

# AMCoR

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

日本眼科学会雑誌 (1986.04) 90巻4号:589～594.

Vitreo-Retino-Ciliary Barrier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係数の加齢による変化

吉田晃敏, 村上喜三郎, 小島満

## 70. 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係数の

加齢による変化 (図8)

吉田 晃 敏・村上 喜三雄 (旭川医科大学眼科)

小島 満 (旭川医科大学実験実習機器センター)

Investigation of the Vitreo-Retino-Ciliary Barrier  
by Vitreous Fluorophotometry5. Alteration of the Inward Permeability of the Blood-Retinal Barrier  
and the Diffusion Coefficient of Fluorescein in the  
Vitreous with Aging in Normal Subjects

Akitoshi YOSHIDA\*, Kimio MURAKAMI\* and Mitsuru KOJIMA\*\*

\*Department of Ophthalmology, Asahikawa Medical College.

\*\*Central Laboratory for Research and Education, Asahikawa Medical College.

The inward permeability of the blood-retinal barrier (Pin) and the diffusion coefficient of fluorescein (D) in the vitreous of 75 eyes of 51 normal subjects, ranging in age from 12 to 58 years, were studied by vitreous fluorophotometry and computer simulation method to investigate the effect of age. The refraction of eyes was limited to within  $\pm 1.0$  diopter. Eyes which showed any type of posterior vitreous detachment were excluded. Baseline corrected vitreous fluorescein concentrations 60 minutes following fluorescein injection and measurements of protein-unbound fluorescein concentration in the plasma were used to calculate the Pin, the D in the anterior vitreous (D-A) and in the posterior vitreous (D-P). Pin and D-P significantly increased in subjects in their forties and fifties. On the other hand, D-A significantly increased in subjects in their fifties.

Our results indicated that the breakdown of the blood-retinal barrier in normal subjects starts around the forties and the liquefaction of the vitreous gel starts to occur at first in the posterior vitreous in the forties and then in the anterior vitreous in the fifties.

## I 緒 言

人口の老齢化とともに、眼科領域においても、加齢による変化は重要な問題の一つである。加齢にともない眼内では、いわゆる血液網膜柵: blood-retinal barrier (以下 BRB) の脆弱化が組織学的に推測されている。すなわち、網膜血管内皮細胞を主体とする内側柵 (inner BRB)<sup>1)2)</sup>と、網膜色素上皮細胞を主体とする外側柵 (outer BRB)<sup>3)</sup>の障害である。また、加齢にともない硝子体ゲルのいわゆる液化が細隙灯顕微鏡により観察される。

我々は前報<sup>4)</sup>において、Vitreous Fluorophotometry (以下 VFP)を用いて、正常眼における加齢変化を報告

した。そのなかで、加齢とともに VFP の後部硝子体値が上昇することから、BRB の機能が加齢とともに障害されることを推測した。しかしながら、この測定値には、加齢にともなう BRB の障害のみならず、硝子体ゲルの液化により生じる拡散係数の増大も大きく影響する。そこで今回は、VFP と computer simulation 法を用いて、BRB の機能障害と硝子体内拡散係数の経年性変化を個々に検討した結果、いくつかの興味ある知見を得たので報告する。

## II 実験方法

12歳から58歳までの中間透光体に混濁のない正常人 51人 (男28人, 女23人) 75眼を対象とした。すなわち、

別刷請求先: 078-11 旭川市西神楽4-5-3-11 旭川医科大学眼科学教室 吉田 晃敏

Reprint requests to: Akitoshi Yoshida, M.D. Dept. of ophthalmol., Asahikawa Medical College

