

糖尿病と前房蛋白濃度

5. 前房蛋白濃度の上昇と虹彩血管障害の関係

加藤 聡, 大鹿 哲郎, 船津 英陽, 国定 勝郎, 山下 英俊, 澤 充

東京大学医学部眼科学教室

要 約

糖尿病患者における前房蛋白濃度 (APC) と虹彩血管障害との関係を検討した。虹彩血管は、糖尿病患者 45 名 49 眼の白内障手術時の周辺虹彩切除術により得られた虹彩組織において、透過型電子顕微鏡により観察した。術前にフレアー・セルメーターで測定した APC を外的基準とし、網膜症の程度、腎症 (尿蛋白) の程度、年齢、虹彩血管の組織像を説明変数として、数量化理論第一類による多変量解析を行った。全例を対象とした解析では、APC への寄与度は腎症、網膜症の順に大きく、虹彩血管障害の関与は最も小さかった。一方、網膜症のない例および軽症糖尿病網膜症 (福田分類 AI 期) の 18 眼では、虹彩血管障害の程度は、腎症の程度に次いで、APC の上昇に関与していた。以上から、糖尿病患者における APC 上昇には、網膜症初期の段階では虹彩血管の障害が、また網膜毛細血管床閉塞が生じた進行網膜症の病期では血液網膜柵の破綻が主に関与していると考えられた (日眼会誌 96:1000-1006, 1992)

キーワード: 前房蛋白濃度, 糖尿病, 虹彩血管, 糖尿病網膜症, 腎症

Aqueous Protein Concentration in Diabetics.

Report 5 Relationship between Aqueous Protein Concentration and Pathological Findings of Iridial Vessels

Satoshi Kato, Tetsuro Oshika, Hideharu Funatsu,

Katsuro Kokutei, Hidetoshi Yamashita and Mitsuru Sawa

Department of Ophthalmology, University of Tokyo School of Medicine

Abstract

The relationship between aqueous protein concentration (APC) and pathological changes in the iridial blood vessels was investigated in 49 eyes of 45 diabetic patients who underwent cataract surgery. APC was measured with a laser flare-cell meter before surgery. The quantification analysis method (type I, multivariate analysis) revealed that the most relevant factor to APC was the existence of nephropathy followed by, in descending order, the degree of retinopathy and changes in iridial vessels as demonstrated by electron microscopy. When data were reanalyzed after exclusion of the iridial vessels were found to be strongly relevant to APC. These results suggest that breakdown of the blood-retinal barrier contributes to the APC increase in eyes with advanced diabetic retinopathy, and that changes in iridial vessels may mainly influence APC in non-and milder-retinopathy groups. (*Acta Soc Ophthalmol Jpn* 96:1000-1006, 1992)

Key words: Aqueous protein concentration, Diabetes mellitus, Iridial vessel, Diabetic retinopathy, Nephropathy

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 加藤 聡
(平成4年1月31日受付, 平成4年3月18日改訂受理)

Reprint requests to: Satoshi Kato, M.D. Department of Ophthalmology, University of Tokyo School of Medicine. 7-3-1 Hongo, Bunkyo-ku 113, Japan

(Received January 31, 1992 and accepted in revised form March 18, 1992)

I 緒 言

糖尿病患者では前房蛋白濃度 (aqueous protein concentration) (以下 APC) が上昇しており、その程度は眼局所では糖尿病網膜症の程度と相関があり^{1)~5)}、全身因子では腎症の程度と相関があることが判明している⁶⁾⁷⁾。これらのことより糖尿病眼における APC の上昇は、糖尿病による microangiopathy に関連していることが考えられている。しかし、その具体的な機序に関しては不明な点が多く、現在では血液網膜柵及び血液房水柵破綻の双方の関与が考えられている⁸⁾。すなわち、網膜血管病変 (網膜毛細血管床閉塞領域) と APC の間に強い相関がみられ、このことから血液網膜柵の破綻により APC の上昇が生じると考えられる⁹⁾。一方、糖尿病眼において、虹彩血管の異常が形態学的に電子顕微鏡を用いた検討^{10)~15)}や、虹彩蛍光造影による虹彩血管からの漏出^{16)~18)}などにより報告され、血液房水柵の破綻による APC の上昇も考えられている。そこで本報では血液網膜柵の状態の程度として網膜症の程度、血液房水柵の機能の障害の一つとして虹彩血管障害、さらにこれまでに APC に相関があると報告されている腎症の程度と年齢⁷⁾¹⁹⁾を含んだ多変量解析を行い、APC との相関の大きさについて検討したので報告する。

