

フルオロフォトメトリーを用いた健常者の涙液量、 涙液 turnover rate の測定

清水 章代¹⁾, 横井 則彦¹⁾, 西田 幸二¹⁾, 木下 茂¹⁾, 秋山 光一²⁾

¹⁾京都府立医科大学眼科学教室, ²⁾興和医用技術部

要 約

涙液・角膜を測定対象とした高感度のフルオロフォトメーターを使用して、健常者 16 例 31 眼の涙液量、涙液の turnover rate を算出した。点眼には 50,000 ng/ml (0.005%) のフルオレセインナトリウム溶液を 1 μ l 使用した。耳側球結膜に非接触性に点眼した後、下眼瞼涙液メニスカス中央部のフルオレセインの蛍光強度を、1 分毎に 10 分後まで測定した。得られた測定値を濃度換算した後、Mishima ら²⁾の方法に従って解析した。健常者の涙液量は $12.4 \pm 6.2 \mu\text{l}$, initial turnover rate は $31.5 \pm 14.4\%/\text{min.}$, basal turnover rate は $24.0 \pm 14.2\%/\text{min}$ (平均値 $\pm$ 標準偏差) であった。性差、左右差、ハードコンタクトレンズ装用の有無で、有意差はみられなかった。また、10,000 ng/ml 溶液を 5 μ l 点眼して同様に測定を行った結果、上記の測定結果と比べ、涙液量、initial turnover rate は有意に高値をとった。涙液動態の解析には刺激の少ない条件下での測定が必要と思われた。(日眼会誌 97: 1047—1052, 1993)

キーワード: 涙液量, 涙液 turnover rate, フルオロフォトメトリー

Fluorophotometric Measurement of Tear Volume and Tear Turnover Rate in Human Eyes

Akiyo Shimizu¹⁾, Norihiko Yokoi¹⁾, Kohji Nishida¹⁾

Shigeru Kinoshita¹⁾ and Koichi Akiyama²⁾

¹⁾Department of Ophthalmology, Kyoto Prefectural University of Medicine

²⁾Medical Engineering Dept., Electronics & Optics Division, Kowa Company Ltd.

Abstract

Tear volume and turnover rate were measured in 31 normal eyes using a newly designed objective fluorophotometer. After instillation of 1 μ l of 50,000 ng/ml fluorescein solution, its concentration in the lower marginal strip was measured every minute for 10 minutes after instillation. The tear volume and the tear turnover rate were determined using the method of Mishima et al. (Invest. Ophthalmol. Vis. Sci., 1966). The tear volume in this study was $12.4 \pm 6.2 \mu\text{l}$, initial turnover rate was $31.5 \pm 14.4\%/\text{min.}$, and basal turnover rate was $24.0 \pm 14.2\%/\text{min.}$ (Mean $\pm$ SD). There were no significant differences in sex, age or use of contact lens. We also measured the tear volume and turnover rate using 5 μ l of 10,000 ng/ml fluorescein solution in the same way. The result turned out to be significantly higher, suggesting that minimal irritation is required for evaluating the tear flow. (J Jpn Ophthalmol Soc 97: 1047—1052, 1993)

Key words: Tear volume, Tear turnover rate, Fluorophotometry

別刷請求先: 602 京都市上京区河原町広小路上ル梶井町 465 京都府立医科大学眼科学教室 清水 章代
(平成5年3月31日受付, 平成5年4月27日改訂受理)

Reprint requests to: Akiyo Shimizu M.D. Department of Ophthalmology, Kyoto Prefectural University of Medicine, 465 Kajicho, Hirokouji-agaru, Kawaramachi-dori, Kamigyo-ku, Kyoto 602, Japan

(Received March 31, 1993 and accepted in revised form April 27, 1993)

