

レーザースペックルフローグラフィを用いた糖尿病網膜症、
網膜静脈分枝閉塞症、加齢黄斑変性における治療介入前後の
眼血流評価と新パラメータ Relative flow volume の有用性

東北大学大学院医学系研究科外科学専攻

(感覚器病態学講座眼科学分野)

新田 文彦

目次

1. 要約.....	p3
2. 研究背景.....	p4
3. 研究目的.....	p9
4. 研究方法.....	p10
5. 研究結果.....	p18
6. 考察.....	p21
7. 結論.....	p29
8. 謝辞.....	p30
9. 文献.....	p31
10. 図.....	p46
11. 表.....	p61
12. 略語集.....	p 64

1. 要約

網膜疾患における眼血流の観察は、その病態を理解する上で重要とされてきたが、これまで簡便かつ非侵襲的に計測する検査機器が存在しなかった。近年、レーザースペックルフローグラフィが登場し、眼血流を mean blur rate (MBR) として捉え評価解析が可能となった。本研究では、①糖尿病網膜症、網膜静脈分枝閉塞症、加齢黄斑変性症眼における治療前後の眼血流 MBR 変化を評価、さらに、②網膜血管と背景である脈絡膜の双方の影響を受けている網膜血管上の MBR から網膜血管周囲の脈絡膜の MBR を減算した新しいパラメータ Relative flow volume (RFV) の有用性を検討した。網膜静脈分枝閉塞症患者ではベバシズマブ硝子体注射施行後に脈絡膜でのみ血流低下を認めたのに対し、糖尿病網膜症患者では網膜動静脈、視神経乳頭、脈絡膜とすべての計測部位で有意な血流低下を認めた。ベバシズマブ硝子体注射施行前の視神経乳頭 MBR 値が施行後の網膜中心窩厚の予測因子になることが判明した。さらに、光線力学療法施行後の加齢黄斑変性症患者では照射野の脈絡膜血流が大幅に低下することが確認できた。さらに、網膜静脈分岐前の RFV は分岐後の 2 本の RFV の和に相関し、レーザードップラー血流速度計にて計測した血流量と流速にも高い相関を認めた。

2. 研究背景

糖尿病網膜症 (diabetic retinopathy: DR)、網膜静脈分枝閉塞症 (branch retinal vein occlusion: BRVO)、加齢黄斑変性症 (age-related macular degeneration: AMD) など多くの網膜疾患では眼血流の変化がその病態に深く関わっていることが明らかになっている。^{1) -4)} しかしながら、これまで眼血流測定は非侵襲的に簡便に測定することが不可能であり、各病態において治療介入を行った場合を含め、その血流動態は明らかになっていない。

DR や BRVO では黄斑浮腫が視力低下の重要な原因のひとつである。^{5) -8)} それに対し抗血管内皮細胞増殖因子 (Vascular endothelial growth factor: VEGF) 抗体であるベバシズマブ硝子体注射 (intravitreal bevacizumab: IVB) がもっとも有用な治療の一つとされている。^{9) -12)} その機序は一時的ではあるがベバシズマブが VEGF をブロックすることで黄斑浮腫を軽減し、その結果として視力改善効果が得られるとされている。しかしながら VEGF は本来、一定量存在する生理的なサイトカインで、生体内で血管弛緩作用を持つ一酸化窒素 (Nitric oxide: NO) の生成にも関与しているため^{13) 14)}、外科領域で行われている抗 VEGF 抗体の全身投与では高血圧を誘引するとの報告もある。^{15) 16)} また、動物実験では抗 VEGF 抗体療法後に脈絡膜毛細血管内皮の有窓構造が減少するなど多くの臓器で血管構造に異常が惹起されることも報告されている。^{17) 18)} このことから IVB 介入でも眼血流変化が起きていると予測でき、特に網膜中心静脈閉塞症患者や糖尿病、虚血性心疾患、脳疾患のような基礎

疾患を有する患者では IVB が視力予後にかえって悪影響を及ぼす可能性も考えられる。^{19) 20)} しかし、これまでに眼底血流自体に注目した報告はなく、眼球全体の血流低下、全身的な血流低下を報告したものがわずかにある程度である。^{21) 22)} また DR や BRVO 由来の黄斑浮腫 (Diabetic macular edema: DME、Branch retinal vein occlusion associated macular edema: BRVOME) の場合、しばしば効果が不十分なことや繰り返し IVB が必要となる場合も多々経験する。^{12) 23)-25)} このような効果が不十分な症例が存在する理由は未だ不明で、かつ IVB がどのようにして黄斑浮腫を改善させるのかの機序も正確には分かっていない。

次に AMD では PDT が 2000 年に開発され、本邦でも 2004 年から数多くの症例になされてきた。^{26) 27)} AMD の中でもポリープ状脈絡膜血管症 (polypoidal choroidal vasculopathy: PCV) と分類される疾患では特に有用性が高く、現在でも第一選択とする場合も多い。^{28) 29)} 一方で、PDT の合併症は網膜下出血や長期的には脈絡膜萎縮なども挙げられ、PDT 施行後インドシアニングリーン眼底造影検査 (indocyanine green angiography: IA) にて照射野の脈絡毛細管枝の軽度閉塞と脈絡膜血流の低下も確認されている。^{30) 31)} しかしながら、IA ではその血流低下を定性的に評価するに留まるため、PDT 後の眼循環への影響はこれまで定量的な評価が困難であった。現在、眼血流の評価には日常診療ではフルオロセイン蛍光眼底造影検査 (Fluorescein angiography: FA) と IA が頻用されてきた。しかし、これらはアナフィラキシーショックなど含めた重篤な合併症を招く可能性があるなど侵襲的で、検者、被検者共

