

クリプトンおよびアルゴンレーザー光凝固の  
網脈絡膜に対する効果  
網膜下出血による影響 (図10)

大木 隆太郎・野 寄 喜美春 (埼玉医科大学眼科)

Effects of Argon and Krypton Laser Photocoagulation  
on Chorioretinal Lesions with Subretinal Hemorrhage

Ryutaro Ohki and Kimiharu Noyori

Department of Ophthalmology, Saitama Medical School

要 約

サル眼の網膜に Q スイッチ Nd-YAG レーザーを照射し、網膜下出血の実験モデルを作製した。網膜下出血作製直後に、クリプトンおよびアルゴンレーザー光を用いて光凝固を行った。両レーザーの条件は、凝固時間 0.2秒、スポットサイズ200 $\mu$ m、出力150mW および250mW とした。凝固直後および一週間後に眼球を摘出し、組織学的に検討した。その結果、今回の凝固条件下では、アルゴンは網膜下出血層の厚みが0.2~0.4mm の場合、出血部にエネルギーが吸収されて、上方網膜に強い侵襲を与えるが、色素上皮層以下には凝固効果は全く認められなかった。しかし、クリプトンでは網膜下出血を透過して、色素上皮層、脈絡膜に凝固効果が認められた。(日眼91:213-219, 1987)

キーワード：アルゴンレーザー、クリプトンレーザー、網膜下出血、Nd-YAG レーザー、組織

Abstract

Clinical studies suggested that krypton red laser photocoagulation is more effective against hemorrhagic macular diseases, eg, senile macular degeneration etc, as the krypton laser beam is poorly absorbed by xanthophyll and hemoglobin. The authors compared and discussed the histopathological effects of krypton and argon laser lesions with experimental subretinal hemorrhage in the monkey eye, created by perforating Bruch's membrane with a Q-switched Nd-YAG laser. The conditions for argon and krypton laser photocoagulation were set as follows: 0.2sec in irradiation time, 200um in spot size and 150 or 250mW in power. When subretinal hemorrhage was measured at a thickness of 0.2 to 0.4mm, argon laser photocoagulation produced in the lesion caused damage to the inner or full thickness retinal layers but no coagulation effects were observed in the retinal pigment epithelium and choroid. On the other hand, krypton laser beams transmitted through the subretinal hemorrhage caused less damage to the retina than argon laser beams and produced a definite effect at the level of the pigment epithelium and inner chorodi. It is suggested that the krypton laser photocoagulation is more effective against the lesions behind subretinal hemorrhage than argon laser photocoagulation. (Acta Soc Ophthalmol Jpn 91: 213-219, 1987)

Key words: argon laser, histology, krypton laser, subretinal hemorrhage, Nd-YAG laser

## I 緒 言

現在、網脈絡膜の光凝固に広く用いられているアルゴンレーザー光（波長：488.0nm 及び514.5nm、以後アルゴンと略）は、中間透光体での吸収や散乱が強いいため、透光体に混濁がある場合には、凝固が困難であり、かつ硝子体に吸収されて凝固後の後部硝子体剝離が起こりやすく、硝子体牽引性障害が生じることがある。また、黄斑部に存在する黄色色素（キサントフィル）に強く吸収されるので、黄斑部付近の病変の凝固では、過剰凝固による中心窩の傷害の危険がある。さらにアルゴンは、血液中のヘモグロビンにもよく吸収されるため、とくに病変部に出血が存在する際には、充分なエネルギーが出血より深部に到達しえず、凝固効果が得られない場合が多い。

一方、クリプトンレーザーの赤色光（波長：647.1nm、以後クリプトンと略）は、透光体での吸収も弱く、網膜色素上皮と脈絡膜に選択的に吸収される特徴がある<sup>1)~4)</sup>。またアルゴンに比べて、ヘモグロビンによるエネルギーの吸収が少ないため、病変部に出血が存在しても血液を透過して凝固が可能であることが経験的に指摘されている。例えば網膜静脈分枝閉塞症の光凝固の際に凝固直後、出血部に明瞭に凝固斑が見られないときでも出血の消褪後、凝固斑が認められることがある。従って出血を伴う網膜下新生血管病変の光凝固には、アルゴンよりもクリプトンが適していると考えられている<sup>5)~7)</sup>。

