壊を起し、この破壊は3ヵ月まで増加した。有水晶体眼ではまた epinephrine 投与後3ヵ月に血液網膜関門の破壊をみとめた。Indomethacin は2, 3ヵ月において血液房水関門の破壊を抑制し、3ヵ月において網膜関門の破壊を抑制した。Epinephrine と indomethacin を投与した群の関門破壊は、対照と同等かわずかな上昇にとどまった。無水晶体眼では3ヵ月において、有水晶体眼に比べ有意に大きい房水関門と網膜関門の破壊をみとめた。これらの結果は、epinephrine により惹起される血液眼関門の破壊は部分的に epinephrine に関連する prostaglandins が他の cyclo-oxygenase 産物により引き起されることを強く示唆している。

2. ヒトにおける epinephrine 局所投与が血液眼関門におよぼす効果⁸⁵⁾

1) 症例と方法

対象は全て志願者で、早期の原発性広隅角緑内障か、高眼圧症の症例であった。全症例は全ての眼科的検査、緑内障検査、全身検査を行った。対象にした基準は以下の如くである：早期原発性広隅角緑内障あるいは高眼圧症がある以外両眼は正常であり、cup/disc ratio は0.4未満で、血液眼関門の破壊に関連する局所または全身的因子を有しない症例のみである。さらに、眼内手術の既往歴を有する例、交感神経刺激性あるいは遮断性の薬物、副腎皮質ホルモン、非ステロイド剤の消

炎剤を使用している例などを除外した。22症例（女性12, 男性10）が対象となった。年齢は24歳から70歳（平均 48.5 ± 7.3 歳）であった。14症例が高眼圧症で、8症例が早期広隅角緑内障であった。

研究の目的を説明し同意を得てから、対象例を二重盲検的に2つの群に分類した。第1群は1.25%の epinephrine（エビスタ千寿製薬社製、大阪）を両眼に1日2回点眼し、0.5% indomethacin（千寿製薬社製、大阪）を1眼のみに1日3回点眼した。第2群は epinephrine と indomethacin placebo を第1群と同様な方法で投与した。

血液房水関門および網膜関門機能は、各々細隙燈式 fluorophotometer（Gamma-Inami, 井浪製、東京）および Fluorotron Master（Coherent Radiation 社製、Palo Alto, USA）を使用して検討した。この検査は点眼開始前、開始後1, 2, 3, 7ヵ月後に行った。

0.5% tropicamide で散瞳し、網脈絡膜の背景蛍光、水晶体、角膜の偽蛍光などを測定した。房水蛍光、硝子体蛍光は fluorescein-Na 静注前(10mg/kg)、静注直後、1時間後に測定した。

血液房水関門、あるいは網膜関門機能の指標として、房水中 fluorescein 濃度あるいは平均後部硝子体 fluorescein 濃度の、朋眼と indomethacin かその placebo 処理眼比を使用した。

統計学的処理として、Bartlett 法と Duncan 法を使用した。

眼圧測定、眼圧日内変動測定、散瞳径測定を薬物投与前と投与後7ヵ月に行った。眼圧日内変動は Goldmann 圧平型眼圧計を使用して9, 12, 17, 21時の4回計測した。4回計測の平均値を求めた。

2) 結果

図33に血液房水関門機能の所見を示す。薬物投与前の対象症例の両眼の房水 fluorescein 濃度比は第1群（1眼 epinephrine, 他眼 epinephrine と indomethacin）は 0.99 ± 0.05 , 第2群（1眼 epinephrine, 他眼 epinephrine と indomethacin placebo）は 0.99 ± 0.03 で、両群に有意差はない。第1群と第2群における薬物投与後1, 2, 3, 7ヵ月における朋眼/indomethacin かその placebo 処理眼比は、各々 0.99 ± 0.03 と 1.00 ± 0.02 , 0.93 ± 0.05 と 0.99 ± 0.02 ($p < 0.01$), 0.89 ± 0.06 と 0.99 ± 0.02 ($p < 0.01$), 0.90 ± 0.06 と 0.99 ± 0.03 ($p < 0.01$) であった。第1群における比は投与後2ヵ月では1ヵ月より有意に増加したが、その後は増減がみられなかった。

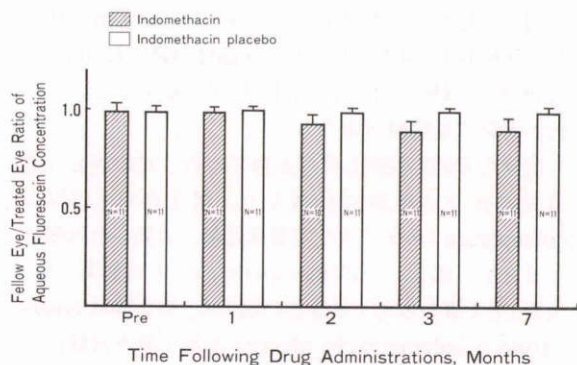


図33 ヒトにおける各薬物投与別の血液房水関門機能の経時的推移(平均±標準偏差)。(Miyake, et al. Arch Ophthalmol 105:1360—1363, 1987より転載。)

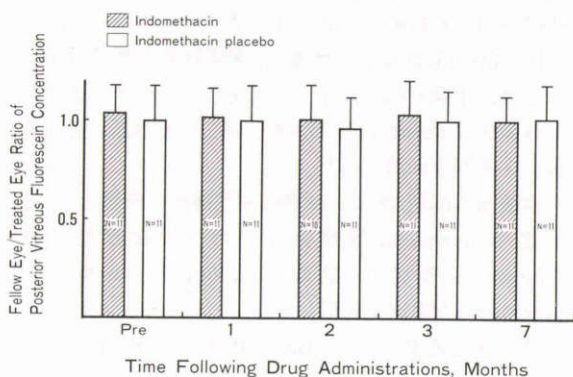


図34 ヒトにおける各薬物投与別の血液房水関門機能の経時的推移(平均±標準偏差)。(Miyake, et al. Arch Ophthalmol 105:1360—1363, 1987より転載。)

図34に血液網膜関門の結果を示す。薬物投与前の両眼の平均後部硝子体 fluorescein 濃度比は第1群で 1.04 ± 0.14 , 第2群で 1.00 ± 0.18 であり, 両群に有意差はない。第1群と第2群における薬物投与後1, 2, 3, 7カ月における朋眼と indomethacin かその placebo 処理眼比は, 各々 1.02 ± 0.15 と 1.00 ± 0.18 , 1.01 ± 0.17 と 0.96 ± 0.16 , 1.03 ± 0.18 と 1.00 ± 0.15 , 1.00 ± 0.13 と 1.01 ± 0.18 であった。いずれの時期にも両群に有意差をみとめなかった。

職業上の理由から, 第1群において1人の患者が2カ月の検査を受けなかった。薬物投与前の平均瞳孔径は $2.36 \pm 0.52\text{mm}$, 7カ月後 epinephrine のみを投与された例では 3.12 ± 0.46 , epinephrine と indomethacin を投与された例では, $3.16 \pm 0.54\text{mm}$, epine-

phrine と indomethacin placebo を投与された例では $3.13 \pm 0.16\text{mm}$ であった。瞳孔径は薬物投与後, 有意に増加した ($p < 0.01$) が, 投与された薬物別にみたとき, 有意差をみいだせなかった。

薬物投与前と7カ月後の眼圧下降量については, epinephrine 単独投与眼で $3.56 \pm 1.46\text{mmHg}$, epinephrine と indomethacin 投与眼で $3.02 \pm 1.48\text{mmHg}$, epinephrine placebo 投与眼で $3.32 \pm 1.82\text{mmHg}$ であった。Indomethacin 投与眼で, 他より眼圧下降量が少ない傾向がみられたが, 統計学的有意ではなかった ($p = 0.25$)。

薬物投与期間中, 眼内炎症を示唆するような症状の発現は全くみられなかった。

3) 考察

今日まで epinephrine の血液眼関門におよぼす影響についてはあまり知られていない。ヒトに関しては皆無に等しい。Neufeld 他は norepinephrine の degeneration release が一過性の, 特に前眼部の炎症性変化に関連があり, これは prostaglandins により伝達されるものであることを示唆している⁸⁶⁾。Araie と Takase は epinephrine の局所投与が血液房水関門におよぼす急性効果を検討し, この透過性を減少せしめると述べた⁸⁷⁾。

我々は本項で早期の広隅角緑内障および高眼圧を有する有水晶体眼で, epinephrine を長期間投与すると血液房水関門に破壊が起ることをみいだした。しかし, 血液網膜関門には何ら変化が起らなかった。血液房水関門の破壊は投与後2カ月に発現し, 7カ月まで破壊の程度を増加することなく続いた。この破壊は, fluorophotometry ではじめて検出できる程度の極めて軽微なものであり, 臨床的な炎症に関連するような症候は何らみいだせない。我々はさらに α prostaglandin 剤として知られる indomethacin⁸⁸⁾⁸⁹⁾の局所投与が, 上記関門破壊を抑制することをみいだした。前項で述べた家兎の実験結果と類似の結果をヒトでも得られたことから, epinephrine 眼圧下降機序, epinephrine による眼関門破壊, あるいは epinephrine 黄斑症の成因論の面から考察する必要がある。

