

インドシアニンググリーン蛍光眼底造影の組織学的証明

—健常眼—

松原 孝, 宇山 昌延, 福島伊知郎, 松永 裕史, 高橋 寛二

関西医科大学眼科学教室

要 約

目 的：静脈内投与したインドシアニンググリーン (ICG) の眼組織内の局在を証明し, ICG 蛍光眼底造影所見の組織学的裏付けを試みた。

方 法：健常なラットに ICG を静脈内投与し, 眼球摘出後, アセトン凍結置換を行って ICG を組織内に固定した。その切片を赤外蛍光顕微鏡, ダイオードレーザー光源およびビデオカメラを用いて組織内における ICG の蛍光を検出して, ICG の眼組織内の局在および経時的变化を観察した。その結果を ICG 蛍光眼底造影所見と比較検討した。

結 果：網膜血管, 虹彩血管と脈絡膜中大血管さらに

は, 網膜色素上皮は ICG に対して眼血液関門機能を示して ICG を漏出しなかったが, 脈絡膜毛細管板および毛様体毛細血管からは ICG が漏出することが示された。脈絡膜毛細管板から血管外漏出した ICG は脈絡膜実質を内方から外方へ拡散することがわかった。

結 論：ICG の組織内局在の経時的变化が, ICG 蛍光眼底造影の造影所見に示されることが確認された。(日眼会誌 103: 497—505, 1999)

キーワード：インドシアニンググリーン, ICG 蛍光眼底造影, 血液網膜関門, 脈絡膜循環, 網膜循環

Histological Proof of Indocyanine Green Angiography

—Healthy Eyes—

Takashi Matsubara, Masanobu Uyama, Ichiro Fukushima, Hiroshi Matsunaga and Kanji Takahashi

Department of Ophthalmology, Kansai Medical University

Abstract

Purpose : To determine the histological localization of indocyanine green (ICG) in the healthy rat eye and to correlate this with ICG angiographic findings.

Methods : After intravenous ICG dye injection, the rat eyes were enucleated and processed by freeze-substitution fixation with acetone. The tissue sections were stimulated with an 805-nm diode laser and observed with an infrared microscope with an intensified charge coupled device camera. The histological examinations of ICG localization were correlated with the ICG angiographic images.

Results : ICG dye did not leak from the retinal and iris vessels. However, in the choroid, extravasa-

tion of ICG from the choriocapillaris was observed. The extravascular ICG from the choriocapillaris slowly diffused to the choroidal stroma but did not diffuse to the neurosensory retina through the retinal pigment epithelium.

Conclusions : Change in the localization of ICG in ocular tissue was demonstrated in the ICG angiographic findings. These results help to interpret clinical ICG angiographic findings. (J Jpn Ophthalmol Soc 103: 497—505, 1999)

Key words : Indocyanine green, ICG angiogram, Blood-retinal barrier, Choroidal circulation, Retinal circulation

I 緒 言

インドシアニンググリーン (ICG) 蛍光眼底造影法は,

Flower ら¹⁾²⁾により開発され, 林ら³⁾の努力によって実用化された。近年眼科臨床に用いられて様々な眼底疾患の病態解明に広く役立っている。ICG 色素は励起光およ

別刷請求先：570-8506 守口市文園町 10-15 関西医科大学眼科学教室 松原 孝
(平成 10 年 9 月 1 日受付, 平成 11 年 1 月 29 日改訂受理)

Reprint requests to: Takashi Matsubara, M.D. Department of Ophthalmology, Kansai Medical University, 10-15 Fumizono-cho, Moriguchi 570-8506, Japan

(Received September 1, 1998 and accepted in revised form January 29, 1999)

び蛍光波長が近赤外領域にあるため組織の透過性に優れていて、この特徴を利用した ICG 蛍光眼底造影は網膜色素上皮から深部、すなわち、脈絡膜の循環状態が詳しく観察できる。その反面、網膜と脈絡膜の三次元構造を平面の画像として観察するので、従来から用いられているフルオレセイン蛍光眼底造影よりも、その画像読影は複雑になる。また、造影所見の読影において病理組織学に基づいた科学的根拠が今までに示されていなかったのも、その所見の解釈に議論が残されている。我々はサル眼を用い、実験的脈絡膜新生血管および実験的脈絡膜循環障害を作製し、その ICG 蛍光眼底造影所見と病理組織所見を比較検討して、ICG 蛍光眼底造影所見を読影する裏付けを行った⁴⁾⁵⁾。

最近では、人眼においても加齢黄斑変性の脈絡膜新生血管に対し同様の検討が行われている^{6)~8)}。しかしながら、ICG 色素の眼内局在とその動態がまだ明らかにされていないため、造影所見の読影ないし解釈は推論にとどまっているところが多い。我々はラット眼を用い、眼球組織内における ICG の局在を組織学的に直接証明する方法を確立することができた。その方法により ICG 蛍光眼底造影所見の読影の基本になる ICG 静注後の健常眼での ICG の組織学的局在とその経時的变化を調べ、その一部は既に報告⁹⁾した。本論文はその詳しい報告である。なお、最近 Chang ら¹⁰⁾はサル眼および人眼について静脈内投与した ICG の眼内組織での局在についての報告を行った。著者らの実験結果との相違点について考案した。

II 実験方法

実験動物として、体重 300~350 mg の有色ラット (Brown-Norway 系) を 26 匹 52 眼を使用した。塩酸ケタミン (ケタラル®) 筋注とペントバルビタールナトリウム (ネンブタール®) を腹腔内注射し、その後、一定の麻酔状態が得られるように適宜追加した。

1. ICG 蛍光眼底造影

ミドリリン P® 点眼により十分散瞳した後、indocyanine green (ジアグノグリー®) 25 mg/kg を尾静脈から静注し、scanning laser ophthalmoscope (SLO, Rodenstock 社) で静注直後から 30 分まで撮影し、S-VHS ビデオテープ (SONY 社 Advanced Picture V) に記録した。

