

青色光による網膜障害と眼底の冷却効果

森 圭介¹⁾, 米谷 新¹⁾, 林 直樹²⁾, 阿部 友厚¹⁾¹⁾埼玉医科大学眼科学教室, ²⁾群馬大学医学部眼科学教室

要 約

青色光での網膜障害における, 眼底局所の温度変化の役割について検討した. 実験動物として有色家兎 42 眼を用いた. 眼球後方にドライアイスで冷却した銅板の先端を挿入し, 眼底局所の温度を約 30°C および 33°C に下げ, 等量の光照射による障害の発生頻度を非冷却群と比較検討した. 非冷却群では, 角膜面上の照射強度が 8 mW/cm² の青色光の 1 時間照射により 10 眼中 9 眼に網膜障害が観察された. 一方, 30°C 冷却群では, 10 眼中 3 眼と統計学的に有意に減少し ($p < 0.05$), その障害の程度も非

冷却群に比べ減弱していた. 33°C 冷却群では, 網膜障害は 5 眼中 5 眼に起こり, 非冷却群との有意差はなかった. 冷却操作のみの群では, 検眼鏡, 蛍光眼底, および組織学的に異常所見はなかった. 以上の結果から, 障害閾値レベルでの網膜光障害を防御し得る眼底局所の温度は, 約 30 ~ 33°C までであることが結論された. (日眼会誌 101: 633-638, 1997)

キーワード: 網膜光障害, 青色光, 低温, 有色家兎

Fundus Hypothermia Inhibits Retinal Damage Induced by Visible Blue Light

Keisuke Mori¹⁾, Shin Yoneya¹⁾, Naoki Hayashi²⁾ and Tomoatsu Abe¹⁾¹⁾Department of Ophthalmology, Saitama Medical School²⁾Department of Ophthalmology, Gunma University School of Medicine

Abstract

We evaluated the role of fundus hypothermia in modifying photic retinopathy. The fundus was cooled with a copper plate inserted behind the eyeball. The anterior end of the plate was chilled with dry ice. Retinal temperature was thus reduced to 30 and 33°C. This cooling manipulation had no effect on body temperature, retinochoroidal architecture, or choroidal circulation. The fundus was then exposed to visible blue light at an irradiance of 8 mW/cm² for one hour. Retinal damage developed in 9 out of 10 eyes after the exposure alone, and in 3 out of 10 eyes when retinal temperature was reduced to 30°C. The incidence of light damage with the cooling manipulation was decreased significantly when

compared to that of controls ($p < 0.05$). Contrary to this, 5 out of 5 retinas treated with hypothermia at 33°C showed damage and there was no significant difference in the incidence from that of controls. This finding indicates that local hypothermia at 30°C protects the retina from light damage and that a subtle temperature milieu plays a role in producing retinal damage. (J Jpn Ophthalmol Soc 101: 633-638, 1997)

Key words: Retinal light damage, Visible blue light, Hypothermia, Pigmented rabbits

I 緒 言

網膜の光による障害の機序のうち, 紫外光, 青色光などの短波長光による光化学作用¹⁾⁻³⁾は, 手術顕微鏡の照明光による網膜障害の原因⁴⁾⁵⁾や加齢性黄斑変性の病因⁶⁾の

一つとして注目され, 近年盛んに研究されている. 一方, レーザー光凝固を代表とする熱作用による障害は, 手術顕微鏡の照明光のような比較的微量な光によっても起こり得ること⁵⁾⁷⁾, また, この熱作用による眼底の微妙な温度変化が間接的に短波長光による網膜障害に影響を与え

別刷請求先: 350-04 埼玉県入間郡毛呂山町毛呂本郷 38 埼玉医科大学眼科学教室 森 圭介

(平成9年1月31日受付, 平成9年3月28日改訂受理)

Reprint requests to: Keisuke Mori, M.D. Department of Ophthalmology, Saitama Medical School, 38 Morohongo, Moroyama-machi, Iruma-gun, Saitama-ken 350-04, Japan

(Received January 31, 1997 and accepted in revised form March 28, 1997)