II 対象および方法

1. 対象

対象は、東京大学医学部附属病院眼科、東京厚生年金病院眼科で白内障手術を受けた糖尿病患者 45 例 49 眼である。強度の屈折異常、結膜炎、APC 測定不能の白内障、ぶどう膜炎や緑内障等の眼科的疾患を合併する症例は対象から除外した。また網膜光凝固術の影響³⁾²⁰⁾を考慮して、網膜光凝固術施行後 6 か月以内の症例は除外した。対象の平均年齢は 65.4 ± 6.5 (平均値 \pm 標準偏差) 歳、糖尿病平均罹病期間は 12.5 ± 7.3 年であった。

2. 虹彩組織の検討

本研究では術中の周辺虹彩切除の際に得られた組織を病理学的検討対象とし、本研究目的について東京大学医学部倫理委員会の承認を受け、全ての患者から同意を得た。白内障手術中に採取した虹彩組織は、2.5% グルタルアルデヒド + 2% ホルマリン液 (0.1 M リン酸緩衝液, pH=7.4) にて固定し、1% オスミウム酸 (0.1 M リン酸緩衝液, pH=7.4) にて後固定を行い

(4℃, 1時間), エタノール系列脱水, エポキシ樹脂包埋を行った後、超薄切片を作成し、酢酸ウランおよびクエン酸鉛で二重染色の後、透過型電子顕微鏡 (日立 H-600 A 型) にて虹彩血管の断面を観察した。1 症例中に 5 個未満の血管断面しか観察できなかった症例は対象から除外した。

3. 前房蛋白濃度 (APC) の測定

APC の測定は、手術前日にレーザーフレアー・セルメーター²¹⁾ (FC-1000, 興和) で、前回の報告^{1)~3)6)}と同様の方法で行った。すなわち測定条件を一定にする目的で、ミドリリン P[®] の点眼後 30 分から 1 時間の間²²⁾に、また APC の日内変動²³⁾を考慮して、午前 11 時より午後 3 時までの間に測定を行った。各眼 10 回の測定値の平均フレアー値を牛アルブミン等量濃度に換算し、APC とした。強い白内障の為にレーザーフレアー・セルメーターによる測定が不可能であった症例は対象から除外した。

4. 網膜症

網膜症の程度は、手術翌日に検眼鏡により観察するとともに、前増殖期以上に進行していると考えられた症例に対しては術後 1 か月以内に蛍光眼底撮影を施行し、福田分類²⁴⁾を用いて程度分類した。その内訳を、表 1 に示す。

5. 腎症

腎症の程度は、術前全身検査として実施した尿蛋白の半定量的測定結果を用いた。

6. 解析方法

数量化理論第一類²⁵⁾を用い、外的基準として APC を、説明変数として年齢、網膜症の程度、尿蛋白の程度、虹彩血管の形態学的異常の各所見を取り上げ、それぞれの因子の外的基準に対する相関の大きさを検討した。説明変数のうち、虹彩血管障害の所見については、所見間の独立性を χ^2 検定にて行い、独立の場合は、各所見を各々の説明変数として取り上げた。独立でな

表 1 対象の網膜症病期

網 膜 症	眼 数
網膜症 (-)	14 眼
A I 期	4 眼
A II 期	14 眼
A III 期	2 眼
B I 期	9 眼
B II 期	1 眼
B IV 期	4 眼
B V 期	1 眼

