

加齢黄斑変性の脈絡膜新生血管膜におけるインドシアニングリーン 蛍光造影所見と病理組織学的所見との比較

中島 正巳, 島田 宏之, 佐藤 節, 湯沢美都子

日本大学医学部附属駿河台病院眼科

要 約

加齢黄斑変性の中心窩に達している脈絡膜新生血管膜(20眼)をインドシアニングリーン蛍光造影所見によって4型(I型:造影早期にも後期にも過蛍光を示すもの, II型:早期にのみ過蛍光を示すもの, III型:後期にのみ過蛍光を示すもの, IV型:いずれの時期にもほとんど過蛍光を示さないもの)に分類した後,硝子体手術により摘出した。摘出標本を,17眼ではヘマトキシリン・エオジン染色あるいはアザン染色後に光学顕微鏡で,3眼では透過型電子顕微鏡で観察した。I型は血管腔が多く,網膜色素上皮細胞による血管膜の囲い込みがほとんどなく,線維成分は少量であった。II型は血管腔が多く,網膜色

素上皮細胞の囲い込みがみられた。III型は血管腔は少なく,網膜色素上皮細胞の囲い込みが起りつつあった。IV型は血管腔が少なく,線維成分が全体的に多く,密に配列していた。本症のインドシアニンググリーン蛍光造影所見は血管の数と成熟度,網膜色素上皮細胞の囲い込み,線維成分の量によって異なると考えた。(日眼会誌 101:584-592,1997)

キーワード:加齢黄斑変性,インドシアニンググリーン蛍光造影,脈絡膜新生血管膜,線維成分,網膜色素上皮細胞

Comparison between Indocyanine Green Angiography and Histopathological Observations of Choroidal Neovascular Membrane in Age-related Macular Degeneration

Masami Nakajima, Hiroyuki Shimada, Misao Sato and Mitsuko Yuzawa

Department of Ophthalmology Nihon University School of Medicine

Abstract

We classified choroidal neovascular membrane (CNM) (20 eyes) in age-related macular degeneration into four types (Type I: hyperfluorescence in both early and late phases, Type II: hyperfluorescence only in the early phase, Type III: hyperfluorescence only in the late phase, Type IV: virtually no hyperfluorescence in any phase) using indocyanine green angiography (IA). We performed surgery to remove CNM with these IA findings. After 17 surgically extracted specimens had been stained with hematoxylin-eosin and azan, they were examined by light microscopy. Three other specimens were examined by electron microscopy. Type I showed many vascular channels, not present in the surrounding retinal pigment epithelium (RPE) cells,

and little fibrous tissue. Type II had many vascular channels but RPE cells surrounded the CNM. Type III showed few vascular channels and RPE cell proliferation. Type IV showed abundant fibrous tissue. The IA findings of CNM were thought to be determined by the number of vascular channels, maturity of vessels, degree of surrounding by RPE cells, and the amount of fibrous tissue within the CNM. (J Jpn Ophthalmol Soc 101:584-592,1997)

Key words: Age-related macular degeneration, Indocyanine green angiography, Choroidal neovascular membrane, Fibrous tissue, Retinal pigment epithelium cell

別刷請求先: 101 東京都千代田区神田駿河台1-8-13 日本大学医学部附属駿河台病院眼科 中島 正巳
(平成8年10月17日受付,平成9年2月18日改訂受理)

Reprint requests to: Masami Nakajima, M.D. Department of Ophthalmology, Surugadai Hospital of Nihon University, 1-8-13 Surugadai, Kanda, Chiyoda-ku Tokyo 101, Japan

(Received October 17, 1996 and accepted in revised form February 18, 1997)

I 緒 言

インドシアニングリーン蛍光造影法(indocyanine green angiography: 以下, IA)は脈絡膜血管造影法として現在広く用いられている. 本法が最も診断に有用である疾患の1つに新生血管黄斑症がある. 中でも加齢黄斑変性では, IA はフルオレセイン蛍光造影法(fluorescein angiography: 以下, FA)と併せて検査することにより, 新生血管の検出率が高くなることが報告され, その診断

表1 各型の年齢, 術前視力, 自覚症状発現からの期間との関係

	年齢(歳)	術前視力 (対数視力)	自覚症状発現からの期間 (月)
I型	66.6	-1.22	9
II型	54.5	-1.15	7
III型	66.3	-1.34	6
IV型	69.0	-1.03	15

に頻用されている¹⁾²⁾. 中心窩に達していない新生血管を有する本症の治療には, レーザー光凝固治療が行われる. 新生血管が中心窩に達している場合には中心窩を含む新生血管膜全体に対するレーザー光凝固, 可能であれば新生血管の栄養血管に対する光凝固が行われている. 最近では脈絡膜新生血管膜の除去術が行われ, その病理組織学的検索も多数報告^{3)~5)}されている. しかし, 加齢黄斑変性における脈絡膜新生血管膜の IA 所見には症例による差異がみられ, その成因は未だ十分に解明されていない. そこで今回我々は, 本症の IA 所見を4型に分類した後, 硝子体手術を施行し, 採取された脈絡膜新生血管膜の病理組織所見と IA 所見を比較し, 各型の病態について検討した.

