# サルにおける実験的 YAG laser trabeculotomy の

# 組織学的検討 (図15)

長 田 健 二(鳥取大学医学部眼科学教室)

## Histological Studies of Experimental YAG Laser Trabeculotomy in Macacus Fuscatus

## Kenji Osada

Department of Ophthalmology Tottori University School of Medicine

#### 要 約

Q-switched Nd-YAG Laser により、ニホンザル眼の隅角部に trabeculotomy と同様な形態になるように 連続的な配列に照射 spot を置き、可能な限り 1 つの spot に対し YAG laser 照射を繰返し施行した後、経時 的に眼球摘出をし、組織学的に光学顕微鏡及び電子顕微鏡を使用し研究した.1. 照射 2 日後には、シュレム管 に達する比較的大きな破壊部位を照射した線維柱帯に認めた.2. 照射 2 週後では、照射部位に間葉系細胞が新 生し、増殖し、破壊部位が閉塞される傾向を示した.3. 照射 1 カ月後では、破壊部位は瘢痕化し、閉塞してい た.4. 瘢痕化した破壊部位に隣接する線維柱帯に tightening 効果を示す明確な組織学的所見は認められな かった.5. 以上の結果から、本法は緑内障 laser 療法として応用するには困難であると考えられる.(日眼 92:243-250, 1988)

キーワード:Q-スイッチ Nd-YAG レーザー, レーザートラベクロトミー, ニホンザル眼

### Abstract

Q-switched Md-YAG laser, irradiation was repeated at one spot as many times as possible, placing the spots for irradiation in a continuous arrangement to make an arrangement similar to that in trabeculotomy on the angular region of the anterior chamber of the eye of Macacus fuscatus. Enucleation was performed subsequently to study the eyeball histologically by light and electron microscopy. Two days after irradiation, a relatively large area of dentruction reaching Schlemm's canal was noted in the irradiafted trabecular meshwork. Two weeks after irradiation, new formation and proliferation of cells of the mesenchymal system were observed, at the site of irradiation, tending to obstruct the site of destruction. One month after the irradiation, the site of destruction was scarred and obstructed. In the fibrous column zone adjacent to the scarred site of destruction, no clear-cut histological findings suggesting a tightening effect were noted. According to these results, it appears to be difficult to apply this method for laser therapy in glaucoma cases. (Acta Soc Ophthalmol Spn 92 : 243-250, 1988)

Key words: Q-switched Nd-YAG laser, laser trabeculotomy, Macacus fuscatus eye

別刷請求先:683 米子市西町86 鳥取大学医学部眼科学教室 長田 健二 (昭和62年8月31日受付) Reprint requests to: Kenji Osada, M.D. Dept. of Ophthalmol., Tottori Univ. School of Med. 86 Nishi-machi, Yonago 683, Japan (Accepted August 31, 1987) 42 - (244)

## I 緒 言

レーザー装置の開発により、緑内障に対する治療は 非観血的に行うことができ、また重篤な合併症を避け ることができるために、手術の選択順位を変えるまで に至っている.

開放隅角緑内障にも、1973年 Krasnov ら<sup>1</sup>は laser の隅角部への応用を始め、現在では laser trabeculoplasty (以下 LTP と略す)として確立しつつある. 教 室においても三浦<sup>2</sup>がサル眼に対し LTP を施行し形 態学的に検討を行った.

さらに近年新しい laser 装置 Q-switched Nd-YAG laser が開発され、プラズマ効果による後発白内障切開術, 硝子体切開術など新しい laser 治療が行われるようになった. 隅角部への応用も試みられ, 照射後短期間で閉塞することが報告されている<sup>3)4)</sup>.

長田ら<sup>5</sup>は,従来のLTPとは異なる照射方法として 照射スポットが重なるようにして可能な限り連続照射 を行い,線維柱帯に比較的大きな破壊創を形成し,房 水流出抵抗を解除する方法を試み,すでにヒト摘出眼 球に施行し報告した.

今回,著者はニホンザル眼球を使用し,Q-switched Nd-YAG laser による YAG laser trabeculotomy (以 下 YAG-LT と略す)を施行し組織学的に検討したの で報告する.