表2 説明変数の数量化

年 齢	網 膜 症	尿 蛋 白
60歳未満	1 網膜症(-)	1 (-) 1
60歳以上70歳未満	2 A I期	2 (±)~(+) 2
70歳以上	3 A II期	3 (+)以上 3
	B期, A III期以上	4

い場合は、虹彩血管障害の有無として一つの説明変数にまとめた。

数量化理論第一類は、項目(説明変数)のカテゴリー数量(weight)を未知数とし、項目間の未知数の和(一次結合値)と外的基準値との誤差が最小になる連立方程式の解により重みを算出したもので、重回帰分析に呼応している。

年齢、網膜症の程度、尿蛋白の程度の数量化の基準を表2に示すように行った。虹彩血管障害の程度は電顕上の各異常所見について認めたものを2、認めなかったものを1とした。これらの所見を一つ一つの血管断面につき、重複を許して数量化した。

解析はまずはじめに全例を対象にして多変量解析を行い、次に網膜毛細血管床閉塞領域のAPCへの影響⁹⁾を除外することを目的として、網膜毛細血管床閉塞領域が存在しない網膜症を認めない例(以下O期と表す)とAI期の18例18眼を対象として多変量解析を施行した。

III 結 果

1. 対象眼の前房蛋白濃度

今回の対象眼の前房蛋白濃度の平均は 55.9 ± 34.0 mg/dlで、過去の報告^{11)~13)}と同様に、同年代の正常眼の前房蛋白濃度の 32.5 ± 9.1 mg/dl¹⁹⁾に比べ、有意に上昇していた(t-test, $p < 0.01$)。また、O期、AI期のみの対象眼の前房蛋白濃度の平均は 39.8 ± 13.1 mg/dlで、同年代の正常眼の前房蛋白濃度に比べ有意に上昇していた(t-test, $p < 0.05$)。

2. 虹彩血管の病理組織像

観察した血管は、毛細血管前細動脈、毛細血管および毛細血管後細静脈であり、それらをこの研究における虹彩血管とした。すなわち今回の検討では、毛細血管細動脈以前の動脈及び毛細血管細静脈以降の静脈は観察の対象に含めなかった。基底膜の肥厚、多層化、虹彩血管内皮細胞のtight junctionの離解、虹彩血管内皮細胞の変性・脱落、pericyte(周辺細胞)の変性、内腔閉塞の所見を認めた。図1~4に典型的な例を示

す。図1の例では、基底膜の肥厚、多層化、pericyteの変性が認められる。図2の例では、基底膜の肥厚、多層化、pericyteの変性の他に、虹彩血管内皮細胞のtight junctionが離解し、その部位より血球成分が漏出していることが認められる。図3の例では、基底膜の肥厚、多層化の他に虹彩血管内皮細胞の変性、脱落が認められ、血管内腔の血漿成分が認められない。図4の例では、基底膜の肥厚、多層化の他に内皮細胞の著しい変性および管腔の閉塞がみられた。管腔を閉塞する細胞は、核が大きく、細胞壁には多くのグリコーゲン顆粒が見られたが起源は不明であった。その各々の所見の頻度は、基底膜の肥厚、多層化:100%、虹彩血管の内皮細胞のtight junctionの離解:43%、虹彩血管内皮細胞の変性・脱落:27%、pericyteの変性:41%、内腔閉塞:18%であった。

3. 全症例を対象とした解析

年齢、網膜症の程度、尿蛋白の程度は方法に述べた通りに数量化した。虹彩血管障害については、基底膜の肥厚、多層化は全例に認められたので説明変数より除外した。また、①虹彩血管内皮細胞のtight junctionの離解、②虹彩血管内皮細胞の変性・脱落、③pericyteの変性、④内腔閉塞の各所見は相互に強く相関し、多変量解析を施行するにあたり、互いに独立して扱えないことが判明した。そこで虹彩血管障害として一つの説明変数としてまとめて検討を行った。その数量化は、

