

網膜下出血に対するレーザー光凝固の実験的研究

第3報 ダイ・レーザー光凝固による網脈絡膜変化(図4)

尾花 明・三木 徳彦 (大阪市立大学医学部眼科学教室)
井上 一紀・白木 邦彦

Retino-Choroidal Changes with Dye Laser Photocoagulation in
Experimental Subretinal Hemorrhage

Akira Obana, Tokuhiko Miki, Kazunori Inoue,
and Kunihiko Shiraki

Osaka City University Medical School

要 約

ダイ・レーザー光凝固装置は577nm~630nmまでの波長を自由に選択して使用できる。そこでヘモグロビンに対する吸収率が変化する波長帯の4種類の波長(577, 590, 610, 630nm)を使用し、家兎眼において実験的に作製された網膜下出血部を光凝固(500 μ m, 0.2sec., 100mW)し、網脈絡膜に対する影響を形態学的に検索した。577nmではレーザー光は網膜下出血部ヘモグロビンに吸収され感覚網膜はほぼ全層が障害されたが、網膜色素上皮細胞・脈絡膜毛細血管は障害されなかった。630nmではレーザー光の大部分は出血層を透過して網膜色素上皮細胞・脈絡膜のメラニン色素に吸収されたと思われ、網膜外層の障害、脈絡膜毛細血管の閉塞、脈絡膜大血管の障害がみられた。590nm, 610nmによる網脈絡膜の障害はそれぞれ上記二者の中間的な所見を呈した。以上より610・630nmでは網膜下出血部の脈絡膜毛細血管閉塞が十分可能であった。(日眼 92: 90—97, 1988)

キーワード: ダイ・レーザー, 網膜下出血, 実験的研究, 網膜色素上皮細胞, 脈絡膜毛細血管

Abstract

An argon dye laser's wavelengths can be varied through a spectral range of 577 to 630nm. The absorption by hemoglobin varies with changes in the photocoagulation wavelength. We produced subretinal hemorrhage in pigmented rabbit retinas experimentally, and studied the effect of dye laser photocoagulation on the retina and choroid in subretinal hemorrhage using four kinds of wavelengths (577, 590, 610, 630nm) of the dye laser (500 μ m spot, 0.2sec, 100mW). With the 577nm wavelength, almost all layers of the sensory retina were destroyed, and the retinal pigment epithelium and choriocapillaris were preserved. With the 630nm wavelength, only the outer part of the retina was destroyed, the choriocapillaris was obliterated and the large vessels of the choroid were also affected. With the 590 and 630nm wavelengths, the degree of influence on the retina and choroid was between that of the 577 and 630nm wavelengths. These results suggest that the 577nm wavelength, the laser beam is primarily absorbed by hemoglobin of subretinal hemorrhage. When the wavelengths was shifted from 610 to 630nm, the laser beam was absorbed by the retinal pigment epithelial layer and choroidal pigment and the absorption by hemoglobin was negligible. Thus with the 610 and 630nm wavelengths, the choriocapillaris in the subretinal hemorrhage could be obliterated. (Acta Soc

別刷請求先: 545 大阪市阿倍野区旭町1-5-7 大阪市立大学医学部眼科学教室 尾花 明
(昭和62年7月13日受付)

Reprint requests: Akira Obana, M.D. Department of Ophthalmology, Osaka City University Medical School
1-5-7 Asahimachi, Abeno-ku, Osaka 545, Japan

(Accepted July 13, 1987)

Ophthalmol Jpn 92: 90—97, 1988)

Key words: Dye laser, Subretinal hemorrhage, Experimental study, Retinal pigment epithelium, Choriocapillaris

I 緒 言

ダイ・レーザー光凝固装置は577nm から630nm までの波長を1nm 毎に自由に選択して使用できるのが特徴であり、レーザーの各波長の正常眼における吸収特性はすでに様々な報告がされており¹⁾、その成果を踏まえて臨床的に使用法が検討されている^{2)~5)}。

そこで網膜下出血を伴う脈絡膜新生血管の光凝固を想定して、既報⁶⁾⁷⁾のごとくアルゴン・レーザーとクリプトン・レーザーによる網膜下出血部に対する光凝固の影響について報告してきた。今回はさらにヘモグロビンに対する吸収率が変化する波長帯に相当するダイ・レーザーの各波長において、網膜下出血部を光凝固した場合、網脈絡膜にどのような影響を及ぼすかを形態学的に検討した。