る可能性を、我々は既報⁵⁾において指摘した。

今回我々は、短波長光による網膜障害と眼底の温度との関係を知るために、眼内に侵襲を加えず、眼球外側から網膜局所を冷却する方法を開発した。この方法を用いて障害閾値レベルの青色光を照射することで光照射に伴う熱作用の関与を最小限とし、健常網膜に対する光照射による網膜障害を純粹に評価することが可能である。その上で、この方法を用いて網膜局所の温度低下と網膜光障害の関係について検索し、障害を防御し得る温度について検討したので、以下に報告する。

II 実験方法

実験動物として、体重2.5~3.0 kgの成熟有色家兔眼を計41匹42眼を用いた。飼料は標準飼料(RC4[®], オリエンタル酵母)で、昼間のみ室内照明下(約50 lux)で飼育した。臨床的な障害閾値を求めるため、対照として光照射のみを行った群(以下、非冷却群とする)に家兔24眼を用いた。光照射方法は既報⁵⁾に準じた。以下にその大略を記す。手術顕微鏡(OPMI 99[®], カール・ツァイス)を光源とし、ブロードバンド・フィルター(460 B[®], オリンパス)を用い、460 nmにピークをもつ青色光で眼底後極部を60分間照射した。照射エネルギーはパワー・メーター(Model-200/10[®], コヒレント)で計測し、角膜面上でそれぞれ4, 6, 8, 16 mW/cm²に設定した。照射直後および2日後と7日後に、検眼鏡および蛍光眼底造影で臨床的な障害の有無を判定した。また、照射部網膜の温度を測るため、家兔3眼の毛様体扁平部から経強膜的に温度センサー(サーミスター温度計MGAIII-219 N[®], 東芝)を挿入し、照射前と照射終了時の網膜の温度差を求めた。

光照射部位を網膜外側から冷却する実験群(冷却群)では下方の結膜を切開し、幅5 mmの銅板を眼球後方に挿入した。この時、挿入した銅板で眼底を圧迫し、照射予定部位まで十分達しているかを確認した。この銅板の他端は8×6 cmのプレート状にし、その全面に固体二酸化炭素(ドライアイス[®])を載せ、家兔10眼の眼底局所を冷却した。また、家兔5眼について同じプレートの遠位端半面にドライアイス[®]を載せ、同様に眼底を冷却した(図1)。これらの冷却群では冷却開始15分後に角膜面上での照射エネルギーが8 mW/cm²となる青色光を、非冷却群と同様に60分間照射した。そして、非冷却群と同様に照射後の観察と網膜障害の有無を判定した。

これらの冷却操作による眼球局所および全身に対する影響を知るために、冷却前、冷却後15, 30, 60分に眼球各部位の温度を、また、冷却前、冷却後10分おきに直腸温を温度センサー(サーミスター温度計MGAIII-219 N[®], 東芝)を用いて測定した。また、銅板が接している部位で、非照射部の眼底後極部を照射直後にトランプの固定液で前固定した後、1%オスミウム酸磷酸緩衝液で本固定を行った。エタノール系列で脱水後、アラルダイト・エポン

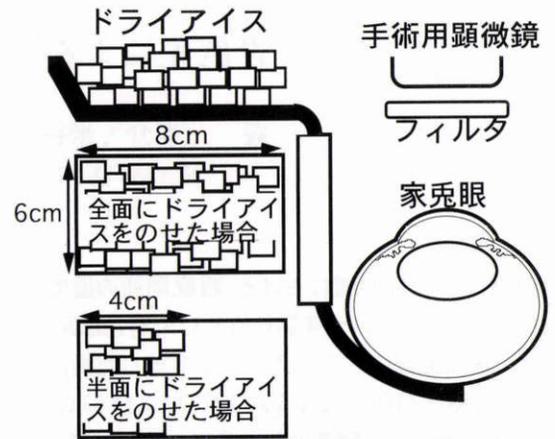


図1 眼底局所の冷却法。

眼球下方の結膜を切開後、幅5 mm、長さ25 mmの銅板を眼球後方に挿入し、その他端は8×6 cmのプレート状にした。個体二酸化炭素(ドライアイス[®])の置き方は二通りとし、一つは全面に載せたもの、もう一つは遠位端半面に載せたものとした。

