

AMCoR

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

眼科臨床医報 (1988.05) 82巻5号:872～876.

初期糖尿病患者における網膜機能の解析
2.血液網膜柵の透過性機能,ERG律動様小波の動態と内科的諸因子との
関連

吉田晃敏, 三浦恵子, 小島満

初期糖尿病患者における網膜機能の解析

2. 血液網膜柵の透過性機能, ERG 律動様小波の動態と内科的諸因子との関連

旭川医大眼科

吉田 晃敏・三浦 恵子

旭川医大機器センター

小島 満

I 緒言

糖尿病患者の網膜から測定した、網膜電図 electroretinogram (以下 ERG と略す) では、網膜症の発現以前から律動様小波 oscillatory potential (以下 OP と略す) の選択的異常すなわち neuropathy がしばしば検出されることが報告されている¹⁾²⁾。一方、硝子体蛍光測定法 vitreous fluorophotometry (以下 VFP と略す) による結果からも、同様に網膜症の発現以前において血液網膜柵の透過性機能が亢進しているとの報告もある³⁾⁴⁾。

われわれは、前報⁵⁾において、ERG と VFP の 2 方法を用いて 40 歳代、59 歳代の網膜症を呈しない糖尿病患者群と、同年代の正常者群の網膜機能を比較検討した。その結果、糖尿病群では ERG の OP に関して正常群にくらべ明らかな異常を認めたと、VFP による血液網膜柵の透過性機能に関しては糖尿病群では、正常群にくらべて亢進を示す例と正常な例とがあり、平均値は増加の傾向を示すが両群間に有意差がないという結果を得た。

そこで本報では、加齢による影響を検討するために対象年齢層をさらに拡大し、網膜症を呈しない糖尿病患者の網膜機能を ERG における OP の変化と VFP による血液網膜柵の透過性機能という二つの立場から再検討した。さらにこれらが血糖コントロール等の内科的諸因子とどのように関連するかを解析し興味ある知見を得たので報告する。

II 実験方法

1. 対象

本研究では糖尿病群として 30 歳から 59 歳までのインスリ

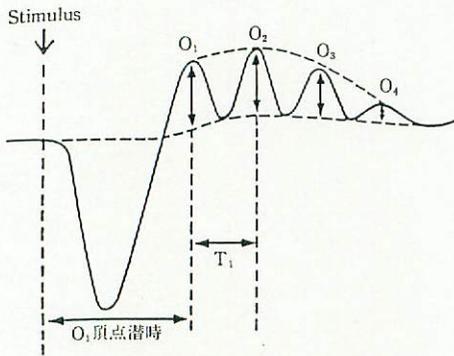
ン非依存型糖尿病患者 36 人 (男性 19 人, 女性 17 人) 66 眼を用いた。これらの対象は、前報⁵⁾と同基準で選定したものである。すなわち、双眼倒像鏡検査および蛍光眼底検査のいずれによっても糖尿病性網膜症を認めなかったものである。一方、正常群として同一年齢群の正常者 32 人 (男性 17 人, 女性 15 人) 45 眼を用いた。正常群に対しても双眼倒像鏡検査および蛍光眼底造影検査を行い、正常眼底であることを確認した。さらに眼科的見地から以下の 3 点を選択基準として設け、両群ともにこれらに適合するものを対象として選んだ。すなわち、1) 血液網膜柵の機能に影響を与える屈折異常の因子⁶⁾を除くため屈折範囲を $\pm 1.0D$ 以内に限定すること、2) 中間透光体に混濁を認めないこと、さらに、3) 血液網膜柵の透過性機能の評価を複雑にする後部硝子体剝離眼を除外すること⁷⁾である。全身的選定基準としては、糖尿病群では糖尿病以外に高血圧等の全身的疾患を認めず、また正常群では尿糖を検出せずしかも糖尿病の家族歴および他の全身的疾患を有しないこととした。

対象の内訳を表 1 に示す。糖尿病群における推定罹病期間については、30 歳代と 40 歳代、および 40 歳代と 50 歳代との間には統計学的な有意差を認めなかったが、30 歳代と 50 歳代との間で有意差を認めた。糖尿病群と正常群との間