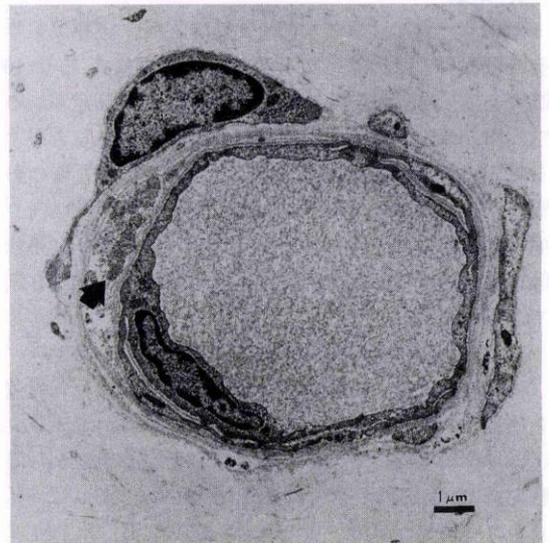


図1 基底膜の多層化、周辺細胞(pericyte)の変性(矢印)が認められる(×5,000)。

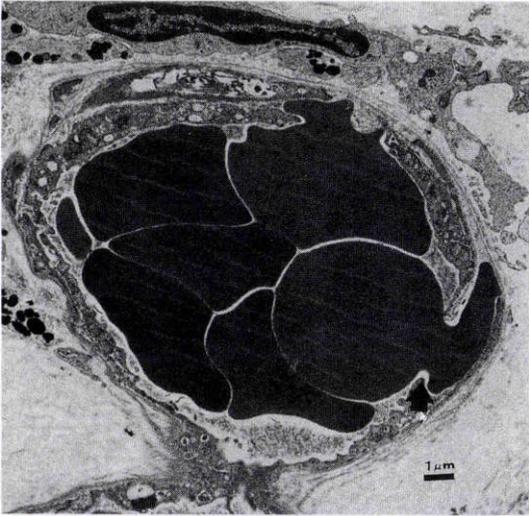


図 2 虹彩血管内皮細胞の tight junction の離解部から血液成分の漏出(矢印)が認められる(×4,000).

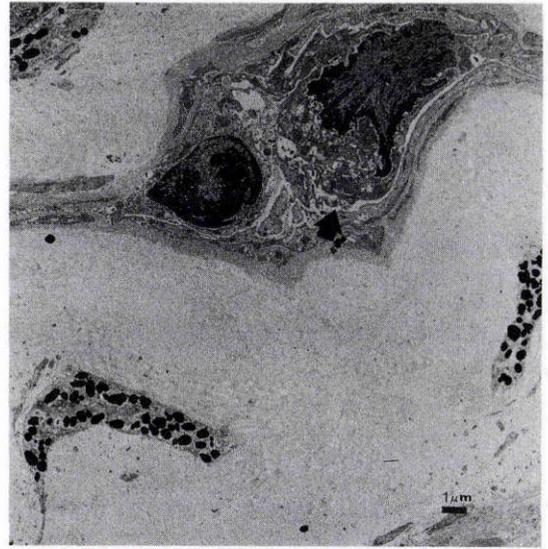


図 4 血管内腔の閉塞(矢印)が認められる(×3,000).

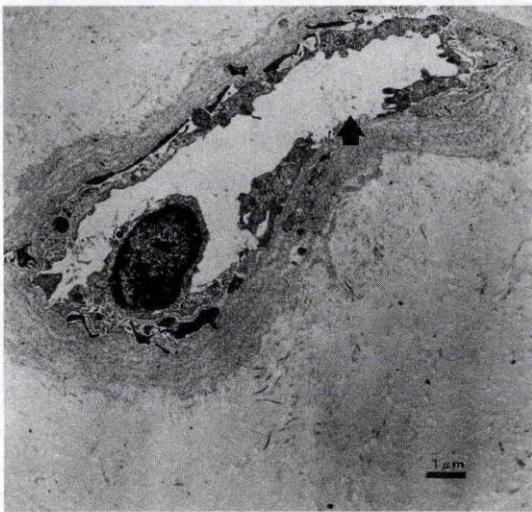


図 3 基底膜の肥厚, 内皮細胞の変性・脱落(矢印)が認められる(×5,000).

