

正常ヒト水晶体光透過特性

寺田 久雄¹⁾, 澤 充¹⁾, 秋葉 純²⁾³⁾, Norio Ueno³⁾, Bireswar Chakrabarti³⁾

¹⁾日本大学医学部眼科学教室, ²⁾旭川医科大学眼科学教室

³⁾Schepens Eye Research Institute, Department of Ophthalmology, Harvard Medical School

要 約

Eye bank から提供を受けた6症例11眼(22~83歳, 平均55.3歳)の正常ヒト水晶体と未熟児網膜症患者3症例3眼の水晶体を用いて, 光透過特性および水晶体の着色に関する深い非トリプトファン蛍光物質の蛍光強度を測定した。全例で430 nm以下の短波長の光線は水晶体に強く吸収され, 400 nm以下での光線透過はほとんどなかった。加齢により400~550 nmの短波長可視領域の透過性が徐々に低下し, 透過率曲線では次第に肩がなだ

らかになった。また, トリプトファン蛍光に対する非トリプトファン蛍光の強度比は対数年齢と正の相関関係があり, 特に白内障を認めない水晶体においても加齢に伴う非トリプトファン蛍光物質の増加があると考えられた。(日眼会誌 98:1101-1108, 1994)

キーワード: ヒト水晶体, 光透過特性, 非トリプトファン蛍光

Spectral Transmittance of Normal Human Crystalline Lens

Hisao Terada¹⁾, Mitsuru Sawa¹⁾, Jun Akiba²⁾³⁾,
Norio Ueno³⁾ and Bireswar Chakrabarti³⁾

¹⁾Department of Ophthalmology, School of Medicine, Nihon University

²⁾Department of Ophthalmology, Asahikawa Medical College

³⁾Schepens Eye Research Institute, Department of Ophthalmology, Harvard Medical School

Abstract

The spectral transmittance and non-tryptophan fluorescence of human crystalline lenses were evaluated. Eleven eye bank lenses and three lenses of prematurity of retinopathy patients were investigated. All lenses absorbed the short wavelength light below 430 nm strongly. The transmission of the short wavelength visible light decreased gradually with age. There was a positive correlation between the fluorescence intensity ratio of non-

tryptophan to tryptophan fluorescence and the logarithm of age. It was thought that the generation of non-tryptophan fluorescence might be a first-order chemical reaction. (J Jpn Ophthalmol Soc 98: 1101-1108, 1994)

Key words: Human crystalline lens, Spectral transmittance, Non-tryptophan fluorescence

I 緒 言

白内障術後の無水晶体患者や偽水晶体患者が, 羞明や青視症を訴えることは昔から良く知られていた。これは, 術後に短波長可視部, 近紫外部の透過性が増加したために生じると考えられている。最近では眼内組織の紫外線障害を予防するために, 白内障手術に際して紫外線吸収性眼内レンズが用いられているが, 青視症の発症率には差がないとの報告¹⁾もなされている。そこでさらに, 正常水

晶体と似たスペクトラム透過性のレンズが研究¹⁾されているが, これまで, ヒト水晶体のスペクトラム透過性についての報告は多くなく²⁾⁻⁵⁾, かつ, 必ずしもその結果は一致していない。特に, 近紫外領域の測定結果は大きな違いがある。これは, その測定水晶体の多くが白内障手術時の摘出水晶体であったり, 測定方法が同一でないことなどが原因と考えられる。そこで, 我々は白内障の認められない eye bank eye の水晶体を用いて, ヒト水晶体のスペクトラム透過特性を測定し, 標準的な水晶体の透

別刷請求先: 173 東京都板橋区大谷口上町30-1 日本大学医学部眼科学教室 寺田 久雄
(平成6年2月10日受付, 平成6年7月12日改訂受理)

Reprint requests to: Hisao Terada, M.D. Department of Ophthalmology, School of Medicine, Nihon University,
30-1 Ohyaguchikami-machi, Itabashi-ku, Tokyo 173, Japan

(Received February 10, 1994 and accepted in revised form July 12, 1994)

過特性について検討を行った。加えて、水晶体の着色の程度に大きく影響していると報告されている³⁾⁶⁾非トリプトファン蛍光物質の蛍光強度を白内障の認められない水晶体で測定し、その蛍光強度と年齢や透過特性との関係を検討した。

II 実験方法

1. 実験材料

米国の New England Eye Bank, Indiana Lions Eye Bank および Alabama Eye and Tissue Bank から提供を受けた6症例11眼(22~83歳, 平均55.3歳)の正常ヒト水晶体を使用した(図1)。さらに, Massachusetts Eye and Ear Infirmary において未熟児網膜症患者(3, 6か月および1歳)の手術時に囊内摘出され, 超低温で冷凍保存されていた3症例3眼の水晶体も解凍した後に測定した(表1)。水晶体は肉眼で観察し, その際に核の着色の程度および水晶体混濁の程度を記録した。