II 方 法

1. 実験動物

体重約2~3kg の成熟有色家兎をミドリン P®点眼液にて散瞳後、眼底検査を行い異常の認められない眼を使用した。

2. 実験方法

既報⁶⁾⁷⁾と同様にペントバルビタール静脈注射麻酔後、毛様体扁平部より30ゲージ針を硝子体腔に挿入、網膜下に刺入し、balanced salt solution 液注入により限局性漿液性網膜剝離を作製、さらに脈絡膜を穿刺して網膜下出血を作製した。この網膜下出血の周辺部において検眼鏡的に出血がほぼ同程度にみられる部位を光凝固した。凝固はコヒレント社製920型アルゴン/ダイ・レーザー光凝固装置を用い、577nm, 590nm, 610nm, 630nm の4種類の波長を使用して行った。凝固条件はすべて100mW, 0.2sec, 500 μ m とした。

光凝固約1時間後と1週間後に眼球摘出し、ただちにカルノフスキー液(4℃)にて前固定後凝固部を切出し、オスミウム酸にて後固定、エタノール系列で脱水しエポキシ樹脂に包埋した。そして薄片標本をトルイジンブルー染色にて光学顕微鏡(以下光顕)で観察後、同部の超薄切片を作製して酢酸ウランと酢酸鉛の二重染色を施し、日立 HS-9および H-300透過型電子

顕微鏡(以下電顕)にて観察した。

III 結 果

以上使用した4種類の波長別に記載する。

1. 波長577nm による光凝固

光凝固約1時間後の凝固部を光顕的に観察すると図1-Iのごとく、感覚網膜は内境界膜は保たれているが全層が浮腫状で染色性が低下し、内・外顆粒層細胞の配列の乱れがみられた。網膜色素上皮細胞層はほぼ正常で、脈絡膜毛細血管層には血管腔が認められた。これを電顕的に観察すると神経線維層から神経節細胞層ではグリア細胞の細胞内浮腫と神経節細胞の空胞変性がみられた。内網状層は細胞突起の腫脹がみられ、内顆粒層では一部の細胞の消失と残った細胞の空胞変性・細胞間浮腫が、外顆粒層では核の濃縮や細胞間浮腫が認められた。また図1-IIのように網膜色素上皮細胞はapical 側に微絨毛やメラニン色素を有し、basal 側には基底陥入もみられ、非凝固部の網膜色素上皮細胞とはほぼ同様の構造を呈していた。また脈絡膜毛細血管も正常構造を呈していた。

光凝固1週間後の光顕所見は図1-IIIのごとく凝固部の網膜下出血はほぼ消失していた。感覚網膜はや

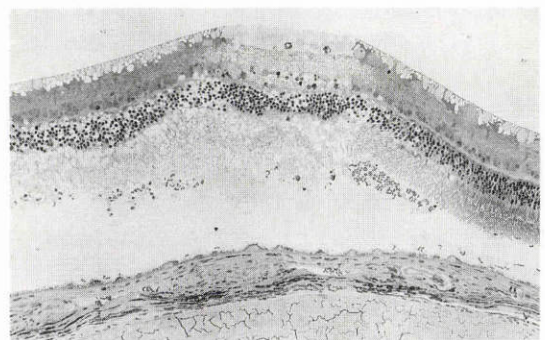


図1-I 波長577nm による光凝固約1時間後の光顕写真(トルイジンブルー染色, ×50)

凝固部感覚網膜の内境界膜は保たれているが全層に異常がみられる。網膜色素上皮細胞に著変は認められず、脈絡膜毛細血管層には血管腔がみられる。なおこの標本は作製過程の人工産物により網膜下出血は一部を残して消失している。

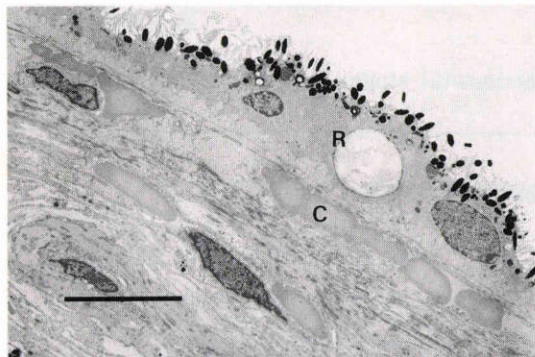


図1-II 波長577nmによる光凝固約1時間後の電顕写真(バー;10 μ m)

