

家兎網膜色素上皮—脈絡膜におけるフルオレセインの移送

—Ussing 型チャンバーを用いた解析—

小谷野 聡, 江口秀一郎, 新家 真

東京大学医学部眼科学教室

要 約

白色家兎の網膜色素上皮 (RPE) —脈絡膜を摘出, Ussing 型チャンバーに固定し長時間安定した電位を得ることに成功し, 過去の薬理学的実験結果の豊富な家兎を用いてその RPE—脈絡膜における物質の移送を検討していく実験系が可能であることを示した. この系を用いて今回フルオレセインの RPE—脈絡膜における移送を検討したところ, RPE—脈絡膜のフルオレセインに対する透過性は, 外向きに $1.63 \pm 0.20 \times 10^{-5} \text{cm/sec}$, 内向きに $0.44 \pm 0.13 \times 10^{-5} \text{cm/sec}$ ($n=8$, Mean $\pm$ SE) となり外向きが内向きの約 4 倍有意に大きい値を示した ($p < 0.01$). 外向きの透過性は Ouabain (10^{-6}M), 2,4-Dinitrophenol (10^{-5}M), Probenecid (10^{-4}M) により, 各々コントロールの平均 63%, 46%, 41% となり有意に抑制され, また系の温度を $0.5 \sim 1.0^\circ \text{C}$ に下げることにより $0.05 \pm 0.04 \times 10^{-5} \text{cm/sec}$ ($n=4$, Mean $\pm$ SE) と大幅に低下した. 以上の結果は, フルオレセインが網膜色素上皮において外向きに能動輸送されているという従来よりの仮説に合致し, また今回の実験系が家兎 RPE を介しての物質移送の解析に十分耐え得ることを示した. (日眼会誌 95: 434—440, 1991)

キーワード: 白色家兎, 網膜色素上皮—脈絡膜, Ussing 型チャンバー, フルオレセイン, 能動輸送

Analysis of Transport of Fluorescein Across the Isolated Retinal Pigment Epithelium-Choroid Using an Ussing Type Chamber

Satoshi Koyano, Shuichiro Eguchi and Makoto Araie

Department of Ophthalmology, University of Tokyo, School of Medicine

Abstract

Retinal pigment epithelium (RPE)-choroid preparations from albino rabbits were sealed in an Ussing type chamber under stabilized conditions for 3 hours. The transepithelial potential was $1.2 \pm 0.08 \text{mV}$ and the transepithelial resistance was $175.2 \pm 9.1 \Omega \cdot \text{cm}^2$ (mean $\pm$ SE, $n=16$). The transport of fluorescein across the isolated rabbit RPE-choroid was studied under short circuit condition and outward (vitreous $\rightarrow$ choroid) and inward (choroid $\rightarrow$ vitreous) permeability to fluorescein were determined. The outward permeability was $1.63 \pm 0.20 \times 10^{-5} \text{cm/sec}$ and inward permeability was $0.44 \pm 0.13 \times 10^{-5} \text{cm/sec}$ (mean $\pm$ SE, $n=8$). The former was 4 times greater than the latter ($p < 0.01$). The outward permeability was decreased to $1.02 \pm 0.08 \times 10^{-5} \text{cm/sec}$ ($n=7$), $0.75 \pm 0.11 \times 10^{-5} \text{cm/sec}$ ($n=5$), $0.67 \pm 0.11 \times 10^{-5} \text{cm/sec}$ ($n=6$) by 10^{-6}M of ouabain, 10^{-5}M of 2,4-dinitrophenol and 10^{-4}M of probenecid, respectively. Low temperatures ($0.5 \sim 1.0^\circ \text{C}$) markedly decreased the outward permeability

別刷請求先: 113 文京区本郷 7-3-1 東京大学医学部眼科学教室 小谷野 聡
(平成 2 年 3 月 22 日受付, 平成 2 年 11 月 10 日改訂受理)

Reprint requests to: Satoshi Koyano, M.D. Department of Ophthalmology, University of Tokyo, School of Medicine.