2. ICG の組織における局在の証明

ICG 25 mg/kg を静脈内投与し、直後から 30 分後までの各時点で眼球を摘出した。摘出眼球は直ちに液体窒素で急速凍結した。クライオスタットで 5 μ m の切片を作製し、スライドガラスに載物した。このときスライドガラス上での資料の融解を防ぐため、載物すると同時に再度液体窒素に浸漬した。その後、-80°C の超低温冷凍庫内で凍結資料をアセトン中に 2 日間保存し、アセトン凍結置換を行って標本を固定した。固定後、アセトン溶液中でカバーガラスをかぶせ、試料が乾燥しないように周囲を

シリコン接着剤で固めて封入した。血液中の ICG 色素の最大吸収波長は 805 nm¹¹⁾、最大蛍光波長は 835 nm¹²⁾であるから、組織内の ICG の蛍光の検出には、半導体レーザー光凝固装置 (NIDEK 社 DC-3000) の 805 nm を励起光とし、透過波長領域 820~920 nm (主透過波長 855 nm) のトプコン社製フィルターを蛍光フィルターとして用いて、赤外線光学顕微鏡 (Olympus 社 BSHS-IR) に取り付け、intensified charge coupled device (ICCD) カメラ (HAMAMATSU PHOTONICS 社 ICCD-100) で撮影して、S-VHS ビデオテープに記録した。

3. ICG の投与量

実験全体についての ICG 投与量は上記の 25 mg/kg で行ったが、投与量の違いによる ICG の組織内局在の相違を確認するため、投与量 1.25, 5, 25 mg/kg をそれぞれ各 3 匹 6 眼のラットに投与し、上記と同様の検出方法で比較検討した。

III 結果

1. 自発蛍光の有無

ICG の静注を行っていない未処置の眼球を上記方法で組織切片を作製し、同装置で自発蛍光の有無を確認したが、虹彩、毛様体、網膜、脈絡膜および強膜に自発蛍光は観察されなかった。

2. 正常の網膜脈絡膜

1) ICG 静注後 10 秒

ICG 蛍光眼底造影所見：脈絡膜および網膜の血管内に ICG の蛍光は流れとして明瞭に造影され、次いで眼底全般にはびまん性に薄いベール状蛍光がみられた (図 1 A)。

組織内の ICG の局在：ICG の蛍光は、網膜では網膜表層の血管内と内顆粒層内の網膜毛細血管内にみられ、脈絡膜では脈絡膜の太い血管内と脈絡膜毛細管板内にみられた (図 1 B)。

2) ICG 静注後 1 分

ICG 蛍光眼底造影所見：脈絡膜および網膜血管内の蛍光は明瞭で、静注後 10 秒と比べて眼底全般にはびまん性のベール状蛍光がやや強くなった (図 2 A)。

組織内の ICG の局在：ICG の蛍光は網膜毛細血管内と脈絡膜毛細管板内および脈絡膜中大血管内に強く、さらに、脈絡膜毛細管板から血管外に漏出し、その周囲の脈絡膜組織内に拡散していた。しかし、網膜色素上皮を越えて網膜内への拡散はみられなかった (図 2 B)。

3) ICG 静注後 5 分

ICG 蛍光眼底造影所見：網膜血管内の蛍光は明瞭であったが、脈絡膜全般のびまん性のベール状蛍光は、さらに強くなり、脈絡膜血管内の蛍光は不明瞭になった。

組織内の ICG の局在：網膜血管内に ICG の蛍光がみられたが、ICG は網膜血管から血管外へ漏出せず、網膜実質内には ICG の蛍光を全くみなかった。脈絡膜では ICG

