

# 実験的脈絡膜循環障害のインドシアニングリーン 蛍光眼底造影 病理組織標本との対比 第1報

松永 裕史, 安藤 彰, 松原 孝, 福島伊知郎  
高橋 寛二, 大熊 紘, 宇山 昌延

関西医科大学眼科学教室

## 要 約

インドシアニンググリーン蛍光眼底造影(ICG造影)の画像が網膜, 脈絡膜の病変をどのように表現するかを検討するため, ニホンザルについて脈絡膜循環障害実験を行った。サル眼の耳側の後毛様動脈をすべて切断し, 切断直後, 切断後2日に走査型レーザー検眼鏡を用いてICG造影とフルオレセイン蛍光眼底造影(フルオ造影)を行った。その後, 眼球を摘出し, 病理組織標本について網膜, 脈絡膜を光学顕微鏡, 電子顕微鏡で観察, ICG造影による画像を網脈絡膜組織の病変と直接対比した。切断直後, 検眼鏡的には異常をみなかったが, 病理標本では脈絡膜血管は赤血球で充満し閉塞していた。ICG造影, フルオ造影は, その部位に一致して脈絡膜蛍光の充盈欠損を示した。切断後2日, 蛍光充盈欠損部は網膜深層に灰白色の浮

腫混濁を示し, いわゆる脈絡膜梗塞の所見になり, 病理組織では網膜色素上皮細胞は融解壊死に陥っていた。フルオ造影では, 造影早期には病巣は低蛍光で晩期に著明な過蛍光を示した。ICG造影では, 造影早期には病巣全体は低蛍光で, 病巣辺縁部は次第にパール状の蛍光がみられ, 晩期には強い過蛍光を示した。障害された網膜色素上皮はICG色素の組織染によって過蛍光を示すことがあり, ICG造影の画像所見には網膜色素上皮の病態が強く影響することがわかった。画像読影に重要な事項である。(日眼会誌 101: 12-18, 1997)

キーワード: インドシアニンググリーン蛍光眼底造影, 脈絡膜循環, 脈絡膜循環障害, 病理組織標本

## Indocyanine Green Infrared Fluorescence Angiography and Histopathological Correlation in Experimental Choroidal Circulatory Disturbance Report 1

Hiroshi Matsunaga, Akira Andou, Takashi Matsubara,  
Ichirou Fukushima, Kanji Takahashi, Hiroshi Ohkuma  
and Masanobu Uyama

Department of Ophthalmology, Kansai Medical University

### Abstract

We performed an experimental study on choroidal circulatory disturbance to clarify basic problems about interpretation of retino-choroidal lesions in indocyanine green fluorescence angiography (ICG angiography). We severed all of the posterior temporal ciliary arteries, to produce choroidal circulatory disturbance. Fluorescein angiography and ICG angiography were performed using scanning laser ophthalmoscope immediately, and 2 days after occlusion. These findings were compared with histopathological findings from the same specimen. Immediately after occlusion, choroidal vessels were filled with the red blood cells in the lesion that showed hypofluorescence in both types of angiography. Two days after occlusion, the fundus had a grayish white edematous appearance which was similar to choroidal infarction. The retinal pigment epithelial

cells (RPEs) in infarcted lesion progressed to liquefied necrosis. Fluorescein angiography showed hyperfluorescence in the lesion, and ICG angiography showed hypofluorescence in the early phase, but hyperfluorescence at the margin of the lesion in the late phase. This result showed that damaged RPEs were stained by ICG dye. In reading ICG angiography, we have to consider that the ICG angiogram is greatly modified by the condition of the RPEs. (Jpn Ophthalmol Soc 101: 12-18, 1997)

Key words: Indocyanine green fluorescence angiography, Choroidal circulation, Choroidal circulatory disturbance, Histopathological specimen

別刷請求先: 570 大阪府守口市文園町10-15 関西医科大学眼科学教室 松永 裕史  
(平成8年5月20日受付, 平成8年7月18日改訂受理)

Reprint requests to: Hiroshi Matsunaga, M.D. Department of Ophthalmology, Kansai Medical University,  
10-15 Fumizono-cho, Moriguchi-shi, Osaka-fu 570, Japan  
(Received May 20, 1996 and accepted in revised form July 18, 1996)

