

網膜下新生血管と網膜色素上皮の関連—第2報

新生血管発育期における関連 (図7, 表1)

山岸 和矢・大熊 紘・板垣 隆 (関西医科大学眼科学教室)
加藤 直子・高橋 寛二・宇山 昌延Implication of Retinal Pigment Epithelium on Experimental Subretinal
Neovascularization in the Developmental Stage

Kazuya Yamagishi, Hiroshi Ohkuma, Takashi Itagaki, Naoko Katoh,

Kanji Takahashi and Masanobu Uyama

Department of Ophthalmology, Kansai Medical University

要 約

強いレーザー光凝固によりサル眼に作成された新生血管では、光凝固の前後にヨウ素酸ナトリウム(NaIO_3) 25mg/kg を計3回投与することで、新生血管は長く大きく進展した。これは新生血管の退縮に網膜色素上皮細胞が寄与しているためと推定された。さらに強く網膜色素上皮を障害することによる新生血管への影響を見るために、ヨウ素酸ナトリウムを、光凝固前4週から2週まで1回につき25mg/kg を計3回投与した前投与群3頭6眼48凝固と、光凝固後1週に50mg/kg を投与した2頭2眼16凝固と光凝固1週と2週に50mg/kg 計2回投与した1頭1眼8凝固の大量投与群につき、後投与群(第1報の後投与群)、非投与群と比較検討した。光凝固前に網膜色素上皮を強く障害した前投与群では新生血管は発生しなかった。また光凝固後に強く障害した後大量投与群でも新生血管は発生しなかった。光凝固部の組織所見では、網膜色素上皮細胞の反応性増殖は極めて少なく、新生血管も認めなかった。この実験結果は、網膜色素上皮細胞が強く障害され、反応性増殖が認められない状態では、新生血管の発育が抑制されることが明らかになり、新生血管の発育期には網膜色素上皮細胞の随伴が必要であることが示された。(日眼 92:1629—1636, 1988)

キーワード：網膜下新生血管，網膜色素上皮，ヨウ素酸ナトリウム，光凝固，新生血管黄斑症

Abstract

Experimental subretinal neovascularization (SRN) was produced by intense krypton laser photocoagulation (PC) in monkey eye. In this study, to elucidate the role of RPE in the development and involution of SRN, the effect of high dose sodium iodate on SRN was studied clinically and histologically. In order to selectively damage the RPE without causing damage to the sensory retina, various doses of systemic sodium iodate were given. In groups A: three doses of 25mg/kg sodium iodate were given once a week before PC. In group B: one or two doses of 50mg/kg sodium iodate were given one week after PC. In group C standard intense photocoagulation was performed without systemic sodium iodate.

Six weeks after PC no evidence of each RPE proliferation on SRN could be observed by fluorescein angiography or by histopathological studies of laser treated areas in groups A and B in contrast to C group.

These results suggest that proliferating RPE cells accompanied by SRN are responsible for the

別刷請求先：570 大阪府守口市文園町1 関西医科大学眼科学教室 山岸 和矢(昭和63年5月30日受付)

Reprint requests to: Kazuya Yamagishi, M.D. Dept. of Ophthalmol., Kansai Medical Univ.

1 Fumizono-cho, Moriguchi 570, Japan

(Accepted for publication May 30, 1988)

development of SRN. (Acta Soc Ophthalmol Jpn 92: 1629-1636, 1988)

Key words: Sodium iodate, Photocoagulation, Neovascularization, RPE, SRN

I 緒 言

老人性円板状黄斑変性症などの新生血管黄斑症の病態を明らかにするため、我々はサル眼底に強いレーザー光凝固を行い、実験的網膜下新生血管（以下新生血管と略す）を作ることに成功した^{1)~5)}。その形態的観察により、進展期の新生血管は、Bruch膜上にある網膜色素上皮層から連続して増殖した一層の色素上皮細胞が、新生血管に伴っており、退縮期には新生血管は感覚網膜側に増殖した網膜色素上皮細胞で完全に囲い込まれていることを明らかにした^{1)~5)}。

ついで光凝固前後にヨウ素酸ナトリウム (sodium iodate, NaIO_3) を投与し網膜色素上皮を選択的に障害すると、新生血管は長く持続し、大きく発達した。その形態観察により網膜色素上皮が障害されたためその増殖が少なく、新生血管を十分囲い込むことができないので、新生血管は退縮せず大きく発達したことを示した^{6)~8)}。このことは網膜下新生血管と網膜色素上皮の関連が強いことを明らかにした。

