

糖尿病網膜症における角膜自発蛍光の測定

石田 美幸, 横井 則彦, 奥沢 淳治, 前田 耕志, 木下 茂

京都府立医科大学眼科学教室

要 約

フルオロフォトメトリー法を用いて糖尿病患者の角膜自発蛍光を測定し、網膜症の程度、罹病期間、年齢、HbA_{1c}、血清脂質との関係を検討した。糖尿病患者では健常者に比べて角膜自発蛍光が有意に高く、また、増殖網膜症では単純網膜症に比べ自発蛍光が有意に高かった。さらに、光凝固後の増殖停止網膜症で自発蛍光が有意に低下したことから、自発蛍光が網膜の虚血状態を反映しているこ

とが考えられ、角膜自発蛍光が糖尿病網膜症の臨床的マーカーとなる可能性が示唆された。自発蛍光の由来としては、網膜虚血により誘導される未知の因子などの関与が考えられた。(日眼会誌 99:308-311, 1995)

キーワード：フルオロフォトメトリー、糖尿病網膜症、角膜自発蛍光

Corneal Autofluorescence in Patients with Diabetic Retinopathy

Miyuki Ishida, Norihiko Yokoi, Junji Okuzawa,
Koshi Maeda and Shigeru Kinoshita

Department of Ophthalmology, Kyoto Prefectural University of Medicine

Abstract

Corneal autofluorescence was investigated by fluorophotometry in patients with non-insulin-dependent diabetes mellitus and healthy volunteers, and evaluated as to its correlation with diabetic retinopathy. The corneal autofluorescence of diabetes patients, which was significantly higher than that of healthy controls, correlated significantly with the severity of retinopathy. In addition, the corneal autofluorescence of burned-out retinopathy patients was significantly lower than that of proliferative retinopathy patients. These

results suggest that corneal autofluorescence is correlated with retinal ischemia and that corneal autofluorescence can be an indicator of the activity of diabetic retinopathy. Corneal autofluorescence may originate in the accumulation of some factor induced by retinal ischemia within the corneal stroma. (J Jpn Ophthalmol Soc 99:308-311, 1995)

Key words: Fluorophotometry, Diabetic retinopathy, Corneal autofluorescence

I 緒 言

近年、フルオロフォトメトリー法による水晶体自発蛍光と加齢の関係が報告されており¹⁾、その原因物質はトリプトファンやその代謝物質であるキヌレニンの蓄積であることが明らかにされてきた²⁾。同様の手法で、角膜自発蛍光と加齢や疾患との関係が検討されてきたが^{3)~5)}、中でも糖尿病との関係がクローズアップされてきている。

今回我々は、前眼部型フルオロフォトメーターを用いて糖尿病患者の角膜自発蛍光を測定し、角膜自発蛍光と網膜症の程度、罹病期間、年齢、HbA_{1c}および血清脂質

との関係について検討を行った。その結果、糖尿病患者の角膜自発蛍光は、網膜症の活動性の臨床的マーカーとなる可能性が示唆されたので報告する。

II 対象および方法

1. 対 象

対象は、1993年4~9月の間に当科外来を受診したインスリン非依存性糖尿病(NIDDM)患者43例86眼(44~79歳、平均61.1歳)と、年齢をマッチさせた健常者32例64眼(42~79歳、平均58.9歳)で、角膜疾患のある例、コンタクトレンズ装用者、点眼治療を受けている例、白内障術後の症例、過去1か月以内に光凝固を受

別刷請求先：602 京都府京都市上京区河原町通広小路上ル梶井町465 京都府立医科大学眼科学教室 石田 美幸
(平成6年5月13日受付、平成6年9月29日改訂受理)

Reprint requests to: Miyuki Ishida, M.D. Department of Ophthalmology, Kyoto Prefectural University of Medicine, 465 Kajicho, Hirokoji-agaru, Kawaramachi-dori, Kamigyo-ku, Kyoto-fu 602, Japan
(Received May 13, 1994 and accepted in revised form September 29, 1994)

けた症例などは除外した。糖尿病網膜症の病期は、網膜症がない者、または単純糖尿病網膜症(ステージ1) 11例 22眼, 増殖前糖尿病網膜症(ステージ2) 9例 18眼, 増殖糖尿病網膜症(ステージ3) 16例 32眼, 増殖停止網膜症(ステージ4) 7例 14眼であった。各症例の病期は、検眼鏡所見および蛍光眼底造影所見から分類した。