## II 実験方法

#### 1. 実験材料および装置

体重5kg 前後のニホンザル5匹10眼を用い1眼を対 照とした. YAG laser には Zeiss 社製 VISLAS-YAG laser を使用した.

## 2. YAG-LT 照射方法

麻酔はペントバルビタールナトリウム(ネンブター ル<sup>®</sup>)注射液を腹腔内に25mg/kg注射し、サルの頭部 を laser 装置の細隙灯顕微鏡の固定台に固定した後、



a:従来のLTP 照射方法

1.5% ヒドロキシメエチルセルローズ (スコピゾル<sup>®</sup>) を滴下したゴールドマン型隅角鏡を角膜上に装置し, 隅角部に異常のないことを確認した後,照準光を隅角 部に導き laser 照射した.

照射条件については,予備実験を行い,17.5mJ,1 pulsで,連続的に5~10burstの照射を行った.照射方 法は,LTPでは図1aに示したごとくであるが,本実 験では図1bのごとく,可能な限り連続的に照射を 行った.眼球は,YAG-LT後2日,2週,1ヵ月を経 て摘出した.

#### 3. 実験試料作製方法

摘出眼球は,直ちに4℃の2%グルタールアルデヒ ドと2%パラホルムアルデヒドの混合液に浸し,角膜 と眼球赤道部に切開を加え24時間固定した.実体顕微 鏡下に隅角部を細切し,新しい固定液中に2時間固定 後,庶糖を8%加え等張とした燐酸緩衝液で十分洗浄 した.

光学顕微鏡および透過型電子顕微鏡用試料は、2% 四酸化オスミウムにて後固定後、上昇エタノール系列 にて脱水し、プロピレンオキサイドで置換した後、 Quetol 812に包埋重合させた.試料は、ガラスナイフ にて薄切し、トルイジンブルーで染色し、光学顕微鏡 で観察した.さらに超薄切し、酢酸ウラニウムと鉛染 色液で2重染色を行った後、日立 H-300型電子顕微鏡 で観察した.

走査型電子顕微鏡用試料は、隅角部組織より線維柱 帯部を傷つけないように虹彩を根部より切除し、OTO 法(1%OSO4再固定,2%タンニン酸染色,1%OSO4 再々固定)後、上昇エタノール系列にて脱水し、酢酸 イソアミルで置換した.次いで日立 HCP-2型臨界点乾 燥装置で CO2臨界点乾燥し,真空蒸着装置日立 HUS-5 GB型を用いて金の蒸着を行い、日立 H-3010型走査型 電子顕微鏡で観察した.

正常な1眼を眼球摘出後,上記の方法で試料を作製 し,対照とし光学顕微鏡,透過型電子顕微鏡および走



b:本実験における照射方法

図 1

昭和63年2月10日

査型電子顕微鏡で観察した.

## III 結 果

#### 1. サル眼隅角部正常構造

1) 光学顕微鏡所見

サル眼においても,ヒト隅角部に類似して,ぶどう 膜網,角強膜網,内皮網を有し,線維柱帯層板は,ほ ぼ等間隔一定方向に規則正しい配列を示していた(図 2).

2)透過型電顕所見

シュレム管に接し内皮網が4層構造を示し,角強膜 網層板へと移行している.層板構造は規則正しく間隙 を有し,一部には線維柱帯内皮細胞の突起が認められ



図2 サル眼正常隅角光顕像(トルイジンブルー,× 100). 規則正しい線維柱帯層板(T)を認める. SC: Schlemm's canal, T: Trabecular meshwork



図3 サル正常隅角透過電顕像 SC: Schlemm's canal, EM: Endothelial meshwork

た (図3).

3) 走查型電顕所見

ぶどう膜網の規則正しい網目構造が認められ,角膜 内皮細胞の六角形構造も確認できた(図4).