今回はヨウ素酸ナトリウムを光凝固前或いは凝固後に投与し、強く網膜色素上皮を障害すると、新生血管にどのように影響を与えるかを観察し、網膜下新生血管の発生と進展期に色素上皮がどのような役割を果たすか興味ある知見を得たので報告する。

II 実験方法

実験動物として体重1.5~3kgの成熟カニクイザル (*Macaca irus*) 6頭9眼を用い、5%塩酸ケタミン0.5 ml/kg 筋注麻酔下で2.5%ヨウ素酸ナトリウム生理的食塩水溶解液を1回につき25mg/kg か50mg/kg を肘静脈または膝静脈より静脈内に1~2分かけて静注した。

光凝固は予報、第1報と同様の条件(照射野100 μm , 出力200mW, 凝固時間0.1秒)で同一装置の Coherent Radiation 社 system 910K 赤色クリプトンレーザー光凝固装置を用いて網膜深層に gas bubble を生じる様に、後極部に格子状に1眼につき7~8個の凝固を行った。

ヨウ素酸ナトリウム投与量、回数と光凝固との時期で下記の2群に分け実験を行った。

A: 光凝固前投与群—3頭6眼はヨウ素酸ナトリウムを光凝固前4週より2週前まで1週毎に計3回、1回につき25mg/kg の投与を行った。光凝固病巣は延べ48個であった。

B: 光凝固後大量投与群—2頭2眼はヨウ素酸ナトリウムを光凝固後1週に50mg/kg を1回投与し、1頭1眼は光凝固後1週と2週の2回に50mg/kg, 計100mg/kg を投与した。光凝固病巣は延べ24個であった。

これら2群を第1報⁸⁾の光凝固後にヨウ素酸ナトリウムを1回25mg/kg 計2回投与した後投与群、および投与しなかった非投与群と比較検討した。

光学顕微鏡用標本、透過型電子顕微鏡用標本とメルコックス樹脂脈絡膜血管鋳型標本の作成と観察は第1報⁸⁾と同様に行った。

III 結 果

1. ヨウ素酸ナトリウム投与後の網膜の臨床的及び形態的变化

1) 小量投与による変化 (25mg/kg)

今回の投与例でも眼底変化は予報と第1報と同様の变化を示し、ヨウ素酸ナトリウム投与後に網膜色素上

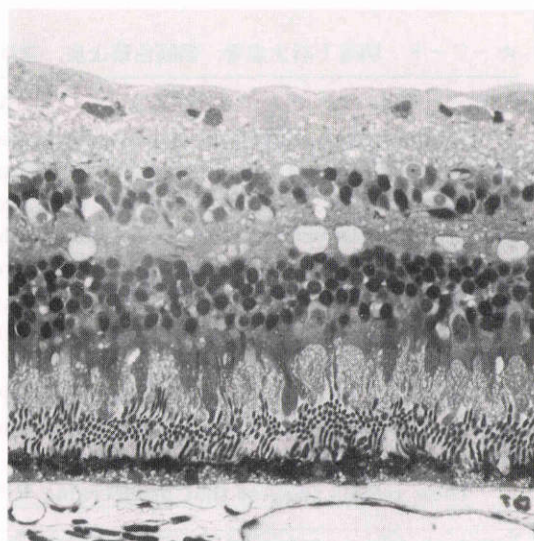


図1A ヨウ素酸ナトリウム投与後4週の光顕像。視細胞外節の短縮と網膜色素上皮細胞の扁平化をみた。(トルイジンブルー染色)

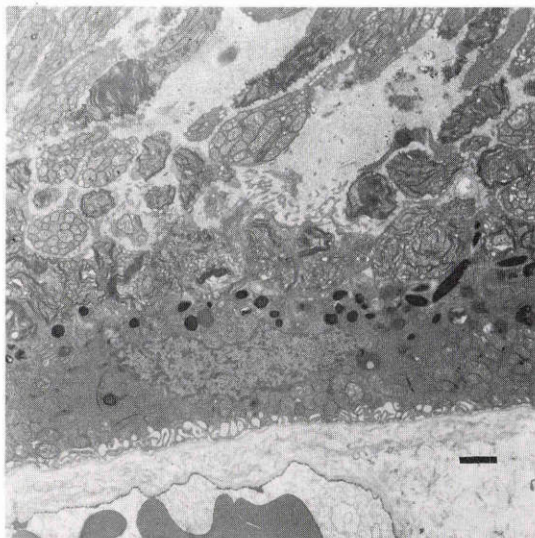


図1B 図1Aの電顕像。網膜色素上皮細胞は扁平化しているが細胞質の変性は少なかった。(バーは1 μ m)