2. 測定容器

ヒト水晶体の大きさの関係で分光光度計の標準セルが使用できないため, 図2に示すような専用容器を作製し測定に用いた。この容器は, アクリルチューブの両端を2枚の石英板で挟む構造をしている。2つの黒色のパイトン-Oリング(外径11.6mm, 内径7.8mm)を水晶体の前後に置き, これらをアクリルチューブの中に入れ, 全体を2枚の石英板(21×21mm厚さ, 2mm, 21×51mm厚さ2mm)で挟んだ。あらかじめアクリルチューブ

(外径19mm, 内径13mm)の長さを4.0~0.5mm間隔で作成して置き, その中から水晶体の厚さに合わせてそれよりやや薄くなるように選択し, 水晶体を軽く圧迫した。水晶体の表面を軽く圧迫して平面にすることでレンズ効果を減じ, かつ, 水晶体と石英板が直接接することにより空気と水晶体表面の境界面で起きる反射を少なくさせるとともに, 水晶体がほぼ密閉されるために測定途中での乾燥を防止する利点がある。また, 黒色のOリングを用いることでマスク効果を持たせ周辺部での散乱を少なくし, さらに, 動かないように固定して測定光軸と水晶体の中心軸がずれるのを防止した。

3. 透過特性測定

以下の測定は, すべて Schepens Eye Research Institute (Boston, MA, USA) で行った。透過特性測定には spectrophotometer (Beckman 社製 DU-70, Fullerton, CA) (測光レンジ0.300~3.00 A) を用いた。測定容器を試料室の光軸中央に置き, 波長200~800nmの範囲で測定した。対照には, 水晶体を入れない状態の測定容器を用いた。吸光度は得られた透過率から換算した。また, 補正透過特性として, 800nmにおける透過率を100%になるように他の透過率を正比例で補正して検討に用いた。

4. 蛍光測定

蛍光測定については luminescence spectrometer (Perkin Elmer 社製 LS-50, Norwalk, CT) を用いた。透過特性測定後の水晶体を専用のキュベットに入れ, 生

表1 症例一覧

症例	年齢 人種	死亡原因	摘出までの 時間	測定までの 時間	水晶体の状態
1	3か月 不明	(未熟児 網膜症)	術中摘出	約4年	超低温保存, 異常所見なし 直径6mm 厚さ4mm
2	6か月 不明	〃	術中摘出	約4年	超低温保存, 囊に小さな亀裂 直径6mm 厚さ4mm
3	1歳 不明	〃	術中摘出	約4年 9か月	超低温保存, 異常所見なし 直径6mm 厚さ4mm
4	22歳 白人	交通事故	10時間 45分	59時間	水晶体を摘出し4°C湿式保存, 異常所見なし 直径8.5mm 厚さ4.5mm
5A	35歳 白人	肺梗塞	1時間 40分	26時間 20分	強角膜を採取した後4°C湿式保存, 囊に薄い混濁 直径10mm 厚さ5.5mm
B	〃	〃	〃	26時間 45分	強角膜を採取した後4°C湿式保存, 囊に薄い混濁 直径10mm 厚さ5.5mm
6A	41歳 不明	心停止	9時間 45分	46時間	強角膜を採取した後4°C湿式保存, 囊に混濁あり 直径8mm 厚さ4.2mm
B	〃	〃	〃	〃	強角膜を採取した後4°C湿式保存, 囊に混濁あり 直径8mm 厚さ4.2mm
7A	72歳 白人	肺癌	7時間	53時間	強角膜を採取した後4°C湿式保存, 異常所見なし 直径10mm 厚さ4.3mm
B	〃	〃	6時間 45分	53時間 40分	強角膜を採取した後4°C湿式保存, 異常所見なし 直径9mm 厚さ4.2mm
8A	79歳 有色	心筋梗塞	5時間 39分	29時間	水晶体を摘出し4°C湿式保存, 異常所見なし 直径10mm 厚さ4.5mm
B	〃	〃	5時間 54分	29時間 30分	水晶体を摘出し4°C湿式保存, 異常所見なし 直径10mm 厚さ4.5mm
9A	83歳 有色	肺癌	11時間	64時間	強角膜を採取した後4°C湿式保存, 異常所見なし 直径10mm 厚さ5mm
B	〃	〃	11時間 10分	64時間 15分	強角膜を採取した後4°C湿式保存, 異常所見なし 直径10mm 厚さ5mm



図1 測定前の水晶体(症例5, 35歳).