7-3-1 Hongo, Bunkyo-ku 113, Japan

(Received March 22, 1990 and accepted in revised form November 10, 1990)

to $0.05 \pm 0.04 \times 10^{-5} \text{ cm/sec}$ ($n=4$, mean $\pm$ SE). These results suggest that active transport plays a role in the outward movement of fluorescein across the rabbit RPE-choroid. (Acta Soc Ophthalmol Jpn 95: 434-440, 1991)

Key words: Albino rabbits, Retinal pigment epithelium-choroid, Ussing-type chamber, Fluorescein, Active transport

I 緒 言

局所投与された薬物の眼外即ち血液コンパートメント中への移行や全身投与された薬物の血液コンパートメントから眼内への移行動態の研究は臨床的にも意義が大きい。一般にこの目的のためには点眼後の眼内各組織への薬物移行または、全身投与後の眼内各組織への薬物移行の時間経過を検討することが多い。しかしこれらの方法ではある組織を介しての血液コンパートメント（眼外）と硝子体、眼房水等内組織との間の薬物の移送動態の詳しい薬理学的な解析を行うことは困難である。一方 Ussing chamber の系は、ある特定組織を介しての電解質や物質の移送の解析に極めて有用な方法であり、既に多くの組織での研究が報告されている^{1)~6)}。眼において血液網膜柵を介する物質の眼内外への移送は眼の生理及び薬理に重要な位置を占めることは論を待たない。Ussing chamber を用いた網膜色素上皮一脈絡膜を介する物質移送の研究は既に牛⁷⁾⁸⁾、カエル^{9)~11)}、犬^{12)~15)}等で行われているが、現在まで眼科においても最も広く実験に用いられてきており、且つ過去の実験結果の蓄積の豊富な家兎眼ではその網膜色素上皮一脈絡膜を取り出し Ussing の系で安定した電位を得ることは困難とされ¹⁶⁾、簡便法として Frambach 等の網膜色素上皮一脈絡膜一強膜を使用した報告があるにすぎない¹⁶⁾。

今回我々は、白色家兎の網膜色素上皮一脈絡膜のみを分離摘出し、Ussing chamber に固定し長時間安定した電位を保つことに成功した。これにより、家兎網膜色素上皮を介する種々の物質の移送を現在までに蓄積された家兎の薬理学的実験結果と比較検討していくことが可能となった。この実験系を用いて家兎眼網膜色素上皮一脈絡膜の経上皮電位及び短絡電流を測定し、更にフルオレセインの家兎眼網膜色素上皮一脈絡膜における移送につき検討したのでここに報告する。