4-5-3-11 Nishikagura, Asahikawa 078-11, Japan

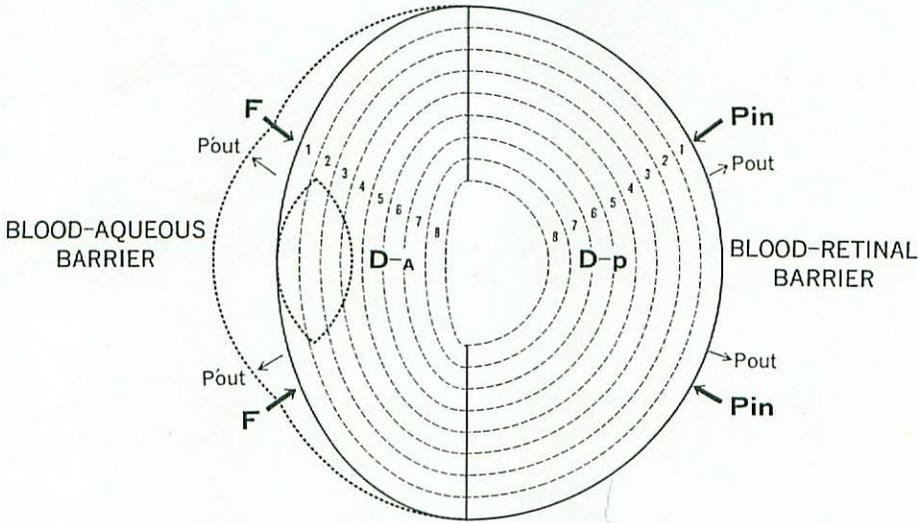


図1 Simulation Model. 詳細は本文参照.

屈折範囲を±1.0D以内に限定し、全例に双眼倒像鏡検査を施行して、眼底が正常な症例のみを対象とした。その中で特に40歳以上例に対しては、蛍光眼底造影を行い定性的検査レベルで眼底に異常がないことを確認した。また、El Bayadi-Kajiura lens<sup>5)</sup>及びGoldmann三面鏡を用いて、詳細な硝子体検査を行い、VFPに影響を与える後部硝子体剥離（完全及び部分）例はすべて対象から除いた<sup>6)</sup>。

VFP検査は、我々の開発した高精度な fluorophotometer<sup>7)</sup>を使用し、fluorescein-Naを体重(kg)あたり7mgの割合で静脈注射をし、静注前及び静注後60分に施行した。また、静注後10分と65分に、先に報告した限外濾過法<sup>8)</sup>(MPS-1, Amicon, Co.)で血漿中のprotein-unbound fluorescein(以下PUF)の値を測定した。

今回用いたVFP値は以下のように採用したものである。まず、前部硝子体値として、水晶体中央より2.5mmから5.5mm後方まで、0.5mm間隔に7点の硝子体値を、さらに後部硝子体値として網膜表面より3.0mmから6.0mmまで、0.5mm間隔に7点の硝子体値を用いた。これらは、すべて眼内の自然蛍光を補正している。

次に、computer simulationを行うことを目的として、眼球のsimulation modelを開発した。図1にその模式図を示す。これは、Zeimerら<sup>9)</sup>、Oguraら<sup>10)</sup>のmodelをさらに発展させたもので、眼球を大きく二分している。すなわち、後半部は半径12mmの球型と

し、一方前半部は、水晶体の表面を通る回転楕円体とした。なお、我々の測定した正常正視眼の平均値を基に<sup>11)</sup>、前房深度と水晶体厚は、それぞれ3.7mmとした。さらに、前、後半部ともに厚さ1mmのcompartmentに細分割した。

本modelの動作特性は、Fickの第一法則に従っており、次式のように表わされる。すなわち、眼球後半部では、BRBに接したcompartment( $r=R$ )及び硝子体腔内のcompartment( $r<R$ )でのfluorescein濃度 $C_v$ (g/ml)はそれぞれ、

i)  $r=R$ :

$$C_v(R, t) = C_v(R, t-\Delta t) + \{ [Pin \cdot C_p(t) - Pout \cdot C_v(R, t-\Delta t)] \cdot S(R) \cdot \Delta t + MR-\Delta r \} / V(R) \dots\dots\dots ①$$

ii)  $r<R$ :

$$C_v(r, t) = C_v(r, t-\Delta t) + (Mr+\Delta r + Mr-\Delta r) / V(r) \dots\dots\dots ②$$

で与えられる。ここで、 $t$ は時間(min)、 $r$ は硝子体腔の中心からの距離(cm)、 $R$ は眼球後半部の半径(cm)を表わし、また $V$ は体積(ml)、 $C_p$ は血中のPUF濃度(g/ml)<sup>8)</sup>、 $Pin$ 、 $Pout$ (cm/min)はそれぞれBRBの内方透過性係数(inward permeability)及び外方透過性係数(outward permeability)を表わす。さらに、 $MR-\Delta r$ 、 $Mr\pm\Delta r$ は、硝子体腔内で単位時間あたりに移動するfluorescein量(g)を表わし、次式で与えられる。

