

加齢黄斑変性での脈絡膜新生血管膜のインドシアニングリーン 蛍光造影と免疫組織化学的所見の比較

中島 正巳¹⁾, 島田 宏之²⁾, 佐藤 節²⁾, 湯沢美都子²⁾

¹⁾日本大学医学部附属稲取病院眼科, ²⁾日本大学医学部附属駿河台病院眼科

要 約

目 的：中心窩の感覚網膜下に発育した加齢黄斑変性の脈絡膜新生血管膜(CNM)48眼をインドシアニンググリーン蛍光眼底造影所見により4型に分類した後,手術により摘出して免疫組織化学的に検討した。

方 法：CNMは glial fibrillary acidic protein (GFAP), von Willebrand factor, Ki-67 抗原, actin, endothelial growth factor (VEGF), basic fibroblast growth factor (b-FGF), transforming growth factor (TGF- β_1)に対する免疫染色を施行した。

結 果：いずれの型のCNMも感覚網膜側にGFAP

が染色された。Ki-67 抗原はI型(早期・後期ともに過蛍光を示す)で強い染色性がみられた。

結 論：CNMは網膜色素上皮および感覚網膜との癒着があり,摘出時にはこれらもともに摘出される可能性が高いこと,I型では特に増殖能が高いことがわかった。(日眼会誌 103: 252—258, 1999)

キーワード：加齢黄斑変性, 脈絡膜新生血管膜, インドシアニンググリーン蛍光眼底造影, 免疫組織化学的検討, Ki-67 抗原

Comparison with Indocyanine Green Angiography and Immunohistochemical Study of Choroidal Neovascular Membrane in Age-related Macular Degeneration

Masami Nakajima¹⁾, Hiroyuki Shimada²⁾, Misao Sato²⁾ and Mitsuko Yuzawa²⁾

Department of Ophthalmology, Inatori Hospital of Nihon University

Abstract

Purpose : We classified choroidal neovascular membranes (CNMs) (48 eyes) in age-related macular degeneration (AMD) into four types using indocyanine green angiography.

Methods : Surgically extracted CNMs were examined immunohistochemically. Specimens were stained with glial fibrillary acidic protein (GFAP), von Willebrand factor, Ki-67 antigen, actin, vascular endothelial growth factor (VEGF), basic fibroblast growth factor (b-FGF), and transforming growth factor (TGF- β_1).

Results : All types of CNM were positively stained with GFAP on the side opposite the retinal pigment epithelial (RPE) cells. This suggests the ad-

herence of neurosensory retina to the CNM. Type I membranes which showed hyperfluorescence in the early and late phase of ICG angiography were significantly stained with Ki-67 antigen.

Conclusion : These results indicate that CNMs in AMD are extracted with neurosensory retina and RPE cells during surgery. Type I membranes have a high capability for proliferation. (J Jpn Ophthalmol Soc 103: 252—258, 1999)

Key words : Age-related macular degeneration, Choroidal neovascular membrane, Indocyanine green angiography, Immunohistochemical study, Ki-67 antigen

I 緒 言

加齢黄斑変性の脈絡膜新生血管膜は,インドシアニン

グリーン蛍光眼底造影(IA)において様々な所見を呈する。これらのIA所見と病態との関連については十分な検討がなされていない。我々は症例により差異があるIA

別刷請求先：101-8039 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10年5月14日受付,平成10年10月20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 101-8039, Japan

(Received May 14, 1998 and accepted in revised form October 20, 1998)

表 1 免疫組織染色に用いた一次抗体

	source	working dilution
GFAP	Dako	pre diluted
vW factor	Dako	× 200
Ki-67	Dako	× 50
Actin	Dako	× 50
VEGF	Pepro Tech	× 100
b-FGF	Upstate Biotechnology	× 100
TGF-β ₁	Becton Dickinson	× 100

GFAP : glial fibrillary acidic protein, vW factor : von Willebrand factor, VEGF : vascular endothelial growth factor, b-FGF : basic fibroblast growth factor, TGF-β₁ : transforming growth factor-β₁

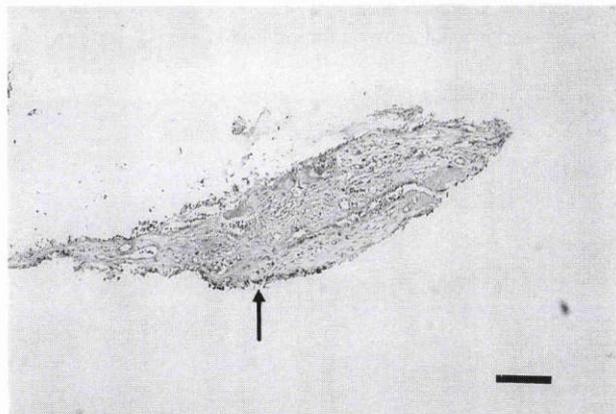


図 1 I型の脈絡膜新生血管膜.