II 実験方法

実験動物として成熟白色家兎（体重3kg）を用いた。

これをベントバルビタール過量投与にて安楽死せしめた後、速やかに眼球摘出し、赤道部にて前後に2分割した。そのうちの後部眼球即ち、硝子体+網膜+脈絡膜+強膜に3カ所減張切開を加え、sheet 状にし、それを37℃の Krebs Ringer 液を満たしたベトリ皿に固定した。その後、まず硝子体と感覚網膜を一塊として丁寧に取り除き、更に脈絡膜と強膜の間の疎な結合部を少しずつ分離させ、その中央部の侵襲の少ない部分のみ切り出して最終的に約5×15mm 大の網膜色素上皮一脈絡膜を取り出した。取り出した組織を網膜側を上にしてパラフィン膜にのせベトリ皿から Ussing 型 Chamber のナイロン膜上へと移動させた。この時パラフィン膜の上に表面張力で Ringer 液の層ができ、その上に組織が乗る状態になるため、周辺部以外は組織に触れることなく操作ができた。チャンパーに置かれた組織の周辺部から余分な水分をろ紙で吸い取ることで組織は自然とチャンパー上に固定された。以上の操作は手術用顕微鏡およびマイクロ手術器具を用いて実際に実験に使用する組織中心部に器具がまったく触れないように、また組織にかかる張力も最小限になるように注意して操作した。チャンパーの略図を図1に示す。両側チャンパー内は、Krebs bicarbonate Ringer 液で満たされ、95%O₂+5%CO₂の混合ガスにより通気攪拌されている。またチャンパーの外筒には温水が還流されており、系の温度はこれにより37℃に保たれている。Krebs bicarbonate Ringer 液の組成は以下の通りである。NaCl 118.05 KCl 4.69 CaCl₂・2H₂O 2.51 MgCl₂・6H₂O 0.54 NaH₂PO₄・H₂O 1.01 glucose 11.10 NaHCO₃ 25.01 (mM)。チャンパー内の容積はそれぞれ7mlで、両側チャンパーは0.14cm²の開窓部にて交通している。系の電氣的現象は、3% agar 3MKCl Bridge を用いてチャンパーよりカロメル電極に導き、自動膜電位固定装置（ボルテージクランプ装置、日本光電工業株式会社、東京）を用いて、両側チャンパー間の電位差即ち経上皮電位、及びその電位差を0にするために必要な短絡電流を計測し、また、その両者より経上皮電気抵抗を算出した。

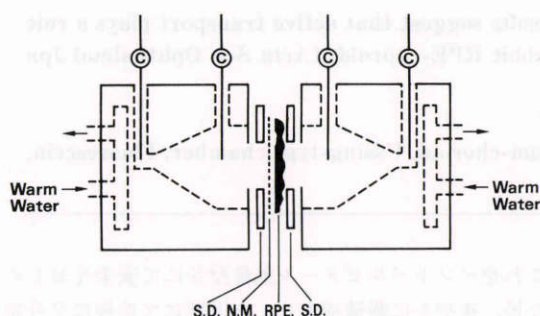


図1 Ussing型チャンバーの略図

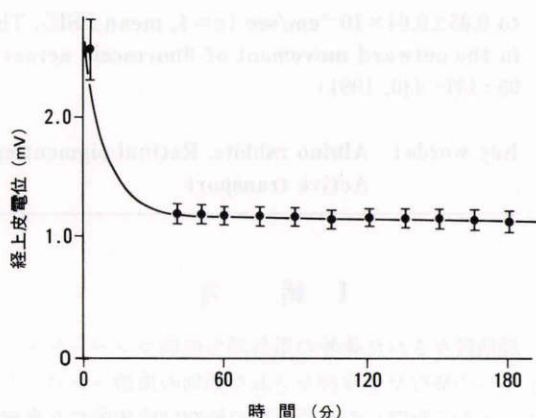
C: カロメル電極, NM: ナイロン膜, SD: シリコンディスク, RPE: 網膜色素上皮-脈絡膜

経上皮電位が安定した後、一側チャンバーに、フルオレセイン・ナトリウムをチャンバー内濃度が、 $15\mu\text{M}$ となるように投与し、その後15分毎に対側チャンバーより $50\mu\text{l}$ のサンプルを採取した。チャンバー内にはそのつど同量の Krebs bicarbonate Ringer 液を補充し、チャンバー内の容積を一定に保つようにした。採取したサンプルを pH 7.4 のリン酸緩衝液にて 9 倍に希釈し、そのフルオレセイン濃度をフルオロメーター（東京光学株式会社、東京）にて計測した。フルオレセインを硝子体側に投与することにより外向き、即ち硝子体側から脈絡膜側へのフルオレセインの移送を、逆に脈絡膜側に投与することにより内向き、即ち脈絡膜側から硝子体側へのフルオレセインの移送を検討した。フルオレセインに対する網膜色素上皮-脈絡膜の透過係数は

