網膜静脈分枝閉塞症の角膜自発螢光

三宅 芳子　前久保久美子　三宅 武子　三宅 謙作
湘山会眼科三宅病院

要　約

角膜に自発螢光があり，少なくとも一部はミトコンドリアの代謝障害の結果生じる，flavoprotein と pyridine nucleotide に起因することが基礎的な研究で示されている．我々は網膜静脈分枝閉塞症（branch retinal vein occlusion，以下 BRVO）の角膜細胞レベルの異常を知る目的で，自発螢光に着目した．発症後2か月から7年の片眼性 BRVO，および年齢マッチを行った正常者を対象とした．角膜自発螢光は，Fluorotron Master（Coherent 社製）に前眼部用アダプターを装着し，眼軸に沿って角膜ピークの値を求めて使用した．角膜自発螢光は BRVO 罹患眼，罹患眼の僚眼，正常対照眼およびその僚眼で各々 15.6±5.8（n＝68），13.8±4.0（n＝68），14.2±3.7（n＝14），14.0±3.6（n＝14）（すべて ng Eq/ml，平均値±標準偏差）であった．罹患眼は僚眼と比較し有意に（$p<0.01$，Paired t-test；$p<0.001$，Sign Wilcoxon test）高値を示した．僚眼は正常対照群と比較し有意差はなく，また正常対照眼とその僚眼の比較でも有意差はなかった（Paired t-test，Sign Wilcoxon test）．BRVO は網膜の一部に原発病巣を持つ疾患であるが，角膜細胞レベルに一律に変化を起こすことが判明した．（日眼会誌　98：385—388，1994）

キーワード：網膜静脈分枝閉塞症，角膜自発螢光，Fluorophotometry，Flavoprotein，角膜代謝

Corneal Autofluorescence in Eyes with Branch Retinal Vein Occlusion

Yoshiko Miyake, Kumiko Maekubo, Takeko Miyake and Kensaku Miyake
Shohzankai Medical Foundation, Miyake Eye Hospital

Abstract

Basic studies have suggested that corneal autofluorescence, originating from flavoprotein and pyridine nucleotides, is caused by metabolically impaired corneal mitochondrial respiration. In this study, we used corneal autofluorescence as a parameter for evaluating the pathology at the corneal cell level in eyes with branch retinal vein occlusion. Unilateral branch retinal vein occlusion cases with durations of 2 months to 7 years since the onset and age-matched normal eyes were used for the study. The corneal autofluorescence was measured with a Fluorotron Master, with a special device attached to measure the anterior segment at the corneal peak. The autofluorescence was 15.6±5.8 (n=68), 13.8±4.0 (n=68), 14.2±3.7 (n=14), and 14.0±3.6 (n=14) (ng Eq/ml, mean±SD), respectively, in eyes with branch retinal vein occlusion, their fellow eyes, normal controls, and their fellow eyes. The affected eyes showed statistically significantly higher autofluorescence than the fellow eyes; there was no essential difference among the fellow eyes of those with branch retinal occlusion, normal controls, and their fellow eyes. The eyes with branch retinal vein occlusion, which is a focal retinal lesion, commonly exhibit corneal cellular pathologies. (J Jpn Ophthalmol Soc 98: 385—388, 1994)

Key words: Branch retinal vein occlusion, Corneal autofluorescence, Fluorophotometry, Flavoprotein, Corneal metabolism

I 緒　言

網膜静脈閉塞症，特に静脈分枝閉塞症（branch retinal vein occlusion，以下 BRVO）における前眼部において，どのような現象が起こるかについてはよく理解されていない．臨床的に唯一問題になっているのは虹彩ルベオー

別刷請求先：462　愛知県名古屋市北区東大曽根町上5—1070　湘山会眼科三宅病院　三宅　謙作
（平成5年8月26日受付，平成5年11月30日改訂受理）
Reprint requests to: Kensaku Miyake, M.D. Shohzankai Medical Foundation, Miyake Eye Hospital. 1070-Kami 5, Higashiozone-cho, Kita-ku, Nagoya-shi, Aichi-ken 462, Japan
(Received August 26, 1993 and accepted in revised form November 30, 1993)

