

実験的虹彩新生血管発生に対する瘢痕化汎網膜光凝固の抑制効果

西川 睦彦, 伊東 滋雄, 戸倉 敬雄, 三木 弘彦

関西医科大学眼科学教室

要 約

我々は、猿眼で実験的に網膜の主幹動静脈の閉塞と低眼圧の持続により虹彩新生血管を発生させることができた。さらに、汎網膜光凝固が虹彩新生血管の発育に抑制効果があることも確証した。本報では、予め汎網膜光凝固を行い、その1か月後に凝固部網膜が瘢痕化してから虹彩新生血管発生の処置を行い、虹彩に及ぼす影響を臨床的および組織学的に観察した。処置後5日に、虹彩ルベオシスの発生をみたが、14日には消退した。14日の組織所見では、虹彩前面の表層近くの血管が前房側に突出しており、有窓型で新生血管の特徴を有していた。しかし、光凝固処置を行わなかった虹彩にできた新生血管の内皮細胞は活性があったのに対して、今回にみられた新生血管の内皮細胞は扁平で、成熟血管に近いものであった。網膜の瘢痕化状態は、新生血管の発生を完全には抑制しないことがわかった。(日眼会誌 97:913-919, 1993)

キーワード: 虹彩ルベオシス, 虹彩新生血管, 眼内新生血管, 網膜光凝固, 網膜瘢痕

Inhibitory Effect of Prior Panretinal Photocoagulation on Experimental Iris Neovascularization

Mutsuhiko Nishikawa, Shigeo Ito, Takao Tokura and Hirohiko Miki

Department of Ophthalmology, Kansai Medical University

Abstract

We could produce iris neovascularization experimentally in rhesus monkey eyes, by occlusion of the major retinal vessels of the retina and persistent ocular hypotony. We confirmed that panretinal photocoagulation inhibits development of iris neovascularization. We evaluated the effect of panretinal photocoagulation one month before occlusion of major retinal vessels with secondary iris neovascularization in 3 monkey eyes. Rubeosis iridis appeared on day 5 and disappeared on day 14 after retinal vessel occlusion. Histologically, the newly formed vessels near the iris surface showed fenestrations and protruded into the anterior chamber. The endothelial cells were flat and similar to matured vessels. These findings were in sharp contrast to our previous experiments with panretinal photocoagulation after rubeosis iridis became manifest. The findings also showed that retinal scarring by preceding panretinal photocoagulation did not completely inhibit the iris neovascularization. (J Jpn Ophthalmol Soc 97: 913-919, 1993)

Key words: Rubeosis iridis, Iris neovascularization, Intraocular neovascularization, Retinal photocoagulation, Retinal scarring

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10月19日受付, 平成5年3月26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 October 19, 1992 and accepted in revised form March 26, 1993)

I 緒 言

虹彩新生血管の発生予防および退縮には、虚血部網膜に対する光凝固が有効であることが臨床的に知られている^{1)~3)}。我々は、先に実験的に汎網膜光凝固が虹彩新生血管の発生を抑制することを報告した⁴⁾。しかし、糖尿病網膜症では汎網膜光凝固が十分に行われていても、虹彩新生血管を発生することがある⁵⁾。今回我々は、実験的に予め汎網膜光凝固を行って網膜を広汎に瘢痕化させてから、虹彩ルベオシス発生の処置を行って、実験的虹彩新生血管の発生の状態を臨床的および組織学的に検討した。

II 方 法

実験動物には、体重1.5 kgから2.5 kgのカニクイ猿3匹3眼を用いた。ミドリンP®にて十分な散瞳を行い、塩酸ケタミン(ケタラル®) 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 μ m、時間0.5秒で約1,000発の網膜広汎光凝固を行った。1か月後に凝固斑が瘢痕してから(図1)、既報⁴⁾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離れて、10時の毛様体扁平部の強膜を尖刃刀にて3 mm切開した。創孔からマイクロ波凝固装置のチップを眼内に挿入し、後極用硝子体コンタクトレンズを角膜上に装着させて、直視下に網膜の上下主幹動静脈を凝固閉塞した。さらに、毛様体扁平部の強膜創を開放

