

# 実験的虹彩新生血管発生に対する汎網膜光凝固の効果

西川 睦彦, 伊東 滋雄, 戸倉 敬雄, 山根 淳志, 三木 弘彦

関西医科大学眼科学教室

## 要 約

猿眼に実験的に網膜動静脈の閉塞と低眼圧を持続させると、処置後5日に虹彩ルベオースが発生し、この虹彩ルベオースは組織学的には **fenestration** をもち、新生血管であった。この実験モデルを用いて汎網膜光凝固が虹彩新生血管の発生を抑制するかどうかを臨床学および組織学的に観察した。予め猿眼に汎網膜光凝固を行い、同時に虹彩ルベオース発生のために網膜動静脈の閉塞と低眼圧を持続させた。5日には、臨床的に虹彩ルベオースの発生をみた。14日の組織所見では、虹彩面上の突出血管は線維芽細胞や **melanocyte** で覆われていて、血管の内皮細胞には **fenestration** をみなかったため、新生血管とみなすよりも既存の虹彩血管が拡張したものであった。すなわち、汎網膜光凝固は虹彩新生血管の発生を抑制していた。(日眼会誌 96: 1085—1092, 1992)

キーワード: 虹彩ルベオース, 虹彩新生血管, 眼内血管新生, 網膜光凝固, 網膜虚血

---

## Effect of Pan-retinal Photocoagulation in Iris Neovascularization

Mutsuhiko Nishikawa, Shigeo Ito, Takao Tokura,

Atsushi Yamane and Hirohiko Miki

*Department of Ophthalmology, Kansai Medical University*

### Abstract

The authors were able to produce experimental rubeosis iridis in the rhesus monkey's eye on 5 days following occlusion of the major retinal vessels and persistent ocular hypotony. Histopathological examination revealed true neovascularization. This experiment attempted to see whether laser pan-retinal photocoagulation plays an inhibiting effect on the occurrence of rubeosis iridis or not. We first performed laser pan-retinal photocoagulation, and at the same time performed occlusion of the major retinal vessels and persistent hypotony to aid for rubeosis iridis. Clinically, rubeosis iridis appeared within 5 days. At 14 days, histological examination revealed vessels on the surface of the iris following pan-retinal photocoagulation treatment were covered by fibroblast and melanocyte, and their endothelial cells showed no fenestrations. This means that clinical rubeosis iridis is not true neovascularization, but dilatation of the iris vessels. Thus, it was confirmed that pan-retinal photocoagulation inhibits development of iris neovascularization. (*Acta Soc Ophthalmol Jpn* 96: 1085—1092, 1992)

**Key words:** Rubeosis iridis, Iris neovascularization, Intraocular neovascularization, Retinal photocoagulation, Retinal ischemia

---

別刷請求先: 570 守口市文園町1 関西医科大学眼科学教室 西川 睦彦

(平成4年2月26日受付, 平成4年4月1日改訂受理)

Reprint requests to: Mutsuhiko Nishikawa, M.D. Department of Ophthalmology, Kansai Medical University, 1 Fumizono-cho, Moriguchi 570, Japan

(Received February 26, 1992 and accepted in revised form April 1, 1992)

## I 緒 言

猿眼に実験的に虹彩新生血管を作成する方法については、先に報告<sup>1)</sup>した。一方、汎網膜光凝固は眼内新生血管の発生予防に効果があるとされている<sup>2)~4)</sup>。今回、我々が作成した虹彩新生血管発生のモデルを用いて、汎網膜光凝固が虹彩新生血管の発生を抑制できるかどうかを臨床的および組織的に検討した。

## II 方 法

実験動物には、体重1.5 kgから2.5 kgまでのカニクイ猿2頭3眼を用いた。3眼すべてをミドリンP<sup>®</sup>にて十分な散瞳を行い、塩酸ケタミン(ケタラル<sup>®</sup>)25 mg/kg筋注による全身麻酔後、3面鏡コンタクトレンズを装着し、Coherent Radiation社製クリプトンレーザー装置を用いて、凝固出力140~180 mW、凝固径200  $\mu$ m、凝固時間0.5秒で約1,000回の汎網膜光凝固を後極部から周辺部の全域に行った(図1)。その直後に、既報<sup>1)</sup>の虹彩新生血管発生方法を行った。すなわち、手術用顕微鏡下で球結膜切開の上、角膜輪部に平行に輪部から3 mm、10時の毛様体扁平部の強膜を尖刃刀にて3 mm切開した。後極部用硝子体コンタクトレンズを角膜上に装着させて、創孔からマイクロ波凝固装置のチップを硝子体内に挿入し、直視下に網膜の主幹動静脈を2本、乳頭から1乳頭径離れた所で熱凝固閉塞した。強膜切開創はそのまま開放しておき、球結膜創のみ縫合した。

