

## 特発性黄斑円孔における網膜表面からの摘出組織

向野 利寛, 加藤 博彦, 武末 佳子

福岡大学筑紫病院眼科

### 要 約

**目 的**：特発性黄斑円孔に対する硝子体手術中に網膜表面から摘出した透明な組織のうち、電子顕微鏡観察が可能であった症例で、病理組織学的検討を行った。

**対象と方法**：1994年6月からの5年間に福岡大学筑紫病院眼科で硝子体手術を行った特発性黄斑円孔43眼のうち、術中摘出した組織を電子顕微鏡で観察できた8例8眼を対象とした。手術は3ポート硝子体手術を行い、後部硝子体剝離を作製して剝離した硝子体を切除後、マイクロフック針を用いて黄斑円孔周囲の網膜表面から透明な組織を剝離した。その後、液-空気置換、SF<sub>6</sub>ガス注入を行った。

**結 果**：摘出組織はすべて手術用顕微鏡下で透明であり、丸くなる傾向にあった。病理組織学的検索では、摘

出組織の厚さは2~6.5 μmであり、その構成主体は細胞外マトリックスであったが、6眼で2型膠原線維が、2眼で一部に基底膜様構造が観察された。細胞成分はほとんどなかった。この8例8眼全例で黄斑円孔は初回手術で閉鎖した。術後視力が2段階以上上昇したのは4眼、不変は4眼、悪化はなかった。

**結 論**：黄斑円孔周囲の網膜表面から除去した透明な組織はほとんどが細胞外マトリックスであり、網膜表面の残存硝子体が主体と考えられた。(日眼会誌 105 : 696-700, 2001)

**キーワード**：特発性黄斑円孔, 摘出組織, 硝子体手術, 内境界膜, 電子顕微鏡

## Histopathological Examination of Tissues Removed from the Retinal Surface during Vitrectomy in Idiopathic Macular Holes

Toshihiro Kono, Hirohiko Kato and Yoshiko Takesue

Department of Ophthalmology, Fukuoka University Chikushi Hospital

### Abstract

**Purpose** : We examined electron microscopically the tissues removed from the retinal surface in cases with idiopathic macular holes.

**Materials and Methods** : We performed vitrectomy for idiopathic macular holes in 43 eyes from June 1994 to December 1998 at Fukuoka University Chikushi Hospital. The removed tissues were evaluated with transmission electron microscope in only 8 of the 43 eyes. All cases underwent 3 port vitrectomy. After occurrence of posterior vitreous detachment, epiretinal tissues were removed around the macular hole using a micro-hoock needle.

**Results** : All tissues were transparent under an operating microscope, and they curled naturally. Histopathological examination showed that the removed tissues were from 2 to 6.5 μm thick. All tissues were composed mainly of extracellular ma-

trix. There were type 2 collagen fibers in 6 eyes and basement membrane-like structures in 2 eyes. There were few cell components. All cases had the macular hole closed by the first surgery. Four eyes had improved visual acuities of more than 2 lines. The remaining 4 eyes had the same visual acuity as before the operation.

**Conclusion** : Residual vitreous on the retinal surface was the main component of the transparent tissues removed from the retinal surface during vitrectomy. (J Jpn Ophthalmol Soc 105 : 696-700, 2001)

**Key words** : Idiopathic macular hole, Removed tissues, Vitrectomy, Inner limiting membrane, Electron microscope

別刷請求先：818-8502 筑紫野市俗明院 377-1 福岡大学筑紫病院眼科 向野 利寛  
(平成11年12月28日受付, 平成13年4月9日改訂受理)

Reprint requests to: Toshihiro Kono, M. D. Department of Ophthalmology, Fukuoka University Chikushi Hospital, 377-1 Zokumyoin, Chikushino 818-8052, Japan

(Received December 28, 1999 and accepted in revised form April 9, 2001)

## I 緒 言

1991 年, Kelly ら<sup>1)</sup>が黄斑円孔を硝子体手術により閉鎖できると報告して以来, 特発性黄斑円孔に対する硝子体手術が積極的に行われている。黄斑円孔を硝子体手術で確実に閉鎖させるために, T 細胞ベータ成長因子 (transforming growth factor- $\beta$ , TGF- $\beta$ ) の円孔底への塗布や円孔底の網膜色素上皮細胞の搔爬など種々の方法が採られてきた<sup>2)3)</sup>。

