

新しい前眼部用フルオロフォトメーターを用いた 角膜上皮バリアー機能の測定

横井 則彦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⁾興和株式会社医用技術部

要 約

角膜上皮バリアー機能検査に適したスリットランプ型フルオロフォトメーターを開発した。装置の特長として、①角膜に対して focal diamond の位置を正確に決定できること、②フィルターの特性により準暗室でも測定できること、③測定時間は約1秒であり、眼球運動や瞬目の影響を受けにくいことが挙げられる。角膜および涙液メニスカスを測定対象とした場合、フルオレセインの濃度範囲として、それぞれ5,000, 10,000 ng/ml まで測定可能であった。健常な角膜に対してフルオレセインを点眼後、10分ごとに40分までの濃度を測定すると、洗眼を行わない場合、角膜中央でのフルオレセイン濃度の減少

速度は10.0%/分となり、涙の turnover を反映していると考えられた。一方、点眼10分後に洗眼を行った場合は、1.4%/分で減少し、角膜内のフルオレセインの濃度変化を反映していると考えられた。さらに、角膜の自発蛍光も測定でき、年齢との間に有意な相関がみられた。(日眼会誌 98:641-647, 1994)

キーワード：フルオロフォトメーター、角膜上皮バリアー機能測定、フォーカルダイヤモンド、角膜自発蛍光

A New Slit-lamp Fluorophotometer for the Clinical Evaluation of Corneal Epithelial Barrier Function

Norihiko Yokoi¹⁾, Shigeru Kinoshita¹⁾ and Koichi Akiyama²⁾

¹⁾Department of Ophthalmology, Kyoto Prefectural University of Medicine

²⁾Medical Engineering Department Electronics & Optics Division Kowa Company Ltd

Abstract

A new objective slit-lamp fluorophotometer was developed to examine corneal epithelial barrier function. This instrument has several new characteristics. The photodetector system is placed directly in front of the cornea and the focal diamond is accurately positioned at the corneal surface, permitting measurement of the barrier function of peripheral parts of the cornea. Due to the filter characteristics, measurement can be done even in a relatively bright room. Only one second is needed for measurement, eliminating blink interruption. Linear relationships were found between measurement count and fluorescein concentration. 0.5% and 3 μ l of fluorescein was

applied to the eyes of healthy volunteers. In non-washed eyes, the concentration changes were consistent with tear turnover, and in washed eyes, the changes reflected the barrier function of the corneal epithelium and showed correlation with age. This instrument is also useful for determining autofluorescence. A significant relation was seen between autofluorescence and age. (J Jpn Ophthalmol Soc 98:641-647, 1994)

Key words: Fluorophotometer, Corneal epithelial barrier function, Focal diamond, Corneal autofluorescence

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 横井 則彦
(平成5年8月12日受付, 平成6年3月17日改訂受理)

Reprint requests to: Norihiko Yokoi, M.D. Department of Ophthalmology, Kyoto Prefectural University of Medicine, 465 Kajicho, Hirokoji-agaru, Kawaramachi-dori, Kamigyo-ku, Kyoto-shi, Kyoto-fu 602, Japan

(Received August 12, 1993 and accepted in revised form March 17, 1994)

I 緒 言

フルオレセイン・ナトリウム (フルオレサイト®) をレーザーとする近代的なフルオロフォトメトリー法¹⁾²⁾は、点眼あるいは経静脈投与されたフルオレセインを励起し、放出される蛍光を光電子増倍管 (photomultiplier tube) に導き、その強度を測定する方法である。検量線を用いれば、その蛍光強度をフルオレセイン濃度に換算することが可能であり、これまで、涙液動態³⁾、角膜上皮^{4)~7)}および角膜内皮⁸⁾のバリアー機能、房水循環⁹⁾、血液網膜柵¹⁰⁾などの解析に応用されてきた。

フルオロフォトメトリー法は、当初、涙液、角膜、房水などの前眼部を測定対象として開発されたが^{11)~15)}、血液網膜柵の機能評価⁶⁾としての意義が見出されて、硝子体を測定対象としたスキャン方式のフルオロフォトメーターが汎用機として登場した。この装置は、前眼部に対しては本質的に限界を持つものの、角膜上皮のバリアー機能検査にも応用され、多くの報告^{4)~7)}が見られる。