に時間的、肉体的、精神的負担もかかるため頻回に行うことは現実的にできないことも多い。また先ほど述べたようにあくまで定性的評価に留まり、定量するための計測方法もあるものの限界があるとされている。^{32) -34)}その他にもブルーフィールド内視現象試験、レーザードップラー血流速度計 (laser doppler velocimetry: LDV) など網膜血流を計測する機器はこれまでも多々あるが、いずれも何らかの欠点が存在する。その欠点とはブルーフィールド内視現象試験ではその計測範囲は非常に狭く、黄斑部に限られている。^{35) -37)}眼底カメラも併用した LDV では網膜血管の血流量を絶対値として計測することは可能だが、比較的計測時間は長く、対象患者のコンプライアンスによっては計測できないことも多々ある。^{38) -40)}近年、網膜血流を計測することができる Doppler fourier domain-optical coherence tomography (FD-OCT) が登場した。^{41) -44)}この機器では網膜血流を絶対値として求めることができるが⁴⁵⁾⁴⁶⁾、現在までのところ市販はされていないため使用できない状況である。

近年、これらに代わる検査機器として眼底の組織血流の変化を簡便かつ迅速に計測することができるレーザースペckルフローグラフィ (laser speckle flow graphy: LSF) が登場した。^{47) 48)}LSFG の原理は既報に記述された通りであるが⁴⁹⁾、その原理を簡潔に説明する。LSFG はダイオードレーザー (波長 830nm) 照射機能と解像度 750 (W) × 360 (H) Pixel の Charge Coupled Device (CCD) イメージセンサーを装備した眼底カメラである。このカメラでは眼底にレーザーを照射することで、眼底の赤血球の動態により生じるレーザーの散乱光同士の干渉から得られるス

ペックルパターンのコントラスト変化を捉えることができる。LSFGの主要パラメータである mean blur rate (MBR) は任意単位 (arbitrary units: AU) で血流速度を反映しているとされるが、中間透光体の状態などに大きく影響を受けるためにあくまで相対値とみなされてきた。^{50) -52)} しかし、MBRは水素クリアランス法やマイクロスフェア法、LDVといった絶対値である血流量、流速を計測できる検査機器との相関が高いことから一定の条件下ならば血流量、流速を反映していると考えられている。^{53) -57)} さらに最近、MBRと水素クリアランス法から得た血流量が白色家兎と有色家兎間といった色素量の相違や有色家兎の正常モデルと視神経委縮モデル間といった異なる条件下においても相関が高いことを我々は報告している。⁵⁸⁾ つまり視神経乳頭に限れば人種間や罹病歴に関わらず MBRは血流量を反映していて、単純に個体間比較できる可能性が示唆される。一方で、網膜血管、網膜組織上のスペックルパターンは、網膜由来の赤血球の速度だけではなく、その背景に位置する脈絡膜由来の血流の影響も受けていることがわかっている。^{56) 59)} 網膜組織 MBRは、網膜組織血流由来が8%であるのに対し、背景の脈絡膜血流由来が92%という報告から、主に背景の脈絡膜血流を観察していることがわかる。⁵⁹⁾ そのため網膜血管血流でも MBRよりも正確に網膜血管血流を計測するためには背景の脈絡膜血流の影響を除外できる新しい指標が必要と考えられた。Relative flow volume (RFV) は、LSFGに付属するソフトウェア (LSFGアナライザー、V3.1.6:ソフトケア、福津、日本) により計測できる新パラメータである。RFVは、中心に位置する網膜血管の血流速度と血管径を反

映した血流全体の面積から背景である脈絡膜の血流を減算した値で、網膜血流を MBR より正確に評価している可能性が考えられる。RFV の機序を図. 1 に提示する。網膜血管と背景血流である脈絡膜間の敷居の MBR 値 ($MBR_{threshold}$) は以下の計算式より求めることができる。

$$MBR_{threshold} = \{Max[f(x)] - offset\} \cdot 1/e + offset$$

*ソフトケア社より引用

$f(x)$ は網膜血管の断面積の MBR 分布を、 $offset$ は血管領域外の MBR を、 e は自然対数に基づく数学定数をそれぞれ示す。

次に RFV は図. 1 のように網膜血管領域の幅を $MBR_{threshold}$ から m から n 間と決定し、以下の公式で求めることができる。

$$RFV = \int_n^m [f(x) - offset] dx$$

*ソフトケア社より引用

このような計算式から生まれた RFV は MBR よりも網膜血管血流を正確に表しているかと推測できる。しかしながら、これまでのところ RFV が網膜血流量、流速をどの程度反映しているか、またその再現性などに関する報告はない。

3. 研究目的

本研究では3つの研究目的を掲げる。第一に、DMEとBRVOMEに対してIVBを行った場合の眼血流への影響を調査し、MBRとその他の臨床検査結果の関係を調べる。第二に、PCVにおけるPDT前後の血流変化をMBRで比較検討し、PDTの眼循環に対する影響を調べる。第三に、網膜血流の新パラメーターであるRFVが、正確に血流量、流速を反映しているか、さらに高い再現性を有しているかを調べる。

4. 研究方法

研究 1. LSFSG を用いた DME、BRVOME 患者における IVB 前後の眼血流変化の検討

デザイン

本研究はプロスペクティブ、介入試験とした。対象は東北大学病院眼科網膜外来で IVB 施行し、その後も経過観察ができる受診患者とした。

対象

対象は平成 21 年 8 月から平成 22 年 7 月に受診し IVB 単独治療を行った網膜疾患患者 22 名 25 眼（男性：女性 11：11）で、その内訳は DME 群 9 名 12 眼、BRVOME 群 13 名 13 眼とした。非検者からはそれぞれ本研究への参加のインフォームドコンセントを得た。本研究は東北大学医学部の倫理委員会の承認を得ている。（プルトコール No2013-164;2013 年 5 月 17 日）また、1995 年ヘルシンキ宣言（2000 年ジンバブエで承認）の規定に準じて行われた。^{60) 61)}