処置後、経時的に隙隙灯顕微鏡検査、前眼部撮影、虹彩蛍光造影などの臨床検査を行って虹彩ルペオシスの発生を臨床的に観察した。また、組織学的検索のため2眼は処置後14日に、また1眼は処置後28日に

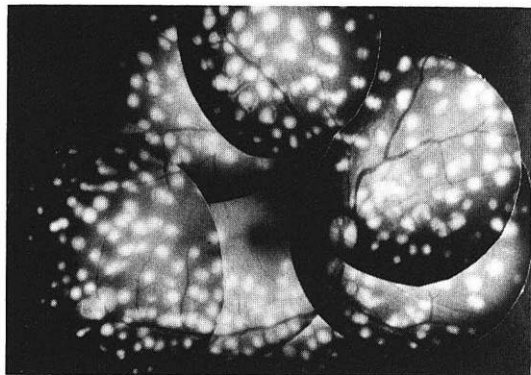


図1 眼底写真：汎網膜光凝固直後。

それぞれ眼球摘出し、2倍希釈のKarnovsky液で24時間の前固定を行った。その後、0.1 M 磷酸緩衝液にて洗浄し、2% Osmium 溶液で1.5時間の後固定を行い、エタノール系列で脱水し、プロピレンオキシドに置換後Epon 812に包埋して標本を作成した。その後、虹彩部の薄切切片を作成して、トルイジンブルー染色液で染色して顕微鏡で観察した。さらに、虹彩の超薄切片を酢酸ウラニールとクエン酸鉛の二重染色の後、透過型電子顕微鏡(日立 HU-12 型)にて観察した。

## III 結 果

### 1. 臨床所見の経過

処置後3日には、虹彩前面に拡張した暗赤色の血管がみられ、5日には虹彩前面から突出した血管が明瞭に観察されるようになり、これらの血管は臨床的にみられる虹彩ルペオシスに類似していた。7日から14日にかけてこの虹彩ルペオシスの血管は拡張、蛇行が増大していたが、14日を過ぎると、赤くみえていた虹彩ルペオシスの血管は、色調が茶褐色に変色し口径も縮小し、消退過程にあるように思われた(図2)。虹彩蛍光造影では、3日から蛍光色素の血管外漏出が著明になった。虹彩ルペオシスが消退しはじめた14日頃から虹彩血管からの血管外漏出は減少していた(図3)。

### 2. 組織学的所見

処置後14日の光顕所見では、虹彩面上から突出していた血管は、虹彩前境界層を構成している線維芽細胞やmelanocyteで覆われていて血管は露出していなかった(図4A)。虹彩実質内の毛細血管および静脈は赤血球が充満していて、その血管周囲を取り囲む様に遊走して来た細胞が密集していた(図4B)。電顕所見では、処置後14日の虹彩前境界層下付近の虹彩血管の内皮細胞の胞体は扁平でfenestrationがみられず、ミトコンドリアや粗面小胞体などの細胞内小器官は乏しく、活動性を示している所見はみられなかった(図5)。また、虹彩実質内の血管周囲を取り囲む遊走細胞には2種類がみられ、一つは核に切れ込みがあり、大型の丸いミトコンドリアや多数のリボゾームがみられた特徴からリンパ球と思われるもの(図6A)、もう一つは核が車軸状の外観を呈し、粗面小胞体がよく発達していることから形質細胞であることがわかった(図6B)。これらの細胞は血管腔周囲に遊走し、集合している細胞は細胞間結合装置を形成してとり囲んでいるようにみられた(図7)。