膜の下面に網膜色素上皮細胞の付着がみられる(矢印). 上方は感覚網膜側. ヘマトキシリン・エオジン染色. バーは 200 μm

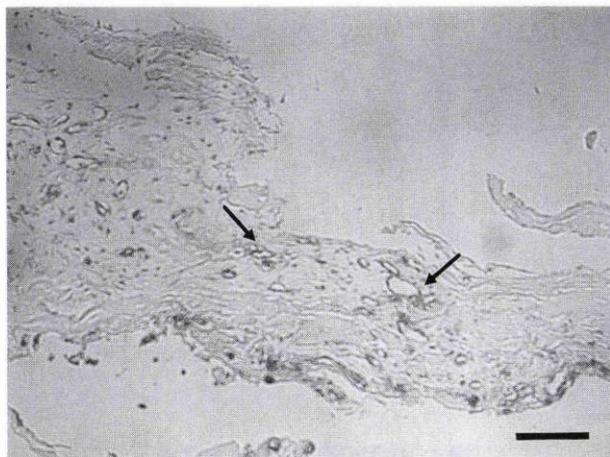


図 3 I型の脈絡膜新生血管膜.

膜全体に血管腔がみられる(矢印). 下方が脈絡膜面. 免疫染色(抗 von Willebrand factor 抗体). バーは 100 μm

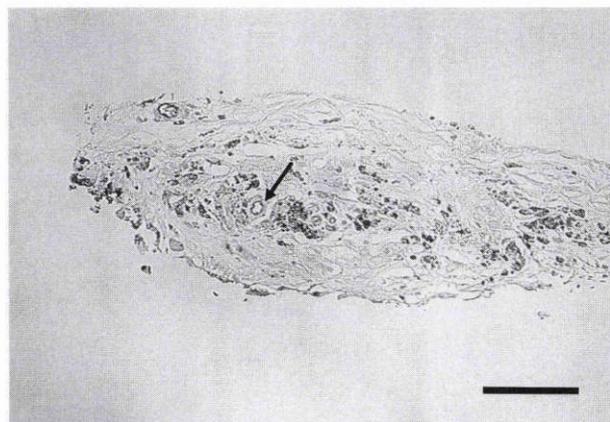


図 4 IV型の脈絡膜新生血管膜.

血管腔への染色が僅かにみられる(矢印). 下方が脈絡膜面. 免疫染色(抗 von Willebrand factor 抗体). バーは 100 μm

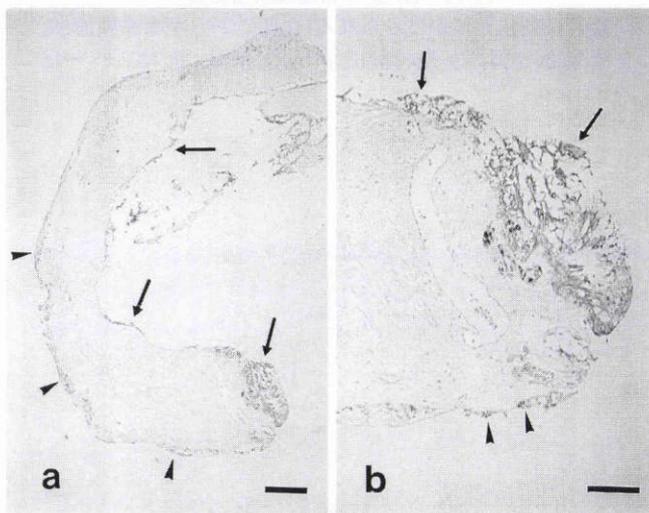


図 2 I型の脈絡膜新生血管膜.

a : 膜の上面すなわち感覚網膜側に glial fibrillary acidic protein の染色がみられる(矢印). 網膜色素上皮側(矢じり). バーは 250 μm. b : 高倍で膜の上面に glial fibrillary acidic protein の染色がみられ(矢印), 下面に網膜色素上皮細胞の付着がみられる(矢じり). 免疫染色(抗 glial fibrillary acidic protein 抗体). バーは 100 μm

