

ダイオードレーザー光凝固に対するインドシアニングリーン 増強効果の定量的研究

尾花 明¹⁾, 松本 宗明¹⁾, 三木 徳彦¹⁾

Klaus-G Eckert²⁾, Reginald Birngruber³⁾, Veit-P Gabel⁴⁾

1) 大阪市立大学医学部眼科学教室, 2) ミュンヘン大学薬理学教室

3) ルーベック医用レーザー研究所, 4) レーゲンスブルク大学眼科病院

要 約

インドシアニンググリーン (ICG) のダイオードレーザー光凝固に対する増強効果を定量的に検討した。その際 ICG の一回静注では血漿中 ICG 濃度が急激に上昇, 低下し, 凝固施行時の ICG 濃度が不均一になるため, 持続静注により ICG 濃度を一定に保った上で, 網膜の灰白色凝固斑および脈絡膜毛細血管閉塞の得られる出力閾値を有色家兎を用いて測定し, ICG 非投与における値と比較した。ICG 2.5 mg/kg を静注後, 0.45 mg/kg/min の割合で持続注射を行い, 末梢動脈血漿中 ICG 濃度を約 30 $\mu\text{g/ml}$ に保った状態で, 灰白色凝固斑および脈絡膜毛細血管閉塞に要したレーザー出力閾値は ICG 投与下では非投与下に比べ, それぞれ約 7% と 8% の低下を示した。持続注入にて使用した ICG 投与総量は大きいにも関わらず, 網膜凝固および脈絡膜毛細血管閉塞に対する増強効果は小さかった。(日眼会誌 97: 581-586, 1993)

キーワード: インドシアニンググリーン, ダイオードレーザー, 増強光凝固, 定量化

Quantification of Indocyanine-green Enhancement of Diode Laser Photocoagulation

Akira Obana¹⁾, Muneaki Matsumoto¹⁾, Tokuhiko Miki¹⁾

Klaus-G Eckert²⁾, Reginald Birngruber³⁾ and Veit-P Gabel⁴⁾

¹⁾Department of Ophthalmology, Osaka City University Medical School

²⁾Department of Pharmacology and Toxicology, Munich University

³⁾Medical Lasercenter Lübeck

⁴⁾Eye Hospital, Regensburg University

Abstract

The enhancement by indocyanine-green (ICG) of diode laser photocoagulation was quantified. Since ICG concentration in blood increases and decreases rapidly after a single injection, it is difficult to quantify the exact enhancing effect of ICG. A steady-state plasma concentration (about 30 $\mu\text{g/ml}$) of ICG was achieved by injection of 2.5 mg/kg of ICG followed by continuous injection of 0.45 $\mu\text{g/kg/min}$ of ICG. The threshold energy values to obtain grayish white retinal burn or choriocapillary occlusion were evaluated at this steady concentration of ICG, and compared with the values in the

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

(平成4年8月31日受付, 平成4年11月16日改訂受理)

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

(Received August 31, 1992 and accepted in revised form November 16, 1992)

absence of ICG. The use of ICG decreased the energy values 7% for retinal burn and 8% for choriocapillary occlusion. Although the total dosage of ICG during the continuous injection was high, the enhancement of retinal burn and choriocapillary occlusion was small. (J Jpn Ophthalmol Soc 97: 581-586, 1993)

Key words: Indocyanine-green, Diode laser, Enhancement photocoagulation, Quantification