上記 4 つの所見中に一つでもその所見が認められたものを 2 とし, 認められなかったものを 1 とした. 年齢, 網膜症の程度, 尿蛋白の程度, 虹彩血管障害の各説明変数は, 独立として扱えた.

図 5 に全例を対象とした結果を示す. 横軸の RANGE は, 各説明変数の外的基準に対する寄与度を示す. APC に対し, 尿蛋白の程度, 網膜症の程度との関与が大きかった.

4. O 期と AI 期を対象とした解析

O 期と AI 期を対象とした多変量解析では, 虹彩血管障害の各所見は独立したものと扱えた. そこで, ①虹彩血管内皮細胞の tight junction の離解, ②虹彩血管内皮細胞の変性・脱落, ③ pericyte の変性, ④内腔閉塞の各所見について 1 か所でも認められるものを 2 とし, 認められないものを 1 とした(表 3). この 4 因子のほか年齢, 網膜症の程度, 尿蛋白の程度を含めた 7 因子を説明変数とし, 外的基準は APC とした. 年齢, 網膜症の程度, 尿蛋白の程度, 虹彩血管内皮細胞の tight junction の離解, 虹彩血管内皮細胞の変性・脱落, pericyte の変性, 内腔閉塞の各説明変数は独立として扱えた.

その結果を図 6 に示す. 尿蛋白の程度の次に虹彩血管障害の各所見が APC に関与することが判明した. この解析中に求められた RANGE の大きい 5 つの説明変数のカテゴリー-数量(各所見の程度の APC に対する関与の大きさを示す)を図 7 に示す. 尿蛋白の程度, 虹彩血管の内腔閉塞, pericyte の変性, tight junction の離解は APC と正の相関を示したが, 虹彩血管の内皮細胞の変性の所見は, APC と負の相関を示した.

IV 考 按

現在までに糖尿病患者の APC 上昇の原因機序については, ①糖尿病性細小血管症としての虹彩血管内皮

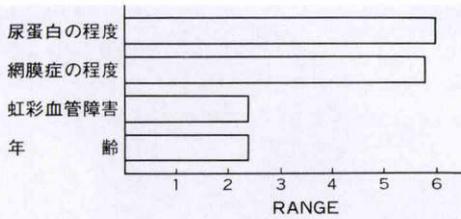


図5 全例を対象とした時の前房蛋白濃度に影響する因子。
尿蛋白の程度と網膜症の程度の寄与度が大きく、虹彩血管障害の程度の寄与度は小さかった。

表3 虹彩血管障害の数量化

Tight junction の離解	
虹彩血管内皮細胞の変性・脱落	
Pericyte (周辺細胞) の変性	
内腔閉塞	
(-)	1
(+)	2

細胞障害による柵機能の低下^{10)~12)}、②血液房水柵である毛様体無色素上皮の柵機能の低下、③血液網膜柵の破壊による硝子体経路の蛋白の漏出(硝子体出血によるコロイド成分の前房中への移行を含む)、④網膜由来の何らかの因子の前部ぶどう膜への影響²⁶⁾等が現在考えられている⁹⁾。今回の検討は、①の因子についての検討を行った。②については、実験的糖尿病ラットにおいては、毛様体無色素上皮細胞の tight junction は intact であるとの報告²⁷⁾や、人眼では実際に観察できないことにより今回は検討を行わなかった。既に我々は、③および④の因子の検討のため、網膜症 AII 期、BI 期において網膜血管床閉塞領域の広さと APC の関係を検討し、正の相関があることを報告している⁹⁾。