## 2. YAG-LT 2 日後の隅角部

1) 光学顕微鏡所見

線維柱帯層板は全層にわたり破壊され、シュレム管 に至る破壊創の形成が認められた。一部の角膜内皮細 胞に腫大膨化と毛様体筋線維の走行に乱れがみられ、 周囲組織への障害が強く及んでいることが考えられた (図5).一部には線維柱帯層板の全層が破壊されな



図4 サル眼正常隅角走査電顕像. ぶどう膜網が規則 正しい網目構造を呈し,角膜内皮細胞も確認した. C: cornea, T: trabecular meshwork, I: iris



図5 YAG-LT 2 日後光顕像(トルイジンブルー,× 100).シュレム管に至る破壊創が認められた。角膜 内皮細胞の腫大膨化(↑)と毛様体筋線維の走行に 乱れが認められた(\*). SC: Schlemm's canal

44 - (246)

かった箇所もあったが,角膜内皮細胞や毛様体筋線維 の走行の変化は認められた.

2) 走查型電顕所見

部分的には線維柱帯層板の全層に達していないところもあるが、シュレム管に並行な連続的な破壊創が形成されている。また一部で、角膜内皮細胞の膨化が認められた(図6).

3. YAG-LT 2 週後の隅角部

1) 光学顕微鏡所見

正常な線維柱帯層板は認められず,内皮網の部分に は増殖性変化が強く肥厚し,また角膜内皮側からの増 殖細胞の浸潤と思われる変化も認められた.貫通孔は 存在せず,破壊創は閉塞傾向にあった(図7).

2)透過型電顕所見



図6 YAG-LT 2日後,シュレム管に並行な連続的な 破壊創が形成された.一部膜内皮の膨化が認められ た(↓).

C: cornea, T: Trabecular meshwork, I: iris



図7 YAG-LT 2 週後光顕像(トルイジンブルー,× 100).内皮細胞の部分には増殖性変化が強く(\*). 角膜内皮側よりの増殖細胞の浸潤も認められた (↑).

内皮網と思われる部分は結合織の増生により肥厚 し,線維柱帯内皮細胞と推測される細胞の増殖をきた し,新生毛細血管の出現を認め瘢痕化の初期像を示し た(図8).線維柱帯層板の配列は乱れ,弯曲変形し層 板の内部には微細膠原線維の増生を認め,一部には遊 離細胞も存在した.

3) 走查型電顕所見

照射部には正常な網目構造は認められず, 微細な増 殖組織が存在した. 破壊創全体は瘢痕化傾向を示した (図9).

4. YAG-LT 1カ月後の隅角部および laser 照射隣 接部



図8 YAG-LT 2 週後内皮網と思われる部分は結合 織の増生により肥厚し(\*),線維柱帯内皮細胞と推 測される細胞の増殖を認めた(↓).一部新生毛細血 管が出現していた(▼).

SC: Schlemm's canal, EM: Endothelial meshwork



図 9 YAG-LT 2 週後,正常な網目構造は認められ ず, 徴細な増殖組織が存在し(↓), 創は瘢痕化傾向 を示した.

C: cornea, T: Trabecular meshwork

昭和63年2月10日

1) 光学顕微鏡所見

破壊創は完全に増殖細胞により瘢痕化し閉塞している(図10).

一方,隣接部では線維柱帯層板はほぼ正常に近い状 態だが,角膜内皮細胞の増生,内皮網の肥厚を認めた. しかし,正常に比して著明な線維柱帯間隙の拡大は認 められなかった(図11).

2)透過型電顕所見

破壊創は角膜内皮細胞あるいは内皮網由来と考えら れる間葉系細胞の増殖により埋められた(図12). 残存 した線維柱帯層板は,線維成分の増生がさらに進み線 維柱帯内皮細胞の数および突起数の増加傾向が認めら れた.

隣接部の内皮網は,粗性結合織による膨化を認め一 部には遊離細胞も存在した(図13).角強膜網は,やや 肥厚し線維成分の増加を認めた.線維柱帯層板構造は



図10 YAG-LT 1カ月後(トルイジンブルー,×100) 照射部は増殖細胞により瘢痕化し閉塞した(↑).