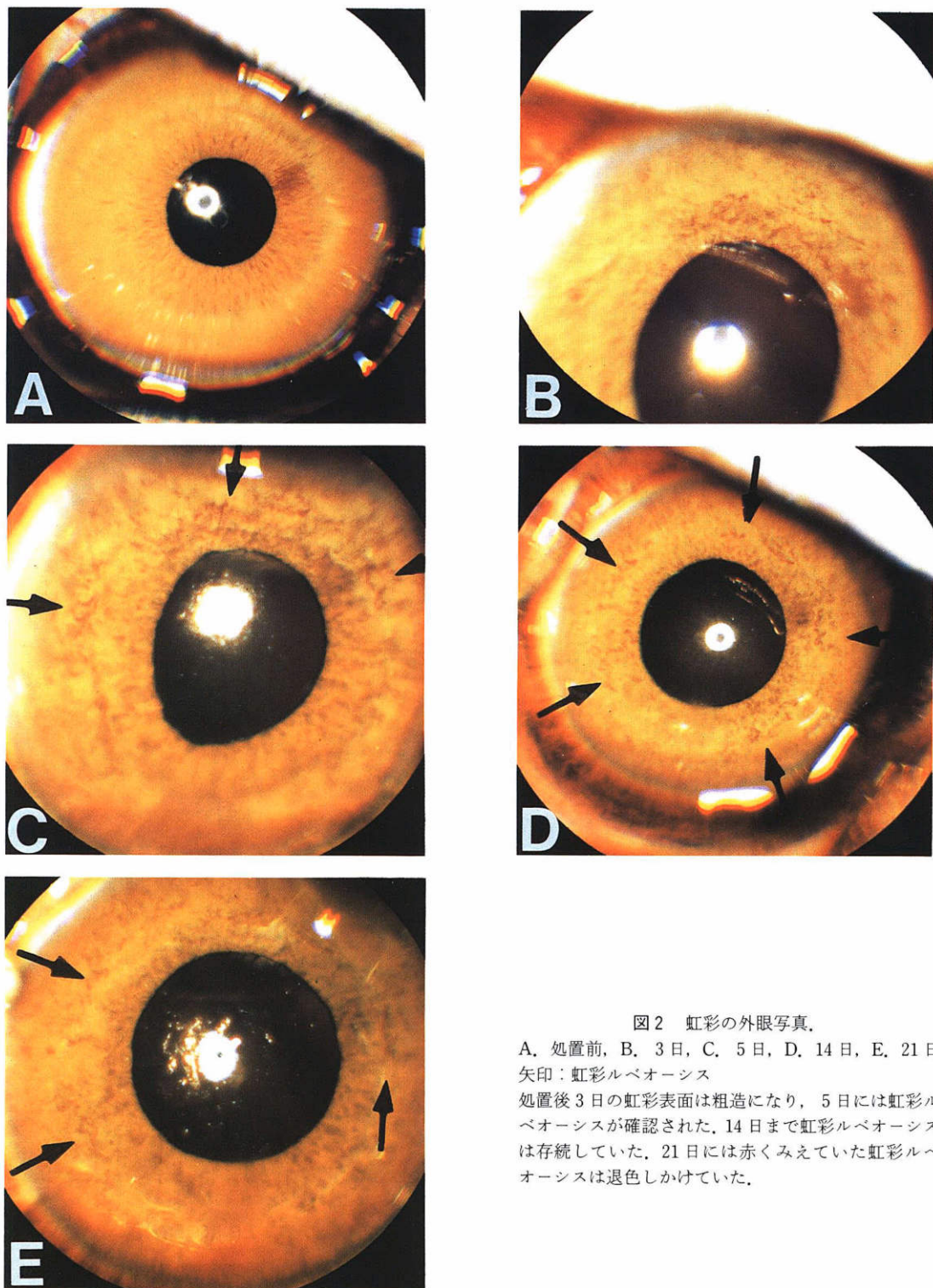


図2 虹彩の外眼写真.

A. 処置前, B. 3日, C. 5日, D. 14日, E. 21日  
矢印: 虹彩ルペオシス

処置後3日の虹彩表面は粗造になり, 5日には虹彩ルペオシスが確認された. 14日まで虹彩ルペオシスは存続していた. 21日には赤くみえていた虹彩ルペオシスは退色しかけていた.