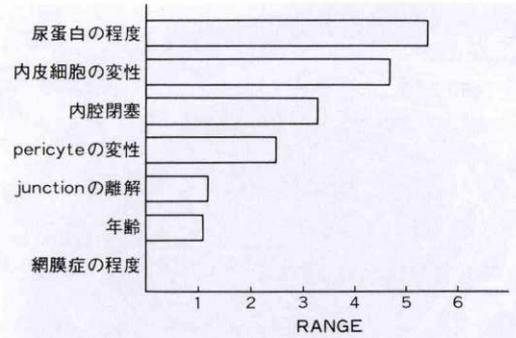


図6 O 期, AI 期を対象とした時の前房蛋白濃度に影響する因子。

尿蛋白の程度の次に虹彩血管障害の各所見の寄与度が大きく、網膜症の程度の寄与度はほとんど認められなかった。虹彩血管障害の各所見の内、特に内皮細胞の変性の所見が前房蛋白濃度に大きく寄与していた。

本来ならば今回の検討でも、全対象に蛍光眼底撮影を施行して、説明変数に網膜血管床閉塞領域の広さを加えることが理想であるが、網膜症が認められない糖尿病患者または福田分類 AI 期の患者に対し、蛍光眼底撮影を施行することは臨床医学的観点において過度の侵襲的検査になるため、今回の検討では、その説明変数は加えなかった。

「①虹彩血管内皮細胞の障害」については、すでに虹彩蛍光造影にて虹彩血管からの蛍光の漏出^{16)~18)}や糖尿病患者の虹彩の電子顕微鏡による形態学的検討で、虹彩血管の形態学的異常が指摘されている^{10)~15)}。又、今回の電子顕微鏡による観察でも実際に虹彩血管から血球成分が漏出しているところが認められた。このことは、糖尿病患者の APC の上昇原因として虹彩血管の形態学的異常が強く関与していることを考えさ

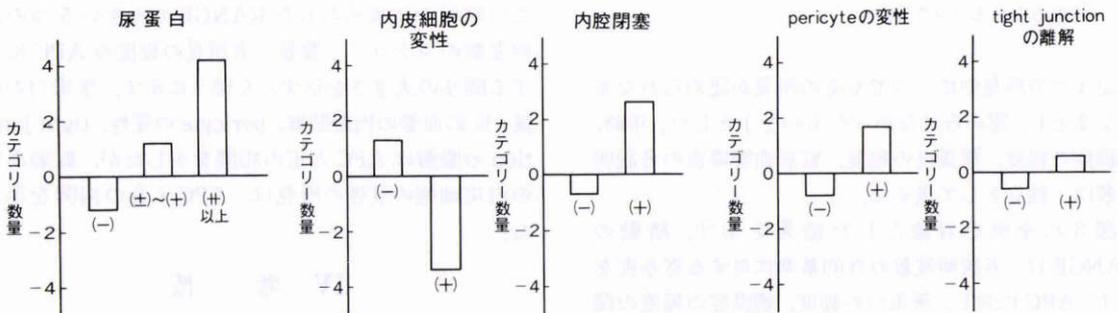


図7 RANGE の大きい5アイテムのカテゴリー数量。

内皮細胞の変性以外のアイテムは前房蛋白濃度と正の相関を示した。

せるものであった。しかし、APCの上昇と虹彩血管障害の程度との関連を検討するに際しては、APCの上昇が全身因子⁶⁾⁷⁾や網膜症の程度^{1)~5)}と強く相関があることが判明している以上、他の因子も含めた多変量解析が必要である。そこで今回は、虹彩血管の各所見に、現在までに相関があると報告されている腎症、網膜症、年齢を説明変数として加え、数量化理論第一類による解析を施行した。また、網膜毛細血管床閉塞領域がAPCに影響を与えていること⁹⁾が考えられるため、網膜毛細血管床閉塞領域が出現しないO期、AI期のみでも検討を行った。