網膜色素上皮細胞・脈絡膜毛細血管ともほぼ正常である。網膜下出血は標本作製過程で消失している。
R: 網膜色素上皮細胞, C: 脈絡膜毛細血管

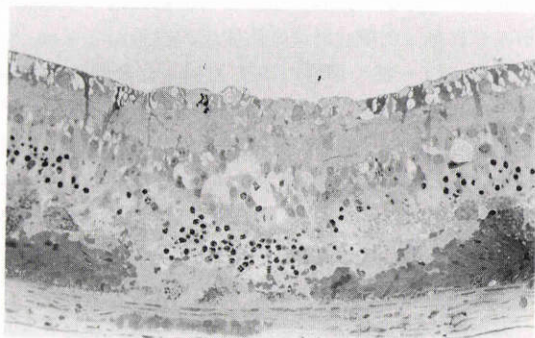


図1-III 波長577nmによる光凝固1週間後の光顕写真(トルイジンブルー染色, $\times 100$)

感覚網膜の内境界膜は保たれているが全層が障害されている。脈絡膜毛細血管層には血管腔が認められる。

り内境界膜は保たれているが全層に異常があり、各層において正常構造が一部で消失し配列が乱れ、グリア細胞と思われる細胞によりおきかえられていたが、一部には空隙も残存していた。脈絡膜毛細血管層には血管腔が開存していた。図1-IVは1週間後の電顕写真で網膜色素上皮細胞はやや背が高いがほぼ正常構造を呈し、脈絡膜毛細血管も正常で図1-Vのごとく有窓構造がみられた。

2. 波長590nmによる光凝固

光凝固約1時間後の光顕写真を図2-Iに示したが、網膜は全層が浮腫状で染色性が低下し、内・外顆粒層細胞の一部消失と配列の乱れが著明であった。これを

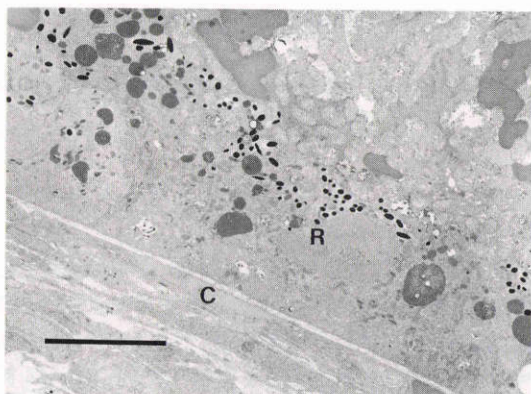


図1-IV 波長577nmによる光凝固1週間後の電顕写真(バー;10 μ m)

網膜色素上皮細胞はapical側の微絨毛はみられないが、核、色素顆粒、ミトコンドリア、基底陥入はほぼ正常の形態と分布を呈している。胞体内には多数の赤血球を貪食した像がみられる。脈絡膜毛細血管は正常構造を呈している。
R: 網膜色素上皮細胞, C: 脈絡膜毛細血管



図1-V 波長577nmによる光凝固1週間後の電顕写真(バー;1 μ m)

凝固部の脈絡膜毛細血管に有窓構造(→印)が認められる。Bruch膜は正常構造を呈している。
B: Bruch膜

電顕的に観察すると、内境界膜は正常で、神経線維層から神経節細胞層ではグリア細胞に細胞内浮腫が存在したが、神経線維の腫脹や変性はみられなかった。内顆粒層を構成する細胞の崩壊や空胞変性と、外顆粒層核の濃縮がみられた。脈絡膜毛細血管層には577nmの場合とは異なりごく一部にのみ開存した血管腔が認められた。図2-IIにその電顕像を示したが、網膜色素上皮細胞の細胞内浮腫があり、細胞内小器官も不明瞭となっていた。Bruch膜と障害された網膜色素上皮細胞

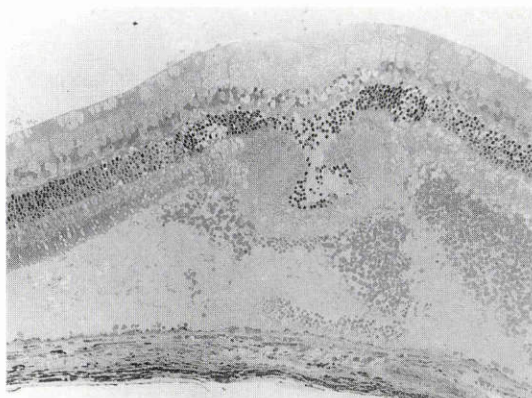


図2-I 波長590nmによる光凝固約1時間後の光顕写真(トルイジンブルー染色, $\times 50$)