前眼部を測定対象とするフルオロフォトメーターは Maurice¹²⁾によってその原型が確立され、以後改良されて、より使いやすいスリットランプ型の装置³⁾¹⁵⁾が登場した。これらの装置は、涙液や角膜の測定に適した様式であり、実際の臨床にも使用可能なタイプと考えられるが、まだ日常の診療に活用されるまでには至っていない。

近年、ドライアイをはじめとする種々の眼疾患の病態が ocular surface の概念で理解されるようになり、涙液動態や角膜上皮のバリアー機能評価の重要性はますます

増してきていると考えられる。そこで我々は、これまでのフルオロフォトメーターと原理は同じであるが、より臨床に即した仕様のスリットランプ型フルオロフォトメーターを開発したので、その仕様ならびに角膜上皮バリアー機能検査への応用について報告する。

II 実験方法

1. 装置のブロックダイアグラム

図1には、角膜測定時のブロックダイアグラムを示した。投光系にはハロゲンランプ (12 V, 30 W) を用い、エキサイターフィルターによって波長 460~520 nm の領域 (470~510 nm は透過率約 90%) の励起光を、被検眼の照射に利用した。ただし、サイドバンドとして、波長 370~400 nm の領域も約 30% の透過率を示すため、この領域の光も照射光に含まれている。受光系を被検眼の正面に設置するため、測定角としては投光系の妨げにならない 30° を選び、バリアーフィルターのバンド幅は、520~620 nm とした (540~590 nm は透過率約 90%)。励起光のスリットサイズ、マスクの開口径 (測定視野) の大きさは、それぞれ被検眼上で 4 (縦) × 2 (横) mm、0.3 (縦) × 0.5 (横) mm とした。

2. 装置の仕様

1) 測定領域の決定

検者が測定部位を知るための工夫として、測定部位と共役関係にある受光系のマスクと、さらに共役の位置に新たなマスクを置いた。そのマスクを赤色発光ダイオードで照らし、その透過光をハーフミラーを用いて観察光