シスであるが，これは当疾患の後期においてしか起こらない現象である．

螢光虹彩血管造影を行ってKottowら[1]は，BRVOにおいても，網膜の虚血性病変は虹彩血管の透過亢進を伴うことがあることを示している．Virdiら[2]は猿においてBRVOを実験的に起こして，網膜における血液網膜柵の破壊と虹彩の血管新生が関連があることを示している．さらに，近年fluorophotometryやlaser flare cell metryなどを使用して，BRVOの臨床例で血液房水柵の破壊が通常起こっていることを示す多くの報告がある[3)~8)]．

一方，角膜には自発螢光があり，これはミトコンドリアの代謝障害の結果生じるflavoproteinとpyridine nucleotideに起因することが基礎的実験で示唆されている[9)~13)]．しかしながら，この現象の臨床応用は殆どみられない[14)15)]．BRVOで血液房水柵破壊が細胞レベルで前眼部に一律に起こっていることが報告されているので[3)6)7)]，本報では角膜の細胞レベルの異常の指標である自発螢光に着目し，BRVOの症例で検討を行った．

II 症例と方法

発症後2か月から7年の50歳以上の片眼性BRVOを対象とし，僚眼に老人性白内障以外の眼疾患を有する例，1年以内に螢光色素を使用した例を除外し，最終的に68症例を対象とした．これらのうち，網膜光凝固療法を受けた症例は28症例含まれていた．これらに行われた薬物療法は，prostaglandin製剤，urokinase点滴治療，全身循環改善薬などであった．対照として，年齢マッチを行った正常者も検討した．実験対象の症例を表1に示す．

角膜自発螢光は，市販されているFluorotron Master（OcuMetrics Inc. San Jose, Calif, 米国）を使用して測定した．本機では前眼部の詳細なscanningのためには，特別なレンズ（前眼部用のアダプター）が用意されており，これを使用した．本機の励起フィルターの最大透過率は85%であり，また，螢光フィルターのそれは90%である．そして，各々のband passは430～490 nmと530～630 nmである．各々のフィルターのband pass以外の透過率は0.1%以下であることがわかっている[16)]．角膜螢光の測定には，眼軸に沿って角膜ピークの値を求め使用した．図1に測定の実際を示す．

Stolwijkら[14)]は既に通常の測定と励起光，または螢光の光路の前に，螢光阻止フィルターを置いた測定とを比較することによって，ここで得られた螢光の約85%が自発螢光であることを明らかにした．さらに，この割合は病的眼と健常眼の間に差がないことも確認されている[14)]．我々も同様の方法でこの点を確認し，平均86.2%が自発螢光で，罹患眼，僚眼，正常対照眼に差はなかった（表2）．換言すれば，角膜ピークの平均86.2%は角膜自発螢光に由来し，平均13.8%がscatteringなど，他の人工産物に由来するということである．

表1 実験対象

	眼数	年齢幅（年）	平均年齢（年，平均値±標準偏差）	性比（男/女，眼数）
静脈分枝閉塞症				
罹患眼	68	50～77	61.4±8.4	32/36
僚眼				
対照	14	50～79	60.3±9.2	7/7