Eye bank からは全眼球から強角膜を採取した後に湿式保存された状態で提供されることが多く、それより水晶体を摘出して測定に用いた。年齢が若い症例でも水晶体はこのように黄色く着色していた。

理食塩水に浸漬して測定を行った。成人ヒト水晶体については、キュベットの大きさに合わせてピンセットで囊を注意深く水晶体から除去した後にキュベットに入れた。励起波長は、トリプトファン蛍光については 290 nm⁷⁾、非トリプトファン蛍光については 340 nm⁸⁾を使用した。

トリプトファン蛍光は 300~500 nm に渡り測定し、その最大値を求めた。その最大値を得た波長は 330~343 nm で、平均は 335 nm であった。非トリプトファン蛍光も、同様に 350~600 nm に渡り測定し、その最大値を求めた。その最大値を得た波長は 418~461 nm で、平均は 438 nm であった。

蛍光測定は標準キュベット内の水晶体の位置により蛍光強度が大きく変化して絶対値での比較が困難だったため、Lerman ら³⁾と同様に強度比(非トリプトファン蛍光強度とトリプトファン蛍光強度の比: I₃₄₀/I₂₉₀)を求め、検討対象とした。

III 結果

1. 透過特性について

今回の測定結果と補正した透過率曲線を図3に示す。左右両眼の水晶体の測定ではほぼ同一の結果が予想され、35歳、79歳および83歳の症例では左右両眼の水晶体の測定でほぼ同一の結果が得られた(図3 A, B, E)。一方、41歳や72歳の症例では左右の差が大きく、800 nmの透過率において30%ほどの差がみられた(図3 C, D)。しかし、これも800 nmの透過率を100%になるように、他の透過率を正比例で補正した補正透過曲線で比較すると、両眼の透過特性はよく一致した。

図4に示されるように、すべての水晶体で波長430 nm以下の短波長の光線は吸収され、400 nm以下の光線経過

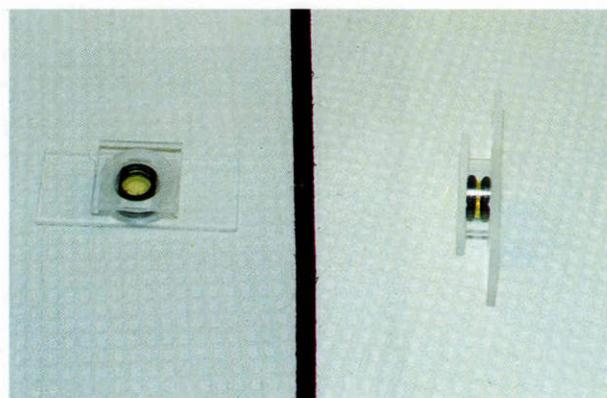


図2 自作測定容器(正面, 側面).

測定の際の状態で、水晶体が容器の中に収まっている。アクリルチューブは個々の水晶体の厚さに合わせて、それよりやや薄くなるように選択して水晶体を軽く圧迫した。水晶体はO-リングにも挟まれ、しっかり固定されている。また、アクリルチューブと石英板は両面テープで接着した。

はほとんどなく、図5からその吸収極大は350~370 nmにあることがわかる。この実測結果からは、透過特性に対する加齢の影響ははっきりしなかった。加齢により軽度の最大透過率や短波長可視領域の透過性の低下があるようだが、実測結果ではばらつきが大きく、その傾向は明らかではない。しかし、図6, 7で表される補正された透過特性や吸光度特性では加齢による影響がはっきりと現れた。すなわち、加齢により400~550 nmの短波長可視領域の透過性が徐々に低下して、透過率曲線では次第に肩がなだらかになった。また、今回の測定では、Boettner ら²⁾の報告にある320 nm付近の透過性はみられなかった。

