

中心性漿液性網脈絡膜症患者における血中組織プラスミノゲン アクチベータおよびプラスミノゲンアクチ ベータインヒビター-1の動態

山田利津子¹⁾, 山田 誠一²⁾, 石井 明治³⁾, 太根 節直¹⁾

¹⁾聖マリアンナ医科大学眼科学教室, ³⁾聖マリアンナ医科大学産婦人科学教室

²⁾東京医科歯科大学医動物学教室

要 約

中心性漿液性網脈絡膜症 (idiopathic central serous chorioretinopathy, ICSC と略す) はストレスが誘因となって発症することも多く, 脈絡膜の循環障害に起因するものと考えられている。我々は既に循環障害の risk factor として血清諸脂肪値が組織プラスミノゲンアクチベータ (tissue plasminogen activator, t-PA と略す) に強い影響を及ぼすことを報告した。今回は ICSC 新鮮例を対象に血中 t-PA 抗原, プラスミノゲンアクチベータインヒビター-1 (plasminogen activator inhibitor-1, PAI-1 と略す) 抗原を測定し, 同時に測定した血清総コレステロール (total cholesterol, TCH と略す), 中性脂肪値 (triglycerides, TG と略す), 高比重リポタンパクコレステロール (high-density lipoprotein cholesterol, HDL と略す) との関連について検討した。その結果, 血中 t-PA 活性低値, t-PA 抗原および PAI-1 抗原高値, 血清 TG 高値, HDL 低値が認められた。これらの知見は, 原因あるいは結果として ICSC の病態生理に関連のある可能性が考えられた。(日眼会誌 97: 955-960, 1993)

キーワード: 中心性漿液性網脈絡膜症, 組織プラスミノゲンアクチベータ, プラスミノゲンアクチベータインヒビター, 中性脂肪, 高比重リポタンパクコレステロール

Evaluation of Tissue Plasminogen Activator and Plasminogen Activator Inhibitor-1 in Blood Obtained from Patients of Idiopathic Central Serous Chorioretinopathy

Ritsuko Yamada¹⁾, Seiichi Yamada²⁾, Akiharu Ishii³⁾ and Sadanao Tane¹⁾

¹⁾Department of Ophthalmology, St. Marianna University, School of Medicine

²⁾Department of Medical Zoology, Tokyo Medical and Dental University School of Medicine

³⁾Department of Obstetrics and Gynecology, St. Marianna University School of Medicine

Abstract

It is postulated that idiopathic central serous chorioretinopathy (ICSC) may be induced by a variety of underlying choroidal diseases capable of producing initially alterations in the permeability of the choriocapillaries. A history of unusual emotional stress frequently accompanies the onset of visual complaints. We have reported that alterations of serum lipids may exert a powerful effect on

別刷請求先: 216 川崎市宮前区菅生 2-16-1 聖マリアンナ医科大学眼科学教室 山田利津子
(平成4年6月22日受付, 平成5年3月29日改訂受理)

Reprint requests to: Ritsuko Yamada, M.D. Department of Ophthalmology, St. Marianna University School of Medicine, 2-16-1 Sugao, Miyamae-ku, Kawasaki 216, Japan

(Received June 22, 1992 and accepted in revised form March 29, 1993)

tissue plasminogen activator (t-PA) levels acting as a risk factor of variable cardioangiopathies. In this study, we evaluated the levels of t-PA activity, t-PA antigen and plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1) in blood from the patients with central serous chorioretinopathy, and compared them with the levels of total cholesterol (TCH), triglycerides (TG), and high-density lipoprotein cholesterol (HDL). t-PA activity levels and HDL were lower than in standard controls but t-PA antigen, PAI-1 antigen, and TG were higher. These facts may be associated with the pathogenesis or pathophysiological features of ICSC. (J Jpn Ophthalmol Soc 97: 955-960, 1993)

