

インドシアニングリーンによるダイオードレーザー光凝固 増強効果の有色家兎による検討

松本 宗明, 三木 徳彦, 尾花 明, 白木 邦彦, 徐 鎮活

大阪市立大学医学部眼科学教室

要 約

家兎にインドシアニンググリーン(ICG)を経静脈的に全身投与した直後に波長 810 nm のダイオードレーザーで眼底の光凝固を行い、ICG の増強効果を組織学的に検索した。既報の白色家兎の実験の延長として、より臨床に近い状態であると思われる有色家兎 5 匹 10 眼を用いた。ICG を 4 mg/kg 静注し、5 ないし 30 秒後にダイオード眼内光凝固を行って、眼底後極部に弱度の凝固斑を作成した。照射時間は 0.2 秒、照射強度は平均 170 mW とした。凝固 1 時間後では、網膜内層には変化がなく、脈絡膜には脈絡膜毛細血管の閉塞、脈絡膜大血管の内皮細胞の崩壊と脱落、周囲間質の浮腫などが観察された。凝固 1 か月後には、脈絡膜大血管は見られず、凝固斑直下の脈絡膜全体が線維性の瘢痕組織で置き換わっていた。ICG 増強光凝固では、網膜色素上皮に色素がある場合でも増強効果のあること、そして、白色家兎の場合よりも軽度ではあるが脈絡膜全層に非可逆的变化が生じることが結論された。(日眼会誌 96: 742-748, 1992)

キーワード: 色素増強光凝固, インドシアニンググリーン (ICG), ダイオードレーザー, 半導体レーザー

Indocyanine Green Enhanced Photocoagulation in the Pigmented Rabbit

Muneaki Matsumoto, Tokuhiko Miki, Akira Obana,

Kunihiko Shiraki and Jin-Hwal Suh

Department of Ophthalmology, Osaka City University Medical School

Abstract

We performed histological studies of rabbit eyes after intravenous administration of indocyanine green (ICG) and fundus endophotocoagulation with diode laser at the wavelength of 810 nm. As continuation of our previous experiments in albino rabbits, we used 10 eyes of 5 pigmented rabbits which more simulate human eyes. We created weak photocoagulation spots 5 to 30 seconds after intravenous ICG, 4 mg/kg. Each photocoagulation lasted 0.2 sec and its irradiation power was averaged 170 mW. One hour after photocoagulation, there were no changes in the inner retinal layers. In the choroid, we observed occlusion of the choriocapillaris, destruction or loss of endothelial cells of large choroidal vessels, and stromal edema. One month after photocoagulation, large choroidal vessels had disappeared. Whole choroidal layers were replaced by fibrous scar tissue. The findings seemed to indicate that ICG enhanced photocoagulation effect can be observed in eyes with pigmented retinal pigment epithelium and that irreversible choroidal damages can be induced throughout the whole thickness of the choroid. The observed choroidal damages were less in intensity than those in albino

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 松本 宗明

(平成 3 年 9 月 20 日受付, 平成 4 年 1 月 15 日改訂受理)

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

(Received September 20, 1991 and accepted in revised form January 15, 1992)

rabbits. (Acta Soc Ophthalmol Jpn 96 : 742-748, 1992)

Key words : Dye enhanced photocoagulation, Indocyanine green (ICG), Diode lasers, Semiconductor lasers

I 緒 言

色素増強光凝固は標的色素を投与後に光凝固を行うことにより光凝固効果を増強する方法で、これまで fluorescein sodium¹⁾, patent blue violet²⁾³⁾, インドシアニングリーン(ICG)⁴⁾の色素を用いた報告がある。これらのうち、ダイオードレーザーの波長域に強い吸収を示す ICG を静脈内投与して光凝固を行う色素増強光凝固に関しては、これまで網膜下新生血管への応用について述べられているが⁵⁾、詳細な組織学的検討は報告されていない。

我々⁶⁾⁷⁾はこれまでメラニンの存在しない白色家兎眼底において ICG 増強光凝固が可能であることを証明し、増強光凝固の部位を組織学的に検討し脈絡膜に大きな変化がみられることをすでに報告してきた。

ダイオードレーザーの波長は近赤外域であり、照射エネルギーのうち網膜色素上皮細胞のメラニンに吸収される割合はわずか7%といわれている⁸⁾。そのため、メラニンの存在する眼底においても ICG 増強光凝固施行時に脈絡膜に大きな影響が及ぶことが予想される。そこで今回はより臨床使用に近い状態の、メラニンの存在する有色家兎眼底において ICG 増強光凝固が脈絡膜に与える影響を明らかにするために実験を行った。