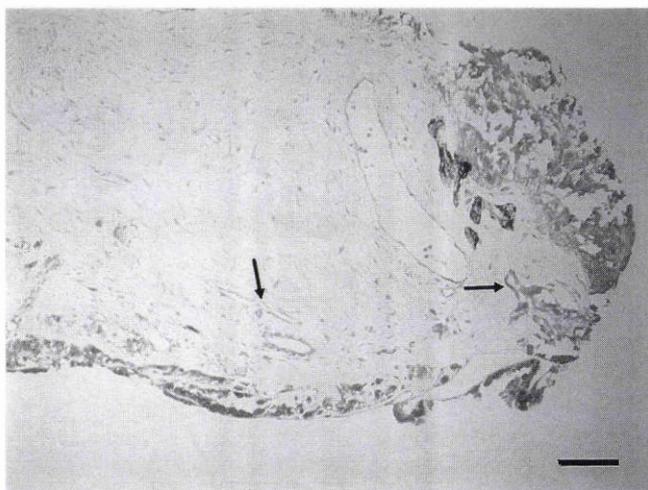


図 5 I型の脈絡膜新生血管膜.

膜全体に著しい染色がみられる(矢印). 下方が脈絡膜面. 免疫染色(抗 Ki-67 抗体). バーは 100 μm



図6 II型の脈絡膜新生血管膜.

膜全体に染色はみられるが(矢印), 網膜色素上皮細胞の囲い込みもみられる. 網膜面に平行に薄切した断面. 免疫染色(抗 Ki-67 抗体). バーは 100 μ m

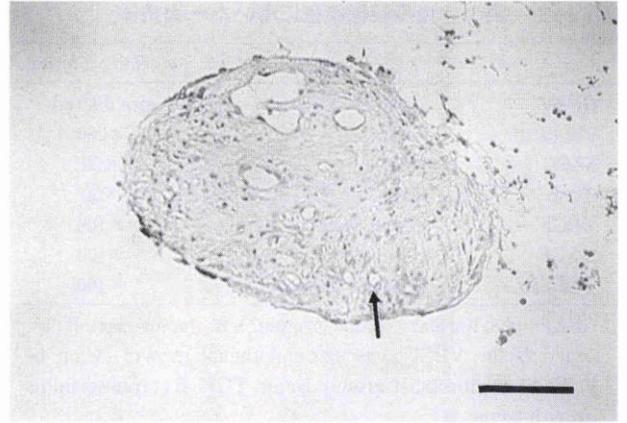


図9 I型の脈絡膜新生血管膜.

血管腔近くに染色がみられる(矢印). 免疫染色(抗 vascular endothelial growth factor 抗体). バーは 100 μ m

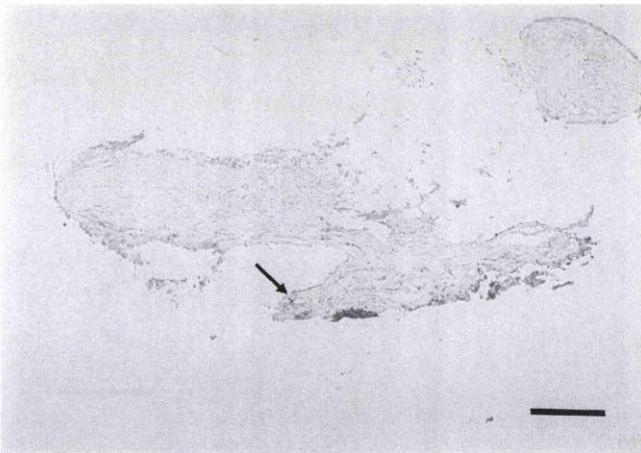


図7 IV型の脈絡膜新生血管膜.