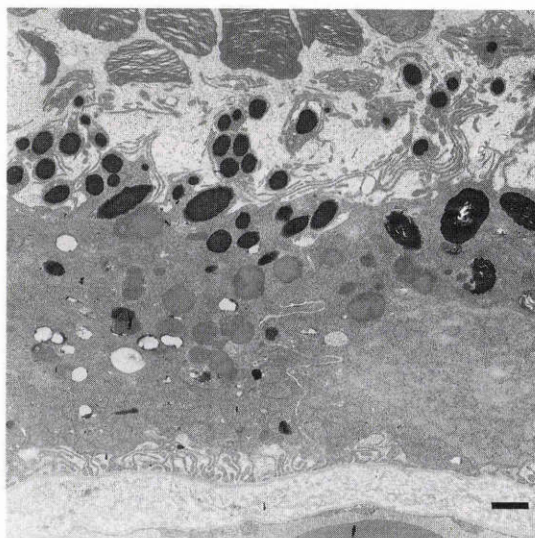


図2B 図2Aの電顕像。網膜色素上皮細胞の胞体内にリポフスチン顆粒を多く認めた。(バーは1 μ m)

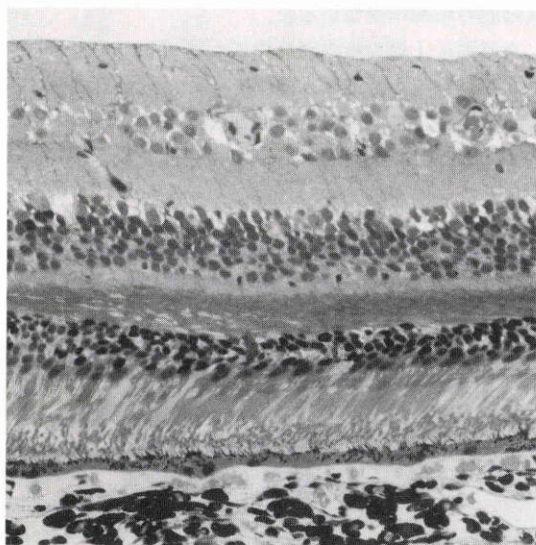


図2A ヨウ素酸ナトリウム50mg/kg投与後2日の光顕像。網膜色素上皮は染色性の低下を示し、視細胞外節は短縮していた。(トルイジンブルー染色)

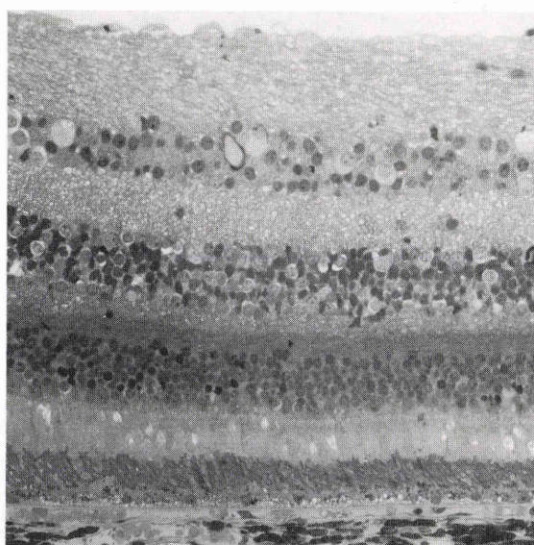


図3A ヨウ素酸ナトリウム50mg/kg投与後6週の光顕像。網膜色素上皮はやや扁平化していた。(トルイジンブルー染色)

皮のびまん性の脱色素と色素斑の混在した梨地様眼底を示し、蛍光眼底造影では背景蛍光の顆粒状過蛍光を認めた。形態的には変化は視細胞層と網膜色素上皮層に限局し、脈絡膜毛細血管板の内皮細胞や網膜内層には変化をみなかった。投与後4週の網膜の光顕像(図1A)では視細胞外節の短縮と色素上皮細胞の扁平化を認めた。透過電顕像(図1B)では網膜色素上皮は胞体

が扁平化していたが、細胞質の変性は少なく、リポフスチン顆粒の増加がみられた。

2) 大量投与による変化 (50mg/kg)

ヨウ素酸ナトリウム50mg/kg投与直後には、変化は急速にびまん性の脱色素と色素斑の混在した梨地様眼底となり、蛍光眼底造影では投与後1週には網膜色素上皮よりびまん性の蛍光色素の漏出をみたが、その後