Epinephrine の如き交感神経刺激剤は, 細胞膜レベルで adenylyl cyclase を活性化せしめ, cAMP の合成を惹起する⁹⁰⁾。さらに最近の研究によると, 交感神経刺激剤は各種組織で内因性の prostaglandins を生合成する⁷³⁾⁷⁴⁾。Prostaglandins は一方では細胞膜での cAMP の合成に関連する⁹¹⁾。従って, 交感神経刺激剤, cAMP,

prostaglandins 3 者の関連は、大変複雑なものである。ここで、indomethacin の prostaglandins や cAMP への影響を考慮に入れると、事情はさらに複雑化する。以前に indomethacin は luteal cell で cAMP から prostaglandin E や F への細胞内での pathway を遮断するとの報告があった⁹¹⁾。上記諸物質の相互関連は主に実験動物で研究されており、ヒトの特に眼組織における事情はほとんど不明である。従って、Camras 他⁷⁵⁾のヒトで全身投与された indomethacin が epinephrine の眼圧下降作用を減少させたとの報告⁷⁵⁾、我々の前項の家兎実験の結果⁷⁸⁾、および本項の知見は、局所投与された epinephrine の眼内生理作用の一部が、cyclo-oxygenase の産物により行われていることを強く示唆するものとして意義がある。

Prostaglandins は一般には血管透過性を亢進せしむるものとされ⁹²⁾、一方 cAMP は逆にこれを抑制するとされる⁹³⁾。Epinephrine はこの両者の生合成⁷³⁾⁷⁴⁾⁹¹⁾に関与するのであるから、この feedback 機構は epinephrine による眼関門破壊にも作動している可能性がある。実際には今回の実験で epinephrine の長期投与により血液房水関門破壊は慢性に進行することなく、plateau 現象がみられ、このことにも上記の feedback 機構が関与している可能性があると考えられる。

本項で述べた結果の臨床的意義は、ヒトにおける epinephrine の眼圧下降機序と epinephrine 黄斑症の成因に示唆を与えたことである。前者については、Camras 他がすでに考察を加えている⁷⁵⁾ので、本論文の主旨である後者についてここでは考察を加えたい。Epinephrine 黄斑症は無水晶体性嚢胞状黄斑浮腫と類似し、両者は時に混同される⁶⁸⁾⁶⁹⁾。Epinephrine 黄斑症に関する臨床的研究により、これが確立した entity であることが判っており、特に水晶体嚢内摘出後に起るとされる^{64)~69)}。前項の家兎の実験では、有水晶体眼でも epinephrine の局所投与により血液網膜関門の破壊をみとめた⁷⁸⁾が、本項の有水晶体眼のヒトでは、7 カ月の経過をみても血液網膜関門に異常はみられなかった。

近年の研究は、無水晶体眼の嚢胞状黄斑浮腫は血液眼関門の破壊を伴うことを明らかにしている⁷²⁾⁹⁴⁾⁹⁵⁾。Miyake は特に慢性化した無水晶体眼嚢胞状黄斑浮腫は、血液硝子体関門の失調を伴っていると述べた⁹⁶⁾。硝子体腔からの物質の能動輸送が特に障害され易い機能と推理している。無水晶体眼嚢胞状黄斑浮腫は外科的侵襲により生合成される prostaglandins により引き

起されることが報告されている^{70)~72)82)83)}。著者はこの合併症は、この prostaglandins とその硝子体腔からの能動輸送⁷⁷⁾の低下を主因とした疾患と考えている⁷²⁾⁹⁶⁾。

上記説を epinephrine 黄斑症にあてはめると以下の如くなる(図28)。Epinephrine 点眼により特に前部ぶどう膜において内因性の prostaglandins の生合成が行われる。Kass と Holmberg によれば、アラキドン酸カスケードは前部ぶどう膜が最も活発である⁹⁷⁾。ある種の無水晶体眼の如く、prostaglandins の能動輸送が障害されている眼球では、prostaglandins は眼内液中に貯留することとなり、血液眼関門の破壊、さらには黄斑浮腫が起る。本項の研究で我々は、epinephrine 点眼により血液房水関門の破壊をみとめたが、網膜関門の破壊をみとめなかった。理由の1つは prostaglandins の能動輸送が intact である有水晶体眼を対象としたためとも推論できる。この推論を明らかにするためには、epinephrine 点眼により、有水晶体および無水晶体眼で起る prostaglandins の生合成および眼内液中の貯留の状況について検討する必要がある。次項でこの点を述べる。

4) 小括

原発性広隅角緑内障か高眼圧症を有する22症例を対象として、以下の2群に分けた。第1群の症例には1.25%epinephrine 点眼 1日2回を両眼に、0.5%indomethacin 点眼を1日3回を片眼にいずれも7カ月間行った。第2群は同じく epinephrine 点眼を両眼に、0.5%indomethacin placebo 点眼を同様に行った。薬物投与前と投与後1, 2, 3, 7カ月に血液房水関門、網膜関門機能を検討するため、房水および硝子体蛍光光度測定を行った。

Epinephrine による血液房水関門の破壊は、投与後2カ月にみとめ、その後7カ月まで程度を増すことなく続いた。同時に投与した indomethacin は、この破壊を抑制した。他方血液網膜関門の破壊を検査期間中にみとめられなかった。この結果は epinephrine の眼圧下降機序や epinephrine 黄斑症の成因に示唆を与えるものである。

3. 家兎への epinephrine 点眼による prostaglandin E の生合成⁹⁸⁾

現在まで epinephrine 点眼により、眼内組織中での prostaglandins 生合成に関する *in vivo* の知見はない。これは epinephrine の眼圧下降機序、epinephrine 黄斑症の成因を考察する上で、極めて興味のある重要

な問題である。本項の研究では、epinephrine 点眼を行った家兎眼の眼内液中に検出し得る prostaglandins が生合成されるか否か、房水、硝子体の分布、および無水晶体眼と有水晶体眼で差があるか否か等について検討する。

1) 機材と方法

有色 Dutch strain の雄家兎 (1.5~2.5kg) を対象とした。家兎は細隙燈顕微鏡と検眼鏡により検査し、prostaglandins の生合成と関連するような眼内炎症所見を有する対象は除外した。選んだ家兎は二重盲検的に次の6群に分類した。第1群は1.25%epinephrine 点眼(エピスタ千寿製薬社製, 大阪)を1日5回と0.5% indomethacin 点眼(千寿製薬社製, 大阪)を1日3回、5カ月間投与した。第2群はepinephrine と indomethacin placebo, 第3群はepinephrine placebo と indomethacin, 第4群はepinephrine placebo と indomethacin placebo を、各々第1群と同様の方法で投与した。第5群と第6群には水晶体嚢内摘出を行った。第5群はepinephrine と indomethacin placebo を、第6群にはepinephrine placebo と indomethacin placebo を水晶体摘出から1カ月後に、各々第1群と同様の方法で投与した。

薬物処理の最後に実験動物はpentobarbitone sodium を静注(0.6ml/kg)し、麻酔を行った。眼球を速やかに摘出し、直後に液体窒素で凍結した。凍結した眼球は -11°C に保ち、prostaglandin E assay まで保存した。房水と硝子体を凍結した眼球から分離した。これらの組織中の prostaglandin E は、prostaglandin E (^{125}I) RIA kit (E.I. du Pont de Nemours 社, Massachusetts, USA) を使用して、radioimmunoassay 法により測定した。

Prostaglandins の抽出はCollins と Hennan の方法⁹⁹⁾に従って行った。硝子体はblenderを使用してhomogenizeし、これを遠心分離した($10,000\times g$, 2°C , 20分)。1M のリン酸緩衝液 (pH 7.4) を房水、あるいは硝子体の上清に加えた。Prostaglandins をdiethyl ether で抽出した。遠心分離($2,000\times g$, 10分)後、エーテル層を集め、室温で窒素流のもとで乾燥した。残滓をassay 液中で溶解し、prostaglandin E の radioimmunoassay に供した。

2) 結果

Prostaglandin E の定量の結果を図35と図36に示す。図35は房水、図36は硝子体の結果である。統計学的処理はBartlett法とMann-Whitney法により行っ

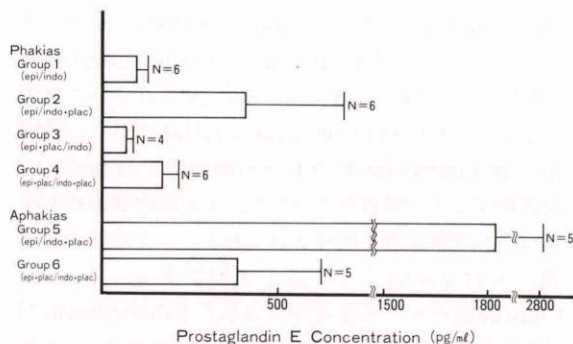


図35 各種薬物投与別の有水晶体眼および無水晶体眼の家兎における房水中の prostaglandin E 定量 (平均±標準偏差)。epi: epinephrine, indo: indomethacin, pla: placebo. (Miyake, et al. Invest Ophthalmol Vis Sci 29: 332—334, 1988より転載。)