2. 方法

既報⁹⁾のスリットランプ型フルオロフォトメーターの改良型である、コーワ社製アンテリアフルオロメーターFL-500(この装置では既報の装置の測定視野を0.15×0.3mmと小さく、測定時間を0.2秒に短縮しているが、他の仕様は同じである)を用い、フォーカルダイアモンドの最大割面を角膜表面に合わせて、角膜中央部で10回自発蛍光の測定を行った。角膜自発蛍光はあらかじめ作成した濃度換算回帰式を用いてフルオレセイン濃度値として算出した。この装置の励起波長は460~520nm(サイドバンドとして、波長370~400nm)、蛍光波長は520~620nmである。また、測定日に採血を同時に行い、HbA_{1c}、血清脂質(遊離脂肪酸、総コレステロール、トリグリセライド、βリポ蛋白、リン脂質)を測定し、角膜自発蛍光との関係を検討した。

III 結果

1. 健常者とNIDDM患者の角膜自発蛍光の比較(図1)

自発蛍光強度(濃度換算値)はNIDDM患者(以下、平均値±標準誤差ng/ml, 右眼:33.1±1.6, 左眼:32.9±1.4)が健常者(右眼:23.7±1.0, 左眼:24.1±1.1)に比べて有意に高く(p<0.0005)、平均で約1.4倍高値であった。

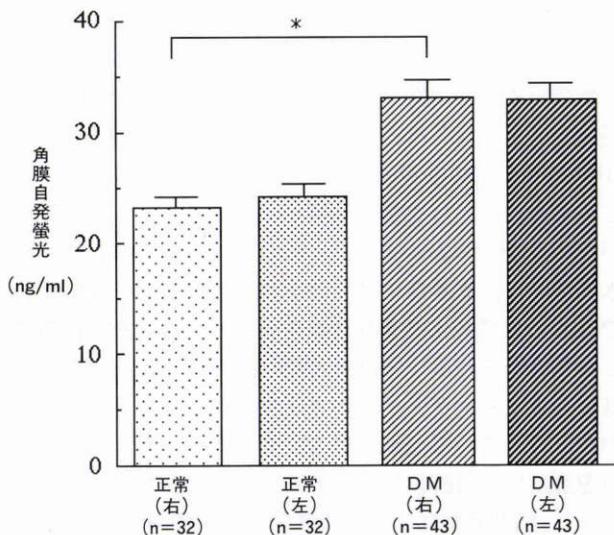


図1 健常者と非インスリン依存性糖尿病(NIDDM)患者における角膜自発蛍光の比較。各群の平均値±標準誤差を示す。*: p<0.0005

2. NIDDM患者の罹病期間と角膜自発蛍光の関係(図2)

両者に有意の相関を認めなかった (r=0.259)。

3. NIDDM患者の年齢と角膜自発蛍光の関係(図3)

両者に有意の相関を認めなかった (r=0.256)。

4. 健常者およびNIDDM患者の病期と角膜自発蛍光の関係(図4)

健常者とステージ1 (p<0.025), ステージ2 (p<0.0005) およびステージ3 (p<0.0005), ステージ3とステージ1 (p<0.005) およびステージ4 (p<0.025)の間にそれぞれ有意な差を認めた。ステージ1とステージ2の間に有意差は認めなかったが、自発蛍光の平均値はステージ1よりステージ2で高い傾向があった。