1～2週間でこの漏出はみなかった。ヨウ素酸ナトリウム50mg/kg投与後2日の光顕像(図2A)では網膜色素上皮は広範囲に染色性の低下をみ、また隣接する視

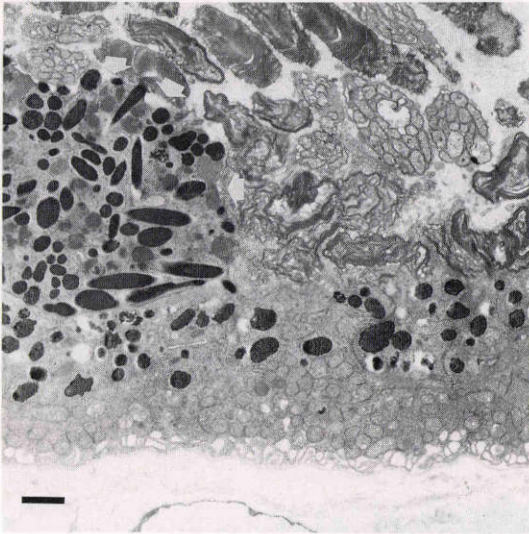


図3B 図3Aの電顕像。胞体の背は低く、再生した網膜色素上皮と考えられた。感覚網膜側にはマクロファージ化した網膜色素上皮細胞(白矢印)を認めた。(バーは1 μ m)

細胞外節は短縮していたが、脈絡膜毛血管板の内皮細胞には異常はみられなかった。透過電顕像(図2B)でも網膜色素上皮細胞の胞体内に電子密度の低いリポフスチン顆粒が多数みられたが、脈絡膜毛血管板の内皮細胞には変化をみなかった。

投与後6週の光顕像(図3A)では一層のやや背の低い網膜色素上皮と、所々に色素上皮の重層がみられ、脈絡膜毛血管板の内皮細胞の変化はみなかった。透過電顕像(図3B)は網膜色素上皮細胞の細胞質の崩壊像は少なかったが、胞体の背は低く、再生した網膜色素上皮細胞と考えられた。その感覚網膜側にはマクロファージ化した網膜色素上皮細胞をみた。脈絡膜毛血管板の内皮細胞には特に変化をみなかった。

2. 臨床実験例の経過とその形態的所見

1) 前投与群の経過と形態的所見

光凝固後3日の凝固巣は検眼鏡的に軽い網膜浮腫を認め、光顕像(図4)では凝固部とその周辺の網膜色素上皮細胞の増殖は軽く、非投与群に比べ網膜色素上皮細胞の増殖は少なかった。

光凝固後1週で凝固部の白斑が軽減し、2週後には凝固部は網膜浮腫のない瘢痕を示した。光凝固後4週には、眼底には明らかな新生血管網や網膜浮腫がみられず(図5A)、蛍光眼底造影では過蛍光を示す凝固巣