Fick の第一法則 $J = -AP(C_1 - C_0) \dots\dots (1)$

を用いて算出した。ここで J はフルオレセインの単位時間あたりの移行量 (ng/sec)、 C_0 はチャンバー 0、即ちフルオレセインが移送されてくる側のチャンバー内のフルオレセインの濃度 (ng/ml)、 C_1 はチャンバー 1、即ちフルオレセインを投与した側のチャンバー内のフルオレセインの濃度 (ng/ml)、 A は開窓部の面積、 P は透過係数 (cm/sec) を表す。後に示すように、 C_0 は C_1 に比べ極めて小さく、 P の値は、 C_0 の時間的な経過より最小自乗法をもちい算出できる。

更にフルオレセインの外向きの移送に対する以下の因子の効果を検討した。即ち、チャンバーの外筒に 0°C の冷水を還流することにより、系の温度を $0.5\sim 1.0^\circ\text{C}$ に落して温度の影響を検討し、また、フルオレセインをチャンバー内に投与すると同時に両側チャンバーに Na-K ATPase 阻害剤であるウアバイン (10^{-6}M) また

図2 経上皮電位の時間的経過 (Mean $\pm$ SE, N=16)

経上皮電位 $1.20 \pm 0.08\text{mV}$, 短絡電流 $6.71 \pm 0.54 \mu\text{A/cm}^2$, 経上皮電気抵抗 $175.2 \pm 9.1 \Omega \cdot \text{cm}^2$

は酸化的リン酸化阻害剤ジニトロフェノール (10^{-5}M)^{17,18)} またはフルオレセインの網膜色素上皮を介しての移送の競合阻害剤であるプロベネシド (10^{-4}M)¹⁹⁾ を両側チャンバーに投与し、その影響を検討した。

III 結果

電気的現象の時間的経過を図2に示す。経上皮電位は、脈絡膜側に対し硝子体側が正で実験開始後約40分後に $1.20 \pm 0.08\text{mV}$ (mean $\pm$ SE, N=16) にて安定しその後約3時間ほぼ一定の値を保った。短絡電流は $6.71 \pm 0.54 \mu\text{A/cm}^2$, 経上皮電気抵抗は $175.2 \pm 9.1 \Omega \cdot \text{cm}^2$ で両者とも同様にほぼ安定した値が保たれた。系の温度を $0.5\sim 1.0^\circ\text{C}$ に落とした実験では、経上皮電位、短絡電流ともに、それぞれ平均 0.33mV , $1.64 \mu\text{A/cm}^2$ と低下した。また阻害剤を投与した実験ではそれぞれ経上皮電位および短絡電流が、ウアバイン (10^{-6}M) で約50%, ジニトロフェノール (10^{-5}M) で約20%, プロベネシド (10^{-4}M) で約15%低下したが、経上皮電気抵抗には変化は認められなかった。

フルオレセインの外向き及び内向きの移送の時間的経過を図3に示す。両者とも時間経過と共に直線的に増加していくが、実験開始30分までの移送速度と、30分以降の移送速度には、有意の差が認められた。この差は、フルオレセインが、組織内に浸透していき、また組織内から対側チャンバーに流出し充分拡散するのにある程度時間を要するためと考えられる。このため30分以降の安定した状態での結果をもとにして以下の解析を進めた。また、実験終了時対側チャンバー内の

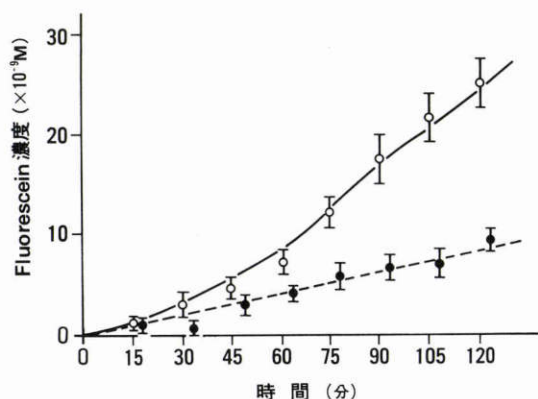


図3 フルオレセインの移送の時間的变化。(Mean $\pm$ SE, N=8)