最近, 黄斑円孔周囲の内境界膜を剝離すると, 黄斑円孔の閉鎖がより確実になるとの報告がみられ, 内境界膜剝離術として積極的に内境界膜を剝離する試みがなされている<sup>4)~6)</sup>。

内境界膜は光学顕微鏡的に網膜の最内層にみられる一層の無構造層で, 電子顕微鏡的にはミュラ細胞の基板である<sup>7)</sup>。基板は上皮細胞と結合組織の境目に上皮細胞により形成される均一な膜組織であり, 透明層, 緻密層, 線維網状層の 3 層から成る。基底膜の緻密層は免疫組織学的に 4 型膠原線維やラミニン, フィブロネクチンなどが証明されており, 電子顕微鏡学的には 4 型膠原線維がラミニンやプロテオグリカンなど他の細胞外マトリクスと網目構造を作って, それが層状に重なって作られている<sup>8)</sup>。内境界膜も同様の 3 層構造を呈し, ミュラ細胞により形成され, 網膜の一部である。内境界膜を無理に剝離することは, 網膜を障害する可能性が高い。

特発性黄斑円孔の硝子体手術中に網膜表面から摘出した組織の病理組織学的観察を行った報告では, Yoon ら<sup>9)</sup>は 12 眼中 11 眼で内境界膜がみられたと述べ, Eckardt ら<sup>10)</sup>は内境界膜と一緒に網膜グリア細胞を観察している。意図的内境界膜剝離を行わない通常の硝子体手術を行って採取した組織の検討では, Smiddy ら<sup>11)</sup>は細胞成分に乏しい内境界膜もみられたと報告し, Sadda ら<sup>12)</sup>は採取した組織の約 21% で内境界膜の断片がみられたと報告しており, 黄斑円孔に対する硝子体手術中に内境界膜と一緒に除去される可能性がある。

我々は黄斑円孔に対する治療において, 意図的な内境界膜剝離を行わず, 黄斑周囲網膜上から硝子体牽引を十分に除去することを目標として硝子体手術を行ってきた。そこで, 術中に網膜表面から摘出した透明な組織のうち, 電子顕微鏡で観察できた症例で病理組織学的検討を行ったので報告する。

## II 対象および方法

対象は, 1994 年からの 5 年間に福岡大学筑紫病院眼科で初回硝子体手術が行われた特発性黄斑円孔 43 例 43 眼のうち, 術中に摘出した組織を電子顕微鏡で観察できた 8 例 8 眼で, stage II が 1 眼, 他はすべて stage III であった。術前に黄斑周囲に網膜上膜が観察された症例は除外した。年齢は 44~77 歳 (平均 62.1 歳), 男性 3 例 3

眼, 女性 5 例 5 眼。術後の経過観察期間は 7~36 か月 (平均 21.4 か月)。同期内に硝子体手術を行った特発性黄斑円孔 43 例 43 眼のうち, 40 眼 (93%) で円孔は初回手術で閉鎖した。手術方法は, 3 ポートを作製後, 強膜創周囲の硝子体を切除し, さらに眼底後極へ向かって硝子体切除を行った。その後, 22 ゲージ注射針で作製したマイクロフック針を用いて, 網膜表面で硝子体を引っかけて後部硝子体剝離を作製した。剝離した硝子体を硝子体カッターで切除した後, 再度マイクロフック針で網膜表面を触って透明な組織を剝離し, 眼内鑷子で把持してなるべく広く除去した。除去範囲は円孔周囲からアーケード血管近くまで行い, その後, ソフトチップ付きフルート針を円孔部の網膜上に近づけて円孔が閉鎖するのを確認した。液-空気置換を灌注圧 30 mmHg で行い, 3 ポート部を縫合閉鎖後, SF<sub>6</sub>ガスを 1.0~1.5 ml 注入して手術を終了した。

