

角膜上皮浮腫における角膜上皮バリアー機能の評価

小室 青¹⁾, 横井 則彦²⁾, 西田 幸二²⁾, 木下 茂²⁾¹⁾愛生会山科病院眼科, ²⁾京都府立医科大学眼科学教室

要 約

角膜上皮浮腫における角膜上皮バリアー機能をフルオロフォトメトリー法を用いて評価した。方法として、0.5%のフルオレセインナトリウム(フルオレサイト®)溶液を3 μ l点入し、10分後に20mlのBSS PLUS®で洗眼し、30分後(洗眼20分後)に角膜内蛍光強度の測定を行った。フルオレセイン取り込み(ng/ml)は濃度換算値で、健常角膜 28.1 ± 2.7 (n=35)(平均値 $\pm$ 標準誤差)、角膜上皮浮腫を認める例 $2,489.7 \pm 1,045.6$ ng/ml (n=7)、角膜上皮浮腫を伴わず実質浮腫のみ認める例 99.3 ± 25.0 (n=6)であった。いずれの浮腫例も健常角

膜と比較してバリアー機能低下を示し(ともに $p < 0.0005$)、さらに、上皮浮腫を認める例では、認めない例よりバリアー機能が著明に低下していた($p < 0.05$)。今回の検討により、角膜上皮浮腫を伴う病態では上皮バリアー機能が著明に低下していることが明瞭になった。(日眼会誌 99:683-686, 1995)

キーワード: 角膜上皮バリアー機能, 角膜上皮浮腫, フルオロフォトメトリー, フルオレセインナトリウム

Quantitative Evaluation of Corneal Epithelial Barrier Function in Corneal Epithelial Edema

Aoi Komuro¹⁾, Norihiko Yokoi²⁾, Kohji Nishida²⁾
and Shigeru Kinoshita²⁾¹⁾Department of Ophthalmology, Aiseikai Yamashina Hospital²⁾Department of Ophthalmology, Kyoto Prefectural University of Medicine

Abstract

Corneal epithelial barrier function in patients with corneal epithelial edema was evaluated by fluorophotometry. Fluorescein uptake through the intact corneal epithelium was 28.1 ± 2.7 ng/ml (n=35, mean $\pm$ SE (standard error), calculated from the standard line) at 30 minutes after instillation of 3 μ l of 0.5% sodium fluorescein (20 minutes after eye washing with 20 ml of BSS PLUS®). Fluorescein uptake by the cornea in 7 patients with corneal epithelial edema and 6 patients with corneal stromal edema without epithelial edema were $2,489.7 \pm 1,045.6$ ng/ml and 99.3 ± 25.0 ng/ml, respectively, showing a significant increase when compared to normal

corneal epithelium ($p < 0.0005$). Moreover, in patients with corneal epithelial edema, the corneal epithelial barrier function showed significant decrease in comparison with those having corneal stromal edema without epithelial edema ($p < 0.05$). These results demonstrate a significant decrease in the corneal epithelial barrier function in the epithelial edema. (J Jpn Ophthalmol Soc 99:683-686, 1995)

Key words: Corneal epithelial barrier function, Corneal epithelial edema, Fluorophotometry, Sodium fluorescein

I 緒 言

角膜上皮層に浮腫を伴う疾患では、フルオレセイン試験紙による角膜生体染色の際に、角膜実質内へのフルオ

レセイン取り込みが亢進していることがしばしば観察される。つまり、角膜上皮浮腫では、角膜上皮のバリアーとしての機能¹⁾²⁾が障害、低下していることが予想される。近年、このような角膜上皮バリアー機能障害の評価

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 小室 青
(平成6年8月15日受付, 平成7年1月7日改訂受理)

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

(Received August 15, 1994 and accepted in revised form January 7, 1995)

にフルオロフォトメトリーを応用した方法が報告^{3)~8)}されている。このフルオロフォトメトリー法は、フルオレセインナトリウム (フルオレサイト®) をトレーサとして、角膜上皮を経て角膜内へ取り込まれたフルオレセイン濃度を定量的に測定する方法であり、この取り込み量をフルオレセイン濃度換算した値から角膜上皮バリアー機能を評価することが可能となる^{3)~8)}。そこで、今回我々は、角膜上皮浮腫における角膜上皮バリアー機能の変化を前眼部用スリットランプ型フルオロフォトメーター⁸⁾を用いて客観的に評価し、角膜上皮バリアーの生理的調節機構に関して若干の知見を得たので報告する。