II 方 法

1. 実験動物

体重 1.9~2.3 kg (平均 2.0 kg) の成熟有色家兎で、検眼鏡的に眼底に異常がなく、メラニンによる眼底の色調がほぼ一定していると思われる 5 匹 10 眼を使用した。

2. 実験方法

Pentobarbital sodium 静注 (10 mg/kg 体重) による全身麻酔と、2% lidocaine hydrochloride (1 ml) の球後麻酔を行い、毛様体扁平部に小切開を加え、ダイオードレーザー光凝固装置の眼内プローブを眼内(硝子体腔)に挿入し、先端が網膜に接触しない程度にできるだけ近接した。眼底後極部に通常的光凝固を行った後、耳静脈から ICG 4 mg/kg (ジアグノグリー

ン注[®], 第一製薬製) を1回に注入し、5秒から30秒後まで1~2秒間隔で眼内プローブを移動して照射部位を変えながら眼底後極部を光凝固した。照射時間は0.2秒とし、照射強度は100ないし250 mW (平均170 mW) であった。照射強度は ICG を静脈内注射しないときに淡い灰白色の凝固斑が生じるような強度を選んだ。ダイオードレーザー装置にはトプコン半導体レーザー眼内光凝固装置 EC-200 (波長 810 nm, プローブ先端のファイバー径 400 μ m, トプコン製) を使用した。

光凝固1時間後または1か月後に検眼鏡的に観察し、眼底撮影の後、眼球摘出した。眼球摘出後、家兎は致死量の pentobarbital sodium を静脈内投与し屠殺した。摘出眼球は直ちにカルノフスキー液 (pH 7.4, phosphate buffered, 4°C) 中で前固定し、細切後2%オスミウム酸液で後固定後、エタノール系列で脱水し、エポキシ樹脂に包埋した。Porter-Blum MT II B 型ウルトラミクロトームで光学顕微鏡 (以下、光顕) 用連続切片を作製し、トルイジン青溶液で染色後光顕で観察した。一部は超薄切片を作製し、酢酸ウラニールとクエン酸鉛で二重染色し、日本電子製 JEM-1200 EX II 透過型電子顕微鏡 (以下、電顕) で観察、撮影した。

対照として、同一動物に ICG を静脈内注射しないでダイオードレーザー眼内光凝固を行い、同様に観察した。

III 結 果

1. ICG 光凝固後1時間

検眼鏡的に対照眼では灰白色凝固斑がようやく認められるような照射条件で ICG 増強光凝固を行うと、白色調凝固の周囲に、灰白色のハローのある、対照眼に比べてより大きな凝固斑が得られた (図 1 A, 図 1 B)。

光顕的には、内境界膜から内顆粒層までの網膜内層の構造は保たれていた。外顆粒層には核濃縮がみられ、視細胞内・外節と網膜色素上皮細胞の凝固壊死がみられた。また、網膜色素上皮細胞が Bruch 膜から剝離している部位も存在した。脈絡膜毛細血管は壊死となった細胞によって閉塞していた。脈絡膜大血管は拡張し、内部に赤血球を含み、一部には変形がみられ、凝固中央部では網膜側および強膜側の内皮細胞が壊死または

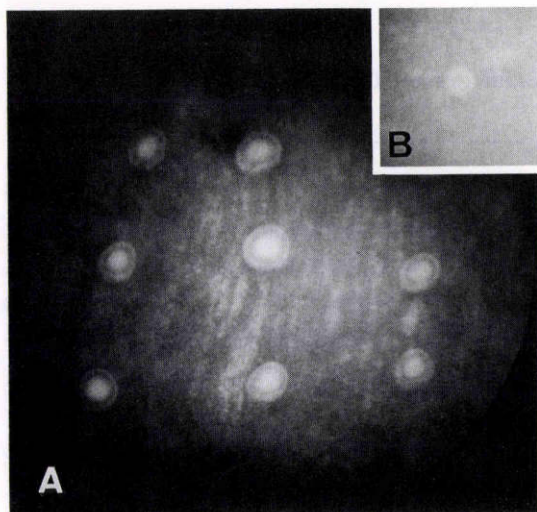


図1 A ICG 増強光凝固後1時間の眼底写真。
ICG 用量は4 mg/kg, ダイオードレーザーの照射条件は強度250 mW, 時間0.2秒であった。中心が白色調で周囲に灰白色のハローのある, 図1 Bの対照と比べて大きな凝固斑が得られた。