## I 緒 言

インドシアニングリーン蛍光眼底造影(ICG造影)<sup>1)~5)</sup>の画像所見の読影基準は未だ確立されていない。我々は、臨床で用いられるICG造影所見の読影に基礎的根拠を示すため、実験を行っている。前報<sup>6)</sup>では、サル眼の後毛様動脈を切断して脈絡膜の循環障害を発生させ、その血管切断直後と循環障害部の血流が回復する過程をICG造影所見と血管鑄型標本とを比較し、ICG造影が脈絡膜循環状態をよく表していることを確認した。その実験で、ICG造影所見が障害された網膜によって影響を受けることも示唆された<sup>6)</sup>。本報では、ICG造影の画像が、障害された網膜の状態<sup>7)~9)</sup>によってどのように影響を受けるかを明らかにするために、切断直後と切断後2日のICG造影所見をフルオレセイン蛍光眼底造影(フルオ造影)所見、および病理組織標本と比較検討したので報告する。その後の変化と所見については、さらに次報で報告する。

## II 実験方法

### 1. 実験動物

3~4 kgの日本ザル8匹16眼を用いた。実験に先立って倒像検眼鏡による眼底検査、およびフルオ造影、ICG造影で眼底に異常のないことを確かめたものを使用した。

### 2. 実験的脈絡膜循環障害作製方法

塩酸ケタミン(ケタラール50®)10 mg/kgの筋注により導入麻酔を行い、ペントバルビタールナトリウム(ネンブタール®)20 mg/kgの筋注により全身麻酔を行った。クレーンライン法で耳側の眼窩側壁を開放し、手術用顕微鏡下に外直筋を一時切離して眼球の耳側および後極部の強膜を広く露出した。耳側の後毛様動脈を長・短毛様動脈とともに強膜に入る直前ですべて切断した。詳しい手術操作は、既報<sup>7)</sup>に述べたとおりである。

### 3. フルオ造影

後毛様動脈切断直後、切断後2日に5%フルオレセインナトリウム注射液0.2 ml/kgを静注し、走査型レーザー検眼鏡(SLO)を用いて撮影した。

### 4. ICG造影

フルオ造影終了後、直ちにICG(ジアグノグリーン注®, 第一製薬)2.5 mg/kgを静注し、SLOを用いて撮影を行った。

### 5. 光学顕微鏡, 電子顕微鏡的観察

フルオ造影, ICG造影を行った後、直ちに眼球を摘出し、4%グルタルアルデヒド固定液(0.1 Mリン酸緩衝液)で24時間前固定した。0.1 Mリン酸緩衝液(pH 7.4)で24時間洗浄後、毛様体部に角膜輪部と平行に切開を加えて前眼部を除去し、網膜を細切した。この切片を1%四酸化オスミウム(0.1 Mリン酸緩衝液)で後固定を1時間行い、型のごとくエタノール系列で脱水した後、

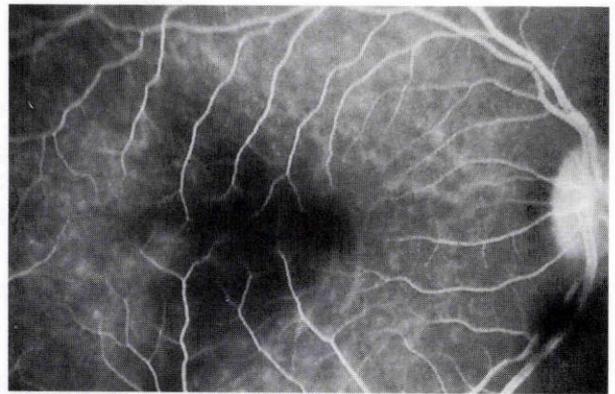


図1 切断直後のフルオレセイン蛍光眼底造影(フルオ造影)所見(静注後7分)。黄斑部の外方に楔状に充盈欠損部がみられる。

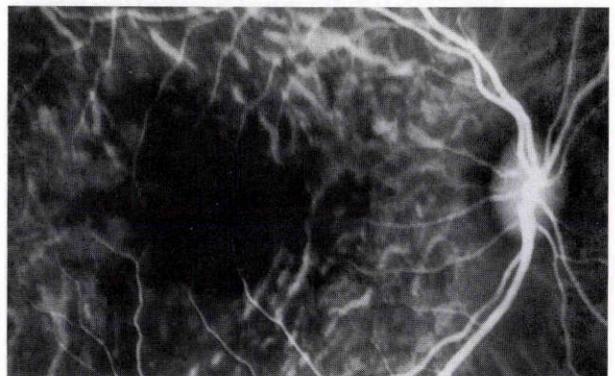


図2 切断直後のインドシアニングリーン蛍光眼底造影(ICG造影)所見(静注後9分)。フルオ造影の低蛍光部に一致して充盈欠損がみられる。

エポソ 812 に包埋した。LKB ultramicrotome V で 1  $\mu$ m の切片を作製し、トルイジンブルー染色のうえ光学顕微鏡で観察し、さらに超薄切片を作製して酢酸ウラン・クエン酸鉛の二重染色後、透過型電子顕微鏡で網膜と脈絡膜を観察した。