—: 外向き(硝子体側→脈絡膜側), ---: 内向き(脈絡膜側→硝子体側)

表1 網膜色素上皮-脈絡膜のフルオレセインに対する透過係数, Mean $\pm$ SE ($\times 10^{-5}$ cm/sec), () 内は実験数

コントロールに対して有意差あり, (unpaired t-test)

* $p < 0.05$, † $p < 0.02$, ‡ $p < 0.01$, § $p < 0.001$

	外向き	内向き
Control	1.63 $\pm$ 0.20 (8)	0.44 $\pm$ 0.13 (8)
Ouabain	1.02 $\pm$ 0.08 (7)*	
Dinitrophenol	0.75 $\pm$ 0.11 (5)†	
Probenecid	0.67 $\pm$ 0.11 (6)‡	
0°C	0.05 $\pm$ 0.04 (4)§	

フルオレセインの濃度は、最大でも13ng/mlで、フルオレセインを投与した側のチャンパー内濃度の約0.3%に過ぎず式(1)が適用できる。式(1)及び最小自乗法を用いて導かれた網膜色素上皮-脈絡膜のフルオレセインに対する透過係数の測定結果を表2に示す。その外向きの透過係数は1.63 $\pm$ 0.20 ($\times 10^{-5}$ cm/sec, mean $\pm$ SE, N=8), 内向きに0.44 $\pm$ 0.13 ($\times 10^{-5}$ cm/sec, mean $\pm$ SE, N=8)で、両者の間には、有意の差が認められた (unpaired t-test, $p < 0.01$) また系の温度を0.5~1.0°Cに落とした実験では、外向きの透過係数は平均0.05 ($\times 10^{-5}$ cm/sec)となり、コントロールに比べ有意に且つ著明に低下した ($p < 0.001$)。

阻害剤の同時投与実験では、フルオレセインの外向

きの透過性はそれぞれウアバインで平均1.02 ($\times 10^{-5}$ cm/sec), ジニトロフェノールで平均0.75 ($\times 10^{-5}$ cm/sec), プロベネシドで平均0.67 ($\times 10^{-5}$ cm/sec)となり、三者ともコントロールの各々63%, 46%, 41%と有意の低下を示した。以上の結果をまとめたものを表1に示す。

IV 考 按

ある組織を介しての電解質や物質の移送を検討していく上で、Ussing chamberを用いた実験系が非常にすぐれた方法であることは従来より論を待たないところである。これまで、他の動物即ち牛^{7,8)}, 蛙^{9)~11)}, 犬^{12)~15)}等の網膜色素上皮を用いて同様のシステムにて電解質あるいは物質の移送を検討した実験はいくつかなされてきている。しかし従来最も広く眼科実験に用い、また過去の薬理学的実験結果の蓄積も豊富な家兎ではその網膜色素上皮を取り出し Ussing の系で安定した電位を保つことは困難とされてきた¹⁵⁾。さらに兎には、比較的安価で入手しやすいこと、系統を揃えやすいこと、有色と白色の比較ができることなどの利点もあげられる。最近になり Frambach らにより兎の網膜色素上皮-脈絡膜-強膜を取り出し、Ussing の実験系を用いてその電気的現象に対する解析を行った報告がなされているが、網膜色素上皮-脈絡膜のみを取り出し、その膜を介する物質の移送につき検討した報告は未だなされていない¹⁶⁾³²⁾³³⁾。今回我々は網膜色素上皮を取り出し、チャンパーへ装着する過程での組織への侵襲をできるだけ少なくするように注意することにより、家兎の網膜色素上皮-脈絡膜でも安定して Ussing chamber での実験が行えることを示した。従来他の動物(蛙⁹⁾, 牛^{7,8)}, 犬¹³⁾¹⁵⁾)で報告されている網膜色素上皮の電気的性質と今回の我々の実験を比較した。経上皮電位は、蛙の6.3~9.5mV, 牛の7.2mV, 及び犬の4.0~4.9mV に比べて我々の値はやや低い値となっているが、経上皮電気抵抗はいずれも120~200 $\Omega \cdot \text{cm}^2$ と我々の実験とはほぼ同様の値を示している。この結果より今回の実験では家兎網膜色素上皮-脈絡膜に対する組織障害が無視できる状態で実験できたと考えられる。この実験系を用いてフルオレセインの家兎網膜色素上皮-脈絡膜における移送を検討した。