摘出組織は眼内鑷子に付けたままで, 直ちに 3% グルタル・0.1 M カコジル酸緩衝液に浸した。約 48 時間後に 1% オスミウム酸・0.1 M カコジル酸緩衝液で 2 時間後固定を行った後, アルコール系列で脱水してエポキシ樹脂に固定した。切片は超ミクロトームで作製し, 薄切片はトルイジンブルー染色を施して光学顕微鏡観察に供した。超薄切片は酢酸ウラニールとクエン酸鉛で二重染色を行った後, 電子顕微鏡観察を行った。

## III 結 果

今回の検討対象 8 例 8 眼はすべて 1 回の手術で黄斑円孔は閉鎖し, 経過観察中に円孔の再開はなかった。術後視力が 2 段階以上上昇したのは 4 眼, 不変は 4 眼, 悪化はなかった (表 1)。今回の手術症例 43 眼中, 術中確実に網膜表面から透明な組織を剝離, 摘出できたのは対象 8 眼を含む 33 眼であった。

網膜表面から摘出された組織はすべて手術用顕微鏡下で透明であり, 眼内鑷子の先端で丸くなる傾向にあった。光学顕微鏡で観察すると, 均一無構造で同じ厚さの細長い組織が観察される場合 (図 1) と厚さの異なる組織が混在して観察できる場合 (図 2) があったが, その主体は細胞外マトリクスであり, 細胞成分はほとんどみられなかった。電子顕微鏡で観察すると, 大部分は無定形物質 (図 3) であった。拡大して観察すると, 時に網目様構造 (図 4) がみられ, 4 型膠原線維を含む基底膜様構造と考えられた。しかし, 大部分の摘出組織は無定形物質で構成され, 細かい線維構造がみられる部位と無定形物質がみられる部位 (図 5) も混在していたが, 基底膜様構造はみられなかった。一部では, 無定形物質とともに膠原線維 (図 6) が観察された。この膠原線維は直径約 3~5 nm で, 時に 20 nm 前後の横紋構造を持っており, 2 型膠原線維, すなわち硝子体線維と同定した。今回観察した摘出組織の厚さは 2.0~6.5  $\mu\text{m}$  であった。全症例の

表 1 全症例の観察結果

患者	年齢/性別	stage	術前視力	2型 膠原線維	基底膜 様構造	無定形 物質	細胞 成分	術後 最高視力
1	56/男	2	1.2	+	+	+	-	1.2
2	71/女	3	0.09	-	+	+	-	0.4
3	77/女	3	0.1	+	-	+	-	0.5
4	48/女	3	0.4	+	-	+	-	1.2
5	62/女	3	0.3	+	-	+	-	0.6
6	44/女	3	0.4	+	-	+	+	0.5
7	71/男	3	0.1	-	-	+	-	0.1
8	68/男	3	0.2	+	-	+	-	0.2