II 方 法

加齢黄斑変性で中心窩に及ぶ脈絡膜新生血管膜を有する20眼に対し, 手術1週間前に, 細隙灯顕微鏡による眼

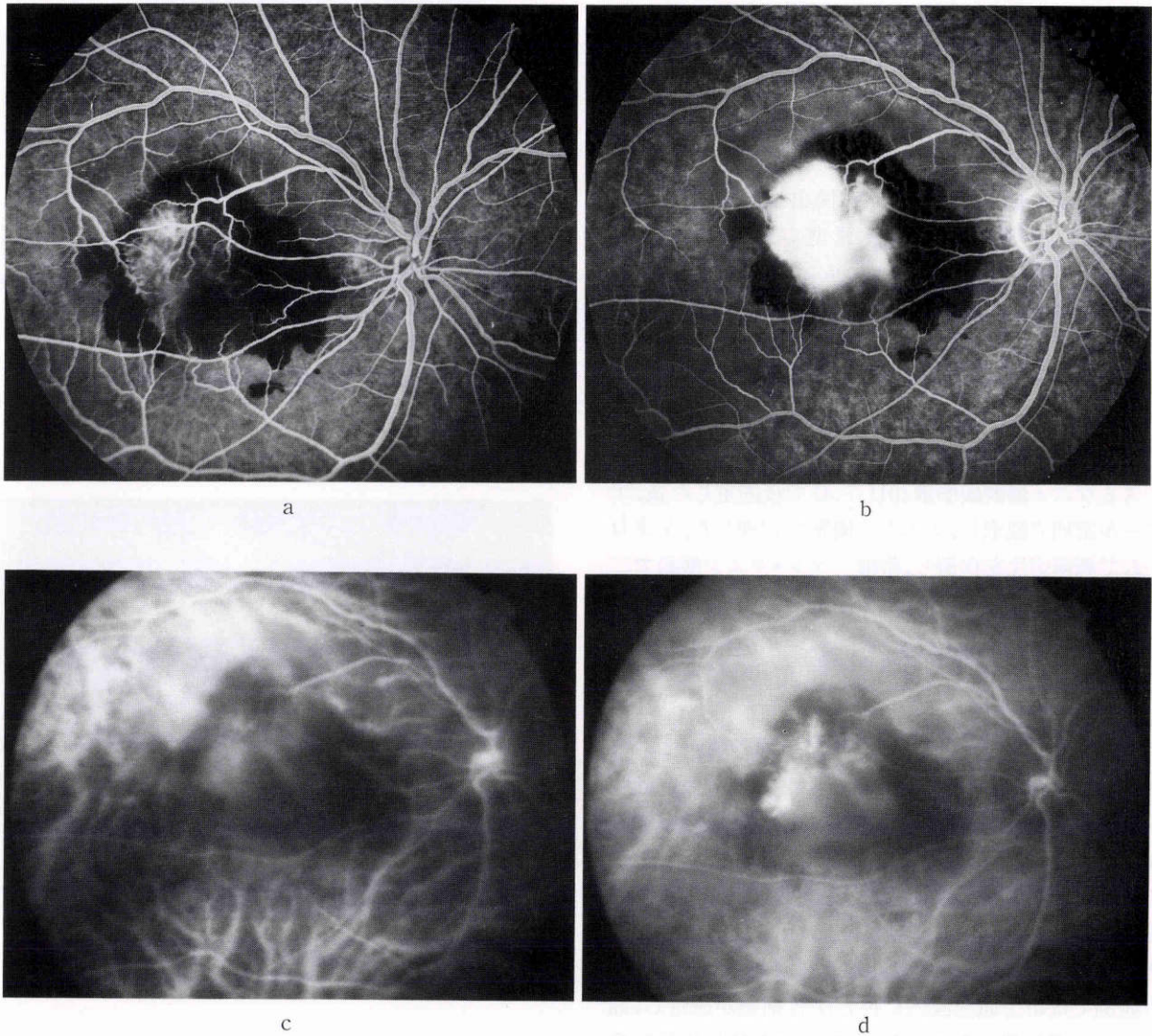


図1 I型のフルオレセイン蛍光造影(以下, FA)およびインドシアニンググリーン蛍光造影(以下, IA)所見. a: FA 造影早期. b: FA 造影後期. c: IA 造影早期では新生血管網を示す斑状の過蛍光が認められる. d: IA 後期になり新生血管膜からインドシアニンググリーン(以下, ICG)色素の漏出が旺盛に認められる.

底検査, カラー眼底撮影, FA および IA を施行した. IA はインドシアニングリーン(以下, ICG) 25 mg を蛍光色素として用い, トプコン社製 TRC-50 IA あるいはローデンスストック社製走査レーザー顕微鏡で撮影し, イメージネット®で画像処理を行った. 新生血管膜は, 19 眼では中心窩に初発, 1 眼では中心窩に再発したものであった. 各脈絡膜新生血管膜の IA 所見を当教室で用いている方法で分類した. すなわち, I 型は造影早期・後期ともに過蛍光を示すもの, II 型は造影早期にのみ過蛍光を示すもの, III 型は造影後期にのみ過蛍光を示すもの, IV 型はいずれの時期にも過蛍光を示さないものである. 各型の平均年齢, 術前平均視力, 新生血管の持続期間との関係を示す(表 1). なお, FA ではいずれも早期には新生血管を示唆する過蛍光がみられ, 後期には旺盛な色素の漏出を示した.

脈絡膜新生血管膜摘出術は, Lambert ら⁹⁾の報告に準じて施行した. すなわち, pars plana に 3 port 作製後, 後極部の有形硝子体切除を行い, 後部硝子体剥離のない症例に対してはグリザード針で人工的に後部硝子体剥離を作製した. そして, 36 G サプレチナルスパーテルを用いて網膜に小切開創を作製し, 32 G カニューラで balanced salt solution (BSS®) を注入し, 新生血管膜と網膜色素上皮および神経網膜との分離を行った後, サプレチナル鉗子で膜を把持し切開創から摘出した. 摘出した標本は直ちに, 17 眼(I 型: 10 眼, II 型: 2 眼, III 型: 3 眼, IV 型: 2 眼)では 10% ホルマリン・燐酸緩衝液(pH 7.4)で固定し, 型どおりにエタノール系列で脱水, パラフィン包埋し 4 μm に薄切後, ヘマトキシリン・エオジン染色あるいはアザン染色を行い, 光学顕微鏡で観察した. また, 3 眼(I 型: 2 眼, IV 型: 1 眼)では 4% グルタルアルデヒド・燐酸緩衝液(pH 7.4)で前固定, 1% 四酸化オスミウム・燐酸緩衝液(pH 7.4)で後固定した後, エタノール系列で脱水し, エポキシ樹脂で包埋した. ミクロトームで超薄切片を作製し, 酢酸ウラン・クエン酸鉛で二重染色し, 透過型電子顕微鏡で観察した.

III 結 果

1. 光学顕微鏡所見

I 型(図 1): 10 眼全例に, 脈絡膜新生血管膜全体に大小様々な血管腔が多数認められた(図 2). 色素保有細胞は少なく, これらによる血管腔の囲い込みはほとんどみられなかった(図 3). 線維成分は膜内に認められたが, 少量であった(図 4).

II 型(図 5): 色素保有細胞は多量で, 脈絡膜新生血管膜全体を取り囲む色素保有細胞がみられる(図 6). また, 他の症例では新生血管膜内に色素保有細胞が遊走し, 血管腔を取り囲む部もみられた(図 7). 血管腔は比較的多く, 線維成分も I 型に比べて多く認められる(図 8).