網膜は全層に異常がみられる。脈絡膜毛細血管層には血管腔がほとんど認められない。なお標本作製過程で感覚網膜が網膜色素上皮細胞より剥離している。

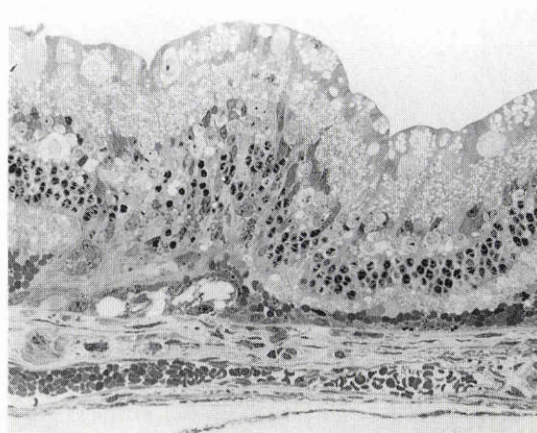


図2-III 波長590nmによる光凝固1週間後の光顕写真(トルイジンブルー染色, $\times 100$)

網膜は内顆粒層より外側に障害され、脈絡膜毛細血管層には血管腔がほとんど認められない。脈絡膜の大血管に血栓形成がみられる。

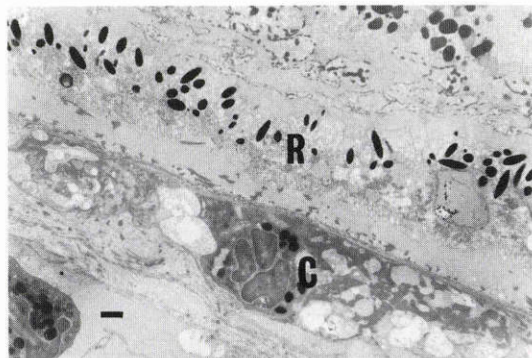


図2-II 波長590nmによる光凝固約1時間後の電顕写真(バー; $1\mu\text{m}$)

網膜色素上皮細胞は障害されて、Bruch膜との間に滲出液と思われる無構造物質とフィブリンがみられる。脈絡膜毛細血管は閉塞している。

R: 網膜色素上皮細胞, C: 脈絡膜毛細血管



図2-IV 波長590nmによる光凝固1週間後の電顕写真(バー; $10\mu\text{m}$)

脈絡膜毛細血管は基底膜をのこし、内皮細胞・壁細胞が崩壊している($\rightarrow$ 印)。脈絡膜には結合組織が増加している。

R: 網膜色素上皮細胞

の間には滲出液と思われる無構造物質とフィブリンが認められた。脈絡膜毛細血管は内皮細胞・壁細胞の空変性や崩壊がみられ閉塞していた。また開存していた脈絡膜毛細血管の壁構造には異常を認めなかった。

図2-IIIは光凝固1週間後の光顕写真で、網膜は内顆粒層より外側に異常がみられ、内・外顆粒層構造の配列が乱れていた。脈絡膜毛細血管層には血管腔はほとんどみられなかったが、ごく一部に開存した血管腔を認めた。電顕では凝固部で網膜色素上皮細胞が欠損している部位はなかったが、脈絡膜毛細血管層に図2

-IVにみられるような基底膜のみをのこし、血管壁構成細胞(内皮細胞・壁細胞)の変性・消失した像が凝固部位に一致してみられた。なお一部では正常の血管壁構成細胞が存在する血管腔がみられた。

3. 波長610nmによる光凝固

図3-Iに光凝固約1時間後の光顕写真を示した。網膜は内境界膜は保たれているが全層にわたって浮腫状で、内顆粒層細胞配列は軽度乱れ、外顆粒層細胞の一部消失・配列の乱れがみられた。また脈絡膜毛細血管層には血管腔が存在せず、脈絡膜の大血管に血栓形

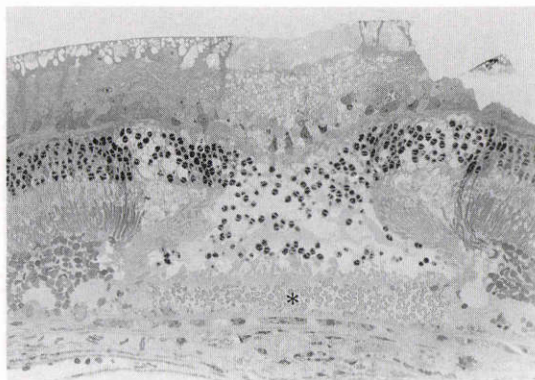


図3-I 波長610nmによる光凝固約1時間後の光顕写真(トルイジンブルー染色, $\times 100$)

