

悪性高血圧自然発症ラットにおける眼底変化

—(2) 蛍光眼底写真と網膜血管—

浜 田 陽

大阪府済生会富田林病院眼科

要 約

前報では悪性高血圧自然発症ラット (M-SHRSP) の眼底変化を経過観察し、その変化を分類、スコア化した。今回は M-SHRSP のカラー眼底写真における網膜血管の狭細と口径不同所見を蛍光眼底所見と比較し、その関連性を病理組織所見とも併せて検討した。M-SHRSP の網膜細動脈は高血圧によるびまん性狭細が進行しても細動脈壁からの蛍光漏出の増加傾向は軽度であったが、口径不同は前回報告した眼底分類のスコア 2 以上の網膜細動脈の分節化を示すようになると高率に細動脈壁から蛍光漏出を示した。M-SHRSP のカラー眼底写真では網膜細動脈の狭細よりも口径不同の進行が血管壁からの蛍光漏出と関与してくるものと思われた。また、病理組織所見との結果から重症高血圧の持続により、網膜細動脈の口径不同の変化は機能的な可逆性変化から器質的な不可逆性変化に進行すると思われた。(日眼会誌 97: 690—697, 1993)

キーワード: M-SHRSP, 悪性高血圧, 細動脈硬化, 蛍光眼底造影, 細動脈痙攣

Ophthalmological Study of the M-strain Stroke-prone Spontaneously Hypertensive Rats

(2) Retinal Arteriolar Changes in Fluorescein Angiogram

Yoh Hamada

Eye Clinic, Saiseikai Tondabayashi Hospital

Abstract

Malignant or precocious stroke-prone spontaneously hypertensive rats show severe hypertensive fundus changes such as generalized narrowing, caliber irregularity, and tortuosity of retinal arterioles or retinal edema. In our previous studies, these changes were classified into four grades from 0 to 3 according to severity. In the present study, hypertensive fundus changes in these rats, such as generalized narrowing or caliber irregularity of retinal arterioles, were studied by comparing fluorescein angiographs with color fundus photographs. Fluorescein leakage was observed from retinal vessels in more than half the retinal arterioles with hypertensive caliber irregularity of grade 2. Pathological studies also showed irreversible changes in the retinal arterioles with hypertensive caliber irregularity. (J Jpn Ophthalmol Soc 97: 690—697, 1993)

Key words: M-SHRSP, Malignant arterial hypertension, Arteriolar sclerosis, Fluorescein fundus angiography, Arteriolar spasm

別刷請求先: 584 富田林市向陽台 1—3—36 大阪府済生会富田林病院眼科 浜田 陽

(平成 4 年 5 月 27 日受付, 平成 5 年 1 月 21 日改訂受理)

Reprint requests to: Yoh Hamada, M.D. Eye Clinic, Saiseikai Tondabayashi Hospital

1-3-36 Kouyoudai, Tondabayashi 584, Japan

(Received May 27, 1992 and accepted in revised form January 21, 1993)

I 緒 言

悪性高血圧自然発症ラット malignant of precocious stroke-prone spontaneously hypertensive rats (以下 M-SHRSP と略す)¹⁾²⁾は早期から重症高血圧を発症し、生後わずか8週齢で血圧は220 mmHgに達し、種々の高血圧性眼底変化を示すと同時に、生後9週齢から蛍光眼底写真において網膜細動脈壁から蛍光漏出が出現する。これらの眼底変化は脳、心臓、腎臓などの主要臓器の高血圧性血管病変に先んじて出現するため³⁾、その診断的意義は大きい。この M-SHRSP における高血圧性眼底変化のなかで網膜細動脈の狭細と口径不同の変化が網膜細動脈血管壁の障害にどのように関与するかを検討する目的で無麻酔下に蛍光眼底撮影を行い検討した。そして前回 M-SHRSP の眼底分類、スコア化した所見について各段階の変化がどのように関係しているかについて検討した。さらに M-SHRSP の眼底の網膜細動脈の狭細、口径不同所見における病理組織学的変化についても検討したので併せて報告する。

II 方 法

1. 実験動物

近畿大学医学部の動物飼育センターで飼育されている M-SHRSP 211 匹を使用した。対照としては正常血圧を示す Wistar Kyoto rat (以下 WKY と略す) 30 匹を使用した。これらのラットはマウス・ラット・ハムスター飼育用 F2 の飼料で飼育されている。室温は $22 \pm 2^\circ\text{C}$ 、湿度は 50~70% に保たれている。血圧は tail-pulse pick up method による方法で測定した。