介入

0.4%オキシブプロイカイン（商品名 ベノキシール）にて点眼麻酔後、10%ポピ

ドンヨード（商品名 スワズスティック）にて眼瞼消毒後に 30 ゲージ針を用いて毛様体扁平部（角膜輪部より後方 3.5mm）を介して硝子体腔にベバシズマブ（商品名 アバスチン）を 1.25mg/0.05ml 注射した。

臨床検査

本研究では IVB 施行前、施行 1 週間後、施行 1 ヶ月後に検査項目として矯正最高視力（Best-corrected visual acuity: BCVA）、網膜中心窩厚（Foveal thickness: FT）、眼圧（Intraocular pressure: IOP）、細隙灯顕微鏡検査、眼底検査を行った。BCVA は logMAR 視力（5m）（LVC-10:NEITZ 機器、東京、日本）、FT は光干渉断層計（Optical coherence tomography: OCT）（OCT3000:Carl Zeiss Meditec AG, Jena, ドイツ）にて計測した。FT は網膜中心窩の網膜色素上皮層から内境界膜層までの距離と定義し、OCT3000 のソフトウェアで自動的に計測した。平均血圧と IOP は 10 分間の安静後に計測した。

レーザースペックルフローグラフィ

LSFG NAVI システム（ソフトケア社、福津、日本）を使用し MBR を IVB 施行前、施行 1 週間後、施行 1 ヶ月後にそれぞれ計測した。測定条件は角度 21 度、750×360 ピクセル、照射エネルギーは 1.37mW とした。得られたデータは LSFG アナライザーソフトウェア（バージョン 3.0.47.0；ソフトケア、福津、日本）にて解析を行っ

た。計測部位は任意の網膜動脈、網膜静脈、視神経乳頭 (Optic nerve head: ONH)、脈絡膜とし、網膜動脈、網膜静脈は ONH から 1.5 乳頭径以内の部位とし、BRVOME 群では出血による影響さけるため閉塞部位以外の象限を選択した。平均サンプル数は網膜動脈で 1013、網膜静脈で 1482.3、ONH で 47785.2 となった。脈絡膜は ONH より約 1 乳頭径離れ、かつできるだけ網膜出血、網膜血管を含まない部位を正方形形状に選択した。(150×150 ピクセル ; 19479 サンプル) 測定回数は 1 回とした。

研究 2. LSFSG を用いた PCV 患者における PDT 前後の眼血流変化

デザイン

本研究はプロスペクティブ、介入試験とした。対象は東北大学病院眼科網膜外来で PDT 施行し、その後も経過観察ができる受診患者とした。

対象

対象は平成 22 年 4 月から 7 月において PDT 単独治療を行った症例で、IA にてポリープ状病巣を認める日本ポリープ状脈絡膜血管症研究会の PCV の診断基準⁶²⁾を満たす 6 例 6 眼である。男性 6 名で年齢は 62 歳から 83 歳 (平均 74.2±7.9 歳) だった。

介入

PDT は FA ガイド下で病巣最大径 (Greatest linear dimension: GLD) を測定した。6mg/m²の Verteporfin (商品名 ビスダイン) に 5%ブドウ糖液を加え 30ml とした希釈液を 10 分かけて静脈内に持続投与し、投与開始 15 分後に角膜接触型レンズをのせ、波長 689nm のダイオードレーザーを 600mW/cm²の出力で 83 秒間 GLD に 1000 μ m を加えた範囲を照射した。

臨床検査

本研究では PDT 施行前と施行 1 週間後に検査項目としては BCVA、FT、IOP、細隙灯顕微鏡検査、眼底検査を行った。BCVA は logMAR 視力 (5m) (LVC-10;NEITZ 機器、東京、日本)、FT は OCT (OCT3000;Carl Zeiss Meditec AG, Jena, ドイツ) にて計測した。FT は網膜中心窩の網膜色素上皮層から内境界膜層までの距離と定義し、OCT3000 のソフトウェアで自動的に計測した。

レーザースペックルフローグラフィ

研究 1 と同様の測定条件で MBR を PDT 施行前と施行 1 週間後に測定した。計測部位は IA にてポリープ状病変を認めた部位、それ以外の PDT 照射部位を選択した。測定回数は 1 回とした。

研究 3. 網膜血流測定におけるパラメータ RFV の有用性の検討

人体での実験、検査プロトコール

本研究は東北大学医学部の倫理委員会の承認（プロトコール番号 2012-1-264;2014 年 9 月 24 日）を得た。また、1995 年ヘルシンキ宣言（2000 年ジンバブエで承認）の規定に準じて行われた。^{60) 61)} 対象は東北大学病院（宮城、日本）でボランティアを募集し集まった健常人 52 名。（平均年齢 42.5±15.6 歳、男性 22 名、女性 30 名）適応基準としてゴールドマン圧平眼圧計に IOP 22mmHg 未満、細隙灯顕微鏡検査、眼底検査で異常がないこととし、除外基準として全身的な疾患の既往があること、眼球にレーザーまたは手術を受けた、全身もしくは局所的な薬物療法を受けた既往があること、屈折値が-6 ジオプター以上の近視眼とした。測定では非検者は最低でも 6 時間以上はアルコール、カフェインを含む飲料品は摂取していない状態で施行された。細隙灯顕微鏡検査はミドリン M（参天製薬、大阪、日本）にて瞳孔散大後に施行された。検査は暗室で 10 分間座位の状態ですべて安静にした後に行われた。安静後に血圧を自動血圧計（HEM-759E;オムロン、京都、日本）にて計測した。平均動脈圧（Mean arterial blood pressure: MAP）と眼灌流圧（Ocular perfusion pressure: OPP）は下記の式で求められた。MAP=拡張期血圧+1/3(収縮期血圧-拡張期血圧)、OPP=2/3MAP-IOP。本研究では 4 種類の実験を行なったが方法は下記の通りである。また、本研究では LDV も使用するため、LDV についてもここで述べる。