Key words: Central serous chorioretinopathy, Tissue plasminogen activator, Plasminogen activator inhibitor, Triglycerides, High-density lipoprotein cholesterol

I 緒 言

中心性漿液性網脈絡膜症 (idiopathic central serous chorioretinopathy, ICSC と略す) はストレスが誘因となつて発症することも多く¹⁾, 脈絡膜の循環障害に起因するもの²⁾³⁾と考えられている。我々⁴⁾は、既に循環障害の risk factor として血清諸脂肪値が組織プラスミノゲンアクチベータ (tissue plasminogen activator, t-PA と略す) に強い影響を及ぼすことを報告した。今回は ICSC 新鮮例を対象に血中 t-PA 活性, t-PA 抗原, プラスミノゲンアクチベータインヒビター-1 (plasminogen activator inhibitor-1, PAI-1 と略す) 抗原を測定し、同時に測定した血清総コレステロール (total cholesterol, TCH と略す), 中性脂肪 (triglycerides, TG と略す), 高比重リポタンパクコレステロール (high-density lipoprotein cholesterol, HDL と略す) 値との関連について検討した。

II 患者および方法

患者: 蛍光眼底撮影をはじめとする眼科学的検査, その他理学的検査, および諸臨床検査所見から ICSC と診断された 34 名の患者を対象として用いた。1991 年 2 月から 7 月まで眼科を受診したこれらの ICSC 患者は発症後 5~12 日経過しており, 34 名中男性 31 名, 女性 3 名であり, 年齢は 26~58 歳 (平均値 ± 標準誤差, 43.1 ± 1.2 歳) であった。対照として年齢 24~59 歳 (45.3 ± 1.1 歳) の健康成人 45 名 (男性 30 名, 女性 15 名) を用いた⁵⁾。

午前 9:00~12:00 に 10 分以上の安静ののち, 通常の駆血法で採血して検体として用いた。t-PA 活性値の測定: 採血直後, トリス塩緩衝液で 4 倍に希釈した全血 2 ml と, モノクローナル抗体 SP-322 (山之内製薬) を $1 \mu\text{g/ml}$ の抗体濃度で 4℃ 下一晩反応させて被

覆した dipstick を用いて, 室温で 1 時間血中 t-PA とモノクローナル抗体を反応させた。

本法⁶⁾⁷⁾は, t-PA の活性部位を阻害しない部位で t-PA と結合するモノクローナル抗体を用い, 反応直後から全血を抗体と反応させることによって PAI-1 による阻害を最小限に抑えることができる。

反応後洗浄した dipstick を $0.042 \mu\text{M}$ Lys-plasminogen⁸⁾, $120 \mu\text{g/ml}$ BrCN-fibrinogen⁸⁾, 0.45 mM S-2251 (Kabi, Sweden) を含む反応液とともに 37℃ で 4 時間反応させた。生成したパラニトロアニリンを比色計を用いて 405 nm で検出し, 標準曲線から血中 t-PA 活性を算出した。残りの血液は 3,000 rpm, 20 分で遠心分離ののち, 上清を t-PA 抗原値および PAI-1 抗原値の測定に用いた。

t-PA 抗原値の測定: 一次抗体として SP-322 を用いて ELISA 法で測定した。 $1 \mu\text{g/ml}$ の SP-322 を室温で 4 時間反応させて microplate に被覆した。22 倍希釈した検体 $200 \mu\text{l}$ を投入後, 4℃ で一晩反応させた microplate を 0.05% polyoxyethylene sorbitan monolaurate 加トリス塩酸緩衝液で洗浄し, 二次抗体として $1 \mu\text{g/ml}$ ビオチン化 goat anti-human melanoma t-PA polyclonal antibody (American Diagnostica Inc., USA) を加え, 室温で 2 時間反応させた。反応後洗浄した microplate に 0.1% streptavidin-biotin peroxidase 複合体 (Amersham International) を加えて室温で 2 時間放置した。microplate を洗浄したのち, 基質として 3',3',5',5'-tetramethyl benzidine (和光純薬) を用いて, 405 nm で比色した。