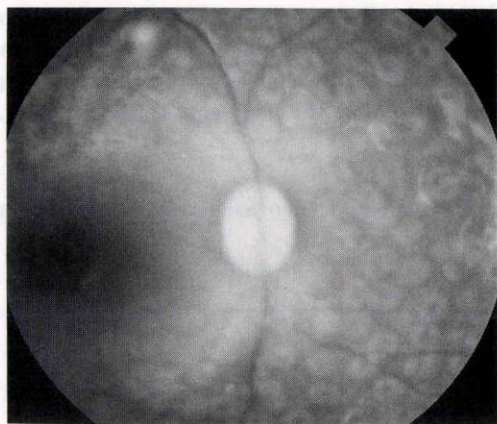


図1 光凝固1か月後の瘢痕化した凝固網膜。

した状態で、球結膜創のみ縫合した。

処置後、虹彩ルベオシスの発生を細隙灯顕微鏡検査、前眼部撮影、虹彩蛍光造影で臨床的観察を行った。また、処置後14日に眼球摘出し、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、プロピレンオキサイドに置換後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光学顕微鏡で観察した。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

網膜広汎光凝固後1か月の虹彩には、何ら変化をみなかった。その後、虹彩ルベオシスの発生処置を行うと3匹3眼のいずれにも処置後3日には、虹彩表面に赤くみえる血管が出現した。5日には著明な虹彩ルベオシスが観察できた。7日では、5日に比べると増強はみられず、14日になると赤くみえていた血管は退色し、虹彩表面に突出していた血管はみられなくなった(図2)。虹彩蛍光造影では、ルベオシスが著明にみられた5日に異常血管からの漏出がみられた(図3)。その後には、血管外漏出も消退した。

2. 組織所見

一般に正常虹彩の前境界層は線維芽細胞やメラニン細胞で密接に覆われているが、処置後14日の光学顕微鏡所見では、虹彩表面から血管が直接突出していて、虹彩実質内の血管は拡張し、血管腔は血球で充満していた(図4A, B)。また、実質内の血管周囲にはリンパ球や形質細胞が軽度観察された。また、これらの虹彩表面に突出した血管を電子顕微鏡で観察すると、血管内皮細胞の胞体はおよそ50 nm前後と薄く、fenestrationがみられた(図5A, B)。しかし、ミトコンドリアや粗面小胞体などの細胞内小器官はあまりみられなかった(図5C)。一方、実質内の血管は拡張していたが、血管壁の管腔面を内皮細胞のcytoplasmが連続性を保っており(図6A)、tight junctionは明瞭であった(図6B)。