フルオレセインは、血液眼内柵のトレーサーとして広く用いられている物質であり、従来より本物質が、網膜色素上皮を介して眼内から眼外へと移送され、またその移送に能動輸送が関与している可能性は、in

vivoでの実験(兎¹⁹⁾, 猿²⁰⁾, 人^{21)~23)})の結果にて示唆されており, また犬眼の網膜色素上皮では Ussing chamber を用いた in vitro の実験で¹³⁾¹⁴⁾それを支持する結果が報告されている。

今回の我々の実験でも上記の犬眼の結果とほぼ同様の結果が得られたが, 家兎網膜色素上皮一脈絡膜のフルオレセインに対する透過係数は, 外向きが内向きの約4倍大きい値を示したのに対し, 犬眼においてはその比は約8倍と報告されており¹³⁾, フルオレセインの網膜色素上皮一脈絡膜を介しての移送には種差が存在することが示された。ここで in vivo(兎)の実験では, 後部眼球のフルオレセインに対する透過係数は, 外向きが内向きの約30倍であり¹⁹⁾, 我々の実験における家兎眼及び犬眼での in vitro の実験での網膜色素上皮一脈絡膜のフルオレセインに対する透過係数の外向きと内向きの比率に比べ大きい値を示した。この理由としては, in vivo と in vitro では自ずと実験条件が異なり, in vivo では血管内皮や, 硝子体等の要素が複雑に絡み合っているためと考えられる。すなわち, Maurice らによれば網膜血管の存在する部分では阻害剤に対しより感受性が高いこと, そして血管を閉塞せしめることにより, この部分のフルオレセインの移送が低下することにより, 網膜血管においてもフルオレセインが能動輸送されている可能性を示している¹⁹⁾, またさらに, in vitro の実験では感覚網膜を除去した状態すなわち網膜剥離の状態での計測であるということがもう一つの大きい違いである。ここで in vivo においても網膜剥離眼(人)におけるフルオレセインの外向きおよび内向きの透過係数の比は約17と低下しており³¹⁾, 理由として網膜剥離による網膜色素上皮の機能低下すなわち能動輸送の低下, バリアー機能の低下による内向きの透過性の上昇等が考えられている。

系の温度を0.5~1.0℃におとした実験では, もしその移送系が純粋に受動的な移送だけで成り立っているとすると, 低温にすることで液体の粘度が高まるため²⁴⁾, アインシュタインの式²⁵⁾より理論上その移送量は37℃の場合の約3分の1に低下すると考えられる。今回の我々の実験では, 外向きの透過性は, 37℃の透過性の約30分の1となり3分の1を大きく上回る比率で低下した。また Na-K ATPase 阻害剤であるウアバイン(10^{-6} M)はフルオレセインの外向きの移送に対し犬眼では影響が認められなかったが¹³⁾, 我々の家兎眼での実験ではその外向きの透過係数を有意に低下せしめた。即ち家兎網膜色素上皮一脈絡膜のフルオレセイ

ンの移送は, Na の移送と関連していると考えられる。犬眼網膜色素上皮¹³⁾, 家兎眼虹彩毛様体²⁶⁾²⁷⁾においては, 電位の低下に比べフルオレセインの移送に対する影響が出にくいという指摘がなされているが, 今回の結果との違いは, 種の違いあるいは種は同じでも組織の違いによりフルオレセインの移送系がまったく同一ではないことを示唆すると考えられる。この問題に関しては更に検討が必要であろう。ジニトロフェノールは酸化的リン酸化の阻害剤であり ATP の供給を低下させる。in vivo の実験でフルオレセインの眼内から眼外への消失を有意に抑制するとされ¹⁹⁾, 今回の我々の実験でもフルオレセインの外向きの移送は有意の低下を示した。またプロベネドを投与することによりフルオレセインの外向きの移送は有意に低下した。これは in vivo¹⁹⁾及び犬眼における in vitro¹³⁾¹⁴⁾の実験結果と一致する。