PAI-1 抗原値の測定: Biopool 社 (Sweden) 製試薬, PAI 測定キットを用いて測定した。

血清脂肪値の測定: TCH はコレステロールオキシダーゼ/ペルオキシダーゼ (COD-POD) 酵素法⁹⁾, TG は

グリセロカイネース (GK)-NADH 法¹⁰⁾, HDL は等電点沈澱法¹¹⁾を用いて測定した. 統計学的方法: 通常の方法で各測定値の平均値と標準誤差を算出した. 有意差検定は Student の t 検定を用いて行った. 健康対照の t-PA 活性, t-PA 抗原, PAI-1 抗原, TCH, TG, HDL の各値の 95% 信頼区間を基準域とした.

III 結 果

1) ICSC 患者 (n: 34 名) の血中 t-PA 活性は 0.163 ± 0.029 ng/ml, t-PA 抗原 6.3 ± 0.6 ng/ml, PAI-1 抗原 91.3 ± 10.9 ng/ml で, 各々正規分布し, 健康対照の値 (各々 0.242 ± 0.026 ng/ml, 4.0 ± 0.2 ng/ml,

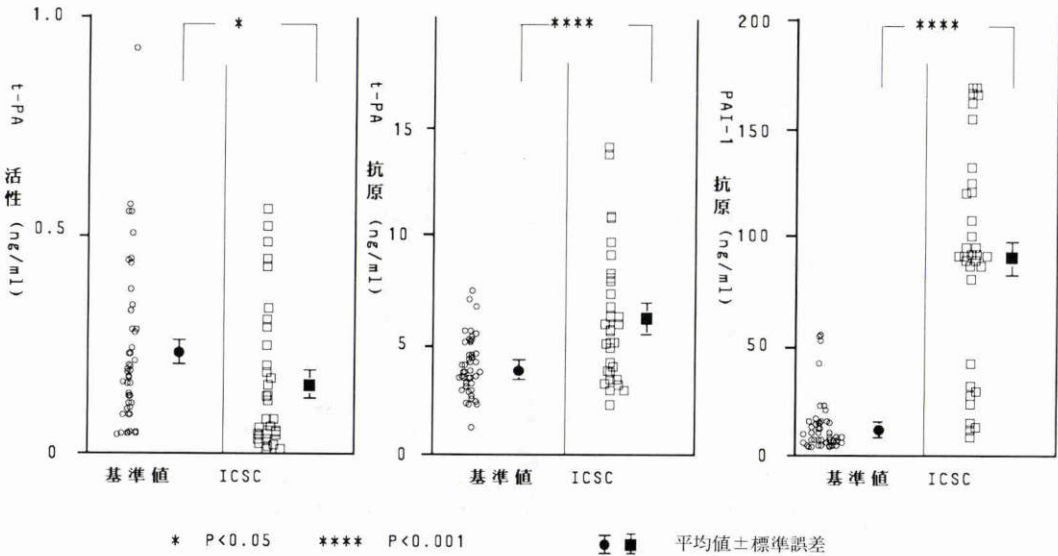


図 1 中心性漿液性網脈絡膜症患者の t-PA および PAI-1.
ICSC 患者数 n=34, 健康対照数 n=45

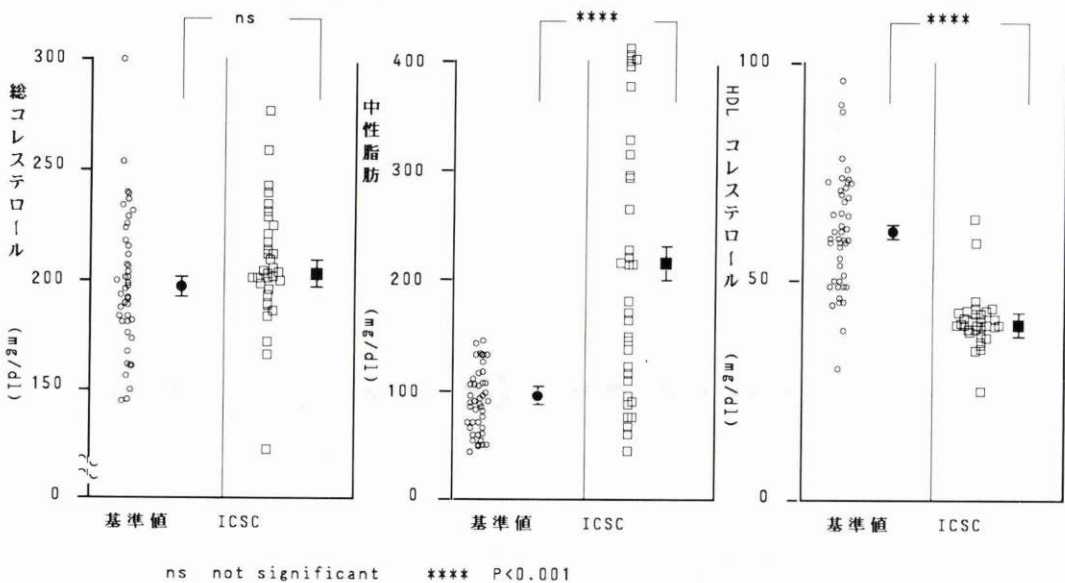


図 2 中心性漿液性網脈絡膜症患者の血清脂質値.
ICSC 患者数 n=34, 健康対照数 n=45

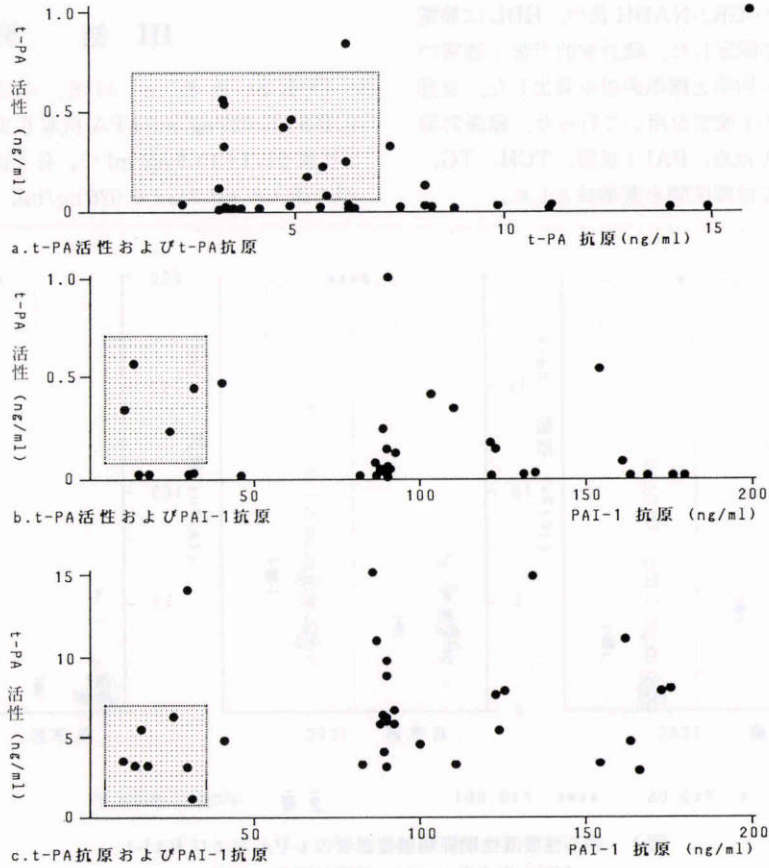


図3 中心性漿液性網脈絡膜症患者的 t-PA 活性および PAI-1.