表 1 対象の内訳

	30代	40代	50代
糖尿病群 (N)	7人14眼	13人23眼	16人29眼
推定罹病期間(年)	3.0 \pm 2.6	6.2 \pm 6.7	8.1 \pm 5.7
	NS		NS
	p<0.05		
平均年齢(歳)	35.7 \pm 3.4	45.2 \pm 2.6	54.3 \pm 3.1
正常群 (N)	11人15眼	8人13眼	13人17眼
平均年齢(歳)	35.4 \pm 1.7	45.3 \pm 4.1	54.4 \pm 2.7

数値は平均 \pm S.D. NS: 統計学的有意差なし。



$O_1 \sim O_4$ の振幅の和を ΣO と定義。 T_1 は O_1 と O_2 の頂点間隔

図1 律動様小波の計測法

で、各年代別の平均年齢については統計学的に有意差を認めなかった。

2. Vitreous Fluorophotometry (VFP)

VFPには、われわれの開発した高精度な fluorophotometer⁸⁾を使用した。本検査に用いた fluorescein-Na の静注量は、被検者の体重 (kg) あたり 7 mg とし、その静注前および静注後 60 分に VFP を施行した。また、静注後 10 分と 65 分に、先に報告した限外濾過法⁹⁾ (MPS-1, Amicon, Co.) を用いて血漿中の protein-unbound fluorescence (以下 PUF と略す) を fluorophotometer で測定した。

血液網膜柵の透過性機能を解析するにあたり、連続した VFP 測定値から以下の離散した sampling 点での値を採用した。すなわち、まず前部硝子体値として水晶体中央より 2.5 mm 後方の点から 0.5 mm 間隔で後方に 7 点を、さらに後部硝子体値としては網膜表面より 3.0 mm 前方の点から 6.0 mm 前方の点まで、0.5 mm 間隔に 7 点の総計 14 点を採用した。本研究に用いる VFP 値としては、fluorescein-Na 静注 60 分後の硝子体蛍光値と静注前の眼内自然蛍光値との差を用いた。

つぎに、実測した VFP 値および PUF 値を基に、先に報告した正視眼の眼球 model¹⁰⁾ を用いて、血液網膜柵の内方透過性係数 (inward permeability, Pin) および後部硝子体内拡散係数 (diffusion coefficient in the posterior vitreous, D-p) を computer simulation 法¹⁰⁾ により推定した。

3. Electroretinogram (ERG)

ERG の記録には KOWA 製 ERG-50 を使用した。コンタクト電極には、プラチナ製の野寄式電極を用いた。測定にさいしては散瞳後 15 分間の暗順応を行い、25 joule の xenon 閃光放電による刺激光を被検眼の角膜より 25 cm の距離から照射した。これによって発生する ERG 電位は時

定数 3 msec の増幅器を介して、オシロスコープに表示され、その波形を写真撮影した。

OP の解析は、米村ら¹¹⁾ の方法に従って行った (図 1)。本研究では特に、 O_1 から O_4 までの振幅の和 (ΣO)、 O_1 頂点潜時、そして O_1 と O_2 の頂点間隔 (T_1) の三つの parameter について計測した。

4. 糖尿病患者における内科的因子

本研究では糖尿病患者における内科的因子として、先に示した推定罹病期間のほかに空腹時血糖 (以下 FBS と略) 値、HbA1c 値、血中 triglyceride (以下 TG と略) 値、血中 angiotensin-converting enzyme (以下 ACE と略) 値、尿中総タンパク量、そして尿中 N-acetyl- β -D-glucosaminidase (NAG) 値の 7 因子を測定した。これらの測定は VFP 検査の当日に施行した。なお、HbA1c 値は high pressure liquid chromatography 法で、尿中総タンパク量は半定量法 (オーションアナライザー、京都第一科学) で測定した。タンパク量 (mg/dl) の表記法としては、0, 5 を - , 10, 20 を \pm , 30, 50, 70 を +1, 100, 150, 200 を +2, 250, 300, 400 を +3, それ以上を +4 とした。つぎに数量化のため、それぞれ - を 0, \pm を 1, +1 を 2, +2 を 3, +3 を 4, +4 を 5 とした。また尿中 NAG 値は NAG テスト・シオノギを用い、尿クレアチニンで補正のうえ、尿 NAG 指数 (U/g·Cr) として表示した。