図1 B 対照眼の光凝固後1時間の眼底写真。
強度250 mW, 時間0.2秒の照射条件で淡い灰白色の凝固斑が得られた。

脱落していた。脈絡膜間質には浮腫が認められた(図2)。対照眼では、網膜損傷の部位はICG増強光凝固とほぼ同様であったが、範囲が内層になるほど狭く、脈絡膜大血管の拡張や、周囲間質の浮腫の程度はICG増強光凝固の場合と比べて軽度であった(図3)。

電顕的には、凝固中央部の網膜色素上皮細胞の胞体はしばしば微細顆粒状となっていた。Bruch膜は一部において膠原線維層の断裂と思われる部分が認められた。脈絡膜毛細血管の内皮細胞は破壊され、管腔は壊死細胞成分により満たされていた。脈絡膜大血管の網膜側および強膜側の内皮細胞は空胞様に壊死、また脱落していた。血管腔内の赤血球の変形がみられた。脈絡膜毛細血管と脈絡膜大血管の間に位置するメラノサイトは凝固壊死し、そのメラニン顆粒は電子密度が低下して、紡錘状に変形していた。脈絡膜大血管の強膜側の間質では、細胞間はfibrinを含む著明な浮腫液の貯留を思わせる均一な無構造物質で充たされていた。また、その部位の一部のメラノサイトの胞体内に空胞がみられた(図4, 図5)。

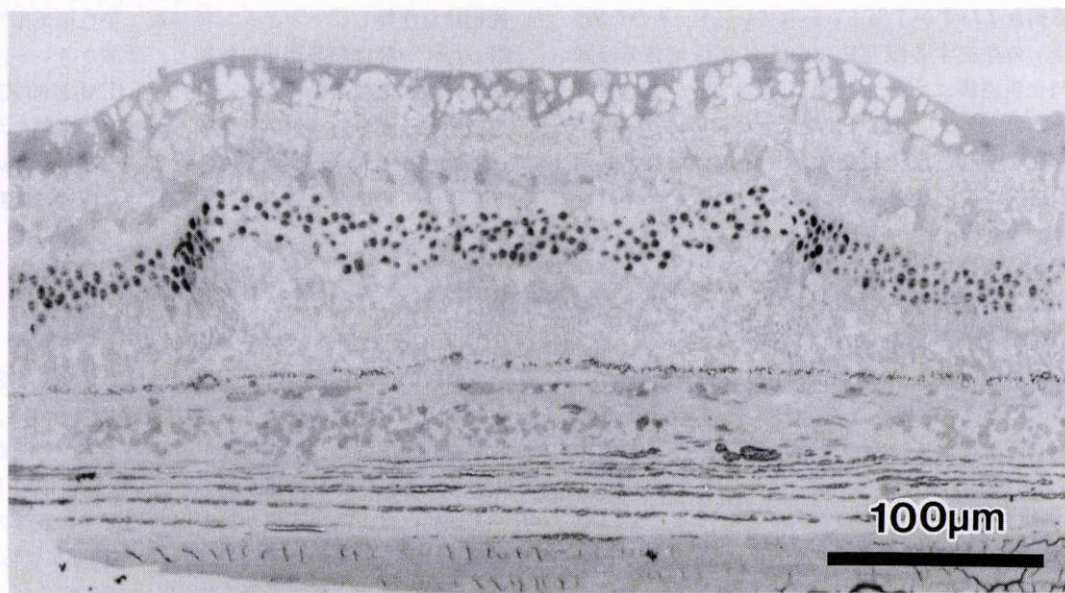


図2 ICG 増強光凝固後1時間の光顕写真。

網膜内層の構造は保たれていた。外顆粒層には核濃縮がみられ、視細胞内・外節と網膜色素上皮細胞の崩壊がみられた。また、網膜色素上皮がBruch膜から剝離している部位も存在した。脈絡膜毛細血管は崩壊壊死となった細胞により閉塞していた。脈絡膜大血管は拡張し、内部の赤血球を含み一部には変形が見られ、凝固中央部では網膜側、および強膜側の内皮細胞が崩壊、脱落していた。脈絡膜間質には浮腫が認められた(トルイジン青, $\times 280$)。