## III 結 果

### 1. 切断直後

眼底には検眼鏡的に異常をみなかった。

フルオ造影では、造影早期には脈絡膜背景蛍光は視神経乳頭から鼻側には表れたが、耳側には全く表れなかった。その後、時間とともに脈絡膜蛍光は徐々に耳側へ広がったが、静注後5分以上の造影晩期にも黄斑部から外方に楔状に蛍光が全く充盈されない部分、すなわち充盈欠損部が残った(図1)。この充盈欠損部に対して、視神経乳頭から耳側の充盈欠損部以外の充盈が遅れた領域は充盈遅延部といえる。

ICG造影では、静注後早期にはフルオ造影と同様に脈絡膜蛍光は視神経乳頭から鼻側は直ちに造影されたが、耳側は全く造影されなかった。フルオ造影の充盈遅延部

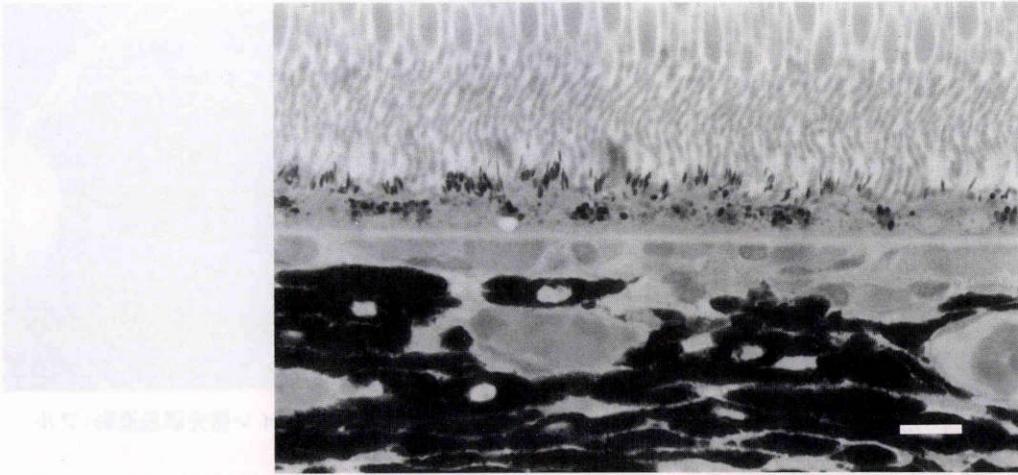


図3 切断直後の充盈欠損部の病理組織所見.