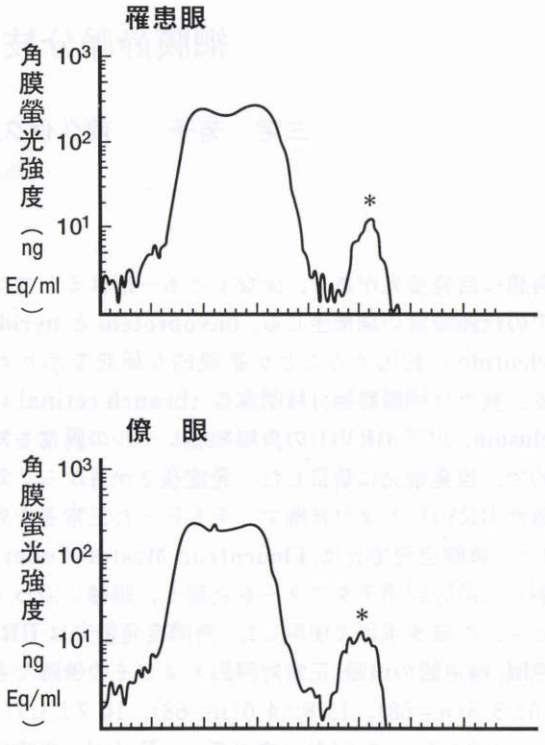

図1 代表例の成績
前眼部のスキャンで左側の大きい山が水晶体，右側の小さい山が角膜の各螢光強度を示す．角膜螢光の最高点（*印）を角膜ピークとして分析に使用した．

表2 各群の代表例の測定値

症例	年齢(年)	角膜螢光（ng Eq/ml 角膜ピーク値）	自発螢光(%)
対照眼	61	12.6	84.6
静脈分枝閉塞症 罹患眼	63	17.5	86.7
静脈分枝閉塞症 僚眼	58	13.2	87.0

III 結果

角膜自発螢光は，BRVO罹患眼，罹患眼の僚眼，正常対照眼，その僚眼で各々15.6±5.8（n=68），13.8±4.0（n=68），14.2±3.7（n=14），14.0±3.6（n=14）（すべてng Eq/ml，平均値±標準偏差）であった．罹患眼は，僚眼と比較し有意（$p<0.01$, Paired t-test ; $p<0.001$, Sign Wilcoxon test）に高値を示した．僚眼は正

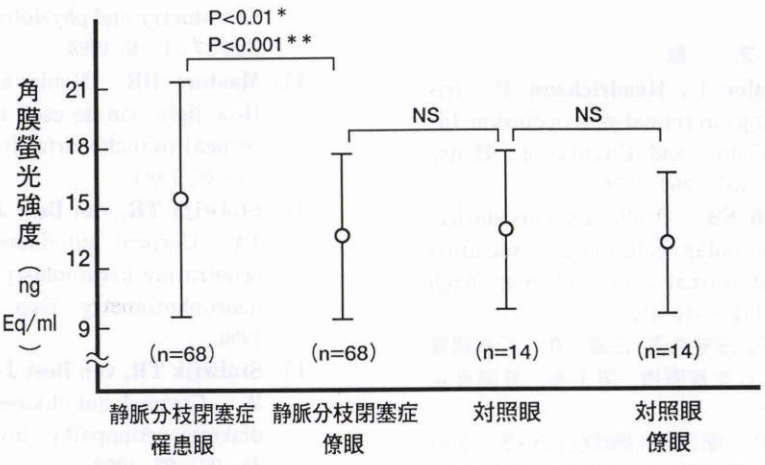

図2　静脈分枝閉塞症の罹患眼，その僚眼および対照眼の両眼の角膜自発螢光値．
*：Paired t-test, **：Sign Wilcoxon test, NS：有意差なし

常対照眼と比較し有意差はなく，また正常対照眼とその僚眼との比較でも有意差はなかった(Paired t-test, Sign Wilcoxon test)．

IV　考　按

本研究で我々は，BRVO症例では一律に角膜自発螢光が上昇していることを発見した．網膜の一部で起こった病態が，角膜の細胞レベルに必ず異常を起こすことは興味がある現象であり，成因，臨床的意義について考察する意味がある．

細胞，組織などの自発螢光の測定は，組織呼吸，特にミトコンドリアの酸化還元系(redox)に関連する状況の指針として使用されてきた[17)18)]．角膜では角膜redox fluorometryと呼ばれ，本法でミトコンドリア由来の酸化flavoproteinやpyridine nucleotideの発する螢光強度が測定された[9)~13)]．この測定による螢光強度は，①ミトコンドリアの酸素利用の有効度，②代謝物質の有効度，③組織の代謝能力などを反映するものである[9)~13)]．したがって，角膜redox fluorometryにより角膜の呼吸，代謝，生理学的機能の健常さを知ることができるのである．