III 型(図 9): I 型に比べて血管腔が少なく, 色素保有

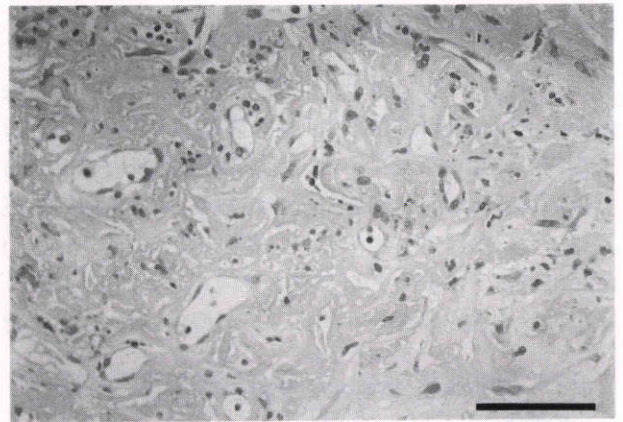


図 2 I 型の光学顕微鏡所見(ヘマトキシリン・エオジン染色: 以下, HE 染色).

多数の血管腔が認められる. バーは 100 μm

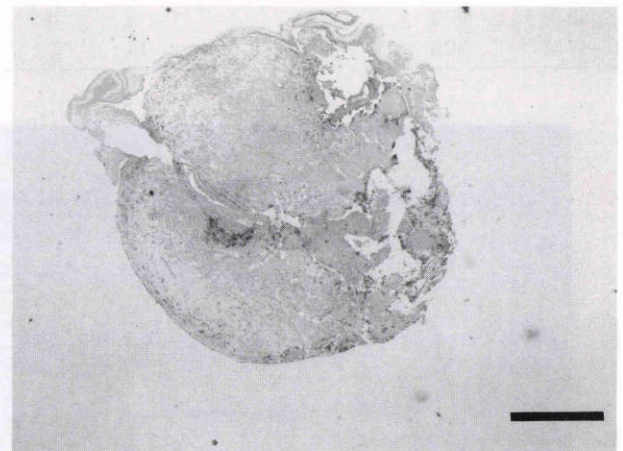


図 3 I 型の光学顕微鏡所見(HE 染色).

色素保有細胞は少量で, 新生血管膜の取り囲みはみられない. 上方に視細胞外節が認められる. バーは 50 μm

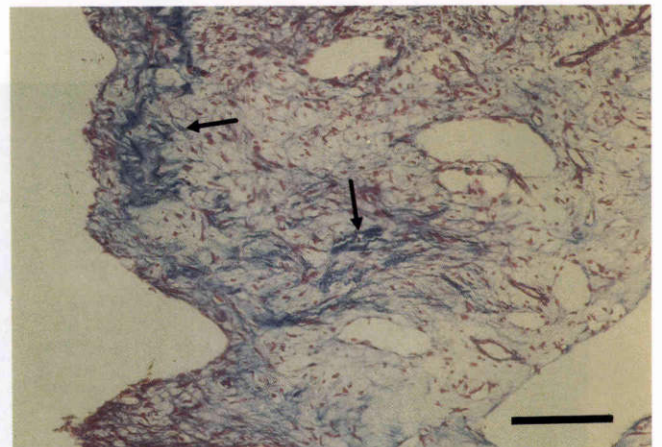


図 4 I 型の光学顕微鏡所見(アザン染色).

線維成分は少量である(矢印). バーは 150 μm

細胞の囲い込みが起こりつつある部がみられる. 線維成分は多い部も少ない部もある(図 10).

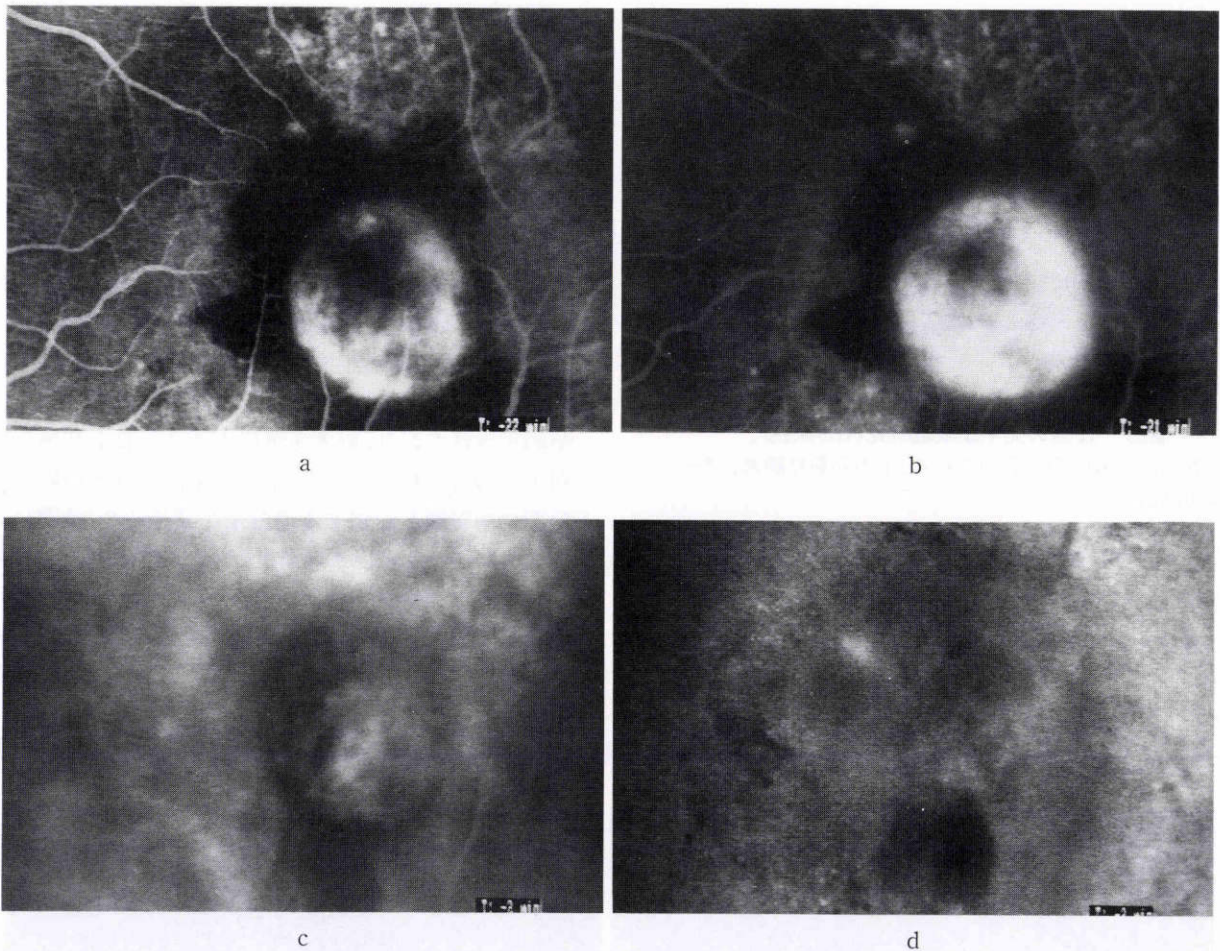


図5 II型のFAおよびIA所見.

a: FA 造影早期, b: FA 造影後期, c: IA 早期には新生血管の部は過蛍光を示し, 周囲は低蛍光で縁どられていた, d: IA 早期に過蛍光を示していた部は後期には過蛍光はほとんど認められない.