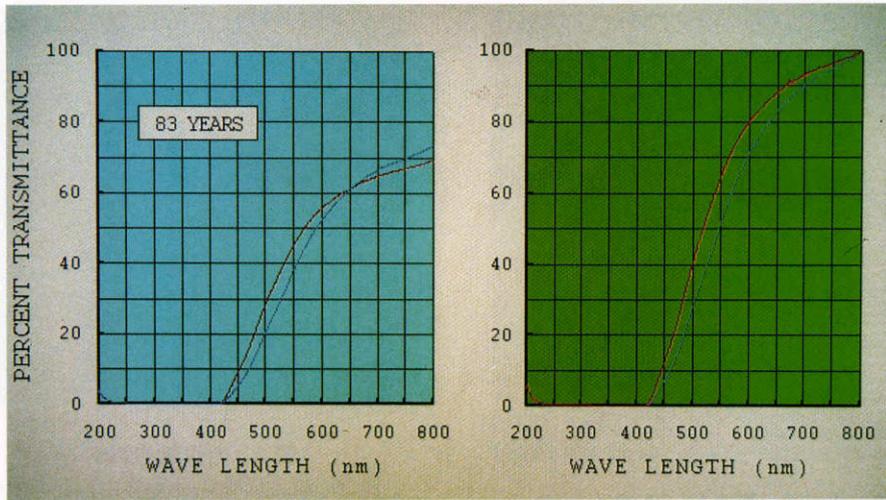
2. 蛍光測定について

トリプトファンに対する非トリプトファン蛍光強度比と対数年齢について、片対数でプロットしたものが図8である。測定された蛍光強度比は加齢とともに増加し、有意な正の相関(相関係数 $r=0.70155$, $p<0.01$)を示すが、これを年齢を対数で取る変数に変換すると、蛍光強度比とはさらに強い相関関係($r=0.83464$, $p<0.01$)が認められた。

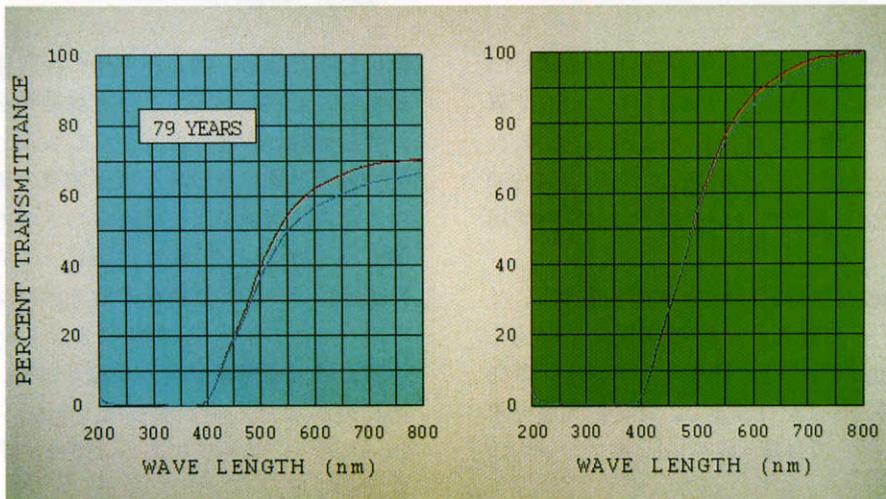
IV 考 按

1. 測定対象について

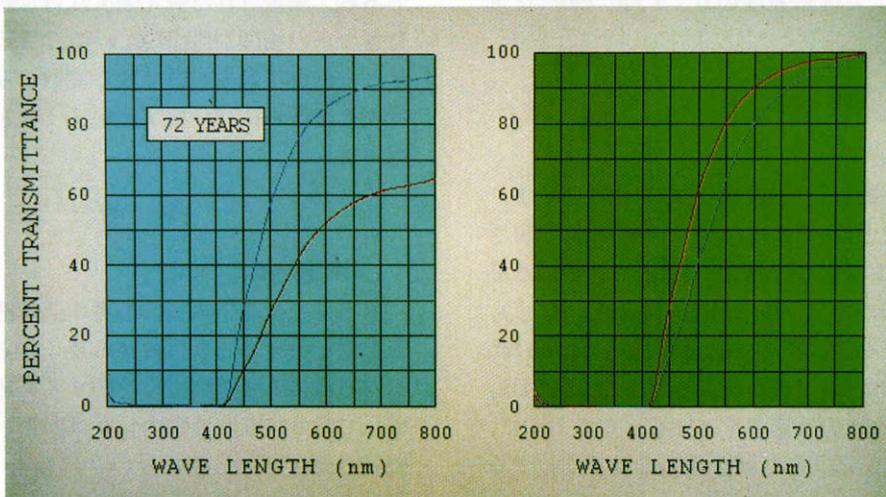
白内障術後の無水晶体患者や偽水晶体患者が、羞明や青視症を訴えることは昔から良く知られていた。最近では眼内組織の紫外線障害を予防するために、白内障手術に際して紫外線吸収性眼内レンズが用いられているが、青視症の発症率には差がないとの報告¹⁾もなされている。そこで、さらに正常水晶体と似たスペクトラム透過性のレンズが研究¹⁾されているが、これまで、ヒト水晶体のスペクトラム透過性についての報告は多くない²⁾⁻⁵⁾。さら