2. 眼底写真および蛍光眼底写真

実験動物の眼底写真撮影および蛍光眼底写真撮影は無麻酔で行った。眼底写真および蛍光眼底写真は血圧測定後、無麻酔下にコーワ手持ち眼底カメラで撮影した。カラー眼底撮影は Fujichrome color slides (Iso 100) フィルムを用いた。高血圧眼底所見の変化で網膜血管細動脈のびまん性狭細と口径不同の変化は前回分類した眼底分類スコア⁴⁾に準じて分類した。蛍光眼底写真撮影は無麻酔下でコーワ手持ち眼底カメラを使用し、10% fluorescein sodium 0.05 cc を尾静脈から静注し、フィルムは Kodak Tri X pan film (ASA 400) を使用した。そしてカラー眼底写真における網膜血管細動脈の一本ずつの眼底写真と、その蛍光眼底写真からの網膜血管からの蛍光漏出の有無について検討し

た。今回は M-SHRSP 211 匹の眼底所見を検索し、そのなかで無投薬群 123 匹、のべ 123 眼、計 703 本の網膜細動脈について検索を行った。撮影した M-SHRSP のカラー眼底写真にて各眼底における網膜細動脈の狭細化、口径不同の分類、スコア化した所見と各眼底の蛍光眼底写真における各々の網膜細動脈からの蛍光漏出の有無を判定し、各段階、スコアごとに比較検討した。

3. 病理組織学的検索

M-SHRSP の後期(生後 13 週齢以降)の 2 匹を使用した。血圧は 2 匹とも 250 mmHg 以上を示し、眼底⁴⁾は、1 匹は網膜細動脈の狭細 2、口径不同 2、脈絡膜血管 3、網膜浮腫 3、網膜細動脈蛇行 3、他は網膜細動脈の狭細 3、口径不同 3、脈絡膜血管 3、網膜浮腫 3、網膜細動脈蛇行 2 の状態であった。眼底写真の撮影後に眼球摘出し、10% ホルマリンにて固定、眼球を半切後さらに 2.5% グルタルアルデヒド固定、1% オスミウム酸固定し、エタノール系列で脱水後エポキシ樹脂に包埋し準超薄切片を連続切片として作成し、トルイジンブルー染色を施し光学顕微鏡にて観察した。さらに口径不同部の狭窄部を超薄切片を作成後、酢酸ウランと鉛染色にて二重染色し、透過型電子顕微鏡にて観察した。

III 結 果

図 1 に今回行った正常血圧を示す対照の WKY のカラー眼底写真像を、図 2 にその蛍光眼底像を示す。正常血圧を示す WKY では網膜血管からの蛍光漏出はなかった。蛍光眼底写真では蛍光液静注後、約 3 秒後から約 5 秒後の間に蛍光像は動脈期から静脈期へと移行し、約 10 秒後には後期像を示していた。今回施行した M-SHRSP の無麻酔下の蛍光眼底写真において生後 8 週齢までは網膜血管から蛍光漏出を示したものはなかったが、生後 9 週齢では眼底の視神経乳頭から放射状に走る 5~6 本の網膜細動脈のいずれかの血管から蛍光色素が漏出したものは M-SHRSP の 20 匹中 14 匹、70%、生後 10 週齢では 32 匹中 31 匹、97% と網膜細動脈から蛍光漏出がみられ、生後 10 週齢以降は、いずれかの網膜細動脈から蛍光漏出を示したものは 100% に達していた。

図 3 の生後 11 週齢の中期の M-SHRSP のカラー眼底写真では太い矢印の網膜細動脈スコア⁴⁾は狭細 3、口径不同 3 を示しており、また右の細矢印(上)は狭細 2、口径不同 2、細矢印(下)は網膜細動脈狭細 1、口径不同 1 を示しているが、蛍光眼底像では図 4 の如

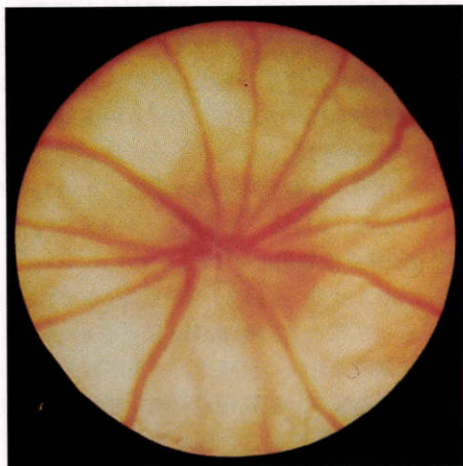


図1 対照のWKYカラー眼底像(生後10週齢, 血圧 132 mmHg).