網膜外層には著明な変化はみられないが、脈絡膜血管には多数の赤血球が充満して完全に閉塞していた。トルイジンブルー染色、バーは10 $\mu$ m

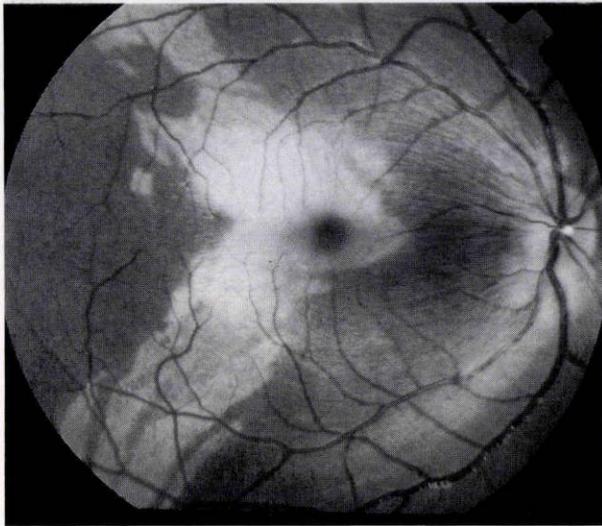


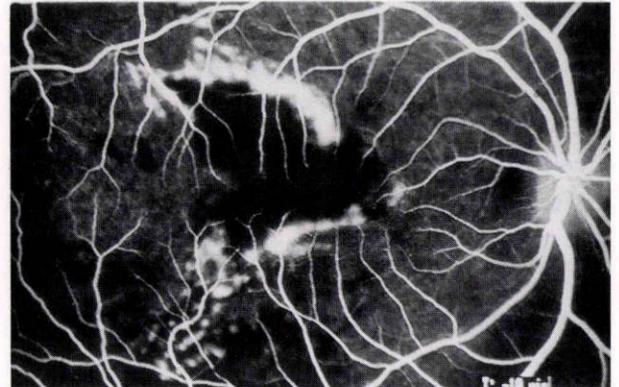
図4 切断後2日の眼底所見.

黄斑部を含んで翼状に網膜深層に、灰白色の浮腫混濁がみられた。

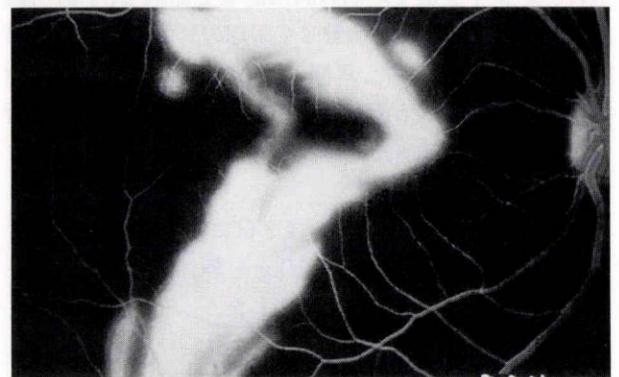
に一致した領域では、鼻側からの血流と前毛様動脈からの血流によって、静注後の時間とともに徐々に耳側にも脈絡膜蛍光が広がった。しかし、黄斑部から外方のフルオ造影でみられた充盈欠損部に一致した領域は、静注後10分以上の造影晩期にも全く蛍光がみられなかった(図2)。このようなICG造影の低蛍光の範囲は、フルオ造影のそれに比べて広がった。

病理組織学的には、網膜外層には特に著明な変化はみられず、網膜色素上皮細胞は規則正しく配列し、細胞形態はよく保たれていた。黄斑部から外方の脈絡膜血管には多数の赤血球が充満し、血管が完全に閉塞している領域がみられた(図3)。この領域は、フルオ造影とICG造影の充盈欠損部と一致していた。