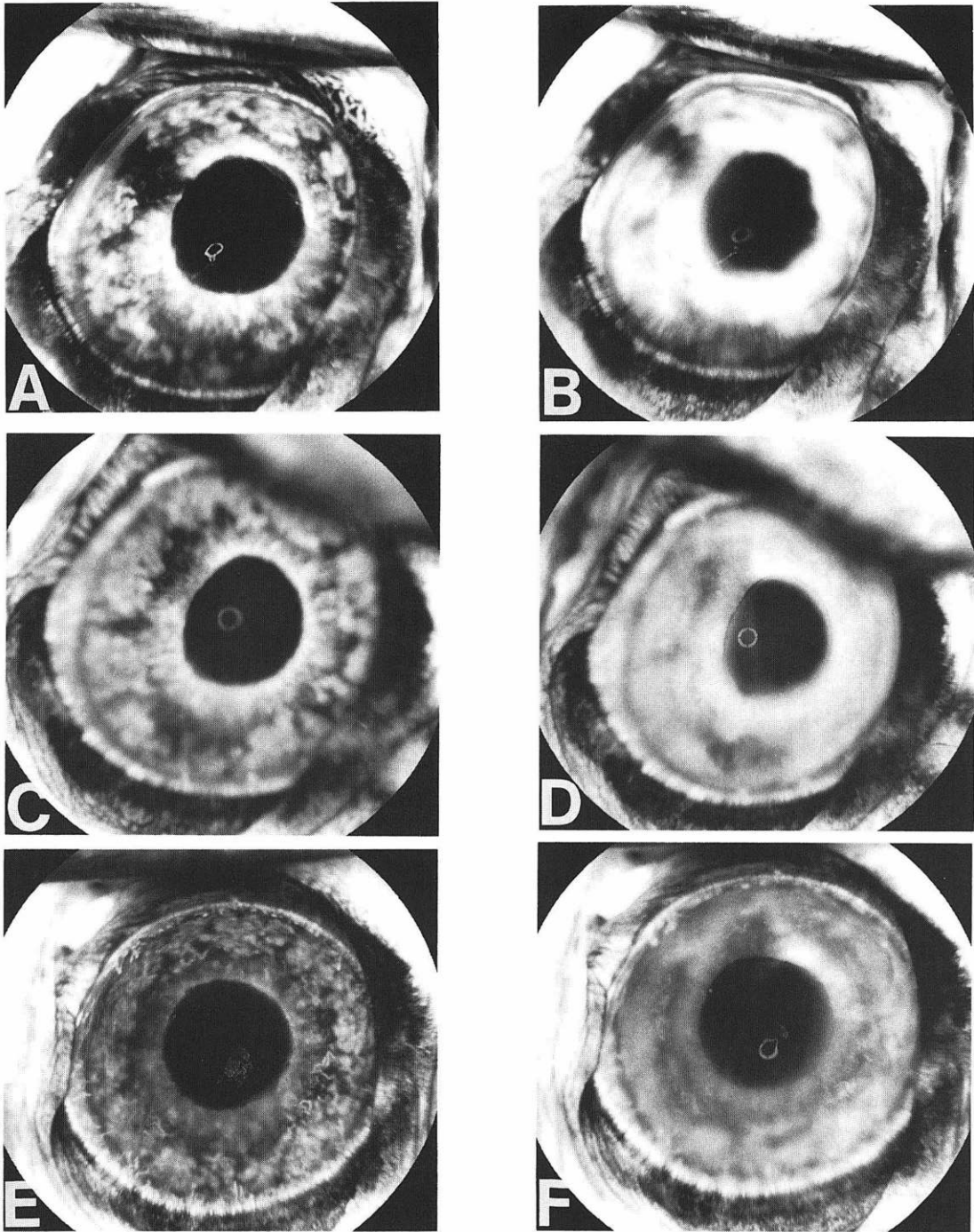


図3 虹彩の蛍光造影像。

A. 3日 (16秒後), B. 3日 (54秒後), C. 7日 (16秒後), D. 7日 (56秒後),  
E. 14日 (16秒後), F. 14日 (54秒後)

3日と14日の早期蛍光造影を比較してみると、3日では虹彩の血管外漏出、特に瞳孔縁からの漏出が著明にみられた。また、後期静脈期においても3日に旺盛な漏出がみられたのに対して、14日では消退傾向にあった。