図 1 症例 2 の摘出組織の光学顕微鏡写真(トルイジンブルー染色)。

ほぼ均一無構造な組織が観察される。細胞成分はみられない。バーは 100  $\mu\text{m}$

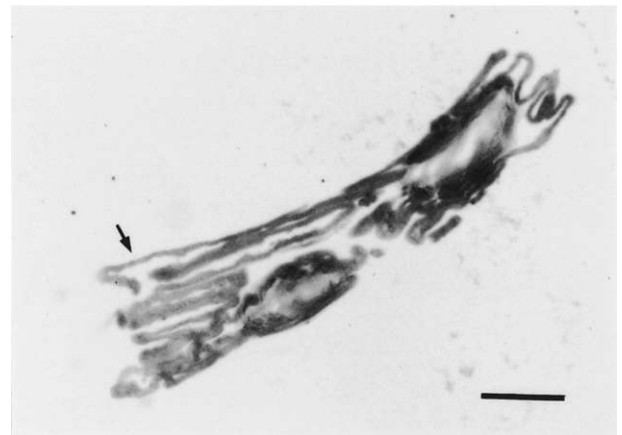


図 2 症例 1 の摘出組織の光学顕微鏡写真(トルイジンブルー染色)。

厚さが異なる無構造な組織が観察される。細胞成分はみられない。バーは 100  $\mu\text{m}$

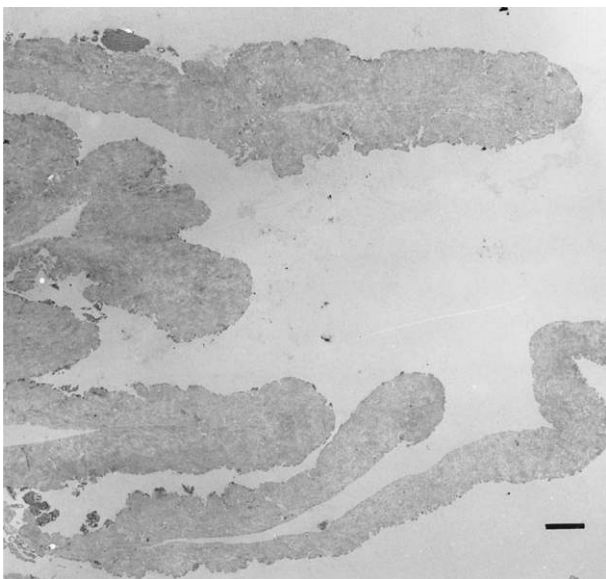


図 3 図 2 の矢印部の電子顕微鏡写真。

均一無構造物が重なっている。バーは 5  $\mu\text{m}$

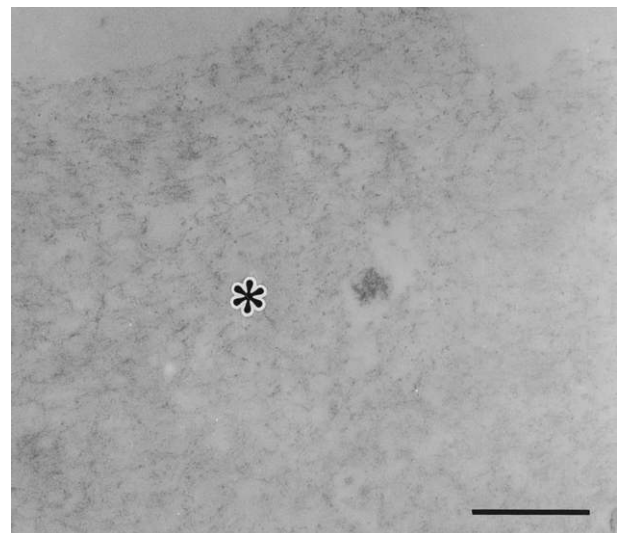


図 4 図 1 の電子顕微鏡写真。

無構造物とともに網目様構造(\*)を示す基底膜様構造がみられる。バーは 1  $\mu\text{m}$

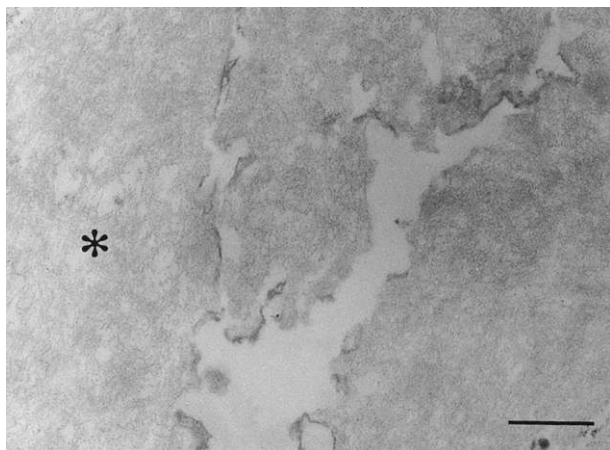


図 5 図 3 の拡大電子顕微鏡写真。

大部分は無構造であるが、一部に線維様構造(\*)が観察される。バーは 1 μm

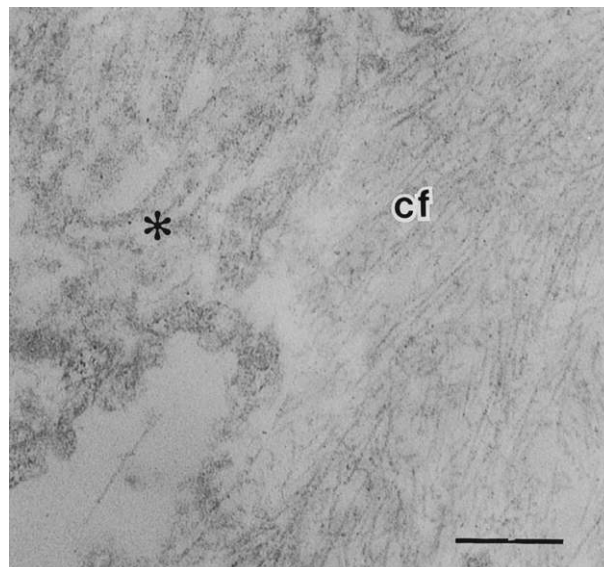


図 6 症例 4 の摘出組織の電子顕微鏡写真。

無構造物(\*)とともに硝子体線維(cf)が観察される。基底膜様構造はみられない。バーは 1 μm

観察結果を表 1 に示す。

#### IV 考 按

特発性黄斑円孔に対する硝子体手術を行った症例で、網膜表面から除去した組織を電子顕微鏡で観察した。網膜表面からの摘出組織は 2 型膠原線維と無定形物質を主体とする細胞外マトリックスであり、明らかな内境界膜はみられなかった。

最近、確実な円孔閉鎖のために意図的に内境界膜を剝離するとの報告<sup>4)~6)</sup>がみられる。しかし、内境界膜はミュラ細胞の基板であり、網膜の一部である。内境界膜の欠損はミュラ細胞の網膜上への増殖と密接に関わることが知られている<sup>13)14)</sup>。内境界膜を広範囲に傷つけることは網膜に傷害を与える可能性がある。しかし、今回の観察から網膜表面の組織を剝離、除去しても内境界膜はほとんど傷害されないと考えられた。ただ、内境界膜に小切開を加えて剝離、除去した網膜上組織では、多くの症例で内境界膜とともに細胞成分がみられたとの報告<sup>9)</sup>がある。今回観察できた網膜表面の組織と内境界膜剝離術で摘出する組織とは異なる可能性も考えられる。