I 緒言

レーザー光を吸収する生体外色素を投与した上で、レーザー光凝固を行う色素増強光凝固 (dye enhancement photocoagulation) はレーザー光凝固の新しい使用方法として報告されている¹⁾³⁾、その目的は色素を用いることでより効率良くレーザーエネルギーを熱エネルギーに変えて、周囲組織の障害をできるだけ軽度にした上で標的組織を凝固し破壊することにある。最近では眼科領域で使用しうる可能性のあるいくつかの色素とレーザーの組合せおよびその効果が実験的に検討され⁴⁾、その中からインドシアニングリーン (以下 ICG) とダイオードレーザーの組合せにより、加齢性黄斑変性症の脈絡膜新生血管閉塞を目的とした治療が臨床応用されている⁵⁾⁶⁾、ICG がダイオードレーザー光凝固効果を増強することはすでに報告してきたが⁷⁾⁸⁾、実際に ICG を使用することで凝固に要するエネルギーをどの程度低下できるのかを定量的に検討した報告はなされていない。そこで、本報では家兎眼を用いて ICG によるダイオードレーザー光凝固増強効果の定量的検討を行った。その際、従来施行されている ICG 一回静脈注射による投与では、ICG の血中半減期が 3~4 分と短いため、血中濃度が急激に変化し、静注から凝固施行までの時間差によって ICG 血中濃度も異なり、凝固効果が定量できず、さらに凝固時の血中濃度も予測し難い。そこで、今回は持続注射によって ICG 血中濃度を一定に保ちながら、光凝固を施行しその効果を検討した。

II 実験方法

1. ICG 投与量の検討

まず有色家兎における ICG 血漿消失率を測定した。有色家兎 (体重 3.7 kg) を塩酸ケタミン 20 mg/kg とキシラジン塩酸塩 0.1 ml/kg の筋注にて全身麻酔後、ICG (シアグノグリーン注[®]、第一製薬株式会社) 2.5 mg/kg を一側耳の静脈より注射し、他側耳の動脈より数分毎に採血し、ヘパリン化スピッツグラスに採取し

た。血漿を遠心分離後、血漿 ICG 濃度を比色計 (UV-1200, 島津製作所) を用いて測定した。この結果をもとに持続注射により血漿濃度を一定に保持できる投与量を推定した。

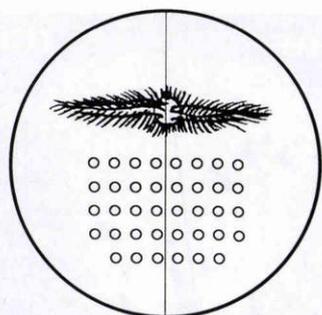
さらに、持続注射を施行して血漿 ICG 濃度を測定した。有色家兎の一側耳の静脈から ICG 2.5 mg/ml 水溶液を 2.5 mg/kg となるように急速に注入し、その 1 分後に同静脈から ICG 0.45 mg/kg/min の割合で持続注射した。持続注射にはシリンジポンプ (アトムシリンジポンプ 1235) を使い、毎分注入流量 0.55 ml とし、30 分間注入した。この間、他側耳動脈より数分から 10 分毎に採血し、血漿 ICG 濃度を比色計を用いて測定した。この操作を成熟有色家兎 3 匹 (体重 2.2~4.4 kg) において施行し、血漿 ICG 濃度がほぼ一定になることを確かめた。

2. 凝固出力閾値の測定

有色家兎 5 匹 5 眼を用いた。ただし、使用した眼はミドリン P[®] で散瞳後、検眼鏡検査にてメラニン色素の均一なもののみとした。前記と同様の方法で全身麻酔後、ダイオードレーザー (ニデック DC-3000 G) 光凝固を施行した。凝固にはゴールドマンコンタクトレンズと細隙灯顕微鏡を用い、まず ICG 注射を行う前に後極部の耳側半分凝固径 500 μm 、凝固時間 0.2 秒で網脈絡膜凝固を行った。出力は 50, 76, 104, 130, 156, 183, 210, 236, 263 mW と変えながら、1 出力あたり 1 眼に 1~7 発の凝固を行った。つづいて前記の方法で ICG 持続注射を施行し、持続注入開始 5 分後より同一眼の後極部鼻側半分に同様の要領で凝固を施行した (図 1)。

ICG 持続注射下での凝固終了直後に他側の耳動脈より採血し、前述の方法にて血漿 ICG 濃度を測定した。また、凝固 30 分後に眼底ポラロイドカラーを撮影し、さらにフルオレセイン蛍光眼底造影検査 (フルオレセインナトリウム 10 mg/kg) を行った。