レーザードップラー血流速度計

本研究でLSFGと比較する血流速度計（Canon Laser Blood Flowmeter: CLBF 100; Canon、東京、日本）はトラッキングシステムを有し、ある一定以上の口径のある網膜血管の血管径 (D_{LDV})、血流速度 (V_{mean})、血流量 (F_{LDV}) を計測することができる。血流速度がわかる原理として二方向観測ドップラー速度測定方法に基づいている。その基本的機序の詳細は既報に記載されている。⁶³⁾

研究 3-1. 人体での網膜静脈分岐前後の RFV の比較

健常人 34 名（平均年齢 49.0 ± 14.8 歳、男性 13 名、女性 21 名）の網膜静脈血管分岐前後を計測した。図. 2 に示すように網膜静脈血管分岐前（親血管 1 [Q1]）の RFV と分岐後の 2 本の網膜静脈（子血管 2 [Q2]、子血管 3 [Q3]）の RFV の和を比較した。計測部位は任意の耳側の網膜血管（下耳側 16 眼、上耳側 18 眼）を選択した。

研究 3-2. RFV と LDV の再現性の評価

健常人 18 名（平均年齢 30.3 歳、男性 9 名、女性 9 名）の耳側網膜動脈 30 ヶ所を計測した。RFV と LDV それぞれの再現性を比較するため、LDV が計測できる口径が大きい網膜血管を選択した。LDV は連続して 5 回計測し、 D_{LDV} 、 V_{mean} 、 F_{LDV} をそれぞれ求めた。LSFG は LDV の計測と同じ日に同じ網膜動脈を連続して 3 回計測した。平均化した変動値の統計学的手法はこれまでの報告と同様とした。^{63) 64)} LSFG、LDV それぞ

れの変動係数 (Coefficient of variation: COV) を求めた。

研究 3-3. LSF_G と LDV の網膜血流量の比較

研究 3-2 (健常人 18 名、耳側網膜動脈 30 ヶ所) で得たデータを用いて LSF_G と LDV の網膜血流を比較した。

研究 3-4. LSF_G から得た結果とその他の臨床結果との相関

研究 3-1 と研究 3-2 から得た RFV とその他の臨床結果 (血圧、MAP、IOP、OPP を含む) との相関を検討した。本実験では合計健常者 52 名の 64 ヶ所の RFV と比較した。

統計学的解析

統計学的解析には研究 1、研究 2 では Excel 統計 2006 (社会情報サービス、東京、日本)、研究 3 では JMP ソフトウェア (Pro version 10.0.2; SAS Institute Japan 株式会社、東京、日本) を用い、平均値±標準偏差という形で示した。P 値<0.05 を有意な差とした。

研究 1.

IVB 施行前後の MBR、BCVA、FT の比較は Friedman 検定と Scheffe の比較検定にて行

った。BRVOME 群と DME 群間での性別、中間透光体の状態以外の患者背景と臨床検査結果は Mann-Whitney U 検定にて比較検討した。性別と中間透光体は Fisher の正確確率検定で比較した。スピアマンの順位相関係数にて ONH の MBR と FT の関連性についても検討した。

研究 2.

PDT 施行前後の MBR、BCVA、FT の比較は Wilcoxon 符号順位検定にて行った。

研究 3.

スピアマンの順位相関係数にてそれぞれ相関を検定した。

5. 研究結果

研究 1.

BRVOME 群と DME 群の IVB 施行前後の検査結果と患者背景を表. 1 に提示した。IVB 施行前では群間で年齢、中間透光体の状態、IOP、FT に有意な差はないが、性差、視力では有意な差を認めた。IVB 施行後では IOP に有意な差は認めなかったが、FT は施行 1 ヶ月後では DR 群と比較し BRVO 群は有意に低い値であった。

IVB 施行前の BCVA と FT を図 3、図 4 に提示した。IVB 施行前後の網膜動脈、網膜静脈、ONH、脈絡膜の MBR の変化は図 5 に提示した。DME 群では全ての部位において IVB 施行前後で有意な変化を認めた（網膜動脈 $P=0.02$ 、網膜静脈 $P=0.04$ 、ONH $P<0.001$ 、脈絡膜 $P=0.04$ ）。一方、BRVO 群では脈絡膜を除き有意な変化は認めなかった（網膜動脈 $P=0.09$ 、網膜静脈 $P=0.33$ 、ONH $P=0.50$ 、脈絡膜 $P=0.04$ ）。

DME 群での ONH の MBR と FT との相関を図 6 に提示した。IVB 施行前の ONH の MBR と FT では有意な相関は認めなかった（図. 6(A)、 $P=0.33$ ）。しかし IVB 施行後の ONH の MBR と FT には有意な相関を認めた（図. 6(B)、 $R=-0.80$ 、 $P=0.009$ ）。さらに IVB 施行前の ONH の MBR と施行後の FT には有意な相関を認めた（図. 6(C)、 $R=-0.71$ 、 $P=0.002$ ）。

また、BRVOME 群での ONH の MBR と FT との相関を図 7 に提示した。

BRVOME 群では IVB 施行前後の ONH の MBR と FT の間にはいずれも相関を認めなかつ

た。

DME 群、BRVOME 群それぞれ代表症例を図 8、図 9 に提示した。

本研究では全症例で眼内炎、高眼圧症、網膜剥離、硝子体出血など重篤な合併症は認めなかった。

研究 2.

図 10 に提示したように PDT 施行後にポリープ状病変部、それ以外の PDT 照射部位それぞれで MBR は有意に減少した（ポリープ状病変部 平均 $44.3 \pm 33.1\%$ 減少、 $P=0.028$ 、それ以外の PDT 照射部位 平均 $40.2 \pm 25.5\%$ 減少、 $P=0.028$ ）。代表症例を図 11 に提示した。

本研究では全症例で眼内炎、高眼圧症、網膜剥離、硝子体出血など重篤な合併症は認めなかった

研究 3.