しかし、実際に出血の存在する際に両レーザー光の凝固効果が網脈絡膜にどのように及ぶか実験的に検討した報告は極めて少ない<sup>8)~10)</sup>。我々は出血が存在する時の、両レーザーの網脈絡膜に対する効果を確認するために、今回QスイッチNd-YAGレーザー（以後YAGと略）を用いて実験的に作製した網膜下出血に対して、両レーザーで光凝固を行い、検眼鏡および組織学的に比較検討を行った。

## II 実験方法

### 1. 実験材料

成熟ニホンザル（体重7~8kg）8頭16眼を使用した。

### 2. 実験装置

(1) 出血性網膜剝離（網膜下出血）の作製には、Coherent社Nd-YAGレーザーシステム9900を用いた。本装置の性能は、発振モード：Qスイッチ、発振波長：1,060nm、エネルギー：0~15mJ/パルスまで連続可

変、パルス幅：15nsec、集光角度：16°である。

(2) 出血部への光凝固にはCoherent社アルゴン・クリプトン光凝固装置システム920を用いた。本機は、アルゴンとクリプトンの二種を搭載し、照射時間：0.01~2.5秒、スポットサイズ：50~2,000 $\mu$ mまで連続可変でレーザー焦点方式はde-focus方式である。

### 3. 方法

#### (1) 網膜下出血の作製

凝固実験に使用する網膜下出血の作成には、成熟ニホンザルをケタラル®（塩酸ケタミン）の筋肉内注射で導入麻酔を行い、ネプタール®（ペントバルビタールナトリウム）の静脈内注射を適宜追加し、麻酔を持続させた後、ミドリリンP®（トロピカミド塩酸フェニレフリン）点眼で散瞳し、眼底にYAGレーザーを照射し、網膜下出血の実験モデルを作製した。

この時、コンタクトレンズはPeymanの広角YAGレーザー用コンタクトレンズを使用した。照射条件を出力：2.0mJ、パルス数：1に設定することで、大きさが2乳頭径で、ほぼ円形の網膜下出血を再現性よく作製することができた。

#### (2) 出血部に対する凝固条件および標本の作製

網膜下出血作製直後、Goldmann後極用コンタクトレンズを装着し、網膜下出血部周辺（正常網膜との境界部付近）にアルゴンおよびクリプトンによる光凝固を行った。凝固条件は、両レーザーともに、凝固時間が0.2秒、スポットサイズ200 $\mu$ m、出力150mWおよび250mWとした。

凝固直後に眼球を摘出し、1%グルタルアルデヒド、4%ホルムアルデヒドの混合固定液に24時間浸して固定を行い2.5%オスミウム酸燐酸緩衝液で後固定1時間を行った後、エタノール系列で脱水し、エポキシ樹脂で包埋した。標本は、Reichert Ultracut OmU4で切片を作成し、トリジンブルーで染色し、光学顕微鏡（以後光顕と略）観察用とし、凝固斑を確認した後超薄切片を作製しウラニウムと酢酸鉛の二重染色を施し、JEM-100S型透過電子顕微鏡（以後電顕と略）を使用し観察した。なお、血液層の厚みは、標本上でマイクロメーターを用いて測定した。