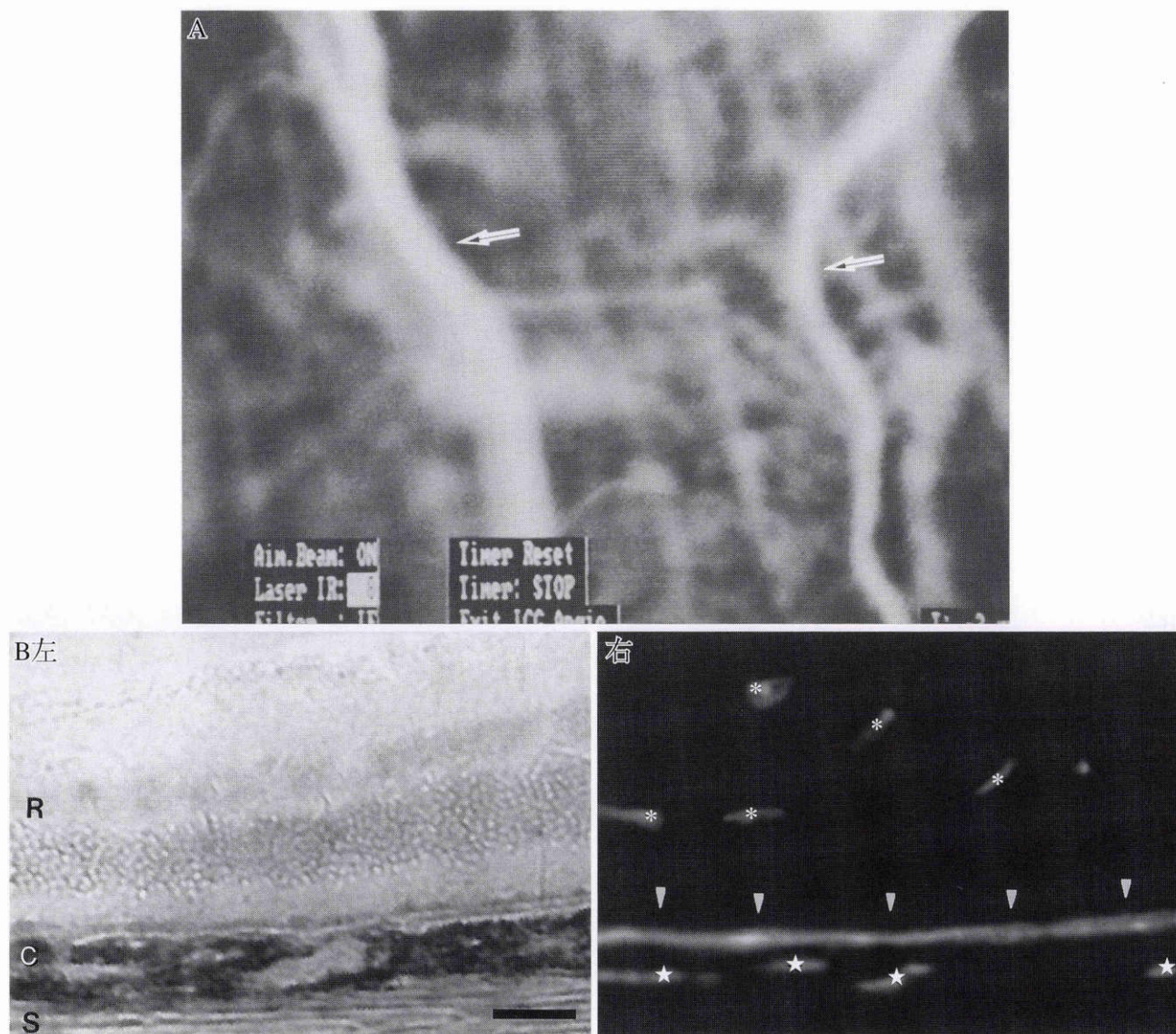


図 1 正常網膜脈絡膜[インドシアニンググリーン(ICG)静注後 10 秒].

A: ICG 蛍光眼底造影写真. 太い 2 本の網膜血管(←)および多数の脈絡膜血管に ICG が流入してその蛍光が造影され, 眼底全般にはびまん性に薄いベール状の蛍光がみられる.

B: (左) 光学顕微鏡写真, (右) 左の組織の ICG 局在を示す蛍光写真. ICG は, 網膜では網膜表層の血管内と内顆粒層内の網膜毛細血管内(*印)にみられ, 脈絡膜では脈絡膜毛細管板内(矢じり)と脈絡膜の中大血管内(☆印)にみられる.

R: 網膜, C: 脈絡膜, S: 強膜. バーは 50 μ m

は脈絡膜毛細血管内および脈絡膜の太い血管内にみられ, さらに, 脈絡膜毛細管板から漏出した ICG が脈絡膜実質の内層部から中層部にまで拡散していた. 脈絡膜中層から外層にある中大血管の周囲には ICG の蛍光は観察されなかったが, 血管内壁には強い蛍光がみられた(図 3 B).

4) ICG 静注後 10~20 分

ICG 蛍光眼底造影所見: 静注後 5 分とほぼ同様であったが, 脈絡膜全般のびまん性のベール状蛍光が強くなり, 脈絡膜血管はやや不明瞭になった.

組織内の ICG の局在: 脈絡膜毛細管板から漏出した ICG が脈絡膜内層から外層へ拡散し, 静注後 20 分には脈

絡膜全層に拡散していた. しかし, 網膜色素上皮を越えて網膜側への拡散はなかった.

5) ICG 静注後 30 分

ICG 蛍光眼底造影所見: 網膜血管内の蛍光はやや弱くなった. そして, 脈絡膜のびまん性のベール状蛍光がやや強くなり不均一になって, 脈絡膜の血管構築は不明瞭になった(図 4 A).

組織内の ICG の局在: ICG は脈絡膜実質の内層から外層までびまん性に拡散し, さらに, 強膜の内層まで拡散していた. しかし, 網膜色素上皮層を越えて網膜内には全くみられず, また, 網膜血管からは血管外に全く漏出しなかった. 脈絡膜血管内壁には強い蛍光がみられた(図 4