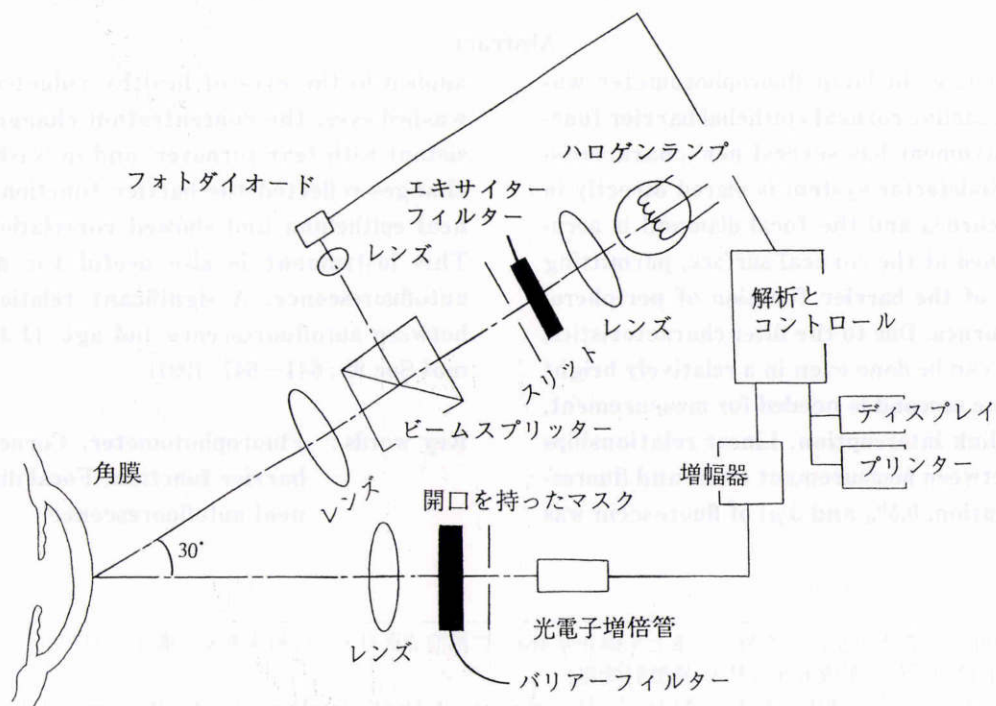


図1 新しく開発したフルオロフォトメーターのブロックダイアグラム。
測定角 (30°) は角膜測定の場合を示した。

と同時に検者に導いた。その結果、検者は測定部位と受光系のマスクとの位置関係を知ることができ、角膜上の測定したい部位に焦点を合わせれば、受光系のフォーカルダイヤモンドの位置を角膜上に正確に決定できた(図2, 黒でフォーカルダイヤモンドの位置を示した)。さらに、この位置関係は固視灯で導くことにより、角膜周辺でも再現でき、角膜周辺部の測定も可能であった。

測定視野が小さく、測定角が可変であるため、涙液メニスカスを測定対象とすることも可能であり¹⁵⁾、この場合は、測定角を90°(投光、受光系はそれぞれ視軸に対し30°, 60°)とした(図3, 黒い領域はフォーカルダイヤモンド、受光系は簡略化して示した)。この測定角は、フォーカルダイヤモンドをできるだけ涙液メニスカスに一致させるための設定である。

2) フォーカルダイヤモンド

前後長が比較的短い(水平、垂直の断面でそれぞれ角

膜表面から0.9 mm, 0.55 mm)ため、前房側への突出部分は少なく(全体の7%以下)水晶体の自発蛍光を検出しなかった。

3) 測定環境, 測定時間, 測定値の補正

近赤外光から長波長の光はバイアフィルターでカットされるため、装置のまわりに暗幕を張って被検者を入れ、被検者の位置で10ルクス以下であれば測定値に影響はなかった。測定時間は約1秒であり、眼球運動や瞬目の影響は少なかった。測定値の補正は、角膜形状(半球状)に加工した蛍光ガラス(コーニング社CS 3-79)を基準感度として用い補正した。

3. 検量線の作成

角膜および涙液メニスカスを測定対象として、蛍光強度(測定値)とフルオレセイン濃度の関係を調べた。

フルオレセイン・ナトリウム液(フルオレサイト1号注射液®, Alcon)を緩衝溶液(BSS PLUS®, Alcon)

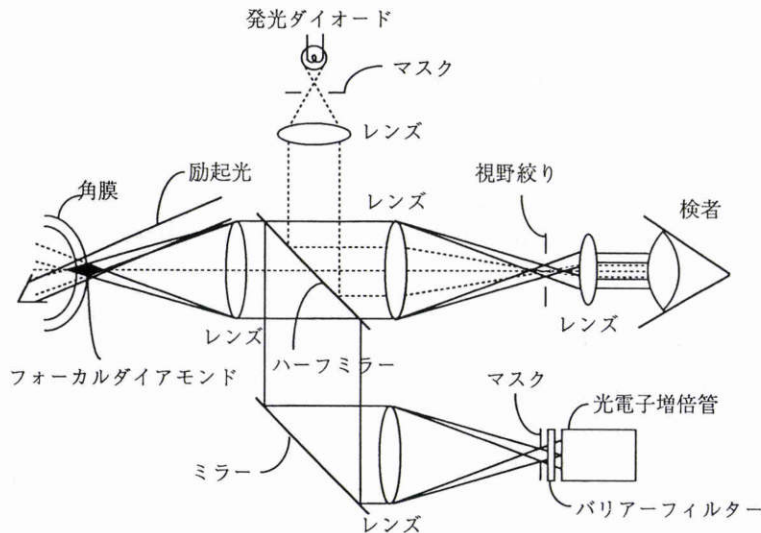


図2 受光系(観察系)と被検眼角膜の関係を示すシェーマ。

角膜表面の測定部位は、受光系のマスクならびに検者に観察可能なもう一つのマスクと共役関係にあり、角膜表面を両眼で観察しながらマスクの位置決定を行うと受光系のフォーカルダイヤモンド(黒の領域)は、図に示した位置に正確に決定される。フォーカルダイヤモンドの前後長は水平、垂直の断面でそれぞれ角膜表面から0.9 mm, 0.55 mmである。