IV 考 按

増殖型糖尿病網膜症や網膜中心静脈閉塞症などの虚

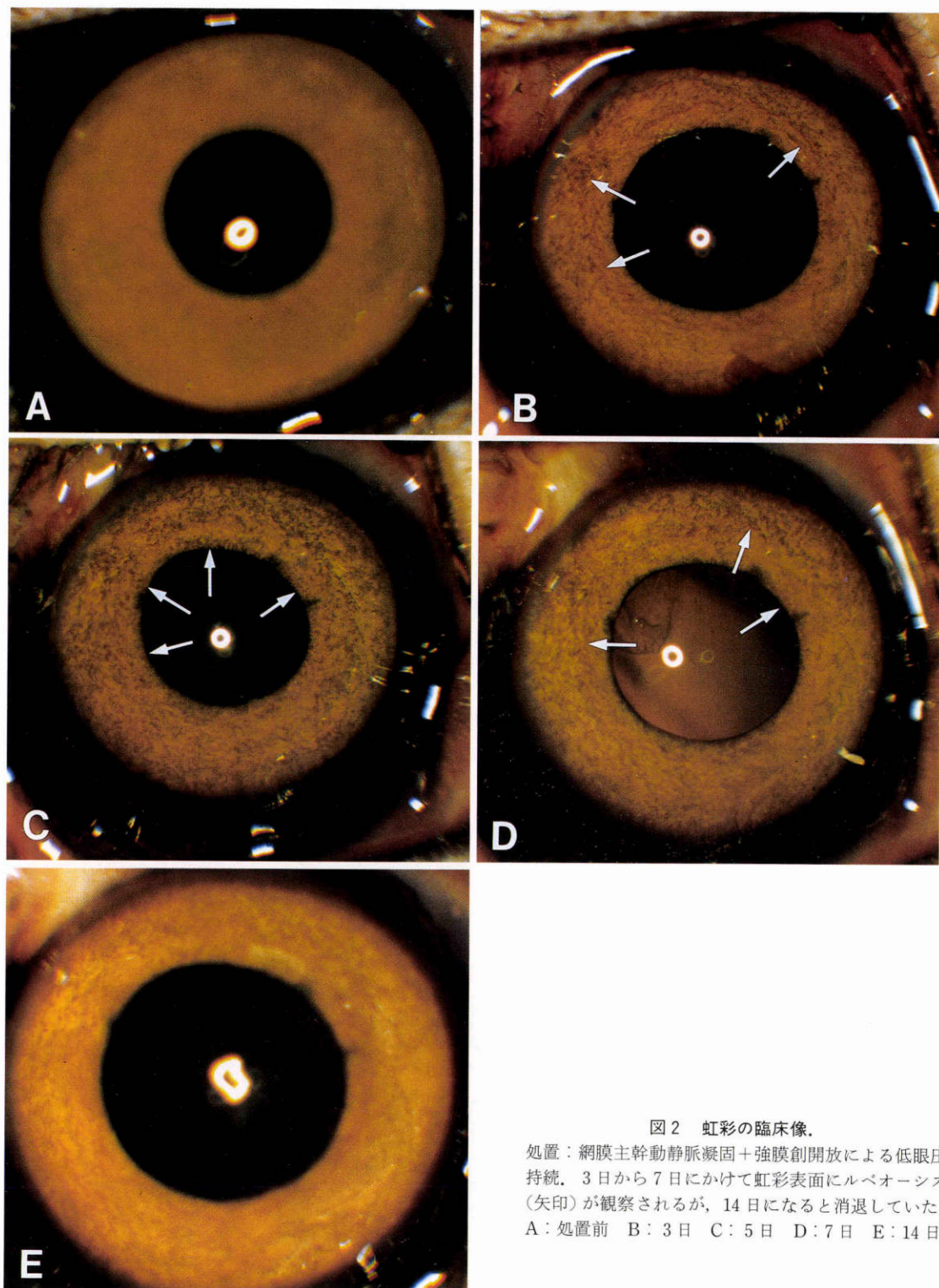


図2 虹彩の臨床像。

処置：網膜主幹動静脈凝固＋強膜創開放による低眼圧持続。3日から7日にかけて虹彩表面にルベオシス（矢印）が観察されるが、14日になると消退していた。
A：処置前 B：3日 C：5日 D：7日 E：14日