凝固斑はポラロイド写真上から凝固斑不明、灰色凝固斑、灰白色凝固斑、白色凝固斑の 4 段階に分類し、また蛍光眼底写真上から蛍光色素漏出の認められない



ICG (+) ICG (-)

図1 光凝固の方法を示した模式図。

後極部の耳側半分に ICG 非投与下で光凝固を行い、つづいて鼻側半分に ICG 投与下で光凝固を行った。

もの、認められるもの、凝固斑中央に低蛍光部（いわゆる dark spot）の認められるものの3群に分類し、各凝固出力においてそれぞれの凝固程度を生じる確率をヒストグラムにした、そして50%の確率で灰白色凝固斑の得られる出力および50%の確率で dark spot の生じる出力を Probit 法にて算出し、それぞれ灰白色凝固斑、dark spot の生じる出力閾値とした。

III 結果

ICG 2.5 mg/kg 一回静注後の血漿 ICG 濃度は図2のごとくで、静注後濃度は急速に低下した。ICG 持続注射を行った場合の血漿 ICG 濃度は、持続注射開始か

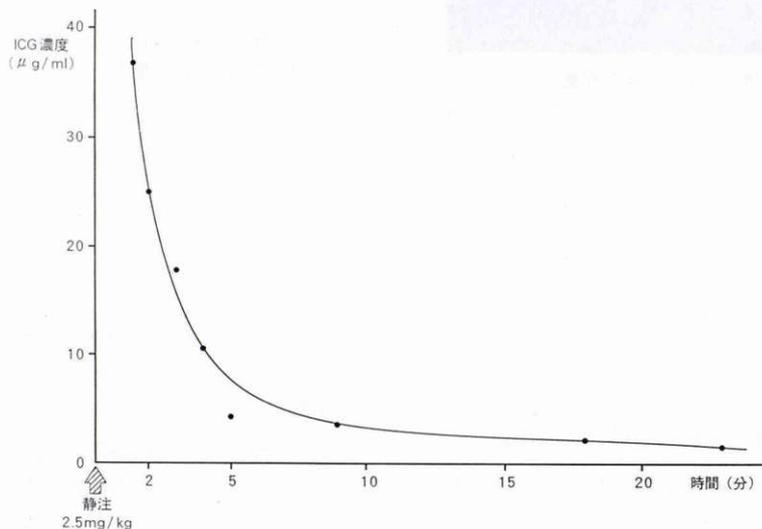


図2 静注後の末梢動脈血漿中 ICG 濃度（有色家兎体重 3.7 kg）。
ICG 2.5 mg/kg 静注後の ICG 濃度は急速に低下した。

表1 持続注射下の末梢動脈血漿中 ICG 濃度

	体重(kg)	ICG 濃度(μg/ml)		
		最低値	最高値	中間値
家兎 No. 1	2.2	29.5	43.0	36.3
家兎 No. 2	4.3	29.0	37.5	33.3
家兎 No. 3	4.4	27.0	42.5	34.8
中間値平均	34.8 μg/ml			

ら終了までの間にやや上昇する傾向があった。そこで持続注射中の血漿 ICG 濃度の最低値と最高値の中間値を各個体における持続注射による ICG 濃度とし、表1に測定を行った3匹（家兎 No. 1~No. 3）の結果を示し、図3に表1の家兎 No. 1~No. 3 の濃度変化を示した。3個体の中間値の平均は 34.8 μg/ml であった。ICG 持続注射終了後は急速に濃度が低下した。

ICG 非注射下と注射下における凝固斑を図4に例示した。両者ともに検眼鏡的に同様の灰色から白色の各程度の凝固斑が得られた。また、蛍光眼底造影では蛍光色素の漏出のみが見られるものと凝固斑中央に dark spot の認められるものが存在した（図5）。