研究 3-1. 人体での網膜静脈分岐前後の RFV の比較

表 2 にて非検者の臨床的特徴と網膜静脈の RFV の結果を提示する。図 12 では線形回帰分析で分岐前の網膜血流 (Q1) と分岐後の 2 本の網膜血流の和 (Q2+Q3) の間には高い有意な相関が認められた ($r=0.98$ 、 $P<0.001$)。

研究 3-2. RFV と LDV の再現性

網膜血管の RFV は平均 264.9 ± 68.4 AU (範囲 166.8-440.9 AU) だった。同部位の LDV の結果は $D_{LDV} 112.0 \pm 12.7 \mu m$ (範囲 90.2-151.1 μm)、 $V_{mean} 36.1 \pm 7.9$ mm/s (範囲 20.6-50.1 mm/s)、 $F_{LDV} 11.2 \pm 3.8 \mu L/min$ (範囲 5.1-19.5 $\mu L/min$) だった。COV は RFV $5.9 \pm 3.6\%$ 、 $D_{LDV} 3.3 \pm 2.7\%$ 、 $V_{mean} 16.6 \pm 4.9\%$ 、 $F_{LDV} 17.6 \pm 6.1\%$ だった。

研究 3-3. LSFSG と LDV で得た網膜血流の比較

表. 3 にて参加者の臨床的特徴と LSFSG、LDV の測定結果を提示する。図. 13A と図. 13B に提示したように RFV と二方向観測 LDV から計測された V_{mean} 、 F_{LDV} との間には線形回帰分析で有意に相関があることがわかる。(V_{mean} 、 $r = 0.61$ 、 $P < 0.001$ 、 F_{LDV} 、 $r = 0.51$ 、 $P = 0.004$) また、RFV と D_{LDV} 間では有意な相関は認めなかった ($r = 0.05$ 、 $P = 0.81$)。

研究 3-4. LSFSG から得た結果とその他の臨床結果との相関

RFV と収縮期血圧 ($r = 0.05$ 、 $P = 0.69$)、拡張期血圧 ($r = 0.05$ 、 $P = 0.69$)、MAP ($r = -0.06$ 、 $P = 0.61$)、IOP ($r = -0.13$ 、 $P = 0.32$)、OPP ($r = -0.04$ 、 $P = 0.76$) の間には有意な相関は認めなかった。

6. 考察

本研究では LSF_G を用いた網膜疾患における治療介入前後の眼血流変化の観察と新しいパラメータ RFV が網膜血流の指標として有用か確認することを目的として行われた。ここからは本研究から得られた結果をそれぞれ考察する。

研究 1. LSF_G を用いた DME、BRVOME 患者における IVB 前後の眼血流変化の検討

本研究では観察時期の設定を DME、BRVOME 共に IVB 施行後約 2 か月を超えると黄斑浮腫の再燃を起こすことがこれまでに報告されていることから⁶⁵⁾⁻⁶⁸⁾、IVB の効果と血流への影響が十分に評価できると予測される施行 1 週間後と 1 か月後に設定した。本研究では DME 群 12 例、BRVOME 群 13 例と症例数が少数での検討であり、BRVOME と DME の黄斑浮腫をタイプ別で分けていない。さらに群間での患者背景がマッチングしていないことなど本研究には問題点も多々ある。また、観察時期が 3 日にわたるため日内変動の影響も考慮しなければならない。これまでのところ夜間に視神経乳頭、脈絡膜にて血流低下するという報告もあれば⁶⁹⁾⁷⁰⁾、それを否定する報告もあり⁷¹⁾⁷²⁾一定の見解はない。しかし、日内変動に全体として一定の傾向はなくとも、個々の症例では CDI にて眼動脈では 7.9%、短後毛様動脈では 9.6%、Laser doppler flowmetry にて脈絡膜では 11.5%、拍動性眼血流量から脈絡膜では 10.6% 程度の日内変動があるとの報告もあり、本研究の結果に影響を及ぼしてしていないと断言することもできない。⁷¹⁾ ただし、本研究ではすべて診療時間帯に計測されて

いるため、研究の根幹に関わるような問題ではないと考えた。このように本研究結果には限界があり、その解釈には注意が必要な点を述べた上で考察したい。

本研究では DME 患者においてすべての測定部位で有意に MBR が低下したが、これまでに同様の報告はない。これまでに IVB 前後の眼血流変化を報告したのものとして Color doppler imaging (CDI) を用いて IVB 後に眼動脈、短後毛様動脈、網膜中心動脈で血流低下を認めた報告があるが^{21) 73)}、CDI では眼内の細かな血流評価は不可能である。DME での網膜血管、ONH、脈絡膜の MBR が具体的にそれぞれどの程度血流低下するかを確認できたのは LSFSG ならではの特性と言える。また、一般的に脈絡膜は血流を保持しようとする機能であるオートレギュレーション機能が欠如し、外因の影響を受けやすいとされているが^{52) 74)}、BRVOME 群では脈絡膜においてのみ MBR の低下が確認できた。これらの反応の違いは DME 眼では網膜全体が VEGF による血管障害を受けているのに対し、BRVO 眼では VEGF による血管障害が傷害された網膜静脈とその周囲の組織のみに限られている可能性も考えられる。つまり DME 眼では BRVOME 眼と比較し網膜血管、視神経乳頭部も含めた眼内全体がオートレギュレーション機能不全に至っていることを示唆している可能性がある。また、DR 眼では眼血流動態にはまだ議論の余地はあるものの^{2) 75)}、CDI とドップラーフローメトリーでも DR 眼では眼動脈、脈絡膜血流速度が低下していることがこれまでに報告されている。⁷⁶⁾

⁷⁷⁾ これらのことから DR 眼では元々の眼血流が低下している状態で、IVB にてさらに網膜循環の減少で慢性的な虚血状態がより加速する可能性も考えられる。そして実