染色が僅かにみられる(矢印). 下方が脈絡膜面. 免疫染色(抗 Ki-67 抗体). バーは 200 μ m

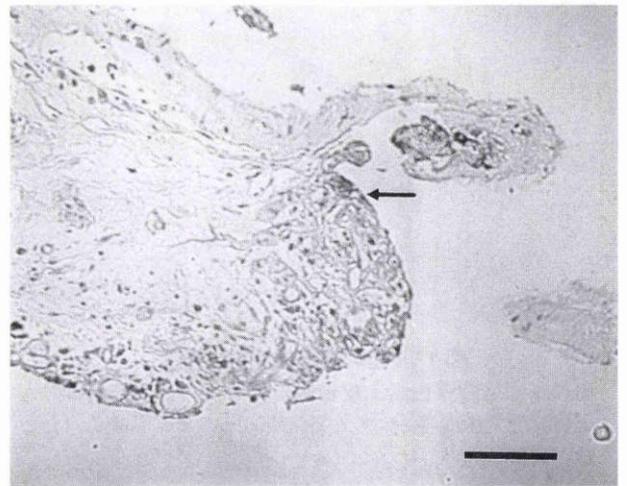


図10 III型の脈絡膜新生血管膜.

間質に染色が僅かにみられる(矢印). 下方が脈絡膜面. 免疫染色(抗 basic fibroblast growth factor 抗体). バーは 100 μ m

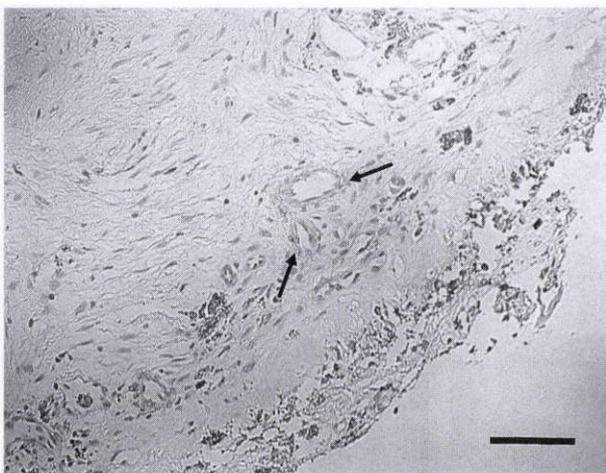


図8 IV型の脈絡膜新生血管膜.

比較的管腔の広い血管に染色がみられる(矢印). 免疫染色(抗 actin 抗体). バーは 100 μ m

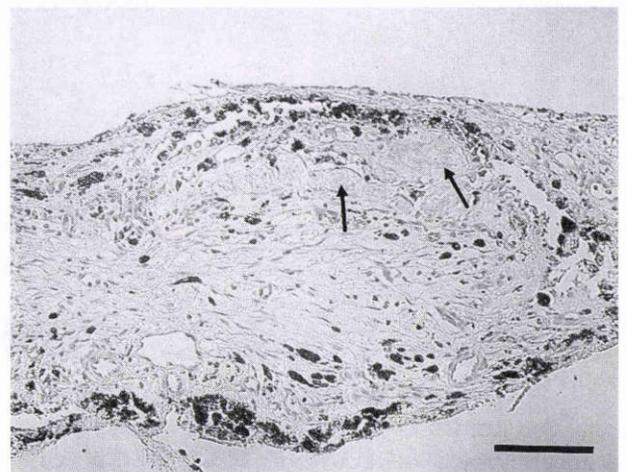


図11 II型の脈絡膜新生血管膜.

間質に染色がみられる(矢印). 網膜色素上皮細胞の膜内への遊走がみられる. 下方が脈絡膜面. 免疫染色(抗 transforming growth factor 抗体). バーは 100 μ m

所見の成因を解明するため、本症の IA 所見を 4 型に分類し、手術的に摘出した脈絡膜新生血管膜の IA 所見と病理組織学的所見を比較検討し、IA 所見は新生血管の量と成熟度、血管周囲の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ことを報告¹⁾した。

今回は手術的に摘出した脈絡膜新生血管膜を免疫組織化学的手法を用い、glial fibrillary acidic protein (GFAP)、von Willebrand factor, actin, さらに増殖マーカーである Ki-67 抗原に対する染色を行い、新生血管膜の増殖能について検討した。また、本症の血管新生の過程で重要な役割を果たしているサイトカインである vascular endothelial growth factor (VEGF), basic fibroblast growth factor (b-FGF), transforming growth factor- β (TGF- β) に注目し、膜内での局在について検討した。そして、これらの結果と IA 所見を型別に比較検討し、病理組織学的見地から脈絡膜新生血管膜摘出術の適応を考案した。