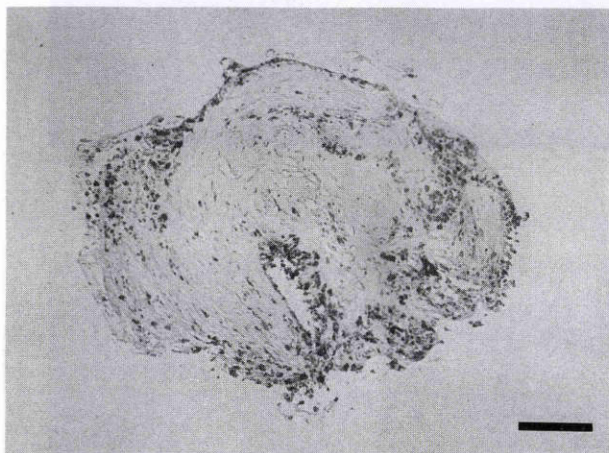


図6 II型の光学顕微鏡所見(HE染色).

新生血管膜周囲および膜内に色素保有細胞の遊走が認められる. 網膜面に平行に薄切した断面. バーは200 μm

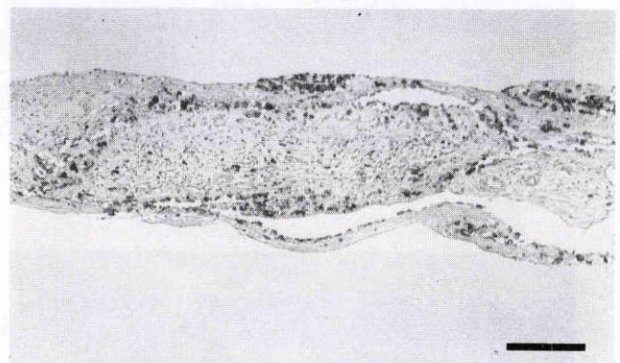


図7 II型の光学顕微鏡所見(HE染色).

新生血管膜内に色素保有細胞が遊走し, 血管腔を取り囲んでいる. 下方が脈絡膜面. バーは200 μm

3. 電子顕微鏡所見

I型: 血管腔は狭く, 新生血管内皮細胞の胞体は厚く, 細胞内小器官が豊富にみられ, 血管は未熟であった(図14). また, 細胞膜には脈絡膜由来の血管を示唆する窓構造を示すものが極く少数認められた(図15). 光学顕微鏡で血管周囲にみられた胞体内に色素顆粒を保有する細胞は, 基底膜を有する網膜色素上皮細胞(以下, 色素上皮細胞)

IV型(図11): 大小様々な管腔を有する新生血管がみられるものの, I型に比べると極く少なく, 血管腔の一部には色素保有細胞の囲い込みがみられる(図12). 線維成分は全体的に多く, 密に配列していた(図13).

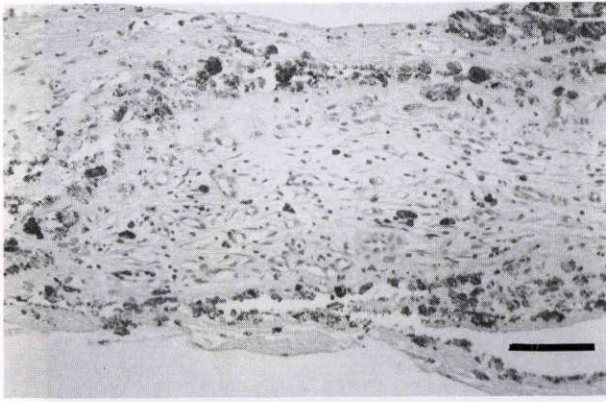


図8 II型の光学顕微鏡所見(HE染色).
血管腔は比較的多く認められる.下方が脈絡膜面.バーは100 μ m

胞)であったが,極くまばらに存在し,細胞間の結合装置は発達していなかった(図16).

IV型:I型に比べ血管腔は広く,胞体は薄く,比較的成熟した血管が認められた(図17).

光学顕微鏡で,大量に存在した線維成分はフィブリンとコラーゲン線維であった.これらは血管腔の周囲に密

に配列していた.

IA所見と組織所見の対比結果を示す(表2).

IV 考 按

加齢黄斑変性における色素上皮細胞,Bruch膜,脈絡毛細管板の変化は脈絡膜由来の新生血管形成を生じ,二次的に網膜の不可逆な変性を引き起こす.この新生血管膜の形成機序を解明するため,多数の病理組織学的検索が行われているが,未だ十分には解明されていない.臨床的には,本症の新生血管膜の検出には従来から用いられているFAに加え,近年脈絡膜血管の検出に優れたIAが頻用されており,両者を併用することにより検出率の向上が報告されている.しかし,IAにおける造影所見は早期に血管網を示唆する過蛍光が認められ,後期には新生血管からの蛍光色素の漏出を示す典型的なもの以外に非典型的な異常蛍光を示すものがある.これらの蛍光色素漏出と病理組織との比較,病態の検討はChangら⁷⁾,Leeら⁸⁾によって行われているのみである.