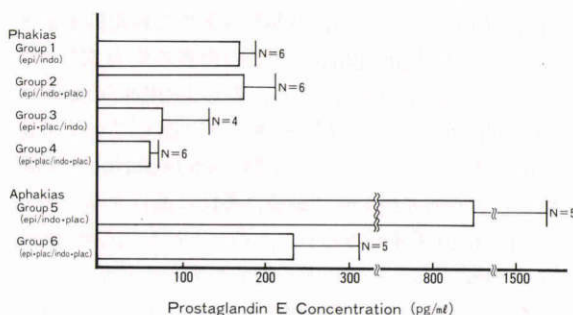


図36 各種薬物投与別の有水晶体眼および無水晶体眼における硝子体中の prostaglandin E 定量 (平均±標準偏差)。略語は図35と同じ。 (Miyake, et al. Invest Ophthalmol Vis Sci 29: 332—334, 1988より転載。)

た。

房水の prostaglandin E は第1群で 98.17 ± 25.89 (pg/ml, 平均±SD, 以下同じ), 第2群で 407.33 ± 283.08 , 第3群で 64.75 ± 18.59 , 第4群で 165.83 ± 49.15 , 第5群で $1,851.60 \pm 962.70$, 第6群で 388.40 ± 237.29 であった。有水晶体眼では、第2群が最高値を示し ($p < 0.05$), 以下、第4群 ($p < 0.05$), 第1群 ($p < 0.05$), 第3群 ($p < 0.1$) の順に高値を示した。無水晶体眼では、第5群は第6群より高値を示した ($p < 0.05$)。無水晶体眼と有水晶体眼を投与した薬物を matching して比較すると、第5群は第2群より高値 ($p < 0.05$) であり、第6群は第4群より高値 ($p < 0.05$) であった。また第5群と第6群、および第2群と第4群の平均値の差は各々1,478と206であっ

た。

上記の結果より、有・無水晶体眼いずれにおいても、epinephrine の点眼は prostaglandin E の生合成を起す。Indomethacin の点眼はこれを抑制する。第1, 3, 4 群の比較から、眼球摘出という外科的侵襲も prostaglandin E の合成を起す一因となることが示唆される。さらに無水晶体眼は有水晶体眼より高い prostaglandin E の房水貯留をみとめた。また5カ月間の epinephrine 投与により、無水晶体眼は有水晶体眼と比べ有意に高値の prostaglandin E の貯留をみとめた。

硝子体中の prostaglandin E は第1群で 168.50 ± 20.15 (pg/ml, 平均 $\pm$ SD, 以下同じ), 第2群 177.00 ± 35.00 , 第3群 77.50 ± 55.12 , 第4群 59.17 ± 10.83 , 第5群 850.60 ± 687.94 , 第6群 236.40 ± 77.59 であった。有水晶体眼では第1群と2群は第3群と4群より高値 ($p < 0.01$, $p < 0.05$) であり, 第1群と2群および第3群と4群には差はなかった。無水晶体眼では第5群は第6群より高値 ($p < 0.05$) であった。無水晶体眼と有水晶体眼を投与した薬物を matching して比較すると, 第5群は第2群より高値であり ($p < 0.01$), 第6群は第4群より高値であった ($p < 0.01$)。さらに, 第5群と第6群, および第2群と4群の平均値の差は各々 878 (pg/ml) と 121 (pg/ml) であった。

以上の結果から、有水晶体眼、無水晶体眼いずれにおいても、epinephrine の点眼により prostaglandins の生合成が惹起された。Indomethacin の同時投与は有水晶体眼における硝子体中の prostaglandin E の量に影響を与えなかった。無水晶体眼は有水晶体眼と比べ、硝子体中の prostaglandin E は有意に高値を示した。さらに無水晶体眼は有水晶体眼と比べ、5カ月間の epinephrine 投与で高値の prostaglandin E の貯留を硝子体中にみとめた。

3) 考察

本項では、家兎眼で epinephrine を1日5回点眼すると、prostaglandin E の生合成を惹起せしむることを *in vivo* で明らかにした。房水で検討する場合、この生合成は同時に投与された indomethacin で抑制された。有水晶体眼と無水晶体眼の比較では、薬物投与期間5カ月で、後者の眼内液（房水と硝子体）中により高値の prostaglandin E の貯留が起ることをみとめた。

著者の知る限り、本項の結果は epinephrine の点眼で眼組織において prostaglandin E の生合成が起る

in vivo における最初の知見の如く思われる。従って本知見は、epinephrine による眼圧下降機序、あるいは epinephrine による maculopathy の成因を考察する上で意義がある。

初期の研究では、prostaglandin は眼圧を急激に上昇せしめると考えられた¹⁰⁰⁾¹⁰¹⁾。しかし、その後の研究で、prostaglandin は適切な量でむしろ眼圧を持続的に下降する効果があることが知られるようになった^{102)~107)}。さらに近年、上記の事実と関連して、epinephrine の眼圧下降作用の一部も、epinephrine により惹起された内因性 prostaglandins の作用によると推定されるようになった⁷⁵⁾¹⁰⁸⁾。本項では、epinephrine の prostaglandins の生合成が実際に起っていることを *in vivo* で示した。さらに定量的に有水晶体眼の房水中では、平均 407 pg/ml の prostaglandin E が合成されていることを示した。Prostaglandins の生理学的活性はそれらの量も大いに関連し、量により生理作用が逆になる場合もあるために、具体的に定量化したことは極めて意義がある。

前項で我々は epinephrine の点眼が血液眼関門の破壊を引き起こすことを家兎⁷⁸⁾とヒト⁸⁵⁾で示し、さらに同時に投与した indomethacin 点眼によりこれが抑制されることを示した。これらから、epinephrine に関連して起る血液眼関門の破壊は、部分的に cyclooxygenase の産物により伝達されることが推理された。本項では、その推理を生化学的に確認した。さらに本項で我々は、有水晶体眼と無水晶体眼の間で生合成される prostaglandin E 量を比較し、後者でより高値の prostaglandin E が、房水および硝子体中に貯留することをみとめた。この所見は、epinephrine 黄斑症に関する前述の仮説に大きな裏付けを与えている。Epinephrine 黄斑症は主に水晶体嚢内摘出術後に起る^{64)~69)}。この理由として以前には、epinephrine が直接浮腫を作るとする立場から、epinephrine の網膜による取り込みが無水晶体眼（特に嚢内摘出後）が、有水晶体眼より多いこと⁷⁶⁾にもとめられた。今回の一連の研究と、特に本項の生化学的検討からは、むしろ epinephrine で生合成される prostaglandin E の眼内液中の貯留が無水晶体眼で多いことこそ直接の原因として強く示唆されてくる。

Prostaglandin の代謝系であるアラキドン酸カスケードの活性は、前部ぶどう膜が圧倒的に高いことが Kass と Holmberg により示されている⁹⁷⁾。従って、浮腫や眼関門破壊の原因が prostaglandin であるとする

と、epinephrine の網膜への移行量、取り込み量は本質的に重要でなくなる。このような背景を念頭に、無水晶体眼が有水晶体眼と比べ、眼内液に prostaglandins が貯留し易いことを何により説明するか？ 我々は Bito により示された prostaglandins の輸送系⁷⁷⁾が水晶体摘出眼では長期にわたり障害され、この結果 prostaglandins が眼内液に貯留し易くなっていると推理した。この点について次章の実験で検討する。

4) まとめ

Radioimmunoassay 法を使用し、我々は有水晶体眼および無水晶体眼家兎の房水および硝子体中の prostaglandin E を定量した。対象全てに対し 5 カ月間 epinephrine のみか、epinephrine と indomethacin を投与した。無水晶体眼に対しては水晶体嚢内摘出後 1 カ月経過して薬物投与を開始した。

我々は indomethacin 点眼が一定量の prostaglandin E の合成を起すことを、*in vivo* の状態で対象の房水および硝子体中に prostaglandin E が増加することから明らかにした。さらに同時に投与した indomethacin 点眼が房水中の prostaglandin E の増加を抑制することをみとめた。無水晶体眼と有水晶体眼の比較では、前者より高値の prostaglandin E の貯留が房水、硝子体で起ることをみいだした。これらは epinephrine 黄斑症の成因や、epinephrine による眼圧下降機序を考察する基礎として意義がある。

V 無水晶体および偽水晶体眼組織による prostaglandin E₂ の能動輸送に関する研究

1. 緒言

実験動物やヒトの眼組織における prostaglandins の生合成については、多くの研究が行われすでに確立した知見である^{97)(109)~(120)}。この生合成は水晶体摘出などの眼内手術でも起り⁷²⁾⁽¹²¹⁾⁽¹²²⁾、術中の縮瞳、術後の炎症、嚢胞状黄斑浮腫を起す重要な mediator と考えられている^{70)~72)(82)(83)(121)~(126)}。上記炎症等の症状は通常一過性であるが、術中に硝子体脱出があって、vitreous tug syndrome を発現した例や、不適切な固定法で挿入された眼内レンズを有する眼では炎症が遷延化する^{127)~(133)}。著者等はこの原因として、prostaglandins の眼内液中の貯留、換言すれば prostaglandins の眼内液から血液への能動輸送機能の低下も重要な因子であると推定している。しかしながら今日まで、それに関する直接的な証明はない。