本研究に用いた統計学的検定では、有意水準が 5% 未満のものを統計学的に有意と判定した。

III 結 果

1. VFP に関する比較

VFP と computer simulation 法とにより求めた Pin および D-p の二つの parameter に関して、まず全例を対象とした正常群 ($n=45$) と糖尿病群 ($n=66$) との間で比較した (表 2)。その結果 Pin, D-p の両者ともに糖尿病群では正常群に比べ若干の増大を認めたが、両群間で統計学的に有意差を認めなかった。

つぎに Pin に関して、各年代別に正常群と糖尿病群との間で比較した (表 3)。各年代で糖尿病群の Pin は正常群のそれに比べて平均値は大きいものの、標準偏差も大きく、結局両群間には統計学的な有意差を認めなかった。さらに、正常群と糖尿病群のそれぞれの群内で、年代間の比較を行った。その結果、両群とも Pin に関しては 30 歳代と 40 歳代との間に統計学的な有意差を認めたが、40 歳代と 50 歳代との間には有意差を認めなかった。

2. ERG に関する比較

ERG によって得られた OP に関する ΣO , T_1 および O_1 頂点潜時の三つの parameter について、まず全例を統合し

表2 VFPに関する比較(全例)

	Pin($\times 10^{-6}$ cm/min)	D-p($\times 10^{-4}$ cm ² /min)
正常群 (n=45)	8.1 \pm 3.1	15.6 \pm 12.9
糖尿病群 (n=66)	8.8 \pm 4.1	18.2 \pm 11.4
	NS	NS

数値は平均 \pm S.D.。NS:統計学的有意差なし。

表3 Pin($\times 10^{-6}$ cm/min)に関する比較(年代別)

	30代	40代	50代
正常群	6.1 \pm 1.8 (n=15)	9.1 \pm 3.3 (n=13)	9.1 \pm 2.8 (n=17)
糖尿病群	7.2 \pm 4.3 (n=14)	9.5 \pm 4.2 (n=23)	9.2 \pm 3.6 (n=29)
	NS		NS
	p<0.01		NS

数値は平均 \pm S.D.を示す。NS:統計学的有意差なし。

表4 ERGに関する比較(全例)

	$\Sigma O(\mu V)$	T ₁ (msec)	O ₁ 潜時(msec)
正常群(n=45)	230.7 \pm 53.8	7.9 \pm 1.3	15.8 \pm 0.7
糖尿病群(n=66)	218.1 \pm 54.5	8.7 \pm 1.5	17.0 \pm 0.8
	NS	p=0.004	p<0.0001

数値は平均 \pm S.D.を示す。NS:統計学的有意差なし。

表5 O₁頂点潜時(msec)に関する比較(年代別)。

	30代	40代	50代
正常群	16.0 \pm 0.5 (n=15)	15.6 \pm 0.6 (n=13)	15.7 \pm 0.8 (n=17)
糖尿病群	16.6 \pm 0.7 (n=14)	17.4 \pm 0.6 (n=23)	16.9 \pm 0.9 (n=29)
	p<0.05		p<0.001
	NS		p<0.01
	NS		NS

数値は平均 \pm S.D.を示す。NS:統計学的有意差なし。

正常群(n=45)と糖尿病群(n=66)との間で比較した(表4)。 $\Sigma O(\mu V)$ に関して、糖尿病群の値(平均 \pm S.D.)は218.1 \pm 54.5で正常群の値230.7 \pm 53.8に比較して低下傾向を示したが統計学的に有意差を認めなかった。一方、T₁(msec)に関して、糖尿病群の値は8.7 \pm 1.5であり、正常群の値7.9 \pm 1.3にくらべて統計学的に有意な延長を認めた(p=0.004)。またOPに関するもう一つのparameterであるO₁頂点潜時については、糖尿病群では17.0 \pm 0.8であり、正常群の値15.8 \pm 0.7に比較して統計学的に有意な延長を示した(P<0.0001)。

表6 糖尿病群(全例)におけるPinおよびO₁頂点潜時と内科的7因子との単相関係数(r)

