

## 学 位 論 文 の 要 旨

学位の種類	博 士	氏 名	和田 剛成
<p style="text-align: center;">学 位 論 文 題 目</p> <p style="text-align: center;">Longitudinal Changes in Retinal Blood Flow in a Feline Retinal Vein Occlusion Model as Measured by Doppler Optical Coherence Tomography and Optical Coherence Tomography Angiography</p> <p style="text-align: center;">(ドップラ光干渉断層計と光干渉断層血管撮影を用いて測定した ネコ網膜静脈閉塞モデルにおける網膜血流の経時的変化)</p> <p style="text-align: center;">共 著 者 名</p> <p style="text-align: center;">宋勇錫、大前恒明、十川健司、善岡尊文、中林征吾、 高橋賢伍、谷智文、石羽澤明弘、石子智士、吉田晃敏</p> <p style="text-align: center;"><i>Investigative Ophthalmology &amp; Visual Science</i> 2020; 61 (2): 34.</p> <p style="text-align: center;">研 究 目 的</p> <p>網膜静脈閉塞症 (RVO) は、糖尿病網膜症に次いで世界で 2 番目に多い網膜血管疾患であり、視機能障害の重要な原因疾患である。慢性期には様々な網膜血管異常が生じることが報告されているが、その病態は未だ完全には解明されておらず、特に発症前後における網膜血流量の変化や微小血管の経時的な形態変化についての詳細は不明である。臨床的に発症前後での血流変化の計測は困難であるが、網膜静脈分枝閉塞動物モデルは機能的、構造的に網膜静脈分枝閉塞症に類似しており病態解明に有用と考えられる。りまた、近年の検査機器の進歩により、網膜血流量の絶対値の測定や、詳細な毛細血管の形態評価が非侵襲的にできるようになった。</p> <p>そこで本研究では、アルゴンレーザーを用いてネコ RVO モデルを作成し、静脈閉塞前後の網膜血流量と微小血管の形態変化を、ドップラ光干渉断層血流計(DOCT)と光干渉断層血管撮影(OCTA)を用いて、2 週間経時的に観察した。</p> <p style="text-align: center;">材 料 ・ 方 法</p> <p>1. 実験動物</p> <p>実験には成ネコ 6 匹 (体重 2.3-3.6kg) を用いた。ケタミン塩酸塩 5mg/kg と塩酸メデトミジン 0.2mg/kg の筋肉内注射にて非動化し実験を行った。実験中は、平均血圧、心拍数、経皮</p>			

酸素飽和度を継続的にモニターし、体温は直腸温が 37～38 度になるように維持した。網膜血流測定の前・後で眼圧を測定し、眼灌流圧は、平均血圧と眼圧から算出した。(参考論文 1)

## 2. 実験プロトコル

網膜血流と毛細血管構造を DOCT と OCTA を用いて、RVO 作成前 (ベースライン)、レーザー直後、閉塞 1、4、7、14 日目に測定した。

## 3. レーザー光凝固による RVO 作成

アルゴンレーザーを網膜静脈の上耳側分枝に照射して作成した。

## 4. 網膜血流量測定

DOCT を用いて、耳側網膜血管の上方の第一分枝で血管径、血流速度、網膜血流量を測定した。(参考論文 2)

## 5. 網膜微小血管撮影

OCTA (DRI OCT Triton; Topcon Corp.) を用いて内境界膜から網膜色素上皮層までの網膜全層の網膜微小血管を、閉塞部位を中心に 12 x 12 ミリ、閉塞部位の近傍で 3 x 3 ミリの範囲で撮影した。

## 6. 網膜厚計測

OCT 画像を用いて、閉塞部位の近位側・隣接部・遠位側の 3 箇所を網膜厚を計測した。

## 7. 統計学的処理

2 群間の比較には Wilcoxon signed-rank test を行った。網膜血流変化はベースラインからのパーセント変化量として計算し、反復分散分析 (one-way ANOVA for repeated measurements) を行った。危険率 5%未満を統計学的有意とした。

## 成 績

### 1. 全身及び眼パラメーターへの影響

観察期間を通じて平均血圧、心拍数、経皮酸素飽和度、眼圧、眼灌流圧に有意な差はなかった。

### 2. RVO 作成後の網膜血流変化

#### a) 動脈血流の変化

閉塞 1 日目には血管径 ( $120.6 \pm 5.3\%$ ,  $P = 0.04$ )、血流量 ( $160.6 \pm 8.6\%$ ,  $P < 0.001$ ) が有意に増加した。血流速度も増加傾向であったが統計学的な有意差はなかった ( $117.0 \pm 6.0\%$ ,  $P = 0.11$ )。その後 4 日目からは血管径、血流速度、血流量は減少に転じ、ベースライン血流量 (RVO 作成前) よりも減少した ( $P < 0.05$ )。