網膜は内境界膜を除く全層に異常がみられる。脈絡膜毛細血管層には血管腔が認められない。凝固部には染色性が低下し、変形した赤血球がみられる(*印)。

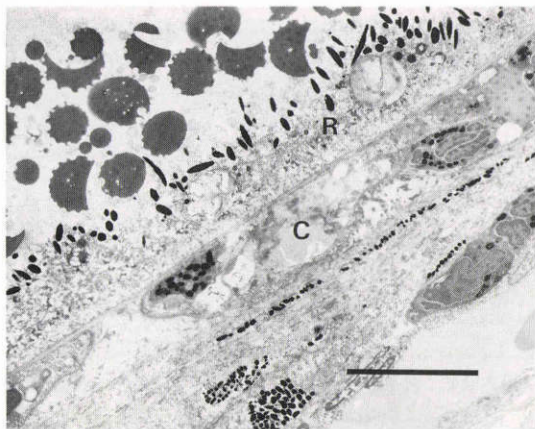


図3-II 波長610nmによる光凝固約1時間後の電顕写真(バー; $10\mu\text{m}$)

網膜色素上皮細胞は障害され、脈絡膜毛細血管は閉塞している。

R: 網膜色素上皮細胞, C: 脈絡膜毛細血管

成がみられた。図3-IIは光凝固約1時間後の電顕写真で、網膜色素上皮細胞は崩壊し、脈絡膜毛細血管は内皮細胞・壁細胞が崩壊し閉塞していた。

図3-IIIは光凝固1週間後の光顕写真で網膜は内顆粒層細胞はほぼ正常であるが、視細胞は消失していた。網膜色素上皮細胞は重層し、脈絡膜毛細血管には血管腔はみられなかった。脈絡膜毛細血管層を電顕的に観察すると図3-IVのように脈絡膜毛細血管は消失して

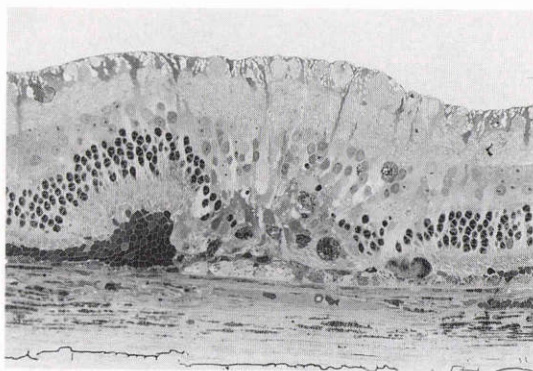


図3-III 波長610nmによる光凝固1週間後の光顕写真(トルイジンブルー染色, $\times 100$)

網膜は内顆粒層核に軽度の数の減少をみるが、外網状層より外側で障害は著明である。脈絡膜毛細血管には血管腔を認めない。

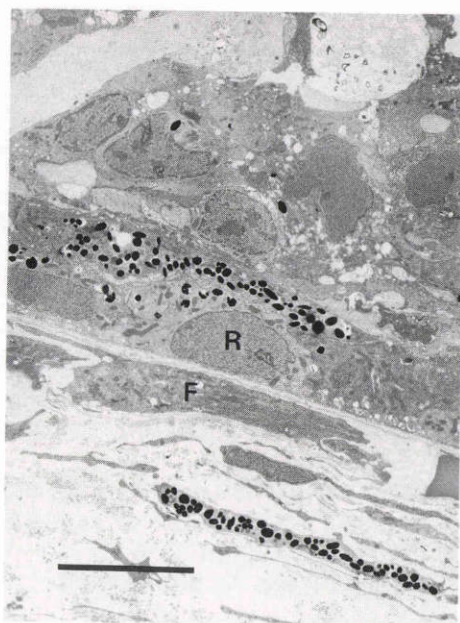


図3-IV 波長610nmによる光凝固1週間後の電顕写真(バー; $10\mu\text{m}$)

脈絡膜毛細血管は消失し、線維芽細胞がみられる。

R: 網膜色素上皮細胞, F: 線維芽細胞

線維芽細胞がみられたが、一部では590nmの場合と同様に血管壁構成細胞(内皮細胞・壁細胞)が消失して基底膜のみが残存したと思われる所見が認められ、脈絡膜大血管にも基底膜のみの残存がみられた。