a. t-PA および t-PA 抗原, b. t-PA 活性および PAI-1 抗原, c. t-PA 抗原および PAI-1 抗原

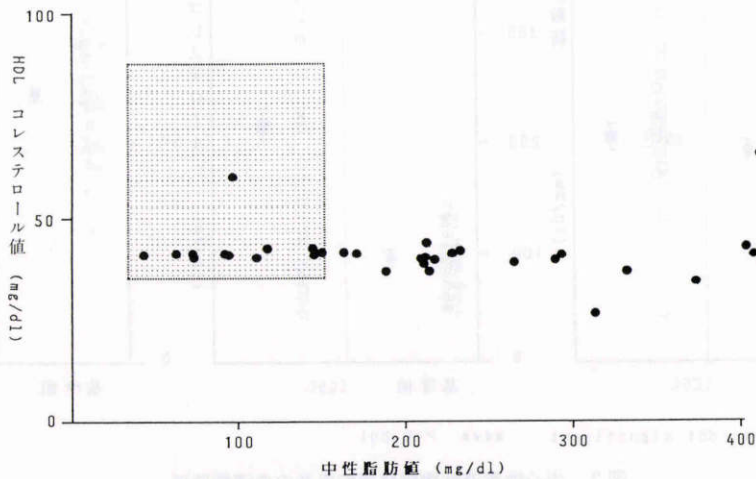


図4 中心性漿液性網脈絡膜症患者的 HDL および中心脂肪値.

12.6±1.7 ng/ml)と比較して t-PA 活性が有意(有意水準 $p<0.05$)に低値, t-PA 抗原および PAI-1 抗原は有意($p<0.001$)に高値を示した(図1). また, t-PA 活性 0.1 ng/ml 以下の異常低値者は34名中18名(53%)であった.

2) ICSC 患者の TCH は 208 ± 4 mg/dl, TG 211 ± 22 mg/dl, HDL 40 ± 1 mg/dl で各々正規分布し, 同年齢の健康対照(各々 197 ± 5 mg/dl, 93 ± 4 mg/dl, 61 ± 1 mg/dl)と比較して TG が有意($p<0.01$)に高値, HDL が有意($p<0.001$)に低値を示した(図2).

3) ICSC 患者の t-PA 活性および t-PA 抗原を同時に plot したところ, 34名中24名(70.6%)(図3a), t-PA 活性および PAI-1 抗原では34名中30名(88.2%)(図3b), t-PA 抗原および PAI-1 抗原では34名中27名(79%)(図3c)が基準域を逸脱した異常値を示した. また, t-PA 活性, t-PA 抗原および PAI-1 抗原を同時に plot したところ, 34名中30名(88.2%)が異常者であった.

4) ICSC 患者の TG および HDL を同時に plot したところ, 34名中22名(64.7%)が異常者であった(図4).

IV 考 察

線溶系の酵素 t-PA は各種体液^{12)~14)}, 臓器¹⁵⁾に存在し, 運動負荷や精神的ストレスなど様々な生理的状況下で放出される他, 血栓症などの血管閉塞^{16)~18)}, ショックや手術侵襲¹⁹⁾などの病態時にも放出される. 我々⁴⁾は, 既に健康成人において t-PA 活性が TCH および TG の上昇に伴い低下し, HDL の低下に伴い t-PA 抗原および PAI-1 抗原が上昇することを報告した. 松井ら²⁰⁾は ICSC 患者の血漿プラスミンの活性度を測定し, 大部分の早期症例ならびに再発例についてプラスミンの活性化が認められることを報告した. 今回我々は, 線溶系活性化に重要な生理的因子の一つである t-PA を中心に ICSC における血中線溶系動態について検討してみた. その結果, ICSC 患者の t-PA 活性, t-PA 抗原, PAI-1 抗原, TCH, TG, HDL の測定値を同年齢の健康対照と比較したところ, t-PA 活性, HDL が有意に低値, また, t-PA 抗原, PAI-1 抗原, TG が有意に高値を示した. t-PA 活性, t-PA 抗原および PAI-1 抗原を同時に plot したところ 88.2% が基準域を逸脱しており, TG および HDL を同時に plot したところ 64.7% が異常者であった. Tripathi²¹⁾はヒトならびにサル網膜を含む各種眼内組織に t-PA を証明

