# 摘出脈絡膜新生血管の病理組織とインドシアニングリーン 螢光眼底造影所見の相関

## 石川 克也", 魵沢 伸介", 鎌田 孝一", 米谷 新"

"埼玉医科大学眼科学教室,"埼玉医科大学第2病理学教室

約

要 加齢性黄斑変性による脈絡膜新生血管8例に対して 摘出術を行い,術前に実施したインドシアニングリーン (ICG)螢光眼底造影所見と摘出脈絡膜新生血管膜の病理 組織所見を比較検討した.ICG 螢光眼底造影で初期から 過螢光として示された部位は組織学的には色素上皮の囲 い込みがなく,大きい管腔を有する血管が多数観察され, 造影後期のみで過螢光を示す部位では血管腔は比較的小 型で,血管周囲の線維化が進行していた.一方,低螢光部 では血管成分に乏しく,線維形成が一層進行しており,し かも色素上皮による囲い込みがみられた.また,増殖期の

新生血管内皮細胞は,ICG 螢光眼底造影で顕著な色素漏 出を示さない部位や低螢光部に相当する部位においても 多数観察された.以上の事実は,ICG 螢光眼底造影の読 影上基礎を成す知見であり,光凝固適応の決定,凝固方法 など,新生血管に対する治療を計画する上で重要である. (日眼会誌 102:179—188,1998)

キーワード:加齢性黄斑変性,摘出脈絡膜新生血管膜,イ ンドシアニングリーン螢光眼底造影,病理 組織, Ki - 67 抗原

Correlation of Pathological Features of Surgically Excised Choroidal Neovascular Membranes with Age-related Macular Degeneration and Indocyanine Green Videoangiographic Findings

Katsuya Ishikawa<sup>1)</sup>, Nobusuke Ebisawa<sup>1)</sup>, Kouichi Kamada<sup>2)</sup> and Shin Yoneya<sup>1)</sup>

<sup>11</sup>Department of Ophthalmology, Saitama Medical School <sup>21</sup>Second Department of Pathology, Saitama Medical School

#### Abstract

We surgically excised subfoveal neovascular membranes from eight patients with age-related macular degeneration. The correlation of the histopathological features of choroidal neovascularization and preoperative indocyanine green (ICG) videoangiographic findings were studied. Neovascular membranes which demonstrated hyperfluorescence at an early phase of ICG videoangiography had many vascular channels and a large lumen without enclosure of retinal pigment epithelium (RPE). Fibrovascular tissues contained small vessels with fibrotic stroma that showed hyperfluorescence only at a late phase of ICG videoangiography. In contrast, the membrane which showed hypofluorescence of ICG videoangiography was composed of paucivascular fibrotic tissue covered extensively with RPE. Moerover, newly formed vessels with proliferative endothelium could be observed in the neovascular membranes that showed weak fluorescence or hypofluorescence. These results could provide a morphological basis for the interpretation of ICG videoangiographic features of choroidal neovascularization. It also may be useful in planning the treatment for subfoveal neovascular membranes. (J Jpn Ophthalmol Soc 102: 179–188, 1998)

Key words: Age-related macular degeneration, Excised subfoveal neovascular membrane, Indocyanine green angiography, Histopathology, Ki - 67 antigen

I 緒 言

インドシアニングリーン(indocyanine green, ICG) 螢 光眼底造影はフルオレセイン螢光眼底造影(fluorescein angiography, FAG)により検出できない脈絡膜新生血 管,特に加齢性黄斑変性にみられる occult vesselの診断 に有用な検査法であることが示されている<sup>11-51</sup>.さらに, ICG 螢光眼底造影を臨床導入することにより,脈絡膜新

別刷請求先:350-0495 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 石川 克也 (平成9年7月25日受付,平成9年11月4日改訂受理)

Reprint requests to: Katsuya Ishikawa, M.D. Department of Ophthalmology, Saitama Medical School. 38 Morohongo, Moroyama-cho Iruma-gun, Saitama-ken 350-0495, Japan

(Received July 25, 1997 and accepted in revised form November 4, 1997)

生血管に対するレーザー光凝固の治療成績の向上が報告<sup>D-33</sup>されている.しかし,ICG 螢光眼底造影によりすべての脈絡膜新生血管が必ずしも検出できるわけではないことも,最近の臨床報告<sup>455</sup>や実験的新生血管モデルを用いた病理組織学的検索から指摘されている<sup>69</sup>.