眼底分類スコア: 網膜細動脈狭細0, 口径不同0

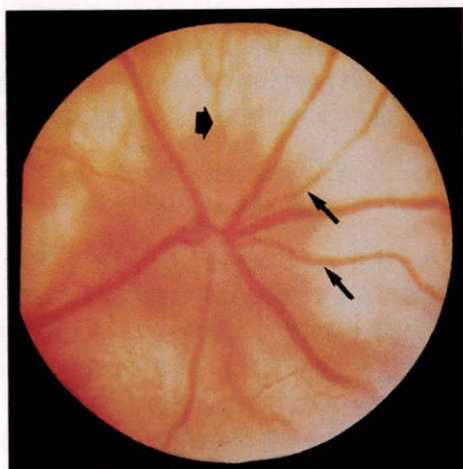


図3 M-SHRSPのカラー眼底像(生後11週齢, 血圧 256 mmHg).

太矢印: 網膜細動脈狭細3, 口径不同3. 細矢印: (上) 網膜細動脈狭細2, 口径不同2. 細矢印: (下) 網膜細動脈狭細1, 口径不同1.

く、網膜細動脈狭細3の強い狭細を示した方の細動脈からは蛍光色素の漏出が起っており、かえってやや太い網膜細動脈狭細2、口径不同2あるいは網膜細動脈狭細1、口径不同1の変化を示す細矢印(上、下)の網膜細動脈の方から蛍光色素が著明に漏出した。図5の生後11週齢のM-SHRSPの無麻酔下カラー眼底写真で黒矢印の網膜細動脈狭細スコア2、口径不同2の血管は、その右の蛍光眼底写真では白矢印のように

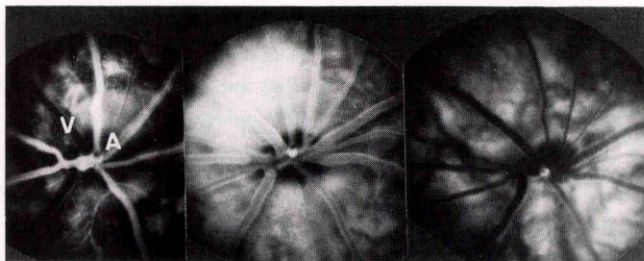


図2 対照のWKYの蛍光眼底像.

蛍光液静注3秒後の動脈期, 4秒後の動静脈期, 10秒後の後期像では脈絡膜層が透見される.

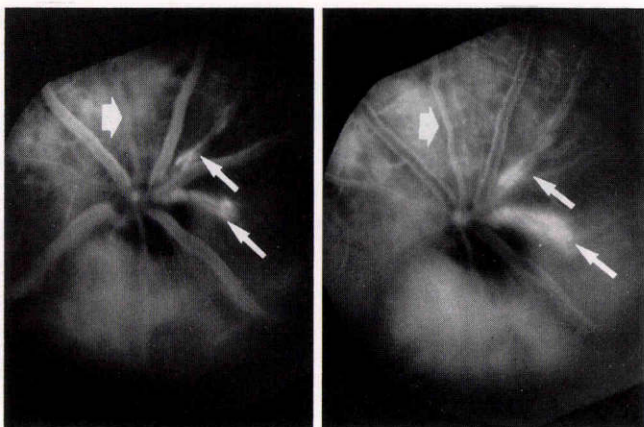


図4 M-SHRSPの蛍光眼底像.

前図カラー眼底写真で太矢印の網膜細動脈狭細3、口径不同3の強い狭細を示した細動脈からは蛍光色素の漏出はみられず、前図カラー写真、細矢印(上)の網膜細動脈狭細2、口径不同2、細矢印(下)網膜細動脈狭細1、口径不同1の細動脈から蛍光色素が漏出している.