	Pin	O ₁ 頂点潜時
推定罹病期間	0.23	0.04
FBS	0.10	-0.02
HbA _{1c}	0.32*	-0.0003
血中TG	-0.03	-0.02
血中ACE	-0.19	-0.02
尿中総タンパク量	-0.13	0.16
尿中NAG	0.07	0.05

*: p=0.008

表7 糖尿病群(40歳代+50歳代)におけるPinおよびO₁頂点潜時と内科的7因子との単相関係数(r)

	Pin	O ₁ 頂点潜時
推定罹病期間	0.17	0.03
FBS	0.18	-0.03
HbA _{1c}	0.32*	0.04
血中TG	-0.08	-0.08
血中ACE	-0.17	0.13
尿中総タンパク量	-0.02	0.03
尿中NAG	0.31**	0.14

*: p=0.019

** : p=0.026

つぎに、OPのもっとも鋭敏なparameterであるO₁頂点潜時に着目し、各年代別に正常群と糖尿病群とを比較した(表5)。どの年代でも糖尿病群のO₁頂点潜時は正常群のそれにくらべて有意に延長していた。しかしながら、正常群と糖尿病群それぞれの群での年代間には、O₁頂点潜時に関して統計学的な有意差を認めなかった。

3. PinおよびO₁頂点潜時と内科的7因子との関連

まず、糖尿病群の全例を対象に、PinおよびO₁頂点潜時と内科的7因子とのすべての組み合わせについて単相関を求めた(表6)。その結果、PinはHbA_{1c}との間のみ有意な相関を認めた(r=0.32, p=0.008)。一方、O₁頂点潜時と内科的7因子との間には有意な相関を認めなかった。

つぎに、Pinの加齢による変動を考慮するため、糖尿病群の中で対象を40歳代と50歳代のみ限定して、それらを総合してPinと内科的7因子との間の単相関を再検討した(表7)。その結果、PinとHbA_{1c}、およびPinと尿中NAGとの間のみ有意な相関を認めた(r=0.32, p=0.019およびr=0.31, p=0.026)。しかしながら、これら

40歳代と50歳代の糖尿病群においても、 O_1 頂点潜時と内科的7因子との間には有意な相関を示す組み合わせは存在しなかった。

なお、HbA1cと尿中NAGとの間には、全例を対象としても、また40歳代と50歳代の症例に限定しても有意な相関を認めなかった。

IV 考 按

われわれは前報⁹⁾において40歳代、50歳代の糖尿病患者の網膜機能を検討し、これらの患者の網膜では網膜症の発現前から、まずneuropathyが出現し、つづいて血液網膜柵の透過性が亢進することを報告した。

今回の研究では、年齢による影響も考慮するため30歳代の糖尿病患者も対象に加えた。このような条件下で、まず30歳代から50歳代までを統合した対象において、網膜機能を再検討した。その結果、血液網膜柵の内方透過性機能に関しては、正常群に比べて糖尿病群では、その平均値は大きいものの群内のばらつきも大きく、結局正常群と糖尿病群との間に統計学的有意差を認めなかった。一方、OPのparameterのうち O_1 頂点潜時および T_1 に関しては、糖尿病群では正常群に比べて明らかな延長を示した。

つぎに、加齢による影響を除外するため各年代ごとに血液網膜柵の透過性機能と、OPを代表するparameterである O_1 頂点潜時に着目して両群を比較した。その結果、血液網膜柵の透過性機能に関しては、どの年代でも糖尿病群は正常群に比べ増加の傾向を示すが両群間に有意差を認めなかった。一方、 O_1 頂点潜時に関しては、どの年代においても、糖尿病群は正常群に比べて有意に延長を示した。すなわち、年齢層を拡大して検討した今回の結果からも糖尿病患者の網膜では、neuropathyが血液網膜柵の透過性亢進よりも先に発現することが再確認された。

そこで今度は、加齢による網膜機能の変化を調べるため、正常群と糖尿病群の、両群においてそれぞれ各年代間で血液網膜柵の内方透過性機能と O_1 頂点潜時を比較した。血液網膜柵の内方透過性機能では正常群のみならず糖尿病群においても、30歳代に比べて40歳代以降では明らかにその透過性機能の亢進が認められ、したがって30歳代と40歳代以降の間には透過性機能の加齢による差があることが判明した。この結果は、正常眼において血液網膜柵の加齢変化は40歳代より始まるとしたわれわれの過去の報告¹⁰⁾と一致する。一方、OPを代表するparameterである O_1 頂点潜時に着目すると、正常群および糖尿病群ともに加齢による変化はまったく認めないことが判明した。以上の検討により、血液網膜柵の透過性機能とERG律動様小波の動態は加齢に対してまったく異質の変化を示すことが