際に糖尿病のような基礎疾患をもった患者では IVB は黄斑虚血を招いたとする報告もある。^{19) 20)} それゆえにベバシズマブを含めた抗 VEGF 抗体療法を DR 患者に行う際は特に注意が必要であると推測される。また BRVOME 眼でも特に脈絡膜では重篤な血流減少を引き起こす可能性がある。よって IVB を施行する患者には日常診療で行われている網膜の解剖学的構造、視機能だけに留意するのでは不十分で、LSFG などを用いて眼循環にも留意するべきと思われる。

今回得られたもう一つの興味深い知見としては DME 眼では形態の改善と IVB 施行前と施行後の ONH の MBR に相関があったことが挙げられる。つまり事前に ONH-MBR が低い DME 患者では IVB が有効ではないことが予測できる可能性があると言える。その一方で BRVOME 眼ではそのような関連性は認めなかった。これら疾患ごとの結果の差は黄斑浮腫の発症機序に起因している可能性もあり興味深い。これまでに DR では複雑な生化学的メカニズムの結果として血管の破綻を招いていることが示唆されていて⁷⁸⁾、DME の発症機序として炎症、毛細血管のバリア破綻、網膜色素上皮細胞の機能低下などいくつかの臨床的な要素が示唆されるがまだ全貌は解明されていない。実際にトリアムシノロンアセトニドの硝子体注射の方が IVB より DME、BCVA は改善するという報告からも推測できるように⁷⁹⁾、コルチコステロイドならば抑制できる複雑なその他のメカニズムが病因として存在する。今回の結果は IVB 有効例では血管透過性亢進由来 (MBR が高い) の要素が比較的大きく、逆に IVB 無効例では網膜色素上皮の機能障害由来の要素が比較的大きく関係しているなど病態の差を ONH-

MBR は表している可能性がある。

FT、BCVA の検討もしているが、BRVOME 患者では IVB 単回投与で有意に改善し、これまでの報告と一致する結果となった。^{9) 23)} DME 患者でもこれまでに同様の改善効果を認めたという報告はあるが^{80) 81) 82)}、今回はそのような結果には至らなかった。明確な理由は不明ではあるが、投与回数、経過観察期間、患者背景の違い、もしくは今回、対象患者数が少数だったことなどが影響していると考えられた。また BCVA と MBR との間には相関は見つけることはできなかった。しかしながら、研究モデルにやや欠点はあるものの、今回の結果は BRVOME では IVB は網膜循環を維持しつつ FT と視力を改善させる現時点では良い治療のひとつであることが確認できた。さらに DME では VEGF と MBR に何らかの関連性が示唆されるように、IVB 施行前の MBR が施行後の FT に有意に相関があった。

研究 2. LSFSG を用いた PCV 患者における PDT 前後の眼血流変化

本研究では PDT 施行後に照射野全体の脈絡膜血流が約 40%低下したという結果を得られた。これまでも照射野の脈絡毛細管枝の軽度閉塞、脈絡膜血流が低下することも確認されていて^{30) 31)}、本研究結果を裏付けることができる。血流低下の原因として急性炎症反応、虚血変化が関連しているとも言われるが、現在のところ断定はできていない。現時点では臨床上大きな問題にはなっていないが、短期的には PDT 施行後に multifocal ERG でも振幅の減少、潜時が遅延するとの報告⁸³⁾ や、続発的

に黄斑を含む網膜機能低下を導き、VEGF、VEGF 受容体の産生を促し CNV の再発を誘発する可能性も指摘されていることなどから⁸⁴⁾、全く問題がないと断言することはできない。今回の検討は短期的で症例数も少なく、さらに計測部位も明らかな出血しているような部位は避けたものの、PDT 施行前後で網膜浮腫、網膜下液、色素上皮剥離などが変化しているため厳密に言えば施行前後で計測条件が同一とは言えない。しかしながら約 40% と大幅な減少を認めたことから、やはり脈絡膜血流はかなり低下していることが推測される。よって本研究の結果は PDT の際にはスポットサイズは必要以上には広範囲にするべきではなく、できるだけ小さな照射範囲の PDT を行うために IA ガイドなどで定量することの正当性、妥当性を支持するものと考えられる。また、PDT 照射野外の血流評価は今回行っていないが、症例 1 では PDT 照射野外も血流も低下しているように見える。このことから照射野以外、特に照射野近傍は血流低下などの影響がある可能性もあり、今後検討を要すると考えられる。

一方で、脈絡膜循環に対する影響を軽減するため照射エネルギーを半減させた低照射エネルギー PDT (Reduced fluence photodynamic therapy: RFPDT) では施行後の脈絡膜血流低下が抑えられたとの報告がある。⁸⁵⁾ しかも、minimally classic タイプの中心窩脈絡膜新生血管に対する PDT では通常の治療した群よりも RFPDT 群の方が視力低下は少なく、有害事象も認められなかったなど RFPDT の有用性を報告するものもある。^{86) 87)} このことから現在の通常行われている PDT の照射条件が治療効果、脈絡膜血流の両面で必要以上に高照射エネルギー設定となっている可能性も否

定できない。

緒言でも述べたように IA は侵襲的であることなどの問題点がある。そのため実際の臨床現場では IA を行わずに眼底所見と OCT、BCVA などそれ以外の検査で総合的に PDT の効果判定をすることも多い。その点、LSFG は非侵襲的で測定時間も 4 秒間と短く時間的に負担が少ない。解像度も IA には劣るものの PCV では分枝網状血管の 80%、ポリープ状病変の 44%を検出することができたとの報告もある。⁸⁸⁾ しかしながら、LSFG では微小血管からの漏出点などは検出できないため、現時点では LSFG を FA、IA 検査の完全な代用として用いることは難しい。今後さらに精度が向上すれば全身状態不良で造影検査が困難な場合や、造影剤アレルギーのある患者の場合などでは特に診断に有用なツールになりうる可能性が高いと思われる。