ChangらはFAでは異常蛍光が検出されず,IAで中心窩色素上皮細胞下に後期過蛍光所見を示す1例を眼球

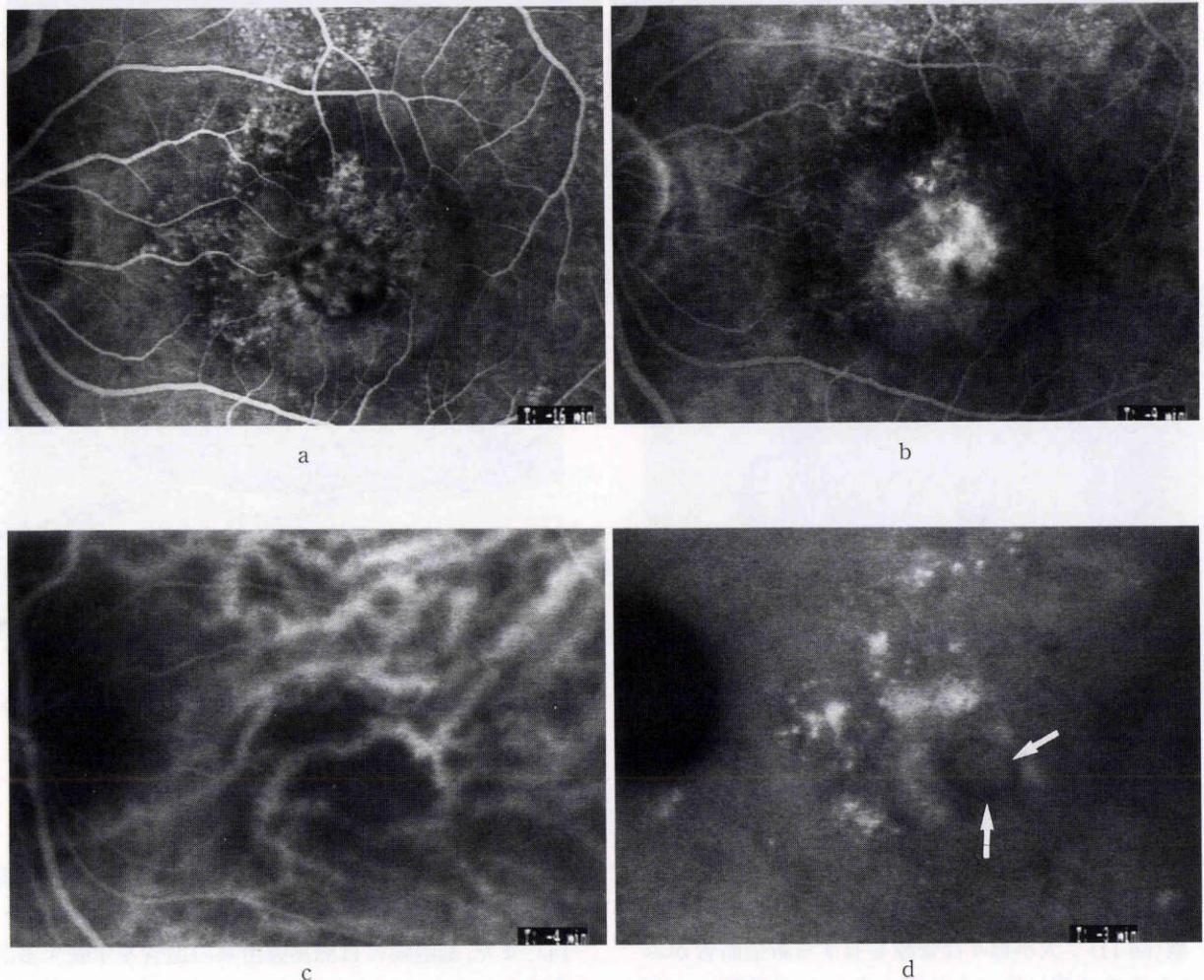


図9 III型のFAおよびIA所見.

a:FA造影早期,b:FA造影後期,c:IA早期には異常な過蛍光を示さない,d:IA後期になってから新生血管からの漏出を示唆する過蛍光が認められる(矢印)周囲に散在するドレーゼンは点状過蛍光を示す.

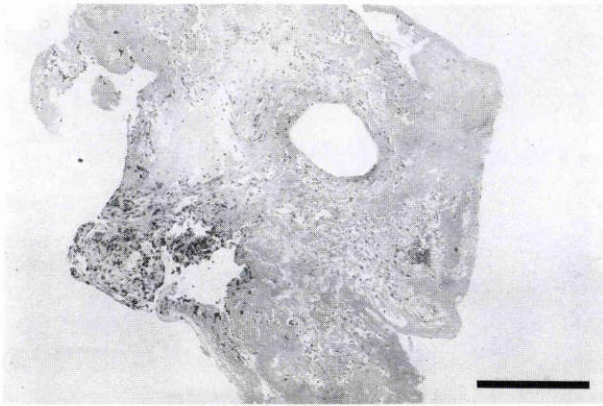


図10 III型の光学顕微鏡所見(HE染色).

血管腔はI型に比べると少ない。線維成分は多い所と少ない部が混在した。下方に視細胞外節が認められる。バーは250 μm

摘出し、その組織所見を検討した。この症例では新生血管は色素上皮細胞下に存在し、新生血管周囲に滲出性の剝離がないため、FAでは新生血管が描出されなかったが、IAでは後期になって線維組織に ICG 色素が貯留したため、過蛍光を示したと報告している。また、Leeらは15眼の脈絡膜新生血管膜をIA所見により境界鮮明な過蛍光

を示す well demarcated と、はっきりとした過蛍光所見を示さない poor demarcated に分類し、これらの病理所見を検討している。それによると、両者の間にはIA所見の違いを引き起こすような特徴的な組織所見はみられなかったと報告している。しかし、今回の我々の検討では本症のIA所見を4型に分類した後、各組織所見を比較した結果、各型に特徴的な所見を認めた。1型は大小様々な血管腔に富むため、造影早期には新生血管網を示唆する明瞭な過蛍光がみられた。また、血管腔周囲に ICG 色素の拡散を妨げる色素上皮細胞の囲い込みが少なく線維成分が少ないため、後期には血管腔から ICG 色素が漏れ、典型的な造影所見を示すと考えた。電子顕微鏡所見では血管内皮細胞の胞体は厚く、ミトコンドリア、粗面小胞体などの細胞内小器官に富み、基底膜が薄い未熟な細胞が血管腔を構成しており、ICG 色素が漏出しやすいことを示していた。また、少数認められた色素上皮細胞間の間隙は離れており、色素漏出をブロックするような結合装置も認められなかった。II型ではI型に比べ血管腔が少なく、新生血管周囲に色素上皮細胞の囲い込みがあり、これらが造影早期の縁取り様の低蛍光部に囲まれた淡い過蛍光を示す原因になったと考えられる。血管腔周囲には色