I 緒 言

フルオロフォトメーターを使用して点眼後のフルオレセインナトリウム濃度を経時的に測定することにより、生体眼における組織透過性や、涙液、房水などの動態を解析することができる。涙液動態の解析に関しては、Maurice¹⁾が開発したフルオロフォトメーターを使用して、Mishima ら²⁾がすでに詳細な報告を行っており、それによると健常者の涙液量は $70 \pm 2.0 \mu\text{l}$ 、涙液の turnover rate は $16\%/\text{min}$ と報告されている。以後の研究には、この型のフルオロフォトメーターの改良型が使用され、Jordan ら³⁾は点眼麻酔による涙液動態の変化を、Webber ら⁴⁾は涙液 turnover の日内変動を、Occipinti ら⁵⁾はシルマー値と turnover の関係を、Kok ら⁶⁾はハードコンタクトレンズ（以下 HCL）装用の有無による涙液 turnover rate の相違を報告している。しかしながら、フルオロフォトメーターを使用した涙液動態の解析法はいまだ臨床応用されていない。今回我々は、臨床応用可能な、涙液・角膜を測定対象としたフルオロフォトメーターを開発して、健常者の涙液量、涙液の turnover rate を測定し、若干の知見を得たので報告する。

II 実験方法

1. 対象

眼疾患のない健常人 16 例 31 眼（19～30 歳、男性 9 例、女性 7 例）を対象とした。その内訳は、正常者 12 例 24 眼、HCL の涙液動態に対する影響をみるため、HCL 装用者 4 例 7 眼（1 眼は角膜びらんのため除外）とした。HCL 装用者に対しては HCL 装脱直後に測定を行った。また、全例に対しあらかじめシルマー第 2 法を行い、涙液分泌低下（5 分値 5 mm 以下）のないことを確認した。

2. 測定方法

1) 模型眼での測定

生体眼と同様の大きさの涙液メニスカスを持つ模型眼（図 1）を使用し、濃度と測定値との関係を調べた。模型眼に、0, 10, 20, 40, 60, 80, 100, 150, 200, 500, 1,000, 2,000, 5,000, 10,000, 25,000, 50,000 ng/ml のフルオレセイン溶液をそれぞれ点眼し、涙液メニスカス中央のフルオレセインの蛍光強度を測定した。

2) 健常者での測定

点眼溶液として、50,000 ng/ml（0.005%）の濃度に

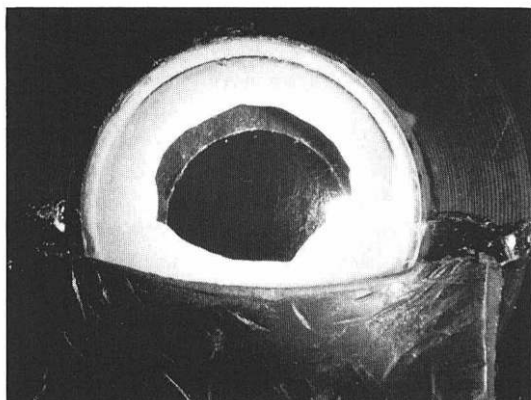


図 1 生体眼と同様の涙液メニスカスを持つ模型眼。

希釈したフルオレセインナトリウム溶液を使用した。最初に、点眼前の涙液メニスカスからの蛍光強度をバックグラウンド値として測定した。次に、マイクロピペット（Eppendorf）を使用し、 $1 \mu\text{l}$ を耳側球結膜へ非接触性に点眼した後、下眼瞼涙液メニスカス中央部でのフルオレセインの蛍光強度をフルオロフォトメーターで測定した。測定は 1 分毎に 10 分後まで行い、瞬目と測定のタイミングにより若干値が前後するため、それぞれ 5 回の測定値の平均をとった。5 回の測定には約 20 秒かかるため、測定時刻の 10 秒前から 10 秒後の平均をとったことになる。測定中は前方の指標を固視するように指示し、瞬目は自然にさせ、欠伸などの涙液分泌を刺激するような動作は禁止した。同時に、測定者とは別の第三者が、瞬目回数の測定を行った。