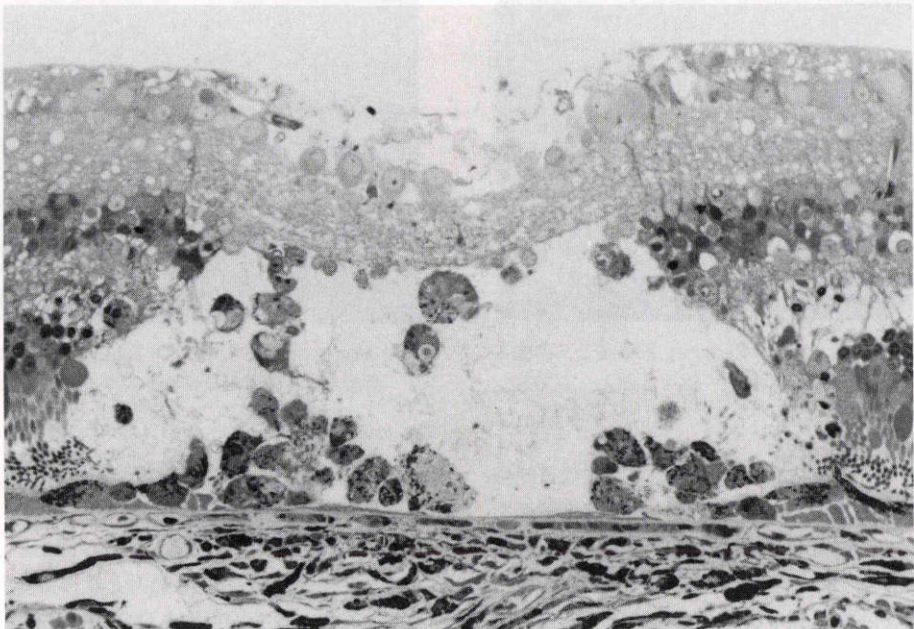


図4 前投与群の光凝固後3日の光顕像。凝固部とその周辺の網膜色素上皮の増殖は軽かった。

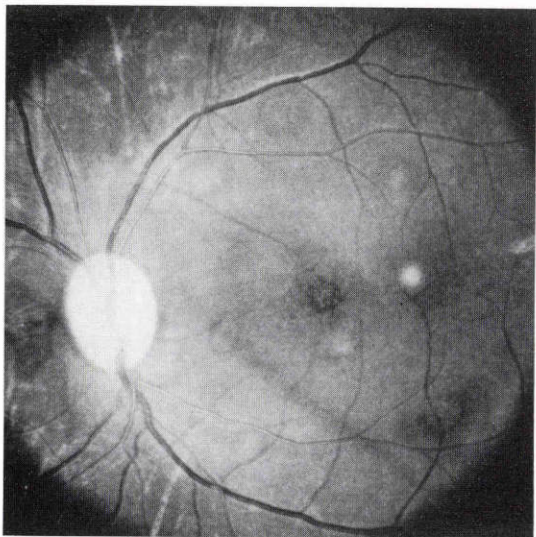


図5A 前投与群の光凝固後4週の眼底写真。漿液性網膜剝離や網膜浮腫は認めなかった。

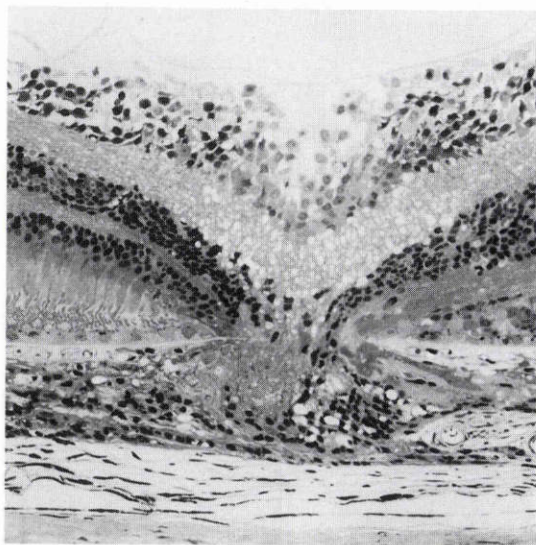


図5C 図5Bの凝固部Aの光顕像。ミュラー細胞が増殖し脈絡膜内に侵入していた。(トルイジンブルー染色)

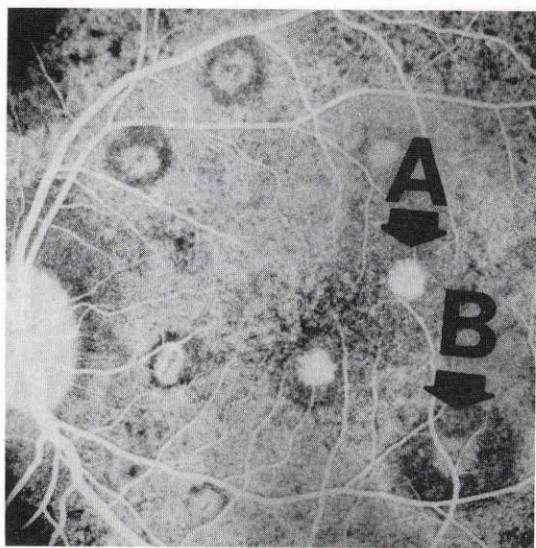


図5B 図5Aの蛍光眼底造影像。凝固部は過蛍光のAと低蛍光のBの2種類が認められた。

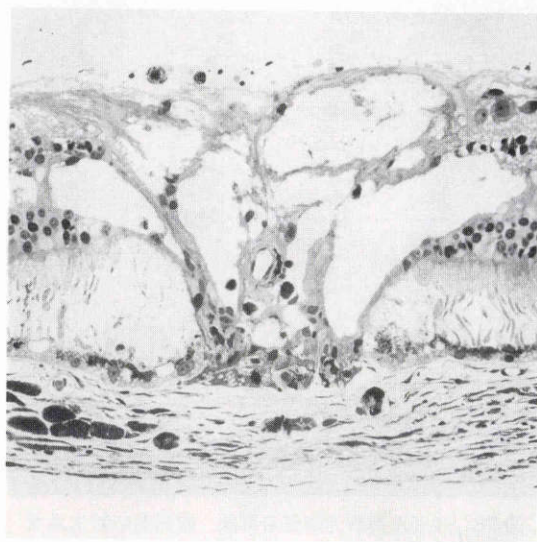


図5D 図5Bの凝固部Bの光顕像。凝固部の網膜色素上皮層の欠損は認められなかった。(トルイジンブルー染色)