灰白色凝固斑を生じた出力閾値は ICG 非注射下では 143 mW で、ICG 持続注射下では 133 mW であった。さらに蛍光眼底造影にて dark spot の生じた出力閾値は ICG 非注射下では 110 mW、ICG 持続注射下では 101 mW であった（表2）。

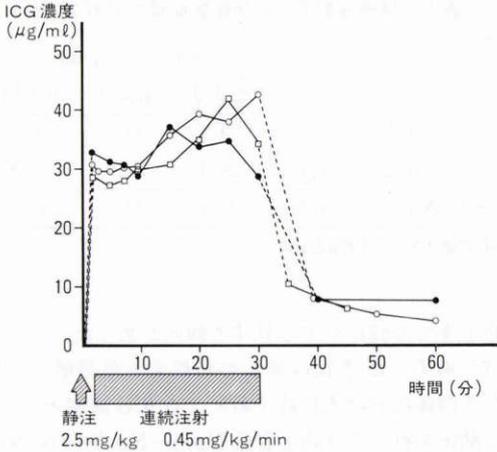


図3 表1の家兎の ICG 濃度の経時変化。

表1の家兎の ICG 濃度の経時変化。○は家兎 No. 1, ●は家兎 No. 2, □は家兎 No. 3

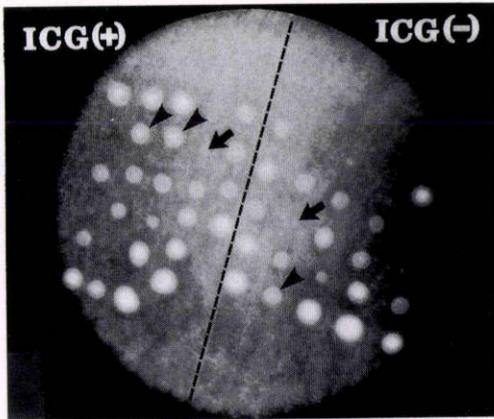


図4 凝固30分後の眼底写真。

右半分は ICG 投与せずに凝固したもので、左半分は ICG 持続注射下で凝固したものである。矢印はごく弱い灰色凝固斑(500 µm, 0.2 秒, 110 mW)を、矢尻は灰白色凝固斑(500 µm, 0.2 秒, 170 mW)を示す。

ICG 投与開始から光凝固終了までの時間と終了時点の血漿 ICG 濃度を表3に示した。ただし、5匹中1匹では注入終了前に採血ができなかったため、濃度は測定できなかった。

IV 考 按

ICG 増強光凝固は加齢性黄斑変性症の脈絡膜新生血管治療において臨床的に検討され、新生血管の凝固閉塞が可能と報告されている⁵⁾⁶⁾。しかし、従来のアルゴンレーザーやダイオードレーザーによる治療と比べ

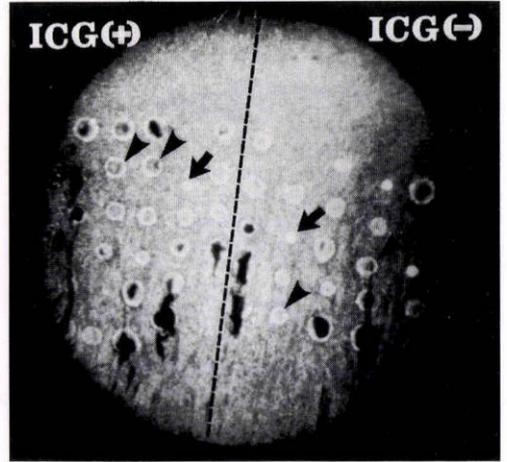


図5 図4のフルオレセイン蛍光眼底写真。

右半分は ICG 投与せずに凝固したもので、左半分は ICG 持続注射下で凝固したものである。矢印は図4の灰色凝固斑で蛍光色素の漏出がみられる。矢尻は図4の灰白色凝固斑に相当し、凝固斑中央に低蛍光部が認められる。この低蛍光の存在は脈絡膜毛細血管の閉塞を意味している。