近年、無水晶体眼や偽水晶体眼の眼関門に関し、fluorophotometry を使用した多くの知見があるが、fluorescein-Na の能動輸送に関しては kinetic な手法を使用し、ECCE は ICCE より、この機能の侵襲が軽いこと⁵¹⁾、慢性の嚢胞状黄斑浮腫を有する vitreous tug syndrome などではこの機能が慢性的に低下していることが示唆されている⁹⁶⁾⁽¹²⁸⁾。また実験動物により水晶体摘出を行い、硝子体中へ Na-fluorescein を注入し、その硝子体腔からの消退速度をみると、対象と比較し水晶体摘出眼では速度が遅延することをみとめた報告もみられる²⁷⁾。これらは非生理的物質でかつ能動輸送されていることが知られている Na-fluorescein を tracer にした検討であり、prostaglandins の挙動を直接検討したわけではない。Prostaglandins の眼内からの能動輸送については、Bito により明らかにされ、主に前部ぶどう膜により能動輸送されていることが知られた³⁾⁽⁴⁾⁽¹⁰⁾⁽⁷⁷⁾。Bito はさらに、実験的炎症眼において、prostaglandins の能動輸送が障害されることをみいだした¹³⁴⁾⁽¹³⁵⁾。彼の作った実験炎症は、血漿蛋白や細菌トキシンの硝子体内注入による重症のぶどう膜炎であった。今回の虹彩炎は手術刺激によるもので、Bito のものよりかなり単純で軽症であるといえる。無水晶体眼や、無水晶体眼に人工水晶体を挿入した偽水晶体眼でも、もちろん炎症性の眼内関門破壊が起り、これが遷延化することも知られている^{128)~(133)(136)(137)}。水晶体摘出や人工水晶体の挿入による眼内の局所解剖の変化や、人工水晶体という異物の存在による生理学的変化は、単なる炎症病態以外の手術生理学的な特殊な状況を作る。このような状況における prostaglandins の眼内組織による能動輸送の問題は、人工水晶体の固定法や術式の生理学的意義に関連する興味のある重要な問題であり、実験的ぶどう膜炎の場合¹³⁴⁾とは別の意義がある。本項ではこの点を生化学的に検討し、得られた結果について前章で討論した epinephrine 黄斑症や、無水晶体眼の嚢胞状黄斑浮腫の成因論の上から考察を加えたい。

2. 方法

実験動物として白色家兎およびヒヒ (papio anubis) を使用した。家兎では意図的に硝子体脱出を起し、水晶体嚢内摘出を行い 6 カ月後に、ヒヒではやはり硝子体脱出を起し水晶体嚢内摘出を行い、虹彩支持型の人工水晶体を挿入し 9 カ月後に、各々眼球摘出し、正常眼を対象として以下の実験 (図 37) に供した。眼球摘出後、虹彩毛様体 (家兎、ヒヒ) 網膜色素上皮一脈絡

Experimental Procedure of ³H-PG E₂ Uptake by Iris-Ciliary Body

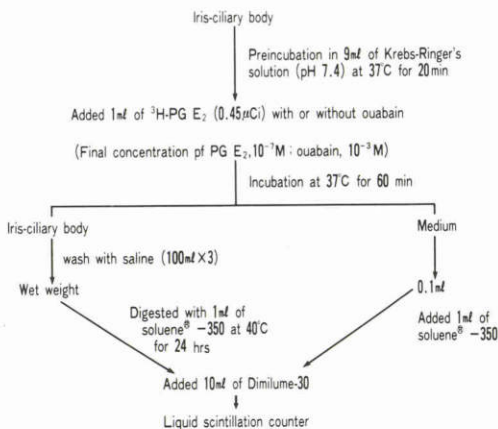


図37 実験動物の眼組織による prostaglandin E₂の取り込み実験の概要。

膜(ヒヒ)を分離し、それぞれの組織を medium 10ml 中で20分間 preincubation し、³H-PGE₂を添加(1×10⁻⁷M, 0.45μCi)後、37℃で1mM ouabain 存在下または非存在下で60分間 incubation する。なお, incubation の間は混合ガスを少量吹き込むことにより、pH を調整する。³H-PGE₂の詳細は(5, 6, 8, 11, 12, 14, 15, (n)-³H)prostaglandin E₂, 169.5Ci/mmol(New England Nuclear Corporation. Boston, USA)である。Medium としては Krebs-Ringer's 溶液(NaCl 118.5 mM, KCl 4.69mM, CaCl₂・H₂O 2.51mM, MgCl₂・6H₂O 0.54mM, NaH₂ PO₄・H₂O 1.01mM, glucose 11.10mM および NaHCO₃ 25.01mM)に混合ガス(O₂ 95%, CO₂ 5%)を吹き込んで、pH 7.4に調整したものを使用する。Incubation 後、組織を medium より取り出し、生理的食塩水で3回洗浄する。濾紙で水分を除去し、ガラスバイアルに入れ、組織重量を測定する。サンプルオキシダイザーにて燃焼後組織内放射活性を測定した。

Dimilume®.30 (Packard 社)を加え、液体シンチレーションカウンターで放射能を測定する。なお medium はその0.1ml(約10,000count/mm)を採取し、Dimilume®.30を加えて同様に放射能を測定する。結果は組織内放射能濃度と incubation medium 中放射能濃度の比(T/M 値)で示した。

3. 結果

1) 家兎の無水晶体眼と有水晶体眼の比較

有水晶体眼と無水晶体眼で虹彩一毛様体による³H-

表9 家兎の虹彩毛様体による³H-PGE₂の取り込みの有水晶体眼と無水晶体眼の比較

	Ouabain	T/M
無水晶体眼 (n=5)	+	0.79±0.16
	-	1.88±0.43
有水晶体眼 (n=5)	+	2.07±0.52*
	-	9.05±1.83**

(60分 incubation). 平均±標準偏差.

*有意差なし, **p<0.01 (Duncan test)

表10 ヒヒの虹彩毛様体による³H-PGE₂の取り込みの偽水晶体眼と有水晶体眼の比較

	Ouabain	T/M
偽水晶体眼 (n=3)	+	1.112±0.093
	-	1.548±0.207
有水晶体眼 (n=3)	+	1.103±0.346*
	-	2.974±0.328**

(60分 incubation). 平均±標準偏差.

*有意差なし, **p<0.01 (Duncan test)

表11 ヒヒの色素上皮一脈絡膜による³H-PGE₂の取り込みの偽水晶体眼と有水晶体眼の比較

	Ouabain	T/M
無水晶体眼 (n=3)	+	0.649±0.183
	-	0.463±0.119
有水晶体眼 (n=3)	+	0.369±0.034*
	-	0.623±0.119**

(60分 incubation). 平均±標準偏差.

*有意差なし, **p<0.05 (Duncan test)

PGE₂の取り込み量を T/M 値で示し、表9にまとめた。有水晶体眼に比べ、無水晶体眼で ouabain insensitive な³H-PGE₂の取り込みが低い傾向がみられたが、統計学的有意ではなかった。しかし ouabain sensitive な³H-PGE₂の取り込みは有水晶体眼に比べ、無水晶体眼で有意に低下していた。以上の結果より、水晶体摘出により prostaglandin E₂の虹彩一毛様体における能動輸送機能が低下することが示唆された。統計学的処理は Duncan 法により行った。

2) ヒヒの偽水晶体眼と有水晶体眼の比較

有水晶体眼と偽水晶体眼で虹彩、毛様体および網膜色素上皮一脈絡膜による³H-PGE₂の取り込み量を T/M 値で示した(表10, 11)。虹彩毛様体では、有水晶体眼と偽水晶体で ouabain insensitive な³H-PGE₂の取り込みは有意差がなかったのに対して、ouabain sensi-

tiveな $^3\text{H-PGE}_2$ の取り込みは偽水晶体眼において統計学的有意に低下していた(表10). また網膜色素上皮—脈絡膜でも ouabain insensitiveな $^3\text{H-PGE}_2$ の取り込みには、両者で差がなかったのに対し、ouabain sensitiveな $^3\text{H-PGE}_2$ の取り込みは偽水晶体眼において低下する傾向がみられた(表11). 以上からヒヒの偽水晶体眼でも虹彩—毛様体による prostaglandin E_2 の能動輸送が低下し、網膜色素上皮でもこの機能が軽度で低下することが示唆された. 統計学的処理は、Duncan 法により行った.

4. 考察

本項では、術後6カ月あるいは9カ月と長期を経過した、硝子体脱出を起した無水晶体眼、あるいは偽水晶体眼の虹彩毛様体あるいは網膜色素上皮—脈絡膜による ouabain sensitiveな prostaglandin E_2 の取り込みの低下をみとめた. これらのことは、水晶体嚢内摘出時に硝子体脱出を起した無水晶体眼や、虹彩支持型の如き不適切な固定の人工水晶体を挿入した偽水晶体眼においては術後長期にわたり、prostaglandinsの眼内液からの能動輸送機能が低下することを示唆している. これらは、無水晶体、偽水晶体眼における慢性術後炎症や嚢胞状黄斑浮腫の成因に強く関連する生理学的所見であり、考察する意義のある結果である.