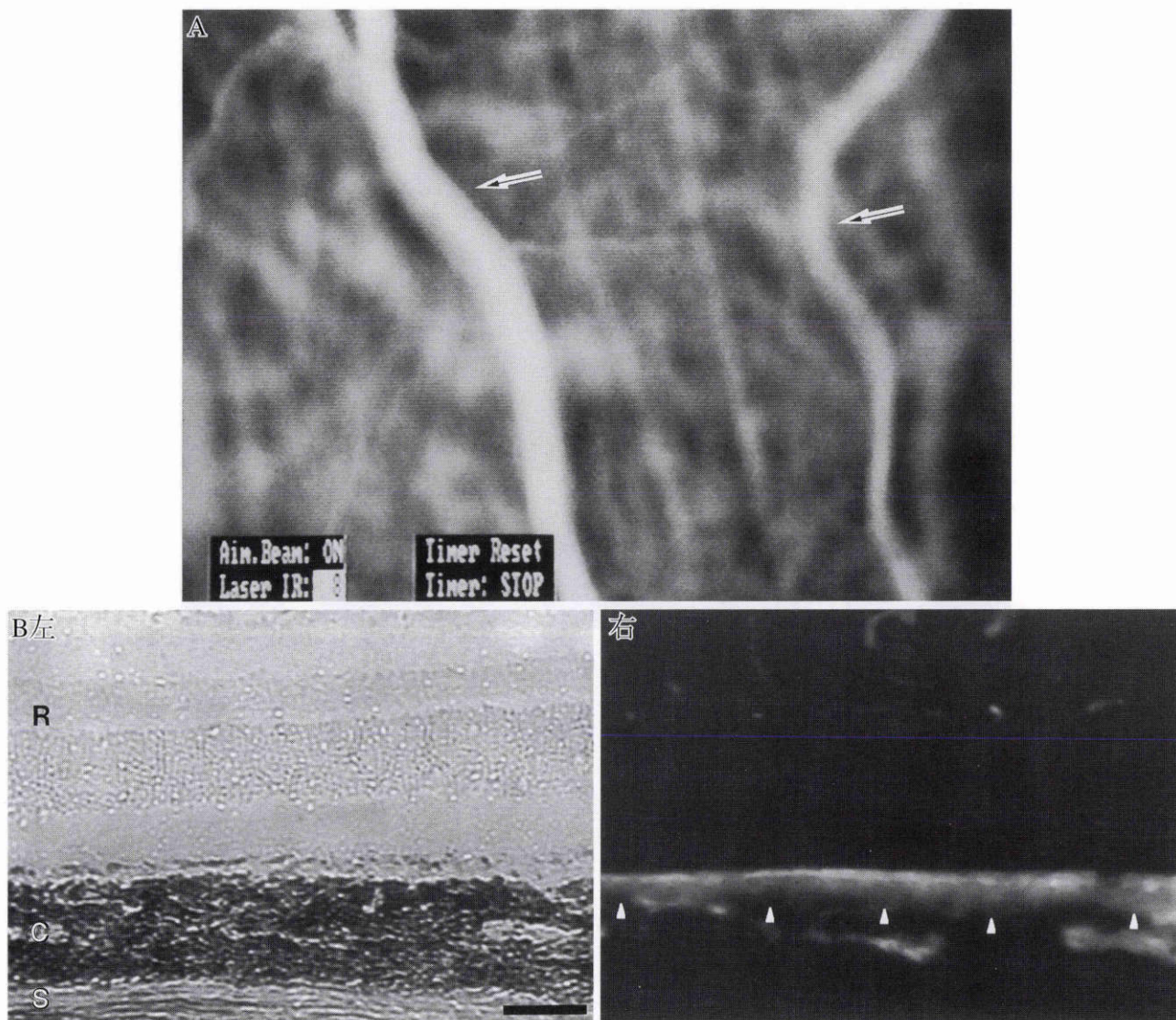


図2 正常網膜脈絡膜(ICG 静注後1分).

A: ICG 蛍光眼底造影写真. 網膜血管(←)および脈絡膜血管内の蛍光は明瞭で, 静注後10秒と比べて眼底全般のびまん性のベール状蛍光がやや強くなっている.

B: 左が光学顕微鏡写真, 右が左の組織の ICG 局在を示す蛍光写真. ICG は, 網膜では網膜毛細血管内のみみられ, 脈絡膜では脈絡膜毛細管板内とその周囲(矢じり)にみられ, 脈絡膜の中大血管内にもみられる. ICG は脈絡膜毛細管板から血管外に漏出し毛細血管周囲の脈絡膜内層に広がっている.

R: 網膜, C: 脈絡膜, S: 強膜. バーは50 μ m

B).

3. 正常の虹彩および毛様体

組織内の ICG 局在: 静注後1分では, ICG は主に虹彩および毛様体の血管内に存在した(図5A). 静注後30分には毛様体毛細血管から血管外へ漏出し, 毛様体実質および隣接の強膜内にまで拡散していた. しかし, 虹彩実質内, 後房内および硝子体内には ICG は全くみられなかった(図5B).

4. 異なる ICG 投与量

投与量 1.25, 5 mg/kg で上記と同様に組織を作製し観察を行った. これらの投与量では組織内の蛍光輝度は弱く, 組織内の蛍光の検出には励起光の強さを上げる必要があった. 励起光の強さを上げると照射部位に短時間で

熱を生じ, ICG が変性して蛍光輝度がさらに減弱した. このため観察時間は短時間に限られ, 弱い蛍光の正確な判定が困難であった. しかし, これら少量の投与量でも, 組織内の ICG 局在の経時的変化は, 大量投与した上記の実験結果と同様であって, ICG は脈絡膜毛細管板から漏出して, 脈絡膜実質内をびまん性に拡散していた. しかし, 網膜色素上皮を越えて網膜側へは拡散しなかった(図省略).

IV 考 按

蛍光物質を用いる造影法の所見の読影には, その蛍光物質の眼内動態を把握しておくことが必須である. 眼内には眼血液関門(blood-ocular barrier)と呼ばれる物質