#### b) 静脈血流の変化

静脈血流は閉塞直後から減少し ( $17.4 \pm 9.6\%$ ,  $P = 0.001$ )、その後徐々に増加していったが、最終的にベースライン血流量まで戻らなかった。

### 3. 網膜微小血管構造変化

発症直後から閉塞 1 日目にかけて毛細血管網、静脈血管の著明な拡張を認め、4 日目から閉塞部の中樞側と末梢側を結ぶ側副血管が形成され始め、14 日目までにかけて徐々に完成されていった。

### 4. 網膜厚変化

閉塞直後と 1 日目に、3 ヶ所全ての測定部位の網膜厚が有意に増加した。4 日目には、各測定部位の網膜厚は減少し始め、14 日目には RVO 作成前と同程度に戻った。

## 考 案

本研究の RVO モデルは、過去の RVO 動物モデルについてまとめた報告で示されているのと同様に、<sup>1)</sup> 血流の途絶、静脈拡張、充血、および閉塞部位の遠位の血管蛇行を含む、典型的な網膜静脈閉塞症の所見を示している。また網膜出血や浮腫を示しており、RVO の急性期を研究するのに適したモデルであると考えられる。

動脈血流量が増加すると同時に網膜血管が拡張し始め、側副血行路が形成され始めると動脈血流量が低下し、対して静脈血流量は増加し始めた。閉塞後の動脈血流量と静脈血流量の差が毛細血管ネットワークを物理的および生理的に拡張して、側副血管の形成をもたらすと考えられた。

網膜厚と動脈血流量は共に閉塞 1 日目にピークに達し、4 日目から減少に転じている。過去のマウス RVO モデルの研究では、網膜における VEGF-A の発現がレーザー光凝固 12 時間後に増加し、抗 VEGF 抗体の硝子体内投与による嚢胞性浮腫の増加を抑制することが示されている。<sup>2)</sup> また、以前の報告では、一酸化窒素による微小血管の拡張と VEGF やその他の生理活性物質による血管透過性の亢進により、網膜浮腫と網膜動脈血流は密接に関連していると報告されている。<sup>3)</sup> これらの事から、網膜浮腫の発生時に動脈血流が増加していることが推測される。

本研究では硝子体中の生理活性物質を測定しておらず、網膜血流量と側副血行路形成、網膜厚の変化に関する詳細なメカニズムは不明である。今後、一酸化窒素や VEGF を阻害した動物実験などの更なる研究が必要である。

## 結 論

1. 網膜静脈にアルゴンレーザーを照射してネコ RVO モデルを作成した。
2. 動脈血流は、閉塞 1 日目に増加し、その後減少していくことが判明した。

3. 静脈血流は、閉塞直後に速やかに減少し、閉塞 1 日目から徐々に増加していくことが判明した。
4. 動脈・静脈血流とも、2 週間後には RVO 作成前より減少することが判明した。
5. 側副血行路は元々存在していた毛細血管網が拡張して形成されることを確認した。
6. 臨床的に RVO の発症前後で網膜血流を測定するのは困難だが、ネコ RVO モデルでは閉塞前から測定することが可能であり、RVO の病態解明に役立つと考えられた。

#### 引用文献

1. Khayat M, Lois N, Williams M, Stitt AW. Animal models of retinal vein occlusion. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2017; 58: 6175–6192.
2. Fuma S, Nishinaka A, Inoue Y, et al. A pharmacological approach in newly established retinal vein occlusion model. *Sci Rep*. 2017; 7: 43509.
3. Noma H, Mimura T, Eguchi S. Association of inflammatory factors with macular edema in branch retinal vein occlusion. *JAMA Ophthalmol*. 2013; 131: 160–165.

#### 参考文献

1. Song Y, Nagaoka T, Yoshioka T, et al. Glial Endothelin-1 Regulates Retinal Blood Flow During Hyperoxia in Cats. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2016; 57(11): 4962-4969.
2. Tani T, Takahashi A, Nagaoka T, Yoshida A. Abnormality of retinal arterial velocity profiles using Doppler Fourier-domain optical coherence tomography in a case of Takayasu's arteritis with aortic regurgitation. *Am J Ophthalmol Case Rep*. 2016; 5: 134-136.