Bitoは一連の研究³⁾⁴⁾¹⁰⁾⁷⁷⁾¹³³⁾¹³⁴⁾で、prostaglandinsが主として前部ぶどう膜により能動輸送されていること、そしてある種の実験的炎症で、この機能が障害されることを示唆した¹³⁴⁾. 近年、眼内手術後の炎症や嚢胞状黄斑浮腫の chemical mediatorとして prostaglandinsが注目されている⁷³⁾¹²⁰⁾¹²¹⁾. これら術後炎症の遷延化因子として、prostaglandinsや他の非生理的物質の能動輸送機能の低下はかなり以前から推定されており⁷⁰⁾¹³⁸⁾¹³⁹⁾. fluoresceinを tracerとした検討で、嚢外摘出後の無水晶体眼が嚢内摘出後のそれより、この機能がおかされにくいこと⁵¹⁾⁵²⁾. 水晶体摘出、緑内障、硝子体切除術、網膜光凝固などの眼内手術の中で、水晶体嚢内摘出が最もこの障害が大きく、かつ慢性化すること⁵¹⁾¹⁴⁰⁾. 慢性化する嚢胞状黄斑浮腫を有する無水晶体眼では、特にこの機能が障害されていること⁹⁶⁾などが間接的な方法であるが、示唆されてきた. さらに Miyakeは vitreous tug syndromeでは房水中に PGE および $\text{F}_2\alpha$ が高値であること、そしてこれらが vitrectomy で低値化することのみとめた¹²⁸⁾. 今日まで、しかしながら、prostaglandin E_2 の能動輸送を無水晶体眼や偽水晶体眼組織により直接的に証明した研究

はなかった. この意味で、今回の結果で家兎および高等哺乳類であるヒヒでこのことを明らかにしたことの意味は大きい.

今回の結果は、家兎では硝子体脱出を起した水晶体嚢内摘出眼、ヒヒでは同じく硝子体脱出を起し、さらに虹彩支持型 (iris-clip) 眼内レンズを挿入した例で検討したが、このような例はヒヒの症例では、嚢胞状黄斑浮腫が多発し、かつ慢性化する例が多いことが臨床的によく知られている¹⁴¹⁾¹⁴²⁾. このような点からも今回の知見は、この合併症の成因に基礎的な重要な示唆を与えていると言える. アラキドン酸カスケードの眼内における比活性は、前部ぶどう膜が最も強いとする data があり⁹⁷⁾. このことから前部ぶどう膜への刺激が術中はもとより、術後にも残らない手術手技等が prostaglandins の生合成のみならず、能動輸送の面からも重要であることを今回の結果は示している. ヒヒの結果では、網膜色素上皮にも若干の能動輸送機能がみとめられたが、前部ぶどう膜のそれと比較すると少なかったことは、上記の事実を裏付けている. 以上のことから、今後の白内障手術術式や眼内レンズ挿入術式、あるいはその固定法を考察する際の重要な示唆にもなると考えられる.

前章で著者は、epinephrine 黄斑症の成因として、従来示唆されていた epinephrine そのものが成因論的に重要であるというより、epinephrine で惹起される内因性の prostaglandins が重要であることを2~3の生理学的、生化学的手技で証明した. この際、epinephrine 点眼による眼内液中の prostaglandin E_2 の動態を radioimmunoassay で検討した. そして有水晶体眼より、無水晶体眼で効率よく眼内液に prostaglandin E_2 が生合成され貯留することをみいだした. 一方、本項で無水晶体眼と比較し、無水晶体眼で prostaglandin E_2 の眼組織による輸送が低下することをみとめた. これらの事実から、epinephrine の如き catecholamine が公平に眼内組織を刺激し、prostaglandins を生合成せしめた場合、眼内液の prostaglandins の貯留量は主に、眼組織による能動輸送機能に依存し、従って無水晶体眼の眼内液中により高濃度の prostaglandins が検出されたと推理できるのである. Epinephrine 自体が黄斑症を作るとする考え方の理由づけとして、無水晶体眼では epinephrine の網膜による取り込みが多いこと⁷⁶⁾が挙げられる. これが事実でも、前述の如くアラキドン酸カスケードの活性は網膜では極めて低く、epinephrine の網膜による取り込み量は、あ

まり問題にならない。以上から、本章の知見は epinephrine 黄斑症の成因を考える際にも重要であり、示唆に富むものと考えられる。

5. 小括

本章では、生化学的に術後長期間を経過した無水晶体および偽水晶体の眼組織による prostaglandin E₂ の取り込みを有水晶体眼組織と比較して、*in vivo* で検討した。家兎の硝子体脱出を起した無水晶体眼、ヒヒの iris-clip 型の IOL を挿入した偽水晶体眼、いずれでも眼組織中で特に虹彩毛様体において ouabain sensitive な prostaglandin E₂ の取り込みが、有水晶体眼と比較して有意に低下していた。以上の結果から、これらの眼では術後長期間にわたり、prostaglandins の能動輸送機能が低下していることが示唆された。

VI 結 語

本報告では、硝子体腔の恒常性維持の機構の一つとして、血液硝子体関門のうちの、硝子体腔から血液への物質の能動輸送に関し2～3の検討を行った。最初に眼科領域で古くから使用され、かつ近年の眼内蛍光光度測定法の tracer である Na-fluorescein とその代謝物、fluorescein monoglucuronide の能動輸送と眼内外の動態を基礎、臨床の両面から検討した。次に能動輸送機能の失調が疾患の成立に関与していると推定できる一つの例として、epinephrine 黄斑症の成因を論じた。最後に近年炎症性の mediator 等として注目されている prostaglandins の能動輸送の失調について、有水晶体眼と無水晶体あるいは偽水晶体眼を比較しながら論じた。

本報告で扱った硝子体腔の恒常性、あるいは眼内液の恒常性は、水晶体、角膜内皮、線維柱帯網など、直接影響される眼内諸組織の病態や、その進行はもとより、眼内の組織間における病態の伝播を考察する際の重要な基本的概念である。眼内手術の時代と言われ、新しい術式が次々に行われている。これらの手術の評価も今回示したような概念も含め、常に科学的に行わなければならない。近年の硝子体切除術は硝子体関門という側面からみても、受理できる（正しく行われた場合）手技であるとする知見が多い¹⁴⁰⁾¹⁴³⁾¹⁴⁴⁾。さらに epinephrine 黄斑症の成因論で述べたごとく、眼内に手術的刺激を受けた眼球に薬物投与した場合、この結果として眼内で起る出来事は眼関門の失調のために複雑な修飾を受ける場合がある。新薬、新手術の時代には常に念頭におくべき事である。

以下に本報告で得られた結果と結論を列挙する。

1) Fluorescein でみると外方透過は内方透過の少なくとも30倍大きいといわれる能動輸送機能を少しでも臨床の場で論じるべく若干の検討を行った。

2) Fluorescein の硝子体腔からの能動輸送機能の分担は、網膜（色素上皮・神経上皮）対前部ぶどう膜（毛様体・虹彩）の割合で、家兎、カニクイザルで3：2、ヒトで3：1である。

3) Fluorescein glucuronide は fluorescein と比較し、能動輸送を受けず、毛様体でわずかに受ける。サルで fluorescein の1/10程度であった。

4) 能動輸送に関し、異なった扱いを受ける fluorescein と fluorescein glucuronide を可及的に分けて検討すべく kinetic vitreous fluorophotometry の二相分離解析法を提案し、その臨床応用の可能性を示した。

5) 別に、fluorescein glucuronide を静注すると眼内各細胞層で fluorescein に分解されるが、正常では眼内液中に fluorescein は出現せず、各種実験病態では出現をみとめた。これが将来能動輸送機能検査として利用できる可能性を論じた。

6) 能動輸送の失調がどのように疾患成立に関与するかは実感しにくい。そこで epinephrine 黄斑症、あるいはこれにより血液眼関門の破壊を例にとり考察した。

7) Epinephrine 局所投与による眼関門の破壊は、epinephrine により惹起された内因性 prostaglandins の生合成と、prostaglandins の硝子体腔からの能動輸送の失調を基盤としていることを示し、epinephrine 黄斑症の成因に新しい説を述べた。

8) 上記から epinephrine 黄斑症は無水晶体眼嚢胞状黄斑浮腫と極めて近似した背景を共有する疾患であることが示唆された。

9) Epinephrine 黄斑症と無水晶体性嚢胞状黄斑症の成立に強い関連のある、prostaglandins の眼組織による眼内液からの能動輸送について取り込み実験を行った。術後長期間を経過した実験動物の無水晶体眼、偽水晶体眼の眼組織、特に前部ぶどう膜で、prostaglandin E の能動輸送の低下を証明した。

擱筆にあたり、宿題報告を担当する機会を与えられた日眼会員、評議員の諸先生に感謝する。特に終始暖かいご声援をいただいた同門先輩、市川 宏名誉教授、栗屋 忍教授、馬嶋慶直教授、馬嶋昭生教授、渡辺郁緒教授、新美勝彦教授等に感謝する。名城大学故岩田修造教授の研究室を使用さ

せていただいたことで、はじめて当報告の一部は可能となった。症例を含め日常診療等において、実際にご支援をいただいた長屋幸郎博士をはじめとする愛知県眼科医会の会員の諸先生に感謝する。著者を育てていただいた日本眼科手術学会、日本眼内レンズ学会、硝子体蛍光光度測定法研究会、海賊の会、例の会の先輩・同輩の諸先生方に感謝する。眼科三宅病院の従業員諸兄姉の協力や一族の精神的土壌がなければ、この報告は不可能であったろう。