明らかとなり、網膜機能を検討するうえでこの点を十分に考慮することが肝要と考えられる。

さらにわれわれは、糖尿病群内での血液網膜柵の透過性機能のばらつきおよびOPの異常が糖尿病患者の内科的因子とどのように関連しているかを検討した。その結果、血液網膜柵の透過性機能と、数カ月間の血糖コントロール状態の指標であるHbA1c値とが有意な相関を示した。さらに前述した加齢による血液網膜柵の機能変化を考慮して40歳代、50歳代の糖尿病群に限って再検討した結果、血液網膜柵の透過性機能と、HbA1c値および尿中NAG値とが有意な相関を示した。以上の結果より、網膜症発現前の糖尿病患者における血液網膜柵の透過性機能は血糖コントロールの良否と重大な関連を有することが初めて明らかとなった。この事実は、糖尿病患者において血液網膜柵の障害を最小限にとどめるためには、糖尿病そのものの管理、すなわち血糖コントロールが重要であることをあらためて示すものである。

また、血液網膜柵の透過性機能と尿中NAG値とが有意な相関を示したことも興味深い。この尿中NAGは、最近特に注目されてきた酵素で、腎の近位尿細管ライソゾームに高濃度に存在し¹²⁾、その尿中排泄量の増加は糖尿病における腎機能障害の早期指標、とりわけ古典的な意味の腎症に先行して発症する機能的腎症の指標として用いられてきている¹³⁾。したがって、今回のわれわれの研究から、血液網膜柵の透過性機能が障害されている糖尿病患者では、同時に早期の機能的腎症も併発している可能性が示唆された。

一方、今回の研究では、OPを代表する O_1 頂点潜時と有意な相関を示す内科的因子を発見することはできなかった。坂本ら¹⁵⁾も同様に、Scott 0期の糖尿病患者のOP所見と内科的所見との関連を検討した結果、OP潜時とは、HbA1c値等の代謝性因子との間に有意な相関を認めず、末梢神経伝導速度との間に有意な相関を認めたことを報告した。このように、網膜症発現前のOP異常は、代謝性因子の異常とは相関が低く、極めて早期に選択的に発現する、いわゆる糖尿病性神経症と考えることができる。

今後は、糖尿病患者においてOPの異常がどのような因子に相関するか、血液網膜柵の透過性機能の亢進がいつ、どのように進行していくかを詳細に探索していきたいと考えている。

V 要 約

本研究では、網膜症を有しない糖尿病患者に対し、Vitreous Fluorophotometry (VFP) およびElectroretinogram (ERG) の手法を同時に用いることによ

り、網膜機能の解析を行い、さらにこれらの結果と血糖コントロール等の内科的諸因子との関連を検討した。対象は30歳から59歳までのインスリン非依存型糖尿病患者36人66眼と、同一年齢群の正常者32人45眼で、蛍光眼底造影検査にて、糖尿病群および正常群ともに網膜に異常所見を認めないことを確認した。内科的因子としては、糖尿病患者における推定罹病期間、空腹時血糖値、HbA1c値、血中triglyceride値、血中angiotensin-converting enzyme値、尿中総タンパク量、そして尿中N-acetyl- β -D-glucosaminidase (NAG) 値の7因子に着目し検討した。全例における検討の結果、正常群と比較して糖尿病群では、血液網膜柵の透過性機能(Pin)には有意差を認めず、一方、ERG律動様小波のO₁頂点潜時とT₁は明らかな延長を示した。したがって、糖尿病患者における網膜では、網膜症発現前からO₁頂点潜時およびT₁の延長に示されるneuropathyが認められ、血液網膜柵の透過性亢進は、これに遅れて発現することが推測される。また、PinとO₁頂点潜時に着目し、内科的7因子との間の単相関を検討した結果、糖尿病群全例では、PinとHbA1c値のみが有意な正の相関を示した。対象を40歳代と50歳代の糖尿病群に限ると、PinとHbA1c値および尿中NAG値との間に有意な正の相関を認めた。O₁頂点潜時と有意な相関を示し内科的因子は存在しなかった。したがって、網膜症発現前の糖尿病患者における血液網膜柵の透過性機能は、血糖コントロール状態と密接に関連していることが初めて明らかとなった。また血液網膜柵の透過性機能が障害されている糖尿病患者では、同時に早期の機能的腎症も併発している可能性が示唆される。