4. 630nmによる光凝固

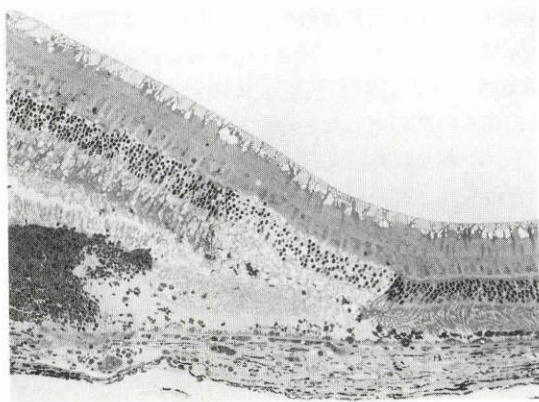


図4-I 波長630nmによる光凝固約1時間後の光顕写真(トルイジンブルー染色, $\times 100$)

網膜は外顆粒層より外側が障害されている。脈絡膜毛細血管層には血管腔はみられず、脈絡膜大血管にも血栓形成がみられる。

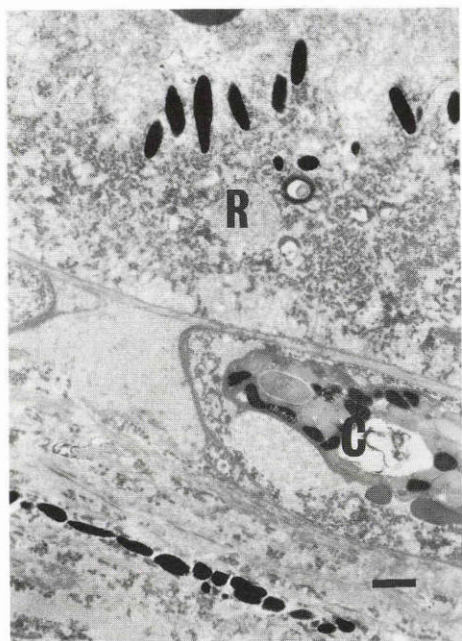


図4-II 波長630nmによる光凝固約1時間後の電顕写真(バー; $1\mu\text{m}$)

網膜色素上皮細胞は障害され、脈絡膜毛細血管は閉塞している。

R: 網膜色素上皮細胞, C: 脈絡膜毛細血管

光凝固約1時間後の光顕写真を図4-Iに示した。網膜は内顆粒層より内側は正常で、外網状層は浮腫状、外顆粒層核の一部消失がみられた。脈絡膜毛細血管層

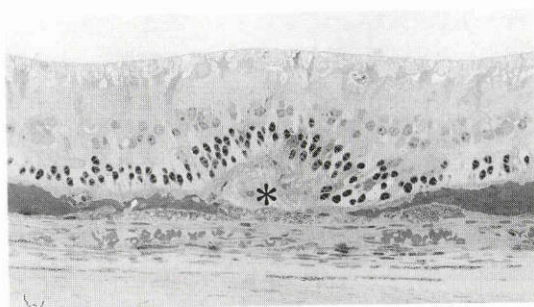


図4-III 波長630nmによる光凝固1週間後の光顕写真(トルイジンブルー染色, $\times 100$)

外顆粒層はかなり残存している。脈絡膜毛細血管層には血管腔は認められない。*印の部位には電顕にてグリア細胞、増殖した網膜色素上皮細胞、大食細胞と思われる細胞がみられた。

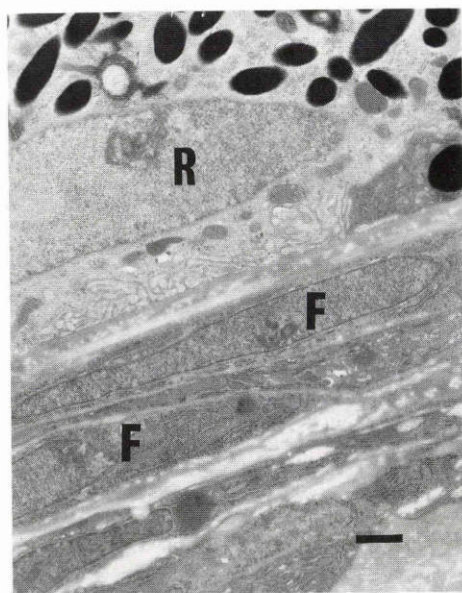


図4-IV 波長630nmによる光凝固1週間後の電顕写真(バー; $1\mu\text{m}$)