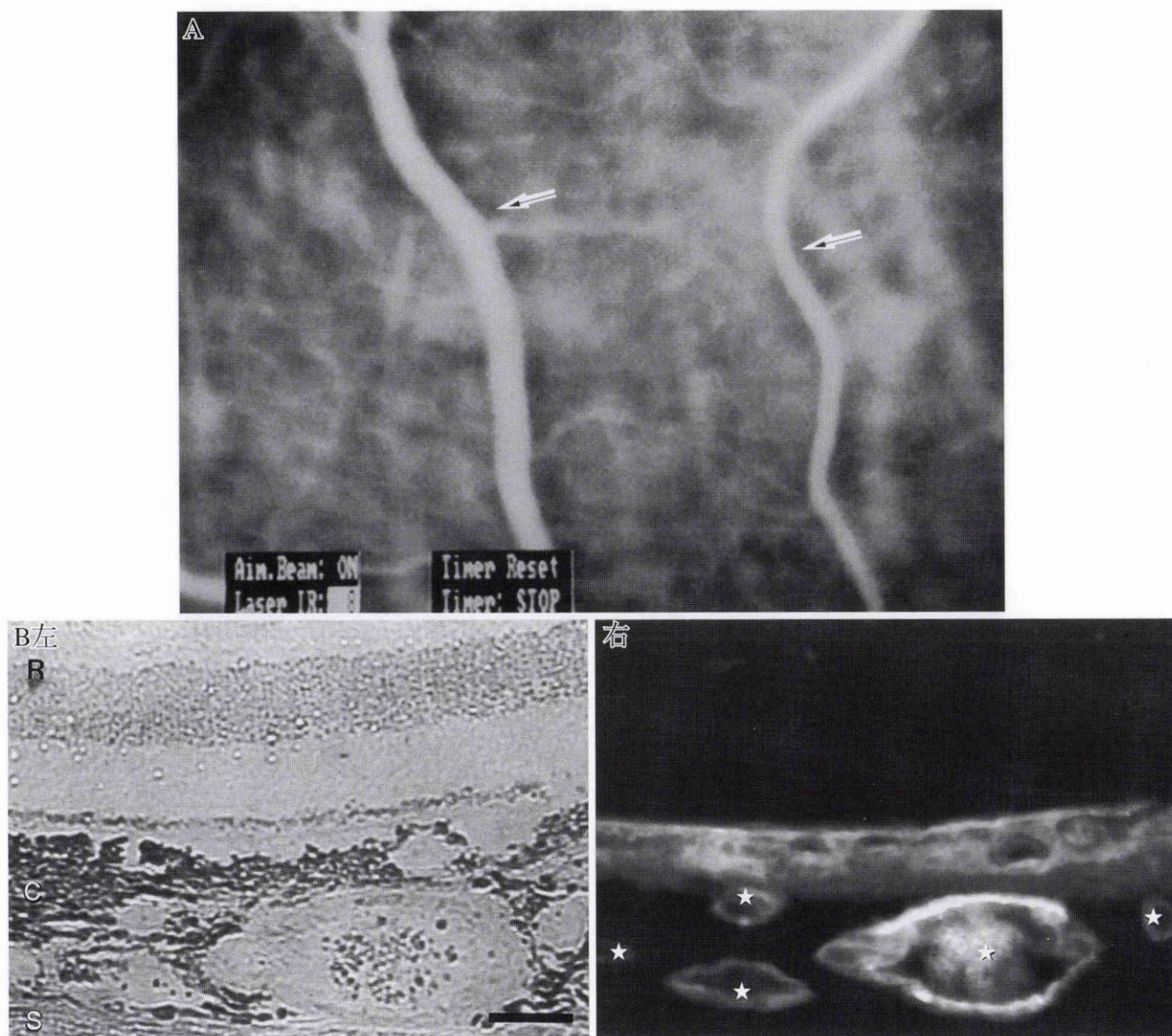


図 3 正常網膜脈絡膜(ICG 静注後 5 分)。

A: ICG 蛍光眼底造影写真, 網膜血管内(←)の蛍光は明瞭であるが, 脈絡膜のびまん性のベール状蛍光はさらに強くなり, 脈絡膜中大血管内の蛍光が不明瞭である。

B: 左が光学顕微鏡写真, 右が左の組織の ICG 局在を示す蛍光写真. ICG は脈絡膜毛細管内および脈絡膜実質の表層部から中層部にまで拡散している. 網膜色素上皮を越えて網膜側への拡散をみない. また, 脈絡膜の血管壁が強く光っているが, 脈絡膜中層から深層に在る中大血管(☆印)からは漏出してない。

R: 網膜, C: 脈絡膜, S: 強膜. バーは 50 μ m

移動に関するバリアー機能が存在する¹³⁾. ICG 蛍光眼底造影所見の読影に当たっては, ICG とバリアー機能の関係を明確にしておく必要がある. バリアーの物質の透過には分子量, 荷電などが関与する¹⁴⁾. ICG は血液の中で血清蛋白と結合し, 存在様式が変わり, 粒子としての分子量が変化することが知られている. 当初 ICG は, 静脈内投与後, 血清アルブミンと速やかに結合し, その 98% が結合型として血中に存在すると考えられていた¹⁵⁾. このため, 網膜および脈絡膜の血管系からは血管外漏出はしないと考えられていた¹⁾. この考えに基づいて造影所見の読影が行われていたため, 様々の混乱が生じた. その後, 静脈内に投与された ICG はリポ蛋白に結合することが明ら

かになり¹⁶⁾¹⁷⁾, 眼科領域においても齊藤ら¹⁸⁾はリポ蛋白と結合した ICG の蛍光を直接検出する方法で確認した. さらに, Yoneya ら¹⁹⁾は ICG とヒト血清アルブミンの結合が平衡状態に達するには 10 分という比較的長時間を要すると報告した. ICG と血清蛋白が平衡状態なるまでの数分間は分子量 775 の非結合型 ICG が血中に多く存在する. この事実によれば, 漏出型血管である脈絡膜毛細血管からは非結合型の ICG は透過する可能性が考えられる. これらの要因が ICG 蛍光眼底造影所見の読影を複雑にしている. 我々は静脈内に投与した ICG が眼球組織内に固定され, 眼球摘出後も移動することなく, 組織での局在を実験的に証明する方法を確立することができ

