

連続波 Nd : YAG レーザー 猿毛様体ひだ部光凝固の 組織病理学的観察

水川 淳, Liu Guo Jing, 沖坂 重邦

防衛医科大学校眼科学教室

要 約

連続波 Nd : YAG レーザーを用いて猿毛様体ひだ部を経強膜、接触法で光凝固し、3 カ月まで経時的に眼圧を測定し、凝固部の組織病理学的変化を観察した。眼圧は1 週後で最も下降し、1 ~ 3 カ月で最初の値に戻った。毛様体光凝固直後には無色素上皮細胞、色素上皮細胞ともに凝固壊死を起こしていたが、凝固後3 週後で無色素上皮細胞の再生、増殖および毛細血管の再生が観察された。光凝固後3 カ月では無色素上皮細胞の増殖は更に著明となり、凝固周辺部では色素上皮細胞の再生も認められた。連続波 Nd : YAG レーザー毛様体光凝固は毛様体ひだ部にのみ限局性凝固壊死を起こすことが可能であり、上皮細胞、毛細血管の再生も認められ、毛様体機能の回復を示す所見も得られたので、治療の程度をコントロールすることも容易と思われる、より広範囲の緑内障の治療手段となる可能のある方法と考える。(日眼会誌 96 : 132-145, 1992)

キーワード：連続波 Nd : YAG レーザー、毛様体光凝固、眼圧、組織病理学、カニクイザル

Histopathological Study on the Pars Plicata of Cynomolgus Monkey by the CW Nd : YAG Laser

Atsushi Mizukawa, Liu Guo Jing and Shigekuni Okisaka

Department of Ophthalmology, National Defense Medical College

Abstract

The pars plicata of cynomolgus monkey eyes were coagulated by a continuous wave (CW) Nd : YAG laser contact system. The intraocular pressure and histopathological changes were observed during the following 3 months. The intraocular pressure decreased during the first week to a minimum level and returned gradually to the pre-coagulation level within 1~3 months. Immediately after photocoagulation, both pigment and non-pigmented epithelium of pars plicata were destroyed. Three weeks after the coagulation nonpigmented epithelium and capillaries showed regeneration. Three months after coagulation, the proliferation of non-pigmented epithelium was conspicuous and regenerating pigment epithelium was observed around the margin of the burned lesion. The CW-Nd : YAG laser contact photocoagulation induced localized destruction of ciliary processes. The regeneration of epithelium and capillaries might indicate that the function of ciliary body could recover to a certain extent and it may be comparatively easy to control the degree of coagulation. These findings suggest that it might be possible to apply CW-Nd : YAG laser photocoagulation to various types of glaucoma. (Acta Soc Ophthalmol Jpn 96 : 132-145, 1992)

Key words : Continuous wave (CW) Nd : YAG laser, Cyclophotocoagulation, Intraocular pressure (IOP), Histopathology, Cynomolgus monkey

別刷請求先：359 所沢市並木3-2 防衛医科大学校眼科学教室 水川 淳
(平成3年6月28日受付, 平成3年7月9日改訂受理)

Reprint requests to: Atsushi Mizukawa, M.D. Department of Ophthalmology, National Defense Medical College.

3-2 Namiki, Tokorozawa-shi 359, Japan

(Received June 28, 1991 and accepted in revised form July 9, 1991)

I 緒 言

種々のレーザーを用いた緑内障治療法が開発され、臨床応用されてきており、Nd:YAG レーザー毛様体光凝固もその中の一つである^{1)~4)}。経強膜的に毛様体を凝固する方法には、接触法⁵⁾⁶⁾と非接触法⁷⁾⁸⁾がある。レーザー毛様体光凝固が臨床応用される前は、種々の手術療法に抵抗する症例に対しては毛様体冷凍凝固療法が多く用いられていた⁹⁾。冷凍凝固はある程度の効果を望むことはできるが、広範囲の凝固壊死による術後炎症も強く、適切な凝固程度を決定することが難しい欠点があった。今回我々は新しく開発した連続波 Nd:YAG レーザー凝固装置¹⁰⁾を用い、房水の産生に関与する毛様体ひだ部のみを選択的に光凝固し、術後の眼圧変動と毛様体ひだ部の形態学的変化を経時的に観察し、連続波 Nd:YAG レーザー経強膜毛様体凝固の眼圧下降機序について検討したので報告する。

II 実験方法

実験には日本エスエルシー(浜松)より購入した体重 4.0~5.0 kg の雄カニクイザルを使用した。光凝固は株式会社ニデック(蒲郡)製 YC-11 連続波 Nd:YAG レーザー光凝固装置を用いた。実験中の猿の麻酔として塩酸ケタミン(Ketalar®)の筋肉注射を行った。

1. 毛様体光凝固の適正条件

先ず猿2匹4眼を用いて、尖端に石英製の直径2.2 mm 半球の接触面をもつプローブ SSRH 7 (SLT Japan) を輪部とそれより後方 3.0 mm のところの任意の位置に置き、出力を 1.8 W に固定し、照射時間を 0.5 秒、1.0 秒、1.5 秒、2.0 秒に変えて毛様体光凝固を行った。光凝固後直ちに眼球を摘出し、赤道部で前後に2分し、実体顕微鏡下で虹彩、毛様体、水晶体の凝固状態を観察し、毛様体ひだ部のみが凝固される至適条件を調べた。

2. 毛様体光凝固後の眼圧変動と組織病理学的変化

7匹の猿を用いて、至適凝固条件で、全周にわたって等間隔に8カ所光凝固した。眼圧測定は、Alcon Applanation Pneumatograph を用いて光凝固後3ヵ月まで経時的に行った。

凝固直後、10日、3週、1ヵ月、1.5ヵ月、3ヵ月で眼球を摘出し、赤道部で半切し、2.5%ホルマリン、2.0%グルタルアルデヒド混合液(燐酸緩衝液)で24時間固定後、毛様体ひだ部を含んで細切した凝固組織を1.0%オスミウム酸で1時間後固定後、アルコール

系列で脱水、エポキシ樹脂で包埋した。凝固後各時期の5個ずつのブロックについて厚さ1 μ mの連続切片を作成し、凝固中央部のトルイジン青染色標本を用いて光学顕微鏡にて観察を行った。さらにその各々について凝固中央部の超薄切片を作成し、酢酸ウラン、クエン酸鉛の2重染色によって電子顕微鏡で観察した。

III 結 果

1. 毛様体ひだ部光凝固の適正条件(図1)

照射時間0.5秒では、毛様体ひだ部、扁平部ともに光凝固斑は認められなかった。照射時間1.0秒では、毛様体ひだ部には凝固斑はみられなかったが、扁平部には淡い白色の凝固斑がみられた。照射時間1.5秒では、毛様体ひだ部に薄い凝固斑がみられたが、扁平部には濃い凝固斑が形成されていた。照射時間2.0秒では毛様体ひだ部では濃い白色凝固斑がみられたが、扁平部では中央に組織欠損を伴う大きな凝固斑が形成され、硝子体中への出血を認めることもあった。

輪部にプローブの前端を置くと、毛様体突起の前方1/3と虹彩根部が凝固され、3.6 Jでは時に水晶体赤道部にも凝固が及んでいた。輪部より1.0 mmのところにはプローブの前端を置くと毛様体突起後方2/3が凝固され、水晶体赤道部の凝固は認められなかった。輪部より1.5 mmのところにはプローブ前端を置くと毛様体ひだ部後方1/3と扁平部がわずかに凝固された。輪部より2.0 mmのところにはプローブ前端を置くと毛様体扁平部の前方1/3が凝固され、輪部より3.0 mmのところでは毛様体扁平部中央が凝固されていた。