ここで能動輸送とは担体によって促進される現象で, 化学的あるいは電気的勾配に逆らって物質を移動させ得るもので, この移送にはエネルギーを必要とする²⁸⁾。今回の実験では, フルオレセインに対する外向きの透過係数は, 系の温度を下げる事によって粘度の上昇により説明されるよりはるかに強く, あるいは代謝阻害剤投与によるエネルギーの供給阻害により, また競合阻害剤投与により担体を競合させることにより有意に低下した。このことから従来 in vivo の実験で示唆されたごとく家兎網膜色素上皮一脈絡膜におけるフルオレセインの外向きの移送に能動的な移送が関与している事が強く示唆される。

但し Organic anion の移送系には, 少なくとも2種類以上の System があるということは, 従来より知られている²⁹⁾³⁰⁾。即ち腎尿細管上皮を代表とする Hippurate に sensitive な H-System と肝胆管系を代表とする L-System 群である。種々の組織における移送系はこのような System 群が, 複雑に関係しあって成り立っているとされる²⁹⁾³⁰⁾。網膜色素上皮一脈絡膜におけるフルオレセインの移送とこれらの System との関係は未だ報告がなく, さらに検討する必要があると考えられる。

以上, 家兎網膜色素上皮一脈絡膜を用いて物質の移送を解析する実験系を確立し, 電気的特性につき初めて報告すると同時にその系を用いてフルオレセインの網膜色素上皮一脈絡膜における移送につき検討し若干の考察を加えた。近年行われる如く手術時に直接硝子体中に抗生物質を投与したり, あるいは抗緑内障薬の

ように非常に長期に渡って投与される場合、これらの薬剤の眼内への蓄積や眼外への排せつについての検討が当然必要となってきた。今回の家兎網膜色素上皮—脈絡膜を用いた Ussing chamber の実験系を使用することにより、今後種々の物質の網膜色素上皮における移送の解析が可能となり、既に家兎で報告されている多くの実験結果との比較検討が容易になったと考えられる。