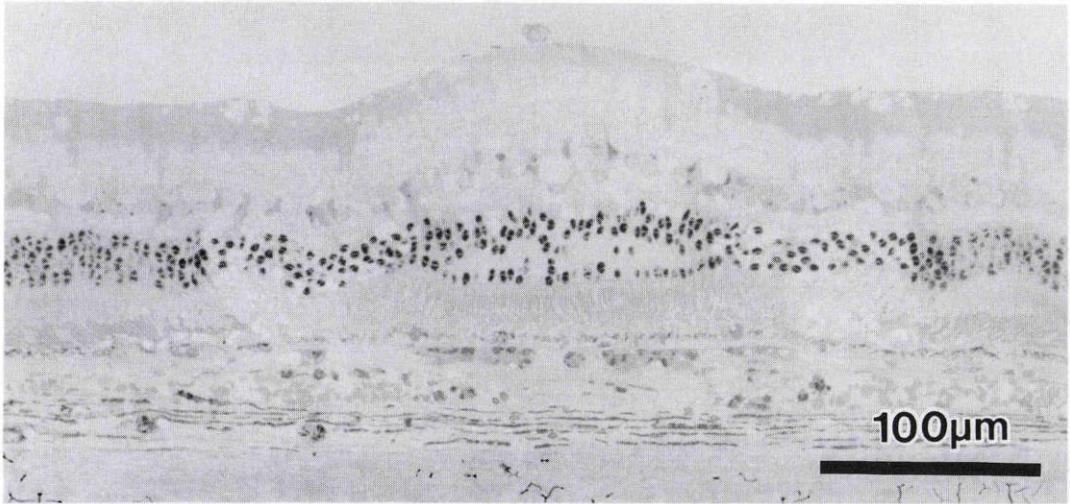


図3 対照眼の光凝固後1時間の顕微鏡写真。

網膜損傷の部位はICG増強光凝固とほぼ同様であったが範囲が内層になるほど狭く、脈絡膜大血管の拡張、内皮細胞の壊死、脱落、周囲間質の浮腫の程度も図2と比べて軽度であった（トルイジン青、 $\times 290$ ）。