従って毛様体ひだ部凝固は、輪部より1.0 mmのところにはプローブ前端を置き、3.6 Jで凝固するのが最適であることが判明した。

2. 眼圧変化(図2)

光凝固直後眼圧の急激な上昇を認め、30~60分で最高値を示した。その後眼圧は下降し、7日後に最低値を示し、その後徐々に再上昇し、1ヵ月~3ヵ月で最初の眼圧値に戻った。

3. 組織病理学的変化

1) 毛様体光凝固直後(図3~6)

凝固されたひだ部後方2/3の無色素上皮細胞は大きく剝離し、色素上皮細胞の配列の乱れが著明であった。上皮直下の毛細血管は凝固血栓により閉塞しているものが多く認められた(図3、4)。凝固周辺部の無色素上皮細胞ではミトコンドリアの膨化が著明になっていた(図5)。凝固中央部では無色素上皮細胞、色素上皮

細胞ともに凝固壊死に陥り、正常の形態を保っているものはほとんどなかった(図6)。毛様体筋は膨化し、細胞膜の境界が不鮮明になり、細胞質の染色性が著しく低下していたが、核濃縮はみられなかった。メラノサイトも同様に膨化し、メラニンの減少・消失しているものが多くみられた。

2) 毛様体光凝固後10日(図7~8)

凝固部の毛様体突起は消失し、後房側には凝固壊死に陥った上皮細胞の残渣が重なっており凝固巣をおおう細胞成分の再生はまだ観察されなかった。毛様体筋はほとんど認められず、メラニンを貪食したマクロファージが多数集簇していた。

3) 毛様体凝固後3週(図9~10)

重層した細胞が凝固部後房側に増殖しているのが認められた。この細胞は微細な突起を出して相接し重層しており、後房側には基底膜様物質が重層化していた。核は切れ込みをもつ不整形で、豊富な粗面小胞体、微細線維束を持っており、再生した無色素上皮細胞の形態を持っていた。色素上皮細胞の再生はみられなかったが、実質には毛細血管の出現もわずかに観察された(図9~10)。毛様体筋が消失したところを線維芽細胞、メラノサイト、メラニンを貪食したマクロファージが補充していた。

4) 毛様体光凝固後1カ月(図11~12)

再生してきた無色素上皮細胞は1~2層になり、後房側に連続して増殖し、後房側に突出するようなところも認められた。この細胞層の下にはメラニンを貪食したマクロファージが多数集簇していた(図11)。基底膜様物質も厚みを増し、コイル状になって集積している部分も観察された(図12)。実質にはまたマクロファージが多数認められた。

5) 毛様体光凝固後1.5カ月(図13~14)

無色素上皮細胞の増殖は更に明瞭になってきており、その下方のマクロファージの集簇も続いていた(図13)。凝固周辺部の無色素上皮細胞の細胞突起はより密になり細胞間には中間接合装置をもったものも認められた。細胞質中の線維束は幅を増していた(図14)。

6) 毛様体光凝固後3カ月(図15~18)

凝固部に増殖した無色素上皮細胞は後房側に著しく突出してきているところもあり、毛細血管とそれを取り囲む膠原線維がその周囲に多数出現しているのが認められた(図15~16)。毛様体筋の消失した後房側半分には無色素上皮細胞が網目状に増殖し、網目の間にマクロファージが多数みられた。毛様体筋の消失した強

膜側半分には線維芽細胞の増殖が著明であった(図15)。凝固周辺部には色素上皮細胞が再生し、その下に有窓構造をもつ毛細血管も認められた(図17, 18)。

IV 考 按

連続波Nd:YAGレーザーを使いカニクイザル毛様体ひだ部を標的として接触法にて経強膜的に光凝固を行い眼圧変動および組織病理学的変化を経時的に3カ月まで観察した。毛様体光凝固によりひだ部の無色素上皮細胞、色素上皮細胞はともに破壊された。凝固後10日まで凝固破壊された組織表面の修復は認められなかったが、凝固後3週になると無色素上皮細胞が凝固部後房側の上皮細胞の破壊された部分に増殖しているのが観察された。この細胞は徐々に重層化し網目状に増殖し、基底膜様構造を後房側に向けて作っていた。実質毛細血管の再生も凝固後3週より観察された。凝固後3カ月で色素上皮細胞の再生が凝固周辺部で認められた。

房水の産生には毛様体上皮細胞の関与が最も大きいと考えられている。毛様体上皮細胞を破壊して房水産生を抑制する方法はいろいろと試みられてきた。その代表的なものが毛様体冷凍凝固であるが⁹⁾、1カ所の凝固面積が大きく、毛様体ひだ部だけを選択的に破壊することは困難である。Nd:YAGレーザーは1,064nmの波長をもち血液や水による吸収率が極めて低く、従って強膜でのエネルギー損失を最小にすることが可能であるため⁷⁾、毛様体ひだ部に焦点を結ぶ様に設計されたプローブを使用すると極めて精確に限局的に毛様体の破壊を経強膜的に得ることができる¹⁰⁾。凝固の影響は組織所見からみて、毛様体冷凍凝固に比較して、1カ所の凝固面積が小さいため、凝固の調節がより容易と考えられ、過剰凝固による眼球への影響を少なくすることが可能と思われる¹⁰⁾¹¹⁾。

今回の猿眼の実験では凝固後3週より無色素上皮細胞の再生を認めた。同時期に凝固部直下に実質に毛細血管の出現も観察された。一方、色素上皮細胞は凝固後3カ月になって凝固周辺部に出現が認められたので、無色素上皮細胞との間には凝固による影響の差、再生能の差が認められた。房水産生には無色素上皮細胞、色素上皮細胞の相互関係も重要な役割を持っていると考えられ¹²⁾、無色素上皮細胞の再生は凝固後短時間で開始されるとしても色素上皮細胞の相互関係の回復はさらに長期間かかるか、もはや回復はないと考えた場合¹³⁾、この上皮細胞間相互の構造破壊が房水産生