表2 灰白色凝固斑閾値および脈絡膜毛細血管閉塞閾値

	灰白色凝固斑閾値 (mW)	脈絡膜毛細血管閉塞閾値 (mW)
ICG 非投与	143(n=112)	110(n=110)
ICG 投与	133(n=142)	101(n=78)

n は各条件での凝固数

表3 ICG 持続注射下での光凝固に要した時間と凝固終了時の ICG 濃度

	光凝固に要した時間(分)	凝固終了時の ICG 濃度(µg/ml)
家兎 A	13	28.5
家兎 B	17	28.5
家兎 C	19	27.0
家兎 D	21	29.5

て有効性が高いかどうかは議論のあるところで、その理由としてはこれまでの報告では対照群、つまり ICG を使用しないアルゴンレーザーやダイオードレーザーによる治療群との比較検討が行われていないからである。また、実験的にも ICG により凝固効果が増強されることは報告してきたが⁷⁾⁸⁾、定量的検討はされておらず、ICG 非注射群との比較も十分とは言えない。

ICG 増強効果を定量的に検討する場合、ICG 血中濃

度が問題となる。従来行われていた一回静注法では血漿 ICG 濃度は図3のごとく注射後急速に低下し、注射から凝固までの時間が異なれば濃度が異なり、増強効果を定量できない。そこで前述の持続注射により血漿 ICG 濃度をほぼ一定にした上で増強効果の検討を試みた。今回の持続注射量で動脈血漿中の ICG 濃度は個体間の差や時間に伴う変動はあるものの、ほぼ一定値(中間値の平均 $34.8 \mu\text{g/ml}$)を維持できた。また、ICG 持続注射下の光凝固は5例とも注射開始5分から26分までのおよそ20分間で終了し、終了時の ICG 濃度も $27.0\sim 29.5 \mu\text{g/ml}$ ではほぼ一定していた。したがって、光凝固施行時の ICG 濃度は5例ともほぼ同様であったと考えられる。

さらに、ダイオードレーザーの凝固効果は脈絡膜メラニン色素の多寡に大きく影響されるので⁹⁾、今回は体毛色および眼底検査で眼底メラニン色が同程度で均一と思われる家兎5匹において、ICG 非投与下および ICG 投与下での閾値測定を同一眼にて施行し、メラニン色素の多寡の影響が少なくなるように配慮した。

ICG は安全性の高い薬剤とされているが、内科領域において肝機能、循環機能検査に使用されている量は 0.5 mg/kg 以下である。最近 ICG 蛍光眼底造影が広く施行されるようになり、 75 mg 静注投与においても特に全身的な障害は起こらないようであり、ヒトで ICG 増強光凝固に 5 mg/kg を使用している報告もあるが⁶⁾、その安全性を確かめるにはさらに多数の症例における検討を要し、臨床的に許容される最大投与量は不明である。今回の持続注射における投与量は30分間の総投与量が 16 mg/kg であるが、これは半減期の7~10倍の時間に投与されたものであるから必ずしも過量とは言えない。しかし、ヒトにおいてこの投与量が安全かどうかは別の問題である。

閾値測定を灰白色凝固斑に対して行った理由は、灰白色凝固斑が種々の網膜病変に対する治療において網膜外層から脈絡膜に凝固の生じる最も一般的な凝固程度と考えられたからである。また、蛍光眼底造影における dark spot は脈絡膜毛細血管の閉塞を示す所見で、加齢性黄斑変性症治療における脈絡膜新生血管閉塞の参考にしてできるものと考えた。ここで血漿 ICG 濃度を $30 \mu\text{g/ml}$ としたときの家兎眼底各層における近赤外ダイオードレーザーの吸収率を理論的に計算した(図6)。ただし、ICG のモル吸収係数は方法で述べた吸光計を用いて測定した吸光度から計算した値(195000 cm^{-1})を使用、各組織の厚さおよびヘモグロビ