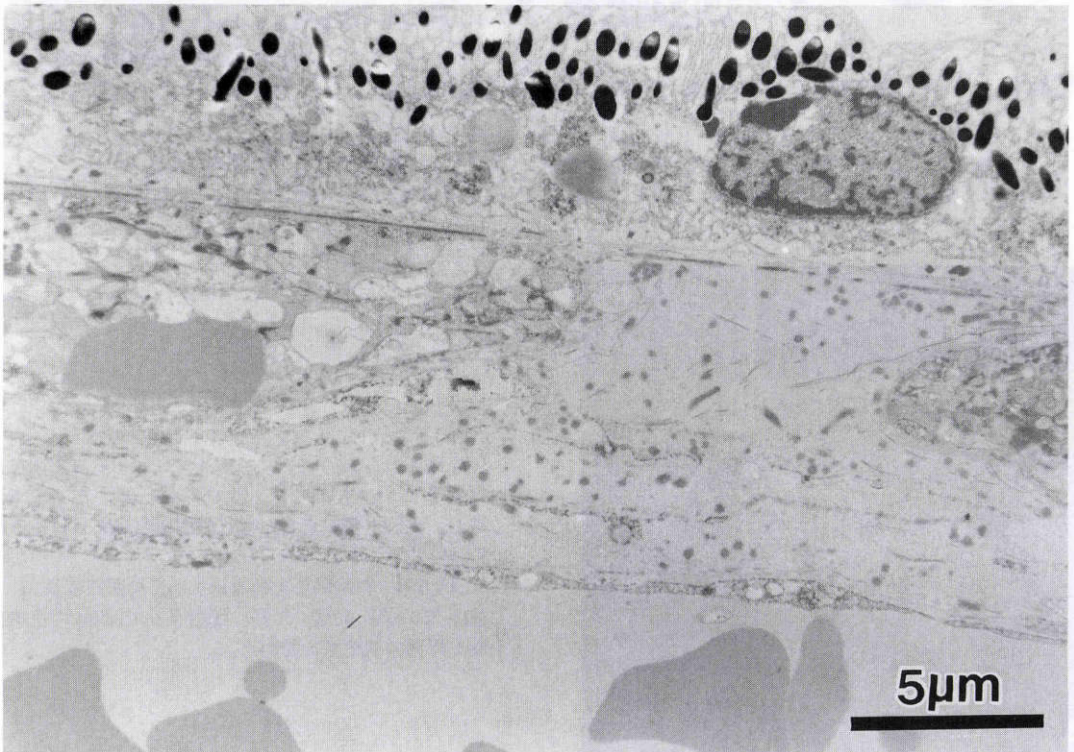


図4 ICG増強光凝固後1時間の電顕写真。

凝固中央部の網膜色素上皮細胞の胞体はしばしば微細顆粒状となり、崩壊していた。Bruch膜は一部において膠原線維層の断裂と思われる部分が認められた。脈絡膜毛細血管の内皮細胞は破壊され、管腔は壊死細胞成分により満たされていた。脈絡膜大血管の網膜側の内皮細胞は空胞様に壊死していた。血管腔内の赤血球の変形が見られた（ $\times 4,900$ ）。



図5 ICG 増強光凝固後1時間の電顕写真。

脈絡膜大血管の強膜側の内皮細胞が空胞様に壊死していた。脈絡膜大血管の強膜側の間質では細胞間は fibrin を含む著明な浮腫液の貯留を思わせる均一な無構造物質で充たされていた ($\times 6,000$)。

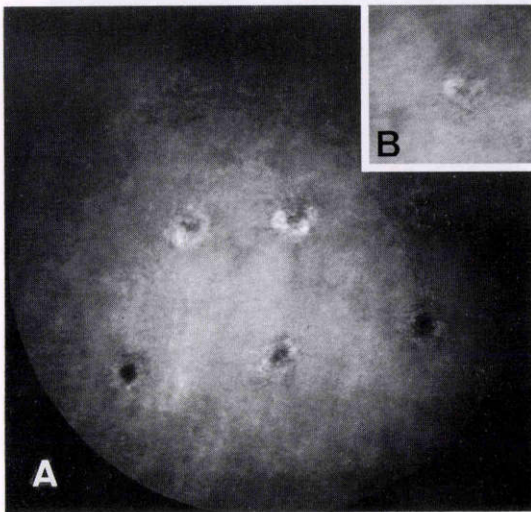


図6A ICG 増強光凝固後1か月の眼底写真。

ICG 用量は 4 mg/kg 、ダイオードレーザーの照射条件は強度 250 mW 、時間 0.2 秒であった。中心部が色素沈着し、周囲が脱色素となった凝固瘢痕が図6Bより広く強く認められた。