最後になるが、眼関門に対する学問的興味を与えていただいた塩瀬芳彦愛知県総合保健センター部長、学問におけるオリジナリティーの重要性を問いてやまれなかった水野勝義東北大名名誉教授、学問的作法について手を取りご教示いただいた三島済一東大名名誉教授のご恩は忘れない。

(本研究の一部は昭和62年度日本医師会医学研究助成費臨床部門の補助を受けた。)

文 献

- 1) 塩瀬芳彦：眼内 barrier 機構とその臨床的意義。臨眼 31：875—887, 1977.
- 2) Cunha-Vaz JG: The blood-ocular barriers. Surv Ophthalmol 23: 279—296, 1979.
- 3) Bito LZ, DeRousseau CJ: Transport functions of the blood-retinal barrier system and micro-environment of the retina, in Cunha-Vaz JG (ed): The Blood-retinal Barriers. NATO Advanced Study Institute Series. New York and London, Plenum Press, 32: 133—163, 1979.
- 4) Bito LZ: The physiology and pathophysiology of intraocular fluids. Exp Eye Res (Suppl): 273—289, 1977.
- 5) Shichi H, Nebert DW: Genetic differences in drug metabolism associated with ocular toxicity. Environ Health Perspect 44: 107—111, 1982.
- 6) 塚原 勇：網膜色素上皮細胞の機能。日眼 88: 1—21, 1984.
- 7) Bill A: Blood circulation and fluid dynamics in the eye. Physiol Rev 55: 388—417, 1975.
- 8) Maurice DM: Injection of drugs into the vitreous body. in Leopold IH (ed): Symposium on Ocular Therapy. St Louis, The CV Mosby Company, 9: 59—72, 1976.
- 9) Maurice DM: The exchange of sodium between the vitreous body and the blood and aqueous humor. J Physiol 137: 110—125, 1957.
- 10) Bito LZ: Accumulation and apparent active transport of prostaglandins by some rabbit tissues in vitro. J Physiol 221: 371—387, 1972.
- 11) Mochizuki M: Transport of indomethacin in the anterior uvea of the albino rabbit. Jpn J Ophthalmol 24: 363—373, 1980.
- 12) Ishii Y, Matsumura Y, Shirasawa E, et al: Ocular tissue distributions of befunolol hydrochloride, a beta-adrenergic blocking agent, after intravitreal or subconjunctival injection into the albino and pigmented rabbits. Acta Soc Ophthalmol Jpn 88: 1278—1286, 1984.
- 13) Matsumoto S, Araie M, Takase M: Active transport of beta-adrenergic blocking agents in the anterior uvea of albino rabbit. Jpn J Ophthalmol 30: 339—350, 1986.
- 14) Cunha-Vaz JG, Maurice DM: The active transport of fluorescein by the retinal vessels and the retina. J Physiol 191: 467—486, 1967.
- 15) Cunha-Vaz JG, Maurice DM: Fluorescein dynamics in the eye. Doc Ophthalmol 26: 61—72, 1969.
- 16) Chen SC, Nakamura H, Tamura Z: Studies on the metabolites of fluorescein in rabbit and human urine. Chem Pharm Bull 28: 1403—1407, 1980.
- 17) Chen SC, Nakamura H, Tamura Z: Determination of fluorescein and fluorescein monoglucuronide excreted in urine. Chem Pharm Bull 28: 2812—2816, 1980.
- 18) Kitano S, Nagataki S: Transport of fluorescein monoglucuronide out of the vitreous. Invest Ophthalmol Vis Sci 27: 998—1001, 1986.
- 19) Seto C, Araie M, Takase M: Study of fluorescein glucuronide, II A comparative ocular kinetic study of fluorescein and fluorescein glucuronide. Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol 224: 113—117, 1986.
- 20) 原 恵子, 三宅謙作, 岩田修造：眼組織における fluorescein 誘導体の輸送解析。あたらしい眼科 3: 1193—1196, 1986.
- 21) Eguchi S, Araie M, Takase M: Movement of fluorescein and fluorescein glucuronide across the isolated rabbit iris-ciliary body. Jpn J Ophthalmol 31: 440—454, 1987.
- 22) Ussing HH, Zerahn K: Active transport of sodium as the source of electric current in the short-circuited isolated frog skin. Acta Physiol Scand 23: 110—127, 1951.
- 23) Stone RA, Wilson CM: Fluorescein transport in the anterior uvea. Invest Ophthalmol Vis Sci 22: 303—309, 1982.
- 24) Chahal PS, Neal MJ, Kohner EV: Metabolism of fluorescein after intravenous administration. Invest Ophthalmol Vis Sci 26: 764—768, 1985.
- 25) 原 恵子, 三宅謙作, 岩田修造：眼組織における fluorescein 誘導体の輸送解析 (II) —静注した