近年,加齢性黄斑変性による中心窩下新生血管に対し て外科的摘出術が行われるようになり,摘出脈絡膜新生 血管(新生血管膜)の病理組織学的検索が報告<sup>77~137</sup>されて いる.これまで著者らは,摘出新生血管標本の大きさを術 前に実施した ICG 螢光眼底造影所見と直接比較し,新生 血管膜は ICG 螢光眼底造影でみられた過螢光部より実 際には広範囲に存在していることを明らかにしてき た<sup>147</sup>.そこで今回,新生血管膜の病理組織学的所見を ICG 螢光眼底造影所見と比較検討し,さらに免疫組織学的検 索を行った結果,脈絡膜新生血管における ICG 螢光眼底 造影読影上,興味ある新知見を得たので報告する.

### Ⅱ 対象と方法

#### 1. 対 象

対象は,1994年10月から1996年4月に当科におい て,加齢性黄斑変性による脈絡膜新生血管摘出術を実施 した8例8眼(男性4名,女性4名,年齢73~88歳,平均 80歳)であり,いずれも中心窩下に及ぶ1乳頭径大以上 の新生血管膜を有し,組織を一塊として摘出できた症例 とした.このうち,2眼はレーザー光凝固が無効であり,6 眼は中心窩下の脈絡膜新生血管であり、しかも、栄養血管 が ICG 螢光眼底造影により特定できず、光凝固治療は困 難と判断した症例である、全症例において、患者との十分 なインフォームド・コンセントを得た後に手術を実施し た.

手術方法は,通常の 3-port pars plana vitrectomy を行 い,不完全後部硝子体剝離のある症例に対しては,人工的 後部硝子体剝離を作製し硝子体切除を行った.意図的網 膜裂孔は,術前の ICG 螢光眼底造影所見から得られた脈 絡膜新生血管の範囲を参考にし,高圧灌流下で眼内ジア テルミーを行わずに作製した.眼内灌流液(BSS plus<sup>®</sup>)を 裂孔部から注入,新生血管膜を注水分離した後,さらに硝 子体スパーテルを用いて感覚網膜および色素上皮から剝 離した.新生血管膜が周囲組織と癒着がないことを確認 し,垂直鉗子(Grieshaber 社)を用いて裂孔部から摘出し た.摘出後,意図的裂孔の周囲は眼内光凝固による閉鎖は 行わず,30% SF<sub>6</sub> ガス置換のみで手術を終了した.

2. 摘出新生血管膜と ICG 螢光眼底造影とのマッピン グ

新生血管膜を摘出部に相当する網膜面上に置き,手術 用顕微鏡下で確認し,ビデオに記録した.次に手術ビデオ 録画写真,術前カラー眼底写真および術前 ICG 螢光眼底 造影写真を視神経乳頭径を指標として等サイズに拡大 し,コンピューター画面上において直接重ね合わせた.以 上の手順はすでに別報<sup>10</sup>で述べた通りである.組織切片

-	
_	1
T	

症例	年齢	性	術前視力	術後視力	Classification *	術前光凝固
1	79	女	0.06	0.02	Vascularized PED	有
2	73	女	0.02	0.06	Classic CNV	無
3	88	男	0.03	0.06	Classic CNV	有
4	77	男	0.02	0.01	Classic CNV	無
5	79	女	0.03	0.06	Classic CNV	無
6	82	男	0.1	0.1	Classic CNV	無
7	80	男	0.04	0.03	Classic CNV	無
8	76	女	0.2	0.03	Classic CNV	無

\*: 文献 1), 15) に基づいて分類した.

PED : pigment epithelial detachment CNV : choroidal neovascularization

表 2

症例	ICG 初期	ICG 後期	長期(乳頭径)	血管腔*	線維形成§	色素上皮‡	Ki-67 💥
1	過螢光	過螢光	4.2	#	++	+	#
2	過螢光	過螢光	1.1	-##-	++	-	_
3	同輝度	過螢光	1.3	#	-##-	+	+
4	同輝度	過螢光/同輝度	1.2	++	+	++	-
5	同輝度	過螢光/同輝度	3.6	-##-	++-	-#+-	+
6	同輝度	過螢光/同輝度	2.5	#	-+++-	-+++-	_
7	同輝度	同輝度/低螢光	2.9	+		-##-	-
8	同輝度	同輝度/低螢光	2.2	-	-##-	+	-