## III 結 果

### 1. 検眼鏡所見

作製した網膜下出血の部位に、クリプトン及びアルゴンを用いて光凝固を施行したところ、両レーザーともほぼL'EsperanceのGrade 2~3に相当する白色の

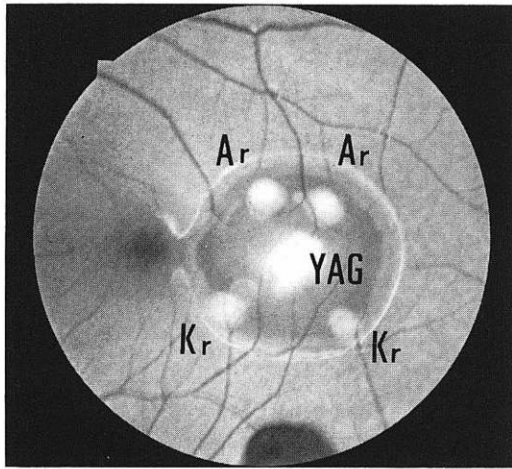


図 1

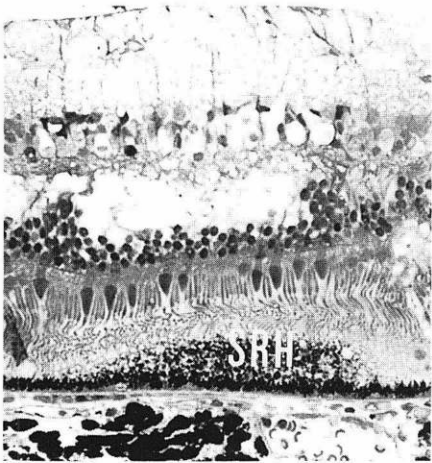


図 2

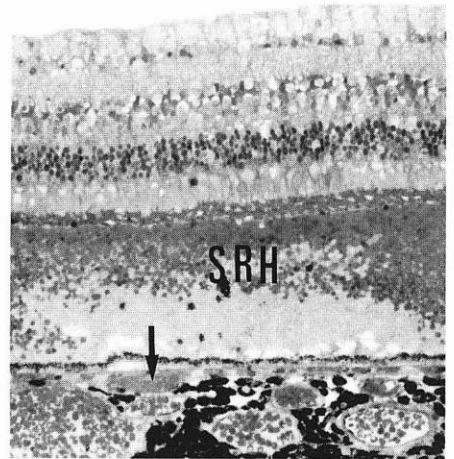


図 4

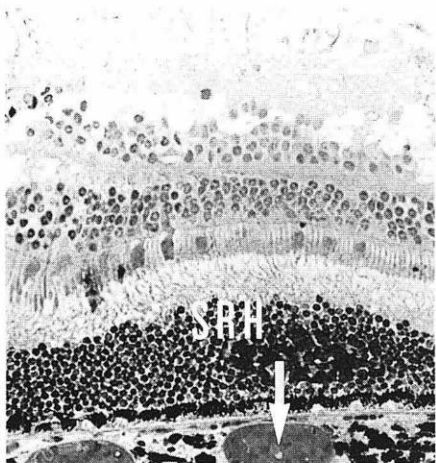


図 5

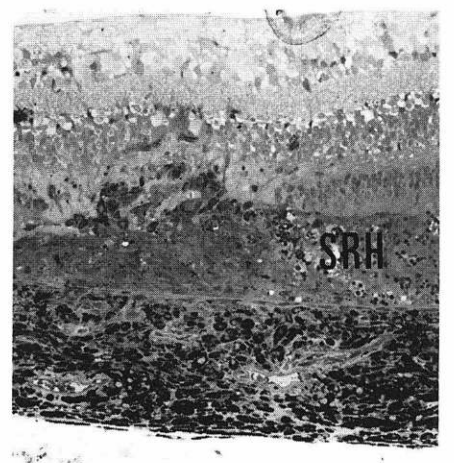


図 9

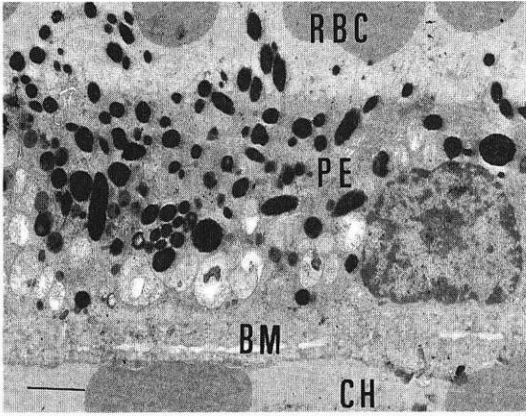


図 3

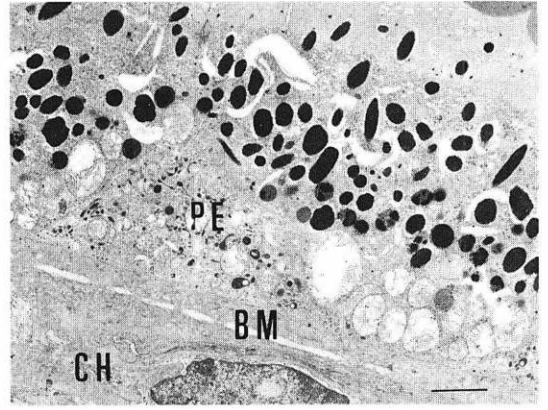


図 6

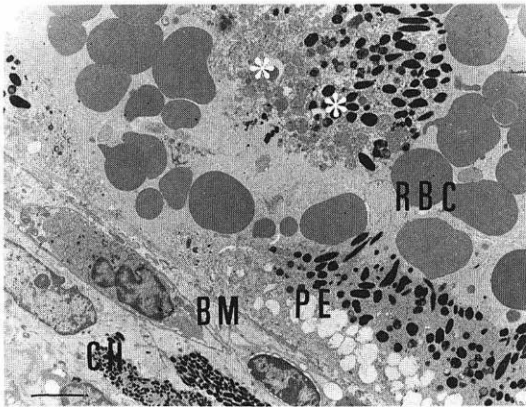


図 7

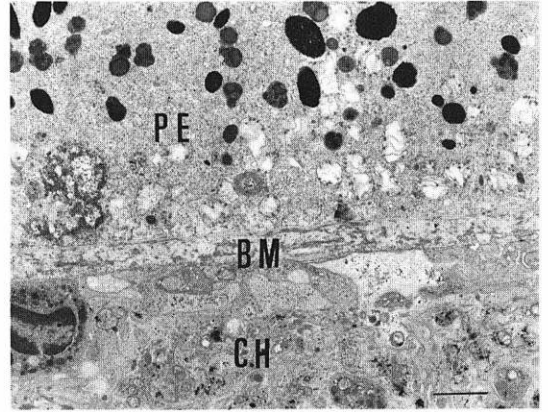


図 8

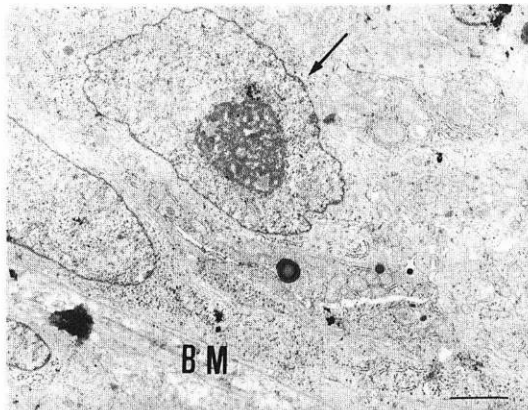


図 10

凝固斑が得られたが、クリプトンでは、Grade 2に至らないものもあった。同一凝固条件では、アルゴンによる凝固斑は凝固部網膜の内層の混濁がやや強く、凝固部の境界は不鮮明で、直径もクリプトンによる凝固斑より大きく観察された(図1)。1週間後の所見では、凝固斑は両レーザーとも境界不鮮明となり、灰白色を呈していた。