![](_page_4_Picture_11.jpeg)

図11 YAG-LT 1カ月後の照射部隣接部における光 顕像(トルイジンブルー,×100). 線維柱帯層板はほ ぼ正常に近い状態であったが、角膜内皮細胞の増生 (▲)、線維柱帯内皮網の肥厚(↓)を認めた.

![](_page_4_Picture_13.jpeg)

図12 YAG-LT 1ヵ月後,間葉系細胞の増殖(↑)に より埋められた。

![](_page_4_Picture_15.jpeg)

図13 YAG-LT 1カ月後の照射隣接部における透過 電顕像.内皮網は粗性結合織による膨化を認め一部 に遊離細胞も存在した(↓). SC: Schlemm's canal, EM: Endothelial meshwork

比較的保たれていたが,著明な線維柱帯間隙の拡大は 認められなかった.

3) 走查型電顕所見

照射部は瘢痕化し平滑な無構造を呈していた。角膜 内皮細胞の一部にも無構造変化が認められ,照射部と の境界が不明であった(図14). 46 - (248)

![](_page_5_Picture_2.jpeg)

図14 YAG-LT 1ヵ月後, 照射部は瘢痕化し, 平滑な 無構造を呈した(↑). 角膜内皮の一部にも無構造変 化が認められた (▼).

C: cornea, T: Trabecular meshwork

![](_page_5_Picture_5.jpeg)

図15 YAG-LT 1カ月後の照射部隣接部の走査電顕 像. ぶどう膜網の網目構造はほぼ正常に近い状態で あった. ↑:照射により癒着をおこした部分. C: cornea, T: Trabecular meshwork, I: iris

隣接部においてぶどう膜網の網目構造は、ほぼ正常 に近い状態であり、著明な拡大所見は認められなかっ た(図15).

## IV 考 按

開放隅角緑内障に対するレーザー治療は、先に述べ たごとく多くの報告<sup>1)6)7)</sup>がなされている.初期の laser goniopuncture, laser trabeculopuncture は、動物実 験で穿孔創はすみやかに閉塞することが明らかにな り、眼圧下降機序が線維柱帯の穿孔によるものではな いことが指摘された<sup>8)9)</sup>.

近年 Q-switoched Nd-YAG laser が開発され,その プラズマ効果による破壊力が注目され,laser goniopuncture が試みられた<sup>3)4)</sup>.しかし,穿孔創は閉 塞する結果であった.エネルギーレベルについては, Gaasterland  $ら^{10}$ が比較検討し、おおよそ $1.0 \times 10^{10}$ W/cm<sup>2</sup>程度で行っており、Venkatesh  $ら^{11}$ の報告にお いてもほぼ同程度のエネルギーレベルでシュレム管へ の穿孔創が得られている。本実験も同レベルであるこ とより、シュレム管への穿孔は得られるものと考えら れた。

一方,照射による穿孔創の拡大を,Yumita ら<sup>12)</sup>は, 先天性緑内障に対し虹彩の前縁の線維柱帯を照射し, 線維柱帯と虹彩との癒着部の切開法を報告し,Venkateshら<sup>11)</sup>は、ヒト摘出眼球を用い小照射径で角膜内 皮細胞など周囲組織への影響を避け,goniopuncture を二か所に並べて行い穿孔創が拡大したことを報告し た.長田ら<sup>50</sup>はヒト摘出眼球およびニホンザル眼球に おいてYAG-LTが可能なことを報告した. trabeculotomyはGrantら<sup>13)</sup>の報告により前房水の 主な流出抵抗が線維柱帯内皮網にあることが示された ことにより、線維柱帯を破壊し房水流出抵抗を減ずる 手術方法としてSmith<sup>14)</sup>,Burian<sup>15)</sup>により考抜された. わが国においても永田<sup>16)</sup>によりその有効性が報告され ている.

今回著者は、実験方法で述べたようにニホンザル眼 球を使用し、線維柱帯に比較的大きな破壊創を形成し、 瘢痕形成を防止するため照射スポットを重ね、可能な 限り連続照射を行う YAG-LT を施行し経時的に眼球 を摘出し、組織学的に検討を行った.