脈絡膜毛細血管は消失し、線維芽細胞がみられる。

R: 網膜色素上皮細胞, F: 線維芽細胞

に血管腔は存在せず、脈絡膜大血管に血栓形成が認められた。図4-IIは光凝固約1時間後の電顕写真で、網膜色素上皮細胞の崩壊、脈絡膜毛細血管内皮細胞・壁細胞の崩壊と血管の閉塞がみられた。

図4-IIIは光凝固1週間後の光顕写真で内顆粒層細胞に軽度の配列の乱れがみられたが、外顆粒層は他の波長の場合と異なりかなり細胞が残存していた。しか

し内・外節が消失した部位にグリア細胞・網膜色素上皮細胞・大食細胞と思われる細胞がみられた。また脈絡膜毛細血管層には血管腔がまったくみられなかった。電顕では図4-IVのごとく脈絡膜毛細血管は完全に消失し、線維芽細胞が多数みられたが、波長577nm・610nmの場合にみられたような脈絡膜毛細血管が基底膜のみをのこし血管壁構成細胞の消失した所見はなかった。

以上4種類の波長別に記したが、全例においてBruch膜が明らかに断裂された部位は認められなかった。

IV 考 按

老人性黄斑変性症などにおける脈絡膜新生血管に対するレーザー治療は、網膜下出血の存在する場合には治療の適応外とされてきた⁸⁾⁹⁾。しかしヘモグロビンに対する吸収のほとんど無視できるクリプトン・レッド・レーザーにより良好な結果を得られることは、既報⁶⁾⁷⁾のごとく実験的網膜下出血部への光凝固により、アルゴン・レーザーと比較してクリプトン・レッド・レーザーでは脈絡膜毛細血管が凝固閉塞されることを証明してきた。

今回はアルゴン・レーザーとクリプトン・レッド・レーザーの間にある波長577nm～630nmを自由に選択できるダイ・レーザーを用い、実験的に作製された網膜下出血部を光凝固し、波長の違いによる網脈絡膜への侵襲の程度と範囲を形態学的に検討した。

波長577nmによる光凝固では凝固約1時間後と1週間後の両方において感覚網膜は内境界膜を除く全層が障害され、網膜色素上皮細胞・脈絡膜毛細血管は正常構造を呈していた。これはレーザー光が網膜下出血層ヘモグロビンに吸収され、その熱作用が感覚網膜のほぼ全層に影響を及ぼしたが、網膜色素上皮細胞へはレーザー光が到達しなかったために損傷を受けなかったものと推測された。

波長590nmでは1時間後において、レーザー光が出血層ヘモグロビンに吸収されて発生した熱作用で、感覚網膜のほぼ全層に形態学的変化が認められたが、1週間後には内境界膜から神経節細胞層にかけては正常形態を呈していた。これより590nmでうけた神経線維層と神経節細胞層における凝固直後の障害は軽度で可逆性のものではあったと考えられた。また網膜色素上皮細胞と脈絡膜毛細血管への影響もみられたが、これは590nm凝固では直後には網膜色素上皮細胞自体のみ

ならず、脈絡膜毛細血管の壁構成細胞にも障害が及んだものと考えられた。凝固1週間後には網膜色素上皮細胞層には正常網膜色素上皮細胞よりslidingしたか、あるいは増殖したと考えられる色素上皮細胞が存在し、一部の脈絡膜毛細血管では壁構成細胞が変性または消失し、基底膜のみが残存している所見がみられた。

波長610nmによる光凝固でも感覚網膜に対する障害は590nmの場合とほぼ同様であったが、網膜色素上皮細胞と脈絡膜毛細血管に対する影響は大きく、強度の脈絡膜毛細血管の閉塞のために、590nmにおいて認められたようなBruch膜と障害された網膜色素上皮細胞間へ滲出性変化を生じにくかったと推測された。また凝固1週間後に脈絡膜毛細血管は完全に消失して線維芽細胞が存在した所見や大血管に対する影響からも、やはり590nmに比して脈絡膜への変化がより強いと考えられた。