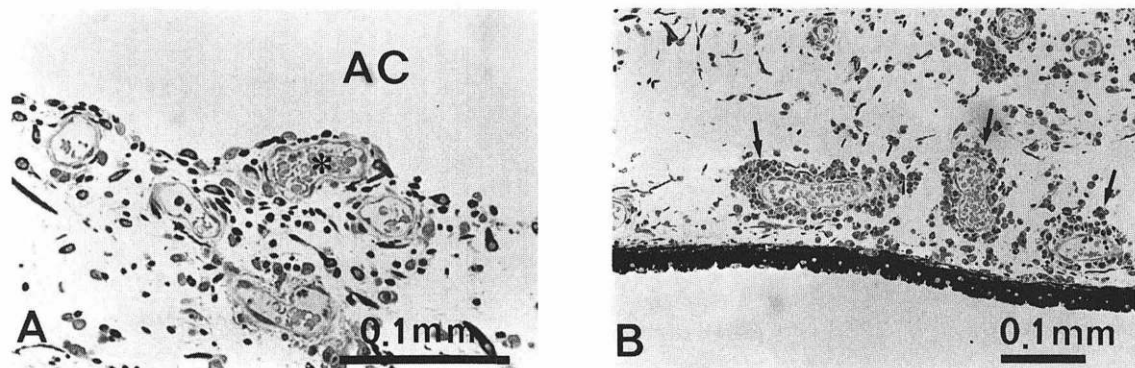


図4 光凝固14日の虹彩の光顕像。

A: 前房側へ突出した血管は薄い前境界層で被われている。AC: 前房, \*: 虹彩ルペオースを示した血管 (トルイジンブルー染色,  $\times 200$ )。B: 虹彩実質内の血管周囲を多数の遊走細胞 (矢印) が取り囲んでいる。(トルイジンブルー染色,  $\times 100$ )

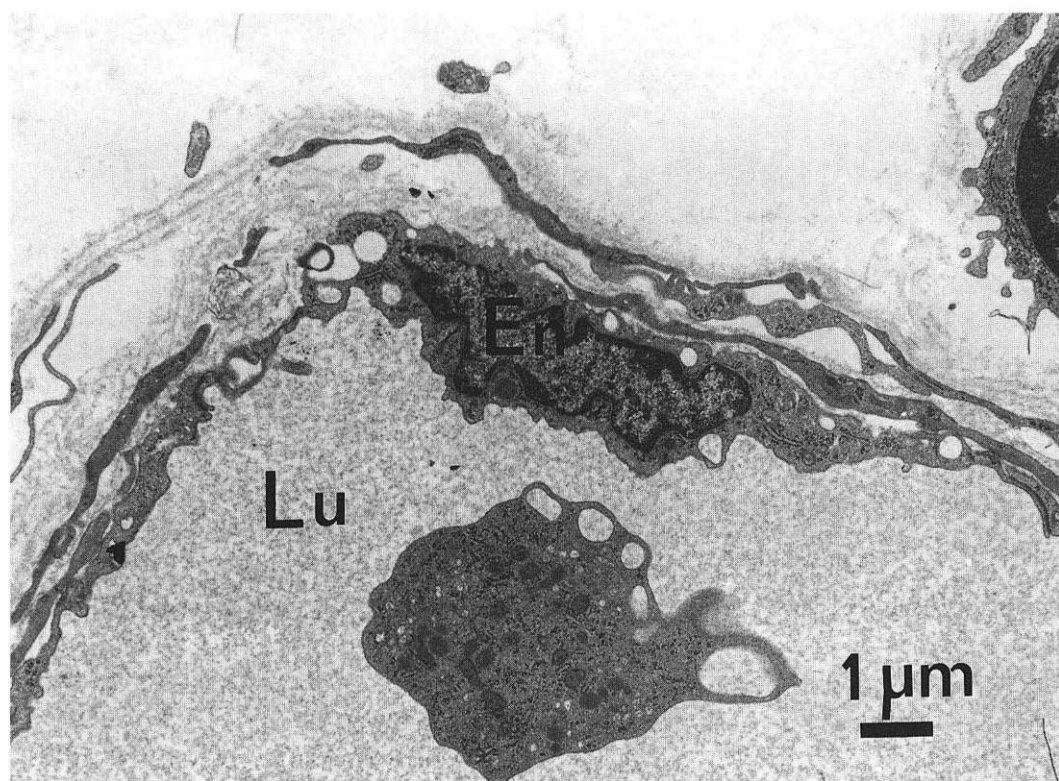


図5 光凝固14日の虹彩の電顕像。

虹彩ルペオースとみられる血管の内皮細胞は扁平で、胞体には fenestration はなく基底膜が完成している。En: 内皮細胞, Lu: 血管腔 ( $\times 7,800$ )