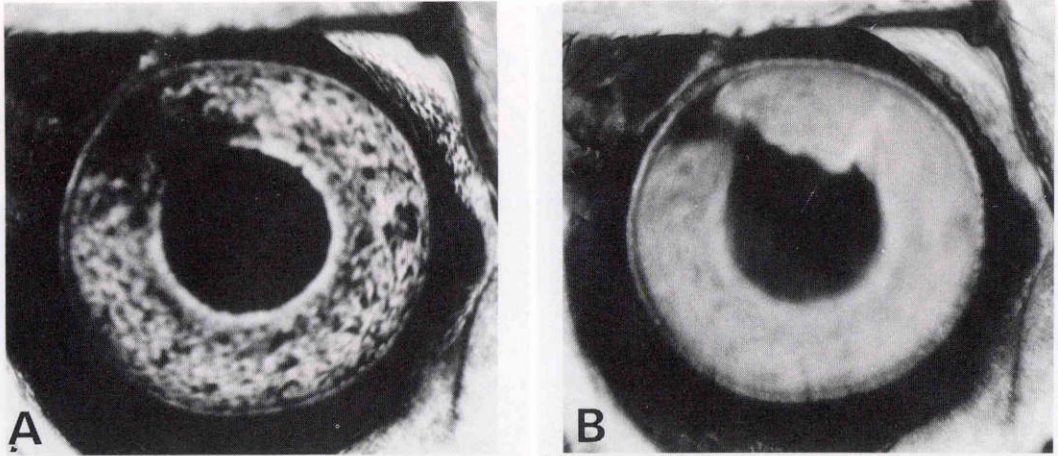


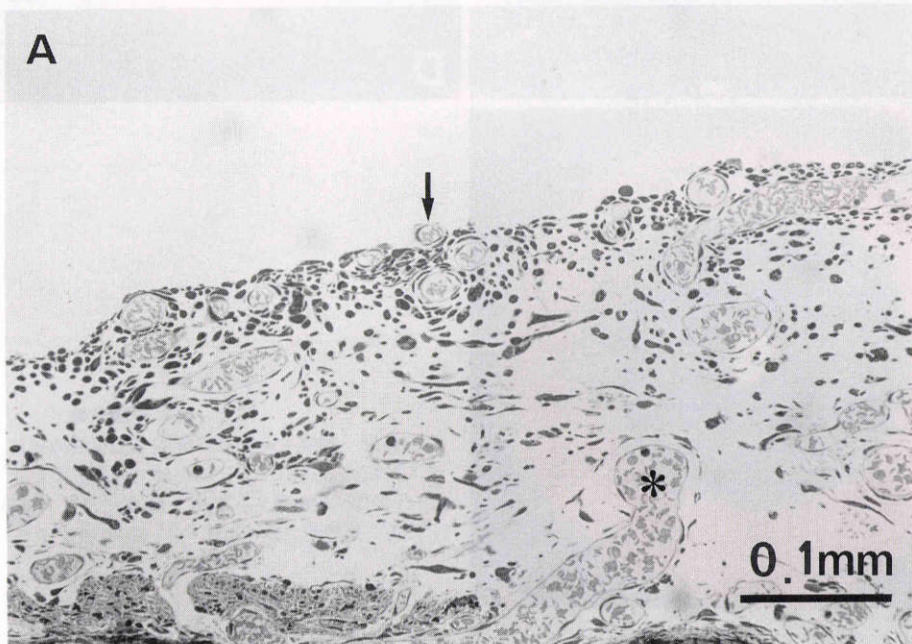
図3 処置後5日の虹彩の蛍光造影像。

A: 10秒, B: 70秒. 瞳孔縁および虹彩実質の血管から蛍光色素の漏出がみられる。

血性の網膜疾患での眼内新生血管の発生抑制および治療に光凝固が有効である。また、虹彩新生血管や血管新生緑内障に汎網膜光凝固が有効であり^{1)~3)}、前報で実験的にその有効性を報告した⁴⁾。

最近、臨床的に糖尿病網膜症などで十分な汎網膜光凝固が行われているにも、虹彩新生血管が発生することが報告されている⁵⁾。また、糖尿病網膜症の硝子体手術後に虹彩ルペオオーシスの発生もよく経験する。今回、

我々は予め汎網膜光凝固を通常より密に行い、その1か月後、網膜が瘢痕化してから虹彩新生血管を発生させる実験を行った。既報⁴⁾⁶⁾の実験の組織所見と比較するため、新生血管発生処置後14日の組織所見を観察した。結果は、汎網膜光凝固にもかかわらず、臨床的に虹彩ルペオオーシス、組織的に虹彩新生血管が発生した。この新生血管を網膜光凝固を行わなかった対照群⁶⁾と比較すると虹彩面上に突出して観察されたが、