その結果、全症例での解析は、APCと尿蛋白の程度、網膜症の程度との相関が強く、虹彩血管障害の各所見との相関が弱いとの結果が得られた。また、O期、AI期におけるAPCには、尿蛋白の程度の次に虹彩血管の各所見が強く関与しているとの結果であった。このことは、前増殖期、増殖期の網膜症をもつ糖尿病眼でのAPCの上昇の原因は虹彩の血管障害よりも、血液網膜柵の破綻によるものが主であると考えられる。一方O期、AI期のような網膜血管床閉塞領域が認められない糖尿病眼では、虹彩血管障害によってAPCが上昇している可能性を示している。すなわち、眼局所にてAPCの上昇する原因は、網膜血管床閉塞領域が出現する以前の糖尿病眼では、血液房水柵の一つである虹彩血管障害によることが考えられ、網膜血管床閉塞領域出現以降に進行した網膜症を持つ糖尿病眼では、血液網膜柵の破綻による影響が虹彩血管障害によるものより量的に上回ると考えられた。

O期、AI期を対象とした検討での虹彩血管障害のカテゴリー数量は虹彩血管内皮細胞の変性・脱落の所見以外は、APCと正の相関が認められた。この事は、虹彩血管内皮細胞の変性・脱落の所見以外の、他の虹彩血管障害により、APCが上昇することを意味する。

一方、内皮細胞の変性・脱落の所見がAPCと負の相関になった理由としては、手術操作によるartifactも否定できないが、血管の基底膜や周辺細胞の構築が破壊されずして、内皮細胞のみが手術的操作で破壊されたとは考えにくい。artifact以外の理由として、内皮細胞が変性・脱落に至るほど高度の虹彩血管障害の例ではその部位の虹彩血管の血流が高度に障害されていることが考えられる。実際に、内皮細胞が変性・脱落していることを認めた例では、管腔内に血漿成分および血球等が認められず(図3)、観察した血管より上流にて血管が閉塞していることが予想された。そのため、

そのような例では、虹彩血管の血流量自身が減少しており、結果的にAPCの上昇への影響が少なくなり、今回の結果が生じたと考えられた。

本論文の要旨は、第95回日本眼科学会総会、第56回日本中部眼科学会にて発表した。稿を終えるに当たり増田寛次郎教授の御校閲に深謝致します。

文 献

- 1) 加藤 聡, 大鹿哲郎, 船津英陽, 他: 糖尿病病期と前房蛋白濃度. 1. 網膜症病期との相関. 臨眼 43: 1005-1008, 1989.
- 2) Oshika T, Kato S, Funatsu H: Quantative assessment of aqueous flare intensity in diabetes. Graefe's Arch Clin Exp Ophthalmol 227: 518-520, 1989.
- 3) 加藤 聡, 大鹿哲郎, 船津英陽, 他: 糖尿病と前房蛋白濃度. 2. 光凝固の影響および左右眼の前房蛋白濃度の関係. 臨眼 44: 381-384, 1990.
- 4) 蔵並貴子, 水戸口裕, 北野滋彦, 他: 糖尿病性網膜症に対するレーザーフレアセルメーターの臨床応用—網膜症重症度と光凝固効果について—. あたらしい眼科 7: 155-160, 1990.
- 5) 安積 淳, 調 久光, 鉄本員章, 他: レーザーフレアセルメーターの糖尿病患者への臨床応用. 眼紀 40: 2494-2499, 1989.
- 6) 加藤 聡, 大鹿哲郎, 船津英陽, 他: 糖尿病と前房蛋白濃度. 3. 糖尿病患者の前房蛋白濃度と全身背景因子との関連性. 臨眼 44: 1288-1289, 1990.
- 7) 安積 淳, 井上政則, 山本 節: レーザーフレアセルメーターの糖尿病患者への臨床応用. II. 前房フレア値に影響を与える因子. 眼紀 41: 986-990, 1990.
- 8) 加藤 聡, 船津英陽: 糖尿病. 清水昊幸, 増田寛次郎 編: 眼科 Mook 42 レーザーフレア・セル測定. 東京, 金原出版, 152-162, 1990.
- 9) 加藤 聡, 大鹿哲郎, 船津英陽, 他: 糖尿病と前房蛋白濃度. 4. 前房蛋白濃度と網膜毛細血管床閉塞領域の関係. 臨眼 46: 149-153, 1992.
- 10) 谷口慶晃, 鮫島宗文: 糖尿病患者虹彩血管の微細構造状の変化. 日眼会誌 75: 1685-1697, 1971.
- 11) 小嶋一晃, 新見勝彦, 長谷川康紀, 他: 糖尿病における虹彩細小血管の変状について. 日眼会誌 77: 485-493, 1973.
- 12) 巖 富燮, 石橋達朗, 岩崎雅行, 他: 糖尿病患者の虹彩血管における透過亢進の機序について. 臨眼 37: 1251-1254, 1983.
- 13) 石橋達朗: 糖尿病における前部ぶどう膜の変化. 眼科手術 3: 221-226, 1990.
- 14) Ishibashi T, Tanaka K, Taniguchi Y: Electron microscopic study of uveal circulatory disturbance in experimental diabetic rats —Intraluminal changes of uveal vessels—. Jpn J