口径不同を示した部位から蛍光色素が漏出しているのがみられた。図6は生後10週齢のM-SHRSPのカラー眼底写真で左黒矢印の細動脈狭細スコア1、口径不同2やその右の打抜き矢印狭細3、口径不同3を示す網膜細動脈壁から蛍光色素が漏出した。また、この図6の打抜き矢印に示した網膜細動脈では、カラー眼底写真では血柱の狭細を示したが、蛍光眼底写真では血管腔は太く造影された。

さらに今回検討した無投薬群123匹、のべ123眼、計703本の網膜細動脈についてカラー眼底写真による網膜細動脈狭細と口径不同のスコアとその蛍光漏出について検索を行った結果を表2に示す。表2において横軸には網膜細動脈狭細のスコアを、縦軸には網膜細動脈の口径不同のスコアをとり、無麻酔下で撮影した

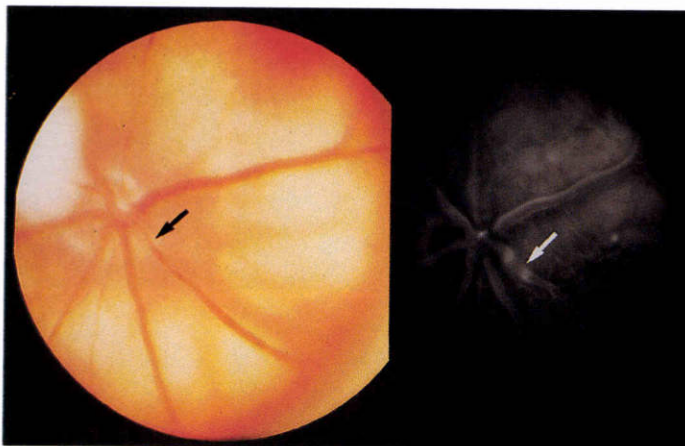


図5 M-SHRSP カラー眼底写真と蛍光眼底像（生後 11 週齢，血圧 260 mmHg）.
カラー眼底写真スコア，網膜細動脈狭細 2，口径不同 2 の黒矢印の血管では蛍光眼底写真では白矢印に示す如く口径不同を示す部位から蛍光色素が漏出している。

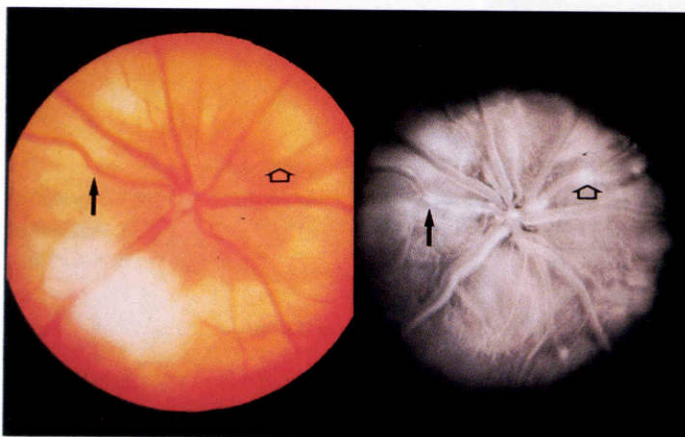


図6 M-SHRSP カラー眼底写真と蛍光眼底像（生後 10 週齢，血圧 250 mmHg）.
カラー眼底写真の右の打抜き矢印の網膜細動脈狭細 3，口径不同 3 の網膜細動脈は右側の蛍光眼底写真では蛍光色素で血管腔が太く造影され，細動脈壁からは蛍光色素が漏出しているのが観察される。カラー眼底写真の左の黒矢印の網膜細動脈血管の血柱は右側の蛍光眼底写真でも血管腔は太く造影されている。

表 1 雄 M-SHRSP の細動脈血管壊死の頻度

	5 週	6 週	7 週	8 週	9 週	10 週	11 週	12 週	13 週	14 週（生後週数）
脳 0/6 _(Ⅲ)	0/2	0/2	0/3	1/4	3/9	2/9	1/5	4/6	5/5	
腎 0/6	0/2	0/2	0/3	1/4	9/9	9/9	4/5	6/6	5/5	
心 0/6	0/2	0/2	0/3	0/4	4/9	5/9	4/5	5/6	4/5	