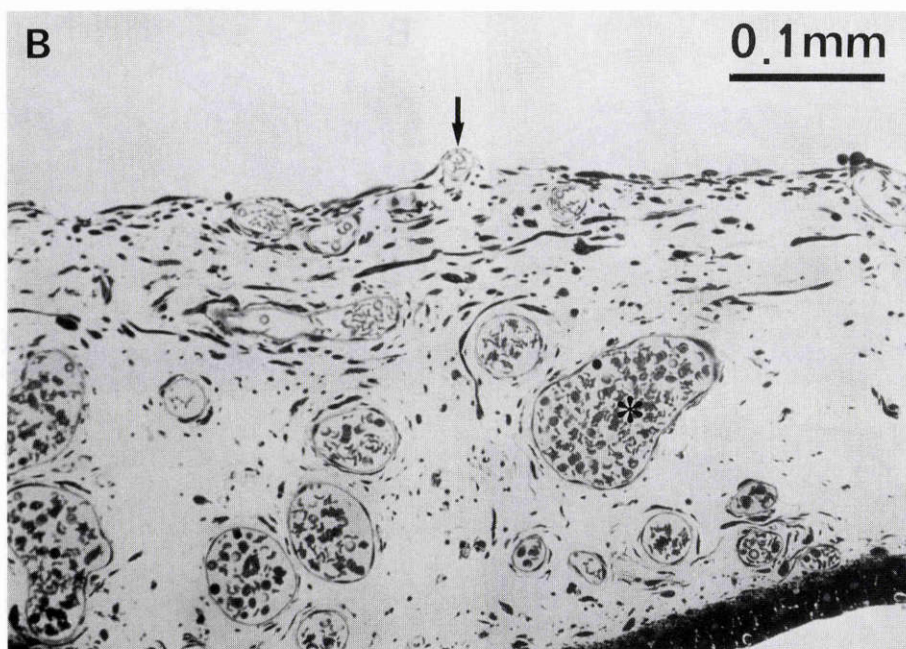


図4 処置後14日の虹彩の光学顕微鏡像。

A: 瞳孔縁の虹彩 (トルイジンブルー染色), B: 周辺部の虹彩 (トルイジンブルー染色). 矢印: 虹彩ルペオオシス, *印: 血球で充満し, 拡張している実質内血管, A, Bともに虹彩表面からの突出血管を示す.

表面はメラノサイトや線維芽細胞に覆われていた。しかし、この血管内皮細胞には fenestration があった。Nork ら⁷⁾の実験では、水晶体切除、硝子体手術後に3本の網膜主幹静脈を閉塞させて5日に虹彩ルペオオシスをみたとしている。この時、壁の薄い血管が虹彩前境界層下にあり、電子顕微鏡所見で fenestration を持つことから新生血管であるとしている。このように、我々も前2報⁴⁾⁶⁾から虹彩新生血管は fenestration を持つこと、既存の血管群は fenestration を持たないことを確認している。それで、本報でみられた血管を新生血管と判断した。ただ、この虹彩新生血管の内皮細胞は細胞内小器官に乏しく、活性が弱いと考えられた。また、内皮細胞の形態は実質内の既存の血管の内皮細胞に類似していた。これは、網膜の瘢痕化が新生血管の発生に、ある程度抑制的に働いていると思われた。

Weiter ら⁸⁾は網膜における酸素消費の2/3は視細胞と網膜色素上皮細胞にあるので、これらの細胞を光凝固すれば網膜内層の酸素密度が上昇して網膜虚血が改善されると述べている。また、Glaser ら⁹⁾によれば、網膜色素上皮細胞は脈絡膜と網膜外層の barrier とし

てあり、光凝固などにより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。さらに、Glaser¹⁰⁾は、以前は光凝固により血管新生因子を産生する細胞を破壊して抑制効果を発生するとしていた。しかし、新しい知見としては、新生血管は網膜とその近接組織の細胞から分泌される細胞外調節因子の減少によって起きると考えられ、汎網膜光凝固が細胞外調節因子を変化させ、瘢痕化された線維芽細胞、星状膠細胞、網膜色素上皮細胞から血管新生抑制因子の放出があると述べている。

今回の我々の実験では、予め行われた汎網膜光凝固により網膜色素上皮細胞などから何らかの血管新生抑制因子が放出されていたと考えられる。しかし、網膜血管の動静脈閉塞による網膜虚血を作成したことにより、新たに血管新生因子が放出され、血管新生増殖因子が抑制因子にまさり新生血管が発生したものと考えられた。前報の実験⁴⁾では、網膜血管の主幹動静脈閉塞と同時に光凝固を行うと、既存の虹彩血管の拡張はあったが真の新生血管をみなかった。しかし、今回の実験では網膜光凝固後、時間が経ち網膜の瘢痕化が完