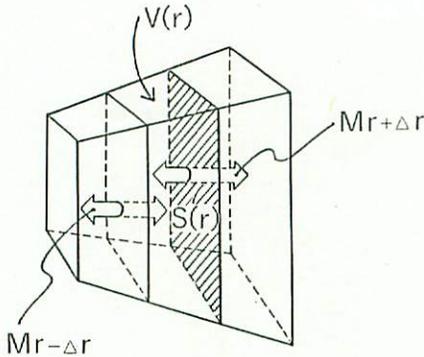


図2 Simulation Model の動作特性. 詳細は本文中の動作特性式とその説明を参照.

$$MR-\Delta r = [CV(R-\Delta r, t-\Delta t) - CV(R, t-\Delta t)] \cdot S(R-\Delta r) \cdot D(R) \cdot \Delta t / \Delta r \dots\dots\dots ③$$

$$MR+\Delta r = [CV(r+\Delta r, t-\Delta t) - CV(r, t-\Delta t)] \cdot S(r) \cdot D(r) \cdot \Delta t / \Delta r \dots\dots\dots ④$$

$$Mr-\Delta r = CV(r-\Delta r, t-\Delta t) - CV(r, t-\Delta t) \cdot S(r-\Delta r) \cdot D(r) \cdot \Delta t / \Delta r \dots\dots\dots ⑤$$

なお, S, D はそれぞれ compartment の表面積 (cm<sup>2</sup>) 及び硝子体腔内の fluorescein の拡散係数 (diffusion coefficient; (cm<sup>2</sup>/min)) である. なお, D を眼球前半部と後半部でそれぞれ D-A, D-p としている (図2 参照). 眼球前半部に関しては, 回転楕円体を用いている以外は, 基本的には後半部と同様な動作特性とした. なお, 前半部の parameter としては, blood-aqueous barrier の内方透過性係数 (F) 及び外方透過性係数 (P' out) を与えている.

本 model による simulation では, 各透過性係数, 拡散係数など未知の parameter を求めることを目的としている. すなわち, 本法では, 静注後60分における前部及び後部硝子体実測値とそれに対応する simulation 値とから評価値を求め, それを最小にする parameter 値を決定した. なお, time unit を1分とし, 前, 後部硝子体の各 compartment 濃度を同時に計算している. また, 使用した計算機は HITAC M-140H システムで, FORTRAN 言語を用いている. なお, 本研究に用いたすべての統計学的検定では, 危険率が5%未満のものを統計学的に有意とした.

### III 結 果

simulation で得られた Pin, D-p, D-A と年齢との関連について統計学的に求めた結果を次に示す. まず,

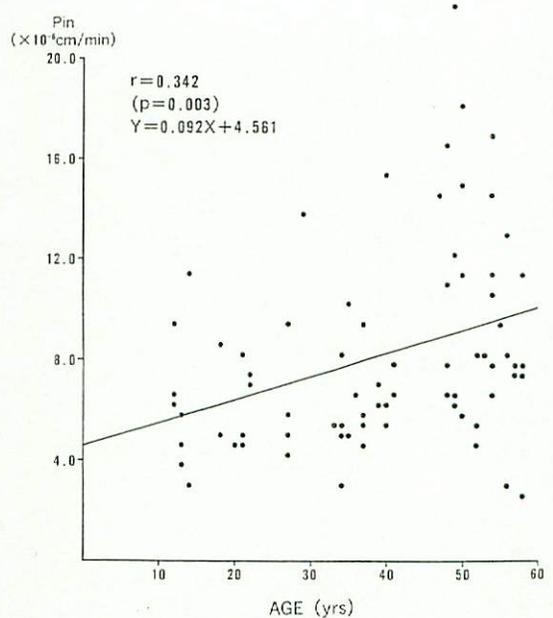


図3 加齢と Pin.