（Chikugo et al³⁾を図式化）

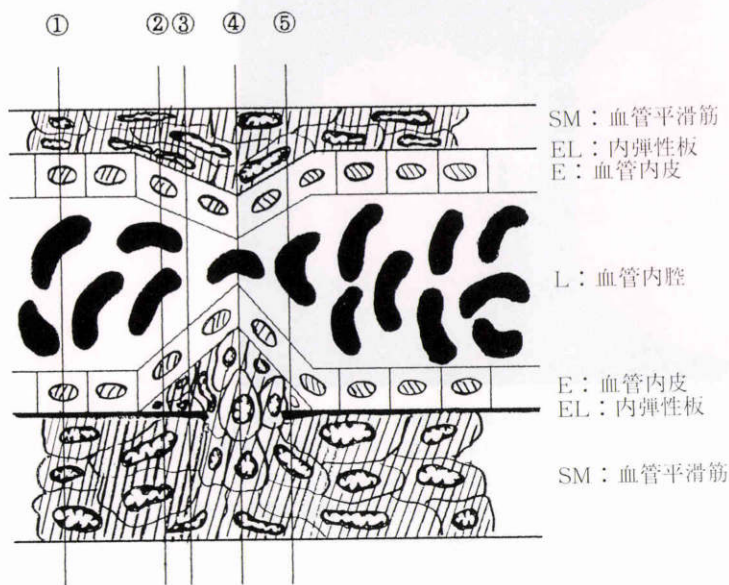
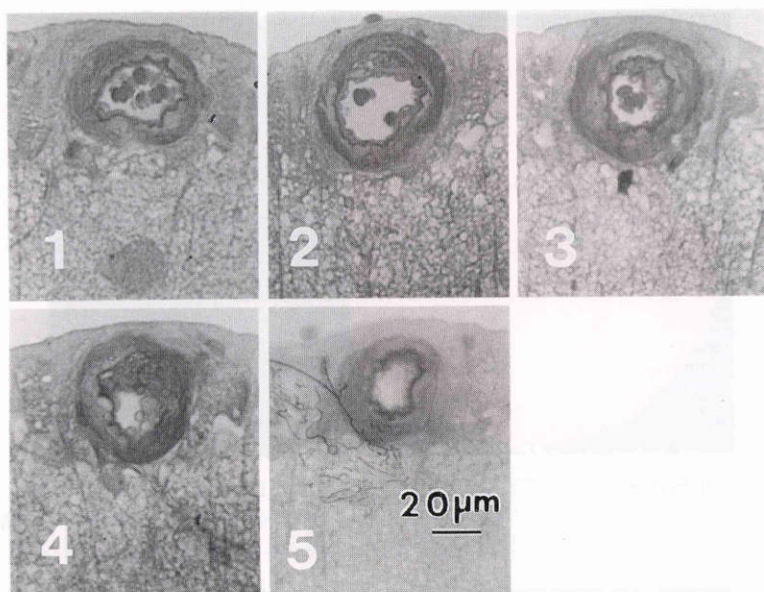


図7 後期の15週齢以降のM-SHRSPの網膜細動脈、口径不同部の連続切片像とその模式図。(トルイジンブルー染色)

上図：写真の1, 2, 3と血管腔が細くなり、4の最狭窄部では内弾性板の断裂像がみられた。5では血管腔が再び太くなっている。下図：上図の模式図。SM：血管平滑筋、EL：内弾性板、E：血管内皮、L：血管内腔

カラー眼底写真で判定した一本ずつの網膜細動脈について、その蛍光眼底写真で蛍光漏出の有無を検討した結果を各スコア表に記入した。分類スコア表の各部分で分母には網膜細動脈の合計数を示し、分子には各々の網膜細動脈について分母に示した細動脈の何本が蛍光漏出を示したかを記入し、その横に何%が蛍光漏出を示したかをわかるように記入した。

表2の結果から狭細がスコア2でも口径不同スコア1程度のものでは80本中2本、2.5%しか蛍光漏出を

示さなかったのに対して、狭細スコアは1でも口径不同スコア2を示したもので27本中13本、48%もの網膜細動脈が蛍光漏出を示し、全体として口径不同のスコアが2以上になると蛍光漏出が高い比率で起こった。

病理組織学的所見では後期のM-SHRSPのカラー眼底写真で網膜細動脈の口径不同を確認し、視神経乳頭部から1～2乳頭径離れた網膜細動脈の口径不同を示した部位の連続切片を光学顕微鏡にて観察した(図