以上のように、脈絡膜血管が完全に閉塞していた領域は、ICG造影では造影早期から晩期まで低蛍光を示し



a



b

図5 切断後2日のフルオ造影所見(aは静注後34秒,bは静注後8分)。

a: 時間とともに辺縁から色素の漏出がみられる。  
b: 病巣のほぼ全体が過蛍光を示している。

た。

## 2. 切断後2日

後毛様動脈切断直後に、眼底耳側にフルオ造影とICG造影でみられた充盈欠損部は網膜深層に著しい灰白色の浮腫混濁がみられ、脈絡膜梗塞の眼底所見を示した(図

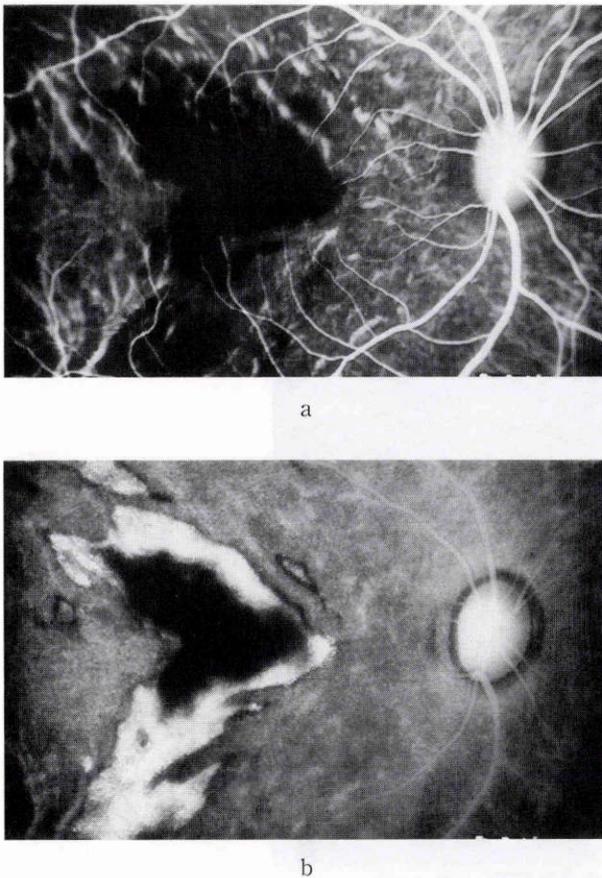


図6 切断後2日の ICG 造影所見(aは静注後1分22秒, bは静注後26分)。

a: 病巣は造影早期に低蛍光を示している。b: 病巣中央部は低蛍光であるが、周辺部は境界明瞭な著しい過蛍光を示している。

4)。

フルオ造影では、充盈遅延部の充盈時間は切断直後よりはやや改善がみられた。脈絡膜梗塞部は、造影早期には低蛍光であったが、時間とともにその辺縁から色素の漏出がみられ(図5a)、造影晚期には病巣部のほぼ全体が著しい過蛍光を示した(図5b)。

ICG 造影では、フルオ造影と同様に充盈遅延部の充盈時間に改善がみられた。脈絡膜梗塞部は、造影早期には低蛍光であったが(図6a)、その後、時間とともに病巣の辺縁部にあたる所では次第にパール状の蛍光を示し、静注後10分頃から周囲に比し過蛍光を示した。静注後20分の造影晚期には、病巣中央部は低蛍光のまま残ったが、辺縁部は境界鮮明な過蛍光を示した(図6b)。

病理組織学的には、光学顕微鏡では検眼鏡でみた脈絡膜梗塞部の範囲に一致して網膜色素上皮細胞の融解壊死、崩壊脱落がみられ、視細胞内節外節の壊死と外顆粒層の核に濃縮、減少がみられた。病巣の中央部では、脈絡膜血管は凝集した赤血球が充満し、完全に閉塞していた(図7a)。病巣の辺縁部では、網膜色素上皮細胞は壊死に陥っていた(図7bの左半分)。病巣に隣接する検眼鏡的に健常部では、網膜色素上皮細胞は扁平化し軽度の変性がみ

られたが、細胞形態は保たれていた(図7bの右半分)。網膜色素上皮細胞は、壊死に陥った部位と細胞形態が保たれた部位の境界は鮮明であった。辺縁部の脈絡膜の中大血管は開いていた。脈絡膜毛細血管板は、狭小化し多数の赤血球でみだされてきたが、わずかに管腔がみられた(図7bの左半分)。電子顕微鏡でみると、病巣中央部の網膜色素上皮細胞は壊死、崩壊が明らかで、脈絡膜血管は血球が充満し完全に閉塞していた(図8a)。病巣辺縁部の網膜色素上皮細胞は、壊死、崩壊が明らかで、脈絡膜毛細血管板は管腔が開いていたが、内皮細胞は厚くなり fenestration が減少していた(図8b)。

脈絡膜血管が完全に閉塞していた病巣中央部は、ICG 造影では造影早期から晩期まで低蛍光を示し、脈絡膜血管が不完全閉塞で網膜色素上皮細胞が障害されていた領域である辺縁部は造影早期には低蛍光であったが、時間とともにパール状の蛍光を示し、造影晚期には強い過蛍光を示した。

#### IV 考 按

我々は、前報<sup>6)</sup>のサル眼の実験で脈絡膜循環障害状態において、ICG 造影の造影早期像の脈絡膜背景蛍光欠損状態は血管鑄型標本とよく一致し、ICG 造影所見が脈絡膜循環を正確に表していることを確認した。しかし、障害された網膜によって、ICG 造影所見が修飾されることが示唆されたので、その点を検討した。

切断直後には病理組織学的に網膜にほとんど異常がみられず、ICG 造影は脈絡膜循環状態をよく表現していた。フルオ造影では、充盈遅延部は徐々に広がるびまん性の背景蛍光としてみられたが<sup>7)~10)</sup>、ICG 造影では、充盈遅延部は鼻側からの血流、前毛様動脈からの血流が吻合路を介して長後毛様動脈を逆行性に進み、その領域が造影され、これらの血行状態が明瞭に造影された。充盈欠損部では病理組織学的所見で脈絡膜血管が多数の血球が充満して閉塞しており、両方の蛍光造影で低蛍光を示し、血行の途絶を示していた。低蛍光の範囲は、ICG 造影像がフルオ造影像より広く、これは ICG 色素がフルオレセインと比べて拡散しにくいと考えられ、ICG 造影の方が循環障害の範囲を正確に示していることになる。