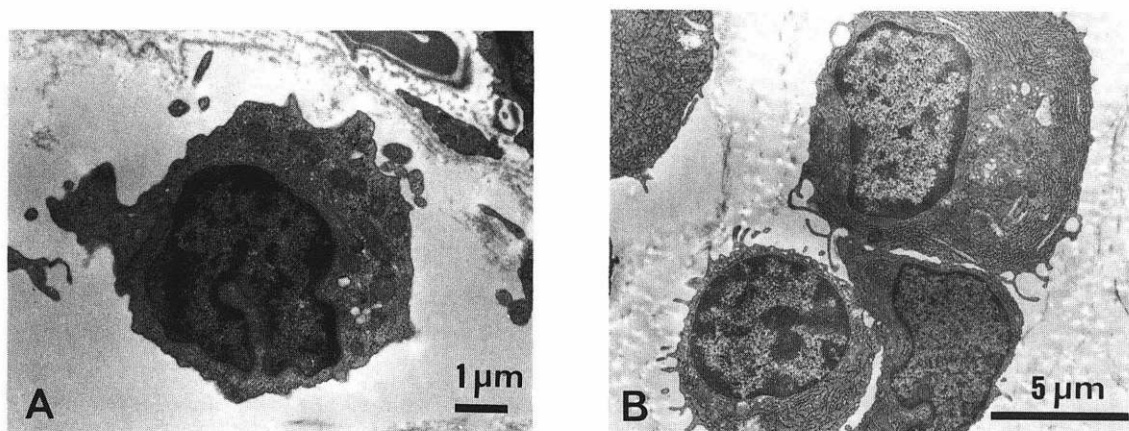


図6 光凝固14日の虹彩の電顕像.

- A: 核に大きな切れ込みがあり, 大型の丸いミトコンドリアやリボゾームがみられる. (×6,600)  
 B: 核が車軸状で, 大量の粗面小胞体が見られる. (×4,100)

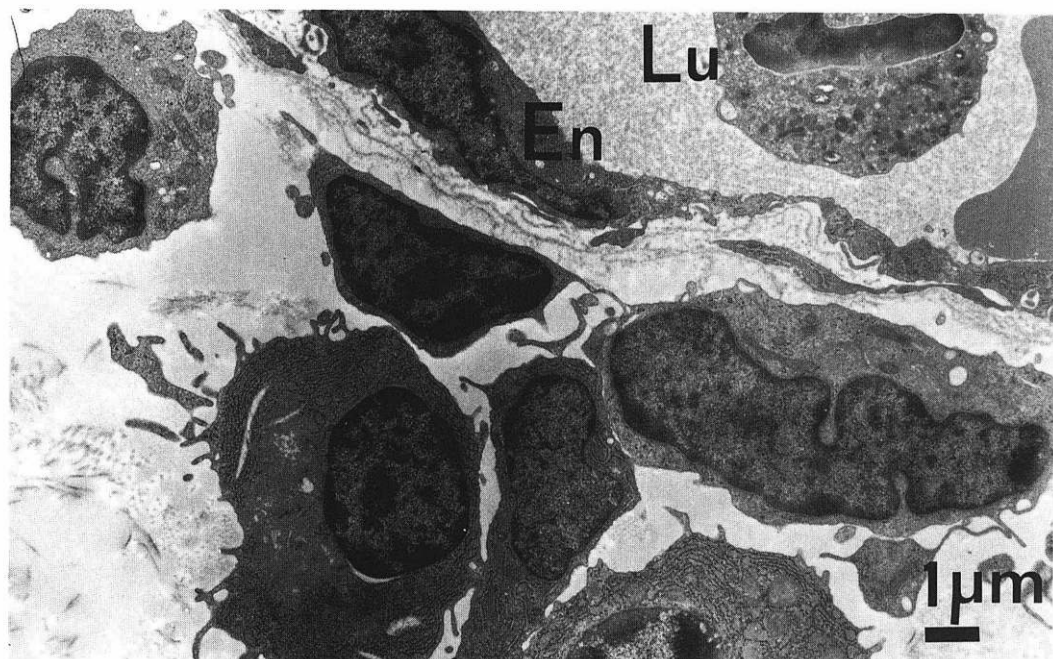


図7 光凝固14日の虹彩の電顕像.