ICG: indocyanine green, \*: 血管分布; + 孤立性, ++ 散在性, ++ 集簇性 §: 面積率; + <40%, ++40 --70%, ++ >70%, ‡: 囲い込み率; + <1/3, ++1/3-2/3, ++>2/3 ※: 陽性細胞数/200倍; + <5, +5-10, ++>10 の作製に当たっては,新生血管膜の位置関係を ICG 螢光 眼底造影写真に直接マッピングした後に,組織切片の割 面方向を決定した.なお,ICG 螢光眼底造影撮影は術前 1 週間以内に実施した.方法はジアグノグリーン<sup>®</sup>50 mg(2 ml 注射用蒸留水に溶解)を手背静脈から一気に静注し, 励起光源に 790 nm の半導体レーザーを装着した改良型 TRC-50 IA ビデオ装置(Topcon 社)を用いて色素静注後 30 分以降まで撮影した.

#### 3. 組織学的検討

### 1) 光学顕微鏡

新生血管膜は上述のマッピング写真を基に割面方向を 決定し,二片に分割した.直ちに10%中性緩衝ホルマリ ン固定後,パラフィン包埋し,4µmの厚さで連続切片を 作製した.ヘマトキシリン・エオジン(HE)染色を行い, 光学顕微鏡で観察し,割面方向における新生血管膜の血 管腔の分布,線維形成の程度,色素上皮の囲い込みなどに つき検索し,術前のICG 螢光眼底造影所見と比較検討を 行った.方法は,光学顕微鏡 20 倍で観察し,血管の分布が 孤立性にみられたものを+,散在性を++,集簇性を+++ とした.線維形成の程度は新生血管膜の線維成分の占め る面積率が 40%未満であるものを+,40~70%を++, 71%以上を+++とした.また,色素上皮が新生血管膜の横 径の1/3未満に観察されたものを+,1/3~2/3を++,2/ 3より多くみられたものを+++とした(表 2).

2) 免疫組織化学

上記のパラフィン切片に対し、マイクロウェーブによ る前処理(0.01 Mクエン酸緩衝液, pH 6.0, 15 分間)の 後,0.01 M 燐酸緩衝液(PBS), pH 7.2 で洗浄した.非特 異的反応阻止の目的で5%正常ヤギ血清を室温30分間 反応させた. 増殖期(Gi~M期)にある血管内皮細胞の検 索をする目的で,抗ヒト Ki-67 抗原マウスモノクローナ ル抗体(Clone: MIB-1, Immunotech 社)を一次抗体とし て用い,100 倍希釈,4℃, over night で反応させた.また, Ki-67の特異性を確認するために Mouse IgG Negative Control(DAKO社)を陰性対照の一次抗体として同様の 希釈倍率で用いた.PBS で洗浄した後,二次抗体にビオ チン標識抗マウス-ヤギ IgG (DAKO 社)を用い, 300 倍希 釈,室温 60 分間反応させた. PBS で洗浄後, 0.3% 過酸化 水素加メタノールで室温 30 分間反応させ、内因性ペルオ キシダーゼ活性を除去した.PBSで洗浄後,HRP標識 streptavidine (DAKO社)を用い, 500 倍希釈, 室温 45分 間反応させた.PBSで洗浄後,3,3'-diaminobenzidine (DAB) 過酸化水素反応液 (DAB 20 mg+30% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 20 ul+ PBS 100 ml) に浸漬し, 発色させた. 後染色をマイヤー・ ヘマトキシリンで行い, 脱水, 透徹, 封入した. Ki-67 抗原 陽性細胞数としては,光学顕微鏡 200 倍で観察した際に Ki-67 抗原陽性細胞が5 個未満であったものを+,5~10 個を++,11 個以上を+++とした(表2).



10-21 00:00:52:93



図1 症例1のインドシアニングリーン(ICG)螢光眼底 造影所見とマッピング所見.

A: ICG 螢光眼底造影初期(52 秒). 脈絡膜新生血管は過 螢光を示している.

B:ICG 螢光眼底造影後期(21分). 脈絡膜新生血管は不 整形な過螢光斑を示し, その中央には光凝固を実施した 部位に一致して低螢光斑がみられる. 下方には網膜下出 血による低螢光部が観察される.