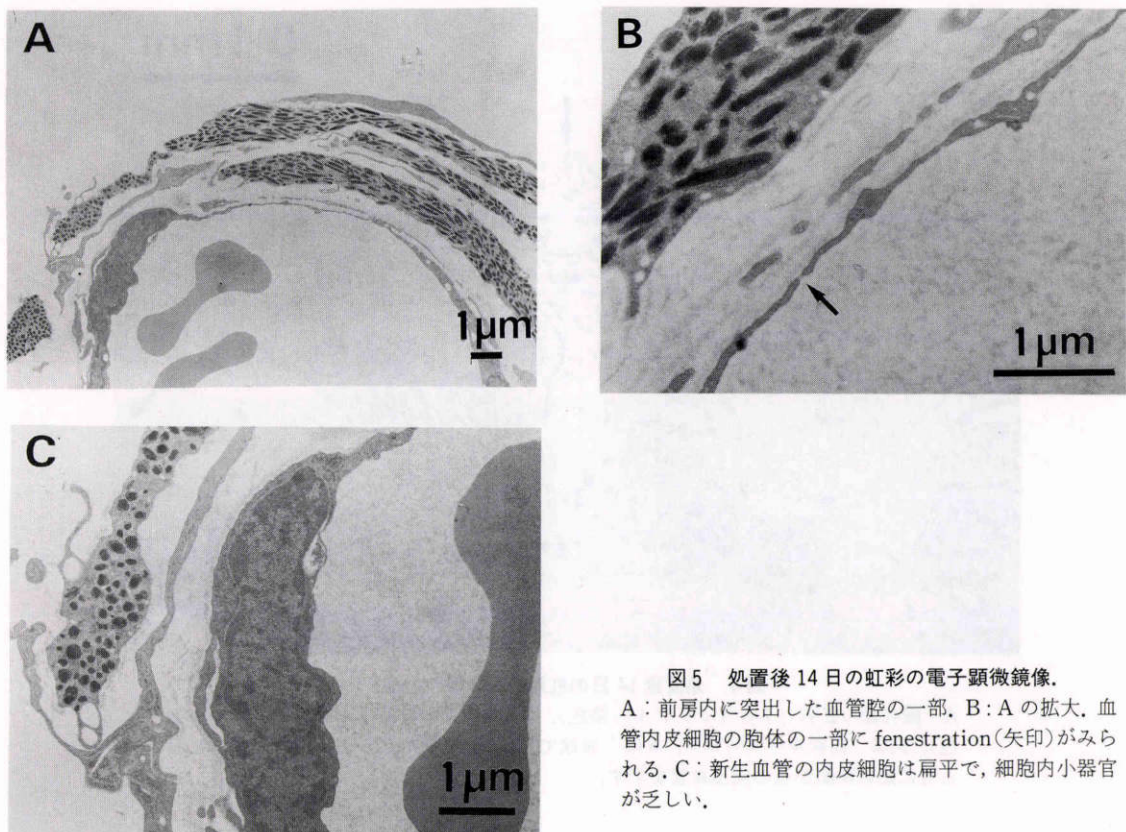


図5 処置後14日の虹彩の電子顕微鏡像。

A: 前房内に突出した血管腔の一部, B: Aの拡大, 血管内皮細胞の胞体の一部に fenestration (矢印) がみられる, C: 新生血管の内皮細胞は扁平で, 細胞内小器官が乏しい。