II 対象および方法

1. 対 象

細隙灯顕微鏡による観察で、角膜上皮浮腫を認めた7例7眼 (新生血管緑内障3例3眼、水疱性角膜症3例3眼、円錐角膜の急性水腫1例1眼)、上皮浮腫を認めず実質浮腫のみを認めた6例6眼 (Fuchs 角膜内皮変性症の初期例5例5眼、白内障術後の角膜内皮代償不全1例1眼) および角結膜上皮、涙道系に異常を認めない健常眼24例35眼を対象とした。急性水腫の1例に関しては、発症時と発症1か月後の上皮浮腫消失時の2回測定を行った。各群の代表症例の前眼部スリット写真を図1に示した。

2. 方 法

角膜上皮バリアー機能の測定には、前眼部用スリットランプ型フルオロフォトメーターのプロトタイプを用い、既報の方法⁴⁾に従った。要約すると、まず、フルオロフォトメーターのフォーカルダイヤモンドの最大面積を示す部位が角膜最表面に合うように位置設定し、後ろ1/2のフォーカルダイヤモンドを用いて角膜中央における蛍光強度をバックグラウンド値として測定した。次に、10 μ l 用マイクロピペット (Eppendorf) を用いて、0.5% フルオレセインナトリウム (フルオレサイト®) 溶液 (BSS PLUS®に溶解) を被験者眼の下眼瞼結膜嚢に非接触性に3 μ l 点入した。10分後に20 ml のBSS PLUS®を用いて、結膜嚢にフルオレセインや残留しないよう眼瞼の翻転を併せて行いながら被検眼を洗眼した。フルオレセイン取り込み濃度の測定は、フルオレセイン点入30分後 (洗眼20分後) に角膜中央でバックグラウンド測定と同様の方法で10回行い、その平均値からバックグラウンド値を差し引いた。このカウント値から、既知濃度のフルオレセインナトリウム (フルオレサイト®) 溶液 (低濃度: 0, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80 ng/ml, 高濃度: 0, 50, 100, 150, 300, 500, 1,000, 1,500, 2,000, 3,000, 5,000 ng/ml) で求めた検量線 (低濃度 $y=4.81+3.49x$, $r=0.902$, 高濃度 $y=-25.1+3.95x$, $r=0.999$, y : フルオレセイン濃度 ng/ml, x : カウント値) を用いて、フルオレセイン濃度換算値を算出した⁵⁾⁸⁾。また全例にお

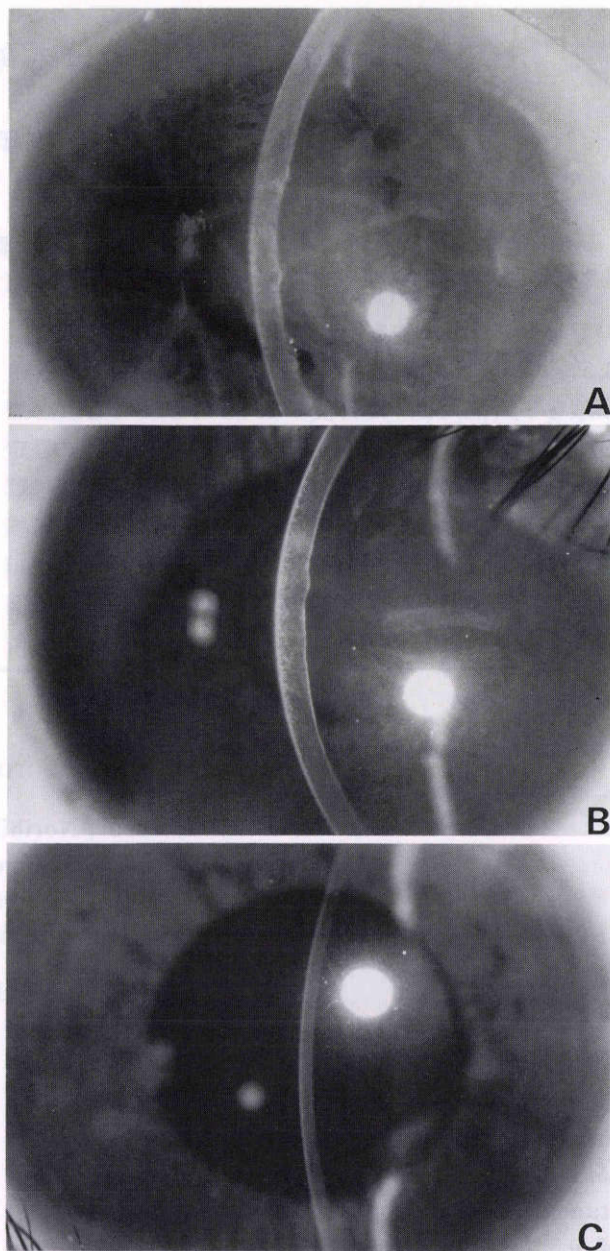


図1 測定代表例の前眼部スリット写真。

A: 水疱性角膜症, B: 上皮浮腫のない Fuchs 角膜内皮変性症の初期例, C: 健常角膜

いて、測定後フルオレセイン染色による観察を行い、点状表層角膜症が存在しないことを確認した。

III 結 果

1. 健 常 角 膜

健常眼35眼の角膜中央での角膜内へのフルオレセイン取り込み濃度は 28.1 ± 2.7 ng/ml (平均値 $\pm$ 標準誤差) であった (図2)。

2. 角 膜 浮 腫

上皮間浮腫を認めた7眼の角膜内へのフルオレセインの取り込み濃度は $2,489.7 \pm 1,045.6$ ng/ml であり、上皮浮腫を伴わず実質浮腫のみを示した6眼では $99.3 \pm$