C:ICG 螢光眼底造影と新生血管膜のマッピング.ICG 螢 光眼底造影後期で過螢光を示した部位より実際には広範 囲に新生血管膜は存在している.ICG 螢光眼底造影所見 の水平方向(矢じり間)を割面として組織切片を作製す る.CNM:choroidal neovascular membrane





### 図2 症例1の病理組織所見.

A:新生血管膜は全体的に細胞成分に富み, ICG 螢光眼底造影で過螢光を示した部位では多数の血管腔が観察される(太矢印).術前実施した光凝固斑に相当する部位(ICG 螢光眼底造影で低螢光)では,メラニン顆粒を含んだ細胞が多数観察される(矢印).色素上皮の囲い込みは組織辺縁に僅かにみられるのみであり(矢じり), この部位には血管成分はみられず, ICG 螢光眼底造影では低螢光として観察される.エマトキシリン・エオジン(HE)染色, バーは 200 µm

B:図1Aの太矢印部の拡大.管腔の大きな血管が観察され,その周囲には小型の血管腔が多数みられる.結 合織の線維形成は軽度である.HE染色,バーは50μm

C:光凝固斑に相当する部位(ICG 螢光眼底造影で低螢光)の直下ないし近傍には Ki - 67 抗原陽性を示す, 茶 褐色に染色された核(矢印)を有する多数の内皮細胞が血管腔を形成している. Ki - 67 抗原染色, バーは100µm D:新生血管膜の辺縁では Ki - 67 抗原陽性の核を有する血管内皮細胞が多数観察される. Ki - 67 抗原染色, バーは 100 µm

E:大きい血管腔を形成する内皮細胞核では Ki-67 抗原陽性所見を示さない. Ki-67 抗原染色, バーは 50 μm F:抗原特異性のないマウス IgG<sub>1</sub> では血管内皮細胞核に茶褐色の陽性反応はみられない.マウス IgG<sub>1</sub> 陰性対 照, バーは 100 μm



#### 図3 症例3のICG 螢光眼底造影所見.

A:ICG 螢光眼底造影初期(1分).脈絡膜新生血管は過螢 光を示さず,光凝固部および網膜下出血部は低螢光とし て観察される.

B:ICG 螢光眼底造影後期(20分). 脈絡膜新生血管は過 螢光斑を示し, その中に一部強い螢光点が観察される. 組 織切片は ICG 螢光眼底造影所見の垂直方向(矢じり間) を割面として作製する.

### III 結 果

### 1. ICG 螢光眼底造影所見と新生血管膜の相関

手術ビデオ録画写真により新生血管膜の大きさを計測 した結果,1.1~4.2乳頭径大(DD),平均2.4DDの大き さであった.ICG 螢光眼底造影所見と新生血管膜のマッ ピング像(図1C)を検討した結果では,全症例において 新生血管膜はICG 螢光眼底造影で過螢光を示した部位 より実際には広範囲に存在していた.

2. ICG 螢光眼底造影所見と病理組織学的所見の相関

加齢性黄斑変性8例の術前に実施したICG 螢光眼底 造影所見,および新生血管膜とICG 螢光眼底造影写真と のマッピング像を基に作製した組織切片において観察さ れた光学顕微鏡所見を表2に示す.



#### 図4 症例3の病理組織所見.

A:組織中央部は肥厚しており,中型の血管腔が散在性 にみられるが,組織辺縁には血管成分は観察されない.色 素上皮による囲い込みは明らかではなく,光凝固部に相 当する部位(矢印)ではメラニン顆粒を含んだ細胞が多数 観察される.HE 染色,バーは 200 µm

B:組織肥厚部の先端では小型の血管腔が観察され,その周囲には線維形成がみられる.HE 染色,バーは 50 μm C:組織肥厚部の先端にみられる小型血管には Ki-67 抗 原陽性所見を示す内皮細胞核が観察される.Ki-67 抗原 染色,バーは 50 μm

造影開始2分以内のICG 螢光眼底造影初期から過螢 光を示し,20分以降のICG 螢光眼底造影後期において顕 著な色素漏出を伴う過螢光像を示す新生血管膜が2例 (症例1,2)にみられた(図1A,B).これらの病理組織所 見では,大きい管腔を有する血管が観察され,しかも血管 腔は集簇性に分布していた.また,線維形成の割合は組織



#### 図5 症例6のICG 螢光眼底造影所見.

A:ICG 螢光眼底造影初期(36 秒). 脈絡膜新生血管は過 螢光を示さない.

B:ICG 螢光眼底造影後期(25分). 脈絡膜新生血管は脈 絡膜螢光と同輝度を示し、その中の一部に過螢光を示す 所見がみられる. 組織切片は ICG 螢光眼底造影所見の右 斜め下方向(矢じり間)を割面として作製する.