- 血管腔の内皮細胞の周囲を形質細胞やリンパ球が cell junction を形成して取り囲んでいる.  
 En: 内皮細胞, Lu: 血管腔 (×6,300)

処置後28日になると, 光顕所見では, 虹彩前境界層にある突出した血管は消退しており, また14日にみられた虹彩実質内の血管周囲にみられた遊走細胞もほぼ消失していた(図8). 電顕所見では, 虹彩面上に突出

した血管の血管内皮細胞の胞体には fenestration はなく, 扁平になり基底膜は厚く, 内皮細胞間隙の tight junction は閉鎖され正常構造を示していた(図9).

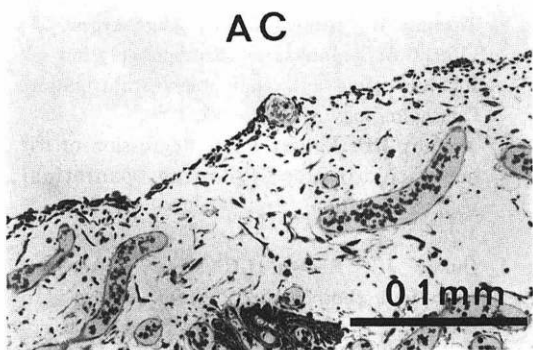


図8 光凝固28日の虹彩の光顕像。

虹彩前境界層の突出した血管は消退し、虹彩実質内の血管周囲の遊走細胞もほぼ消失している。AC：前房（トルイジンブルー染色，×100）

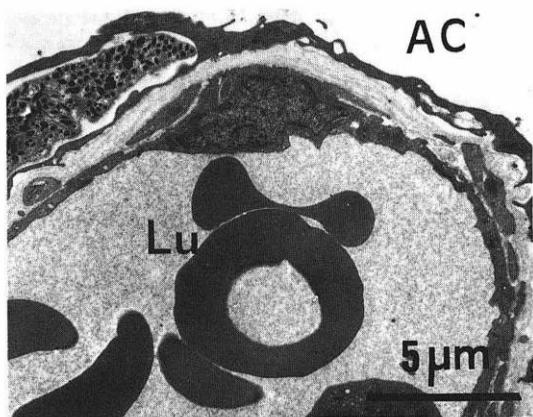


図9 光凝固28日の虹彩の電顕像。

血管内皮細胞は扁平になり、胞体には fenestration はなく、厚い基底膜に被われている。AC：前房，Lu：血管腔（×4,100）

#### IV 考 按

汎網膜光凝固は眼内新生血管の発生に抑制的に働くと考え<sup>2)~4)</sup>，Tasman ら<sup>2)</sup>は臨床的に増殖型の糖尿病網膜症に汎網膜光凝固を行うと虹彩からの新生血管の発生が3.8%から2.2%に抑制されるとしている。しかし、虹彩新生血管の抑制がどのような経過で退縮するのか不明な点も多い。本来、虹彩新生血管の発生には網膜虚血が必要であり、網膜中心静脈閉塞症などで網膜虚血のある眼の60%に虹彩新生血管が発生したとしている。Murphy ら<sup>3)</sup>によると虹彩新生血管の発生は、重症の緑内障、増殖型の糖尿病網膜症や虚血性の