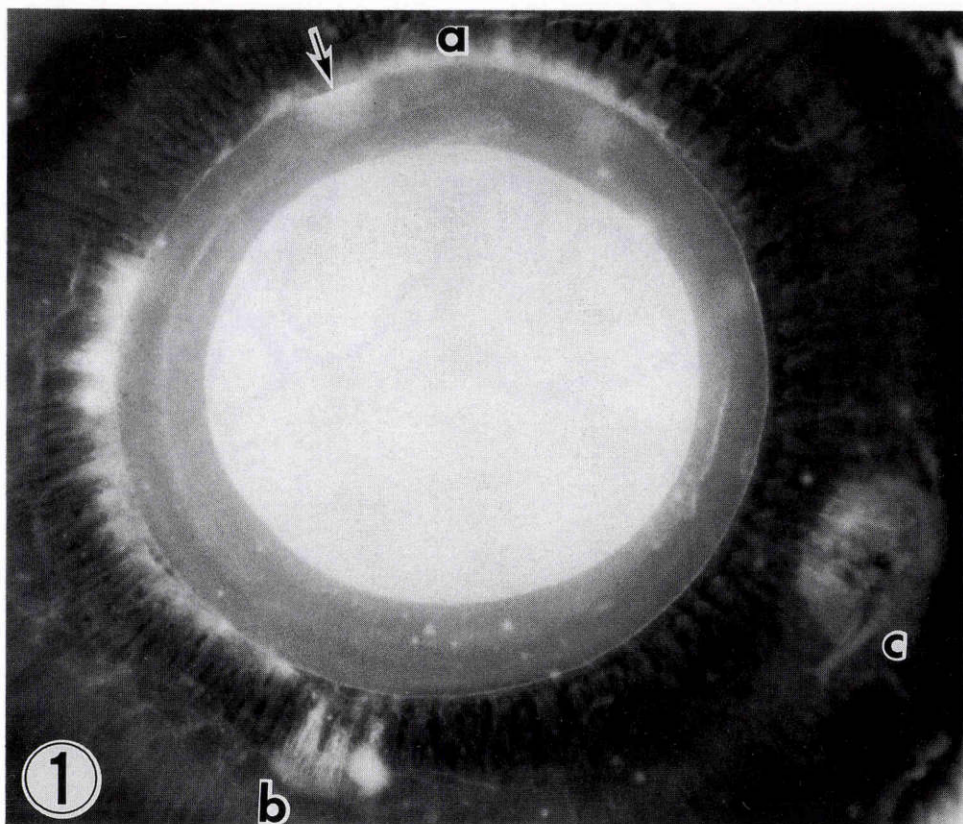


図 1 照射時間を 2.0 秒 (3.6 J) した場合の凝固巣の位置を示す実体顕微鏡写真。(a) プローブ先端を輪部に置くと毛様体突起前部が凝固され、時に水晶体赤道部が凝固される (矢印)。(b) プローブ先端を輪部より 1.5 mm のところに置くと毛様体突起後部と扁平部が凝固される。(c) 輪部より 3.0 mm のところでは扁平部が強く凝固されて、中央には組織欠損を認める。

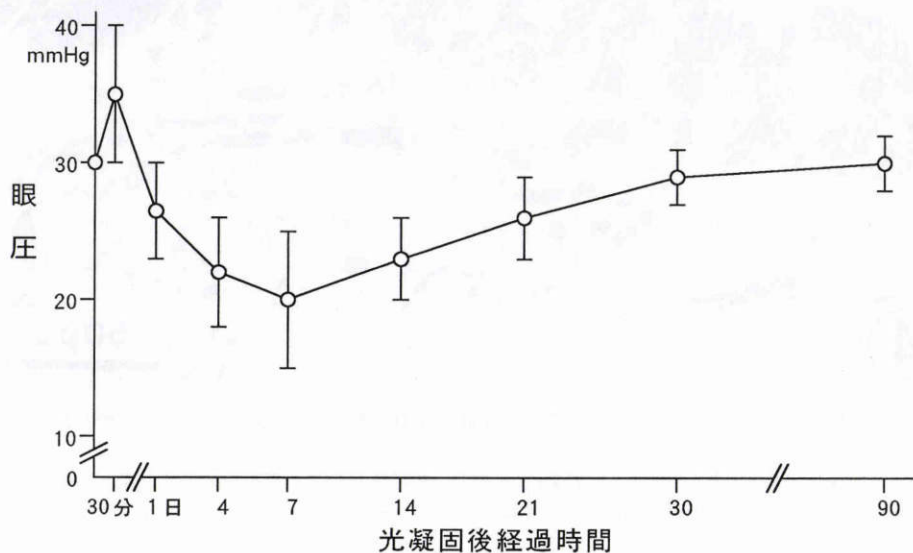


図 2 光凝固後の眼圧の変化。

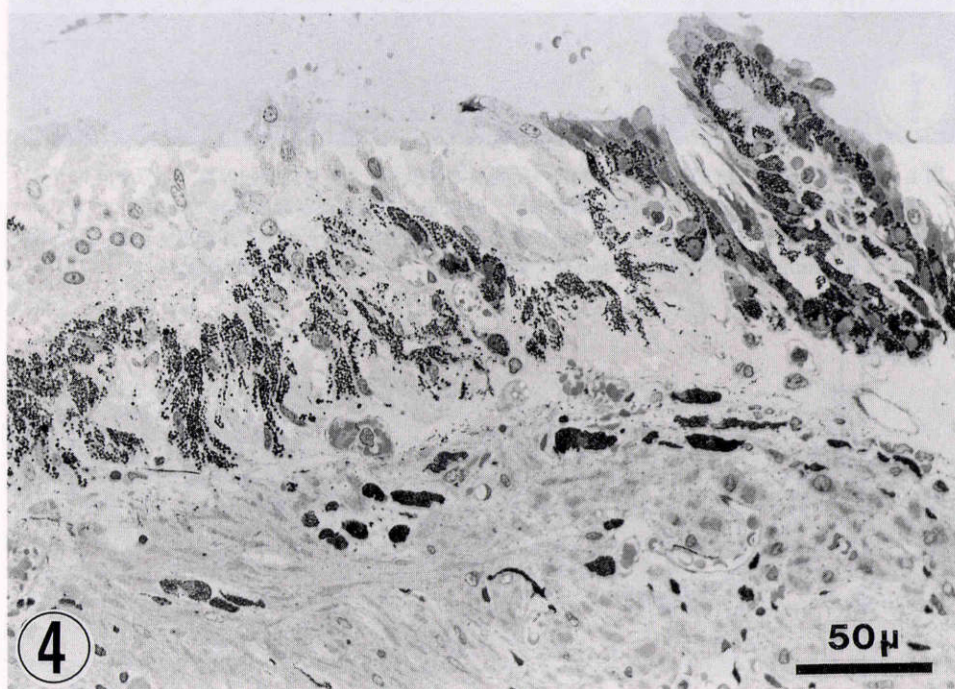
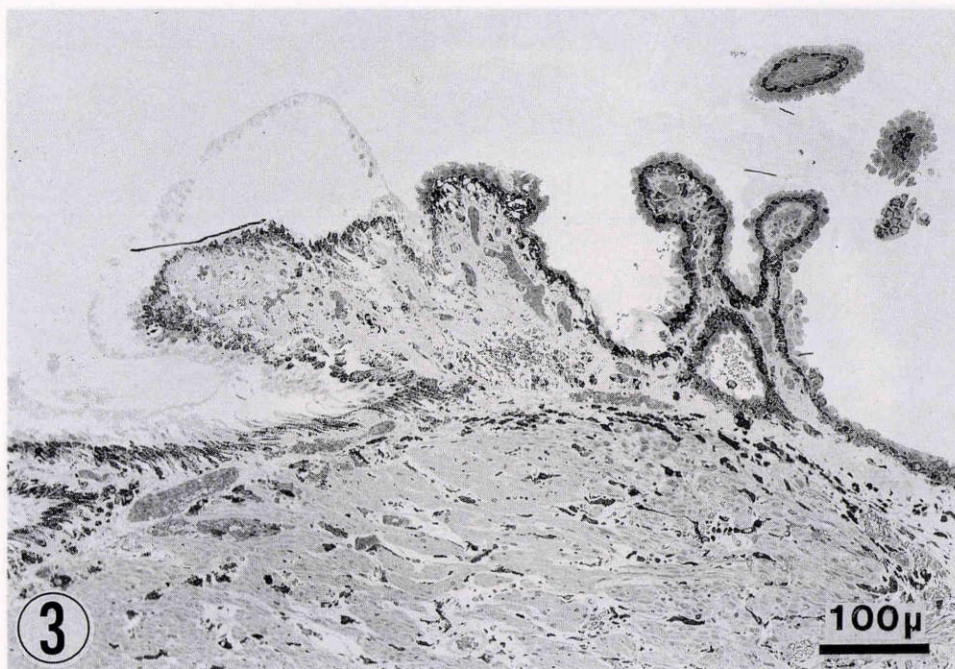