全体の40~70%と中等度であり,新生血管膜全体の色素 上皮の囲い込みは僅かであった(図2A,B).また,ICG 螢 光眼底造影初期には脈絡膜の背景螢光と同輝度を示し, 後期では過螢光を示すものが1例(症例3)にみられた (図3A,B).この病理組織所見では比較的小型の血管腔 が散在性に観察され,前症例に比較し線維形成は進行し ており,膠原線維成分が多かった.色素上皮の囲い込みは 明らかではなかった(図4A,B).さらに,ICG 螢光眼底造 影の後期に脈絡膜螢光と同輝度ないし血管膜の一部のみ 過螢光を示すものが3例(症例4,5,6)にみられた(図5 A,B).このような新生血管膜の病理組織所見の特徴とし て,血管腔は集簇性,あるいは散在性に観察されるもの の,色素上皮による新生血管の旺盛な囲い込みがみられ た.一方,ICG 螢光眼底造影後期においても過螢光を示さ ず,むしろ低螢光を示すものが2例(症例7,8)にみられ



#### 図6 症例6の病理組織所見.

A:新生血管膜は全体的に線維成分が占めており,組織 下方には色素上皮の旺盛な取り囲みが観察される. HE 染色,バーは 200 μm B:血管腔は色素上皮細胞により取り囲まれている. HE 染色,バーは 20 μm C:Ki-67 抗原陽性の血管内皮細胞核は観察されない. Ki-67 抗原染色,バーは 20 μm

た (図 6 A, B). この病理組織所見では血管腔が孤立性に 観察されるか, あるいは全くみられず, 組織全体の 70% 以上が細胞成分の乏しい膠原線維によって占められてい た (図 7 A, B).

#### 3. 免疫組織化学的所見

Ki-67抗原陽性所見を示した新生血管膜の内皮細胞核 は,ICG 螢光眼底造影後期で過螢光を示した5例のうち, 3例において観察された.一方,ICG 螢光眼底造影後期で 平成 10 年 3 月 10 日



図7 症例7のICG 螢光眼底造影所見

A:ICG 螢光眼底造影初期(40 秒).脈絡膜新生血管は過 螢光を示さない.

B:ICG 螢光眼底造影後期(30分).脈絡膜新生血管は低 螢光を示し,その中の一部に脈絡膜螢光と同輝度を示す 所見がみられる.組織切片は ICG 螢光眼底造影所見の水 平方向(矢じり間)を割面として作製する.

低螢光を示した新生血管膜では陽性所見はみられなかっ た(表 2).さらに, Ki-67 抗原陽性を示す血管内皮細胞の 局在を検討すると, ICG 螢光眼底造影で過螢光を示した 部位とは必ずしも一致せず, レーザー光凝固部の近傍に 存在する血管腔(図 2 C), 新生血管膜の辺縁部や最肥厚 部の先端にみられた小型血管腔において多数観察された (図 2 D, 4 C).これに対し, ICG 螢光眼底造影で過螢光を 示した部位では組織学的に大きい血管腔が多数みられた が, この部位の血管内皮細胞には Ki-67 抗原陽性所見は 観察されなかった(図 2 E).

### IV 考 按

今回,加齢性黄斑変性による中心窩下脈絡膜新生血管 8例に対し外科的摘出手術を行い,術前実施した ICG 螢



#### 図8 症例7の病理組織所見.

A:新生血管膜は色素上皮に囲い込まれ,全体の 80% 以 上がエオジンで均一に染色される膠原線維から成ってい る.血管成分(矢印)は新生血管膜の一部にのみ観察され る.HE 染色,バーは 200 μm B:血管腔は小型で,その周囲組織は線維形成が進行し ている.HE 染色,バーは 50 μm C:Ki-67 抗原陽性の血管内皮細胞核は観察されない.

Ki-67 抗原染色, バーは 20 µm

光眼底造影所見と新生血管膜の広がり,および病理組織 所見とを比較検討した.その結果,新生血管膜は ICG 螢 光眼底造影において,過螢光で示された部位より実際に は広範囲に存在していることが明らかとなった.さらに, 術前の ICG 螢光眼底造影所見を検討すると,造影初期に 異常過螢光が観察され,後期で顕著な色素漏出がみられ る,いわゆる典型的造影所見を示す新生血管膜は2 例に 過ぎず,6 例は非典型的造影所見を示していた.