し, 破壊された眼組織の細胞外基質の再構築に t-PA が促進的役割を果たす可能性があることを示唆した. Piccolino²²⁾, Spilzinas²³⁾, Marmor²⁴⁾らは網膜色素上皮の機能異常に注目して漿液性網膜剝離の成立や遷延について検討し報告した. しかし, これらはいずれも網膜色素上皮の傷害部の存在を前提としたものであり, 傷害の成因に関してはストレスや高血圧などの血管障害を予測している²⁴⁾. 脈絡膜血管は毛細血管板に至るまで限局された灌流領域をもち, その血流量は極めて豊富で, ノルエピネフリンならびにコリン作動性神経により調節され, さらに脈絡膜のメラニン細胞を介した間接的な調節も推定されている. ストレスや高血圧などが関連して生じることが考えられる多数の網膜色素上皮の傷害部に対して, 網膜に局在する t-PA の他, 血管内皮細胞由来の t-PA が t-PA の cell migration, cell adhesion や mitosis に及ぼす作用などを通じて局所の再構築に何らかの役割を演ずる可能性が考えられる.

以上のことから, ICSC 新鮮例において持続的なストレスにより血管内皮細胞から多くの t-PA が放出され, PAI-1 の上昇に伴い線溶系諸酵素が異常値を示すことが考えられた. さらに TG 高値, HDL 低値に助長されてか, またこれが原因となり t-PA 活性の速やかな回復が認められない可能性が考えられた. t-PA 活性および血清脂防値の異常は生じた網膜色素上皮の傷害の治癒を遷延させることにより, 漿液性網膜剝離の成立と遷延に関与していることが考えられる. これらのことから, ICSC 患者における t-PA 活性の低下は原因あるいは結果として ICSC の病態に何らかの関連を有する可能性が示唆された.

本稿の主旨は, 第96回日本眼科学会総会で発表した.

文 献

- 1) 吉岡 久春: 中心性漿液性網脈絡膜症の原因. 日眼会誌 95: 1181-1195, 1991.
- 2) Gass JDM: Pathogenesis of disciform detachment of the neuroepithelium II. Idiopathic central serous choroidopathy. Amer J Ophth 63: 587-615, 1967.
- 3) 塚原 勇: 中心性網膜炎の臨床. 眼科 11: 608-618, 1969.
- 4) Yamada R, Yamada S, Ishii A, Sasamata M, Watanabe S: Association between tissue plasminogen activator and serum lipids in healthy volunteers. Annals Medicine 22: 313-318, 1990.
- 5) 山田誠一, 山田利津子, 石井明治, 笹又美穂, 渡辺俊一: 組織プラスミノゲンアクチベータ活性,

