

# AMCoR

Asahikawa Medical College Repository <http://amcor.asahikawa-med.ac.jp/>

眼科 (1989.10) 31巻11号:1227~1232.

眼科の基礎 血液網膜関門の基礎

吉田晃敏



の概念が確立されてきた。

### III. BRB の解剖

網膜組織と血液が接する場所は2カ所ある。その第1は網膜血管であり、第2は脈絡膜毛細血管板に面する網膜色素上皮細胞である。後述するように、前者は inner BRB として、後者は outer BRB として機能することが知られている。

#### 1. 網膜血管

1966年 Shakib と Cunha-Vaz は、網膜血管における内皮細胞間の結合形態が他組織のそれと異なることを報告した。これらは、いわゆる“zonula occludens”と呼ばれる tight junction であり、虹彩血管のそれらとも異なつてヒスタミンの投与によつても解離せず、いわゆる“nonleaky tight junction”と呼ばれるようになった。したがつて、彼らは網膜血管におけるこのような結合部位を BRB の主座と考えた。この考えは、後に peroxidase などの tracer を用いた実験により確認された。したがつて、この tight junction は血液中の物質が網膜組織あるいは硝子体腔中へ移動することを制御していると考えられている。

#### 2. 網膜色素上皮近傍

##### 1) 脈絡膜毛細血管板

網膜毛細血管とは対照的に、脈絡膜毛細血管には多くの fenestration (窓) が存在する。そして、trypan blue, fluorescein などの色素を自由に透過させる。したがつて、脈絡膜毛細血管には関門機構が存在しない。

##### 2) Bruch 膜

脈絡膜毛細血管板と網膜色素上皮細胞間に存在する Bruch 膜は、fluorescein, horseradish peroxidase (HRPA) や ferritin を透過させることが確かめられている。したがつて、Bruch 膜は分子量の大きな物質の移動のみ制御する diffusion barrier としての機能を果たすが、いわゆる BRB としての機能は有しない。

##### 3) 網膜色素上皮細胞

網膜色素上皮細胞層は、脈絡膜と対面する最

初の網膜細胞層である。光学顕微鏡を用いた実験報告から、網膜色素上皮細胞層間で、tyrpan-blue や fluorescein の通過が阻止されることが知られている。また、電子顕微鏡を用いた実験では、隣接する網膜色素上皮細胞間には、網膜血管内皮細胞間に認められたと同様な“tight junction”を認める。したがつて、網膜色素上皮細胞層間の接合は、脈絡膜毛細血管板側から漏出してきた血液成分の網膜側への流入を阻止する関門となり得る。

以上、BRB の主座は網膜血管と網膜色素上皮細胞に存在することを示した。以下に、BRB の透過性機能について概説したい。

### IV. BRB の透過性機能

一般に、膜の透過性機能には2つの異なつた挙動が考えられている。それらは、受動輸送機能と能動輸送機能である。前者はある tracer の濃度勾配に従つた拡散による動きであり、後者は濃度勾配に反して移動する動きと定義できる。

BRB における透過性機能としても同様のことが考えられており(第2表)、血液中の物質が受動的に眼球内に移行する(内方透過性機能、実際には BRB は血液中の物質が眼球内へ移行するのを阻止するように働く)反面、眼球内の物質を能動的に血液中に送り出していることが知られている。これらの機能を知る方法としては、種々の tracer を用いる組織細胞化学的手法や蛍光色素を用いる蛍光測定法 (fluorophotometry) がある。以下に、特に in vivo での測定が可能な fluorophotometry を用いた BRB 透過性機能を紹介したい。

第2表 血液網膜関門透過性機能

- |                                                                        |
|------------------------------------------------------------------------|
| 1. 血液中の物質が網膜内あるいは硝子体腔へ受動的に移動することを阻止する。<br>(内方透過性: inward permeability) |
| 2. 網膜内あるいは硝子体腔の物質を能動的に血液中へ送り出す。<br>(外方透過性: outward permeability)       |

V. 蛍光測定法 (Fluorophotometry)

1. 原理

生体眼における蛍光測定法 (fluorophotometry) の歴史は、1946年のAmslerとHuberの前房蛍光測定法に始まる。本法は1967年Cunha-VazとMauriceによつてはじめてBRB透過性機能の評価に応用され、現在までいろいろの装置が開発されてきた。これらの装置の原理は類似し、白色光源からの光を蛍光励起フィルターを通して眼内に入射させ、これと一定の角度を成す蛍光検出光束幅との交点領域 (sampling volume) の蛍光強度を干渉フィルターを通して測定し、眼内の蛍光色素濃度として換算するものである (第1図)。