表1 対照群での各照射強度での網膜障害の発生頻度

照射強度 (mW/cm ²)	網膜絡膜での理論吸収光量* (W/cm ²)	障害発生頻度
16	0.77	4/4眼(100%)
8	0.53	9/10眼(90%)
6	0.45	2/5眼(40%)
4	0.38	1/5眼(20%)

*: 既報⁵⁾での理論式による

に包埋し、組織学的に検索した。また、銅板による眼底への圧迫や、それに伴う血流障害などの合併症の有無を検索するため、冷却操作中の家兔眼底を検眼鏡および蛍光眼底造影で観察した。

すべての家兔は、The ARVO Resolution on the Use of Animals in Researchに従って取り扱った。塩酸ケタミン(ケタラルール50[®])とキシラジン塩酸塩(セラクター[®])7:1混合液の筋注による全身麻酔下で実験を行った。全例、ミドリン[®]P(参天製薬)で十分散瞳し、照射中の瞳孔径は約11 mmであった。

III 実験結果

非冷却群(対照群)における検眼鏡および蛍光眼底造影検査による網膜障害の発生率は、16 mW/cm²照射群で4眼中4眼、8 mW/cm²照射群で10眼中9眼、6 mW/cm²照射群で5眼中2眼、4 mW/cm²照射群で5眼中1眼であった(表1)。この結果から、8 mW/cm²を障害閾値の近似値とし、この照射強度の光を冷却群の眼底に照射した。

冷却群のうち、銅板全面にドライアイス[®]を載せた群では、後極部網膜の温度は冷却前、平均37.6°Cであったが、冷却開始15分以降30°Cに低下し安定した(以下、この群を30°C冷却群とする)。一方、銅板半面にドライアイス[®]を載せた群では、冷却開始15分以降、網膜の温度は

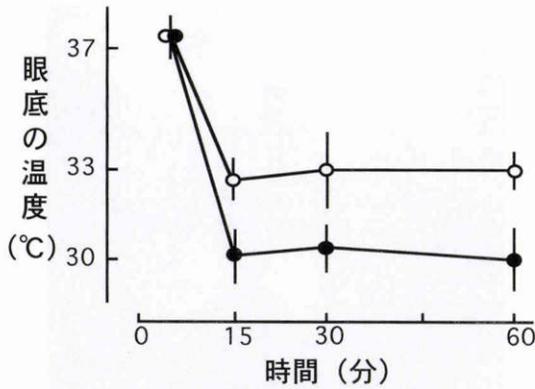


図2 冷却群の眼底の温度変化。

●：ドライアイス®を銅板全面に載せたもの(30°C冷却群). ○：ドライアイス®を銅板の遠位端半面に載せたもの(33°C冷却群). バーは標準偏差

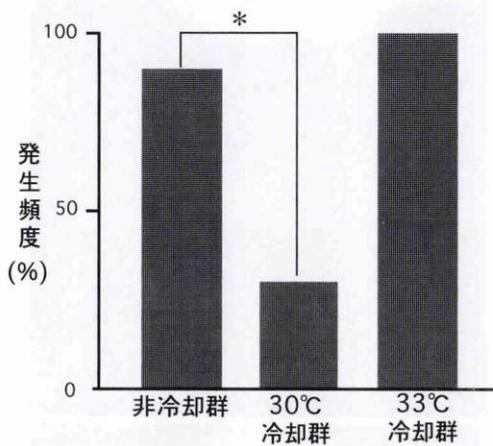


図3 各群の障害発生頻度。

* : p<0.05.

約33°Cとなった(以下、この群を33°C冷却群とする、図2)。これらの冷却群で8 mW/cm²の青色光照射後では、30°C冷却群で10眼中3眼に、33°C冷却群で5眼中5眼に検眼鏡および蛍光眼底造影で網膜障害が観察された。これら非冷却群、30°C冷却群、33°C冷却群の3群において、同じ8 mW/cm²の光を照射した場合の障害発生頻度の差を2×2分割表によるχ²検定を用い検索した。その結果、30°C冷却群では非冷却群に比べ、障害の発生頻度は有意に低下していた(p<0.05)。一方、33°C冷却群と非冷却群の障害発生頻度には有意差はなかった(図3)。