3) 点眼量が刺激分泌に与える影響

点眼量の違いによる、涙液量、涙液 turnover rate の測定値の変化をみるために、10,000 ng/ml の濃度のフルオレセインナトリウム溶液を $5 \mu\text{l}$ 使用して、健常者 10 例 20 眼（コンタクトレンズ非装用者）に対し、2) と同様の方法で測定を行い、結果を比較した。

3. 測定装置の概要

今回使用したフルオロフォトメーターのブロックダイアグラムを図 2 に示す。本装置はスリットランプからの投光系と観察系とが、それぞれ視軸に対し 30° , 60° となっており、この 2 つの系の相交部での、 $0.3 \times 0.5 \text{ mm}$ の測定視野での蛍光が光電子増倍管に導かれ、測定値として表示される。つまり、図 3 に示すように投光系と観察系とを 90° にすると、効率よく涙液メニスカス内の蛍光を測定できる。この装置の励起フィルターは波長約 475～520 nm、干渉フィルターは波長約

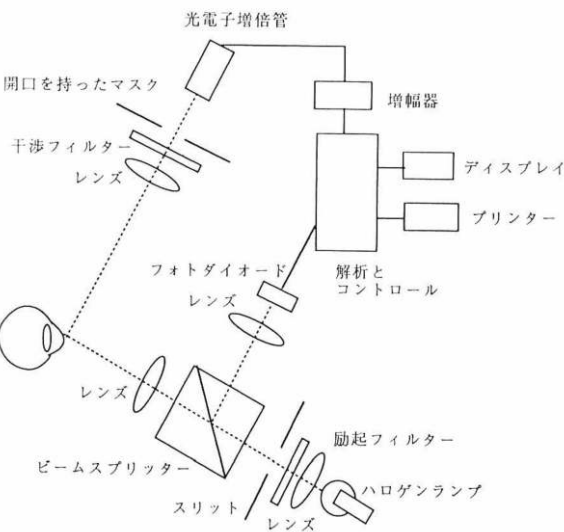


図 2 測定装置のブロックダイアグラム.

530～600 nm のものを使用している. すなわち, 干渉フィルターは波長 600 nm 以上の近赤外線のカットしているため準暗室で測定でき, これが本装置の特徴の一つとなっている. 今回の測定は倍率 25 倍で行った. 測定視野と涙液メニスカスの位置関係の違いによりかなりの測定誤差が生じる可能性があるが, 今回の測定例では測定視野は涙液メニスカスの高さより低かったため, 測定視野の下縁を常に下眼瞼縁に合わせて測定した (図 3).

4. データ解析

解析は, Mishima ら²⁾の方法を使用した. 測定値からバックグラウンド値を差し引き, 濃度換算した後, 縦

軸に濃度の対数を, 横軸に時間をとってグラフにした. 代表例を図 4 に示す. 濃度変化は, 時間 0 の時の濃度を $C_0(\text{ng/ml})$, 時間を t とすると, $C=C_0 \cdot \exp(-kt)$ に従って変化する. ここでの k は涙液の turnover である. すなわち, 縦軸に濃度の対数を横軸に時間をとってグラフにし, 回帰直線を引いた場合, 初期濃度 C_0 は y 切片から, turnover は直線の傾きから求められることになる. 涙液の turnover は初めは速いが徐々に減少する傾向にあり, 4～5 分後を境に 2 つのカーブに分けられるものがあった.

1) 涙液量

涙液量は, 1～5 分値までの回帰直線と縦軸との交点から求められる初期濃度 C_0 を用いて,

涙液量 $V(\mu\text{l}) = \{ \text{点眼したフルオレセイン濃度} (\text{ng/ml}) / C_0(\text{ng/ml}) - 1 \} \times \text{点眼量} (\mu\text{l})$

の計算式に当てはめて計算した.