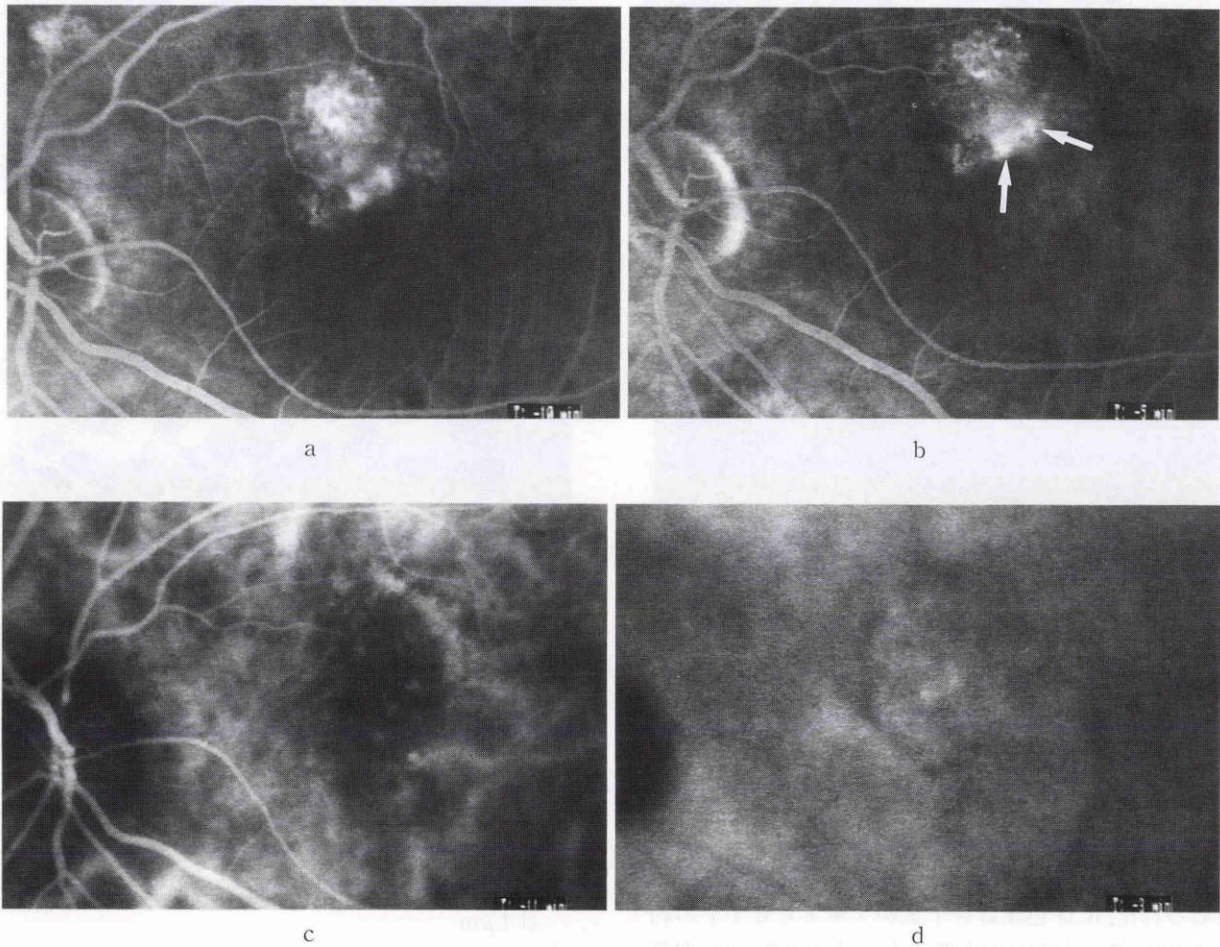


図11 IV型のFAおよびIA所見。

a: FA 造影早期, b: FA 造影後期。新生血管からの色素の漏出を認める(矢印)上方の過蛍光は色素上皮の萎縮部, c: IA 早期に新生血管に一致した部は低蛍光である, d: IA 後期にもほとんど変化が認められない。

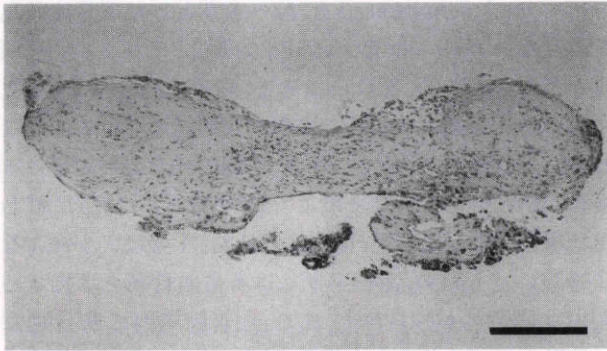


図12 IV型の光学顕微鏡所見(HE染色).
 新生血管膜内の血管腔は少ない.一部に色素保有細胞
 の新生血管膜の囲い込みが認められる.下方が脈絡膜
 側.バーは200 μ m