次に、8 mW/cm²の青色光を照射した非冷却群と、冷却群でも障害の発生した例の検眼鏡ならびに蛍光眼底造影所見を比較検討した。非冷却群においては、検眼鏡による観察では照射直後には無反応であり、蛍光眼底造影でも異常所見はなかった。照射2日後には照射部位に一致して網膜の白濁が検眼鏡で観察され、蛍光造影でも境界が比較的鮮明な蛍光染があった(図4A)。一方、30°C冷却群の照射2日後の障害部位は、程度・範囲とも非冷却群に比べ減弱していた(図4B)。また、33°C冷却群での照射2日

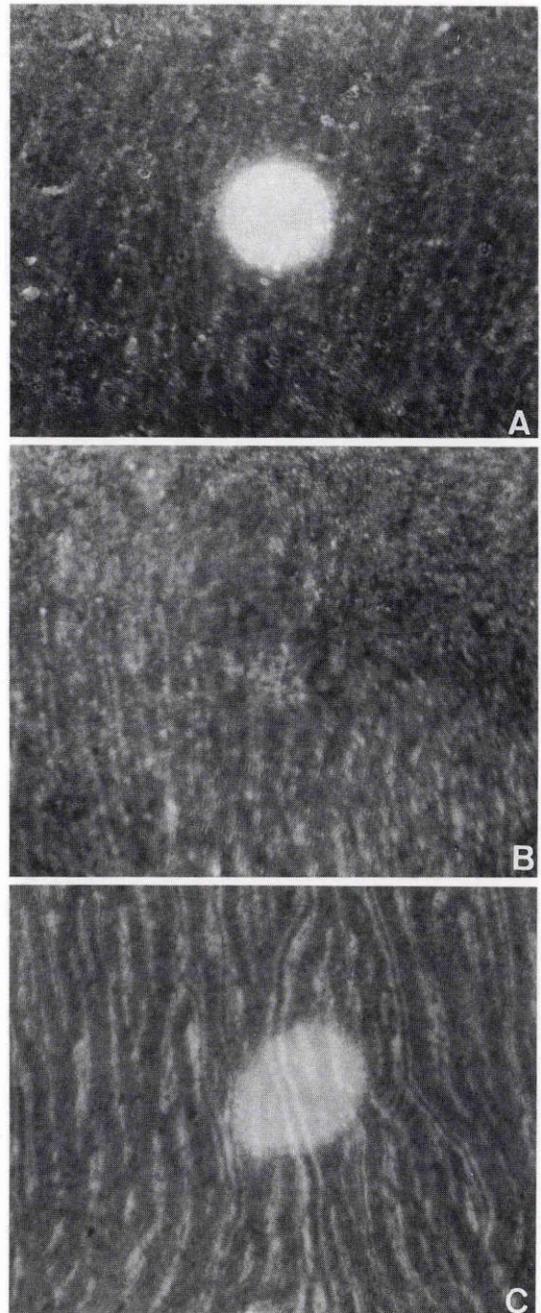


図4 各群の照射2日後の蛍光眼底。

非冷却群で照射部位に一致して境界が比較的鮮明な蛍光染があった(A)。一方、30°C冷却群でみられた障害部位は、程度・範囲とも非冷却群に比べ減弱していた(B)。また、33°C冷却群は非冷却群に類似していた(C)。

後の所見は非冷却群に類似していた(図4C)。この傾向は、障害の観察された17眼全例に観察された。

実験経過中の直腸温は、30°C冷却群、非冷却群ともに照射開始後60分間で約1°C低下した。これら2群の各時間の直腸温の差異をWilcoxonのU検定を用いて統計学的に検索した。その結果、30°C冷却群と非冷却群との間で、直腸温には有意差はなかった(図5)。また、検眼鏡および蛍光眼底造影所見では、眼底への銅板による圧迫や脈絡膜の血流障害などの合併症は観察されなかった。こ

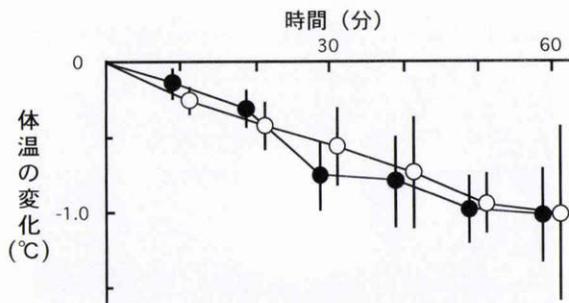


図5 実験中の直腸温の変化.