5. NIDDM患者のHbA_{1c}値と角膜自発蛍光の関係(図5)

両者に有意の相関を認めなかった (r=0.167)。

6. NIDDM患者の各種血清脂質値と角膜自発蛍光の関係

各群において有意の相関を認めなかった。

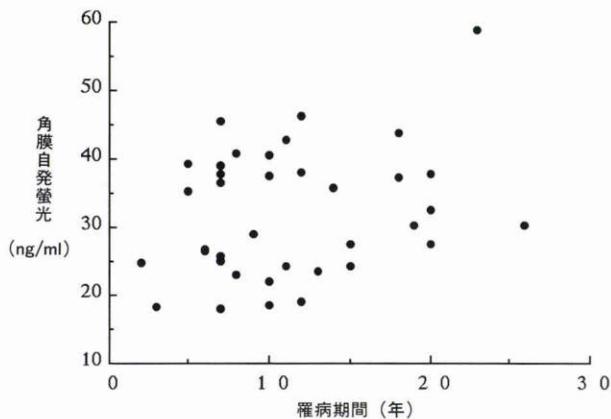


図2 NIDDM患者の罹病期間と角膜自発蛍光の関係。有意の相関を認めなかった。n=39, r=0.259

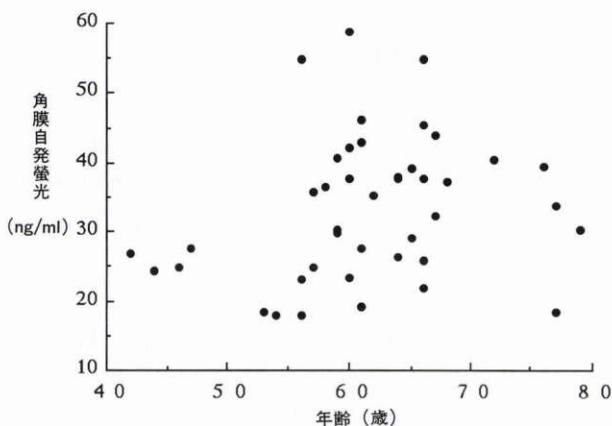


図3 NIDDM患者の年齢と角膜自発蛍光の関係。有意の相関を認めなかった。n=43, r=0.256

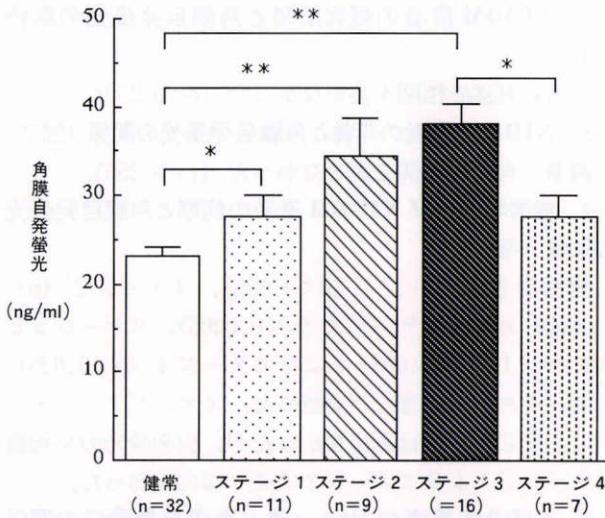


図4 健常者およびNIDDM患者の病期と角膜自発蛍光の関係。

各群の平均値±標準誤差を示す。* : p<0.025, ** : p<0.0005

ステージ 1 : 網膜症なし, または単純網膜症, ステージ 2 : 増殖前網膜症, ステージ 3 : 増殖性網膜症, ステージ 4 : 増殖停止網膜症

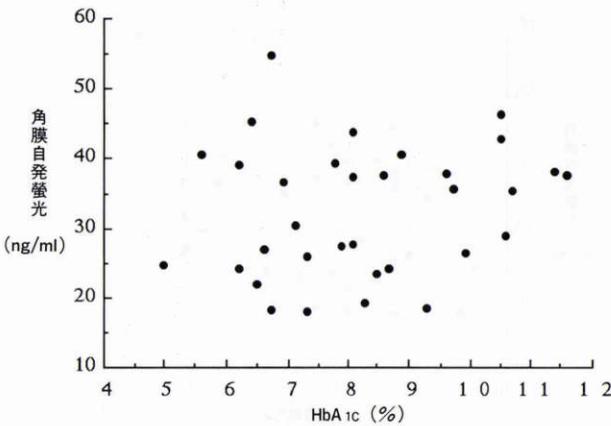


図5 NIDDM患者のHbA_{1c}値と角膜自発蛍光の関係。

有意の相関を認めなかった。n=33, r=0.167

IV 考 按

近年, 糖尿病における代謝異常が角膜の自発蛍光に影響を与える可能性が指摘されている^{3)~5)}. Stolwijk ら⁴⁾はフルオロトロンマスター®を用いて糖尿病患者の角膜自発蛍光を測定し, 糖尿病網膜症の程度と角膜の自発蛍光の間に有意な相関があると報告した. しかしながら, フルオロトロンマスター®はスキャンニング型のフルオロフォトメーターであるため, 角膜における測定部位にばらつきが生じやすく, 自発蛍光の計測値が変動しやすいと想像される. 今回我々が使用したフルオロフォトメーターは, 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位置を角膜表面に対して再現よく決

定できるため, より確実に角膜上皮, 実質層をターゲットとした角膜自発蛍光の測定を行うことができる⁶⁾. 今回の検討では角膜自発蛍光と年齢, 罹病期間, HbA_{1c}, 血清脂質との相関は認められなかったが, 角膜自発蛍光と糖尿病網膜症の病期については, Stolwijk ら³⁾⁴⁾の報告とほぼ同様の相関関係を認めた. 彼らの報告の被検者は主に欧米人であるが, 日本人を対象とした我々の測定結果も同様であったことから, 糖尿病網膜症の病期と角膜自発蛍光の相関は普遍的なものであると考えられる.