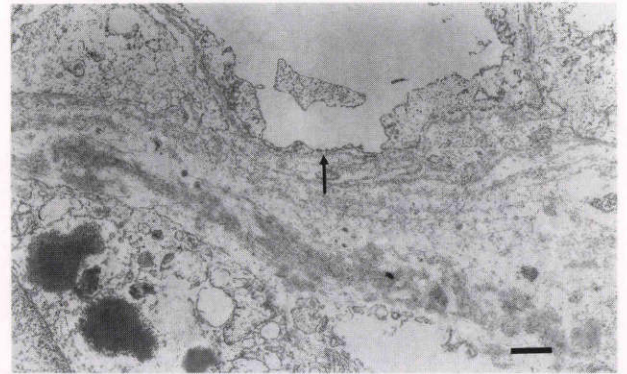


図15 I型の電子顕微鏡所見.
 血管内皮細胞膜に窓構造がみられた(矢印).バーは
 500 nm

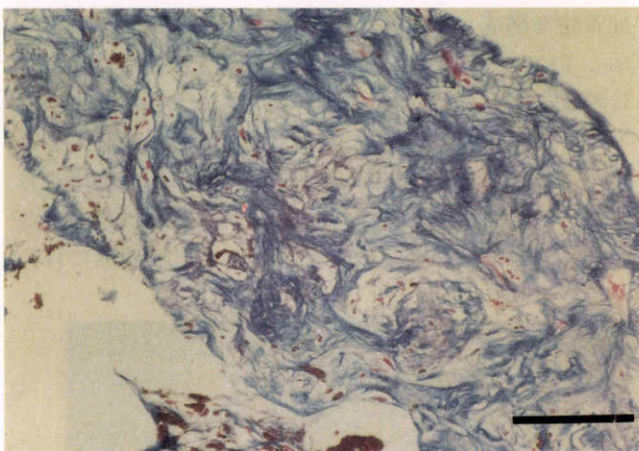
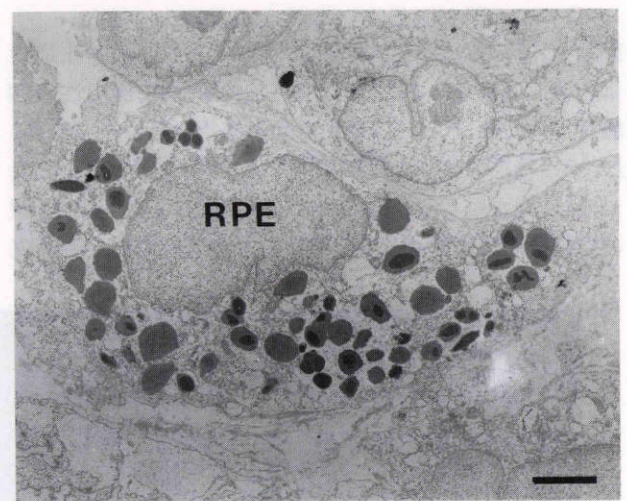
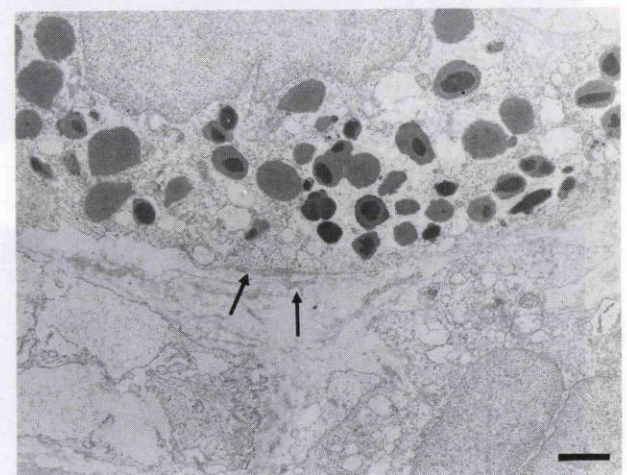


図13 IV型の光学顕微鏡所見(アザン染色).
 多量の線維成分を認めるが,血管腔は少ない.バーは
 100 μ m



a



b

図16 I型の電子顕微鏡所見.
 a: 胞体内にメラニン顆粒を認める.バーは2 μ m.
 b: 網膜色素上皮細胞の基底膜を認める(矢印).バー
 は1 μ m

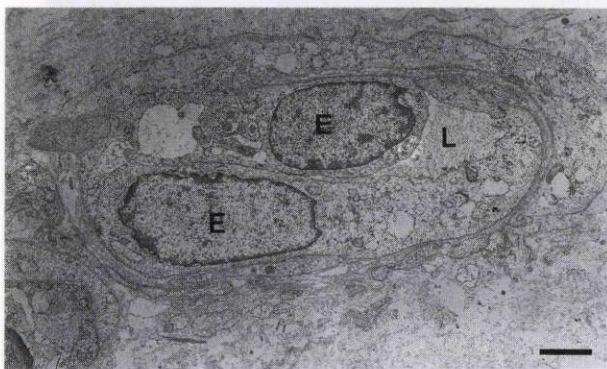


図14 I型の電子顕微鏡所見.
 血管内皮細胞の細胞質は厚く,細胞内小器官に富む.血
 管腔は狭い.バーは2 μ m

素上皮細胞の囲い込みが始まっており,線維成分は多量
 に認められた.ICG色素は分子量がフルオレセインの約
 2倍であり,その大部分が血漿蛋白と結合するため,血管
 腔周囲の色素上皮細胞の囲い込みの部や,多量の線維成
 分の部を拡散しにくく,造影後期には過蛍光を示しにく

いと考えた.III型は血管腔が少ないため,造影早期には
 感度の低い現在の撮影装置ではICG色素を検出できず

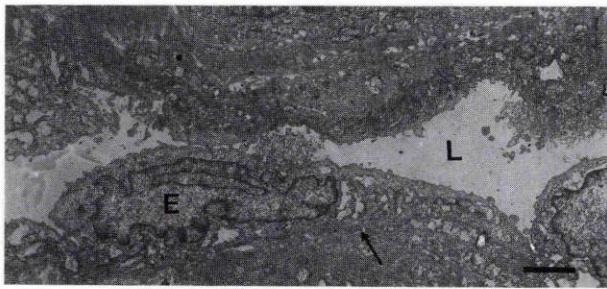


図17 IV型の電子顕微鏡所見。

新生血管腔は広く、血管内皮細胞は比較的成熟している。血管内皮細胞の基底膜を認める(矢印)。バーは2 μm

表2 インドシアニングリーン蛍光造影所見と組織所見の比較

	血管腔	色素上皮細胞の囲い込み	線維成分	新生血管の未熟性
I型	++	-	+	+
II型	++	++	++	/
III型	++	+	+	/
IV型	+	+	++	-

過蛍光部として認められないが、後期には色素上皮細胞の囲い込みや線維成分が比較的少ないため、ICG色素が血管から漏れだし過蛍光部として検出されたと考えた。IV型は血管腔が少なく、色素上皮細胞、血管周囲の線維成分が密で多量であるためブロック効果が起り、造影早期には過蛍光がみられず、後期にもICG色素は周囲組織にほとんど拡散しないため検出されにくく、過蛍光を示さないと考えた。電子顕微鏡所見においては新生血管の管腔は広く、胞体は薄く、比較的成熟した血管がみられた。I型、IV型ともに血管内皮細胞膜には窓構造を認めるものが少数あり、脈絡膜由来の血管が増殖してきたことを示唆していた。