Zypen ら<sup>n</sup>は Q-switched Nd-glass laser の照射に より正常な線維柱帯の網目構造は消失し,表面は平滑 になり角膜内皮細胞およびデスメ膜により完全に穿孔 部は閉塞されていたとし、Melamed  $ら^{3}$ はQswitched Nd-YAG laser trabeculopuncture ではシュ レム管に穿孔しさらにシュレム管外壁を破壊し強膜に 達し, 穿孔部は透過電顧により細長い細胞質の線維細 胞・角膜内皮細胞, デスメ膜様の組織などの浸潤を認 め、走査電顕でも照射部は表面が平滑な状態になって いたことを報告している.黒澤ら<sup>17)</sup>は,LTP 過剰照射 後線維柱帯の網目構造は消失し,石垣状に配列した細 胞におきかわっており、光顕でトルイジンブルーに薄 染した物質の存在を認めた. 益山18)も, LTP 過剰照射 で線維柱間隙は線維芽細胞と線維柱帯内皮細胞と考え られる細胞により認められ,線維柱索も増殖組織で埋 没されたことを報告している.

本実験では、YAG-LT 2日後には図5,6に示すご とく手術的 trabeculotomy に準じた比較的大きな破 壊創が形成され房水流出抵抗の減弱を期待できたが、 昭和63年2月10日

YAG-LT 2 週後透過電顕所見で線維柱帯内皮細胞あ るいは内皮網由来のものと推測される間葉系細胞の増 生を認め、さらに一部に新生毛細血管や遊離細胞の存 在を認めた. 走査電顕所見では線維柱帯は微細な増殖 細胞によりおきかわった. YAG-LT 1カ月後透過電顕 所見で破壊創は間葉系細胞により埋められ, 走査電顕 では照射部は角膜内皮細胞と境界の不明な移行状態と なる平滑な組織に変化しており,照射部が角膜内皮細 胞の浸潤により瘢痕化したことが推測された. 照射部 に出現する増殖細胞の由来を推測するに, YAG-LT に 伴う破壊創は図5に示すごとくシュレム管へ達するも のであり、創深部においてはシュレム管内壁あるいは 内皮網への強い障害が及び増殖を起こすことや、さら には近傍の線維柱帯内皮細胞の増生なども考えられ る、同様に YAG-LT に伴う角膜内皮細胞への障害も 強く,これに伴う角膜内皮細胞やデスメ膜よりの浸潤 が起こることが考えられた. YAG-LT 1ヵ月後の照射 部に隣接する部分では、角膜内皮細胞の増殖と内皮網 の肥厚を同時に認め、このことは両細胞の浸潤の程度 の差により照射後の組織像が変化することが想像され た.

Q-switched Nd-YAG laser はその高エネルギーが ゆえに、黒澤ら<sup>17)</sup>や益山<sup>18)</sup>の報告したごとくLTP 過 剰照射の状態に類似した結果となり強い瘢痕を形成し た.大きく破壊創を形成し部分的には創が開存するこ とを期待したが、創を大きくしたことは周囲組織への 障害も強く、瘢痕形成を大きくする結果となり、Gaasterland ら<sup>19)</sup>が指摘するごとく、実験的緑内障を形成す る可能性が大きくなると考えられた.

一方,LTPの作用機序については,1979年Wise ら<sup>20)</sup>により,laser 照射による線維柱帯の瘢痕収縮に伴 う照射部に隣接する部分が牽引され房水流出抵抗が改 善するという tightening 効果が提唱された.しかし, いまだに完全には解明されておらず議論の多い所であ る.三浦<sup>20</sup>は内皮網の非薄化とその近くの線維柱帯内 皮細胞の変化による線維柱帯間隙の拡大が房水流出抵 抗の減少に関与すると考えた.白土ら<sup>21)</sup>は強膜岬への 照射が有効であることを示し,線維柱帯小孔の開大も しくは上脈絡膜腔への房水流出形成によるものと推測 している.Zypenら<sup>71</sup>は経ぶどう膜強膜流出路<sup>22)</sup>の改 善を伴うことを示唆している.