(稿を終えるにあたり、御校閲を賜りました保坂明郎教授に深謝いたします。本論文の要旨は、第91回日本眼科学会総会(1987年、京都)におけるシンポジウム「糖尿病と眼」において発表した。)

文 献

- 1) Yonemura, D., Aoki, T. and Tsuzuki, K.: Electroretinogram in diabetic retinopathy, Arch. Ophthalmol., 68: 49-54, 1962.
- 2) 米村大蔵: ERGに現れる律動様小波, 日眼, 1566-1584, 1962.
- 3) Cunha-Vaz, J. de Abreu, J. R. F., Campos, A. J. et al.: Early breakdown of the blood-retinal barrier in diabetes, Br. J. Ophthalmol., 59: 649-656, 1975.
- 4) Waltman, S. R., Oestrich, C., Krupin, T. et al.: Quantitative vitreous fluorophotometry: a sensitive technique for measuring early breakdown of the blood-retinal barrier in young diabetic patients, Diabetes, 27: 85-87, 1978.
- 5) 吉田晃敏・三浦恵子・小島 満: 初期糖尿病患者における網膜機能の解析 I. 網膜症発現前における血液網膜柵の透過性機能とERG律動様小波の動態の比較, 日眼, 91: 599-603, 1987.
- 6) 吉田晃敏・保坂明郎: 近視におけるBlood-Retinal Barrierの研究—Vitreous FluorophotometryとComputer Simulation法を用いた解析—, 日眼, 90: 527-533, 1986.
- 7) Yoshida, A., Furukawa, H., Delori, F. C. et al.: Effect of Vitreous Detachment on Vitreous Fluorophotometry, Arch. Ophthalmol., 102: 857-860, 1984.
- 8) 吉田晃敏・保坂明郎: 新しい硝子体フルオロフォトメターの試作, 臨眼, 38: 1195-1199, 1984.
- 9) 吉田晃敏・小島 満: Vitreous Fluorophotometry値の血漿内タンパク非結合フルオレスセイン濃度動態を用いた補正法 (I) 1時間値までの簡便補正法, 臨眼, 38: 1287-1291, 1984.
- 10) 吉田晃敏・村上喜三雄・小島 満: Vitreo-Retino-Ciliary Barrierの研究 5. 正常眼における網膜内方透過性係数および硝子体内拡散係数の加齢による変化, 日眼, 90: 589-594, 1986.
- 11) 米村大蔵・河崎一夫: 律動様小波とその臨床応用, 三島清一, 塚原 勇, 植村恭夫編, 眼科Mook, No. 14, 眼と電気生理, 59-70, 金原出版, 東京, 1980.
- 12) Dance, N., Prince, R. G., Robinson, D. et al.: β -galactosidase, β -glucuronidase and N-acetyl- β -D-glucosaminidase in human kidney, Clin. Chim. Acta., 24: 189-197, 1968.
- 13) 皆上宏俊・中山秀隆・青木 伸, 他: 糖尿病性腎障害における尿中N-acetyl- β -D-glucosaminidaseと血中・尿中 β_2 -microglobulinの臨床的意義, 糖尿病, 26: 111-118, 1983.
- 14) Whiting, P. H., Ross, I. S. and Borthwick, L. J.: N-acetyl- β -D-glucosaminidase levels and the onset of diabetic microangiopathy, Ann. Clin. Biochem., 20: 15-19, 1983.
- 15) 坂本安弘・三村悟郎: 糖尿病と網膜電図(ERG)の臨床, Diabetes Journal, 9: 127-135, 1981.

(よした あきとし, みうら けいこ, こじま みつる)
(〒078 旭川市西神楽4線5号 旭川医大眼科)