福島ら⁹⁾はサル眼に強光凝固を行い、脈絡膜新生血管を作製し、眼球摘出標本を検討した結果、ICG漏出のみられる新生血管は未熟で、色素上皮細胞による囲い込みがなかったとしている。一方、色素漏出のみられない場合には新生血管は未熟であるものの、重層した色素上皮細胞の囲い込みがあるものと、新生血管が成熟し色素上皮細胞に囲まれているものがあると報告している。今回の検討でも、I型では色素上皮細胞の取り囲みがほとんどみられず、II型、III型、IV型では新生血管膜全体を取り込むものと、血管膜内に侵入し個々の血管を取り囲むものの両方が認められた。このことから、色素上皮細胞の取り囲みは新生血管膜からのICG色素の漏出に関与しているものと考えた。また、I型の脈絡膜新生血管膜は多数ある血管のうち、未熟性があるものが圧倒的に多く認められ、IV型では成熟した血管が認められたものの極く少数で、ICG色素が漏れるためには血管の成熟度と、さらに血管の数が大きく関与すると考えられた。アザン染色

により線維成分を染め出した結果、各型により線維成分の量と密度に差がみられることがわかった。新生血管周囲の線維成分は免疫組織化学的検索によりコラーゲン、フィブロネクチン、ラミニンなどであることが報告^{10)~12)}されている。光学顕微鏡所見ではIV型で線維成分が多くみられ、電子顕微鏡所見では線維成分は血管腔周囲に密に配列していたことから、線維成分はそれ自体ICG色素をブロックする可能性があり、また、新生血管膜から漏出したICG色素の拡散を妨げる可能性があると考えた。そこで、多量の線維成分は新生血管膜の造影像を不明瞭にし、IA所見を修飾する重要な因子の1つになると考えた。以上のことから、脈絡膜新生血管膜のIA所見は血管の数と成熟度、周囲の色素上皮細胞の囲い込み、線維成分の量により異なると考えられた。臨床的には、本症のIA所見の読影には非典型的な所見を呈するII型、III型、IV型の膜に対する十分な注意が必要であると考えた。また、未熟な血管が多く線維成分が少ないI型は活動性が高く、IV型は血管数が少なく線維成分が多いため、膜は退縮傾向にある可能性が考えられた。

本症の術中の色素上皮細胞に対する侵襲は必発とされており、術後の色素上皮細胞、脈絡膜毛細血管板の欠損は蛍光造影検査で描出された新生血管膜の範囲に必ずしも一致せず、それより広範囲であると報告¹³⁾¹⁴⁾されている。また、眼ヒストプラズマ症の手術成績と比べ、本症の術後視力改善度は良好ではない¹⁵⁾。Gassは加齢黄斑変性の新生血管膜は色素上皮下に発育するため、膜の摘出時に色素上皮も同時に除去され、術後視力改善は得られないと報告⁹⁾している。しかし今回、本症の膜摘出後に視力の改善の得られた症例があり、摘出時の色素上皮細胞の侵襲を最小限にとどめることが重要と考えた。今後は摘出標本における色素上皮細胞、脈絡膜毛細血管板の状態と術後の色素上皮細胞、脈絡膜毛細血管板の障害の程度、視力改善度と視野変化の関連などについて比較検討し、本症の手術適応について考えていきたい。

本論文の要旨は第100回日本眼科学会総会において中島が報告した。

文 献

- 1) 川村昭之, 正田美穂, 湯沢美都子, 松井瑞夫: ビデオ赤外蛍光眼底造影法の臨床応用, 老人性円板状黄斑変性症. 臨眼 45: 1355-1359, 1991.
- 2) Regillo CD, Benson WE, Maguire JI, Annesley WH Jr: Indocyanine green angiography and occult choroidal neovascularization. Ophthalmology 101: 280-288, 1994.
- 3) Green WR, Enger C: Age-related macular degeneration histopathologic studies. Ophthalmology 100: 1519-1535, 1993.
- 4) Gass JDM: Biomicroscopic and histopathologic considerations regarding the feasibility of surgical excision of subfoveal neovascular membranes. Am J Ophthalmol 118: 285-298, 1994.

- 5) **Lopez PF, Grossniklaus HE, Lambert HM, Aaberg TM, Capone A Jr, Sternberg P Jr:** Pathologic features of surgically excised subretinal neovascular membranes in age-related macular degeneration. *Am J Ophthalmol* 112: 647-656, 1991.
- 6) **Lambert HM, Capone A Jr, Aaberg TM, Sternberg P Jr, Mandell BA, Lopez PF:** Surgical excision of subfoveal membranes in age-related macular degeneration. *Am J Ophthalmol* 113: 257-262, 1992.
- 7) **Chang TS, Freund KB, De La Cruz Z, Yannuzzi LA, Green WR:** Clinicopathologic correlation of choroidal neovascularization demonstrated by indocyanine green angiography in a patient with retention of good vision for almost four years. *Retina* 14: 114-124, 1994.
- 8) **Lee BL, Lim JI, Grossniklaus HE:** Clinicopathologic features of indocyanine green angiography-imaged, surgically excised choroidal neovascular membranes. *Retina* 16: 64-69, 1996.
- 9) 福島伊知郎, 高橋寛二, 大熊 紘, 松原 孝, 岸本直子, 西村哲哉, 他: インドシアニングリーン蛍光眼底造影による脈絡膜新生血管の色素漏出. *日眼会誌* 99: 878-888, 1995.
- 10) **Reddy VM, Zamora RL, Kaplan HJ:** Distribution of growth factors in subfoveal neovascular membranes in age-related macular degeneration and presumed ocular histoplasmosis syndrome. *Am J Ophthalmol* 120: 291-301, 1995.
- 11) **Das A, Puklin JE, Frank RN, Zhang NL:** Ultrastructural immunocytochemistry of subretinal neovascular membranes in age-related macular degeneration. *Ophthalmology* 99: 1368-1376, 1992.
- 12) **Grossniklaus HE, Martinez JA, Brown V, Lambert HM, Sternberg P Jr, Capone A Jr, et al:** Immunohistochemical and histochemical properties of surgically excised subretinal neovascular membranes in age-related macular degeneration. *Am J Ophthalmol* 114: 464-472, 1992.
- 13) **Hsu JK, Thomas MA, Ibanez H, Green WR:** Clinicopathologic studies of an eye after submacular membranectomy for choroidal neovascularization. *Retina* 15: 43-52, 1995.
- 14) **Bynoe LA, Chang TS, Funata M, Del Priore LV, Kaplan HJ, Green WR:** Histopathologic examination of vascular patterns in subfoveal neovascular membranes. *Ophthalmology* 101: 1112-1117, 1994.
- 15) **Berger AS, Kaplan HJ:** Clinical experience with the surgical removal of subfoveal neovascular membranes. *Ophthalmology* 99: 969-976, 1992.