切断後2日では、充盈欠損のあった血行途絶部は脈絡膜梗塞像を示し、病理組織学的には、この領域は網膜色素上皮は強い融解壊死になって、網膜色素上皮細胞の崩壊脱落をみた。梗塞部の辺縁部も色素上皮細胞は崩壊していた。脈絡膜血管は、病巣中央部ではなお強く閉塞していたが、病巣辺縁部では中大血管は再疎通し脈絡膜毛細血管にもわずかに管腔がみられ、血行が少し改善していた。フルオ造影では造影早期には病巣に一致して低蛍光を示したが、造影晚期には病巣はほぼ全体が強い過蛍光を示した。これは周囲の正常の脈絡膜血管から血管外に漏出したフルオレセイン色素が拡散し、さらに、壊死に陥って

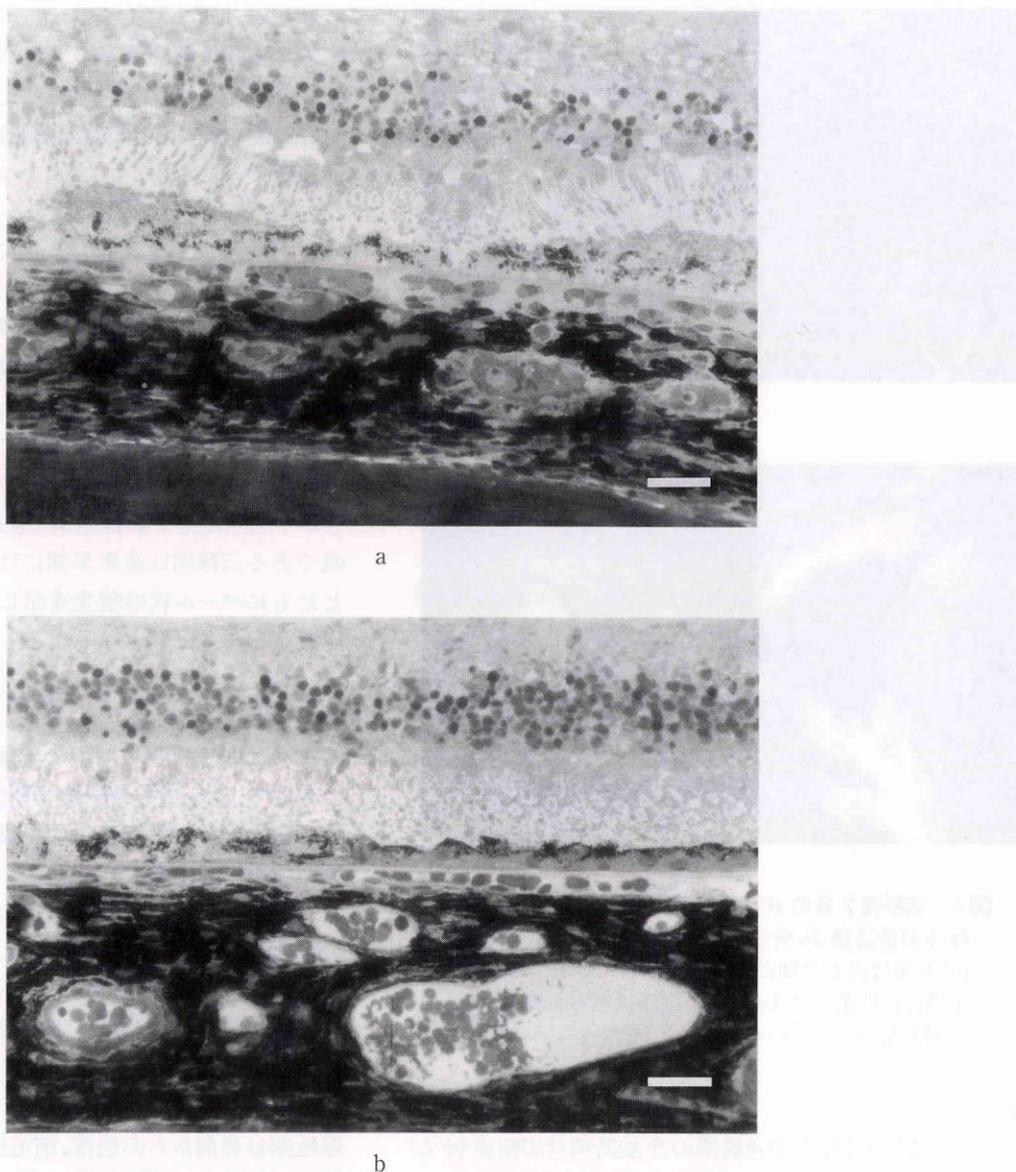


図7 切断後2日の病巣の病理組織所見(aは病巣中央部,bは病巣辺縁部)。

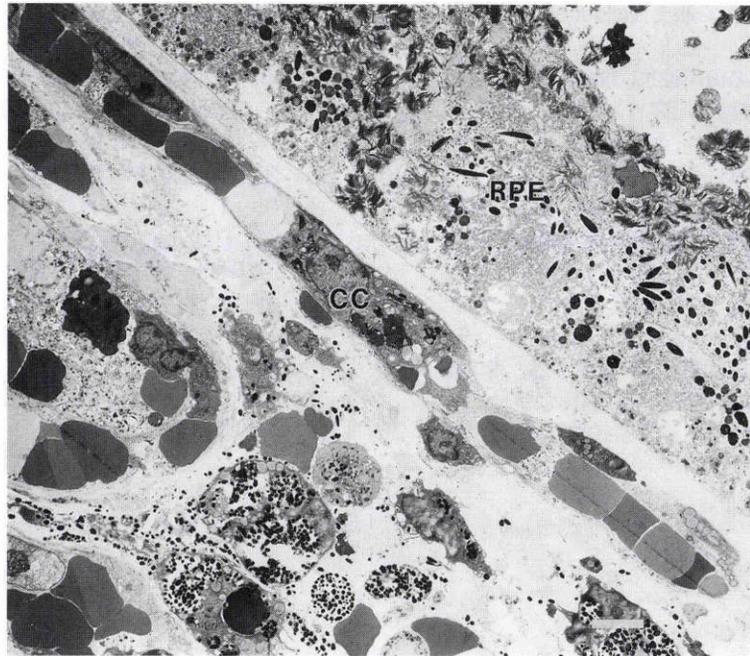
a: 網膜色素上皮細胞は融解壊死による崩壊脱落がみられ、脈絡膜血管は凝集した赤血球で充満し完全に閉塞している。トルイジンブルー染色、バーは20  $\mu\text{m}$ 。b: 左側半分は網膜色素上皮が壊死に陥って細胞は崩壊している。右側半分、病巣に隣接する検眼鏡的に健常部の網膜色素上皮は細胞形態は保たれている。病巣辺縁部の脈絡膜の中大血管は開いている。脈絡膜毛細血管板は狭小であるが、わずかに管腔がみられる。トルイジンブルー染色、バーは20  $\mu\text{m}$ 。

崩壊した色素上皮を通して網膜下へ色素漏出したためと思われた。ICG造影では、病巣中央部は造影早期から晩期まで低蛍光を示し、脈絡膜血行の途絶を表していた。病巣辺縁部は、造影早期には低蛍光であったが、徐々にパール状の蛍光を示し、切断直後よりも血行が少し改善したことを表していた。病巣辺縁部は、造影晩期は境界明瞭な過蛍光を示し、これは、障害された網膜色素上皮への組織染と考えられた。