II 対象と方法

加齢黄斑変性で中心窩の感覚網膜下に発育した脈絡膜新生血管膜を有する 48 眼に対し、手術 1 週間前に、細隙灯顕微鏡による眼底検査、カラー眼底撮影、フルオレセイン蛍光眼底造影および IA を施行した。IA はインドシアニングリーン 25 mg を蛍光色素として用い、ローデンス トック社製走査レーザー検眼鏡およびトブコン社製 TRC-50 IA で撮影し、イメージネットで画像処理を行った。その 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。

脈絡膜新生血管膜摘出術は局所麻酔下で、pars plana に 3 port を作製し、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感覚網膜との分離を行った後、サプレチナル鑷子で膜を把持し切開創から摘出した。摘出した膜は直ちに 10% ホルマリン・リン酸緩衝液 (pH 7.4) で固定し、型どりにエタノール系列で脱水、パラフィン包埋し 4 μ m の連続切片を作製した。その後、ヘマトキシリン・エオジン (以下、HE) 染色と免疫組織染色を行い、光学顕微鏡で観察した。

免疫組織染色に使用した一次抗体は GFAP, von Willebrand factor, Ki-67, actin, VEGF, b-FGF, TGF- β_1 , の 7 種類である (表 1)。免疫組織染色はこれらの抗体を用い、切片を labelled streptavidin biotin (LSAB) 法で染色を施した。Ki-67 染色には前処理として切片をクエン酸緩衝液 (0.01 mol/l, pH 6.0) に浸し、マイクロウェーブ

照射 (750 W, 5 分間, 3 回) を行った。LSAB 法にはダコ LSAB キット (DAKO 社) を用い、ペルオキシダーゼの発色には 3,3'-ジアミノベンチジン四塩酸塩 (和光純薬工業) を用いた。また、Mayer のヘマトキシリン液で核染色を行った。免疫染色の対照として、一次抗体の代わりに燐酸緩衝液を使用した。

III 結果

1. 眼底所見, 蛍光眼底造影所見

摘出 1 週間前の細隙灯による眼底検査で、脈絡膜新生血管膜は黄斑部の網膜下灰白色病巣としてみられ、周囲に網膜下出血を伴っていた。また、出血性あるいは漿液性色素上皮剥離、色素上皮下の隆起病巣はみられなかった。

フルオレセイン蛍光眼底造影では、48 眼の脈絡膜新生血管膜はいずれも早期に新生血管網を示唆する過蛍光が観察され、後期に旺盛な色素漏出がみられる、いわゆる典型的な造影所見を示した。

以上の術前検査所見から、摘出した脈絡膜新生血管膜はいずれも感覚網膜下に発育したものと判定した。

IA 所見分類に従って分類した結果では、I 型: 35 眼, II 型: 4 眼, III 型: 6 眼, IV 型: 3 眼に分類できた。

2. 病理組織

新生血管膜の下面 (網膜色素上皮細胞層側) に網膜色素上皮細胞の付着がみられたものは 48 眼中 33 眼 (69%) であった (図 1)。各型では、I 型: 35 眼中 23 眼 (68%), II 型: 4 眼中 3 眼 (75%), III 型: 6 眼中 5 眼 (83%), IV 型: 3 眼中 2 眼 (67%) で、IA 所見の型による差はなかった。いずれの型にも新生血管膜の上面 (感覚網膜側) まで網膜色素上皮細胞の遊走がみられたものはなかったが、II, III, IV 型では新生血管膜内に網膜色素上皮細胞が遊走し、血管腔を取り囲む所見があった。

GFAP は網膜グリア細胞を染色する一次抗体であるが、すべての型の摘出脈絡膜新生血管膜の感覚網膜側に染色がみられ、その対側に網膜色素上皮細胞がみられた (図 2 a, b)。GFAP の染色がみられたものは、I 型: 35 眼中 14 眼 (40%), II 型: 4 眼中 2 眼 (50%), III 型: 6 眼中 2 眼 (33%), IV 型: 3 眼中 3 眼 (100%) であった。血管内皮細胞の同定に用いられる von Willebrand factor, すなわち第 VIII 因子関連抗原は 48 眼すべての新生血管膜に染色がみられた。特に血管腔の多い I, II 型では膜全体に強い染色がみられた (図 3)。III, IV 型にも染色はみられたものの、線維化の進んだ部では染色が弱かった (図 4)。

Ki-67 抗原はヒトの増殖細胞の核に存在し、細胞の増殖の指標とされている。今回新生血管膜の増殖能を検討した結果、全例に染色がみられた。特に I 型では新生血管膜全体に強い染色がみられた (図 5)。II 型も Ki-67 の染色は強くみられるものの、I 型と異なり網膜色素上皮細胞による血管腔の取り囲みが進んでいた (図 6)。III, IV 型は I, II 型に比べ染色が弱かった (図 7)。

Actin は周細胞, 筋線維芽細胞などに存在する細線維であり, いずれの型の新生血管膜内にもみられた. 特に比較的管腔の大きい血管周囲, および膜内の線維成分の多い部にみられた(図 8).