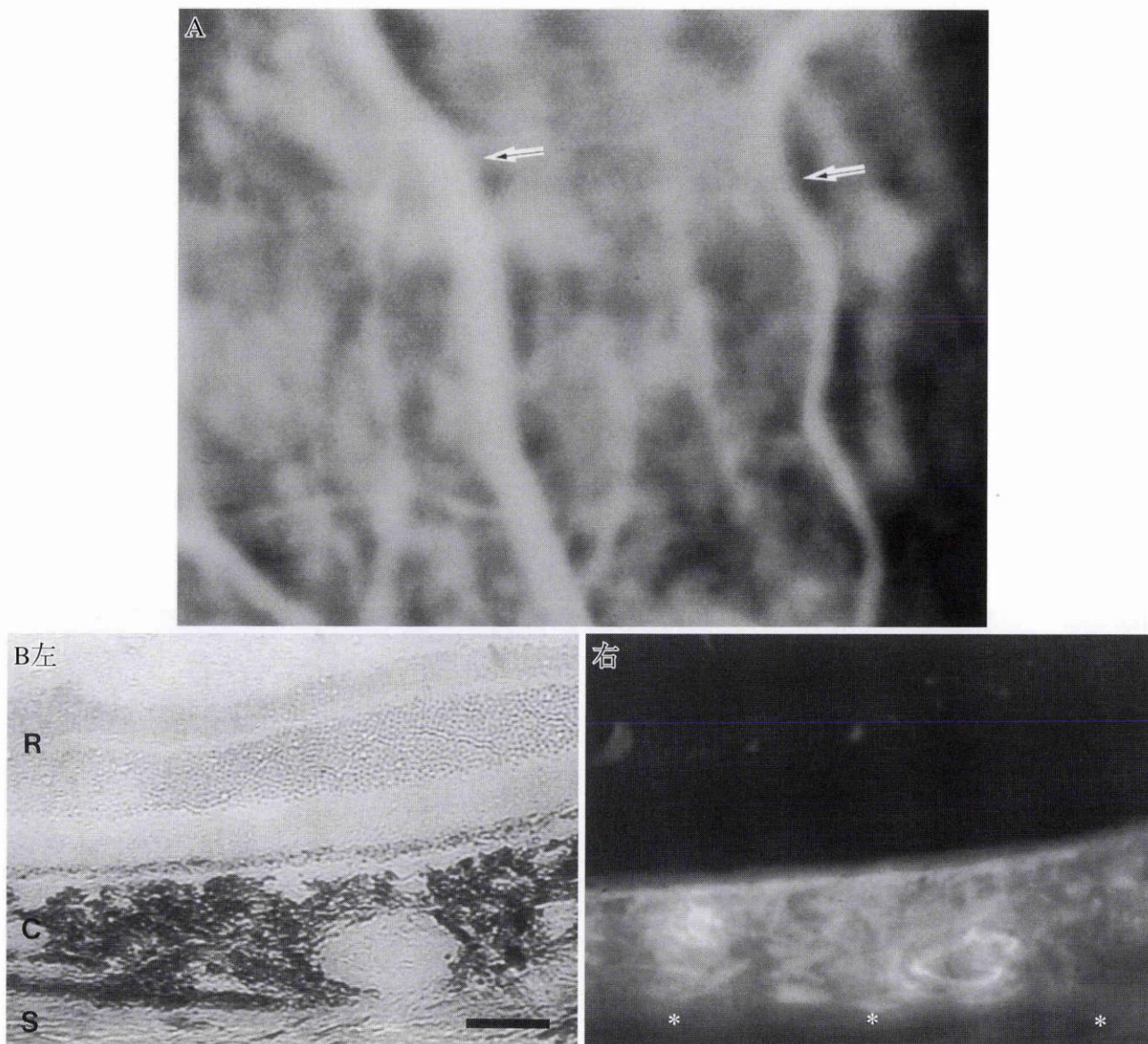


図4 正常網膜脈絡膜(ICG 静注後 30 分).

A: ICG 蛍光眼底造影写真. 網膜血管(←)の蛍光はまだ明瞭である. 脈絡膜のびまん性のパール状蛍光はやや強くなり, 不均一になって脈絡膜血管構築は不鮮明である.

B: 左が光学顕微鏡写真, 右が左の組織の ICG 局在を示す蛍光写真. ICG は, 網膜では網膜血管内にのみみられ, 血管外には全く漏出してない. 脈絡膜では脈絡膜毛細管板から漏出した ICG は脈絡膜実質の内方から外方へびまん性に拡散し, さらに強膜内層まで浸潤している(*印). しかし, 網膜色素上皮層を越えて網膜内には全く入っていない.

R: 網膜, C: 脈絡膜, S: 強膜. バーは 50 μ m

た⁹⁾. この方法により, ICG 蛍光眼底造影所見と組織内の ICG の局在を経時的に比較して ICG 蛍光眼底造影所見の読影の裏付けを試みた.

実験装置は, 血液中の ICG 色素の最大吸収波長は 805 nm¹¹⁾であるので, 励起光源として単一波長 805 nm の半導体光凝固装置を用い, 組織内の ICG の蛍光を励起した. 組織内の蛍光の検出には, ICG の最大蛍光波長である 835 nm¹²⁾を透過し, かつ, 励起光の 805 nm を完全に遮断する透過波長領域 820~920 nm (主透過波長 855 nm) のフィルターを蛍光フィルターとして用いた. さらに, 赤外光を吸収しないレンズ系を使用した赤外線光学顕微鏡に

ICCD カメラを取り付けて, 組織内の弱い ICG 色素の蛍光を撮影することを可能にした.

ICG を組織内に固定する方法を確立するまでには, 多数のラットについて予備実験を行い, ICG を組織内に確実に固定し, かつ, ICG の蛍光が減弱もしくは消失しない条件の設定に努めた. まず, ICG 色素をアセトン溶媒に攪拌し, 1 か月間 -80℃ に保存後, 上記検出方法によって蛍光が同様に検出できることを確認した. 我々が用いた組織の固定方法であるアセトン凍結置換法は, 組織を急速凍結法で物理的に固定した後, 氷点以下の低温で氷がアセトンに溶ける性質を利用して, -80℃ に保ったアセト