これまでICG造影像の過蛍光は、主に脈絡膜血管の透過性亢進であると指摘されてきたが<sup>11)12)</sup>、本実験では網膜色素上皮細胞の障害範囲が病理組織学的に脈絡膜血管の変化に比べて境界が明瞭であったこと、電子顕微鏡的

に過蛍光を示した部位の脈絡膜毛細血管のfenestrationは減少していたことから、上記の過蛍光は脈絡膜血管の透過性亢進とは考えにくく、障害された網膜色素上皮への組織染であったと考えられた。障害された網膜色素上皮がICGの組織染を示すことは、松原ら<sup>13)</sup>のオルニチンを用いた実験からも証明されている。このようにICG造影像の過蛍光には、脈絡膜血管の透過性亢進以外に網膜色素上皮の障害によっても生じることが明らかにされた。

ICG造影ではフルオ造影に比較して色素の漏出、拡散が生じにくいので、病巣の状態が蛍光で覆われて不明瞭になることがないため、造影晩期では網膜色素上皮の状



a



b

図8 切断後2日の電子顕微鏡所見(aは病巣中央部, bは病巣辺縁部).

a: 網膜色素上皮細胞の壊死, 崩壊が著しく, 脈絡膜血管は血球で充満して完全に閉塞している. cc: 脈絡膜毛細血管板, RPE: 網膜色素上皮, バーは5  $\mu$ m, b: 網膜色素上皮細胞は崩壊し, 脈絡膜毛細血管板は管腔がみられたが, 内皮細胞は厚くなり一部基底膜から分離し fenestration は減少していた. バーは5  $\mu$ m

態を反映した像が明瞭であった.