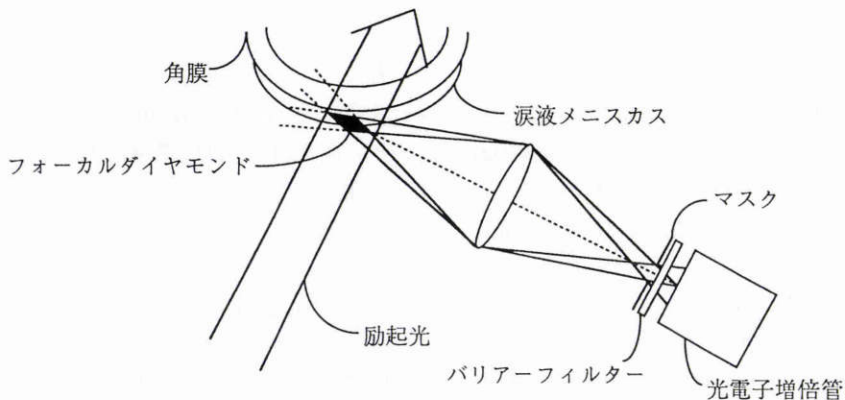


図3 涙液メニスカスを測定する場合の投光系と受光系の関係。測定角は90°。ただし、受光系は簡略化した。

に種々の濃度で溶解し、0.5 mm 間隔(角膜厚に相当)で置いたスライドガラス間に満たして、今回の装置で測定した。フルオレセイン溶液の濃度は低濃度溶液(0, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80 ng/ml)および高濃度溶液(50, 100, 150, 300, 500, 1,000, 1,500, 2,000, 3,000, 5,000 ng/ml)で調べた。各フルオレセイン溶液でのカウント値は、10回測定の平均値をとり、スライドガラス容器のみでのカウント値(バックグラウンド値, 10回測定の平均値)を引いた値とした。涙液メニスカスを測定対象とする場合には、生体眼と同様の涙液メニスカスを持ったモデル眼を作成し、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点眼した。上記と同様に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、その部のバックグラウンド値を引いた値で検討した。

4. 健常人角膜を対象とした測定

涙液減少症および角膜、涙道に異常のない健常者を対象として、以下の手順で測定を行った。①角膜中央に焦点を合わせて、バックグラウンド蛍光(自発蛍光)を10回測定し、平均値を求めた。②検量線作成時と同様に0.5%(5 mg/ml)のフルオレセイン BSS PLUS®溶液を作成し、マイクロピペット(Eppendorf)を用いて被検眼の下眼瞼結膜囊中央に3 μ l点眼した。③点眼10分後、20 mlのBSS PLUS®を用いて被検眼を洗眼した。方法は、まず、下眼瞼結膜、結膜囊、球結膜、および角膜を洗浄したあと上眼瞼を反転して同様に洗浄し、再び下眼瞼結膜囊を洗浄した。④点眼10, 20, 30, 40分後(それぞれ洗眼直後, 10, 20, 30分後)に角膜中央で10回測定して平均し、バックグラウンド値を引いた。以上の測定を洗眼操作を加えないで測定した場合と比較した。

III 結 果

1. フルオレセイン濃度と蛍光強度の関係

スライドガラスによる角膜モデルを本装置で測定した場合、測定値(蛍光強度)とフルオレセイン濃度との間には、フルオレセインの低濃度(0~80 ng/ml)でも高濃度(0~5,000 ng/ml)でも直線的な相関関係が認められた(低濃度: $Y=4.8+3.5 X$, $r=0.992$, 高濃度: $Y=-25+4.0 X$, $r=0.999$ 。ただし、いずれも実数での回帰式であり、 Y, X はそれぞれフルオレセイン濃度(ng/ml), 測定値を示す)。モデル眼の涙液メニスカスにおける測定でも直線的な相関が認められた($Y=8.0 X-90$, $r=0.999$)。

2. 健常眼での測定結果

洗眼を行った群(24名, 35眼)あるいは、洗眼を行わなかった群(7名, 14眼)について、角膜中央での蛍光強度測定値の時間経過を検討した。測定結果は、先に求めた検量線を用いてフルオレセイン濃度に換算(それぞ