黄斑円孔に対する治療は黄斑円孔の発生機序とも関連する。Gass<sup>15)</sup>は黄斑中心窩前の濃縮した硝子体による接線方向の牽引がその原因とし、Guyer ら<sup>16)</sup>は拡大した黄斑前 bursa 内での液成分の動きが黄斑中心窩表面に残った硝子体による牽引を惹き起こすと述べている。いずれにしても、黄斑円孔の成因は網膜表面の硝子体による接線方向の牽引がその主体を成すと考えられ、無理に内境界膜を除去する必要はないと考えられる。Lewis ら<sup>17)</sup>は自作した器具を使って網膜表面から丁寧に膜様組織を除去することにより良好な手術成績を報告している。今回の観察でも、明らかな内境界膜は観察されておらず、無理に内境界膜を剝離しなくとも後部硝子体剝離作製後も残存する網膜表面の硝子体を十分に除去することによ

り円孔の確実な閉鎖が期待できると考えられた。ただ、内境界膜の構成主体である 4 型膠原線維を電子顕微鏡のみで証明することは困難である。今回の症例でも一部で網目構造を呈する基底膜様構造が観察されており、手術により内境界膜の一部が網膜表面の残存硝子体とともに剝離される可能性も否定できない。

今回の観察結果から、手術により網膜表面から透明な組織を剝離除去した場合、その採れ方に 2 通りあると考えられた。すなわち、硝子体線維と無定形物質で構成される場合と基底膜様構造を含む場合である。網膜硝子体境界面での硝子体線維と内境界膜との関係は未だ明らかでないが、硝子体線維は内境界膜に接触していたり、内境界膜の緻密層と混在してみられることが知られており<sup>7)</sup>、網膜硝子体癒着が強い場合は硝子体線維を剝離したのみでも一緒に内境界膜の一部が剝離される可能性がある。また、摘出眼球でみられた網膜上膜が細胞成分とともに分離した内境界膜で構成されていた報告<sup>18)</sup>もあり、加齢とともに肥厚した内境界膜の硝子体側では層状に重なる網目状構造相互の接着が弱くなり、硝子体とともに内境界膜の一部が剝離される可能性も考えられる。

今回観察した 8 眼全例で無定形物質が観察された。電子顕微鏡的に観察される無定形物質は、化学的にはコンドロイチン硫酸やヒアルロン酸などのムコ多糖類といわれている。しかし、今回は電子顕微鏡観察のみであり、無定形物質の同定はできなかった。ただ、網膜-硝子体境界面では正常眼でも染色方法によりヒアルロン酸など通常の染色方法では観察困難な物質が確認されており<sup>19)</sup>、硝子体を構成する物質の一部が濃縮して観察された可能性も考えられた。