以上のように, ICG 造影は造影早期から中期の所見は脈絡膜循環状態をよく示していたが, 造影晚期には障害された網膜色素上皮への ICG 蛍光の取り込みの所見がみられ, その影響が強く表現されることが示され, ICG 造影所見の読影にあたって注意を払う事項が明らかになった.

なお, 後毛様動脈切断後1週以降の ICG 造影所見と病理組織所見との比較については, 次報に述べる.

本論文の要旨は, 第98回日本眼科学会総会(平成6年4月21日, 横浜)において松永が報告した. 本研究は文部省科学研究費一般研究 B(05454478), 試験研究 B(07557265), および厚生省特定疾患網絡膜萎縮症調査研究班の援助を受けた, 記して謝意を表します.

#### 文 献

- 1) Flower RW, Hochheimer BF: A clinical technique and apparatus for simultaneous angiography of the separate retinal and choroidal circulations. Invest Ophthalmol 12: 248-261, 1973.
- 2) 林 一彦, 奥山文雄, 中瀬佳子, 西山文子, 所 敬: 赤外蛍光眼底造影法に関する研究. 第1報. 基礎的検討. 日眼会誌 85: 1028-1035, 1981.
- 3) Hayashi K, Hasegawa Y, Tazawa Y, de Laey JJ: Clinical application of indocyanine green angiography to choroidal neovascularization. Jpn J Ophthalmol 33: 57-65, 1989.
- 4) 林 一彦: 赤外蛍光眼底撮影法. 眼科 32: 1079-1089, 1990.
- 5) 林 一彦: 赤外蛍光眼底造影法へのガイダンス. 臨眼 45: 1764-1770, 1991.
- 6) 松永裕史, 安藤 彰, 松原 孝, 福島伊知郎, 高橋寛二, 大熊 紘, 宇山昌延: 実験的脈絡膜循環障害のインドシアニングリーン蛍光眼底造影による検討—血

- 管鑄型標本との比較一. 日眼会誌 100: 201—207, 1996.
- 7) 宇山昌延, 大熊 紘, 糸田川誠也, 越生 晶, 浦口敬治, 三木耕一郎: 脈絡膜循環障害の病態について.  
1. 脈絡膜血管構築の特異性, 血管鑄型標本による観察. 日眼会誌 84: 1893—1909, 1980.
- 8) 宇山昌延, 糸田川誠也, 浦口敬治, 大熊 紘, 三木耕一郎, 越生 晶: 脈絡膜循環障害の病態について.  
2. 脈絡膜の血行障害とその回復, 螢光眼底撮影と血管鑄型標本による観察. 日眼会誌 84: 1910—1923, 1980.
- 9) 宇山昌延, 大熊 紘, 三木耕一郎, 越生 晶, 浦口敬治, 糸田川誠也: 脈絡膜循環障害の病態について.  
3. 実験的脈絡膜循環障害による眼底変化, 病態組織学的研究. 日眼会誌 84: 1924—1946, 1980.
- 10) 宇山昌延, 越生 晶, 糸田川誠也, 大熊 紘, 浦口敬治, 三木耕一郎: 脈絡膜循環障害の病態について.  
4. 脈絡膜循環障害による臨床例の検討. 日眼会誌 84: 1947—1956, 1980.
- 11) 河野剛也, 北庄司清子, 三木徳彦: 実験的網膜打撲壊死のインドシアニングリーン螢光眼底造影による検討. 日眼会誌 97: 587—594, 1993.
- 12) 河野剛也, 北庄司清子, 三木徳彦, 林 康人, 松山久美子: ヨーソ酸ナトリウムによる網脈絡膜病変のインドシアニングリーン螢光眼底造影による検討. 眼紀 44: 172—176, 1993.
- 13) 松原 孝: 網膜脈絡膜における ICG 局在の組織学的証明. 臨眼 49: 25—33, 1995.