非冷却群, 30°C冷却群の2群間で体温の変化には有意差はなかった. ○: 非冷却群, ●: 30°C冷却群. パーは標準偏差

れとともに, 冷却操作直後の眼底後極部の光学顕微鏡での検索では, 網脈絡膜に異常所見はなかった(図6).

非冷却条件での, 青色光 8 mW/cm^2 の60分間照射による網膜局所の温度変化を有色家兎3眼を用いて測定した結果では, 照射前に比較し, 照射終了時の温度は $0.2 \pm 0.3^\circ\text{C}$ (平均値 \pm 標準偏差) 高かった.

IV 考 按

今回の検索により, 眼底局所の温度が $37.5 \sim 30^\circ\text{C}$ に低下すると, 障害閾値レベルの青色光による網膜障害が減弱することが明らかとなった. 一方, この冷却による防御効果は, 33°C では得られなかった. 以上の結果から, 障害閾値レベルでの網膜光障害を防御し得る眼底局所の温度限界は約 $30 \sim 33^\circ\text{C}$ までであると考えられた. また, 冷却操作による温度変化は眼底局所に限られており, 体温への影響はなかった. これに加え, 外科的操作は結膜切開のみとしているため, 眼球に対する侵襲は少なかったと考えられる. 事実, 冷却部位での網脈絡膜の形態変化や血流障害などの異常所見は観察されず, 本実験の冷却操作による影響は, 純粹に眼底局所の温度低下のみに限られたと考えられる.

今回比較検討に用いた光は障害閾値レベルの微量な青色光であり, その照射強度は角膜面上で 8 mW/cm^2 , 網脈絡膜での吸収光量は既報の計算式⁵⁾から 0.53 W/cm^2 と算出された. 理論上, この光量では熱による網膜変性は起こり得ない³⁾. 事実, 今回の照射部位の温度上昇は平均 0.2°C であり, 実験中の麻酔による体温の変化が約 1°C あったことと考え合わせると, この温度上昇は誤差範囲内であるといえよう. したがって, この光量での網膜障害は熱変性ではなく, いわゆる光化学作用による網膜障害であると推定された. また, 今回のように, 眼底局所の微妙な温度変化と光障害との関係を知るには適切な光量であったと考えられた.

光化学作用による網膜障害と温度の関係のうち, 体温に関しては, すでにいくつかの報告がなされている. Noellら⁸⁾はラットを用いた実験で, 光照射中の体温上昇