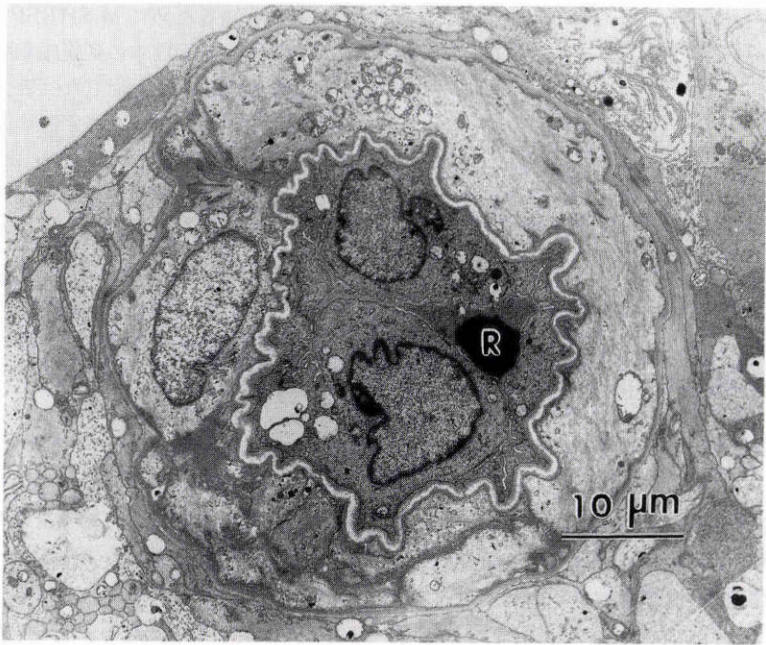


図8 後期の M-SHRSP の網膜細動脈の口径不同部の電子顕微鏡像。
血管平滑筋の収縮のため血管内腔は狭窄しており、R で示す赤血球は血管内腔の中心部へ移動し、周囲の血管平滑筋には部分的な崩壊像がみられる。細動脈壊死の初期像と思われる。

表2 眼底分類と蛍光漏出

		狭 細 (A/V)			
		0 [1~3/4]	1 [3/4~1/2]	2 [1/2~1/3]	3 [<1/3]
口径不同	0	0 9 (本)	0 5	0%	0%
	1	1 6	6 92	17%	6.5%
	2		13 27	48%	118 247
	3			19 19	100% 76 115

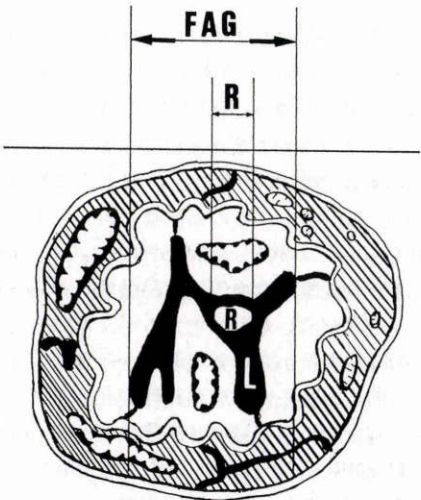


図9 M-SHRSP の網膜細動脈の口径不同部の模式図。
狭窄した血管内腔(L)では赤血球(R)は中心部へ移動し、カラー眼底写真では血管腔の赤柱は上の← R →の幅で観察されるが、蛍光眼底写真の場合は蛍光液は血管内腔すべてに充滿するため、同じ部位で血管腔は上の← FAG →の幅で観察される。

7). 対照の正常血圧を示すWKYの網膜細動脈は血管内皮、内弾性板、平滑筋層、外膜と規則正しい構造を示していたが、M-SHRSPの眼底で口径不同を示した狭窄部位では図8の電子顕微鏡のように網膜細動脈は血管平滑筋の長期間の収縮のために血管内腔は狭窄