2. BRBの内方透過性機能の解析

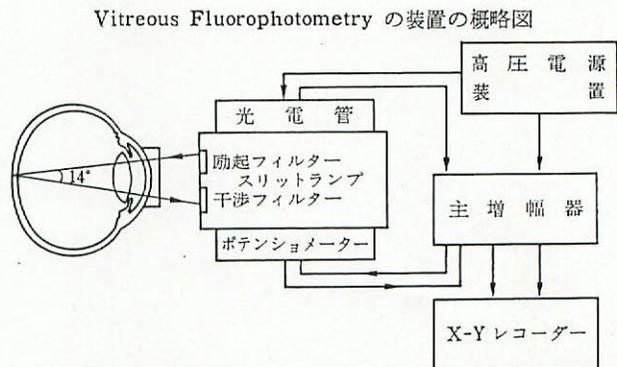
Fluorescein-Naの静注早期にfluorophotometerを用いて眼内の蛍光強度を測定すると、前房、後房そして後部硝子体腔に漏出した蛍光物質による蛍光強度の増強を認める。Cunha-Vazら(1975年)の糖尿病患者を用いた臨床研究以来、fluorophotometerを用いたBRBの内方透過性機能に関する検討には、fluorescein-Naの静注後60分での測定値が用いられている。以後の研究で、静注後60分という比較的早期では、血液房水関門と血液網膜関門から眼内に漏出した蛍光色素が分離し得ることが判明している (Ogura, et al., 1985年)。したがって、fluorophotometryにより測定された眼内各部の60分蛍光測定値にいろいろの補正を加え、さらに血漿中の蛍光色素濃度の動態変化を考慮することにより、血液房水関門と血液網膜関門の内方透過性機能 (蛍光色素の血液の中から硝子体方向への動き) を別々に推測するこ

とができる。また、外方透過性機能である能動輸送の大小は、fluoresceinの静注後、数時間後の眼内蛍光値にはじめて影響を与えることが知られ (Ogura, et al. 1985年)、60分蛍光測定値の解析にあつては、能動輸送能の関与は無視できるほど小さいと考えられている。すなわち、BRBの内方透過性機能 (Pin) は次式で与えられる。

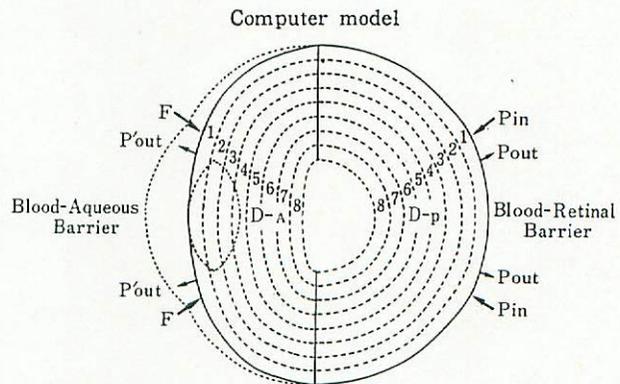
$$P_{in} = PV_{60} / \int_0^{60} C_s(t) dt$$

ここで  $PV_{60}$  は fluorescein-Na 静注後 60 分での後部硝子体蛍光補正值、 $C_s(t)$  は血漿中色素濃度時間曲線である。

さらに今日では、硝子体腔中の色素拡散能をも考慮した computer simulation 法 (第2図)が開発され、測定装置の精度の向上と相まつ



第1図 Fluorophotometry のブロックダイアグラム (1989, 吉田ら)



第2図 Computer simulation model (1986, 吉田ら)

第3表  $P_{in}$  と  $P_{out}$  の比較

Investigation	Subjects	$P_{in}$ (cm/min)	$P_{out}$ (cm/min)	$P_{out}/P_{in}$
Cunha-Vaz & Maurice	Rabbit	$9.1 \times 10^{-5}$	$3.3 \times 10^{-3}$	37
Palestine & Brubaker	Human	$9.1 \times 10^{-5}$	$3.4 \times 10^{-3}$	38
Zeimer et al.	Human	$6.9 \times 10^{-6}$	$2.1 \times 10^{-4}$	30
Blair et al.	Human	—	—	31
三宅	Human	—	—	27
Ogura et al.	Human	$1.8 \times 10^{-5}$	$5.6 \times 10^{-4}$	31
後藤ら	Human	$1.6 \times 10^{-5}$	$2.6 \times 10^{-4}$	16
萱沢ら	Human	$9.9 \times 10^{-6}$	$3.2 \times 10^{-4}$	32
吉田ら	Monkey	$4.5 \times 10^{-6}$	$7.6 \times 10^{-4}$	170