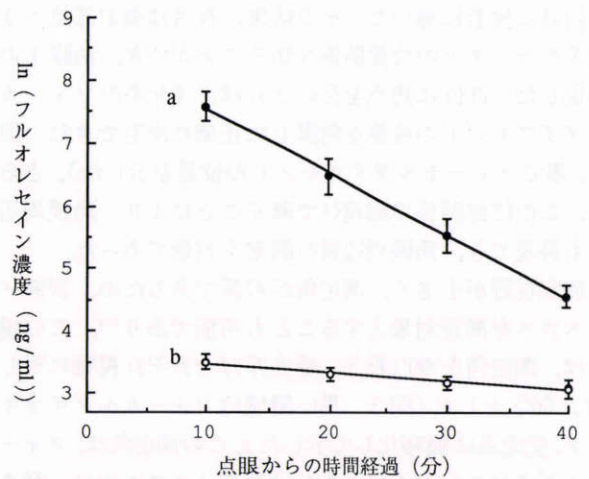


図4 洗眼を行わなかった場合(a)と洗眼を行った場合(b)のフルオレセイン濃度の時間経過(それぞれ $n=14$, $n=35$, 各値は平均値 \pm 標準誤差を示す)。洗眼を行った場合の10分値は、洗眼直後の測定結果を示す。いずれも有意に直線回帰された(a: $Y=8.58-0.100 X$, $r=0.999$, b: $Y=3.61-0.0137 X$, $r=0.980$)。

れ低濃度および高濃度の直線回帰式)し、洗眼直後(点眼10分後)からの時間経過を見た。両者ともにフルオレセイン濃度の対数値の時間変化は有意に直線回帰された(図4)。直線の傾きは、フォーカルダイヤモンドに分布するフルオレセインの消失速度(%/min)を示しており、洗眼を行わない場合は10.0%/minとなり、一般に知られる涙液のturnover rateに相当する値⁹⁾を示した。一方、洗眼を行った場合には1.4%/minとなり、洗眼を行わない場合の約1/7に減少した。この消失速度は、主として角膜内に取り込まれたフルオレセインの消失速度を反映しているものと考えられた。

洗眼直後、10分後、20分後、30分後の測定値は、それぞれ 43.3 ± 34.0 , 32.6 ± 20.2 , 28.1 ± 15.9 , 26.8 ± 15.2 ng/ml ($n=35$, 平均値 \pm 標準偏差)となった。洗眼初期には、測定値のばらつきが比較的大きく、洗眼刺激による流涙の影響や、結膜囊に残留したフルオレセインの影響が認められたが、時間経過とともにばらつきは減少した。また、時期を変えて5回の測定が行われた同一被検者についての洗眼20分後のフルオレセインの取り込み濃度は 30.7 ± 9.0 ng/ml ($n=5$, 平均値 \pm 標準偏差)であり、測定値の変動(標準偏差/平均値)は30%であった。

健常角膜中央での洗眼後20分(点眼後30分)のフルオレセインの取り込み濃度の加齢変化を検討すると、統計学的に有意な加齢による取り込みの増加が見られた($p<0.01$, 図5)。20代と70代における洗眼後20分のフルオレセインの取り込み濃度を示すと、それぞれ 24.2 ± 12.7 ($n=21$, 平均値 \pm 標準偏差), 42.0 ± 15.4 ng/ml ($n=7$, 平均値 \pm 標準偏差)であった。