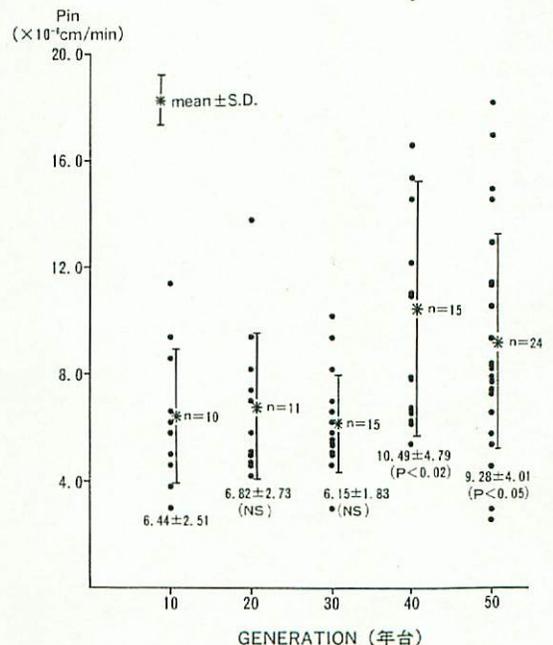


図4 年台別 Pin. p 値は10歳台との比較. NS: 統計学的有意差なし.

Pin と年齢との関係を検討すると (図3), 年齢が高くなるにつれて Pin の増大例が増え, Pin と年齢とは有意な正の相関を示した (r=0.342, P=0.003). 年台別

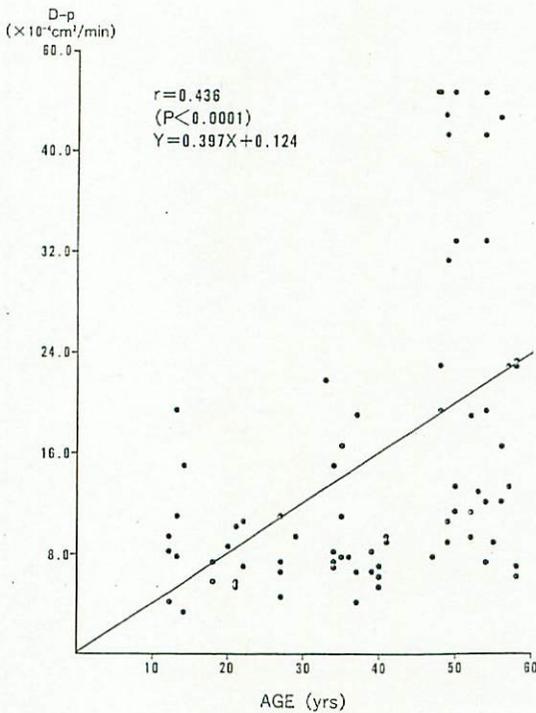


図5 加齢とD-p.

にPinを検討すると(図4), Pinは10歳台から30歳台まではほぼ一定の値を示し, 40歳台からその増大例が目立ち, 10歳台と比較すると40歳台と50歳台ではそれぞれ有意の増大を認めた ( $p < 0.02$ ,  $p < 0.05$ ).

D-pと年齢の関係を検討すると(図5), 両者間に有意な正の相関を認めた ( $r = 0.436$ ,  $p < 0.0001$ ). D-pを年台別に検討すると(図6), Pinと同様にD-pは10歳台から30歳台まではほぼ一定の値を示し, 40歳台からその増大例が出現し, 10歳台と比較すると40歳台と50歳台ではそれぞれ有意の増大を認めた ( $p = 0.038$ ,  $p = 0.016$ ).

一方, D-Aと年齢の関係を検討すると(図7), 両者間に有意な正の相関を認めるが ( $r = 0.397$ ,  $p = 0.0005$ ), 分布の特徴からこれは主に, 50歳以上の特異的な増加例に起因することが明らかである. D-Aを年台別に検討すると(図8), D-pに認められた傾向と異なり10歳台との比較では, 50歳台になって初めて有意の増大を示した ( $p = 0.03$ ).