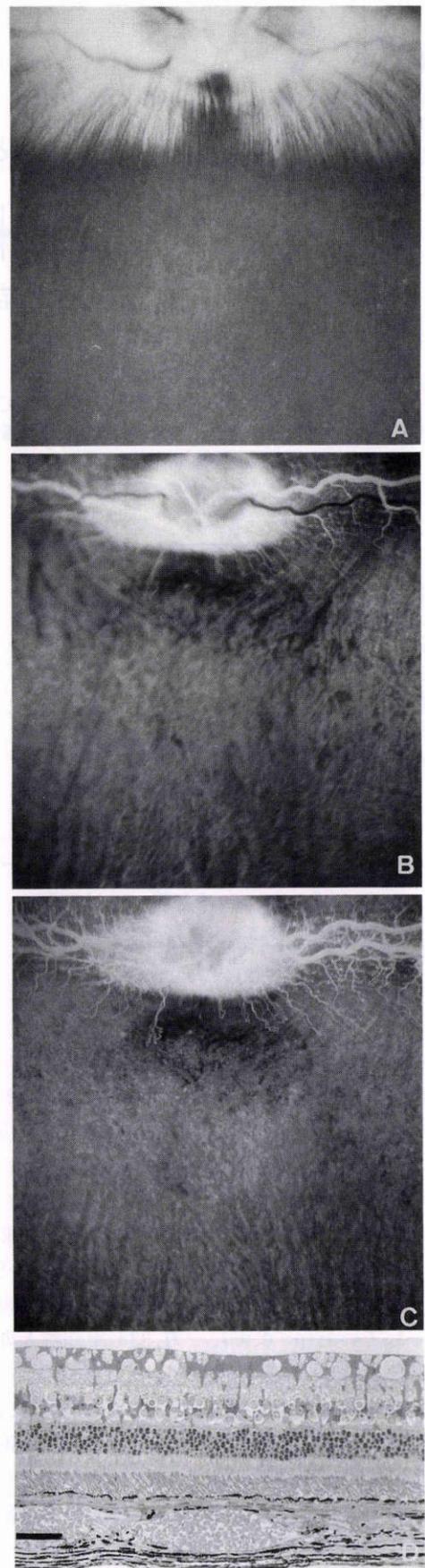


図6 冷却操作の網脈絡膜への影響.

A: 眼底写真, B: 蛍光眼底造影・静注後7秒, C: 14秒. 銅板の挿入による眼底の圧迫像や脈絡膜の循環障害はない. D: 冷却部位の光学顕微鏡所見. 網脈絡膜に異常所見はない. パーは $50 \mu\text{m}$

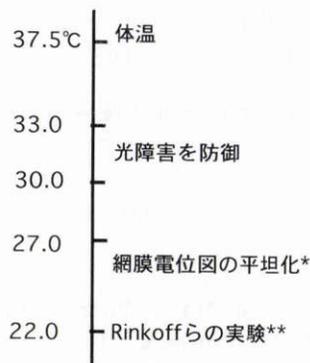


図7 光障害への防御効果および網膜電位図と温度との関係。

*：文献14)～16)から引用，**：文献13)から引用。

により網膜障害が起りやすくなるとした。また、Friedmanら⁹⁾はカニクイザルの体温を35～40°Cに上昇させることにより、光障害が生じやすくなることを明らかにした。Lintら¹⁰⁾はこれらの結果に基づき、体温と障害閾値との関係は光量を対数にとった対数回帰直線で相関するとしている。この一方で、近年、代謝上のストレスに対して産生される防御因子としてheat shock proteinが注目されている¹¹⁾。光照射前に体温の上昇があると、このheat shock proteinが産生され、光による視細胞の障害が減弱するとの報告¹²⁾もなされている。本実験では、冷却群と非冷却群とで体温の変化に差異はなく、実験結果に体温、延いては体温の変化に伴うheat shock proteinによる影響はなかったと考えられる。

眼内の温度変化については、Rinkoffら¹³⁾により報告がなされている。Rinkoffらは家兎眼に硝子体手術をし、室温の灌流液で眼内の温度を22°Cに低下させることにより、白色光での網膜の障害が起りにくくなるとした。一方、眼内の温度が低くなるほど、網膜の生理的活動は阻害されることが報告されている。すなわち、網膜の温度が30°C程度までは網膜電位図は比較的よく保たれているが、25～27°C以下になると平坦化するとされている^{14)～16)}。したがって、Rinkoffらの実験では網膜の生理的視活動が停止し、過剰な光による刺激を受けにくくなっていったと考えられる。これらの温度の関係をまとめると、図7のようになる。本実験では、照射部位の温度は30°Cと33°Cであり、この温度では網膜電位図は比較的保たれている。したがって、本実験での低温による阻害機序は単純な視活動の停止ではなく、何らかの代謝の低下によるものと推定される。

この代謝の低下の機序を推察する上で、他の分野における温度変化の影響が参考となる。虚血による低酸素状態では、低温下で各組織の障害を阻止できるとされており、心臓外科、および脳外科領域では、すでに手術中の温度管理は臨床に応用されている¹⁷⁾。網膜の虚血・再灌流に関しても、我々は既報において29°Cの低温で障害を回避

できることを明らかにした¹⁸⁾。また、その機序としてはadenosine triphosphate(ATP)の代謝の抑制、神経伝達物質の放出の低下などが関与していると推定されている^{18)～20)}。障害を回避し得る温度が近似していることは、本実験での阻害機序が虚血と同様にATPの代謝の抑制などである可能性を示唆する。この一方で、光障害の発生機序においては、フリーラジカル説が有力視されている⁶⁾。この説に従えば、今回の結果はフリーラジカルの発生、もしくはそれによる組織の障害が30°C程度の低温で減弱する可能性を示す。いずれにしろ、現時点では推測でしかないが、これら網膜障害に関する代謝の阻害される限界温度は30°C前後であると推定される。