図6B 対照眼の光凝固後1か月の眼底写真。

強度 250 mW 、時間 0.2 秒の照射条件で、点状の色素沈着と周囲の脱色素を認めた。

2. ICG 増強光凝固後1か月

検眼鏡的には、凝固斑の中心部に色素が沈着し、周囲は脱色素となって凝固瘢痕が対照と比べて強くみられ

た(図6A, 図6B)。

光顕的には、外顆粒層、視細胞内・外節は脱落してグリア細胞が増生していた。網膜内および網膜下に大

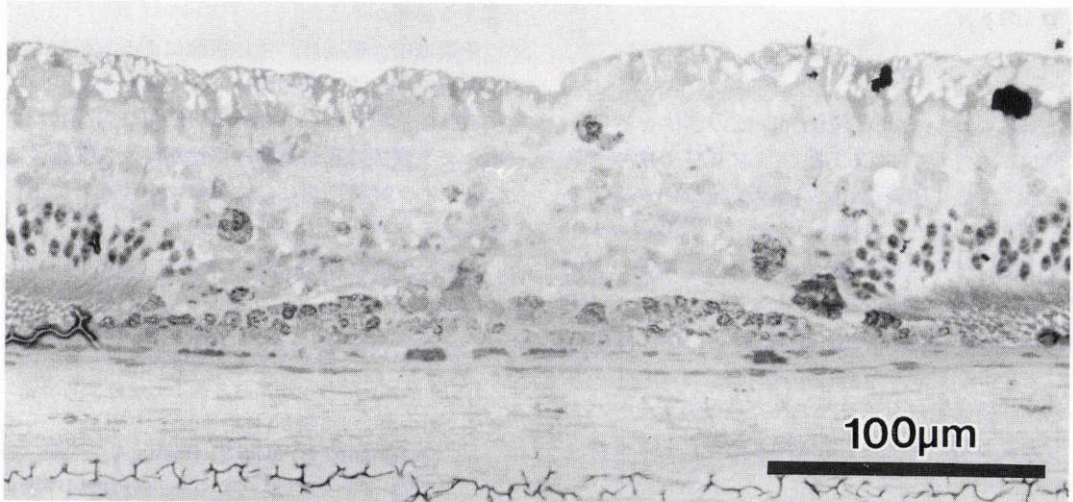


図7 ICG 増強光凝固後1か月の顕微鏡写真。

外顆粒層，視細胞内・外節は脱落して，グリア細胞が増生していた，網膜色素上皮細胞は一部で重層化がみられた，脈絡膜毛細血管は再疎通していた，脈絡膜間質の浮腫は消退していたが，脈絡膜大血管は見られず，凝固部位全体が線維性瘢痕組織で置き換わっていた（トルイジン青， $\times 360$ ）。

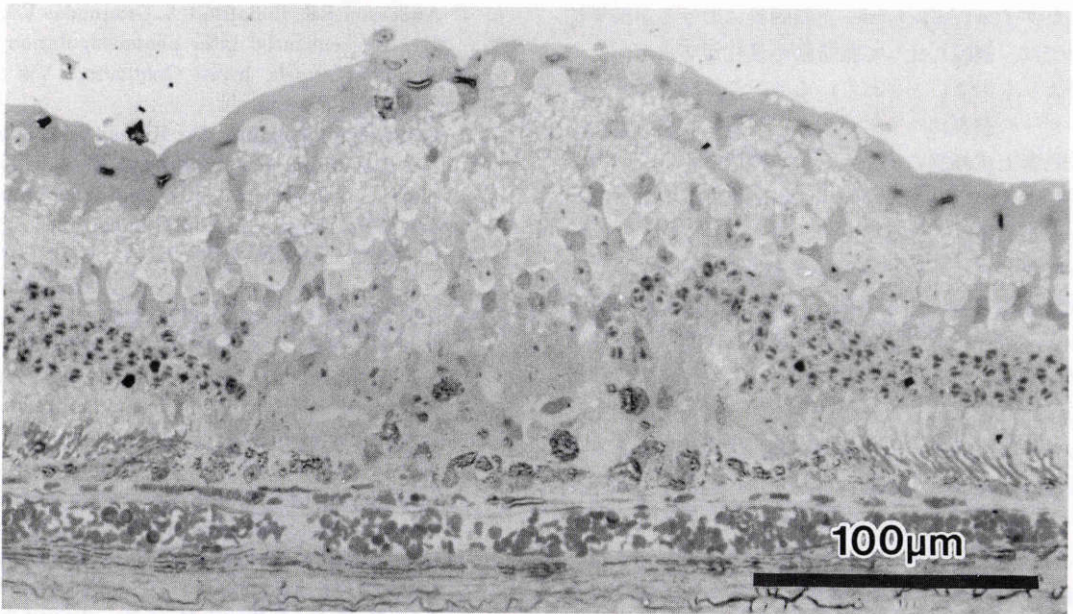


図8 対照眼の光凝固後1か月の顕微鏡写真。

網膜の変化はICG 増強光凝固と同様であったが，脈絡膜毛細血管は一部閉塞していたが，大血管は開存しており，変化ははるかに軽度であった（トルイジン青， $\times 370$ ）。

型の色素含有細胞がみられた。網膜色素上皮細胞は一部で重層化がみられた。脈絡膜毛細血管は一部の標本では再疎通し赤血球を含んでいた。脈絡膜間質の浮腫は消退していたが，脈絡膜大血管は見られず，凝固部

位全体が線維性瘢痕組織で置き換わっていた（図7）。対照眼では，網膜の変化はICG 増強光凝固と同様であったが，脈絡膜毛細血管は一部閉塞していたが，大血管は開存しており，脈絡膜の変化ははるかに軽度で

あった(図8)。

IV 考 按

有色家兎について ICG 増強光凝固の部位を組織学的に検討し、メラニンのある眼底でも ICG の増強効果がみられ、凝固1時間後に脈絡膜大血管の内皮細胞の障害と間質の浮腫など、脈絡膜に強い変化がみられた。そして、ICG 増強光凝固後1か月には全ての脈絡膜大血管の消失という非可逆的変化をもたらした。この実験結果から ICG 増強光凝固では網膜色素上皮細胞にメラニンがある場合でも網脈絡膜凝固の増強効果が認められ、脈絡膜毛細血管だけでなく脈絡膜大血管においても大量の熱が発生し、血管閉塞をきたしたのと思われた。