研究 3. 網膜血流測定におけるパラメータ RFV の有用性の検討

研究 3-1 では網膜血管の分岐前と分岐後の 2 本の和が相関し、ほぼ一致することを証明した。このことから RFV が網膜の血流量の指標として適切であることが言える。これまでに dual-beam bidirectional Doppler FD-OCT でも同様の実験が行われているが⁸⁹⁾、短時間で眼血流画像が得られることは LSFG の長所である。また、家兔で LSFG が網膜の血流変化を捉えていることが報告されているが⁹⁰⁾、人体で証明した本研究結果は意義が高いと考えられる。

これまでに LSFG での MBR、波形パラメータなどの高い再現性は報告されている。

⁵²⁾ ⁶⁴⁾ ⁹¹⁾ 今回、それに加えて RFV も LDV と比較し再現性が高いことを証明された。

COV は RFV 5.9% ± 3.6% に対し、LDV は既報と同程度で V_{mean} 16.6% ± 4.9%、 F_{LDV} 17.6% ± 6.1% で、RFV の方が良好な結果となった。⁶³⁾ このことから RFV は網膜血流を正確に計測できると言える。

現在、臨床で使用できる網膜血流の計測方法は主に LDV が用いられている。それゆえに本研究では同じ網膜血管で LSFSG の指標である RFV と LDV の指標である V_{mean} 、 F_{LDV} それぞれ計測し比較した。RFV は相対値に過ぎないが LSFSG は簡便で、短時間で計測することができる。一方、LDV で得られる値は絶対値であるものの、簡便ではなく、その計測にはある一定の経験を要する。得られる値が相対値と絶対値という違いがあるにも関わらず、網膜動脈において RFV は V_{mean} 、 F_{LDV} と有意に相関することが証明された。このことはこれまでの LSFSG が家兎、人体でマイクロスフェア法、LDV と有意に相関があったという報告を支持する結果といえる。⁵⁶⁾ ⁹⁰⁾

本研究にはいくつかの問題点も挙げられる。網膜血管分岐前と分岐後の和の RFV の相関が線形相関をとることから、RFV は網膜血流量と流速の指標となる可能性が明らかになったが、長波長であるダイオードレーザーを使用しているため背景血流の脈絡膜血流の影響をまったく受けていないと断言することはできない。しかしながら、RFV が収縮期血圧、IOP、MAP、OPP と有意な相関がないことから RFV は網膜血流の影響を反映していること、脈絡膜血流とは独立している可能性が高い。

本研究は症例数に制限がある中での解析と考察になり、一部は将来に向けて断続

的な解析が必要と思われる。しかしながら、制限あるものの RFV は再現性が高く信頼できる指標ということが証明できたと考える。今後、DR、BRVO など網膜血管疾患での新しい知見の発見や治療法の効果を評価する上で RFV が有用な指標になることが期待できる。

7. 結論

研究 1 では、BRVOME 患者では脈絡膜のみ有意な血流低下を認めたが、DME 患者ではすべての測定部位で血流低下を認めた。さらに DME 患者では IVB 施行前の MBR が施行後の FT と有意に相関を認めた。このことから DME 患者においては MBR の計測が IVB 治療を決定する非侵襲的な予後予測マーカーになりうる可能性が示唆された。

研究 2 では、PDT 施行後には照射野全体の脈絡膜循環が施行前と比較し約 40%減少していることが確認できた。このことから PDT を行う場合、照射野における眼循環に与える影響が極めて大きいことに留意する必要がある。

研究 3 では、網膜静脈血管分岐前と分岐後の 2 本の網膜静脈の和の RFV では相関が強く、また再現性が良好であり、さらに絶対値とされている LDV での V_{mean} と F_{LDV} と有意な相関があることから、RFV は網膜血流を評価する上で信頼できる指標と考えられた。

以上のように、本研究では LSFV が網膜疾患における血流動態を非侵襲的に測定・評価できるため、臨床上、極めて有用性が高いことが明らかになった。今後、RFV など新しいパラメータを用いることで、さらなる知見を得ることができる可能性も示唆された。

利益相反：利益相反公表基準に該当なし

8. 謝辞

稿を終えるにあたり、ご指導とご校閲を賜りました中澤徹教授、國方彦志准教授

（東北大学大学院医学系研究科外科学専攻感覚器病態学講座眼科学分野）に深く感

謝申し上げます。

9. 文献

1. Kohner EM: Dynamic changes in the microcirculation of diabetics as related to diabetic microangiopathy. *Acta Medica Scand Suppl.* 1975;578:41-47. 1
2. Grunwald JE, Brucker AJ, Grunwald SE, et al: Retinal hemodynamics in proliferative diabetic retinopathy. A laser Doppler velocimetry study. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 1993;34:66-71.
3. Grunwald JE, Hariprasad SM, DuPont J, et al: Foveolar choroidal blood flow in age-related macular degeneration. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 1998;39(2):385-90.
4. Avila CP Jr, Bartsch DU, Bitner DG, et al: Retinal blood flow measurements in branch retinal vein occlusion using scanning laser Doppler flowmetry. *Am J Ophthalmol.* 1998;126(5):683-90.
5. Argon laser photocoagulation for macular edema in branch vein occlusion. The Branch Vein Occlusion Study Group *Am J Ophthalmol.* 1984;98(3):271-282.
6. Ferris FL, 3rd, Patz A. Macular edema: a major complication of diabetic retinopathy. *Trans New Orleans Acad Ophthalmol.* 1983;31:307-316.
7. Gutman FA, Zegarra H: Macular edema secondary to occlusion of the retinal veins. *Surv Ophthalmol.* 1984;28(Suppl):462-470.