- fluorescein glucuronide の眼内分布一、あたらしい眼科 4: 270—272, 1987.
- 26) Hayasaka S, Sears M: Distribution of acid phosphatase, β -glucuronidase, and lysosomal hyaluronidase in the anterior segment of the rabbit eye. Invest Ophthalmol Vis Sci 17: 982—988, 1978.
- 27) 藤 武俊治: 家兎人工的無水晶体眼の vitreous fluorophotometry. 眼紀 36: 1584—1587, 1985.
- 28) 西村葉子, 林 英之, 大島健司他: 硝子体液化に伴う fluorescein-Na の拡散速度の変化. 日眼 90: 1313—1316, 1986.
- 29) Cantrill HL, Pederson JE: Experimental retinal detachment. III. Vitreous fluorophotometry. Arch Ophthalmol 100: 1810—1813, 1982.
- 30) Palestine AG, Brubaker RF: Pharmacokinetics of fluorescein in the vitreous. Invest Ophthalmol Vis Sci 21: 542—549, 1981.
- 31) Zeimer RC, Blair NP, Cunha-Vaz JG: Pharmacokinetic interpretation of vitreous fluorophotometry. Invest Ophthalmol Vis Sci 24: 1374—1381, 1983.
- 32) Cunha-Vaz JG, Zeimer RC, Wong WP, et al: Kinetic vitreous fluorophotometry in normal and non-insulin dependent diabetics. Ophthalmol 89: 751—756, 1982.
- 33) 小椋祐一郎: Simulation による kinetic vitreous fluorophotometry の研究. I. 硝子体内 fluorescein 動態の computer simulation. 日眼 (9): 230—234, 1985.
- 34) 小椋祐一郎: Simulation による kinetic vitreous fluorophotometry の研究. II. 健常者の血液網膜関門透過性の算出. 日眼 89: 311—316, 1985.
- 35) Ogura Y, Tsukahara Y, Saito K, et al: Estimation of the permeability of the blood-retinal barrier in normal individuals. Invest Ophthalmol Vis Sci 26: 969—976, 1985.
- 36) 塚原陽子, 小椋祐一郎他: Kinetic vitreous fluorophotometry の研究. (1) 健常者の検討. 日眼 88: 1043—1048, 1984.
- 37) Blair NP, Zeimer RC, Rubin MM, et al: Outward transport of fluorescein from the vitreous in normal human subjects. Arch Ophthalmol 101: 1117—1121, 1983.
- 38) 坪井俊児: Vitreous fluorophotometry の解析上の問題点. 眼紀 35: 2142—2146, 191984.
- 39) 後藤 修: 血液眼関門の outward flow に関する研究. 第1報. Kinetic vitreous fluorophotometry の数式化と流出係数の算出法について. 眼紀 36: 1539—1544, 1985.
- 40) 萱澤文男, 三宅謙作: 各種眼疾患における蛍光色素の硝子体腔よりの outward transport の検討. 第1報. 網膜疾患と静注法. 臨眼 41: 1000—1001, 1987.
- 41) 塚原陽子, 小椋祐一郎他: Kinetic vitreous fluorophotometry の研究(2). 成人型糖尿病患者の検討. 日眼 88: 1118—1123, 1984.
- 42) 萱澤文男, 三宅謙作, 吉田隆男他: 糖尿病性網膜症の硝子体腔よりのフルオレセイン-Na の能動輸送. あたらしい眼科 1: 1025—1027, 1984.
- 43) Rusin MM, Blair NP, Zeimer RC: The outward permeability of the blood-retinal barrier in diabetes. Invest Ophthalmol Vis Sci 25(Suppl): 254, 1984.
- 44) 後藤 修, 安藤文隆: 血液眼関門の outward flow に関する研究. 第2報. 糖尿病性網膜症の outward flow function について. 眼紀 36: 1731—1735, 1985.
- 45) 桑山和加子, 町田照代, 萱澤文男: ぶどう膜炎, 糖尿病性網膜症における kinetic vitreous fluorophotometry の経験. あたらしい眼科 2: 738—740, 1985.
- 46) Mallick KS, Zeimer RC, Fishman GA, et al: Transport of fluorescein in the ocular posterior segment in retinitis pigmentosa. Arch Ophthalmol 102: 691—696, 1984.
- 47) Yoshida A, Nara Y, Takahashi M: Crystalline retinopathy: Evaluation of blood-retinal barrier by vitreous fluorophotometry. Jpn J Ophthalmol 29: 290—300, 1985.
- 48) Anstadt B, Blair NP, Rusin M, et al: Alteration of the blood-retinal barrier by sodium iodate; kinetic vitreous fluorophotometry and horseradish peroxidase studies. Exp Eye Res 35: 653—657, 1982.
- 49) 吉田晃俊, 坂保明郎: 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.
- 50) Tsuboi S, Pederson JE: Experimental retinal detachment X. Effect of acetazolamide on vitreous fluorescein disappearance. Arch Ophthalmol 103: 1557—1558, 1985.
- 51) Miyake K, Miyake T, Miyake C, et al: Outward transport of fluorescein from the vitreous in aphakic eyes. Br J Ophthalmol 69: 428—432, 1985.
- 52) Miyake K: Innovations of implant surgery and blood-ocular barrier function —The H. Ridley Medal Lecture—. The Proceedings of the International Ophthalmological Congress, Rome, 1986.
- 53) 吉田晃俊, 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.
- 54) **Goldmann H**: Enthalten die Kammerwasser-venen Kammerwasser? *Ophthalmologica* 117: 240—246, 1949.
 - 55) **Langham ME, Wybar KC**: Fluorophotometric apparatus for the objective determination of fluorescence in the anterior chamber of the living eye. *Br J Ophthalmol* 38: 52—59, 1954.
 - 56) **Maurice DM**: New objective fluorophotometer. *Exp Eye Res* 2: 33—36, 1963.
 - 57) **Waltman SR, Kaufman HE**: A new objective slit lamp fluorophotometer. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 9: 247—249, 1970.
 - 58) 三宅謙作, 萱澤文男: Fluorophotometry の臨床. 眼科 Mook 22: 71—82, 1984.
 - 59) 三宅謙作: Fluorophotometry の臨床応用. あたらしい眼科 2: 775—780, 1985.
 - 60) 萱澤文男, 三宅謙作: Fluorophotometry の臨床. 眼紀 38: 1079—1094, 1987.
 - 61) **Cunha-Vaz JG, Goldberg MF, Vygantus C**: Early detection of retinal involvement in diabetes by vitreous fluorophotometry. *Ophthalmol* 86: 264—275, 1979.
 - 62) **Grotte D, Mattox V, Brubaker RF**: Fluorescent, physiological and pharmacokinetic properties of fluorescein glucuronide. *Exp Eye Res* 40: 23—33, 1985.
 - 63) **Palestine AG, Brubaker RF**: Plasma binding of fluorescein in normal subjects and in diabetic patients. *Arch Ophthalmol* 100: 1160—1161, 1982.
 - 64) **Kolker AE, Becker B**: Epinephrine maculopathy. *Arch Ophthalmol* 79: 552—562, 1968.
 - 65) **Michels RG, Maumenee AE**: Cystoid macular edema associated with topically applied epinephrine in aphakic eyes. *Am J Ophthalmol* 80: 379—388, 1975.
 - 66) **Obstbaum SA, Galin MA, Poole TA**: Topical epinephrine and cystoid macular edema. *Ann Ophthalmol* 8: 455—458, 1976.
 - 67) **Richardson K**: Glaucoma in aphakia: Medical treatment. in Emer JM, Paton D (eds): *Current Concepts in Cataract Surgery: Selected Proceedings of the Third Biennial Cataract Surgical Congress*, St. Louis, CV Mosby Co, 375—380, 1974.
 - 68) **Thomas JV, Gragoudas ES, Blair NP, et al**: Correlation of epinephrine use and macular edema in aphakic glaucomatous eyes. *Arch Ophthalmol* 96: 625—628, 1978.
 - 69) **Classe JG**: Epinephrine maculopathy. *J Am Optom Assoc* 51: 1091—1093, 1980.
 - 70) **Miyake K**: Prevention of cystoid macular edema after lens extraction by topical indomethacin: 1. A preliminary report. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 203: 81—88, 1977.
 - 71) **Miyake K, Sakamura S, Miura H**: Long-term follow-up study on prevention of aphakic cystoid macular edema by topical indomethacin. *Br J Ophthalmol* 64: 324—328, 1980.
 - 72) **Miyake K**: Indomethacin in the treatment of postoperative cystoid macular edema. *Surv Ophthalmol* 28(Suppl): 554—568, 1984.
 - 73) **Engstrom P, Dunham EW**: Alpha-adrenergic stimulation of prostaglandin release from rabbit iris-ciliary body in vitro. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 22: 757—767, 1982.
 - 74) **Yousufzai SYK, Abdel-Latif AA**: Effects of norepinephrine and other pharmacological agents on prostaglandin E2 released by rabbit and bovine irides. *Exp Eye Res* 37: 279—292, 1983.
 - 75) **Camras CB, Feldman SG, Podos SM, et al**: Inhibition of the epinephrine-induced reduction of intraocular pressure by systemic indomethacin in humans. *Am J Ophthalmol* 100: 169—175, 1985.
 - 76) **Kramer SG**: Retinal uptake of topical epinephrine in aphakia, in Leopold IH, Burns RP (eds): *Symposium on Ocular Therapy*. New York, John Wiley & Sons Inc, 9: 73—86, 1976.
 - 77) **Bito LZ, Salvador EV**: Intraocular fluid dynamics: III. The site and mechanisms of prostaglandin transfer across the blood-intraocular fluid barriers. *Exp Eye Res* 14: 233—241, 1972.
 - 78) **Miyake K, Kayazawa F, Manabe R, et al**: Indomethacin and the epinephrine-induced breakdown of the blood-ocular barrier in rabbits. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 28: 482—486, 1987.
 - 79) **Zeimer RC, Blair NP, Cunha-Vaz JG**: Vitreous fluorophotometry for clinical research: II. Method of data acquisition and processing. *Arch Ophthalmol* 101: 1757—1761, 1983.
 - 80) **Sanders DR, Kraff MC, Lieberman HL, et al**: Breakdown and reestablishment of the blood-aqueous barrier with implant surgery. *Arch Ophthalmol* 100: 588—593, 1982.
 - 81) **Zigman S**: Effects of near UV light photo-

- products of epinephrine on aqueous humor proteins. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 13: 127—134, 1974.
- 82) **Yannuzzi LA, Landau AN, Turtz AI**: Incidence of aphakic cystoid macular edema with the use of topical indomethacin. *Ophthalmol* 88: 947—954, 1981.
- 83) **Kraff MC, Sanders DR, Jampol LM, et al**: Prophylaxis of pseudophakic cystoid macular edema with topical indomethacin. *Ophthalmol* 89: 885—890, 1982.
- 84) 北沢克明: Adrenergic potentiator の眼圧下降作用に関する実験的研究. *日眼* 75: 1591—1598, 1971.
- 85) **Miyake K, Miyake Y, Kuratomi R**: Long-term effects of topically applied epinephrine on the blood-ocular barrier in humans. *Arch Ophthalmol* 105: 1360—1363, 1987.
- 86) **Neufeld AH, Chavis RM, Sears ML**: Degeneration release of norepinephrine causes transient ocular hyperemia mediated by prostaglandins. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 12: 167—175, 1973.
- 87) **Araie M, Takase M**: Effects of various drugs on aqueous humor dynamics in man. *Jpn J Ophthalmol* 25: 91—111, 1981.
- 88) **Ferreira SH, Moncada S, Vane JR**: Indomethacin and aspirin abolish prostaglandin release from the spleen. *Nature* 231: 237—239, 1971.
- 89) **Vane JR**: Inhibition of prostaglandin synthesis as mechanism of action for aspirin-like drugs. *Nature* 231: 232—235, 1971.
- 90) **Robinson GA, Butcher RW, Sutherland EW**: Cyclic AMP. Orlando, Academic Press Inc, 66—73, 1971.
- 91) **Kuehl FA Jr, Humes JL**: Direct evidence for a prostaglandin receptor and its application to prostaglandin measurements. *Proc Natl Acad Sci USA* 69: 480—484, 1972.
- 92) **Ambache N**: Irin, a smooth-muscle contracting substance present in the rabbit iris. *J Physiol* 129: 65—66, 1965.
- 93) **Robinson GA, Butcher RW, Sutherland EW**: Cyclic AMP. Orlando, Academic Press Inc, 91—142, 1971.
- 94) **Tso MOM, Shichi CV**: Experimental macular edema after lens extraction. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 16: 381—392, 1977.
- 95) **Cunha-Vaz JG, Travassos A**: Breakdown of the blood-retinal barriers and cystoid macular edema. *Surv Ophthalmol* 28(Suppl): 485—492, 1984.
- 96) **Miyake K**: Vitreous fluorophotometry in aphakic or pseudophakic eyes with persistent cystoid macular edema. *Jpn J Ophthalmol* 29: 146—152, 1985.
- 97) **Kass MA, Holmberg NJ**: Prostaglandin and thromboxane synthesis by microsomes of rabbit ocular tissues. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 18: 166—171, 1979.
- 98) **Miyake K, Shirasawa E, Hikita M, et al**: Synthesis of prostaglandin E in rabbit eyes with topically applied epinephrine. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 29: 332—334, 1988.
- 99) **Collins WP, Hennan JF**: The measurement of local hormone and metabolites. Recommended method. *Mol Asp Med* 1: 114—115, 1976.
- 100) **Waitzman MB, King CD**: Prostaglandin influences on intraocular pressure and pupil size. *Am J Physiol* 212: 329—334, 1967.
- 101) **Eakins KE**: Prostaglandin and non-prostaglandin mediated breakdown of the blood-aqueous barrier. *Exp Eye Res* 25(Suppl): 438—498, 1977.
- 102) **Camras CB, Bito LZ, Eakins KE**: Reduction of intraocular pressure by prostaglandins applied topically to the eyes of conscious rabbits. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 16: 1125—1134, 1977.
- 103) **Camras CB, Bito LZ**: Reduction of intraocular pressure in normal and glaucomatous primate (*Aotus Trivirgatus*) eyes by topically applied prostaglandin F_{2α}. *Curr Eye Res* 1: 205—209, 1981.
- 104) **Stern FA, Bito LZ**: Comparison of the hypotensive and other ocular effects of prostaglandin E₂ and F_{2α} on cat and rhesus monkey eyes. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 22: 588—598, 1982.
- 105) **Bito LZ, Draga A, Blanco J, et al**: Long-term maintenance of reduced intraocular pressure by daily or twice daily topical application of prostaglandins to cat or rhesus monkey eyes. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 24: 312—319, 1983.
- 106) **Bito LZ**: Comparison of the ocular hypotensive efficacy of eicosanoids and related compounds. *Exp Eye Res* 38: 181—194, 1984.
- 107) **Lee P, Podos SM, Severin C**: Effect of prostaglandin F_{2α} on aqueous humor dynamics of rabbit, cat, and monkey. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 25: 1087—1093, 1984.
- 108) **Bhattacharjee P, Hammond BR**: Effect of indomethacin on the ocular hypotensive action of adrenaline in the rabbit. *Exp Eye Res* 24: 307,