て、BRBにおける内方透過性機能の解析に関しては、かなり信頼性が高くなってきている。しかしながら、fluorophotometryを用いたこれらの解析方法では、inner BRBとouter BRBの透過性機能を総合したBRB全体の透過性機能を求めており、これら2つの機能を別々に解析できないことをおことわりしておく。

今日では、以上の解析をもとに、さまざまな疾患および被手術眼におけるBRBの内方透過性機能の検討がなされている。詳細については個々の論文を参照して頂きたい。

### 3. BRBの外方透過性機能の解析

すでに述べたように、BRBには硝子体中あるいは網膜内の物質を血液中に送り出す外方透過性機能が存在し、1967年Cunha-VazとMauriceによつて、この機能には能動輸送が関与していることが明らかにされている。そして、内方透過性機能と相まつて、この機能が眼内の恒常性維持に大きく関与していると考えられてきた。

Fluorophotometryを用いた外方透過性機能の解析のため、今日までいくつかの指標が考えられてきた。それらは、硝子体内の速度消失定数( $K_v$ ,  $\text{hour}^{-1}$ )、半減期、硝子体内蛍光濃度が最高になった時点での血漿中と硝子体内中濃度比( $C_s/C_v$ )、さらにはcomputer simulation法を用いて算出された $P_{out}$ である。またfluoresceinを全身投与後経時的に硝子体蛍光を測定し、これらの結果を早期と後期に分けて

分析する2相分離解析法も試みられてきた(萱沢, 三宅, 1987年)。一方、全身投与されたfluorescein-Naは、速やかにfluorescein glucuronide (FG)に代謝され、このFGは能動輸送をほとんど受けず、主として受動輸送により眼外へ排泄されることが判明してきた。したがつて、今日まで算出されてきた $P_{out}$ の値は、そのものとなる測定値がfluoresceinの全身投与により求められた値であることより、underestimationの可能性が高い。

筆者らは最近、以上述べたfluorescein代謝産物であるFGに関する問題を避け、fluoresceinを指標とした真の $P_{out}$ の大きさを知るため、正常サル眼の硝子体腔中に直接fluorescein-Naを注入し、その動態変化を計測した。そして前述した眼球simulation modelを用いて $P_{out}$ の値を算出した(Yoshida, et al, 1989年)。その結果、 $P_{out}/P_{in}$ の比は約170であり、これは今日まで報告されてきた値(16~38)に比べてはるかに大きく(第3表)、BRBにおける能動輸送能の大きさは、少なくともfluoresceinを指標とした限りでは、かなり大きなものと考えられる。筆者らは現在、追加実験とこの $P_{out}$ がいろいろの病的状態下でどのように変化するかを検索中である。

### IV. 能動輸送能に関する最近の話

硝子体腔の恒常性維持にBRBにおける物質の能動輸送機能が重要な役割を果たしているこ

と、そしてこの機能の大きさは従来考えられていた以上に大きい可能性があることを述べてきた。最近(1988年)三宅は、硝子体腔からの物質の排除に関し眼内各組織における能動輸送能の大きさを知る目的で、fluoresceinを用いたin vitroの研究を行い、興味ある結果を報告している。すなわちサル眼やヒト眼においては、能動輸送の大部分(それぞれ61%, 75%)は網膜によつて行われて、とりわけその大半は網膜色素上皮細胞が司っているという結果である。この知見は、網膜色素上皮細胞が果たす水輸送とも関連し極めて重要である。

われわれは日常の臨床で、網膜剥離の患者に会った際、患眼の眼圧が低いこと、そして裂孔を完全に閉鎖すると網膜下液の排出操作を行わなくても網膜下液が速やかに吸収されることを知っている。これらの現象は、Pedersonら(1984年)、Tuboiら(1985年)がfluorophotometryを用いて示した網膜色素上皮細胞におけるpostiridial flow, すなわち電解質輸送に伴う代謝性水輸送機構で説明できる。この電解質輸送が水輸送を引き起こすしくみに関して未だ不明である。

網膜色素上皮細胞が果たす物質の輸送能には計り知れないものがある。これらの謎を解く手法の1つに、最近注目されてきた網膜色素上皮細胞における組織細胞化学的検索, すなわち網膜色素上皮細胞における酵素活性の局在解明があげられる。これらの細胞のapicalとbasolateralにそれぞれどのような酵素活性が存在し、それらがこれらの細胞の正常状態での機能と病的状態での機能にどのように結びついているのか、今後の研究が注目される。