これまで ICG 螢光眼底造影は FAG によって検出でき ない脈絡膜新生血管,いわゆる occult vessel の診断に有 用であることが示されている<sup>11-51</sup>.しかし,一方で ICG 螢 光眼底造影において,すべての脈絡膜新生血管が過螢光 として観察されないことが臨床的にも明らかとなり,著 者ら<sup>5</sup>も ICG 螢光眼底造影における脈絡膜新生血管の造 影所見は4型に分類されることを報告した.つまり,検眼 鏡的に線維増殖が進行した脈絡膜新生血管や瘢痕期の症 例では ICG 螢光眼底造影初期には過螢光を示さず,後期 像で弱い螢光を示すか、あるいは低螢光を示していた、著 者らは、これらの所見は脈絡膜新生血管の活動性や網膜 下結合織の増殖過程を反映しているものと解釈してお り,他の臨床報告。においても同様の見解を得ている. Lee ら<sup>12</sup>は新生血管膜の病理組織所見と ICG 螢光眼底造 影所見を比較し,過螢光部に相当して新生血管が存在し ていたと述べているが,組織学的形態と ICG 螢光眼底造 影所見には相関性がみられなかったことを報告してい る.しかし、今回著者らは新生血管膜の大きさを直接 ICG 螢光眼底造影写真にマッピングする方法により, ICG 螢 光眼底造影において,過螢光斑として観察された部位は 新生血管膜のごく一部に過ぎず,描出されない部位があ ることを明らかにした. さらに, ICG 螢光眼底造影所見と 新生血管膜の病理組織学的所見とを比較検討した結果, 造影初期から過螢光として示された部位は組織学的には 色素上皮の囲い込みがなく,大きい管腔を有する血管が 多数観察された、また、造影後期のみで過螢光を示す部位 では血管腔は比較的小型で,血管周囲の線維化が進行し ていた.一方,低螢光部では血管成分に乏しく,線維形成 が一層進行しており、しかも色素上皮による囲い込みは 旺盛であった.すなわち,脈絡膜新生血管でみられる ICG 螢光眼底造影の描出様式の相異は,病理組織学的には血 管腔の大きさ,分布状態,周囲結合織の線維増殖の程度, 色素上皮の囲い込みの割合などの要因により決定される ことが明らかとなった.これらの事実は,脈絡膜新生血管 における ICG 螢光眼底造影所見の解釈を裏付ける重要 な新知見と考えられる.

これまで,新生血管膜の病理組織学的検索に関しては 多数の報告<sup>77~13</sup>がみられ,FAG所見との比較検討が行わ れている.Grossniklaus<sup>80</sup>. Lopetz ら<sup>90</sup>は well-demarcated choroidal neovascularization に お け る FAG 所 見 を Bull's eye appearance と称し,中心部(core)の過螢光は 病理組織学的には線維血管成分に相当し,inner rim を示 す低螢光輪は色素上皮の増殖による螢光遮断,さらに,そ の外側の弱螢光輪を示す outer rim は無血管組織である ことを指摘している.また,Bynoe ら<sup>100</sup>は新生血管膜片縁 には無血管組織が広範囲に存在していることを連続標本 切片から得られた vascular map により指摘し,FAG は 新生血管膜の大きさを過小評価している可能性があるこ とを述べている.今回の著者らの結果でも,新生血管膜辺 縁には無血管組織と色素上皮の増殖が観察され,この部 位は ICG 螢光眼底造影の後期で脈絡膜螢光と比較して 低螢光を示していた.これは,新生血管膜を取り囲む色素 上皮および膠原線維組織による脈絡膜螢光の遮断による ものと解釈される.さらに,小型血管腔が孤立性にみられ た部位では ICG 螢光眼底造影後期で脈絡膜螢光と同輝 度の弱い螢光を示していた.これは,①透過性が低い新 生血管膜のため, ICG 色素の血管外漏出が少ないこと<sup>®</sup>, ② 血管腔周囲の結合織の線維形成が進行し, ICG 色素が 拡散, 貯留する間隙が狭いこと,③ 色素上皮および膠原 線維組織による螢光遮断,による要因が考えられる.一 方,過螢光部では① ICG 色素の漏出が旺盛で,② ICG 色 素が拡散, 貯留する間隙が広く, しかも③ 色素上皮およ び膠原線維組織による螢光遮断が極めて少ないものと解 釈される.