- 抗原およびプラスミノゲンアクチベータインヒビター-1抗原に対する諸生化学検査値の影響についての統計学的検討, 血液と脈管 20: 537-544, 1989.
- 6) Watanabe S, Sasamata M, Katoh M, Itoh K, Yano S, Ezoe H, et al: t-PA activity assay method in blood sample using a dipstick coated with monoclonal antibody SP-322. *Thromb Haemost* 62: 95, 1989.
- 7) 山田誠一, 山田利津子, 石井明治, 安室洋子, 中村正夫: モノクローナル抗体を用いた bioimmunoassay による t-PA 活性の測定. *臨床検査* 34: 588, 1990.
- 8) Verheijen JH, Mullaart E, Chang TG, Kluft C, Wijngaards G: A simple, sensitive spectrophotometric assay for extrinsic (tissue-type) plasminogen activator applicable to measurements in plasma. *Thromb Haemostas* 48: 266-269, 1982.
- 9) Allain CC, Poon LS, Chan CSG, Richmond W, Fu PC: Enzymatic determination of total serum cholesterol. *Clin Chem* 20: 470-475, 1974.
- 10) Eggstein M, Kreutz: Eine neue Bestimmung der Neutralfette im Blutserum und Gewebe. I. Mitteilung, Prinzip, Durchführung und Beschreibung der Methode. *Klin Wschr* 44: 262-267, 1966.
- 11) 櫻林郁之介, 河合 忠: Heparin-Ca⁺⁺沈澱法を用いた血清リポ蛋白分画定量法の臨床的応用. *動脈硬化* 4: 151-155, 1976.
- 12) 山田誠一, 山田利津子, 石井明治, 三好邦達, 岩崎光彦, 芦川和高, 他: ヒト体液中の組織プラスミノゲン・アクチベータ活性値. *医学のあゆみ* 147: 647-648, 1988.
- 13) 山田利津子, 山田誠一, 中村正夫, 普天間稔, 林 正泰, 内海栄一郎, 他: ヒト房水中組織型プラスミノゲン・アクチベーターモノクローナル抗体を用いた Bioimmunoassay による検討. *あたらしい眼科* 5: 1331-1334, 1988.
- 14) 石井明治, 霞沢 篤, 浜田 宏, 山田誠一, 山田利津子: モノクローナル抗体を用いたヒト乳汁中の t-PA 活性について. *産婦人科の世界* 40: 61-62, 1988.
- 15) 山田利津子, 山田誠一, 石井明治, 橋崎和子, 井上武夫, 品川俊人, 他: ヒト諸臓器の組織プラスミノゲン・アクチベータ活性. *臨床病理* 37: 719-722, 1989.
- 16) 山田利津子, 山田誠一, 石井明治, 芦川和高, 中村正夫, 笹又美穂, 他: 脳梗塞患者の t-PA 活性値, 抗原値および PAI-1 抗原値の動態. *臨床病理* 38: 819-824, 1990.
- 17) 山田利津子, 山田誠一, 石井明治, 芦川和高, 柳川明, 水島 裕, 他: 初発・再発急性期および慢性脳梗塞時の組織プラスミノゲンアクチベータおよびプラスミノゲンアクチベータインヒビター-1について. *日本血栓止血学会誌* 2: 221-227, 1991.
- 18) 山田利津子, 山田誠一, 石井明治, 芦川和高, 川満久恵, 水島 裕, 他: 急性心筋梗塞時の t-PA 活性, t-PA 抗原および PAI-1 抗原の変動. *循環器科* 30: 178-185, 1991.
- 19) Yamada R, Yamada M, Ishii A, Komatsu A, Tane S, Tokuda Y, et al: Fluctuations of tissue plasminogen activator and plasminogen activator inhibitor-1 in blood after a surgical invasion for cataract followed by wound healing. In: Shimizu K (Ed): *Current Aspects in Ophthalmology*. Elsevier Science Publishers, Netherland, 576-579, 1992.
- 20) 松井瑞夫, 河本道次, 衛藤契古: 9. 中心性網膜炎の臨床研究, その 3. 血漿プラスミン活性値の変動について. *日眼会誌* 66: 73-78, 1962.
- 21) Tripathi BJ, Geanon JD, Tripathi RC: Distribution of tissue plasminogen-activator in human and monkey eyes. An immunohistochemical study. *Ophthalmology* 94: 1434-1438, 1987.
- 22) Piccolino FC: Central serous chorioretinopathy. Some considerations on the pathogenesis. *Ophthalmologica* 182: 204-210, 1981.
- 23) Spilznas M: Pathogenesis of central serous retinopathy: a new working hypothesis. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 224: 321-324, 1986.
- 24) Marmor MF: New hypotheses on the pathogenesis and treatment of serous retinal detachment. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 226: 548-552, 1988.