BRVOと角膜における自発螢光の増加を結び付ける機序を考察することは興味深い．BRVOにおいて，動静脈交叉部の重要性が示唆されてきた．全身性の動脈硬化のある患者の動静脈交叉部では，血管内皮は抗血栓性の低下や，血小板，白血球の凝集を起こしやすいといった病態が発生する．このような状況では，セロトニン，カルシウムイオン，アラキドン酸，ライソゾーム酵素，血小板由来増殖因子，血小板活性化因子などの化学的伝達物質が生合成される可能性も示唆される[19)~21)]．これらの物質のうちには，前眼部の血管新生や血液房水柵の破壊に関連するものもあるし，本報で示された角膜の細胞，特にミトコンドリアの機能に影響を与えるものも存在する可能性がある．さらに，BRVOで通常みられる網膜毛細血管の環流不全で網膜は低酸素状態になり，これが血管新生や血液房水柵破壊のもう一つの原因になり得るとも考えられる[2)22)]．網膜の低酸素状態は角膜細胞のミトコンドリアの呼吸（redox state）代謝系に直接的に影響を及ぼし，flavoproteinやpyridine nucleotideなどの発生に関連するかも知れない．これらの物質や伝達物質は動静脈交叉部や網膜毛細血管環流不全部位から硝子体中を拡散して前眼部に達し，血液房水柵破壊や血管新生のみならず角膜自発螢光の上昇をもたらすと推理できる．これらの推理を証明するためには，静脈閉塞領域の大きさと角膜自発螢光の強度の相関を検討する必要がある．現在これに関連して，静脈閉塞部位による差，ischemic typeとnonischemic typeの差，中心静脈閉塞症と静脈分枝閉塞症の差などを検討中で，続報で報告する．

血液房水柵破壊は，BRVOでは必発の現象であり，これが本症の進行とともに変化し，また重症度とも並行することが示されている[3)6)7)]．背景に共通の機序を有する可能性がある角膜自発螢光の上昇も，本症の型，重症度，病期との関連の上からさらに検討をすすめることは興味深い．特に本法が非侵襲的であり，短時間で検査可能なことは，患者，検査者双方にとって有利である．

Larsenら[23)]は，角膜部に発生するFluorotron Masterを使用した角膜の螢光測定上のシグナルは，角膜表面における励起光の散乱によると推定していた．しかし，Stolwijkら[14)]は，螢光遮断フィルターを使用した実験で，角膜シグナルの75～93%（平均84%）は自発螢光であることを認めた．我々も同様の方法で追試したが，平均86%は自発螢光であることを認めた．したがって，Fluorotron Masterで角膜螢光を測定することは興味がある．しかし，それでもなお角膜シグナルには非特異的螢光，背景螢光，散乱などが様々な程度に混入する可能性がある．これをできるだけ除外する意味から，本報のごとく局所解剖や前眼部の状況の類似した病的眼とその健常僚眼の比較はよい方法であり，自発螢光の僚眼との比は，今後BRVOの様々な病態で使用できる指標と考