さらに, 光凝固後の増殖停止網膜症で角膜自発蛍光が有意に低下したことは, 角膜自発蛍光が網膜の虚血状態を反映していることを想像させる. 三宅ら⁷⁾はフルオロトロンマスター®を用いた測定で, 網膜静脈分枝閉塞症罹患眼の角膜自発蛍光が健眼に比べ有意に高いことを報告しており, 我々の装置による測定でも同様の結果を得ている(未発表データ). このことも角膜自発蛍光が網膜の虚血状態を反映している傍証と考えられ, 以上のことから, 角膜自発蛍光が糖尿病網膜症の病期を予想する臨床的指標となり得る可能性が示唆された.

角膜自発蛍光の由来は不明であるが, 細胞の呼吸状態を反映する酸化型フラボプロテインやピリジヌクレオチド⁸⁾⁹⁾, あるいは糖代謝異常に伴う代謝回転の遅い蛋白質の非酵素的糖付加反応(グリケーション)の結果産生される advanced glycation endproducts (AGE)¹⁰⁾などがその候補と考えられる. 今回我々の測定した蛍光波長は520~620 nmであり, 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である酸化型フラボプロテインが測定対象となり得る. しかし, ストレプトゾチンによる糖尿病ラットを用いた実験では, 酸化型フラボプロテイン蛍光は健常ラットに比べて糖尿病ラットでは低下することが知られており¹¹⁾, 今回測定された蛍光物質を酸化型フラボプロテインと考えるのは難しい. また, AGEに関しては, ① 今回の装置で測定可能な蛍光波長はAGEの主たる蛍光波長350~370 nmからはずれていること, ② 高血糖状態が長期になればAGEは増加すると予想されるが, 自発蛍光と糖尿病の罹病期間, HbA_{1c}との間に有意な関係が認められなかったこと, などから今回測定した蛍光物質がAGEであるとは断定しがたい. しかしながら, AGEについて研究の進んでいる水晶体では, 水晶体に多く含まれる代謝回転の遅い蛋白であるレンズクリスタリンがグリケーションを受けることが知られている¹²⁾. 同様の機序を考えれば, 角膜では豊富に存在するコラーゲンがグリケーションを受け, 蛍光物質となっている可能性は否定できない. さらに, 網膜の虚血状態と角膜自発蛍光の間に有意な相関を認めたことから, 網膜虚血によって誘導された未知の蛍光物質が, 房水を介して角膜に蓄積されたことも考えられる.

今後の課題としては, ① 同一症例における網膜症の臨床経過と角膜自発蛍光の関係を検討すること, ② AGE

の一般的な波長領域とされる 350~370 nm の自発蛍光を測定すること, により角膜自発蛍光の臨床的意義がより明確なものとなることが期待される。

この研究の一部は京都府医学会振興会の研究助成金を用いて行われた。

文 献

- 1) **Occhipinti JR, Mosier MA, Burstein NL:** Autofluorescence and light transmission in the aging crystalline lens. *Ophthalmologica* 192: 203-209, 1986.
- 2) **Harding JJ, Crabbe MJC:** The lens; development, proteins, metabolism and cataract. In: Davson H (Ed): *The Eye*. Vol 1B, Academic Press, New York, 207-492, 1984.
- 3) **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.
- 4) **Stolwijk TR, van Best JA, Oosterhuis JA, Swart W:** Corneal autofluorescence: An indicator of diabetic retinopathy. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 33: 92-97, 1992.
- 5) **Shu-Wen Chang, Fung-Rong Hu:** Changes in corneal autofluorescence and corneal epithelial barrier function with aging. *Cornea* 12: 493-499, 1993.
- 6) **横井則彦, 木下 茂, 秋山光一:** 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. *日眼会誌* 98: 641-647, 1994.
- 7) **三宅芳子, 前久保久美子, 三宅武子, 三宅謙作:** 網膜静脈分枝閉塞症の角膜自発蛍光. *日眼会誌* 98: 385-388, 1994.
- 8) **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.
- 9) **Masters BR, Falk S, Chance B:** *In vivo* flavo-protein redox measurements of rabbit corneal normoxic-anoxic transitions. *Curr Eye Res* 1: 623-627, 1981/82.
- 10) **荒木令江, 堀内正公:** 蛋白グリケーションの生化学. *糖尿病学*, 1993. 診断と治療社, 東京, 123-137, 1993.
- 11) **Tsubota K, Laing RA, Hay A, Kenyon KR, Cheng HM:** Redox fluorometric analysis of the diabetic cornea. *Transactions of the World Congress on the Cornea III*: 231-236, Raven Press, Ltd, New York, 1988.
- 12) **Araki N, Ueno N, Chakrabarti B, Morino Y, Horiuchi S:** Immunochemical evidence for the presence of advanced glycation end products in human lens proteins and its positive correlation with aging. *J Biol Chem* 267: 10211-10214, 1992.