文 献

- 1) 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.
- 2) Ussing HH, Johansen B: Anomalous transport of sucrose and urea in toad skin. *Nephron* 6: 317—328, 1969.
- 3) Shultz SG, Zalusky R: Ion transport in isolated rabbit ileum. I Short circuit current and Na fluxes. *J Gen Physiol* 47: 567—589, 1964.
- 4) Walling MW, Rothman SS: Phosphate-independent carrier-mediated active transport of calcium by rat intestine. *Am J Physiol* 217: 1144—1148, 1969.
- 5) Nellans HN, Kimberg DV: Anomalous calcium secretion in rat ileum: Role of paracellular pathway. *Am J Physiol* 236: E472—481, 1979.
- 6) Favus MJ, Kathpalia SC, Coe FL: Kinetic characteristics of calcium absorption and secretion by rat colon. *Am J Physiol* 240: G350—354, 1981.
- 7) Pautler EL, Tengerdy C: Transport of acidic amino acids by the bovine pigment epithelium. *Exp Eye Res* 43: 207—214, 1986.
- 8) Crosson CE, Pautler EL: Glucose transport across isolated bovine pigment epithelium. *Exp Eye Res* 35: 371—377, 1982.
- 9) DiMattio J, Degnan KJ, Zadunaisky JA: A model for transepithelial ion transport across the isolated retinal pigment epithelium of the frog. *Exp Eye Res* 37: 409—420, 1983.
- 10) DiMattio J, Streitman J: Facilitated glucose transport across the retinal pigment epithelium of the bullfrog (*Rana catesbiana*). *Exp Eye Res* 43: 15—28, 1986.
- 11) Miller SS, Steinberg RH: Active transport of ions across frog retinal pigment epithelium. *Exp Eye Res* 25: 235—248, 1977.
- 12) Tsuboi S, Manabe R, Iizuka S: Aspects of electrolyte transport across isolated dog retinal pigment epithelium. *Am J Physiol* 250(Renal Fluid Electrolyte Physiol 19): F781—F784, 1986.
- 13) Tsuboi S, Fujimoto T, Uchiyori Y, et al: Measurement of retinal permeability to sodium fluorescein in vitro. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 25: 1146—1150, 1984.
- 14) Tsuboi S, Pederson JE: Permeability of the isolated dog retinal pigment epithelium to carboxyfluorescein. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 27: 1767—1770, 1986.
- 15) 坪井俊児, 飯塚修三, 岸田健一, 他: 網膜色素上皮における輸送現象におよぶ薬剤の影響. *眼臨* 77: 345—349, 1983.
- 16) Frambach DA, Valentine JL, Weiter JJ: Initial observations of rabbit retinal pigment epithelium-choroid-sclera preparations. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 29: 814—817, 1988.
- 17) Fujimoto M, Nash FD, Kessler RH: Effects of cyanide, Qo and dinitrophenol on renal sodium reabsorption and oxygen consumption. *Am J Physiol* 206: 1327—1332, 1964.
- 18) Mudge GH, Taggart JV: Effect of 2,4-dinitrophenol on renal transport mechanisms in the dog. *Am J Physiol* 161: 173—180, 1950.
- 19) Cunha-Vas JG, Maurice DM: The active transport of fluorescein by the retinal vessels and the retina. *J Physiol* 191: 467—486, 1967.
- 20) Cantrill HL, Pederson JE: Experimental retinal detachment. VI. The permeability of the blood-retinal barrier in normal individuals. *Arch Ophthalmol* 102: 747—751, 1983.
- 21) Palestine AG, Brubaker RF: Pharmacokinetics of fluorescein in the vitreous. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 21: 542—549, 1981.
- 22) Zeimer RC, Blair NP, Cunha-Vas JG: Pharmacokinetics interpretation of vitreous fluorophotometry. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 24: 1374—1381, 1983.
- 23) Ogura 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.
- 24) 下村健次: 基礎物理学実験. 東京, 共立出版, 46—48, 1977.
- 25) Hille B: Textbook of Physiology (2nd ed). Philadelphia, Saunders Co, 17—18, 1989.
- 26) Stone RA, Wilson CM: Fluorescein transport in the anterior uvea. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 22: 303—309, 1982.
- 27) 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.
- 28) 島田英世: 臨床薬理学. 東京, 廣川書店, 16, 1988.
- 29) **Barany EH**: Inhibition by hippurate and probenecid of in vitro uptake of iodipamide and o-iodohippurate. A composite uptake system for iodipamide in choroid plexus, kidney cortex and anterior uvea of several species. *Acta Physiol Scand* 86: 12—27, 1972.
- 30) **Barany EH**: Bile acid as inhibitors of liver-like anion transport system in the rabbit kidney, uvea and choroid plexus. *Acta Physiol Scand* 92: 195—203, 1974.
- 31) **Tsuboi S, Taki-Noie J, Emi K, et al**: Fluid dynamics in eyes with rhegmatogenous retinal detachments. *Am J Ophthalmol* 99: 673—676, 1985.
- 32) **Frambach DA, Valentine JL, Weiter JJ**: Alpha-1 adrenergic receptors on rabbit retinal pigment epithelium. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 29: 737—741, 1988.
- 33) **Frambach DA, Valentine JL, Weiter JJ**: Topical phenylephrine for mydriasis affects rabbit retinal pigment epithelial transport. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 30: 343—344, 1989.