#### IV 考 按

我々は過去に, VFPを用いて正常眼における加齢変化を検討し, 加齢とともに, PUF値を用いて補正した

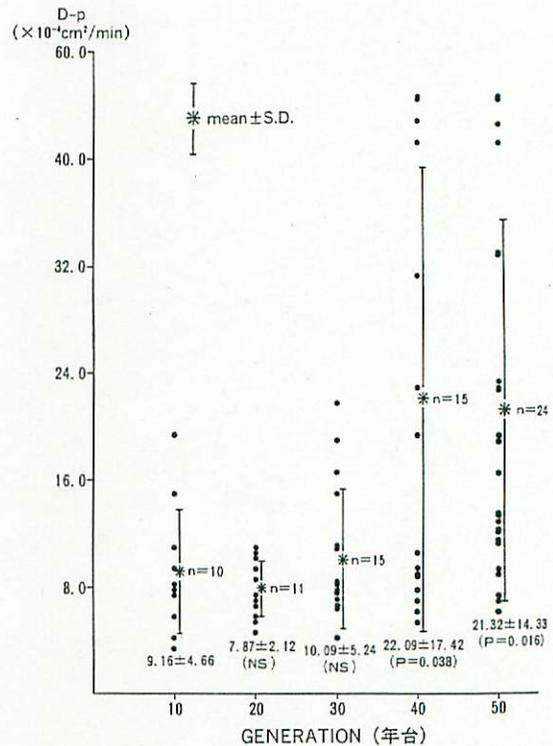


図6 年台別D-p. p値は10歳台との比較. NS: 統計学的有意差なし.

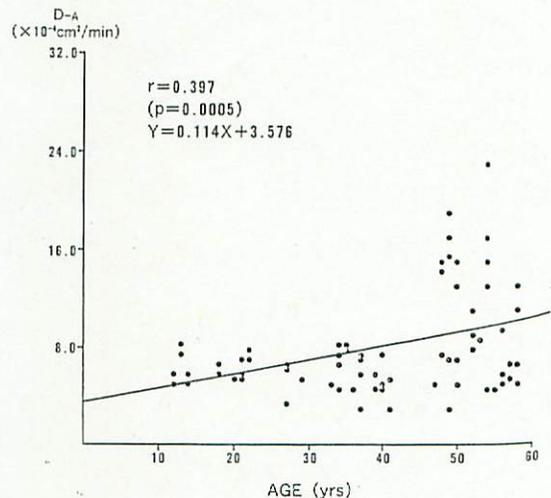


図7 加齢とD-A.

後部硝子体値 ( $F'_{(60.3)}PI$ )が上昇することを報告した<sup>4)</sup>. しかしながら, この  $F'_{(60.3)}PI$  値は, 加齢にともなう純粋なBRBの機能障害ばかりではなく, 西村らが示し

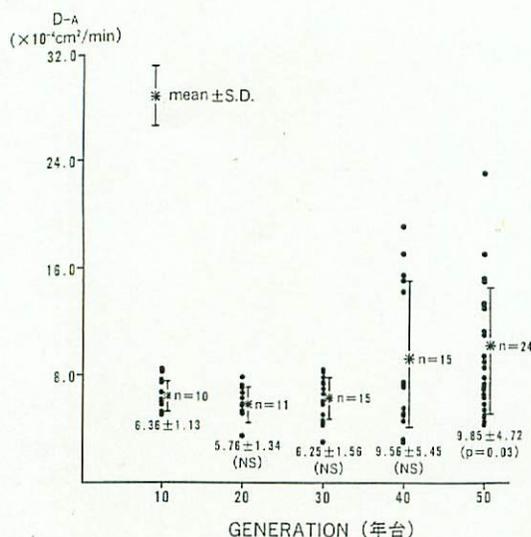


図8 年台別 D-A, p 値は10歳台との比較. NS: 統計学的有意差なし.

たように<sup>12)</sup>, 硝子体ゲルの液化による拡散係数の増大にも影響される. この問題を明確にするため, 我々は simulation 法を用いて, 二つの因子, すなわち Pin と D を個々に検討し, 正常眼における眼内柵の機能の加齢変化を in vivo で初めて明らかにした.

結果が示すように, Pin は加齢とともに増大した. これは, BRB の機能が加齢とともに障害されることを意味する. 特に40歳以降でその障害が顕著となった. Mishima ら<sup>3)</sup>は, ヒトの網膜色素上皮細胞の加齢変化を組織学的に検討し, 同様に40歳以降で細胞の高さと幅が不均一となることを指摘した. すなわち, 組織学的にも, 機能的にも正常眼では BRB の加齢変化は40歳頃より始まることが示唆される.