いる。

今回トレーサーとして用いたフルオレセインナトリウム (フルオレサイト®) は油水分配係数が比較的高く、細胞間隙を透過するのみならず細胞内にもある程度取り込まれると考えられているため¹⁶⁾¹⁷⁾、細胞間隙の変化だけでなく、細胞膜自体の変化もある程度検出している可能性がある。今後、バリアー機能をより正確に評価するためには、油水分配係数が低く細胞間隙のみを通過するカルボキシルフルオレセイン¹⁶⁾¹⁷⁾のような物質をトレーサーとして用いて、さらに検討する必要がある、さらに tight junction を含めた細胞間の接着構造の病理組織学的な検討¹⁸⁾¹⁹⁾と相まって角膜上皮バリアーの構造と機能が明確になっていくものと思われる。

文 献

- 1) Klyce SD, Crosson CE: Transport processes across the rabbit corneal epithelium: A review. *Curr Eye Res* 4: 323—331, 1985.
- 2) Klyce SD, Beuermann RW: Structure and function of the cornea. In: Kaufman HE et al (Eds): *The Cornea*. Churchill Livingstone, New York, 3—34, 1988.
- 3) Berkowitz RA, Klyce SD, Salisbury JD, Kaufman HE: Fluorophotometric determination of the corneal epithelial barrier after penetrating keratoplasty. *Am J Ophthalmol* 92: 332—335, 1981.
- 4) 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.
- 5) 横井則彦, 清水章代, 西田幸二, 木下 茂, 秋山光一: 新しいフルオロフォトメーターによる角膜上皮バリアー機能の定量的評価. *あたらしい眼科* 10: 1357—1363, 1993.
- 6) Göbbels M, Spitzans M: Corneal epithelial permeability of dry eyes before and after treatment with artificial tears. *Ophthalmology* 99: 873—878, 1992.
- 7) Brubaker RF, Maurice DM, McLaren JW: Fluorometry of the anterior segment. In: *Masters BR (Ed): Noninvasive diagnostic techniques in ophthalmology*. Springer-Verlag, New York, 248—280, 1990.
- 8) 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.
- 9) Wang Y, Chen M, Wolosin JM: ZO-1 in corneal epithelium: Stratal distribution and synthesis induction by outer cell removal. *Exp Eye Res* 57: 283—292, 1993.
- 10) McLaughlin BJ, Caldwell RB, Sasaki Y, Wood TO: Freeze-fracture quantitative comparison of rabbit corneal epithelial and endothelial membranes. *Curr Eye Res* 4: 951—961, 1985.
- 11) 葛西 浩: 角膜上皮病変と Specular microscopy. *眼科* 32: 495—504, 1990.
- 12) 沖坂重邦: 角膜浮腫・変性. 沖坂重邦 (編): *眼病理アトラス*. 文光堂, 東京, 221—229, 1992.
- 13) Green K: Anatomic study of water movement through rabbit corneal epithelium. *Am J Ophthalmol* 67: 110—116, 1969.
- 14) Eagle RC, Laibson PR, Arentsen JJ: Epithelial abnormalities in chronic corneal edema: A histopathological study. *Trans Am Ophthalmol Soc* 87: 107—124, 1990.
- 15) Sheppard LB, Shanklin WM: Corneal epithelium changes in rabbit congenital glaucoma. *Am J Ophthalmol* 65: 406—413, 1968.
- 16) Araie M, Maurice D: The rate of diffusion of fluorophores through the corneal epithelium and stroma. *Exp Eye Res* 44: 73—87, 1987.
- 17) Grimes PA, Stone RA, Laties AM, Li W: Carboxyfluorescein: A probe of the blood-ocular barriers with lower membrane permeability than fluorescein. *Arch Ophthalmol* 100: 635—639, 1982.
- 18) Huang AJW, Tseng SCG, Kenyon KR: Paracellular permeability of corneal and conjunctival epithelia. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 30: 684—689, 1989.
- 19) Bernal DL, Ubels JL: Quantitative evaluation of the corneal epithelial barrier: Effect of artificial tears and preservatives. *Curr Eye Res* 10: 645—656, 1991.