- 1977.
- 109) **Ambache N, Kavanagh L, Whiting J**: Effect of mechanical stimulation on rabbit's eye: Release of active substance in anterior chamber perfusates. *J Physiol* 176: 378—408, 1965.
 - 110) **Bhattacharjee P, Eakins KE**: Inhibition of the prostaglandin synthetase system in ocular tissues by indomethacin. *Br J Pharmacol* 50: 227—230, 1974.
 - 111) **Bhattacharjee P, Kulkarni PS, Eakins KE**: Metabolism of arachidonic acid in rabbit ocular tissues. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 18: 172—178, 1979.
 - 112) **Christ EJ, Vandorp DA**: Comparative aspects of prostaglandin biosynthesis in animal tissues. *Biochem Biophys Acta* 270: 537—545, 1972.
 - 113) **Eakins KE, Whitelocke RAF, Bennett A, et al**: Prostaglandin-like activity in ocular inflammation. *Br Med J* 3: 452—453, 1972.
 - 114) **Eakins KE**: Prostaglandins and prostaglandin synthetase inhibitors: Action in ocular disease. in Robinson HJ, Vane JR (eds): *Prostaglandin Synthetase Inhibitors*. New York, Raven Press, 1974.
 - 115) **Masuda K, Izawa Y, Mishima S**: Prostaglandins and uveitis: A preliminary report. *Jpn J Ophthalmol* 17: 166—170, 1973.
 - 116) **Sears ML, Neufeld AH, Jampol LM**: Prostaglandins. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 12: 161—164, 1973.
 - 117) **Vandorp DA, Jouvenaz GH, Strujik CB**: The biosynthesis of prostaglandin in pig eye iris. *Biochem Biophys Acta* 137: 396—399, 1967.
 - 118) **Waitzman MB**: Possible new concepts relating prostaglandins to various ocular functions. *Surv Ophthalmol* 14: 301—326, 1970.
 - 119) **Waitzman MB, King CD**: Prostaglandin influences on intraocular pressure and pupil size. *Am J Physiol* 212: 329—334, 1967.
 - 120) **Mishima S, Masuda K**: Clinical implications of prostaglandins and synthesis inhibitors. in Leopold IH, Burns RP (eds): *Symposium on Ocular Therapy*, New York, Willey & Sons, 10: 1—19, 1977.
 - 121) **Miyake K, Sugiyama S, Norimatsu I, et al**: Prevention of cystoid macular edema after lens extraction by topical indomethacin. (III) Radioimmunoassay measurement of prostaglandins in the aqueous during and after lens extraction procedures. *Albrecht von Graefe's Arch Klin Ophthalmol* 209: 83—88, 1978.
 - 122) **Baikoff G, Charbonnel B, Kremer M**: Assay of prostaglandin in the aqueous humor of the human eye after intraocular implant. The effect of indomethacin. in Francois J, Maumenee AE, Esente I (eds): *Cataract Surgery and Visual Rehabilitation*. Milano, Libreria Scientifica Gia Chedini, 378—379, 1982.
 - 123) **Araie M, Sawa M, Takase M**: Effect of topical indomethacin on the blood-aqueous barrier after intracapsular extraction of senile cataract—A fluorophotometric study. *Jpn J Ophthalmol* 25: 237—247, 1981.
 - 124) **Mochizuki M, Sawa M, Masuda K**: Topical indomethacin in the intracapsular extraction of senile cataract. *Jpn J Ophthalmol* 21: 215—226, 1977.
 - 125) **Sawa M, Masuda K**: Topical indomethacin in soft cataract aspiration. *Jpn J Ophthalmol* 20: 514—519, 1976.
 - 126) 田辺法子, 寒河江豊, 原 和彦: インドメタシン点眼と水晶体摘出後の囊腫様黄斑浮腫について. *眼紀* 34: 178—182, 1983.
 - 127) **Iliff CE**: Treatment of the vitreous-tug syndrome. *Am J Ophthalmol* 62: 856—859, 1966.
 - 128) **Miyake K, Sugiyama S, Norimatsu I, et al**: Aqueous prostaglandins in persistent cystoid macular edema secondary to vitreous incarceration: Effects of pars plana vitrectomy. *Jpn J Ophthalmol* 24: 335—345, 1980.
 - 129) **Miyake K, Asakura M, Kobayashi H**: Effect of intraocular lens fixation on the blood-aqueous barrier. *Am J Ophthalmol* 98: 451—455, 1984.
 - 130) 三宅謙作, 前久保久美子, 朝倉当子: 眼内レンズ固定機構と血液房水柵機能 (続報). *臨眼* 40: 967—971, 1986.
 - 131) 馬嶋慶直: 白内障に関する諸問題. 2. 最近における白内障手術の考察について. *日眼* 86: 1893—1918, 1982.
 - 132) 坂西良彦, 澤 充, 新家 真他: 各種白内障手術の血液房水柵に及ぼす影響について. *臨眼* 38: 115—120, 1984.
 - 133) 近藤武久: 眼内レンズ手術とfluorophotometry. *眼臨* 80: 2380—2387, 1986.
 - 134) **Bito LZ**: The effects of experimental uveitis on anterior uveal prostaglandin transport and aqueous humor composition. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 13: 959—966, 1974.
 - 135) **Bito LZ, Wallenstein MC**: Transport of prostaglandins across the blood-brain and blood-aqueous barriers and physiological significance of these absorptive process. *Exp Eye Res*

- (Suppl) : 229—243, 1977.
- 136) **Miyake K**: Blood-retinal barrier in eyes with longstanding aphakia with apparently normal fundi. *Arch Ophthalmol* 100 : 1437—1439, 1982.
- 137) **Miyake K**: Blood-retinal barrier in longstanding aphakic eyes after extra and intracapsular lens extractions. *Graefe's Arch Clin Exp Ophthalmol* 222 : 232—233, 1985.
- 138) **Tennant JL**: Is cystoid macular edema reversible by oral indomethacin, yes or no? in Emery JM, Paton D (eds): *Current Concepts in Cataract Surgery. Selected Proceedings of the Fourth Biennial Cataract Surgical Congress*. St Louis, CV Mosby, 310—312, 1976.
- 139) **Yannuzzi LA, Wallyn RH**: Cystoid macular edema. A controlled treatment study utilizing indomethacin. in Emery JM, Paton D (eds): *Current Concepts in Cataract Surgery. Selected Proceedings of the Fourth Biennial Cataract Surgical Congress*. St Louis, CV Mosby, 313—316, 1976.
- 140) **三宅 謙作**: Fluorophotometry による手術損傷の評価—各種術後眼硝子体腔からの fluorescein 能動輸送について. *臨眼* 38 : 1091—1095, 1984.
- 141) **Miami Study Group**: Cystoid macular edema in aphakic and pseudophakic eyes. *Am J Ophthalmol* 88 : 45—48, 1979.
- 142) **三宅謙作, 坂村静子**: 人工水晶体挿入後の嚢胞状黄斑浮腫. *眼臨* 71 : 1516—1520, 1977.
- 143) **本田孔士**: 硝子体外科のバイオロジー. *日眼* 85 : 1910—1949, 1981.
- 144) **Honda Y, Negi A, Kawano S**: Mode of ion movement into the vitreous space. Equibration after vitrectomy. *Arch Ophthalmol* 10 : 105—111, 1983.
-