VEGF は血管内皮細胞に特異性が高く, 血管新生のすべての過程を促進する増殖促進因子で, 網膜色素上皮細胞, 網膜グリア細胞, 低酸素状態では血管内皮細胞自体からも産生される. 今回の検討では血管内皮細胞, 細胞外基質成分にみられ, I~IV 型で染色性に差はなかった(図 9). また, GFAP 染色陽性のグリア細胞付近に染色はみられず, 血管腔の多い Ki-67 染色陽性部位であっても必ずしも VEGF 染色がない部があった. b-FGF は, 細胞内あるいはヘパリンを介して基底膜に貯蔵され, 組織障害により放出される増殖促進因子である. 今回の検討では細胞外基質成分にまばらにみられ, I~IV 型で染色性に差はなかった(図 10). TGF- β 1 は網膜色素上皮細胞で産生され, *in vitro* では新生血管抑制因子と考えられている. 今回の検討でも網膜色素上皮細胞付近にみられたが, I~IV 型で染色性に差はなかった(図 11).

免疫染色の対照に陽性所見は観察されなかった.

IV 考 察

1991 年に Thomas ら²⁾が眼ヒストプラズマ症の脈絡膜新生血管膜を硝子体手術で摘出し, その有効性を報告して以来, 黄斑下に発育した脈絡膜新生血管膜の摘出と病理組織学的検索が多数なされている^{3)~6)}. 我々は中心窩の感覚網膜下に発育した加齢黄斑変性の脈絡膜新生血管膜の IA 所見を 4 型に分類した後, 摘出した膜の病理組織と比較検討した結果, I 型は血管数が多く, 網膜色素上皮細胞による新生血管膜の囲い込みがほとんどなく, 線維成分が少量であり, II 型は血管数が多く, 網膜色素上皮細胞の囲い込みがみられ, III 型は血管数が少なく, 網膜色素上皮細胞の囲い込みが起りつつあり, IV 型は血管数が少なく, 線維成分が多く, 密に配列していると報告した. 今回はさらに症例を増やし, 免疫組織化学的手法を用いて各型の病理組織を検討した.

Grossniklaus ら⁷⁾は本症の脈絡膜新生血管膜 16 眼に免疫染色を施行し, GFAP は 38% で脈絡膜新生血管膜に一層に染色がみられたと報告した. 今回の検討ではすべての型の新生血管膜にグリア細胞の存在を示す GFAP の染色が感覚網膜側に一層みられ(44%), その対側に網膜色素上皮細胞の付着がみられた(69%). これは摘出時に脈絡膜新生血管膜と癒着した感覚網膜の一部がともに摘出されたことを示唆している. 今回の検討は, I 型で 40%, IV 型で 100% とかなり差がみられたが, IV 型は 3 眼と少数であるので有意差を求めなかった. IV 型は前回の組織学的検討結果から線維成分の多いことが確かめられており, 周囲組織との癒着が強い可能性が示唆されているので, 症例数がふえた時点で I 型と IV 型に GFAP

染色に差がみられるか否かを検討したいと考えている. Grossniklaus らの検討では von Willebrand 因子は 50% で染色されたと報告されているが, 今回の検討では全例(100%)染色がみられ, 特に I, II 型で強い染色がみられた. von Willebrand 因子は血管内皮細胞の存在を示すことから, I, II 型は血管が豊富であるという前報での結論が再確認された. Grossniklaus らの検討では actin 染色は血管周囲にみられず, 線維芽細胞にみられている. 今回, Actin は比較的管腔の広い血管周囲に染色がみられた他, 膜内の線維成分の多い部の線維芽細胞様細胞に染色がみられ, 線維化の進んだ IV 型に比較的強く染色がみられた. Actin は多量になると脈絡膜新生血管膜の収縮に関与すると考えられ, 線維芽細胞の収縮の結果 Bruch 膜が断列し, 新たな新生血管の発育に関与する⁷⁾他, 臨床的には収縮による色素上皮裂孔, 黄斑偏位, 変視症の増強などが出現する可能性があると考えられた.