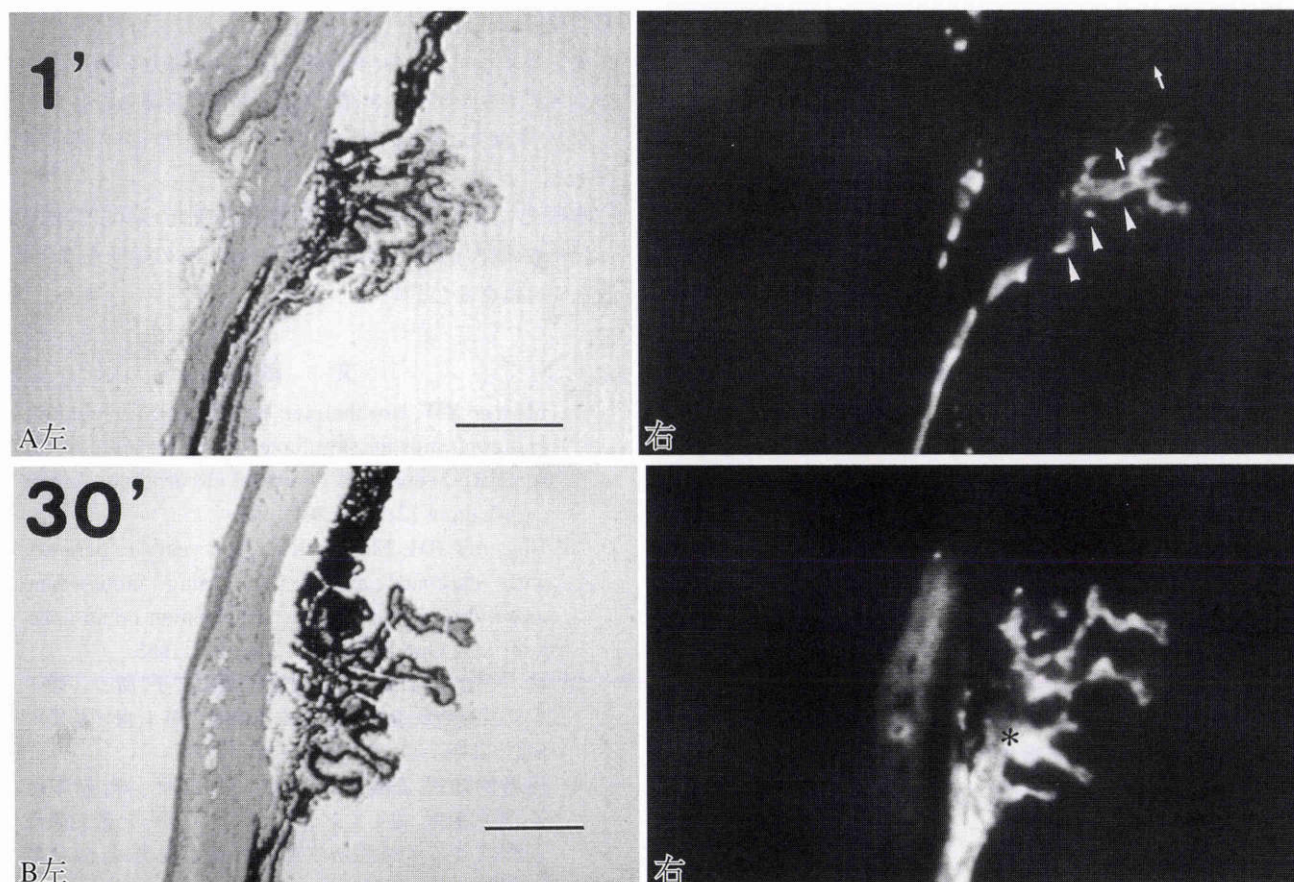


図5 正常の虹彩および毛様体(ICG 静注後 A:1分, B:30分).

A: 左が光学顕微鏡写真, 右が左の組織の ICG 局在を示す蛍光写真. 組織内の ICG 局在は, 静注後 1 分では ICG は主に虹彩血管内(→)および毛様体毛細血管内あるいはその周囲にみられる(矢じり). バーは 250 μ m
B: 左が光学顕微鏡写真, 右が左の組織の ICG 局在を示す蛍光写真. 静注後 30 分, ICG は虹彩血管からは漏出せず, 虹彩実質内に ICG はみられなかった. 毛様体毛細血管からは ICG は血管外へ漏出し, 毛様体実質(*印)にその蛍光が観察された. 強膜にも蛍光がみられたが, 後房内および硝子体内には ICG の蛍光が観察されなかった. バーは 250 μ m

ン中に凍結資料を 2 日間静置し, 脱水と同時にアセトンによる化学固定を行ったもので, 組織内の諸構造を氷の中にとじこめたまま化学的に固定する方法である²⁰⁾. 最近, Chang ら¹⁰⁾はサル眼および人眼を用い, 同様に ICG の組織内局在を報告した. 彼らは凍結乾燥法で組織を脱水後, パラフィンで包埋して切削し, 我々とほぼ同様の装置で ICG の蛍光を検出している. 凍結乾燥法では組織は化学固定されておらず, その後, 溶解したパラフィンを組織に浸透させる段階で, 血管内の ICG を血管外に拡散させる可能性がある. さらに, 溶解させたパラフィンの熱で, 非結合型の ICG の物性が変化し蛍光が検出し難くなる可能性がある. 一方, 我々の方法は, ICG 静注直後には図 1 のごとく血管内にのみに ICG 色素が固定されていた. このことから, 2 日間のアセトン凍結置換中に ICG 色素が組織内移動や拡散がなく, ICG の組織内局在を適確に検出し得る方法であることが示された. しかしながら, 凍結切片の切削時に太い血管内の凍結血液が組織切片から欠落することがあり, 血管内の ICG 蛍光輝度と組織中の ICG 蛍光輝度と定量比較するには適さないと思われた.

ICG の投与量は, 本実験装置において組織内で明瞭な ICG 蛍光像が得られる投与量, すなわち, 25 mg/kg を用いた. この投与量は臨床的に我々が人眼に用いている投与量 1 mg/kg の 25 倍に当たる. ICG の大量投与を行うと ICG の血中消失率と動脈の蛍光輝度の減衰に解離がみられ, 血中 ICG 濃度は指数関数的に減少するのに対し, 蛍光輝度は ICG 静注後約 20 分に最大になり, その後プラトーになると報告²¹⁾されている. 通常の投与量 1 mg/kg では造影晩期には血管内の蛍光が減弱して, 血管が陰影像としてみられる²²⁾のに反し, 本実験での ICG 蛍光眼底造影においては血管内に蛍光がみられた. 投与量の違いによる ICG 局在を調べるため, 上記したように大量投与と通常量である少量投与を行って両者の局在の違いを調べたところ, 組織内の ICG は投与量による蛍光輝度の違いはみられたが, その組織内の局在には明らかな違いはみられなかった. それで, その後の実験では大量投与を行った.

眼血液関門には, 血液と網膜の間の血液網膜関門 (blood-retinal barrier, BRB) がある. BRB は, 内側血液

網膜関門として網膜毛細血管内皮細胞と外側血液網膜関門として網膜色素上皮が働いている。内皮細胞および上皮細胞にはその細胞間に閉鎖接合(tight junction)があって、バリアー機能を担っている²³⁾。ICG 静注直後から 30 分まで網膜血管内には ICG がみられたが、血管外、すなわち、網膜実質には ICG はみられなかった。一方、脈絡膜では、静注後 10 秒は脈絡膜の血管内のみ蛍光がみられたが、静注後 1 分には脈絡膜毛細管板とその周囲に ICG が広がっており、ICG は脈絡膜毛細管板から血管外に漏出することが示された。血管外に漏出した ICG は脈絡膜実質を内層から中層に拡散した。ICG は脈絡膜の中大血管からは血管外へ漏出しなかった。静注後 30 分になると、ICG は脈絡膜全体にびまん性に拡散し、さらには強膜内層にまで広がった。しかし、網膜色素上皮を越えて網膜内に ICG の蛍光がみられることはなく、網膜血管および網膜色素上皮はフルオレセインに対してと同様、ICG に対してもバリアー機能を示した。これは、基本的には ICG の眼内動態はフルオレセインのそれと同様であることが明らかになった。フルオレセインと異なるのは、フルオレセインが静注後 10 秒で脈絡膜実質全体に拡散した²⁴⁾のに比較し、ICG 粒子が脈絡膜実質全体に拡散するには約 20 分と非常に遅かった。さらに、虹彩および毛様体では、ICG は虹彩血管から虹彩実質へ血管外漏出しなかったが、ICG は毛様体毛細血管から毛様体実質にびまん性に広がっていた。しかし、後房内には ICG の蛍光はみられなかった。