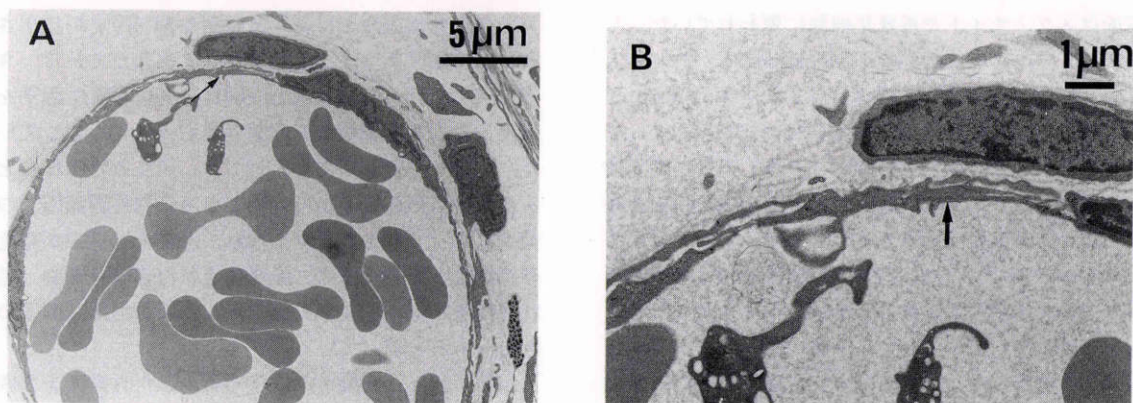


図6 処置後14日の虹彩実質内の血管の電子顕微鏡像。

A: 虹彩実質内の血管では, 壁の管腔面を内皮細胞の cytoplasm が連続性を保つ, B: Aの拡大, tight junction (矢印) は明瞭である。

成した時点においても虹彩新生血管の発生は完全には抑制できなかった。ただ, その新生血管の発生は軽く, 網膜光凝固はある程度有効であった。

これらのことから, 臨床的に汎網膜光凝固が完成し

ていても, 光凝固と網膜の虚血性変化に時間的ずれがあると虹彩新生血管が発生し得ることがわかった。その予防または治療には反復して光凝固を行うことが必要と思われた。また, 汎網膜光凝固は赤道部から周辺

部にかけては光凝固が不十分であることも多く、この場合には完全な効果は期待しにくいと思われた。

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します。

本論文の要旨は、第96回日本眼科学会総会(平成4年5月、横浜)において西川が報告した。

文 献

- 1) **Tasman W, Magargal LE, Augsburger JJ**: Effects of argon laser photocoagulation on rubeosis iridis and angle neovascularization. *Ophthalmology* 87: 400—402, 1980.
- 2) **Duker JS, Brown GC**: The efficacy of panretinal photocoagulation for neovascularization of the iris after central retinal artery obstruction. *Ophthalmology* 96: 92—95, 1989.
- 3) **Murdoch IE, Rosen PH, Shilling JS**: Neovascular response in ischaemic central retinal vein occlusion after panretinal photocoagulation. *Br J Ophthalmol* 75: 459—461, 1991.

- 4) **西川睦彦, 伊東滋雄, 戸倉敬雄, 山根淳志, 三木弘彦**: 実験的虹彩新生血管発生に対する網膜広汎光凝固の効果. *日眼会誌* 96: 1085—1092, 1992.
- 5) **Vander JF, Brown GC, Benson WE**: Iris neovascularization after central retinal artery obstruction despite previous panretinal photocoagulation for diabetic retinopathy. *Am J Ophthalmol* 109: 464—468, 1990.
- 6) **西川睦彦, 伊東滋雄, 戸倉敬雄, 山根淳志, 三木弘彦**: 虹彩ルペオオーシ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.
- 7) **Nork TM, Tso MOM, Duvall J, Hayreh SS**: Cellular mechanism of iris neovascularization secondary to retinal vein occlusion. *Arch Ophthalmol* 107: 581—586, 1989.
- 8) **Weiter JJ, Zuckerman R**: The influence of the photoreceptor-RPE complex on the inner retina. *Ophthalmology* 87: 1133—1139, 1980.
- 9) **Glaser BM, Campochiaro PA, Davis JL, Sato M**: Retinal pigment epithelial cells release an inhibitor of neovascularization. *Arch Ophthalmol* 103: 1870—1875, 1985.
- 10) **Glaser BM**: Extracellular modulating factors and the control of intraocular neovascularization. *Arch Ophthalmol* 106: 603—607, 1988.