脈絡膜新生血管の検索,特にFAGでは検出できない occult vesselの診断に関しては, ICG 螢光眼底造影法の 有用性が指摘されている1)~5).この理由として、① ICG 色 素は血中蛋白と 98% 以上結合し<sup>16</sup>, しかも分子量 200~ 300万の低比重リポ蛋白と結合する「っため、フルオレセイ ン色素に比較して血管外漏出が少ないこと,②透過性の 高い未熟な新生血管でのみ色素漏出が起きること<sup>®</sup>,③ FAGでは window defect にみられる色素上皮のバリ アー機能障害は, ICG 螢光眼底造影にはほとんど影響し ないこと、④ICG 色素はフルオレセイン色素の1/25~1/ 50の螢光強度しかない<sup>18)19)</sup>ため、低濃度の色素漏出では 検出できないことなどの要因が考えられる.また,⑤ ICG 螢光眼底造影においては重層した色素上皮により螢光遮 断されることが指摘されている<sup>200</sup>.以上述べた ICG 色素 の物理特性により、今回得られた結果から、ICG 螢光眼底 造影法は新生血管膜の病理組織学的形態を鋭敏に反映し ている可能性が示唆される.

増殖細胞核内抗原である Ki-67 抗原は核小体外側に 存在し,細胞周期の G1, S, G2, M 期に顆粒状成分として出 現することから、細胞の分裂・増殖の指標として広く用 いられている<sup>21</sup>. 今回著者らは Ki - 67 抗原を用いて, 増殖 期にある新生血管内皮細胞の検索を行った、その結果、術 前光凝固を実施した部位(ICG 螢光眼底造影では低螢光) の近傍にKi-67抗原陽性所見を示す内皮細胞が多数観 察された.これは光凝固により同部位の活動性が惹起さ れたためと考えられ,臨床上経験されるように不十分な 凝固により脈絡膜新生血管がかえって増大する事実を病 理組織学的に裏付けするものである.また,新生血管膜の 最肥厚部先端や辺縁部において,小血管腔を形成する内 皮細胞が Ki-67 抗原陽性所見を示したが, 同部位は ICG 螢光眼底造影では顕著な色素漏出はみられず,後期にの み弱い螢光を示していた.これに対し,ICG 螢光眼底造影 初期から色素漏出による過螢光を示した部位では,組織 学的に大きい管腔を有する血管が多数観察されるもの 平成 10 年 3 月 10 日

の、Ki-67 抗原陽性の血管内皮細胞は観察されなかった。 最近の報告では, ICG 螢光眼底造影で色素漏出を示す脈 絡膜新生血管は,病理組織学的に血管内皮細胞が未熟で 色素上皮に囲い込まれていないことが実験的脈絡膜新生 血管モデルで証明されている<sup>6</sup>.また,臨床的にも活動性 のある脈絡膜新生血管は造影初期から過螢光がみられ, 後期では顕著な色素漏出を示すことが知られている.つ まり、これまでの概念では ICG 螢光眼底造影で過螢光を 示す新生血管=未熟性,もしくは活動性のある新生血管 と理解されている.しかし,今回,新生血管の増殖性につ いて検討した結果, ICG 螢光眼底造影の過螢光部は増殖 能の高い血管を必ずしも描出していないことが明らかと なり, ICG 螢光眼底造影で過螢光を示す新生血管=増殖 性のある新生血管という図式は成立しないことが判明し た.また,最近の知見では,ICG 色素は脂質粒子(リポソー ム)と結合し,特にリン脂質では螢光輝度の上昇を伴う特 異な反応を示すことが指摘されている<sup>177</sup>.今回の検索結 果と考え併せると, 脈絡膜新生血管の ICG 螢光眼底造影 上みられる過螢光の解釈としては,色素の血管外漏出に 加えて, ICG 色素特有な未知の因子が存在する可能性を 示唆するものであり、今後の研究課題と思われる.さら に、今回の検索では、ICG 螢光眼底造影において顕著な色 素漏出を示さない新生血管膜や,低螢光として観察され る部位においても増殖性の高い血管が存在することが明 確となった.これらの事実は,光凝固後にみられる脈絡膜 新生血管の悪化増大,および再発といった問題と密接に 関連しているものと解釈され, 光凝固適応の決定, 凝固方 法など,中心窩下新生血管に対する治療を計画する上で, 今後重要な知見になるものと考えられる.

本論文の要旨は,第100回日本眼科学会総会(1996年,京都 市)において発表した.