稿を終えるに当たり、ご校閲いただいた九州大学医学部眼

科学教室猪俣 孟教授ならびに福岡大学眼科学教室大島健司教授に深謝いたします。

### 文 献

- 1) **Kelly NE, Wendel RT** : Vitreous surgery for idiopathic macular holes. *Arch Ophthalmol* 109 : 654—659, 1991.
- 2) **Glaser BM, Michels RG, Kuppermann BD** : Transforming growth factor/beta 2 for the treatment of full-thickness macular holes : A prospective randomized study. *Ophthalmology* 99 : 1162—1172, 1992.
- 3) **直井信久, 松浦義史, 新井三樹** : 全層性黄斑円孔に対する硝子体手術式の改良. *臨眼* 48 : 1989—1994, 1994.
- 4) **Witherspoon CD, Morris R, Fivgas GD, Nelson S, Mayne R** : Internal limiting membrane removal in the management of idiopathic macular hole [ARVO Abstract]. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 40 (4)s 114 : Abstract nr 616, 1999.
- 5) **北岡 隆, 大庭啓介, 宮村紀毅, 雨宮次生** : 内境界膜除去を行った特発性黄斑円孔手術. *臨眼* 53 : 899—901, 1999.
- 6) **Brooks L** : Inner limiting membrane peeling in full-thickness macular hole surgery. *Vitreoretinal Surg Technol* 7 : 2, 1995.
- 7) **Hogan MJ, Alvarado JA, Weddell JE** : Retina. In *histology of the human eye*. WB Saunders, Philadelphia, 488—490, 1971.
- 8) **Inoue S** : Ultrastructure of basement membranes. *Int Rev Cytol* 117 : 57—98, 1989.
- 9) **Yoon HS, Brooks HL, Capone Jr A, L'hernault NL, Grossniklaus HE** : Ultrastructural features of tissue removed during idiopathic macular hole surgery. *Am J Ophthalmol* 122 : 67—75, 1996.
- 10) **Eckardt C, Eckardt U, Groos S, Luciano L, Reale E** : Removal of the internal limiting membrane in macular holes. *Ophthalmologe* 94 : 545—551, 1997.
- 11) **Smiddy WE, Michels RG, de Bustros S, de la Cruz Z, Green WR** : Histopathology of tissue removed during vitrectomy for impending idiopathic macular holes. *Am J Ophthalmol* 108 : 360—364, 1989.
- 12) **Sadda SR, Campochiaro PA, de Juan E, Haller JA, Green WR** : Histopathological features of vitreous removed at macular hole surgery. *Arch Ophthalmol* 117 : 478—484, 1999.
- 13) **Miller B, Miller H, Ryan SJ** : Experimental epiretinal proliferation induced by intravitreal red blood cells. *Am J Ophthalmol* 102 : 188—195, 1986.
- 14) **Kono T, Kohno T, Inomata H** : Epiretinal membrane formation—light and electron microscopic study in an experimental rabbit model—. *Arch Ophthalmol* 113 : 359—363, 1995.
- 15) **Gass JDM** : Reappraisal of biomicroscopic classification of stages of development of a macular hole. *Am J Ophthalmol* 119 : 752—759, 1995.
- 16) **Guyser DR, Green WR** : Idiopathic macular holes and precursor. In : Franklin RM (Ed) : *Proceeding of the symposium on retina and vitreous*, New Orleans Academy of Ophthalmology. New Orleans, La Kugler Publications, 135—162, 1993.
- 17) **Lewis JM, Park I, Ohji M, Saito Y, Tano Y** : Diamond-dusted silicone cannula for epiretinal membrane separation during vitreous surgery. *Am J Ophthalmol* 124 : 552—554, 1997.
- 18) **Clarkson JG, Green WR, Massof D** : A histopathologic review of 168 cases of preretinal membrane. *Am J Ophthalmol* 84 : 1—17, 1977.
- 19) **Rhodes RH** : An ultrastructural study of the complex carbohydrates of the mouse posterior vitreoretinal juncture. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 22 : 460—477, 1982.