測定バックグラウンド値、すなわち、角膜の自発蛍

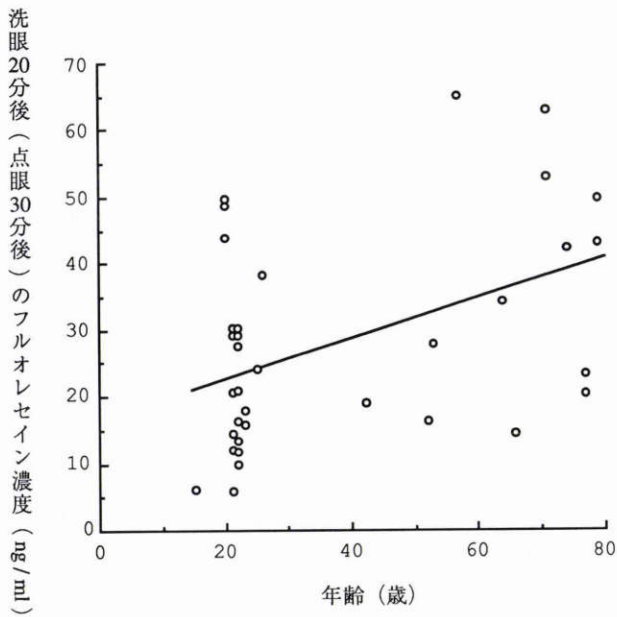


図5 健常角膜中央部でのフルオレセインの取り込み濃度と年齢の関係。

点眼30分(洗眼20分)後の角膜内へのフルオレセインの測定領域での濃度は 28.1 ± 15.9 ng/ml ($n=35$, 平均値 \pm 標準偏差)であり, 年齢との相関を認めた ($Y=16.7+0.300X$, $r=0.437$, ($p<0.01$)).

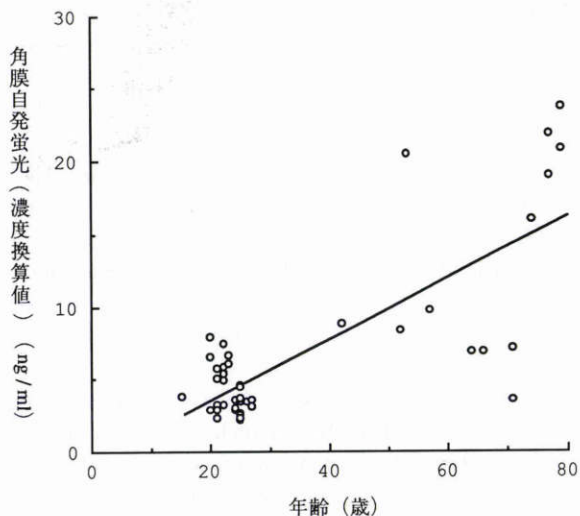


図6 角膜の自発蛍光値と年齢の関係。

角膜の自発蛍光値 (6.6 ± 5.6 ng/ml; $n=49$, 平均値 \pm 標準偏差)は年齢との相関を認めた ($Y=-0.73+0.21X$, $r=0.775$, ($p<0.001$)).

光値は 6.6 ± 5.6 ng/ml ($n=49$, 平均値 \pm 標準偏差, 低濃度の回帰直線を用いて濃度換算)であり, 一次回帰をあてはめると年齢との有意な相関が認められた ($p<0.001$, 図6)。

IV 考 按

今回開発したフルオロフォトメーターは, 細隙灯と同様の観察方法で測定領域を選択でき, 測定領域からの螢

光を正面から受光できるため, 角膜だけでなく水晶体にも対応できるフルオロフォトメーターであるといえる。また, 自由に測定角を選択でき, 測定視野も小さいため涙液動態¹⁰⁾や房水循環の解析にも応用可能である。

角膜モデルを用いた測定では, 5,000 ng/mlまでフルオレセイン濃度と測定値との直線関係が認められた。しかし, 今回の結果では低濃度と高濃度で回帰式の傾きに少し違いが見られており, その原因として, 低濃度では溶液の希釈に難点があり, 誤差を生じている可能性が考えられた。

角膜上皮のバリアー機能測定においては, 涙液層と角膜のコンパートメントが明確に区別されねばならず, これらのコンパートメントにおけるフルオレセイン濃度の時間変化を知ることにより, バリアー機能の解析が可能となる。今回の装置は, 角膜上皮表面に対してフォーカルダイヤモンドの位置を再現性よく決定できるため, コンパートメントは容易に決定される。しかし, 装置のフォーカルダイヤモンド(測定領域に相当)は, 角膜上皮表面を基底面として, 前後方向で四角錐状に先ぼそりになるため, 測定値は主に角膜上皮付近のフルオレセインの濃度変化を反映していると考えられる。