## 2. 組織学的所見

### (1) アルゴンによる凝固部位

凝固直後の光顕所見(図2)では、網膜は全層に浮腫があり、内方への膨隆が軽度に見られた。内顆粒層より外側は壊死性変化が強く、内網状層にも細胞の消失や配列の乱れは認められ、より内層では細胞間浮腫が見られた。剝離した網膜下の血液層は厚さ0.4mm以下であった。網膜神経上皮層側の血液層には、熱作用によると思われる赤血球の凝固壊死像が広範囲に見られたが、その変化はあまり深層へは及ばず、凝固変性を生じた血液層は、厚さ約0.15mm以下であった(図2)。脈絡膜の毛細血管板には閉塞した所見はなく、脈絡膜大血管にも変化がなかった。

網膜色素上皮層および脈絡膜の観察には電顕を用いた。凝固直後の電顕所見(図3)では、網膜色素上皮の細胞頂上面は著変なく、網膜下出血部における非凝固部の色素上皮層の電顕所見と相違は見られず、またブルッフ膜は連続性を保ち、脈絡膜の毛細血管板も開存し、これらの部位には光凝固による変化は認められなかった。

またアルゴンによる凝固部位の1週間後の組織でも、光顕および電顕とも網膜色素上皮層および脈絡膜に著変は認められなかった。

### (2) クリプトンによる凝固部位

凝固直後の光顕所見では、標本によって、網膜の障害の程度に差がみられた。すなわちL'EsperanceのGrade 1或いは2に相当する凝固斑の得られた部位では、網膜の障害は非常に少なく、視細胞の腫大や断裂は見られたが、より内層では、大きな変化は認められなかった。網膜色素上皮側の出血層に強い変性が生じていた。また脈絡膜中血管層の血管に、血栓形成が認められた(図4)。Grade 3に相当する凝固斑の組織では、網膜全層に浮腫が認められた。とくに内顆粒層では、細胞の消失があり、それより内層にも細胞間浮腫が観察された。また外顆粒層にも細胞の消失や配列の乱れがみられ、視細胞層は内節外節ともに壊死に陥っていた。網膜下の血液層には、全層にわたり変性が認