- Ophthalmol 27: 130—137, 1983.
- 15) **Ishibashi T, Tanaka K, Taniguchi Y**: Disruption of iridial blood-aqueous barrier in experimental diabetic rats. *Albrecht von Graefes Arch Klin Exp Ophthalmol* 219: 159—164, 1982.
 - 16) **Baggesen LH**: Fluorescence angiography of the iris in diabetics and non-diabetics. *Acta Ophthalmol* 47: 449—460, 1969.
 - 17) 半田幸子: 糖尿病性虹彩の蛍光血管造影法による観察. *臨眼* 30: 49—54, 1976.
 - 18) **Jensen VA, Lundbek K**: Fluorescence angiography of the iris in recent and longterm diabetes. *Diabetologia* 4: 161—163, 1968.
 - 19) **Oshika T, Kato S, Sawa M, et al**: Aqueous flare intensity and age. *Jpn J Ophthalmol* 33: 237—242, 1989.
 - 20) 蔵並貴子, 水戸口裕, 北野滋彦, 他: 糖尿病性網膜症に対する光凝固後早期における房水蛋白濃度の変化—レーザーフレアセルメーターを用いて—, *あたらしい眼科* 7: 161—165, 1990.
 - 21) **Sawa M, Tsurumaki Y, Tsuru T, et al**: New quantitative method to determine protein concentration and cell number in aqueous in vivo. *Jpn J Ophthalmol* 32: 132—142, 1988.
 - 22) **Oshika T, Kato S**: Changes in aqueous flare and cells after mydriasis. *Jpn J Ophthalmol* 33: 271—278, 1989.
 - 23) **Oshika T, Araie M, Masuda K**: Diurnal variation of aqueous flare in normal human eyes. Measured with laser flare-cell meter. *Jpn J Ophthalmol* 32: 143—150, 1988.
 - 24) 福田雅俊: 糖尿病性網膜症の病期分類, 小坂樹徳編: *糖尿病学*, 東京, 診断と治療社, 214—232, 1984.
 - 25) 駒澤 勉: 数量化理論とデータ処理. 東京, 朝倉書店, 10—48, 1982.
 - 26) **Ashton N**: Retinal vascularization in health and disease. *Am J Ophthalmol* 44: 7—17, 1957.
 - 27) 石橋達朗, 谷口慶晃, 田中健蔵: 実験的糖尿病ラットにおけるぶどう膜循環障害の発生機序とその意義に関する電顕的研究. *日眼会誌* 86: 1633—1641, 1982.