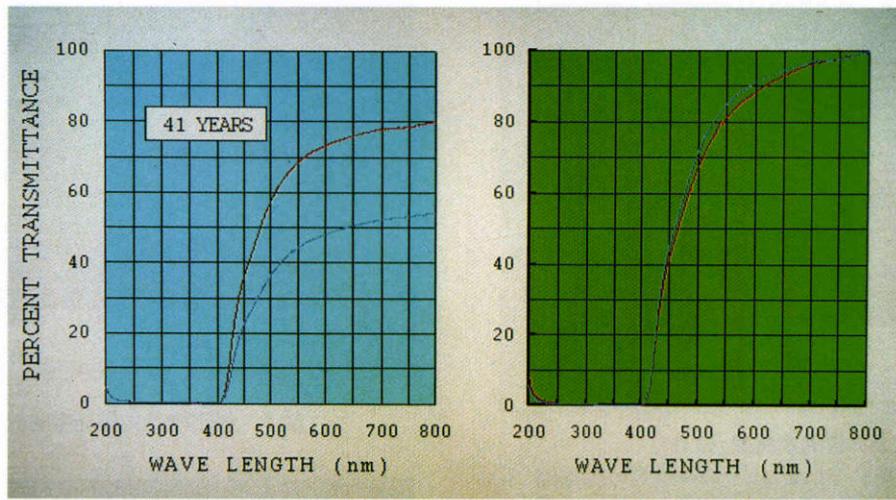
A



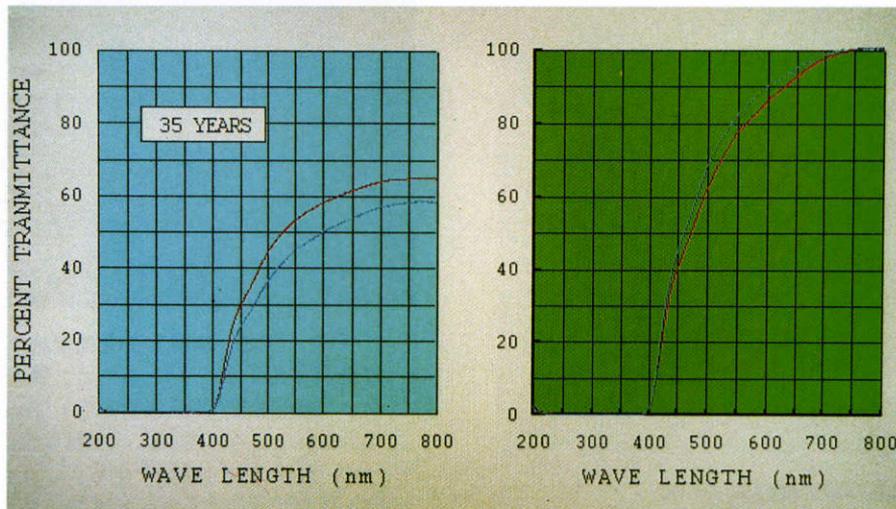
B



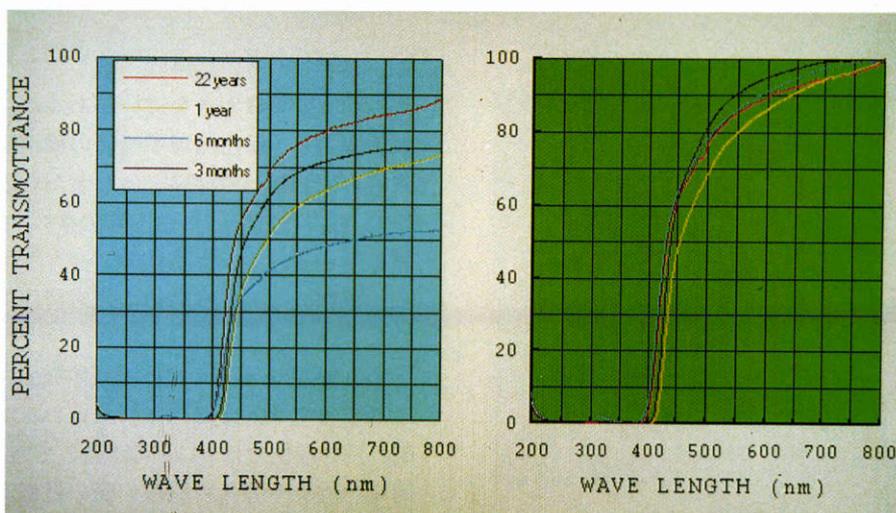
C



D



E



F

図3 水晶体透過率曲線.