図3 毛様体光凝固直後(トルイジン青染色, $\times 160$), 毛様体無色素上皮細胞は剝離し, 無色素上皮および色素上皮細胞の浮腫が著明である。

図4 毛様体光凝固直後(トルイジン青染色, $\times 400$), 毛様体無色素上皮細胞および色素上皮細胞は凝固壊死に陥り, 上皮下の毛細血管の多くは血栓により閉塞している, 毛様体筋の浮腫が著明で, メラノサイトも減少している。

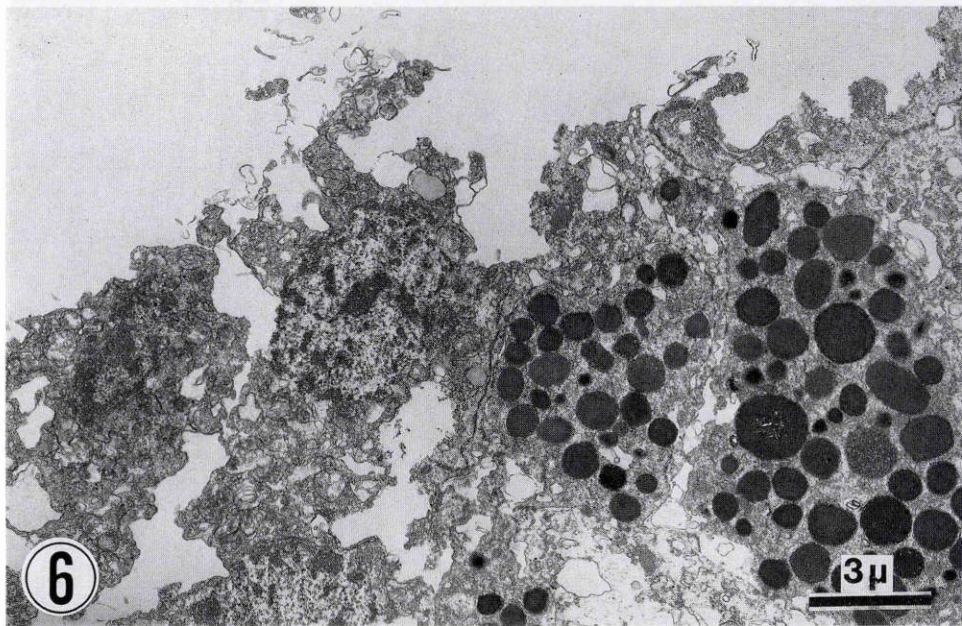
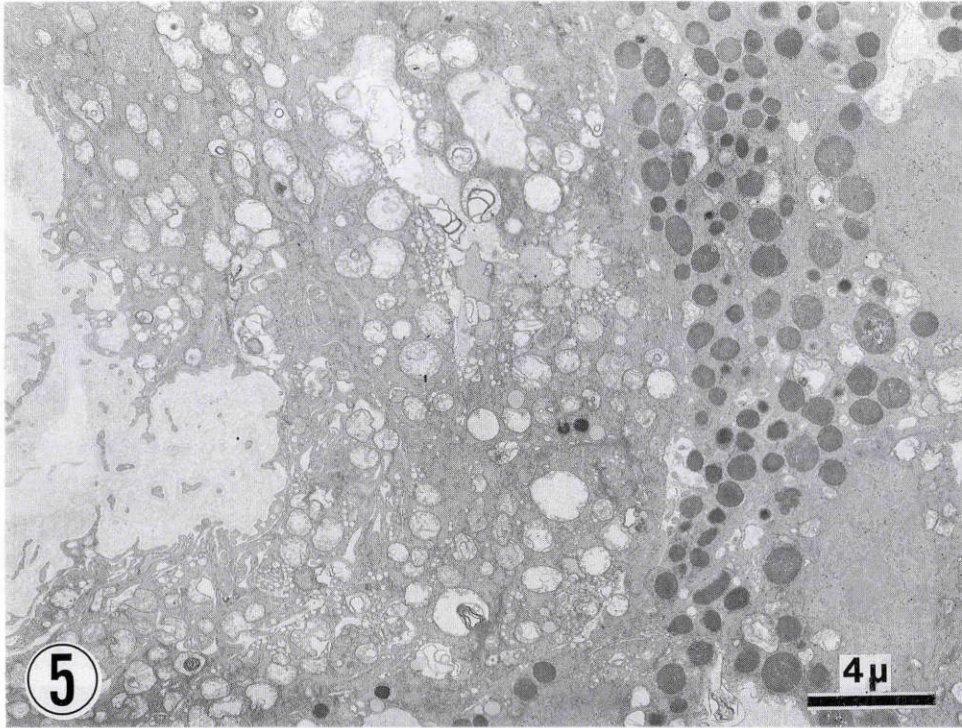


図5 毛様体光凝固直後(×4,600)。凝固周辺部では無色素上皮細胞のミトコンドリアが膨化している。色素上皮細胞は比較的正常の構造を保っている。

図6 毛様体光凝固直後(×6,000)。凝固斑中央部では無色素上皮細胞、色素上皮細胞ともに凝固壊死が著明である。

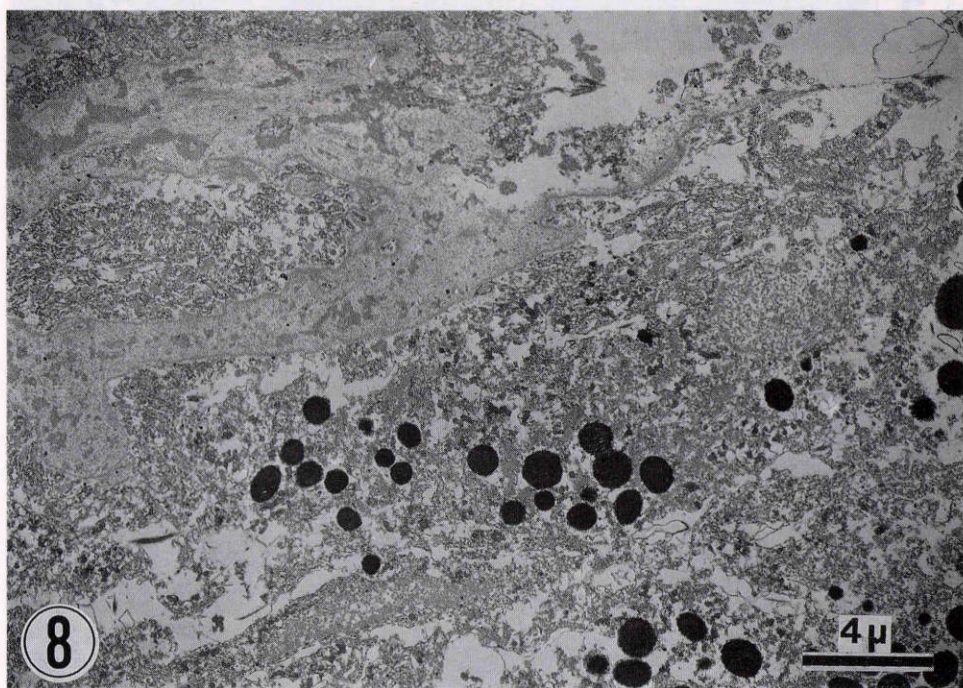


図7 毛様体光凝固後10日(トルイジン青染色, $\times 160$)。凝固部の突起が消失しており, 上皮成分の再生はまだ認められない。実質毛様体筋部にはメラニンを貪食したマクロファージの集簇が著明である。