### 文 献

- Yannuzzi LA, Slakter JS, Sorenson JA, Guyer DR, Orlock DA: Digital indocyanine green videoangiography and choroidal neovascularization. Retina 12:191-223, 1992.
- Guyer DR, Yannuzzi LA, Slakter JS, Sorenson JA, Hope-Ross M, Orlock DA: Digital indocyanine green videoangiography of occult choroidal neovascularization. Ophthalmology 101:1727-1737, 1994.
- 3) Slakter JS, Yannuzzi LA, Sorenson JA, Guyer DR, Ho AC, Orlock DA: A pilot study of indocyanine green videoangiography-guided laser photocoagulation of occult choroidal neovascularization in age-related macular degeneration. Arch Ophthalmol 112:465-472, 1994.
- 4) 今本量久,尾花 明,森脇光康,白木邦彦,三木徳彦, 杉野公彦:加齢性黄斑変性における脈絡膜新生血管 に対するインドシアニングリーン螢光眼底造影所

見. 臨眼 48:561-564, 1994.

- 5) 石川克也,出口達也,米谷 新:インドシアニング リーン螢光眼底造影法における加齢性黄斑変性症の 脈絡膜新生血管の描出と限界.臨眼 50:1161-1166, 1996.
- 福島伊知郎,髙橋寛二,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螢光眼底 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.
- 7) Lopetz PF, Grossniklaus HE, Lambert HM, Aaberg TM, Capone A Jr, Sternberg P Jr, et al: Pathologic featuers of surgically excised subretinal neovascular membranes in age-related macular degeneration. Am J Ophthalmol 112:647—656, 1991.
- Grossniklaus HE, Hutchinson AK, Capone A Jr, Woolfson J, Lambert HM: Clinicopathologic featuers of surgically excised choroidal neovascular membranes. Ophthalmology 101:1099–1111, 1994.
- 9) Lopetz PF, Lambert HM, Grossniklaus HE, Lambert HM, Sternberg P Jr: Well-defined subfoveal choroidal neovascular membranes in agerelated macular degeneration. Ophthalmology 100: 415-422, 1993.
- 10) Bynoe LA, Chang TS, Funata M, Priore LVD, Kaplan HJ, Green WR : Histopathologic examination of vascular patterns in subfoveal neovascular membranes. Ophthalmology 101 : 1112—1117, 1994.
- 11) Das A, Puklin JE, Frank RN, Zhang NL: Ultrastractural immnocytochemistry of subfoveal neovascular membranes in age-related macular degeneration. Ophthalmology 99:1368—1376, 1992.
- 12) Lee BL, Lim J, Grossniklaus HE: Clinicopathologic featuers of indocyanine green angiography-imaged, surgically excised choroidal neovascular membranes. Retina 16:64—69, 1996.
- 13) 白神千恵子,白神史雄,横江志保,奥田芳昭,尾嶋有 美,松尾信彦:脈絡膜新生血管の発育部位における インドシアニングリーン螢光眼底造影の有用性.臨 眼 50:1239-1244,1996.
- 14) Macular Photocoagulation Study Group: Subfoveal neovascular lesions in AMD: Guidelines for evaluation and treatment. Arch Ophthalmol 109: 1242—1258, 1994.
- 15) 紛沢伸介,石川克也,西山洋子,佐野朱美,米谷 新: 摘出脈絡膜新生血管標本と ICG 螢光造影所見の相 関. 臨眼 50:1071-1074, 1996.
- 16) Cherrick GR, Stein SW, Leevy CM, Davidson CS: Indocyanine green: Observations on its physical properties, plasma decay, and hepatic extraction. J Clin Invest 39: 592—600, 1960.
- 17) 斉藤民也,小松慶子,森 茂,出口達也,小山岩雄,米 谷 新:インドシアニングリーン色素と結合する血 清蛋白分画の検討―免疫電気泳動法,赤外螢光眼底 ビデオ装置を用いた方法―.日眼会誌 100:617― 623, 1996.

- 18) Flower RW: Injection technique for indocyanine green and sodium fluorescein dye angiography for the eye. Invest Ophthalmol Vis Sci 12:881—895, 1973.
- 19) Hochheimer BF, D'Anna SA: Angiography with new dyes. Exp Eye Res 27:1-16, 1978.
- 20) 福島伊知郎,高橋寛二,西村哲哉,大熊 紘,宇山昌 延:インドシアニングリーン螢光眼底造影でみられ

る脈絡膜新生血管周囲の低螢光輪.日眼会誌 99: 1262—1270, 1995.

21) Gerdes J: Ki-67 and other proliferation markers useful for immunohistological diagnosis and prognostic evaluations in human malignancies. Seminars in Cancer Biology 1:199–206, 1990.