められた。網膜色素上皮層は、光顕レベルでも断裂が観察され、脈絡膜毛細血管板には凝固の作用による閉塞像が見られた。また脈絡膜大血管層の血管に血栓形成を生じているものもあった(図5)。

電顕所見では、Grade 2の凝固においては軽度の網膜色素上皮細胞の壊死像がみられた(図6)。Grade 3の凝固では、網膜色素上皮細胞は核の濃縮、基底部の空胞化、細胞頂部の著しい乱れが認められた。また、壊死した細胞がブルッフ膜より剝離して、debrisとなった所見が随所にみられた(図7)。ブルッフ膜には、弾性線維の膨化などが見られたが、全体の膜構造および連続性は保たれていた(図8)。また、脈絡膜毛細血管板は閉塞しているものもあった。Grade 2の1週間の光顕所見では、色素上皮層は重層化しており、網膜には外網状層に色素顆粒に富む細胞の遊走がみられ、視細胞層は消失していた。脈絡膜毛細血管板は閉塞しているものと、開存しているものとが混在していた。凝固部での出血はほぼ吸収されていたが、周囲の非凝固部では、標本上で0.1~0.2mmの血液層が残存していた(図9)。

凝固後一週間の電顕所見では、ブルッフ膜のすぐ内層には、数層の細胞の増殖が認められた。これらの細胞の中には、明瞭な核小体を持ち、核は明かるくchromatinは少く、核下部胞体内には、mitochondriaが多く、全体に粗面小胞体に富むものがあり、色素上皮由来の細胞増殖と考えられた。さらに内層でも、幼若な細胞が多数見られ、所々に、色素顆粒および、より染色性の低いlysosomeと思われる顆粒が見られた。glia系の細胞増殖は著しくはなかった(図10)。

なお、凝固直後および一週間後に得られた組織には、YAGレーザーの影響と思われる変化は認められなかった。

## IV 考 按

1969年、L'Esperance<sup>2)</sup>によって、クリプトンとアルゴンの波長の相違による網脈絡膜凝固効果の差が報告されて以来、クリプトンによる光凝固が活発に行なわれてきている。特にその主発振波長のうち、比較的能率よく出力の得られる赤色光は、眼球の組織の透過性が高く、網膜色素上皮および脈絡膜に特異的に吸収され、一方、黄斑部のキサントフィルや血中のヘモグロビンに吸収され難い。このため硝子体出血によって透視しにくい糖尿病性網膜症の汎網膜光凝固や、黄斑部疾患、特に老人性円盤状黄斑部変性症に代表される、いわゆる新生血管黄斑症の治療に応用されている。し

かし新生血管黄斑症には、しばしば網膜下出血を伴うことが多く、従来のアルゴンによる凝固では血液に吸収されて、血管新生部である脈絡膜へ十分なエネルギーを到達させることが困難であり、また不十分な凝固の場合は、かえって新生血管の増殖を生ずることもある<sup>11)</sup>。一方クリプトンはキサントフィルやヘモグロビンによる吸収が少ないため、出血を伴う中心窩付近の病変にも凝固治療が可能であるとされている<sup>5)~7)</sup>。

出血部に対するアルゴン及びクリプトン両レーザーの凝固効果の比較は、Folkら<sup>8)</sup>が、サル眼を用いて網膜静脈分枝を閉塞することによって生じた網膜内出血を利用した実験を報告しているが、今回我々は、サル眼に網膜下出血を人工的に作製し、その部位へアルゴンとクリプトンによる凝固を行い両レーザーの比較を行った。

実験的網膜下出血の作製には、越生ら<sup>12)</sup>は強膜側よりマイクロピペットを刺し脈絡膜を貫いて網膜下腔に達し、自家血液の生理的食塩水希釈液を注入する方法を用いている。また井上ら<sup>9)</sup>は、有色家兎眼を用いて、毛様体扁平部から注射針を挿入し、生理的食塩水を網膜下に注入し、漿液性網膜剝離を作製した後、脈絡膜を穿刺する方法を報告している。しかしこれらの手術的方法是動物眼を傷つける恐れがある。今回のYAGを用いた方法は、短時間で直視下に網膜下出血を作製することができ、非観血的であるため、実験動物に与える侵襲が少なく、実験の円滑な進行という点でも有利なものと考えられる。さらに本法は、YAGによってブルッフ膜を破綻し脈絡膜から出血を生じさせるもので、網膜下出血のモデルとしても適したものと思われる。