これらの実験結果に基づいて、正常状態での ICG 蛍光眼底造影所見を読影すると、眼底全域にみられるびまん性のベール状蛍光は、造影早期、少なくとも脈絡膜毛細管板から漏出した ICG が脈絡膜実質内にあまり拡散していない静注後 1 分以内には、このベール状蛍光は脈絡膜毛細管板内へ流入した ICG の蛍光によるものと思われる。一方、造影晚期、静注後 20 分のびまん性蛍光は脈絡膜毛細管板から漏出した ICG が脈絡膜実質全体に拡散し、貯留していたものが示されていると思われる。

血管内皮細胞および白血球は ICG と親和性のある組織として報告²⁵⁾²⁶⁾されている。本実験においても脈絡膜血管内壁が過蛍光を示した。また、Chang ら¹⁰⁾は ICG が網膜色素上皮細胞内へ取り込まれることを示した。我々の結果でも網膜色素上皮および Bruch 膜の部位に蛍光をみたが、ICG が色素上皮細胞内か、細胞外か判定はできなかった。

本実験結果から、網膜血管、虹彩血管と脈絡膜中大血管、網膜色素上皮および毛様体上皮はフルオレセインに対してと同様、ICG に対しても眼血液関門を示し、一方、脈絡膜毛細管板および毛様体毛細血管からは ICG が血管外漏出することがわかった。これら正常状態における眼内の ICG の局在および時間経過が明らかとなったことは、ICG 蛍光眼底造影所見の読影の根拠に寄与するも

のである。

稿を終えるに当たり、本実験に多大なご協力を頂いたトブコンメデイカルジャパン(株)大塚 徹氏に深謝いたします。

なお、本論文は第 98 回日本眼科学会総会(横浜)の講演要旨である。

本研究には文部省科学研究費奨励研究(A)05771453(田上)、一般研究(B)05454478, 07557265(宇山)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) Bischoff PM, Flower RW: Ten years experience with choroidal angiography using indocyanine green dye. A new routine examination or an epilogue? *Doc Ophthalmol* 60: 235—291, 1985.
- 3) 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: 186—193, 1981.
- 4) 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.
- 5) 松永裕史, 安藤 彰, 松原 孝, 福島伊知郎, 高橋寛二, 大熊 紘, 他: 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—病理組織標本との対比—第 1 報—. *日眼会誌* 101: 12—18, 1997.
- 6) 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.
- 7) Lee BL, Lim JI, Grossniklaus HE: Clinicopathologic features of indocyanine green angiography-imaged, surgically excised choroidal neovascular membranes. *Retina* 16: 64—69, 1996.
- 8) 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.
- 9) 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.
- 10) Chang AA, Morse LS, Handa JT, Morales RB, Tucker R, Hjelmeland L, et al: Histologic Localization of indocyanine green dye in aging primate and human ocular tissues with clinical angiographic correlation. *Ophthalmology* 105: 1060—1068, 1998.
- 11) Landsman MLJ, Kwant G, Mook GA, Zijlstra WG: Light-absorbing properties, stability, and

- spectral stabilization of indocyanine green. *J Appl Physiol* 40: 575—583, 1976.
- 12) **Flower RW, Hochheimer BF**: Indocyanine green dye fluorescence and infrared absorption choroidal angiography performed simultaneously with fluorescein angiography. *Johns Hopkins Med J* 138: 33—42, 1976.
- 13) **Ashton N, Cunha-Vas JG**: Effect of histamine on the permeability of the ocular vessels. *Arch Ophthalmol* 73: 211—220, 1965.
- 14) 上野聡樹, 石郷岡 均, 平田 昭, 安淵幸男, 西川昌子, 仁平美果, 他: 血液眼関門についての研究—機能と形態の接点, その研究法の開発—第 1 部 血液—網膜関門構成細胞における機能関連酵素の局在および細胞膜表面荷電の barrier 機構関与について. *日眼会誌* 92: 1913—1960, 1988.
- 15) **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.
- 16) **Baker KJ**: Binding of sulfobromophthalein (BSP) sodium and indocyanine green (ICG) by plasma α_2 lipoproteins. *Proc Soc Exp Biol Med* 122: 957—963, 1966.
- 17) 小林教雄: 正常ヒト血清蛋白と ICG の結合について. *日消会誌* 75: 306—314, 1978.
- 18) 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, 赤外蛍光眼底ビデオ装置を用いた方法—. *日眼会誌* 100: 617—623, 1996.
- 19) **Yoneya S, Noyori K**: Improved visualization of the choroidal circulation with indocyanine green angiography. *Arch Ophthalmol* 111: 1165—1166, 1993.
- 20) 市川 厚: 凍結置換法. *日本電子顕微鏡学会関東支部(編): 電子顕微鏡試料作製法 2 版*. 丸善, 東京, 302—304, 1991.
- 21) **Mordon S, Devosisselle JM, Soulie-Begu S, Desmettre T**: Indocyanine green: Physicochemical factors affecting its fluorescence *in vivo*. *Microvasc Res* 55: 146—152, 1998.
- 22) **Yoneya S, Komatsu Y, Mori K, Deguchi T, Saitoh T, Young-Duvall J**: The improved image of indocyanine green angiography in young healthy volunteers. *Retina* 18: 30—36, 1998.
- 23) **Hogan MJ, Alvarado JA, Weddell JE**: Cell junctions. In: *Histology of the human eye* (Ed): WB Saunders, Philadelphia, 41—44, 1971.
- 24) 大田 実, 塚原 勇: 蛍光眼底造影に関する基礎的研究 I. *日眼会誌* 75: 172—179, 1971.
- 25) **Flower RW**: Binding and extravasation of indocyanine green dye. *Retina* 14: 283—284, 1994.
- 26) **Matsuda N, Ogura y, Nishiwaki H, Miyamoto K, Matsubara T, Kiryu J, et al**: Visualization of leucocyte dynamics in the choroid with indocyanine green. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 37: 2228—2233, 1996.