図8 毛様体光凝固後10日($\times 4,600$)。後房側には破壊された上皮細胞の残渣が重なって残っている。

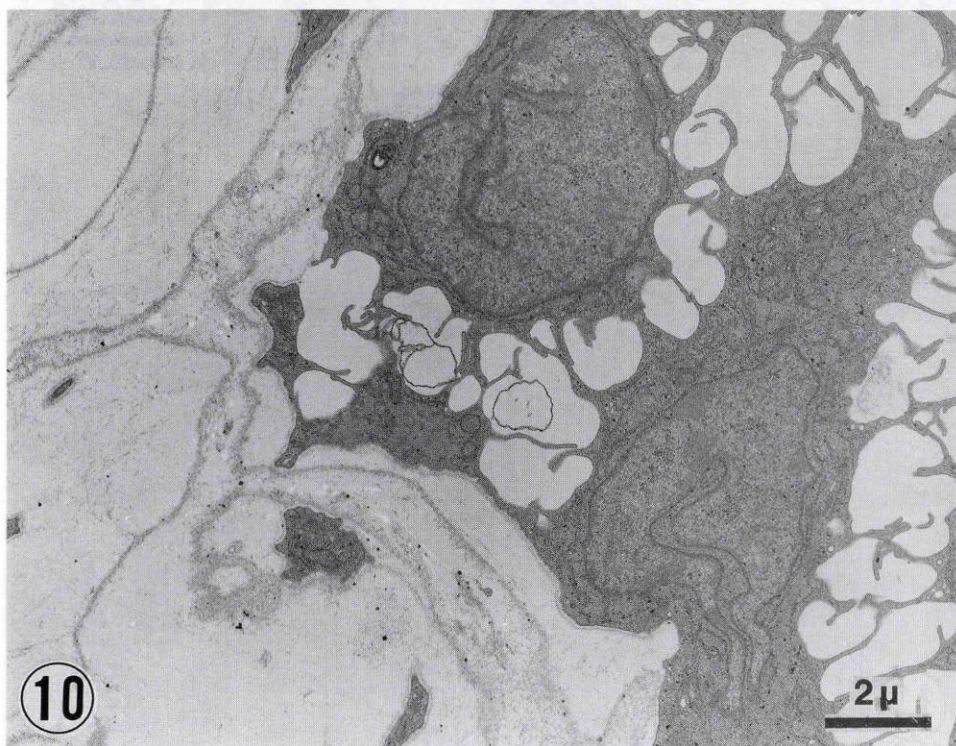
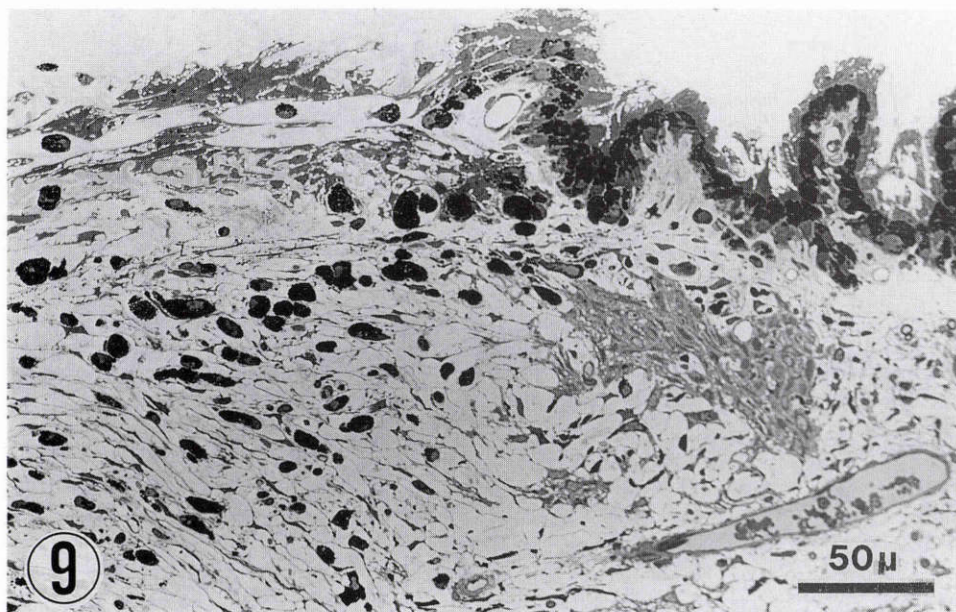


図9 毛様体光凝固後3週(トルイジン青染色, $\times 400$)。重層化した無色素上皮細胞が凝固部表面を覆っている。実質には線維芽細胞の網目状構造の中にメラニンを貪食したマクロファージが集簇している。

図10 毛様体光凝固後3週($\times 7,600$)。無色素上皮細胞は基底膜様構造を後房側にもち微細な突起をからませて相接している。細胞内小器官は豊富で核は切れ込みをもつ不正形をしている。フィラメントの束が細胞質中に走行している。

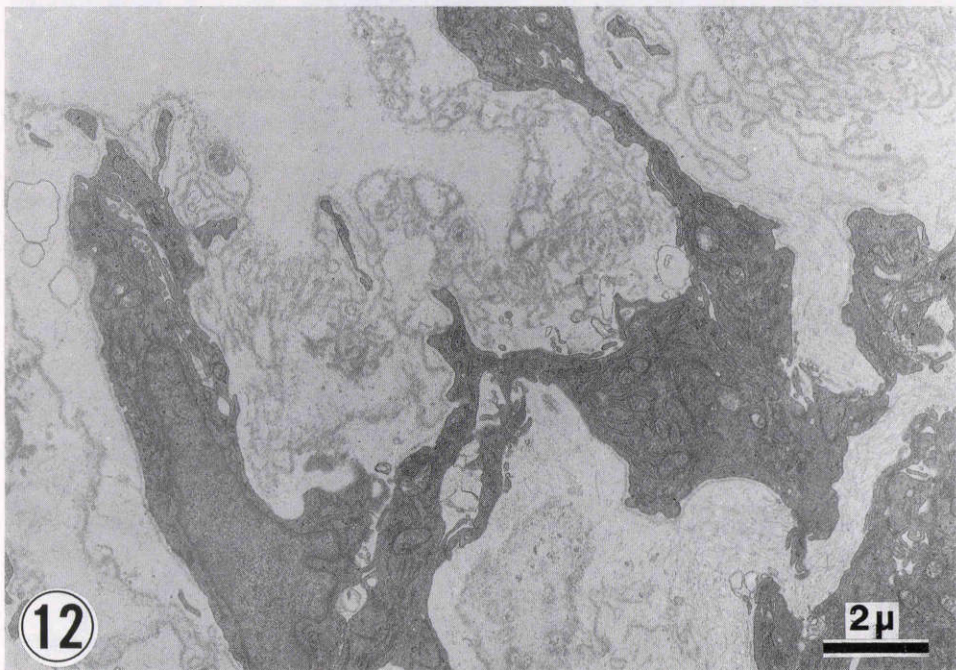
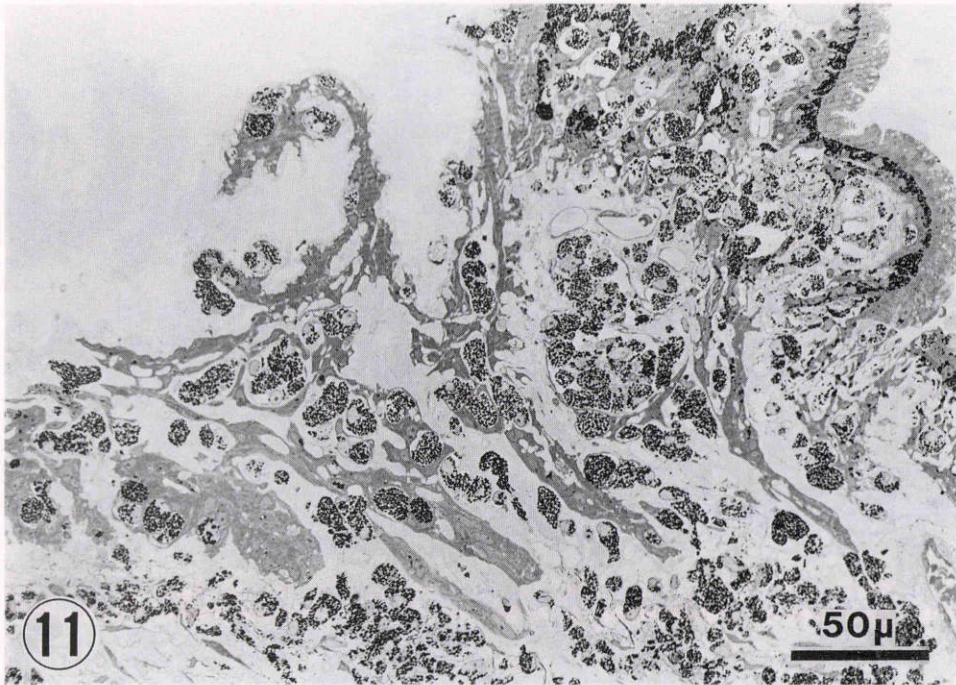