実験当初は、YAGによる照射部から噴出性の硝子体出血が生じたり、あるいは十分な大きさの網膜下出血を作り得ない場合もあったが、照射条件を前述の通り設定し、安定した網膜下出血が得られるようになった。また当初は網膜下出血の安定を待ため、数日経過を観察した後アルゴンおよびクリプトンで出血部の凝固を行ったが、網膜下出血の吸収には個体差がかなりみられたため、今回の実験では、網膜下出血作製直後に出血部の凝固を行った。凝固にはYAGレーザーの影響を避けるため、網膜下出血部周辺を選んで行った。

そして、この出血部をアルゴンおよびクリプトンで凝固を行った結果を組織学的に検討した。まずアルゴンではレーザー光は網膜下出血の表層ではほぼ吸収され

るため、それに接した網膜神経上皮層の変化は強くみられたが、網膜色素上皮および脈絡膜へ到達せず、凝固効果は電顕上でもみられなかった。一方、クリプトンでは網膜下出血層を透過して網膜色素上皮および脈絡膜に吸収され、強い凝固効果を及ぼした。しかし今回の凝固条件でブルッフ膜の断裂は生じなかった。また出血性剝離を起こした網膜の変化は凝固条件が一定にもかかわらず、非常に軽い浮腫状変化から網膜全層に及ぶ強い壊死性変化までみられた。この原因として網膜下出血の性状と量、またレーザーの焦点の問題が考えられる。まず血液の性状については、L'Esperance<sup>13)</sup>やDelori<sup>14)</sup>によれば、環元ヘモグロビンと酸化ヘモグロビンの割合によって、クリプトンの血液での吸収率が3%~40%程度まで大きく変化すると報告されている。すなわち酸化ヘモグロビンが多い出血ならば、クリプトンの吸収が多く、網膜に強い侵襲を与える可能性がある。さらにFolkら<sup>8)</sup>は、実験的に4層の赤血球が密に配列した層では、クリプトンの透過率は4.8%と報告しており、網膜下の血液量が多ければ、クリプトンでも、かなりのエネルギーが吸収されることが予想される。また今回使用したクリプトンレーザー装置はde focus方式であり、焦点ずれによる凝固効果のばらつきも無視できない。

今回の実験においては、検眼鏡的にL'EsperanceのGrade 1或いは2に相当するクリプトンによる凝固斑が、組織学上、網膜色素上皮および脈絡膜への凝固効果が得られ、かつ出血層上の剝離網膜に対しての侵襲が軽度であった。このことより臨床的に、網膜下出血を伴う新生血管黄斑症に対してクリプトンによる効果的かつ侵襲の少ない凝固が可能と推測される。

#### 付図説明

図1 YAGレーザーで作製した網膜下出血部に、光凝固を行なった直後の眼底写真、上方の二つはアルゴン、下方の二つはクリプトンレーザーによる。クリプトンの凝固斑は、アルゴンより小さく、凝固部の白色の混濁も弱い。条件は、どちらも凝固時間0.2秒、凝固スポット径200 $\mu$ m、出力150及び250mW。YAG: YAG laser 照射部位

図2 アルゴンレーザー光凝固直後の光顕写真(トルイジンブルー染色 $\times 40$ )。網膜は全層強い障害を受けている。網膜下出血の深層には、変性が少ない。脈絡膜毛細血管板は開存している。SRH: subretinal hemorrhage

図3 アルゴンレーザー光凝固直後の電顕所見(ウラニウム酢酸鉛染色 $\times 6,000$ )。色素上皮層には光凝固

の熱作用による変化は及んでいない。ブルッフ膜、脈絡膜の組織にも大きな変化はない。組織にはYAGレーザーの影響は特に認められない。BM: Bruch's membrane, PE: pigment epithelium, CH: choroid, RBC: red blood cell, —: 2 $\mu$ m

図4 クリプトンレーザー光凝固直後の光顕写真(トルイジンブルー染色 $\times 40$ )。Grade 1~2の凝固の組織像。網膜の障害は少ない。脈絡膜の毛細血管板には、一部閉塞像が見られる。脈絡膜の血管に血栓形成が生じている(→)。レーザーのエネルギーは網膜色素上皮及び脈絡膜にまず吸収されてその後、より内層に影響するため網膜下の出血は深層より変性を起こしている。