波長630nm凝固では、凝固1時間後において網膜の障害は外顆粒層より外側に限局し、1週間後でも外顆粒層より内側はほぼ正常で、外顆粒層も577nm～610nmの場合に比べ、障害の程度は軽いと思われた。そして網膜色素上皮細胞と脈絡膜毛細血管はつよく障害を受け、1週間後では脈絡膜毛細血管は完全に消失し、線維芽細胞によっておきかえられていた。590nm・610nmで一部に認められた脈絡膜毛細血管の残存した基底膜は630nmではまったくみられなかった。また脈絡膜も全体的に血管腔が疎で、線維芽細胞が多くみられたことより、脈絡膜大血管の閉塞も推測された。これらのことより630nm凝固では感覚網膜におよんだ熱作用は他に比べて少なく、従ってレーザー光の大部分は出血層に吸収されることなく、網膜色素上皮細胞と脈絡膜のメラニン色素に吸収されたものと推測された。

一般に眼底ではレーザー光は主にメラニン・キサントフィル・ヘモグロビンの各色素に吸収されて熱エネルギーにかわる⁴⁾⁹⁾¹⁰⁾。今回実験に使用した家兎眼ではキサントフィルは存在せず、また網膜血管も髄質部分を除いて存在しないため、正常家兎において波長の違いが網脈絡膜に及ぼす影響の差を生じる原因は主にメラニン色素に対する吸収率の差と、組織の透過性の差によるものと考えられ、ヘモグロビンによる影響は少ないと考えられる。しかし今回作製した網膜下出血は厚さ約10～30 μ mであったが、このような網膜下出血の存在部位を凝固する場合には、ヘモグロビンに対す

る吸収率の差がさらに大きな要因となったことが考えられた。ヘモグロビンに対する吸収率は波長が長くなるほど小さくなる。従って今回の実験条件では577nmではレーザー光は出血層ヘモグロビンに吸収され、網膜色素上皮細胞へは到達せず、590nmでは一部が網膜色素上皮細胞のメラニン色素に吸収され、610nmではさらに網膜色素上皮細胞と脈絡膜のメラニン色素に吸収される割合が増加し、630nmではヘモグロビンに対する吸収はきわめて小さく、大部分のレーザー光が網膜色素上皮細胞と脈絡膜のメラニン色素に吸収されたものと考えられた。

以上実験的に作製された網膜下出血をダイ・レーザーで光凝固した結果、今回の実験条件下ではダイ・レーザーのうち610nm～630nmの長波長のレーザー光を使うことで、網膜下出血部の脈絡膜毛細血管を閉塞・消失させることが可能であった。

本論文の要旨は第91回日本眼科学会総会において講演した。

稿を終えるに当たり、ご校閲を賜った大阪市立大学眼科学教室松山道郎教授に深甚なる謝意を表します。さらに本研究に当たり技術的な協力を頂いた大阪市立大学微細形態学研究室泉田明子氏に厚く感謝の意を表します。

文 献

- 1) Borges JM, Charles HC, Lee CM, Smith RT, Cunha-Vas JG, Goldberg MF, Tso MOM: A clinicopathologic study of dye laser photocoagulation on primate retina. *Retina* 7: 46—57, 1987.
- 2) L'Esperance FA Jr: Trans-spectral organic

dye laser photocoagulation. *Trans Am Ophthalmol Soc* 133: 82—113, 1985

- 3) L'Esperance FA Jr: Clinical photocoagulation with the organic dye laser. *Arch Ophthalmol* 103: 1312—1316, 1985.
- 4) Gabel VP: 各種波長のレーザーによる網膜光凝固. 第52回日本中部眼科学会招待講演, 1986, 眼紀 投稿中.
- 5) Angioletti LV Jr: 加齢による黄斑変性の DYE LASER を用いた治療. 第52回日本中部眼科学会招待講演, 1986, 眼紀 投稿中.
- 6) 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の実験的研究, 第1報, アルゴンレーザーとクリプトンレーザー光凝固後の組織学的検討. 眼紀 36: 1379—1383, 1985.
- 7) 井上一紀, 三木徳彦, 白木邦彦: 網膜下出血に対するレーザー光凝固の実験的研究, 第2報, クリプトンレーザー光凝固後による網脈絡膜変化の組織学的検討. 第90回日本眼科学会総会にて発表, 1986, 投稿予定.
- 8) Shatz H, Patz A: Exudative senile maculopathy. I. Results of argon laser treatment. *AMA Arch Ophthalmol* 90: 183—196, 1973.
- 9) Shatz H, Patz A: Exudative senile maculopathy. II. Complications of argon laser treatment. *AMA Arch Ophthalmol* 90: 197—202, 1973.
- 10) L'Esperance FA Jr: Ophthalmic Lasers Photocoagulation, Photoradiation, and Surgery. Second Edition, 85—112, The CV Mosby Company, St Louis Toront London, 1983.

(第91回日眼総会原著)