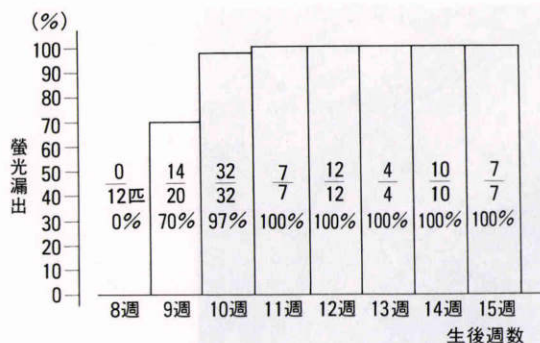


図10 M-SHRSPの網膜細動脈からの蛍光漏出。

生後8週齢までは網膜細動脈からの蛍光漏出は認められないが、生後9週齢より蛍光漏出がはじまる。

しており、管腔を流れる赤血球は中心部へ移動し、その部位の周囲の血管平滑筋には細動脈壊死の初期像を思わせる胞体内の部分的な崩壊像がみられた。

IV 考 按

悪性高血圧自然発症ラット(M-SHRSP)はオスの生後8週齢で血圧が220 mmHgまで上昇し、生後10週齢では血圧250 mmHgあるいはそれ以上を示し、生後13週齢から15週齢の間に重症高血圧のために死亡する。眼底においてもこのような重症高血圧に伴い、種々の変化が現れ、前報ではこれらの眼底変化を分類スコア化した⁴⁾。今回施行した無麻酔下の蛍光眼底写真でもM-SHRSPの生後8週齢までは網膜血管から蛍光漏出を示したものはなかったが、生後9週齢では70%、生後10週齢では97%というように網膜細動脈から蛍光色素が漏出するのが観察された(図10)。表1はChikugoら³⁾が報告したM-SHRSPの脳、心臓、腎臓における各臓器の高血圧性細動脈壊死の病理組織変化の出現時期を示したものであるが、高血圧性の眼底所見や網膜細動脈からの蛍光漏出を示すと間もなく、各主要臓器に高血圧性血管壊死性変化がでている。すなわち、高血圧の眼底変化や網膜血管からの蛍光漏出がM-SHRSPの主要臓器の器質的な血管病変に先駆けて出現しており、これら眼底所見の変化が重症高血圧の程度や進行における診断、予測に重要な意味をもってくるものと思われる^{5)~9)}。

今回、これら悪性高血圧自然発症ラット(M-SHRSP)の眼底変化の中で網膜細動脈の狭細と口径不同に注目し、これらの各段階のスコア化された変化と網膜細動脈血管壁からの蛍光漏出がどの程度関連し

ているかを知るためにM-SHRSPの無投薬群123匹、のべ153眼、計703本の網膜細動脈と蛍光眼底写真における蛍光漏出とを検討した。表2からもわかるように網膜細動脈の狭細と口径不同のスコアの合計が3の場合でも細動脈狭細のスコア2、口径不同1の場合では80本中2本、わずか2.5%しか網膜細動脈から蛍光漏出を示さなかったのに対して、細動脈狭細スコアは1でも口径不同2を示したものでは27本中13本、48%もの網膜細動脈から蛍光漏出を示した。M-SHRSPの網膜細動脈の口径不同は高血圧による攣縮(spasm)が関与すると思われるが、カラー眼底写真におけるこの網膜細動脈の口径不同の変化はスコアが2以上になると蛍光漏出が多く起こってることがわかった。そしてこのような高血圧状態を放置しておくとも血漿成分の漏出から血管平滑筋の変化をきたし、口径不同の変化も可逆性の変化から不可逆性変化へと移行していくものと思われる^{10)~15)}。

ところで、カラー眼底写真での網膜細動脈狭細や口径不同の所見も蛍光眼底写真では血管腔が太く造影されている部位がみられた(図6)。この現象はHayrehら⁵⁾がGoldblatt変法を用いたサルの高血圧モデルで指摘している。彼らは蛍光眼底所見の方を重視して、カラー眼底写真での網膜細動脈の狭細や口径不同の所見を“ophthalmoscopic artifact”あるいは、“pseudo-narrowing”ではないかと述べている。しかし、今回の著者らの後期のM-SHRSPの網膜細動脈の病理組織を観察した結果では(図7、8)、血管内腔の狭細や口径不同の部位には不可逆的、器質的な病変が存在することがわかった^{10)~13)}。蛍光眼底写真の場合は網膜細動脈の組織的な狭細や口径不同があっても蛍光色素は血柱を示す赤血球以外の管腔内の部位まで入り込み、管腔は血柱の幅より太く造影される(図9)。管腔の狭細については蛍光眼底所見のみを重視することには注意を要する¹⁵⁾。その意味でカラー眼底写真を通しての細動脈狭細や口径不同の所見は蛍光眼底写真では見落としたり、見つけられない所見を提供しているものと思われ、カラー眼底写真における細動脈の狭細、口径不同所見は非常に重要な所見と思われる。