図 11 毛様体光凝固後1ヵ月(トルイジン青染色, $\times 400$), 増殖した無色素上皮細胞は大きく後房側に突出している, 実質のマクロファージの集簇はまだ著明である.

図 12 毛様体光凝固後1ヵ月($\times 7,600$), 増殖した無色素上皮細胞の周囲には多量の基底膜様物質がコイル状をなしている, 細胞質には粗面小胞体が豊富にみられる.

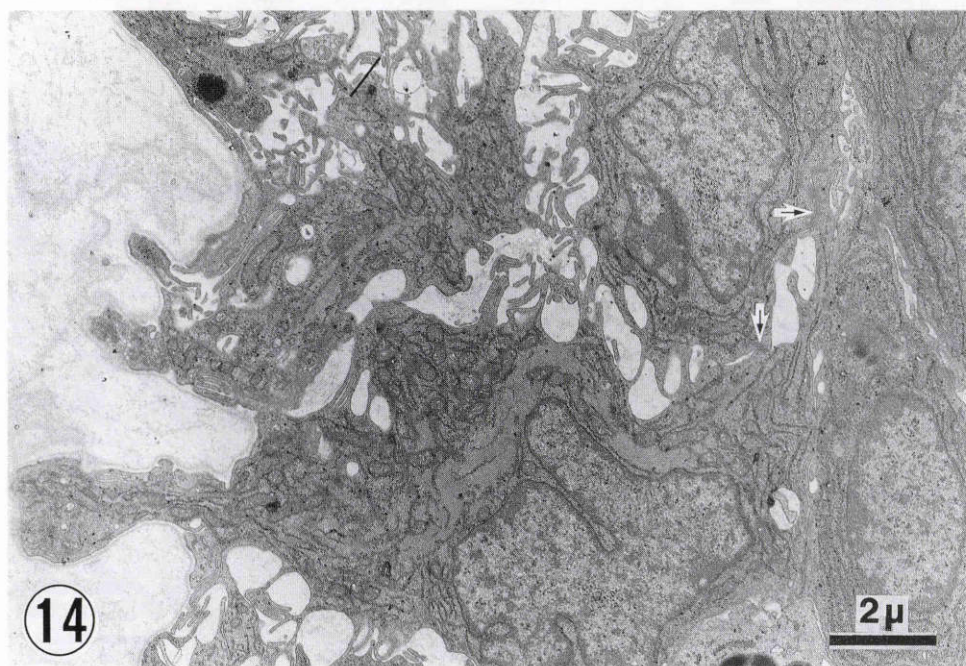
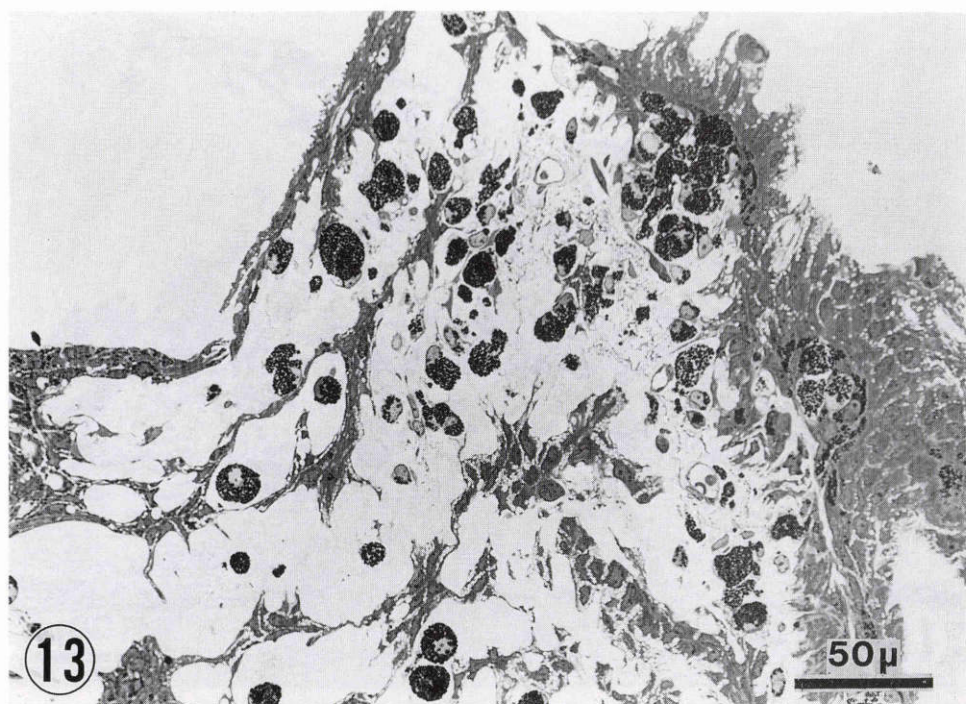


図 13 毛様体光凝固後 1.5 カ月(トルイジン青染色, $\times 400$), 無色素上皮細胞の網目状構造の間にマクローファージがまだ残っている。

図 14 毛様体光凝固 1.5 カ月後 ($\times 7,600$), 重層化した無色素上皮細胞の結合はより密になり, 一部中間結合装置での結合も認められる。