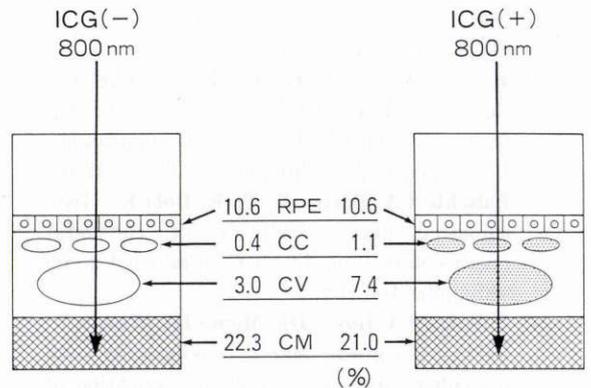


図6 有色家兎眼底における波長 800 nm レーザー光の吸収率。

ICG 濃度: $30 \mu\text{g/ml}$, RPE: 網膜色素上皮細胞, CC: 脈絡膜毛細血管, CV: 脈絡膜大血管, CM: 脈絡膜メラノサイト。

ン、メラニン吸収係数は既報⁹⁾に従った。近赤外ダイオードレーザーは主に脈絡膜外層のメラニン色素で吸収されるが、ICG 存在下では脈絡膜毛細血管と脈絡膜大血管での吸収率がそれぞれ 0.4% から 1.1% の 0.7% 、 3.0% から 7.4% の 4.4% 上昇する。この吸収率の上昇が増強効果に関与すると考えられ、今回の実験結果から、血漿 ICG 濃度約 $30 \mu\text{g/ml}$ における出力閾値は灰白色凝固斑に対しては ICG 使用により約 7% 低下し、脈絡膜毛細血管閉塞に対しては約 8% 低下した。今回の ICG 投与量は多いにも関わらず、網膜凝固および脈絡膜毛細血管閉塞に対する ICG の増強効果は大きくはなかった。

しかし、臨床的に脈絡膜新生血管の凝固閉塞効果についてはなお不明な点がある。それは新生血管内はともかく、新生血管周囲に漏出すると考えられている ICG 濃度が明らかでないからである。したがって、新生血管内および周囲の ICG 濃度が高ければ、増強効果が期待できるが、これについては今後臨床的に症例を重ねて検討する必要があると思われる。

文 献

- 1) Anderson RR, Puliafito CA, Gradoudas ES, Steunert RF: Dye enhanced laser photocoagulation of choroidal vessels. Invest Ophthalmol Vis Sci 25(Suppl): 3, 1984.
- 2) Sliney DH: New chromophores for ophthalmic laser surgery. Lasers and Light Ophthalmol 2: 53-61, 1988.
- 3) 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.
- 4) **Jean B, Maiser J, Braun M, Kirschkel CS, Baumann M, Thiel HJ**: Target dyes in ophthalmology. Part 1—Principles and indications. *Lasers and Light Ophthalmol* 3: 39-45, 1990.
 - 5) **Puliafito CA, Destro M, To K, Dobi E**: Dye-enhanced photocoagulation of choroidal neovascularization. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 29(Suppl): 414, 1988.
 - 6) **Puliafito CA, Guyer DR, Mones JM, Weaver Y**: Indocyanine-green digital angiography and dye-enhanced diode laser photocoagulation of choroidal neovascularization. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 32(Suppl): 712, 1991.
 - 7) **Suh J-H, Miki T, Obana A, Shiraki K, Matsumoto M**: Effects of indocyanine green dye enhanced diode laser photocoagulation in non-pigmented rabbit eyes. *Osaka City Med J* 37: 89-106, 1991.
 - 8) 松本宗明, 三木徳彦, 尾花 明, 白木邦彦, 徐 鎮活: 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. 日眼会誌 96: 742-748, 1992.
 - 9) **Obana A, Lorenz B, Gasller A, Birngruber R**: The therapeutic range of chorioretinal photocoagulation with diode and argon lasers: an experimental comparison. *Lasers and Light Ophthalmol* 3/4: 147-156, 1992.