また, D も加齢にもなって増大するが, これは fluorescein の硝子体内での拡散が加齢とともに増大していることを意味する. すなわち, この D は, 加齢にもなう硝子体ゲルのいわゆる液化を定量的に表わす一つの指標と考える. D-A と D-p について比較検討すると, 正常眼では, 加齢にもなう硝子体の液化は, 40歳台よりまず後部硝子体に, 続いて前部硝子体に起こると推測される. この結果は, 村上ら<sup>13)</sup>の細隙灯顕微鏡を用いて観察した硝子体ゲルの解剖学的変化とよく一致した.

本研究で明らかになった正常眼における BRB 及び硝子体ゲルの経年性変化は, 加齢にもない発生する種々の網膜疾患の病態生理を考える上で重要と考え

る. 今後, 本手法を用いて種々の眼疾患の病態生理を解明していきたい.

## V 要 約

12歳から58歳までの正常人51人75眼に, fluorescein-Na (7mg/kg) を静注前及び静注後60分に Vitreous Fluorophotometry を施行した. 同時に静注後10分, 65分に血漿中の protein-unbound fluorescein 濃度を測定した. この測定結果と simulation 法によって得られた血液網膜柵の内方透過性係数 (Pin), 後部及び前部硝子体内拡散係数 (D-p, D-A) の結果から, 血液網膜柵及び硝子体ゲルの経年性変化を in vivo で初めて明らかにした.

得られた Pin の検討から, 正常眼では血液網膜柵の機能は40歳台より障害されることが推測された. また D-p, D-A の結果から, 硝子体ゲルの液化は, 40歳台よりまず後部硝子体に始まり, 続いて50歳台より前部硝子体に起こることが示唆された.

稿を終えるにあたり, ご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89回日本眼科学会総会にて発表した.

## 文 献

- 1) Leuenberger, D.M.: Ultrastructure of the aging retinal vascular system, with special references to quantitative and qualitative changes of capillary basement membranes. *Gerontologia*, 19: 1-15, 1973.
- 2) 溝渕京子, 堀 貞夫: ヒト網膜細血管の加齢に関する電顕的研究. *日眼*, 87: 587-594, 1983.
- 3) Mishima, H., Hasebe, H. & Kondo, K.: Age changes in the fine structure of the human retinal pigment epithelium. *Jpn. J. Ophthalmol.*, 22: 476-485, 1978.
- 4) 吉田晃敏, 古川英樹, 村上喜三雄, 高橋正孝, 保坂明郎: Vitreous Fluorophotometry による Vitreo-Retino-Ciliary Barrier の研究. 1. 正常眼の経年性変化. *日眼*, 89: 683-687, 1985.
- 5) Takahashi, M., Trempe, C.L. & Schepens, C.L.: Biomicroscopic evaluation and photography of posterior vitreous detachment. *Arch. Ophthalmol.*, 98: 665-668, 1980.
- 6) Yoshida, A., Furukawa, H., Delori, F.C., et al.: Effect of vitreous detachment on vitreous fluorophotometry. *Arch. Ophthalmol.*, 102: 857-860, 1984.
- 7) 吉田晃敏, 保坂明郎: 新しい硝子体フルオロフォトメーターの試作. *臨眼*, 38: 1195-1199, 1984.
- 8) 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. (1) 1時間値までの簡便補正法. 臨眼, 38: 1287—1291, 1984.
- 9) Zeimer, R.C., Blair, N.P. & Cunha-Vaz, J.G.: Pharmacokinetics interpretation of vitreous fluorophotometry. Invest. Ophthalmol. Vis. Sci., 24: 1374—1381, 1983.
- 10) Ogura, Y., Tsukahara, Y., Saito, I. & Kondo, T.: Estimation of the permeability of the blood-retinal barrier in normal individuals. Invest. Ophthalmol. Vis. Sci., 26: 969—976, 1985.
- 11) 保坂明郎, 吉田晃敏, 大野高子: 近視ことに軽度近視の屈折要素について. 日本眼光学学会会誌, 6: 154—156, 1985.
- 12) 西村葉子, 林 英之, 大島健司, 岩田修造: 硝子体液化に伴う Fluorescein-Na の拡散速度の変化. 第89回日本眼科学会総会, 京都, 1985.
- 13) 村上喜三雄, 吉田晃敏, 藤尾直樹: 初老期における硝子体変化の細隙灯顕微鏡と Vitreous Fluorophotometry による分析. 第89回日本眼科学会総会, 京都, 1985.

(第89回日眼総会原著)

(昭和60年10月8日受付)