2) 涙液 turnover rate

涙液の turnover rate は回帰直線を引いたときの傾きに相当する. 5 分後までの turnover rate を initial turnover rate, 6～10 分の turnover rate を basal turnover rate と区別して求めた.

III 結 果

1. 模型眼での測定結果

模型眼の涙液メニスカス中では, 0～10,000 ng/ml の濃度において測定値との間に相関のよい直線関係があった (図 5). 以後, この相関関係を用いて, 測定値を濃度換算した. 涙液量の定量には初期濃度を用いるが, この初期濃度は 0～10,000 ng/ml の範囲に入って

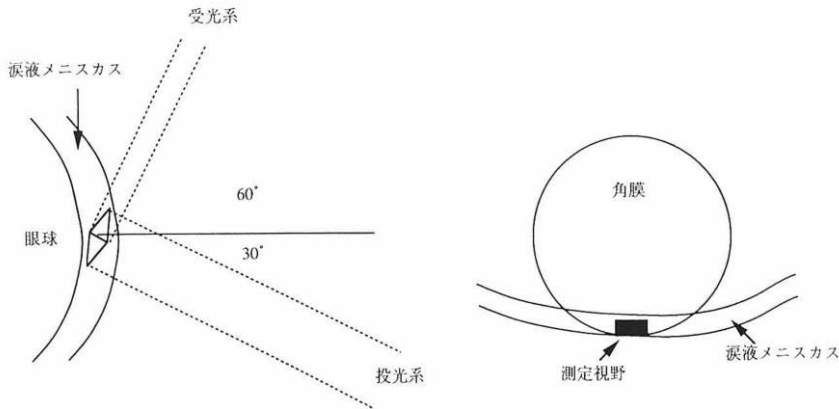


図 3 フォーカルダイヤモンドと測定領域との関係.

左: 上方からみた図 右: 前方からみた図

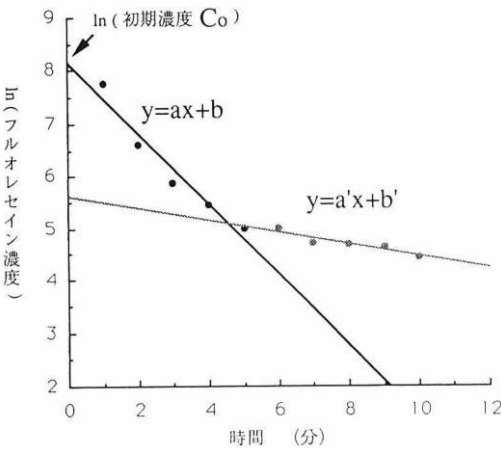


図4 涙液量，涙液 turnover rate の求め方.

5分までの値と，6～10分後の値で分け，それぞれ回帰直線を引く．涙液量 V は，初期濃度 $C_0 (=b)$ を用いて計算する．Initial turnover rate は a, basal turnover rate は a' である．

いる必要があることがわかった．

2. 健常者での測定結果

5回の測定値のばらつきは，多くとも測定値の10%であった．測定結果を表1に示す．健常者の涙液量は $12.4 \pm 6.2 \mu\text{l}$ ，initial turnover rate は $31.5 \pm 14.4\%/\text{min}$ ，basal turnover rate は $24.0 \pm 14.2\%/\text{min}$ ．（平均値±標準偏差）であった．解析の際に5分値を境に

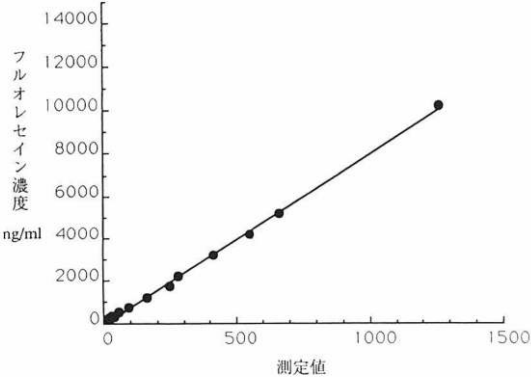


図5 測定値とフルオレセイン濃度の関係.