本症の脈絡膜新生血管膜の増殖能については, 増殖マーカーである Ki-67 抗原に対し免疫染色を行った. Ki-67 抗原は正常, 腫瘍は問わずヒトの増殖細胞の核に存在している. この抗体である Ki-67 は細胞周期中の増殖相(G₁-S-G₂-M)のマーカーであり, 非増殖相(G₀)には反応しない⁸⁾. 石川ら⁹⁾はインドシアニンググリーン蛍光眼底造影で顕著な漏出がみられない部では小血管腔を形成する内皮細胞が Ki-67 染色陽性を示し, 逆に初期から色素漏出による過蛍光を示し, 血管が多数存在する部で Ki-67 染色陽性細胞は観察されなかったと報告した. 今回の検討では膜内の血管内皮細胞, 線維芽細胞様細胞に染色がみられた. 血管腔が多い I, II 型に強い染色性がみられ, 血管腔が少ない III, IV 型では染色性に乏しかったことから, I, II 型は増殖能が強い膜であると考えた. II 型に比べ, I 型は網膜色素上皮細胞による血管腔の取り囲みが少ないため新生血管は活動性が高く, さらに増殖していく可能性が高いため予後は不良であると考えた.

眼内血管新生の消長に血管新生促進因子および血管新生抑制因子は重要な役割を果たしている^{10)~12)}. Lopez ら¹³⁾は摘出した脈絡膜新生血管膜の免疫組織学的検索を行い, transdifferentiated retinal pigment epithelial cell が血管周囲にみられ, これらが VEGF 染色強陽性で血管新生に関与していると報告している. また, Reddy ら¹⁴⁾は b-FGF が血管内皮細胞に TGF- β 1 が線維芽細胞, 網膜色素上皮細胞にみられ, これらのバランスが血管新生に密接に関与していると報告している. Amin ら¹⁵⁾の検討でも b-FGF および TGF- β が網膜色素上皮細胞で強く染色されたと報告している. 今回は増殖促進因子である VEGF, b-FGF と *in vitro* で増殖抑制因子とされる TGF- β 1 に注目し検討を行った. VEGF および b-FGF 染色陽性部位は, 必ずしも血管数が多く Ki-67 染色陽性で増殖能が高い細胞が存在する部位とはいえなかった. 逆に線維化が進み, 血管が少ない活動性の低い部位と考え

られる部位に TGF- β_1 が特に強く染色されるということもなかった。今回の血管新生促進因子および抑制因子の検討で、IV 型においても血管新生促進因子が産生され、線維化の進んだ部位でも血管腔が存在し Ki-67 染色陽性部位もあることから IV 型では再燃に注意し、不適切な光凝固などの刺激により活動性が惹起される可能性もあることを念頭におく必要があると考えた。

本症の脈絡膜新生血管膜の治療法として、レーザー光凝固、薬物療法、放射線療法に加え、手術的摘出が目ざされている。しかし、本症の手術適応は未だ確立されていない。Gass¹⁶⁾は本症の脈絡膜新生血管膜は網膜色素上皮細胞の下に主に発育するため、脈絡膜新生血管膜を手術的に摘出しても網膜色素上皮細胞がともに除去されてしまい、術後良好な視力は得られないと考案した。欧米では本症の脈絡膜新生血管膜摘出後の術後視力は良好でないことが報告¹⁷⁾¹⁸⁾されている。しかし、上羽ら¹⁹⁾は本邦における感覚網膜下に発育した脈絡膜新生血管膜の手術成績を報告し、半数以上で中心視野の改善がみられ、自覚的変視症や中心暗点の改善はほとんどの症例で得られたと報告し、適応を慎重に選択すれば視機能を改善できると述べている。また、中心窩下脈絡膜新生血管膜のレーザー光凝固は、Macular Photocoagulation Study によって視機能は自然経過よりも良好であることが確かめられているものの、新生血管周囲の健常部にも堤防状凝固を行い、凝固部に一致した絶対暗点が形成される欠点がある²⁰⁾。