えている．

文 献

1) **Kottow M, Metzler U, Hendrickson P**: Iris angiographic findings in retinal vein occlusion. In: Cant JS (Ed): Vision and Circulation. Henry Kimpton, London, 251—264, 1976.
2) **Virdi PS, Hayreh SS**: Ocular neovascularization with retinal vascular occlusion. I. Association with experimental retinal vein occlusion. Arch Ophthalmol 100: 331—341, 1982.
3) **三宅謙作, 朝倉当子, 三宅武子, 三浦 花**：分枝網膜静脈閉塞症における血液眼柵．第Ⅰ報．日眼会誌 88: 746—750, 1984.
4) **三宅芳子, 三宅謙作**：糖尿病性網膜症ほか2～3の全身血管病における房水蛋白の測定，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，金原出版，東京，148—151, 1990.
5) **大鹿哲郎**：網膜静脈分枝閉塞症における血液房水柵機能の定量的検討．眼紀 41: 554—559, 1990.
6) **Miyake K, Miyake T, Kayazawa F**: Blood-aqueous barrier in eyes with retinal vein occlusion. Ophthalmology 99: 906—910, 1992.
7) **前久保久美子, 三宅武子, 三宅謙作**：網膜静脈分枝閉塞症での血液房水柵機能とその経過．臨眼 47: 93—97, 1993.
8) **Nguyen NX, Kuchle M**: Aqueous flare and cells in eyes with retinal vein occlusion—Correlation with retinal fluorescein angiographic findings. Br J Ophthalmol 77: 280—283, 1993.
9) **Chance B, Lieberman M**: Intrinsic fluorescence emission from the cornea at low temperatures: evidence of mitochondrial signals and their differing redox states in epithelial and endothelial sides. Exp Eye Res 26: 111—117, 1978.
10) **Laing RA, Fischbarg J, Chance B**: Noninvasive measurements of pyridine nucleotide fluorescence from the cornea. Invest Ophthalmol Vis Sci 19: 96—102, 1980.
11) **Masters BR, Falk S, Chance B**: *In vivo* flavoprotein redox measurements of rabbit corneal normoxic-anoxic transitions. Curr Eye Res 1: 623—627, 1982.
12) **Masters BR, Riley MV, Fischbarg J, Chance B**: Pyridine nucleotides of rabbit cornea with histotoxic anoxia: Chemical analysis, non-invasive fluorometry and physiological correlates. Exp Eye Res 37: 1—9, 1983.
13) **Masters BR**: Noninvasive redox fluorometry: How light can be used to monitor alterations of corneal mitochondrial function. Curr Eye Res 3: 23—26, 1984.
14) **Stolwijk TR, van Best JA, Boot JP, Oosterhuis JA**: Corneal autofluorescence in diabetic and penetrating keratoplasty patients as measured by fluorophotometry. Exp Eye Res 51: 403—409, 1990.
15) **Stolwijk TR, van Best JA, Oosterhuis JA, Swart W**: Corneal autofluorescence: An indicator of diabetic retinopathy. Invest Ophthalmol Vis Sci 33: 92—97, 1992.
16) **Occhipinti JR, Mosier MA, Burstein NL**: Autofluorescence and light transmission in the aging crystalline lens. Ophthalmologica 192: 203—209, 1986.
17) **Chance B, Schoener B, Oshino R, Itshak F, Nakase Y**: Oxidation-reduction ratio studies of mitochondria in freeze-trapped smaples. NADH and flavoprotein fluorescence signals. J Biol Chem 254: 4764—4771, 1979.
18) **Chance B**: Pyridine nucleotide as an indicator of the oxygen requirements for energy-linked functions of mitochondria. Circ Res Suppl I 38: I-31— I-38, 1976.
19) **Fajardo LF**: The complexity of endothelial cells. A review. Am J Clin Pathol 92: 241—250, 1989.
20) **Vanhoutte PM**: Endothelium and control of vascular function: State of the art lecture. Hypertension 13: 658—667, 1989.
21) **Gryglewski RJ, Botting RM, Vane JR**: Mediators produced by the endothelial cell. Hypertension 12: 530—548, 1988.
22) **Patz A**: Clinical and experimental studies on retinal neovascularization. XXXIX Edward Jackson Memorial Lecture. Am J Ophthalmol 94: 715—743, 1982.
23) **Larsen M, Kjer B, Bendtson I, Dalgaard P, Lund-andersen H**: Lens fluorescence in relation to metabolic control of insulin-dependent diabetes mellitus. Arch Ophthalmol 107: 59—62, 1989.