(図中矢印A), 周囲は低蛍光を示し中央が過蛍光を示す凝固巣(図中矢印B), 両者とも凝固部からの蛍光色素の漏出は認めなかった(図5B)。連続切片による形態的な観察では凝固部には新生血管は全く発生しておらず、蛍光眼底造影で過蛍光を示したため新生血管の発生が疑われた凝固斑(矢印A)は光顕像(図5C)に示すように凝固部を中心に網膜色素上皮は大きく欠損し、Müller細胞が脈絡膜内に増殖、侵入していた。一

方周囲が低蛍光で中央が過蛍光を示す凝固巣(矢印B)の光顕像(図5D)は網膜色素上皮は不完全に形成され、Müller細胞の増殖は少なかった。光凝固部に脈絡膜からの新生血管の発生を全く認めず、網膜下腔への網膜色素上皮の増殖もみなかった。前投与群では光凝固による新生血管の発生は6眼48凝固巣中どこにもみられ

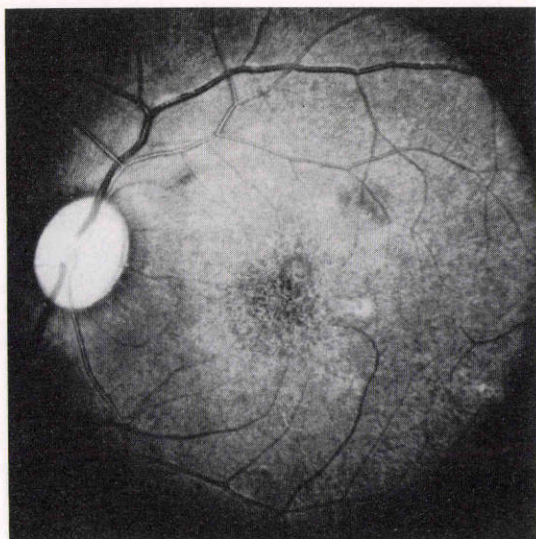


図 6A 後大量投与群の光凝固 4 週の眼底写真。凝固部に漿液性網膜剝離も新生血管網も認めなかった。

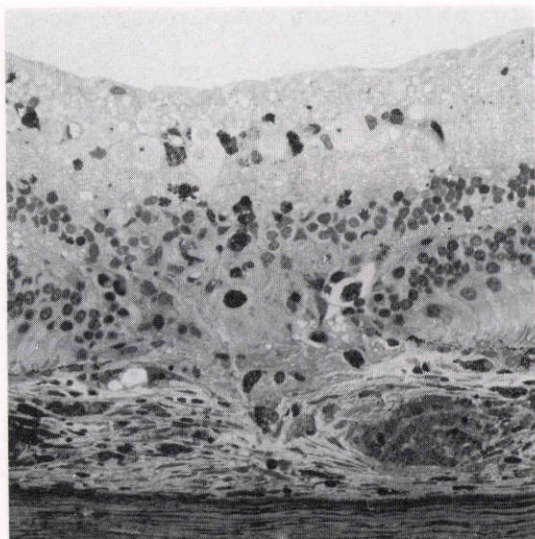


図 6C 図 6A の光顕像。網膜下腔への新生血管は認めなかった。(トルイジンブルー染色)