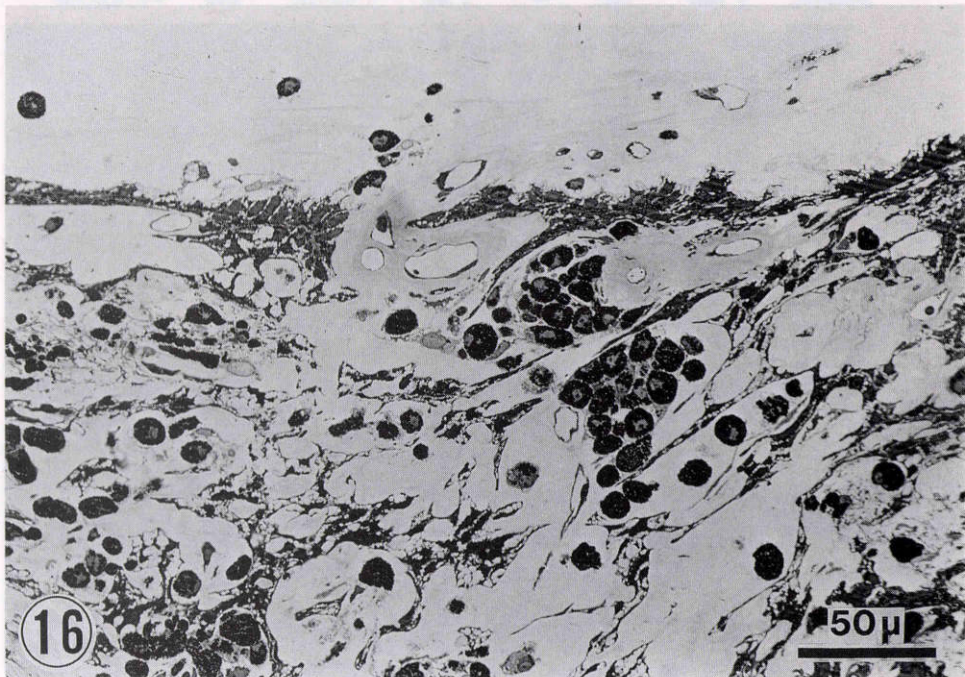
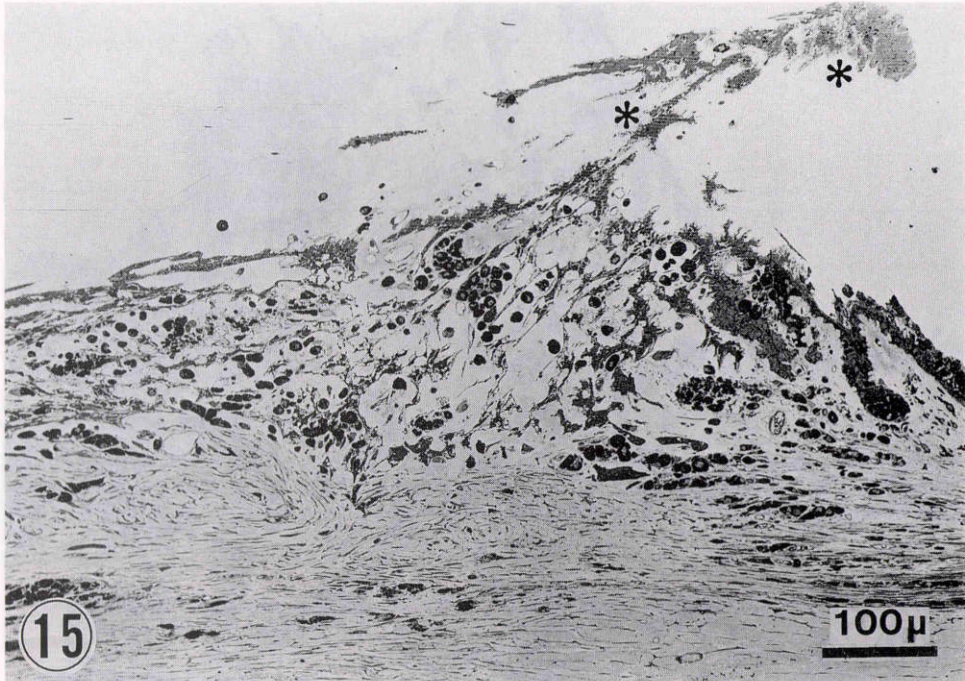


図 15 毛様体光凝固後3ヵ月(トルイジン青染色, $\times 160$). 無色素上皮細胞が大きく後房側に突出している(*). 後房側の実質には無色素上皮細胞の網目状構造の中にマクロファージの集簇は残存している. 強膜側の実質には線維芽細胞の増殖が著明である.

図 16 毛様体光凝固後3ヵ月(トルイジン青染色, $\times 400$) 再生した無色素上皮細胞の下には毛細血管がみられ, 無色素上皮細胞の欠損部(矢印)から毛細血管が後房中にのびている. 毛細血管は膠原線維で取り囲まれている.

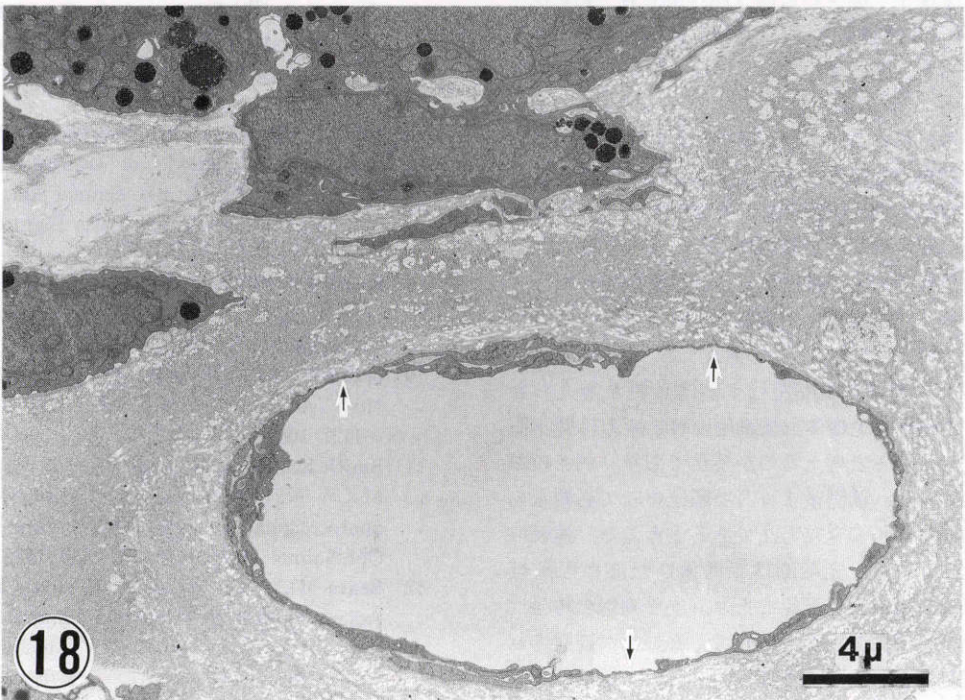
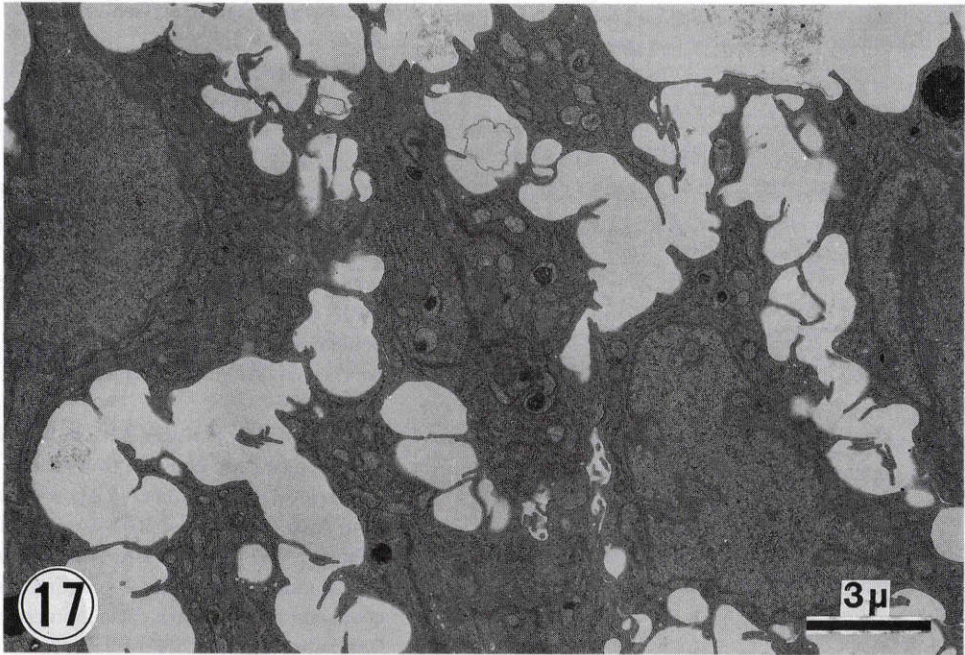