図5 クリプトンレーザー光凝固直後の光顕写真(トルイジンブルー染色 $\times 40$ )。凝固効果は血液層を通して網膜色素上皮層、脈絡脈まで及んでいる。網膜色素上皮は連続性が断たれ、脈絡膜の血管に血栓形成が見られる(→)。

図6 クリプトンレーザー光凝固直後の電顕写真( $\times 6,000$ )。網膜色素上皮細胞は壊死に陥っている。—: 2 $\mu$ m。

図7 クリプトンレーザー光凝固直後の電顕写真( $\times 2,400$ )。網膜色素上皮層の著明な壊死像が見られ、一部ブルッフ膜より剥離し、debris(\*)となっている。—: 5 $\mu$ m

図8 クリプトンレーザー光凝固直後の電顕写真( $\times 6,000$ )。脈絡膜毛細血管板の閉塞像が見られる。—: 2 $\mu$ m

図9 クリプトンレーザー光凝固後1週間の光顕所見(トルイジンブルー染色 $\times 40$ )。網膜内層に増殖したと思われる色素細胞が見られ、視細胞層は消失している。非凝固部には、網膜下出血が残存している。

図10 クリプトンレーザー光凝固後1週間の電顕所見(I)( $\times 6,000$ )。ブルッフ膜より内層に色素上皮細胞と思われる変形した細胞(→)の増殖がみられる。—: 2 $\mu$ m。

## 文 献

- 1) 野寄喜美春, 清水弘一, 糸井素一: レーザ眼科学。医学書院, 東京, 1983。
- 2) L'Esperance FA: The ocular histopathologic effect of krypton and argon laser radiation. Am J Ophthalmol 68: 263—273, 1969.
- 3) 千野公久: クリプトン・アルゴンレーザーの網膜光凝固, 特に黄斑部に対する凝固効果について。埼玉医大雑誌 12: 165—174, 1985。

- 4) 加藤直子, 大隈 紘, 板垣 隆, 山岸和也, 宇山昌延: アルゴンレーザーとクリプトンレーザーの網膜脈絡膜への凝固効果の検討。1. 光凝固後早期の光学顕微鏡所見。日眼 89: 1294—1300, 1985。
- 5) Yannuzzi LA, Shakin JL: Krypton red laser photocoagulation of ocular fundus. Retina 2: 1—14, 1982.
- 6) Yannuzzi LA: Krypton red laser photocoagulation for subretinal neovascularization. Retina 2: 29—46, 1982.
- 7) Yassar Y, Axer-Siegel R, Cohen S, Svetliza E, Ben-Sira I: Treatment of neovascular senile maculopathy at the foveal capillary free zone with red krypton laser. Retina 2: 127—133, 1982.
- 8) Folk JC, Shortt SG, Kleiber PD: Experiments on the absorption of argon and krypton laser by blood. Ophthalmol 92: 100—108, 1985.
- 9) 井上一紀, 白木邦彦, 三木徳彦: 網膜下出血に対するレーザー光凝固後の組織学的検討。眼紀 36: 1379—1383, 1985。
- 10) Chino K, Ohki R, Noyori K: Comparison between krypton and argon laser photocoagulation effects in the case of subretinal hemorrhage. J.J.O. 投稿中。
- 11) Versteeg-Tijmes NT, Jong PTVH, Bos PJH, Bakker D, Greve EL, Oosting J, Nagelkerke NJD, Horst-Breetveld HM: Argon laser treatment of pigment epithelial detachments and of subretinal neovascular membranes in Junius-Kuhnt's senile disciform macular degeneration a prospective, randomized study. Graef's Arch Ophthalmol 218: 271—274, 1982.
- 12) 越生 晶: 網膜下出血の吸収過程に関する実験的研究。第1報。出血後, 早期における赤血球の貧食と消化過程について。日眼 82: 428—441, 1978。
- 13) L'Esperance FA Jr: Ophthalmic Lasers. Photocoagulation, Photoradiation, and Surgery. CV Mosby, St Louis, 1983.
- 14) Delori FC, Pomerantzeff O: Monochromatic examination and treatment. In: Freeman HM, Hirose T, Schepens CL, Ed: Vitreous Surgery and Advances Fundus Diagnosis and Treatment. Appleton-Century-Crofts, New York, 1977.