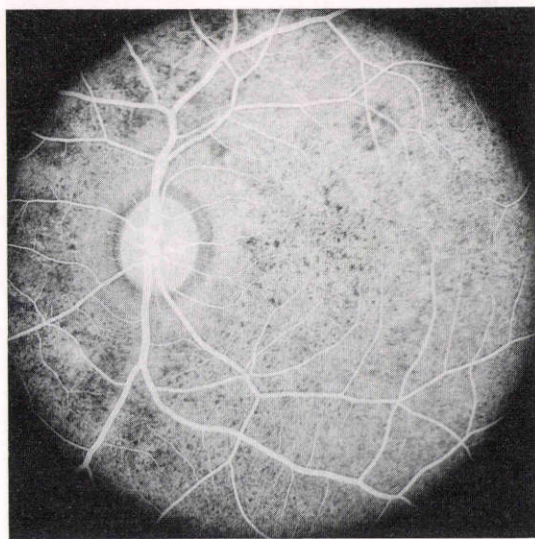


図 6B 図 6A の蛍光眼底造影像。凝固部に新生血管網や凝固部よりの蛍光色素の漏出は認めなかった。

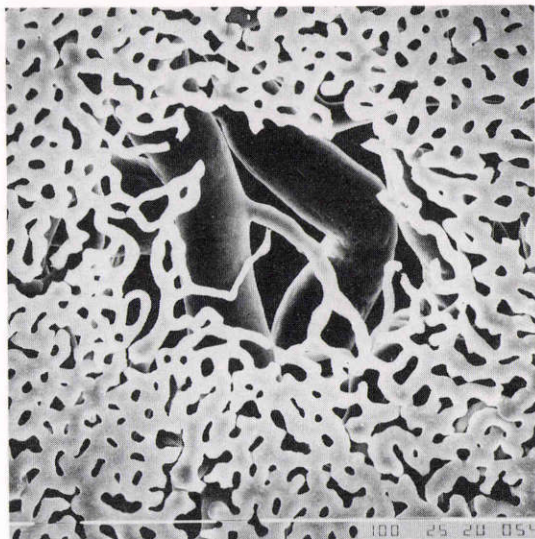


図 6D 図 6A の他眼の同様の凝固部の脈絡膜血管鋳型標本の走査電顕像。脈絡膜から新生血管の形成は認めなかった。

なかった。

2) 後大量投与群の経過と形態的变化

光凝固後大量投与群ではヨウ素酸ナトリウムを投与するまでの 1 週間は新生血管は蛍光眼底造影によって発生初期の像を示していた。投与後 3 週 (光凝固後 4 週) の眼底 (図 6A) は凝固部に浮腫がみられなかった。一部の症例では黄斑部にドレーゼン様滲出物と網膜色素上皮の強い mottling がみられた。この時期の蛍光眼

底造影 (図 6B) では蛍光色素の漏出はみられず、全体にびまん性の過蛍光を示し、凝固部に軽い過蛍光がみられたが蛍光色素の漏出はみられず、新生血管は全くみられなかった。凝固部の光顕像では (図 6C) 網膜下腔への新生血管は全く認めなかった。この部のメルコックス樹脂による脈絡膜血管鋳型標本 (図 6D) でも新生血管はみられなかった。

表1 新生血管の発生率

	新生血管 発生数	発生率
A: 前投与群 (3頭6眼, 36凝固)	0個	0%
B: 後大量投与群 (3頭3眼, 24凝固)	0個	0%
C: 非投与群* (4頭7眼, 46凝固)	22個	48%
D: 後投与群* (3頭5眼, 40凝固)	17個	43%

*第1報より

光凝固後大量投与群でも光凝固による新生血管の発生は3眼24凝固巣中で全くみられなかった。

IV 考 按

老人性円板状黄斑変性症に代表される新生血管黄斑症の実験の一つとして予報⁶⁾, 第1報⁸⁾ではヨウ素酸ナトリウムを光凝固の前後や後に投与することにより, 網膜色素上皮の増殖を押さえる⁹⁾と新生血管は長く持続し, 大きく発達したので, 網膜色素上皮が新生血管の退縮に関与していることが示された。

今回の実験では光凝固前にヨウ素酸ナトリウムを投与した例でも, 光凝固1週後に大量に投与した例でも新生血管は全く発生しなかった。これらの例ではヨウ素酸ナトリウムの投与により網膜色素上皮は強く障害されており, 光凝固部の網膜色素上皮の増殖はほとんどみられなかった。その結果, 非投与群では凝固部の Bruch 膜は増殖した網膜色素上皮細胞で覆われる^{3)~8)11)}が, 大量投与群では網膜色素上皮の増殖が少なく, Bruch 膜を覆うことができず, その結果光凝固により生じた Bruch 膜の空隙に Müller 細胞の胞体が充満していた。光凝固前障害群で新生血管は発生しなかったのは, 新生血管の発育初期には光凝固後にみられる網膜色素上皮細胞の網膜下腔への反応性増殖がなかったためと考えられた。また光凝固後障害群で新生血管が発生しなかったのは, 新生血管の発生期から発育期に網膜色素上皮細胞の反応性増殖がなかったためと考えられた。

一方, ヨウ素酸ナトリウムが直接血管内皮細胞を障害した可能性も考えられるが, 形態的には脈絡膜血管の内皮細胞には今回の投与量では変化を認めなかった。Korte ら¹²⁾も有色家兎にヨウ素酸ナトリウム 25 mg/kg 投与し網膜脈絡膜の萎縮を認めたが, 脈絡膜血管内皮細胞には直接の障害は認めなかったと述べており, 内皮細胞の障害により新生血管が発生しなかったとは考え難い。一方, 新生血管が長く持続し大きく発育した第1報の前後投与例と今回の前投与例は1回25