網膜疾患に続発して起こることが多く、網膜の循環障害のため虚血状態の網膜から血管増殖因子が遊出するので発現すると考えて、汎網膜光凝固が虚血状態の網膜を破壊し血管増殖因子の遊出を抑制するためと推論している。また、Duker ら<sup>4)</sup>は、汎網膜光凝固により血管新生因子の産生を抑制する作用の他に、細胞外調節因子を変化させること、すなわち低酸素状態の網膜を直接に破壊すること、脈絡膜網膜関門の破壊によって脈絡膜血管から網膜内層への酸素などの供給を増加させること、また網膜色素上皮細胞から新生血管抑制因子を放出させることによって効果があると考えた。一方、Glaser ら<sup>5)</sup>によれば、網膜色素上皮細胞は血管の豊富な脈絡膜と血管のない網膜外層の barrier としてあり、網膜色素上皮細胞は血管内皮細胞の増殖に抑制的に働いたり、新生血管の消退をおこす能力をもつと考えられており、光凝固などによる網脈絡膜瘢痕で、網膜色素上皮細胞から硝子体腔に血管新生抑制因子が放出され、眼内血管新生の消退に関与すると考えている。Singh ら<sup>6)</sup>は、硝子体の蛋白分析より、汎網膜光凝固を受けた硝子体には、汎網膜光凝固を受けなかった硝子体と比較して、血管内皮細胞の増殖抑制効果があったと述べている。

我々は、実験的虹彩ルベオースのモデルに汎網膜光凝固がどのような影響をおよぼしているかを形態学的に観察した。予め網膜虚血を作成しておき虚血網膜に対して汎網膜光凝固を行えば、臨床モデルに近い状態であるが、我々の実験モデルでは処置直後には眼圧は0 mmHg となり角膜浮腫を生じ、時には硝子体出血を生じることがあり、処置後に汎網膜光凝固を行うのは難しい。そこで、我々は汎網膜光凝固を先に行い、同時にその直後に網膜虚血作成のために網膜の主幹動静脈の閉塞および低眼圧の状態を作成した。

臨床的には、汎網膜光凝固の有無にかかわらず、5日には虹彩ルベオースを観察できた。しかし、同時期の組織学的所見を比較すると、光凝固をおこなわなかったものでは虹彩ルベオースの血管内皮細胞には細胞内小器官が豊富にみられ、胞体には fenestration がみられたことから新生血管であることが確認されたのに対して、光凝固を予めおこなっていたものでは虹彩ルベオースの血管内皮細胞には fenestration がなく厚い基底膜に覆われており幼若な新生血管とは考えにくく、従来からある血管が拡張したものとみられた。このことは、光凝固の実施により網脈絡膜の循環血流が低下しているので、網膜の動静脈閉塞の操作

を加えても、光凝固を行わなかったものに比べて、網膜の虚血が軽度であったからと思われた。すなわち、汎網膜光凝固は網膜虚血によって生じる虹彩ルペオースの発生を抑制し、虹彩には既存血管の拡張だけであって真の新生血管を発生させなかった。

なお、今回の実験で興味あった所見は、予め汎網膜光凝固を行っておくと処置後14日の虹彩実質内の血管周囲にリンパ球や形質細胞が遊走していた。なぜ、光凝固を行った例にこのような遊走細胞が出現したのかは明らかではない。

稿を終えるにあたり、宇山昌延教授の御校閲に深謝いたします。

なお、本研究は平成3年度文部省科学研究費補助金(課題番号03771256)の補助を受けた。付記して感謝の意を表す。

本論文の要旨は、第95回日本眼科学会総会(平成3年5月、京都)において西川が報告した。

#### 文 献

- 1) 西川睦彦, 伊東滋雄, 戸倉敬雄, 他: 虹彩ルペオース発生のモデル動物眼の作成とその形態学的研

究. 日眼会誌 96: 447—454, 1992.

- 2) Tasman W, Magargal LE, Augsburger JJ: Effects of argon laser photocoagulation on rubeosis iridis and angle neovascularization. *Ophthalmology* 87: 400—402, 1980.
- 3) Murphy RP, Egbert PR: Regression of iris neovascularization following panretinal photocoagulation. *Arch Ophthalmol* 97: 700—702, 1979.
- 4) Duker JS, Brown GC: The efficacy of panretinal photocoagulation for neovascularization of the iris after central retinal artery obstruction. *Ophthalmology* 96: 92—95, 1989.
- 5) Glaser BM, Campochiaro PA, Davis JL, et al: Retinal pigment epithelial cells release an inhibitor of neovascularization. *Arch Ophthalmol* 103: 1870—1875, 1985.
- 6) Singh A, Boulton M, Lane C, et al: Inhibition of microvascular endothelial cell proliferation by vitreous following retinal scatter photocoagulation. *Br J Ophthalmol* 74: 328—332, 1990.