本論文の要旨は、第95回日本眼科学会総会および、1991年 Association for Research in Vision and Ophthalmologyで報告した。

文 献

- 1) Ham WT, Muller HA, Sinley DH: Retinal sensitivity to damage from short wavelength light. *Nature* 260: 153—155, 1976.
- 2) 森 圭介: 光毒性. 田野保雄(編): *Practical Ophthalmology 13 黄斑部疾患の診療指針*. 文光堂, 東京, 216—217, 1994.
- 3) Ham WT Jr, Muller HA, Ruffolo JJ Jr, Clarke AM: Sensitivity of the retina to radiation damage as a function of wavelength. *Photochem Photobiol* 29: 735—744, 1978.
- 4) Mainster MA, Ham WT, Deroli FC: Potential retinal hazards: Instrument and environmental light sources. *Ophthalmology* 90: 927—932, 1983.
- 5) 森 圭介, 米谷 新, 飯田知弘, 林 直樹, 阿部友厚: 手術顕微鏡の短波長光と長波長光による網膜障害. *日眼会誌* 96: 1112—1119, 1992.
- 6) Mainster MA: Photic retinal injury. In: Ryan SJ (Ed): *Retina vol 2*. CV Mosby, St Louis, 749—757, 1989.
- 7) Michels M, Dawson WW, Feldman RB, Jarolem K: Infrared: An unseen and unnecessary hazard in ophthalmic devices. *Ophthalmology* 94: 143—148, 1987.
- 8) Noell WK, Walker VS, Kang BS, Berman S: Retinal damage by light in rats. *Invest Ophthalmol* 5: 450—473, 1966.
- 9) Friedman E, Kuwabara T: The retinal pigment epithelium IV. The damaging effects of radiant energy. *Arch Ophthalmol* 80: 265—280, 1968.
- 10) Lint PJ, Norren D, Toebosch AMW: Effect of body temperature on threshold for retinal light damage. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 33: 2382—2387, 1992.
- 11) Craig EA: The heat shock response. *CRC Critical Rev Biochem* 18: 239—280, 1985.
- 12) Tytell M, Barbe MF, Gower DJ: Photoreceptor protection from light damage by hyperthermia. In: Lavail MM, et al (Eds): *Inherited and Environmentally Induced Retinal Degenerations*. Alan R

- Liss, New York, 523—538, 1989.
- 13) **Rinkoff J, Macherer R, Hida T, Chandler D**: Temperature-dependent light damage to the retina. *Am J Ophthalmol* 102: 452—462, 1986.
 - 14) **Wolin LR, Massoport LC**: Selective cooling of the eye. Effects on evoked potentials of the visual system. *Arch Ophthalmol* 76: 723, 1966.
 - 15) **Tazawa Y, Seaman AJ**: The electroretinogram of the living extracorporeal bovine eye. The influence of anoxia and hypothermia. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 11: 691—698, 1972.
 - 16) **森田嘉樹**: 摘出家兎網膜 ERG に対する温度およびアスパラギン酸ナトリウムの影響. *日眼会誌* 75: 1071—1075, 1971.
 - 17) **Popovic V, Popovic P**: Hypothermia in Biology and in Medicine. Grune and Stratton, New York, 212—217, 1974.
 - 18) **森 圭介, 林 直樹, 阿部友厚, 米谷 新**: 網膜外層の虚血への局所低温による防御効果. *日眼会誌* 99: 1005—1011, 1995.
 - 19) **Mickenfelder JD, Theye RA**: Hypothermia. Effect on canine brain and whole-body metabolism. *Anesthesiology* 27: 1107, 1968.
 - 20) **Busto R, Globus MY-T, Dietrich WD, Martinez E, Valdes I, Ginsberg MD**: Effect of mild hypothermia on ischemia-induced release of neurotransmitters and free fatty acids in rat brain. *Stroke* 20: 904—910, 1989.
-