ICG は fluorescein sodium や patent blue violet などの他の医用色素と比べて最大吸収波長が長く⁹⁾、したがって、増強光凝固にはダイオードレーザーが用いられるので、このレーザー光自体の網脈絡膜凝固時における性質をまず考慮する必要がある。これまで報告されたダイオードレーザー光凝固単における組織学的検討では、網膜に比して脈絡膜の変化がアルゴンレーザーよりも大きいとされている¹⁰⁾。これはダイオードレーザーの波長はヘモグロビンに吸収されず、しかも網膜色素上皮細胞のメラニンでの吸収が小さく、波長が長いために深達性があり、脈絡膜深部にまでレーザー光が到達し、脈絡膜内のメラニン(メラノサイト)でも吸収されるためと考えられる。

次に標的となる ICG の組織内分布について考えてみると、静脈内投与の直後では ICG の 98% 以上はアルブミンと結合して血管内にあり、したがって、組織内では血液量に応じた分布をする。脈絡膜毛細血管よりも脈絡膜大血管の方が太いから、大血管の存在する部位ではレーザー光が熱エネルギーに転換される率が高いと理論的にも考えられるので、脈絡膜外層の脈絡膜大血管の変化が大きいのも納得できる。

有色家兎の ICG 増強光凝固における脈絡膜の変化は、白色家兎でみられた変化⁷⁾よりもやや軽度であった。これは、有色家兎では網膜色素上皮でレーザー光の一部が吸収されることにより、脈絡膜血管での熱発生がその分だけ少ないためと思われた。

以上のことより、ICG 増強光凝固の臨床応用にあたっては、脈絡膜、特に外層の変化が大きいことに留

意する必要がある。

色素増強光凝固は、生体組織による光吸収を人工的に修飾できる点で興味深い方法であるが、レーザー光の波長、標的色素の物理的性質、組織内分布などの要因により凝固障害の範囲や程度がかなり変化することに注目し、臨床応用にはこの点にも注意して用いるべきであると考ええる。

本論文の要旨は第95回日本眼科学会総会(1991年)において発表した。

文 献

- 1) 松橋英昭：蛍光色素注入血管レーザー照射による実験的脈絡膜血管閉塞モデルの組織学的研究。日眼会誌 92: 433-443, 1988.
- 2) Matsumoto M, Miki T, Obana A, et al: Choroidal reaction in dye enhanced photocoagulation with three lasers. Excerpta Medica International Congress Series, Proceedings of XIII Congress of the Asia-Pacific Academy of Ophthalmology, 1991(in press).
- 3) 三木徳彦：レーザー治療における一つの流れ—色素増強光凝固法—。眼紀 42: 355-359, 1991.
- 4) Anderson RR, Puliafito CA, Gragoudas ES, et al: Dye enhanced laser photocoagulation of choroidal vessels. Invest Ophthalmol Vis Sci 25(Suppl): 89, 1984.
- 5) Balles MW, Puliafito CA, Kilman GH, et al: Indocyanine green dye enhanced photocoagulation of subretinal neovascular membranes. Invest Ophthalmol Vis Sci 31(Suppl): 282, 1990.
- 6) 徐 鎮活, 三木徳彦, 尾花 明, 他: インドシアニングリーンのダイオードレーザー光凝固増強効果。あたらしい眼科 7: 1697-1699, 1990.
- 7) Suh JH, Miki T, Obana A, et al: Effects of indocyanine green dye enhanced diode laser photocoagulation in non-pigmented rabbit eyes. Osaka City Med J 37: 89-106, 1991.
- 8) Gabel VP, Birngruber R, Hillenkamp F: Individuelle Unterschiede der Lichtabsorption am Augenhintergrund im sichtbaren und infraroten Spektralbereich. Ber Dtsch Ophthalmol Ges 74: 418-421, 1977.
- 9) Jean B, Maier J, Braun M, et al: Target dyes in ophthalmology. Part I. Principles and indications. Lasers Light Ophthalmol 3: 39-45, 1990.
- 10) Brancato R, Pratesi R, Leoni G, et al: Histopathology of diode and argon-laser lesions in rabbit retina, a comparative study. Invest Ophthalmol Vis Sci 30: 1504-1510, 1989.