本実験では、YAG-LT 1カ月後に強い瘢痕形成を起 こしたため、照射部に隣接する部分の牽引多縮が想像 されたが、線維柱帯小孔の開大や間隙の拡大、内皮網 の菲薄化などの著明な tightening 効果を示す所見が 認められなかった。

本論文の要旨は第91回日本眼科学会総会において報告した. 擱筆にあたり藤永 豊教授の御指導,御校閲,病理学第 二講座市原冏一教授の御指導に深謝いたします.また教室の松浦啓之助教授の御助言に感謝いたします.

#### 献

文

- Krasnov MM: Laseropuncture of anterior chamber angle in glaucoma. Am J Ophthalmol 75: 674-678, 1973.
- 三浦孝博:サル眼laser trabeculoplastyの形態
  学的研究.日眼 90:141-151, 1986.
- Melamed S, Pei J, Puliafito CA, Epstein DL: Q-switched neodymium-YAG laser trabeculopuncture in monkeys. Arch Ophthalmol 103: 129-133, 1985.
- Robin AL, Pollack IP: Q-switched neodymium-YAG laser angle surgery in openangle glaucoma. Arch Ophthalmol 103: 793 -795, 1985.
- 5)長田健二,松浦啓之:実験的Q-switched Nd-YAG laser trabeculotomy. あたらしい眼科 4: 569-571, 1987.
- Worthen DM, Wickham MG: Argon laser trabeculotomy. Trans Am Acad Ophthalmol Oto 78: 371-375, 1974.
- Van der Zypen E, Fankhauser F: The ultrastructural features of laser trabeculopuncture and cyclodialysis. Ophthalmologica (Basel) 179: 189–200, 1979.
- Krasnov MM: Q-switched laser iridotomy and Q-switched laser goniopuncture. Adv Ophthalmol 34: 192—196, 1977.
- Wickham MG, Worthen DM: Argon laser trabeculotomy: Long-term follo up. Ophthalmology 86: 495-503, 1979.
- 10) Gaasterland DE, Bonney CH, Rodrigues MM, Kuwabara T: Long-term effects of Qswitched laser on monkey anterior chamber angle. Invest Ophthalmol Vis Sci 26: 129-135, 1985.
- 11) Venkatesh S, Guthrie S, Fonlds WS, Lee WR, Cruickshnk FR, Bailey RT: In vitro studies with a pulsed neodymium/YAG laser. Brit J Ophthalmol 69: 86-91, 1985.
- 12) Yumita A, Shirato S, Yamamoto T, Kitazawa Y: Goniotomy with Q-switched Nd-YAG laser in juvenile developmental glaucoma: A preliminary report. Jpn J Ophthalmol 28: 349 -355, 1984.
- 13) Grant MW: Further studies of facility of flow

48 - (250)

through the trabecular meshwork. Arch Ophthalmol 60: 523-533, 1958.

- 14) Smith R: A new tichnique for opening the canal of Schlemm. Brit J Ophthalmol 44: 370 -373, 1960.
- 15) Burian HM: A case of Marfan's syndrome with bilateral glaucoma. Am J Ophthalmol 50: 1187—1192, 1960.
- 16) 永田 誠: Microsurgery, Trabeculotomy of externo. 眼紀 26:245-255, 1975.
- 17) 黒澤明充,岩田和雄:サル眼前房隅角部レーザー
  照射の組織学的検討.日眼 86:1126-1135,1982.
- 18) 益山芳正: Laser trabeculoplastyの眼圧下隆機

序に関する形態学的研究.日眼 88:1007-1020, 1984.

- 19) Gaasterland D, Kupter C: Experimental glaucoma in the rhesus monkey. Invest Ophthalmol Vis Sci 13: 455-457, 1974.
- Wise JB, Witter SL: Argon laser therapy for open-angle glaucoma a pilot study. Arch Ophthalmol 97: 319—322, 1979.
- 21) 白土城照,北沢克明:強膜岬レーザー照射による 緑内障治療,日眼 84:2101-2107,1980.
- 22) 猪俣 孟,田原昭彦:人体組織学,感覚器,前房隅 角.東京,朝倉書店,122-137,1984.

(第91回日眼総会原著)