図17 毛様体光凝固3ヵ月(×6,000). 凝固周辺部の無色素上皮細胞は1ヵ月, 1.5ヵ月と同様の形態を保っている.

図18 毛様体光凝固3ヵ月(×4,600). 凝固部周辺に再生した有窓構造(矢印)をもつ毛細血管のまわりを膠原線維が囲んでいる. 上方には再生した色素上皮細胞が認められる.

の低下, 眼圧下降の一つの要因となっていると考えることは妥当と思われる。一方無色素上皮細胞の再生が速やかに行われることは毛様体機能の速やかな回復もあることを示す一つの現われであると考えられることもでき, 凝固による破壊が拡大, 長期間持続し広範な毛様体機能低下のため眼球癆に陥る危険性が少ないことを意味すると思われ, この方法がある程度以上の視機能をもった緑内障症例に適用しても安全であると考えられる根拠を与えてくれる。

毛様体光凝固の眼圧下降機序を全てひだ部上皮細胞の破壊に結び付けることはできないし, 何らかの形で房水流出の増大を起こさせる変化がもたらされている可能性も否定することはできないから¹⁴⁾, 今後トレーサーを使った実験などを施行し検討しなければならない。光凝固の部位についても今回は毛様体ひだ部を標的とした実験を行ったが, 扁平部に凝固を行っても眼圧下降がもたらされるとの報告もあり³⁾この点も更に検討の必要がある。

凝固エネルギーについては今回は $1.8\text{ W} \times 2.0\text{ 秒} = 3.6\text{ J}$ に限って実験を行った。充分な毛様体破壊をもたらすエネルギーレベルについてはいくつかの報告がなされている¹⁵⁾。家兎眼では 2 J 前後¹⁶⁾, 人眼でも 3 J 以上必要と考えられている¹⁴⁾。使用するプローブの形によっても凝固程度は変化するが, 今回の検索では猿眼では 3.6 J で 8 カ所の凝固により眼圧は $1 \sim 3$ カ月後に元の値に戻ったが, 組織病理学的には長期間にわたり毛様体に凝固効果が継続することが確認された。

人眼に適応する場合と, 猿眼と人眼の強膜の厚さの差, 毛様体ひだ部の大きさから考えて $3 \sim 5\text{ J}$ のエネルギーレベルが充分な凝固を行うには必要と考えられる¹⁶⁾。緑内障の毛様体上皮細胞の再生能力は健常眼より低下していると考えるのが妥当であり, 弱めの凝固条件で凝固し, 凝固後 1 カ月の眼圧をみて必要ならば再凝固するのが安全な方法であると考えられる。連続波 Nd:YAG レーザー光凝固は毛様体ひだ部に限局性破壊を惹起することが可能であり, 上皮細胞の再生, それに続いて毛細血管も再生してくることが観察された。障害組織の再生がある程度認められ, 毛様体が完全に萎縮線維化に至ることはないという組織所見から, 光凝固の程度をコントロールすることが可能であり, 末期緑内障だけでなく, より早期の緑内障治療への適応も考慮してよいと考える。

文 献

- 1) Beckman H, Sugar HS: Neodymium laser

- cyclocoagulation. Arch Ophthalmol 90: 27-28, 1973.
- 2) Devenyi RG, Trope GE, Hunter WH, et al: Neodymium: YAG transscleral cyclocoagulation in human eyes. Ophthalmology 94: 1519-1522, 1987.
- 3) Klapper RM, Wandel T, Donnenfeld E, et al: Transscleral neodymium: YAG thermal cyclophotocoagulation in refractory glaucoma. A preliminary report. Ophthalmology 95: 719-722, 1988.
- 4) Schuman JS, Puliafito CA: Laser cyclophotocoagulation. Int Ophthalmol Clin 30: 111-119, 1990.
- 5) Allingham RR, deKater AW, Bellow R, et al: Probe placement and power levels in contact transscleral neodymium: YAG cyclocoagulation. Arch Ophthalmol 108: 738-742, 1990.
- 6) Schuman JS, Puliafito CA, Allingham RR, et al: Contact transscleral continuous wave neodymium YAG laser cyclophotocoagulation. Ophthalmology 97: 571-580, 1990.
- 7) Fankhauser F, Rol P, van der Zypen E, et al: Transscleral cyclophotocoagulation using a neodymium YAG laser. Ophthalmic Surg 17: 94-100, 1986.
- 8) Duri U, Henchoz PD, Fankhauser F, et al: Results and methods of transscleral laser cyclodestruction: A new contact lens for use with non contact systems. Laser Light Ophthalmol 3: 123-131, 1990.
- 9) Smith RS, Boyle E, Rudt LA: Cyclocryotherapy. A light and electron microscopic study. Arch Ophthalmol 95: 284-288, 1977.
- 10) 沖坂重邦, 水川 淳, 大槻 幹, 他: 多用途連続波 Nd:YAG レーザー光凝固装置. 眼紀 40: 1119-1127, 1989.
- 11) Smith RS, Boyle E, Rudt LA: A comparison of CW Nd:YAG contact transscleral cyclophotocoagulation with cryotherapy. Invest Ophthalmol Vis Sci 30: 536-549, 1989.
- 12) Sears ML: The aqueous, in Moses RA (ed), Adler's Physiology of the Eye. Clinical Application, 6th ed. St. Louis, The C.V. Mosby Co., 204-226, 1981.
- 13) Fenry AP: Histopathologic observation on human eyes following cyclocryotherapy for glaucoma. Trans Am Acad Ophthalmol Otolaryngol 83: 90-113, 1977.
- 14) Schubert HD: Effects of exposure time in CW Nd:YAG contact transscleral photocoagulation and photofiltration. Laser Light Ophthalmol

mol 3: 53—59, 1990.

- 15) **O'Brien C, Grierson I, McAllister J**: Treatment parameters for transscleral cyclocoagulation with the neodymium: YAG laser. *Laser Light Ophthalmol* 3: 221—226, 1990.

- 16) **Devenyi RG, Trope GE, Hunter WH**: Neodymium YAG transscleral cyclocoagulation in rabbit eyes. *Br J Ophthalmol* 171: 441—444, 1987.