今回、術前の眼底検査および蛍光眼底検査で網膜色素上皮細胞より上、感覚網膜の下に発育したと判定し、摘出した脈絡膜新生血管膜の免疫組織化学的検討を行った結果、I 型の脈絡膜新生血管膜は活動性があり、増殖能が高いことから最も良い手術適応であると考えた。しかし、本症の膜摘出時には網膜色素上皮細胞に加え感覚網膜も一部ともに除去される可能性のあることが明らかになり、これは手術療法の限界であると考えた。I 型は IV 型に比べ、感覚網膜側のグリア細胞が手術時に除去されることが少ない可能性があり、今後対象が増えた時点で再検討したいと考えている。

本論文の要旨は第 102 回日本眼科学会総会において中島が報告した。

本研究は文部省科学研究費補助金(奨励研究 A 50297826, 中島)を受けた。

文 献

- 1) 中島正巳, 島田宏之, 佐藤 節, 湯沢美都子: 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. 日眼会誌 101: 584—592, 1997.
- 2) Thomas MA, Ksplan HJ: Surgical removal of subfoveal neovascularization in the presumed ocular histoplasmosis syndrome. Am J Ophthalmol

- 111: 1—7, 1991.
- 3) Das A, Puklin JE, Frank RN, Zhang NL: Ultrastructural immunocytochemistry of subretinal neovascular membranes in age-related macular degeneration. Ophthalmology 99: 1368—1376, 1992.
- 4) Grossniklaus HE, Hutchinson AK, Capone A Jr, Wolfson J, Lambert HM: Clinicopathologic features of surgically excised choroidal neovascular membranes. Ophthalmology 101: 1099—1111, 1994.
- 5) Lopez PF, Lambert HM, Grossniklaus HE, Sternberg P Jr: Well-defined subfoveal choroidal neovascular membranes in age-related macular degeneration. Ophthalmology 100: 415—422, 1993.
- 6) Green WR, Enger C: Age-related macular degeneration histopathologic studies. Ophthalmology 100: 1519—1535, 1993.
- 7) Grossniklaus HE, Martinez JA, Brown VB, 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.
- 8) Brown DC, Gatter KC: Monoclonal antibody Ki-67: Its use in histopathology. Histopathology 17: 489—503, 1990.
- 9) 石川克也, 鮎沢伸介, 蒲田孝一, 米谷 新: 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蛍光眼底造影所見の相関. 日眼会誌 102: 179—188, 1998.
- 10) 猪俣 孟: 眼内血管新生. 日眼会誌 101: 906—926, 1997.
- 11) Luty GA, McLeod DS, Merges C, Diggs A, Plouet J: Localization of vascular endothelial growth factor in human retina and choroid. Arch Ophthalmol 114: 971—977, 1996.
- 12) Boulton ME, Foreman D, McLeod D: Vascularised vitreoretinopathy: The role of growth factors. Eye 10: 691—696, 1996.
- 13) Lopez PF, Sippy BD, Lambert HM, Thach AB, Hinton DR: Transdifferentiated retinal pigment epithelial growth factor in surgically excised age-related macular degeneration-related choroidal neovascular membranes. Invest Ophthalmol Vis Sci 37: 855—868, 1996.
- 14) 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.
- 15) Amin R, Puklin JE, Frank RN: Growth factor localization in choroidal neovascular membranes of age-related macular degeneration. Invest Ophthalmol Vis Sci 35: 3178—3188, 1994.
- 16) Gass JDM: Biomicroscopic and histopathologic considerations regarding the feasibility of surgical

- excision of subfoveal neovascular membranes. *Am J Ophthalmol* 118:285—298, 1994.
- 17) **Berger AS, Kaplan HJ**: Clinical experience with the surgical removal of subfoveal neovascular membranes. *Ophthalmology* 99:969—976, 1992.
- 18) **Holekamp NM, Thomas MA, Dickson JD, Valuri S**: Surgical removal of subfoveal choroidal neovascularization in presumed ocular histoplasmosis. *Ophthalmology* 104:22—26, 1997.
- 19) **上羽美香, 川久保洋, 島田宏之, 赤井公美子, 湯沢美都子**: 加齢黄斑変性症に対する硝子体手術の成績. *あたらしい眼科* 13:1271—1274, 1996.
- 20) **Yuzawa M, Tamakoshi A, Ueha M, Kawakubo H, Nakajima M**: Factors influencing visual acuity after photocoagulation for subfoveal choroidal neovascularization of exudative age-related macular degeneration. *Ophthalmology* 103:2037—2041, 1996.
-