また、前回報告したM-SHRSPの眼底分類を用いて検索すると、カラー眼底写真から得られた眼底所見では網膜細動脈のびまん性狭細よりも口径不同の強い方に、より強い蛍光漏出の傾向を示しているようで、M-SHRSPではこのような重症高血圧のもとで網膜

細動脈は可逆性変化から不可逆性変化へと急速に進行していくものと思われた。さらに、このような高血圧眼底所見は各主要臓器の細動脈の器質的変化の予知、あるいは診断に重要な意義をもってくるものと思われる。

稿を終えるにあたり、M-SHRSPの眼底所見について御指導を賜りました弘前大学松山秀一教授に深謝いたします。今回の研究の機会をお与え下さいました近畿大学大鳥利文教授、ならびに岡本耕造理事に深謝いたします。なお本論文の要旨は第94回日本眼科学会総会において発表した。

文 献

- 1) Okamoto K, Yamamoto K, Morita N, Ohta Y, Chikugo T, Higashizawa T, et al: Establishment and use of the M-strain of stroke-prone spontaneously hypertensive rat. *J Hyper* 4 (Suppl 3): 21-24, 1986.
- 2) Suzuki T, Yamamoto J, Minoda M: Morphological study on the relationship between the muscular architecture of the ventricles and cardiac hypertrophy in the M strain of stroke-prone spontaneously hypertensive rats. *J Hyper* 4 (Suppl 3): 115-118, 1986.
- 3) Chikugo T, Ohta Y, Suzuki T, Okamoto K: Findings in the blood vessels of the eyes, brains, kidneys, and other organs of M-SHRSP. *Jpn Heart J* 30: 606, 1989.
- 4) 浜田 陽: 悪性高血圧自然発症ラット (M-SHRSP) における眼底変化について. (1) M-SHRSP における高血圧眼底分類. *日眼会誌* 95: 16-30, 1991.
- 5) Hayreh SS, Servais GE, Virdi PS: Retinal arteriolar changes in malignant arterial hypertension. *Ophthalmologica* 198: 178-196, 1989.
- 6) Keith NM, Wagener HP, Barker NW: Some different type of essential hypertension. Their course and prognosis. *Am J Med Sci* 197: 332-343, 1939.
- 7) Wagener HP, Clay GE, Gipner JF: Classification of retinal lesion in the presence of vascular hypertension. *Trans Am Ophthalmol Soc* 45: 57-73, 1947.
- 8) Scheie HG: Evaluation of ophthalmic changes of hypertension and arteriolar sclerosis. *Arch Ophthalmol* 49: 117-138, 1953.
- 9) Hayreh SS: Classification of hypertensive fundus changes and their order of appearance. *Ophthalmologica* 198: 247-260, 1989.
- 10) 三上 規: 高血圧自然発症ラットにおける網膜細動脈口径不同の微細構造—ゼラチン加フルオレセイン静注・固定網膜伸展標本による観察—. *日眼会誌* 92: 1712-1721, 1988.
- 11) 熱海 治, 三上 規, 吉本弘志, 松山秀一: SHRSP における網膜細動脈口径不同の微細構造—ゼラチン加フルオレセイン静注・固定網膜伸展標本による観察および三次元的再構築による形態学的検討—. *Therapeutic Research* 11: 74-79, 1990.
- 12) 浜田 陽: 悪性高血圧自然発症ラット (M-SHRSP) における網膜細動脈瘤の電子顕微鏡的観察ならびに蛍光眼底所見の検討. *Therapeutic Research* 11: 3416-3421, 1990.
- 13) 浜田 陽: 悪性高血圧ラットの網膜細動脈における狭細, 口径不同所見の電顕的観察. *眼紀* 42: 1195-1199, 1991.
- 14) Leishmann R: The eye in general vascular disease-Hypertension and arteriosclerosis. *Br J Ophthalmol* 41: 641-701, 1957.
- 15) 松山秀一: 主な高血圧性眼底病変の病態と意義. 1. 網膜細動脈の狭細, 2. 網膜細動脈の反射亢進. 入野田公穂, 他(編): *眼科 Mook*, 6, 高血圧と眼. 金原出版, 東京, 44-61, 1979.