実測透過率曲線を左に、800 nm の透過率を 100% になるように他の透過率を正比例で補正した補正透過率曲線を右に示す。補正透過率曲線で比較すると、両眼に大きな差のみられた症例も含めて両眼の透過特性はよく一致する。

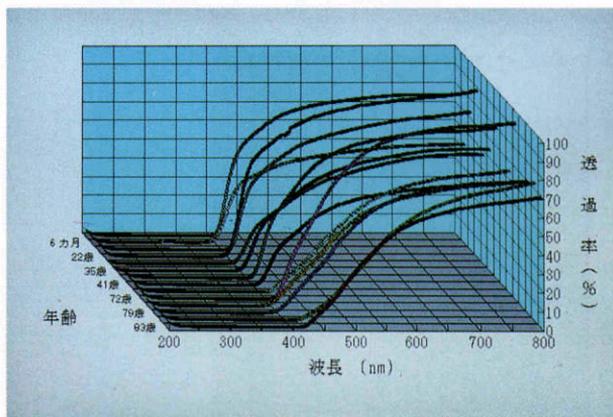


図4 水晶体透過率曲線 (3 D).

すべての水晶体で波長 430 nm 以下の短波長の光線は吸収され、400 nm 以下の光線透過はほとんどない。加齢により軽度の最大透過率や短波長可視領域の透過性の低下があるようだが、実測結果ではばらつきが大きく、その傾向は明らかではない。

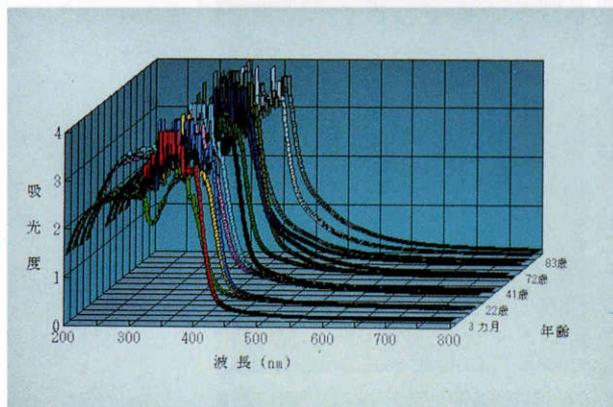


図5 水晶体吸光度曲線 (3 D).

吸光度は透過率から換算した。そのため、吸光度の高い領域の激しい凹凸はノイズである。吸収極大は 350~370 nm にある。

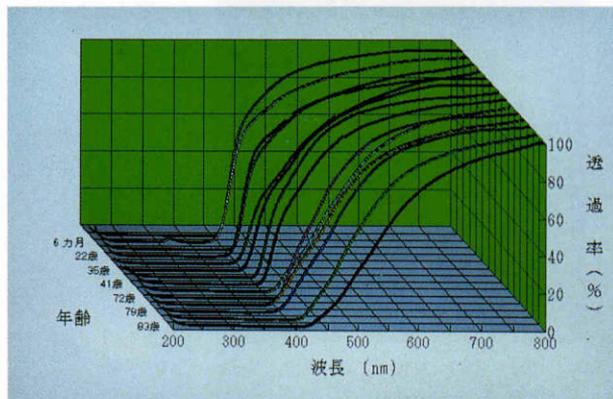


図6 補正水晶体透過率曲線 (3 D).

補正された透過率曲線では、加齢により 400~550 nm の短波長可視領域の透過性が徐々に低下して次第に肩がなだらかになるのがわかる。

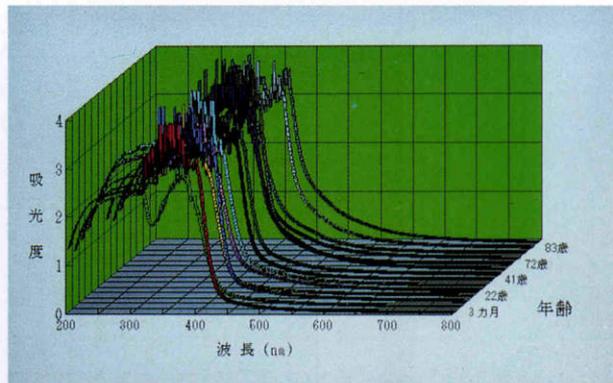


図7 補正水晶体吸光度曲線 (3 D).