フルオレセイン濃度 0～10,000 ng/ml において， $y = 7.96x - 90.0$ ($r = 0.999$) の直線相関が認められた．

引いた2本の回帰直線の相関係数はそれぞれ，initial は $r = 0.929 \pm 0.05$ （平均値±標準偏差），basal は $r = 0.931 \pm 0.06$ （平均値±標準偏差）であった．性差，左右差，HCL 装用の有無で，涙液量，turnover rate に t-検定で有意に差はみられなかった．しかし，女性は男性に比べ，涙液量，initial turnover rate がやや高い傾向にあった．測定中の瞬目回数は， 27.9 ± 6.3 回/min（平均値±標準偏差）であった．

3. 点眼量の違いによる影響

結果を表2に示す．涙液量は $20.8 \pm 20.5 \mu\text{l}$ ，initial

表1 健常者での測定結果

			Tear volume (μl)	Turnover rate (%/min.)	
				initial	basal
			12.4±6.2	31.5±14.4	24.0±14.2
男	性		11.7±7.2	26.4±8.9	21.5±15.7
		女	13.4±7.2	38.7±17.8	27.3±12.0
右	眼		11.3±4.7	35.3±16.2	23.3±12.5
		左	13.5±7.5	27.7±11.8	24.8±16.2
ハードコンタクトレンズ 装用者			10.4±6.7	29.7±21.2	19.7±6.0

平均値±標準偏差

表2 点眼内容の違いによる測定結果の比較

点眼内容		Turnover rate (%/min.)	
		initial	basal
50,000 ng/ml × 1 μl		$12.4 \pm 6.2^*$	$31.5 \pm 14.4^*$ 24.0 ± 14.2
10,000 ng/ml × 5 μl		$20.8 \pm 20.5^*$	$38.9 \pm 13.8^*$ 25.5 ± 16.2

* $p < 0.05$ 平均値±標準偏差

turnover rate は $38.9 \pm 13.8\%/min$, basal turnover rate は $25.5 \pm 16.2\%/min$ (平均値 $\pm$ 標準偏差) であり, 涙液量, initial turnover rate は, 50,000 ng/ml 溶液を $1\mu l$ 点眼したときと比べ, t-検定で有意に高値を取った。

IV 考 按

Mishima ら²⁾は, 涙液メニスカス中のフルオレセイン濃度は4~5分後を境に通常2相性に減少していくと報告しており, 濃度変化が初期に速いのは点眼による刺激分泌の結果であるとしている。Jordan ら³⁾は, 点眼麻酔をしなかった場合2相性(約5分後で分けられる)で, 点眼麻酔をした場合は1相性であったと報告しており, やはり初期には点眼による刺激分泌が起こっているとしている。我々の測定結果でも, フルオレセインの濃度変化は初期には速く, 徐々に遅くなり最終的に一定速度をとった。その変化の様子は, 2相性というよりは多相性を示す場合が多かったが, 約5分値以降はほぼ一定となっていたため, Mishima ら²⁾の方法に従って turnover rate を2つに分けて解析した。涙液の turnover には, 分泌と涙点からの排出とが関与しているため, 初期に濃度変化が速いのは点眼による刺激分泌のみではなく, 点眼により涙液量が一時的に増加したための排出量の増加も関係していると考えられる。