フルオレセインは健常角膜上皮をほとんど透過しない(点眼濃度の0.002%¹¹⁾)とされるため, フルオレセインを点眼後洗眼を行わないと, フォーカルダイヤモンドの前半にある涙液中の多量のフルオレセインが後半にある角膜に取り込まれた微量のフルオレセインを隠蔽してしまう。その結果, 測定領域のフルオレセイン濃度の時間変化は涙液中のフルオレセインの turnover を主に反映すると考えられる。今回の結果でも, 洗眼を行わない場合, フルオレセインの消失速度は10.0%/minとなり, Mi-shimaら³⁾の報告による涙液メニスカスにおける涙の turnover rate (16%/min)に近い値となった。しかし, この結果は, 装置のフォーカルダイヤモンドの位置決めを正確さを反映していると考えられ, 一方で涙液メニスカス以外の部位, すなわち角膜前面でも涙液の turnover rate が計測できる可能性を示していると考えられる。つまり, 洗眼をしないと涙液中のフルオレセインが検出されなくなるまで相当の時間待たなければ角膜中のフルオレセインの濃度変化を評価できず, 臨床での使用を考えると実際的とはいえない。

一方, 洗眼を行うことは, 涙液中のフルオレセイン濃度を一気に0に近い濃度まで下げることであり, 測定領域には主に角膜のフルオレセインが含まれる。したがって, その濃度の時間変化には, 角膜に取り込まれたフルオレセインの前房へ向かう移行と角膜から涙液への逆拡散が反映されると考えられる。今回の測定結果から, 洗眼を行った場合, 測定濃度の対数値の時間変化は直線的に推移し二成分にはならなかった。つまり, 角膜, 涙液層間の大きな濃度勾配や, 測定領域の形状を考えると,

前房へ向かう順方向の実質中のフルオレセインの拡散の寄与はわずかで、逆拡散による涙液への移行が主体を成し、その移行による濃度変化が測定されたものと考えられた。したがって、洗眼操作は、涙液中のフルオレセインに隠蔽されていた角膜中のフルオレセインを観測するために必須の方法であると考えられる。

今回の装置を用いて角膜上皮バリアー機能測定を行う場合、洗眼直後の角膜への取り込み濃度を評価するのが最もよいと考えられる。しかし、洗眼操作には、被検眼あるいは検者によるばらつきを伴いやすいため、比較的ばらつきの落ち着いた、洗眼後20分（点眼後30分）の測定濃度によって評価した。この値には、逆拡散による取り込み値の低下の影響が含まれているが、例えば洗眼後にフルオレセインが涙液中に残留していても、その濃度は16%にまで希釈されており、洗眼操作の影響を除くのには有効と考えられる。

今回の検討で、洗眼後20分における角膜へのフルオレセインの取り込み濃度は加齢により有意に増加した。つまり、この取り込みの程度から評価すると、角膜上皮バリアー機能は加齢により低下すると考えられる。de Kruijfら⁵⁾は15~67歳（平均30.9歳）の86眼の検討において、角膜上皮バリアー機能は加齢により変化しないと報告している。この報告では、スキャン方式のフルオロフォトメーターを用いてはいるが、角膜に対するフルオレセインの濃度負荷を一定にするために、被検眼をフルオレセイン溶液に一定時間浸してから洗眼を行っている。したがって、被検者間の涙液 turnover の違いに影響されないため、フルオレセイン負荷濃度に個体間のばらつきがなく、バリアー機能測定においてはより正確な方法であると考えられる。Mishimaら³⁾は、フルオレセイン点眼後5分までの涙の turnover は点眼刺激による涙液分泌に関係し、若年者に比べ高齢者では遅いことを報告している。この報告から考えると、今回の方法は高齢者では涙液 turnover が若年者に比べて遅いために角膜に対するフルオレセインの負荷が増加し、取り込み濃度の増加をもたらしたとも考えられ、今後の検討課題であると思われる。

角膜の自発蛍光は特に励起波長に依存し、フルオロフォトメーターの種類によって測定値が異なるとされ、今回の結果で得られたように加齢による自発蛍光の増加が指摘されている²⁾。角膜の自発蛍光の由来は明確ではないが、角膜の細胞レベルの蛍光、すなわち pyridine nucleotide や flavoprotein に由来する蛍光¹⁷⁾が今回の装置で測定可能かどうかは臨床応用を考える上で興味のあるところである。装置のフィルター特性から考えると、蛍光波長の中央値が550 nmである flavoprotein が測定対象となり得ると考えられるが、この点に関しても今後検討する必要があると思われる。