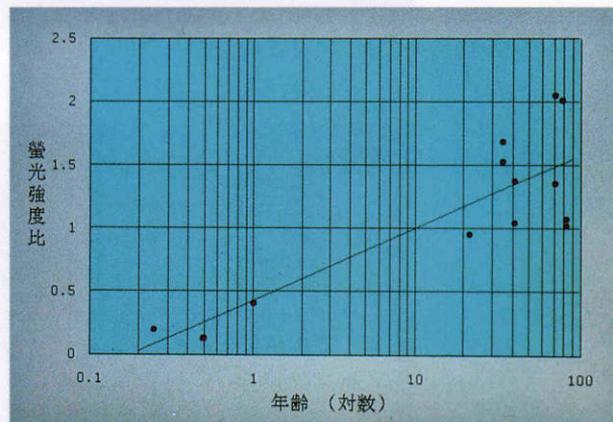


図8 年齢と蛍光強度比の関係。

蛍光強度比：非トリプトファン蛍光強度とトリプトファン蛍光強度の比 (I 340/290) 測定された蛍光強度比は加齢とともに増加し、有意な正の相関 (相関関係 $r=0.70155$, $p<0.01$) を示すが、これを年齢を対数で取る変数に変換すると、蛍光強度比とはさらに強い相関関係 ($r=0.83464$, $p<0.01$) が認められた。

に、必ずしもその結果は一致しておらず、特に近紫外領域の測定結果は大きな違いがあった。これは、その測定水晶体の多くが白内障手術時の摘出水晶体であったり、測定方法が同一でないことなどが原因と考えられる。そこで、我々は肉眼的に白内障のない eye bank eye の水晶体を用いて、ヒト水晶体のスペクトラム透過特性を測定し、標準的なヒト水晶体の透過特性について検討を行った。

Eye bank eye のため、水晶体摘出あるいは眼球摘出から測定まで 4℃ に保存されてはいるが、短い症例で 26 時間、長い症例では 64 時間経過していた。したがって、長時間の保存や強角膜採取の際の侵襲による変化の可能性はある。実際に水晶体嚢に軽度の混濁の見られた症例もあったが、測定して異常と考えられる測定結果はなかった。これに関して、家兎で長時間保存の影響を調べる予備実験を行い、室温での一昼夜放置によって水晶体嚢の薄い混濁が生じ、最大透過率で数%の低下が認められた

が、透過曲線の傾向には変化はなかった。また、保存された未熟児網膜症の患児からの水晶体は、肉眼的な観察では大きな異常を認めなかった。

2. 実験方法について

ヒト水晶体の大きさの関係で分光光度計の標準セルが使用できないため、専用容器を作製し測定に用いた。この容器は大小個人差のある水晶体をずれないように固定し、レンズ効果など測定誤差を可能な限り少なくする構造となっている。さらに、我々の用いた Beckman 社製 DU-70 分光光度計では、集光された細い測定光軸 (4×1 mm) が測定対象物を透過するシステムのため、水晶体と石英板の密着した水晶体の中心部分の透過性を主に測定することができる。しかし、この容器では、水晶体核によるレンズ効果の測定誤差まで取り除くことはできないと考えられた。

また、透過特性の測定では、浸漬液も測定結果に影響を与える。理想的な浸漬液は水晶体と同じ屈折率を持ち、かつ浸透圧もほぼ同じで、さらに扱いやすいことが必要である。我々は、浸漬液として生理食塩水、ヒアルロン酸水溶液、シリコンオイルなどを試してみたが、今回試作し使用した測定容器を用いた場合には、測定光軸内に浸漬液がほとんど存在しないために浸漬液の有無は測定結果に影響しなかった。そのため、我々は実際の測定に際しては浸漬液を用いなかったが、水晶体を乾燥させないように注意した。

3. 透過測定について

測定には、今回の測定のような直接法と全光束法とがあり、後者の方が誤差が少ないとされているが、今回は測定上の困難さから前者を用いた。

また、一般的にレンズ形状をした固体の透過特性の測定は絶対測定ができず、結果は相対的なものであるといわれている。これはレンズ表面での測定光の反射、レンズ効果、レンズ内の散乱、レンズの厚みの違い、さらに対照に何をを用いるかなど、測定上に問題があるためである。結果が相対的であるから、800 nm の透過率を 100% になるように正比例で変換した補正透過曲線で比較すると、両眼に大きな差の見られた症例も含めて同一の症例の左右両眼の水晶体透過特性はよく一致する。これは、補正により測定上の誤差もかなり補正できるためと考えられた。そのようなことから、多数例の比較には補正透過特性の有用性が考えられ、以下の検討にはこの補正透過特性や補正吸光度特性を用いた。

4. 透過特性について

図 4 から、すべての水晶体で波長 430 nm 以下の短波長の光線は水晶体により吸収され、400 nm 以下の光線透過はほとんどないとの結果を得たが、この結果は Boettner ら²⁾の報告と一致した。さらに、図 5 でみられるように、その吸収極大は 350~370 nm にあった。