## VII. おわりに

以上、血液眼関門のうち特に血液網膜関門に着目して、歴史、解剖、機能そして最近の話題と盛りだくさんの内容を概説した。この古くて、新しい分野に関し、種々の記述もれは筆者の浅学の致すところである。本稿を読まれた読者が、本題に関するいろいろの原著を紐解か

れ、本題に興味を寄せて頂ければ幸いである。

## 文 献

- 1) Ashton, N., Cunha-Vaz, J. G.: Effect of histamine on the permeability of the ocular vesicles. *Arch. Ophthalmol.*, 73: 211~223, 1965.
- 2) Chen, S. C. et al.: Studies on the metabolites of fluorescein in rabbit and human urine. *Chem. Pharm. Bull.*, 28: 1403~1407, 1980.
- 3) Cunha-Vaz, J. G., Maurice, D. M.: The active transport of fluorescein by retinal vessels and the retina. *J. Physiol.*, 191: 467~486, 1967.
- 4) Cunha-Vaz, J. G. et al.: Early breakdown of the blood-retinal barrier in diabetes. *Br. J. Ophthalmol.*, 59: 649~656, 1975.
- 5) Cunha-Vaz, J. G.: The blood-ocular barrier. *Surv. Ophthalmol.*, 23: 279~296, 1979.
- 6) Ehrlich, P.: *Das Sauerstoff-Bedürfnis des Organismus. Eine Farben-analytische studie*, Berlin, 1885.
- 7) Goldmann, E. E.: *Vitalfarbung am Zentralnervensystem. Abhandl Konigl Preuss Akad Wiss*, 1: 1~60, 1913.
- 8) Kitano, S., Nagataki, S.: Transport of fluorescein glucuronide out of the vitreous. *Invest Ophthalmol. Vis. Sci.*, 27: 998~1001, 1986.
- 9) 三宅謙作: 硝子体腔からの物質の能動輸送をめぐって, *日眼*, 92: 909~945, 1989.
- 10) Negi, A., Marmor, M. F.: Effects of subretinal and systemic osmolality of the rate of subretinal fluid resorption. *Invest Ophthalmol. Vis. Sci.*, 25: 616~620, 1984.
- 11) Ogura, Y. et al.: Estimation of the permeability of the blood-retinal barrier in normal individuals. *Invest Ophthalmol. Vis. Sci.*, 26: 969~976, 1985.
- 12) Seto, C. et al.: Study of fluorescein glucuronide 2. A comparative ocular kinetic study of fluorescein and fluorescein

- glucuronide. Graefes Arch. Clin. Exp. Ophthalmol., 224 : 113~117, 1986.
- 13) Shakib, M., Cunha-Vaz, J. G.: Studies on the permeability of the blood-retinal barrier. IV. Role of the junctional complexes of the retinal vessels on the permeability of the blood-retinal barrier. Exp. Eye Res., 5 : 229~234, 1966.
- 14) 上野聡樹: 機能と形態の接点, その研究法の開発-第1部 血液-網膜関門構成細胞における機能関連酵素の局在および細胞膜表面荷電の barrier 機構関与について, 日眼, 92 : 1913~1960, 1988.
- 15) 上野聡樹: 機能と形態の接点, その研究法の開発-第2部 Muller 細胞組織細胞化学の barrier 研究への応用と単離された網膜色素上皮細胞の形態的・機能的細胞極性研究, 日眼, 92 : 1961~2014, 1988.
- 16) 吉田晃敏: Vitreo-Retino-Ciliary Barrier の研究 5. 正常眼における網膜内方透過性係数及び硝子体内拡散数の加齢による変化, 日眼, 90 : 589~594, 1986.
- 17) Yoshida, A. et al.: Inward and outward permeability of the blood retinal barrier. Proceeding of IV symposium of the international society of ocular fluorophotometry. Kugler & Ghedini, Amsterdam, 1989 in press.
- 18) 吉田晃敏, 保坂明郎: 新しい硝子体フルオトフォートメターの試作, 臨限, 38 : 1195~1199, 1984.
- 19) Pederson, J. E., Cantrill, H. L.: Experimental retinal detachment. V. Fluid movement through the retinal hole. Arch. Ophthalmol., 102 : 136~139, 1984.
- 20) Tsuboi, S. et al.: Fluid dynamics in eyes with rhegmatogenous retinal detachments. Am. J. Ophthalmol., 99 : 673~676, 1985.