これまで各種のスリットランプ型フルオロフォトメー

ターが報告³⁾¹⁵⁾されており、今回の装置も同程度の利点を有していると考えられる。しかし本装置では、受光系を被検眼の正面に設置した状態で、フォーカルダイヤモンドの角膜に対する位置を再現よく決定できるため、より角膜上皮のバリアー機能検査に適した仕様となっている。したがって、被検眼の動きにもある程度追従可能で操作性に優れている。この機能は角膜上皮のバリアー機能測定にはきわめて有用であるが、水晶体の自発蛍光測定¹⁾などにも広く適用できると思われる。

今後の課題として、①測定時間をさらに短縮して測定値を安定させる、②小さな開口部を多数持つマスクを設けて、びまん性表層角膜炎などのバリアー機能の不均一な障害を評価できるようにする、③測定視野をさらに小さくして涙液メニスカスの低いドライアイの涙液動態解析にも対応できるようにすることが挙げられ、さらに改良中である。

本研究は京都府医学振興会の助成金の一部を用いて行われた。

文 献

- 1) 新家 真：フルオロフォトメトリーの原理。本田孔士(編)：眼科 Mook, 22, 眼生理。金原出版, 東京, 54-70, 1984.
- 2) Brubaker RF, Maurice DM, McLaren JW: Fluorometry of the anterior segment. In: Masters BR (Ed): Noninvasive diagnosis techniques in ophthalmology, Springer-Verlag, New York, 248-280, 1990.
- 3) Mishima S, Gasset A, Klyce SD, Baum JL: Determination of tear volume and tear flow. Invest Ophthalmol Vis Sci 5: 264-275, 1966.
- 4) Berkwitz RA, Klyce SD, Salisbury JD, Kaufman HE: Fluorophotometric determination of the corneal barrier after penetrating keratoplasty. Am J Ophthalmol 92: 332-335, 1981.
- 5) de Kruijf EJFM, Boot JP, Laterveer L, van Best JA, Ramselaar JAM, Oosterhuis JA: A simple method for determination of corneal epithelial barrier in humans. Curr Eye Res 6: 1327-1334, 1987.
- 6) Ramselaar JAM, Boot JP, van Haeringen NJ, van Best JA, Oosterhuis JA: Corneal epithelial permeability after instillation of ophthalmic solutions containing local anesthetics and preservatives. Curr Eye Res 7: 947-950, 1988.
- 7) Göbbels M, Spitznas M: Corneal epithelial permeability of dry eyes before and after treatment with artificial tears. Ophthalmology 99: 873-878, 1992.
- 8) Ota Y, Mishima S, Maurice DM: Endothelial permeability of the living cornea to fluorescein. Invest Ophthalmol Vis Sci 13: 945-949, 1974.
- 9) Jones RF, Maurice DM: New methods of measuring the rate of aqueous flow in man with fluorescein. Exp Eye Res 5: 208-220, 1966.

- 10) **Cunha-Va JG, Faria de Abreu JR, Campos AJ**: Early breakdown of the blood-retinal barrier in diabetes. *Br J Ophthalmol* 59: 649-656, 1975.
 - 11) **Langham ME, Wybar KC**: Fluorophotometric apparatus for objective determination of fluorescence in the anterior chamber of the living eye. *Br J Ophthalmol* 38: 52, 1954.
 - 12) **Maurice DM**: A new objective fluorophotometer. *Exp Eye Res* 2: 33-38, 1963.
 - 13) **Waltman SR, Kaufman HE**: A new objective slit lamp fluorophotometer. *Invest Ophthalmol* 9: 247-249, 1970.
 - 14) **Smith AT, Jones OP, Sturrock GD, Wright P**: An improved objective slit-lamp fluorophotometer using tungsten-halogen lamp excitation and synchronous detection. *Br J Ophthalmol* 61: 721-725, 1977.
 - 15) **Brubaker RF, Coakes RL**: Use of a xenon flash tube as the excitation source in a new slit-lamp fluorophotometer. *Am J Ophthalmol* 86: 474-484, 1978.
 - 16) 清水章代, 横井則彦, 西田幸二, 木下 茂, 秋山光一: 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. *日眼会誌* 97: 1047-1052, 1993.
 - 17) **Masters BR**: *In vivo* corneal redox fluorometry. In: Masters BR (Ed): *Noninvasive diagnosis techniques in ophthalmology*, Springer-Verlag, New York, 223-247, 1990.
-