また、図 6、7 から明らかなように、補正透過特性や

吸光度特性から加齢による影響が明瞭に得られ、400~550 nm の短波長可視領域の透過性が年齢とともに徐々に低下して、透過率曲線では次第に肩がなだらかになった。この変化は加齢による水晶体の着色のためと考えられた。しかし、実際には加齢による水晶体の着色に加え、核の硬化などによる散乱の増加から全波長域で透過率の低下があると予想されるが、今回の測定ではそのような比較、検討は困難と考えられた。

一方、Boettner ら²⁾は幼児の水晶体では 320 nm 付近にも透過性があったと報告しているが、我々の測定では 1 歳以下の症例でも、その領域の透過性がみられなかった。我々の家兎による予備実験では、360 nm 以下では水晶体による強い吸収が認められ、320 nm 付近の透過性はなかった。一方、320 nm の測定光により水晶体蛋白質がより長波長の蛍光を発するために、その蛍光を透過光として測定してしまう可能性がある。しかし、これまでの報告³⁾⁹⁾や今回の測定でも幼児の水晶体では非トリプトファン蛍光はむしろ弱く、そのような可能性は小さいと考えられた。また、多くの分光光度計では 320 nm 付近で測定光源の交換が行われるため、その前後での測定機器による誤差によるみかけ上の透過性が生じた可能性も否定できない。

これまでヒト水晶体のスペクトラム透過性は、特に近紫外領域の測定結果に大きな違いがあったが、今回の白内障の認められない水晶体の測定でも、全例で 430 nm 以下の短波長の光線は水晶体に強く吸収され、400 nm 以下の光線透過はほとんどみられないことがわかった。さらに、加齢により 400~550 nm の短波長可視領域の透過性が徐々に低下し、透過率曲線では次第に肩がなだらかになることも明らかになった。

5. 蛍光強度比について

水晶体の着色については数種類の色素が報告されており、特に非トリプトファン蛍光を発するトリプトファン光酸化生成物およびその蛋白質複合体がその主体で、これらの物質は加齢とともに増加していくことも報告されている³⁾⁶⁾。一方、非トリプトファン蛍光は年齢とともに増加するが、トリプトファン蛍光はほとんど変化しなかったという Satoh ら⁹⁾の報告もあり、蛍光強度比から非トリプトファン蛍光物質の増減を推測することができる。我々の測定でも、トリプトファン蛍光に対する非トリプトファン蛍光の強度比は対数年齢と正の相関関係があったことから、特に白内障の認められない水晶体においても加齢に伴う非トリプトファン蛍光物質の増加が考えられた。

また、図 1 は測定に用いた 35 歳の水晶体であるが、臨床的に観察して考えていたよりも黄色く着色していた。蛍光強度比と年齢の関係から考えると、ヒト水晶体は予想していたよりも若い年齢で黄色く着色していて、20 歳前後でほぼ水晶体は成熟して、その後の着色変化はむしろ

ろゆっくりとしていると考えられた。

最後に、測定容器の作製など、この研究に多大な援助をしていただいた(株)HOYAメディカル研究所高分子課の皆様に感謝いたします。

本論文の要旨は、第32回日本白内障学会(函館市)で発表した。

文 献

- 1) 市川一夫, 内藤尚久, 中田和彦: 人水晶体類似の透過特性を有する眼内レンズの研究: 2. 眼内レンズの着色について. 眼科手術 545-549, 1992.
- 2) Boettner EA, Wolter JR: Transmission of the ocular media. Invest Ophthalmol Vis Sci 1: 776-783, 1962.
- 3) Lerman S, Borkman R: Spectroscopic Evaluation and Classification of the Normal, Aging, and Cataractous Lens. Ophthalmic Res 8: 335-353, 1976.
- 4) 宇治幸隆: ヒト水晶体の可視光吸収がERGに及ぼす影響について; 第1報 水晶体の波長別吸収スペクトル. 日眼会誌 79: 1154-1162, 1975.
- 5) Sasaki K, Hiiragi M, Sakamoto Y, Shibata T: *In vivo* color analysis of human crystalline lenses. Ophthalmic Res 17: 21-26, 1985.
- 6) 市島英司, 岩田修造: トリプトファン代謝と蛍光物質. 水晶体その生化学的機構. 岩田修三(編): メディカル葦出版, 東京, 211-225, 1986.
- 7) Borkman RF, Lerman S: Fluorescence spectra of tryptophan residues in human and bovine lens proteins. Exp Eye Res 26: 705-713, 1978.
- 8) van Heyningen R: Assay of Fluorescent Glucosides in the Human Lens. Exp Eye Res 15: 121-126, 1973.
- 9) Satoh K, Bando M, Nakajima A: Fluorescence in human lens. Exp Eye Res 16: 167-172, 1973.