図7 網膜下新生血管の発育期には新生血管の脈絡膜側には網膜色素上皮層と連続した一層の網膜色素上皮細胞が認められ, 今回の実験で新生血管の発育期に網膜色素上皮を障害すると, この色素上皮層が形成されず, 新生血管は発育できなかったと推察できる。

mg/kg を3回で総投与量は同一であるので, 光凝固後の新生血管の発育時期と網膜色素上皮の障害の時期の組み合わせにより, 新生血管が発生するかあるいは全く発生しないかが分かれたと考えられる。

新生血管の発生と発育には, 新生血管の周囲に増殖した網膜色素上皮の随伴が必要で, ヨウ素酸ナトリウム投与により網膜色素上皮細胞が障害されると色素上皮は反応性増殖を示さない⁹⁾ので, 新生血管に随伴することがなく, 新生血管は発育できなかったと考えられた。またオルニチンの眼内投与により今回の実験と同様に網膜色素上皮を障害すると, 新生血管は全く発生しなかった¹⁰⁾。それゆえ新生血管の発育初期には網膜色素上皮細胞の網膜下への増殖が必要であることが示された。

我々の以前の実験^{6)~8)}では増殖した網膜色素上皮は一旦発生した新生血管の退縮に働いていることがわかった。これに対し新生血管の発生前ないし発育期に網膜色素上皮を強く障害しておくと, 新生血管は全く発生しなかった。これら一連の実験から新生血管の発生と発育期によって網膜色素上皮の関与がことなることが明らかになった。すなわち, 網膜下新生血管は発育期には増殖した網膜色素上皮細胞随伴が必要で, 発育後期には増殖した網膜色素上皮細胞は新生血管を退縮させるよう働いていることが示され, 網膜下新生血管と網膜色素上皮は密接な関連があることが明らかになった。

本研究は文部省科学研究費一般研究 B5948034 (宇山),

B61480371(塚原), 奨励研究 A61771387, A62771403(山岸)の援助を受けた。記して謝意を表します。

文 献

- 1) Ohkuma H, Ryan SJ: Experimental subretinal neovascularization in the monkey. Permeability of new vessels. Arch Ophthalmol 101: 1102—1110, 1983.
- 2) 板垣 隆, 大熊 紘, 加藤直子他: 網膜新生血管に関する実験的研究. 第1報, 実験的網膜下新生血管の発生. 日眼 89: 600—610, 1985.
- 3) 板垣 隆, 大熊 紘, 加藤直子他: 網膜下新生血管に関する実験的研究. 第2報, 実験的網膜下新生血管の進展. 日眼 89: 941—948, 1985.
- 4) 板垣 隆, 大熊 紘, 山岸和矢他: クリプトンレーザーによる網膜下新生血管の発生. 眼紀 36: 1384—1391, 1985.
- 5) 大熊 紘: 実験的網膜下新生血管. 第89回日本眼科学会総会シンポジウム, 『眼科領域における最新の進歩』塚原 勇, 医学教育出版社, 271—287, 1985.
- 6) 山岸和矢, 大熊 紘, 板垣 隆他: 網膜下新生血管

と網膜色素上皮の関連 (予報). 眼紀 37: 1154—1157, 1986.

- 7) Yamagishi K, Ohkuma H, Itagaki T, et al: Development of subretinal neovascularization and retinal pigment epithelium. Suppl Invest Ophthalmol Visual Science 28(3): (Abstract)—119, 1987.
- 8) 山岸和矢, 大熊 紘, 板垣 隆他: 網膜下新生血管と網膜色素上皮の関連—第1報. 日眼 92: 1618—1628, 1988.
- 9) 緒方奈保子, 金井清和, 大熊 紘他: 網膜色素上皮細胞の反応様式. 6. ヨウ素酸ソーダによる影響. 第92回日眼総会口演.
- 10) 板垣 隆, 大熊 紘, 山岸和矢他: オルニチン投与例の網膜下新生血管の発生. 日眼 投稿中.
- 11) Wallow IH: Repair of the pigment epithelial barrier following photocoagulation. Arch Ophthalmol 102: 126—135, 1984.
- 12) Korte GE, Reppucci V, Henkind P: RPE Destruction causes choriocapillary atrophy. Invest Ophthalmol Vis Sci 25: 1135—1145, 1984.