我々の求めた涙液量は, Mishima ら²⁾の報告に比べてやや高値であった。涙液量に関しては Mishima ら²⁾の他に, Jordan ら³⁾の $7.4 \pm 1.3\mu l$, 村上ら⁷⁾が Fluorotron Master を使用した $14.1 \sim 86.2\mu l$ (7例の測定結果) という報告がある。最近では角膜上の涙液層は従来いわれてきた $7\mu m$ よりも約4倍以上厚いという報告⁸⁾もあり, 涙液の水層が従来考えられてきたより厚い可能性はある。しかしながら, どちらの涙液量の絶対値がより正確であるかを考察するのに十分な根拠となるものは現時点ではない。ただし, 我々の測定例では, ばらつきが少なく再現性のある結果が得られているため, 十分臨床応用できる値であると考えている。涙液の turnover rate は Mishima ら²⁾の報告と近い値であった。この結果を用いて, 点眼した溶液が涙液中で1%に薄められるまでの時間を計算すると, 約16.5分となる。Mishima ら²⁾は, initial turnover rate は若年者, 女性が大きい傾向であったと報告しており, これは今回の測定結果と一致した。Occipinti ら⁵⁾, Kok ら⁶⁾は, HCL 装用者と非装用者では涙液の turnover

rate に有意な差はなかったと報告しているが, 我々の結果でも有意な差はみられなかった。

点眼量による刺激分泌の違いについては, 点眼条件としては同一濃度であっても, $5\mu l$ 使用した方が涙液量, initial turnover rate は有意に高値をとった。点眼量の増加により刺激分泌と涙液排出量が増加したため initial turnover rate が高値をとり, また, 点眼による涙液量の増加および一時的な涙液分泌の増加により, 涙液量が実際よりも高値をとったと考えられる。Mishima ら²⁾は, 点眼量 $1\mu l$ と微量でも刺激分泌を引き起こすとしている。今回我々が使用した点眼条件としては, Mishima ら²⁾の報告より低濃度の溶液を使用しており, より刺激の少ない条件下で測定できていると考えられる。

Jordan ら³⁾は, 点眼麻酔後でも眼瞼縁を刺激すると turnover rate は300%増加すると報告している。今回の我々の報告でも点眼量を多くすると turnover rate が増加したことから, 涙液動態の評価にはより非侵襲的な検査法が望ましいといえる。今回我々が試みた50,000 ng/ml 溶液を $1\mu l$ 使用した涙液量, 涙液 turnover rate の測定法は, 現行の涙液検査法の中では最も非侵襲的であり, 自然な状態での涙液の量的および質の評価をする上で, 非常に有用であると考えられた。また, 測定時間が短く, 準暗室で測定可能であることを考え合わせると, 涙液・角膜専用のフルオロフォトメーターは外来診療において, 涙液量の定量, 涙液 turnover など涙液動態の評価を簡単に行える検査法となり得ると考えられた。

この研究の一部は京都府医学振興会の研究助成金の一部を用いて行われた。

文 献

- 1) Maurice DM: A new objective fluorophotometer. *Exp Eye Res* 2: 33-38, 1963.
- 2) Mishima S, Gasset A, Klyce SD, Baum JL: Determination of tear volume and tear flow. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 5: 264-275, 1966.
- 3) Jordan A, Baum J: Basic tear flow, does it exist? *Ophthalmology* 87: 920-930, 1980.
- 4) Webber WR, Jones DP, Wright P: Fluorophotometric measurements of tear turnover rate in normal healthy persons: Evidence of a circadian rhythm. *Eye* 1: 615-620, 1987.
- 5) Occhipinti JR, Mosier MA, LaMotte J, Monji GT: Fluorophotometric measurement of human tear turnover rate. *Curr Eye Res* 7: 995-1000, 1988.

- 6) **Kok JHC, Boets EPM, van Best JA, Kijlstra A**: Fluorophotometric assessment of tear turnover under rigid contact lenses. *Cornea* 11(6): 515—517, 1992.
- 7) 村上正建, 後藤 修, 森 林平: 涙液分泌測定に関する一考察. *日コ・レ誌* 25: 178—181, 1983.

- 8) **Prydal JI, Atrul P, Woon H, Campbell FW**: Study of human precomeal tear film thickness and structure using laser interferometry. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 33: 2006—2011, 1992.
-