8. Sigelman J: Diabetic macular edema in juvenile- and adult-onset diabetes. *Am J Ophthalmol.* 1980;90(3):287-296.
9. Yilmaz T, Cordero-Coma M: Use of bevacizumab for macular edema secondary to branch retinal vein occlusion: a systematic review. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol.* 2012;250(6):787-793.
10. Kang HM, Chung EJ, Kim YM, et al: Spectral-domain optical coherence tomography (SD-OCT) patterns and response to intravitreal bevacizumab therapy in macular edema associated with branch retinal vein occlusion. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol.* 2013;251(2):501-508.
11. Shimura M, Yasuda K, Yasuda M, et al: Visual outcome after intravitreal bevacizumab depends on the optical coherence tomographic patterns of patients with diffuse diabetic macular edema. *Retina.* 2013;33(4):740-747.
12. Solaiman KA, Diab MM, Dabour SA: Repeated intravitreal bevacizumab injection with and without macular grid photocoagulation for treatment of diffuse diabetic macular edema. *Retina.* 2013;33(8):1623-1629.
13. Hood JD, Meininger CJ, Ziche M, et al: Am J Physiol. VEGF upregulates ecNOS message, protein, and NO production in human endothelial cells. 1998;274(3 Pt 2):H1054-8.
14. Horowitz JR, Rivard A, van der Zee R, et al: Vascular endothelial

growth factor/vascular permeability factor produces nitric oxide-dependent hypotension. Evidence for a maintenance role in quiescent adult endothelium. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1997;17(11):2793-800.

15. Izzedine H, Rixe O, Billefont B, et al: Angiogenesis inhibitor therapies: focus on kidney toxicity and hypertension. *Am J Kidney Dis.* 2007;50(2):203-18.

16. Mourad JJ, des Guetz G, Debbabi H, et al: Blood pressure rise following angiogenesis inhibition by bevacizumab. A crucial role for microcirculation. *Ann Oncol.* 2008;19(5):927-34.

17. Peters S, Heiduschka P, Julien S, et al: Tübingen Bevacizumab Study Group, Schraermeyer U. Ultrastructural findings in the primate eye after intravitreal injection of bevacizumab. *Am J Ophthalmol.* 2007;143(6):995-1002.

18. Baffert F, Le T, Sennino B, et al: Cellular changes in normal blood capillaries undergoing regression after inhibition of VEGF signaling. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2006;290(2):H547-59.

19. Shimura M, Yasuda K: Macular ischaemia after intravitreal bevacizumab injection in patients with central retinal vein occlusion and a history of diabetes and vascular disease. *Br J Ophthalmol.* 2010;94(3):381-383.

20. Huang ZL, Lin KH, Lee YC, et al: Acute vision loss after intravitreal injection of bevacizumab (avastin) associated with ocular ischemic syndrome. *Ophthalmologica*. 2010;224(2):86-89.
21. Hosseini H, Lotfi M, Esfahani MH, et al: Effect of intravitreal bevacizumab on retrobulbar blood flow in injected and uninjected fellow eyes of patients with neovascular age-related macular degeneration. *Retina*. 2012;32(5):967-971.
22. Matsuyama K, Ogata N, Matsuoka M, et al: Plasma levels of vascular endothelial growth factor and pigment epithelium-derived factor before and after intravitreal injection of bevacizumab. *Br J Ophthalmol*. 2010;94(9):1215-1218.
23. Siegel RA, Dreznik A, Mimouni K, et al: Intravitreal bevacizumab treatment for macular edema due to branch retinal vein occlusion in a clinical setting. *Curr Eye Res*. 2012;37(9):823-829.
24. Hanada N, Iijima H, Sakurada Y, et al: Recurrence of macular edema associated with branch retinal vein occlusion after intravitreal bevacizumab. *Jpn J Ophthalmol*. 2012;56(2):165-174.
25. Gulkilik G, Taskapili M, Kocabora S, et al: Intravitreal bevacizumab for persistent macular edema with proliferative diabetic retinopathy. *Int*

Ophthalmol. 2010;30(6):697-702.

26. 梶木香寿美, 松本容子, 姜哲浩, 他: 加齢黄斑変性に対する光線力学療法の評価
(その1): 3ヶ月後の臨床所見. 日眼会誌. 2006;110:703-709.

27. 柳平朋子, 新井純, 吉田紀子, 他: 滲出型加齢黄斑変性に対する光線力学療法の
2年経過. 日眼会誌 112:1068-1075, 2008.

28. Honda S, Kurimoto Y, Kagotani Y, et al: Photodynamic therapy for
typical age-related macular degeneration and polypoidal choroidal
vasculopathy: a 30-month multicenter study in Hyogo, Japan. Jpn J
Ophthalmol. 2009;53:593-597.

29. Gomi F, Ohji M, Sayanagi K, et al: One-year outcomes of photodynamic
therapy in age-related macular degeneration and polypoidal choroidal
vasculopathy in Japanese patients. Ophthalmology. 2008;115:141-146.

30. Michels S, Barbazetto I, Schmidt-Erfurth U: Changes in neovascular
membranes and normal choroid blood vessels after multiple photodynamic
therapy treatments. Ophthalmology. 2002;99:96-100.

31. Schmidt-Erfurth UM, Michels S: Changes in confocal indocyanine green
angiography through two year after photodynamic therapy with verteporfin.
Ophthalmology. 2003;110:1306-1314.

32. Riva CE, Ben-Sira I: Injection method for ocular hemodynamic studies in

- man. Invest Ophthalmol. 1974;13:77-79.
33. Riva CE, Feke GT, Ben-Sira I: Fluorescein dye-dilution technique and retinal circulation. Am J Physiol. 1978;234:H315-322.
34. Butner RW, McPherson AR: Adverse reactions in intravenous fluorescein angiography. Ann Ophthalmol. 1983;15:1084-1086.
35. Loebel M, Riva CE: Macular circulation and the flying corpuscles phenomenon. Ophthalmology. 1978;85:911-917.
36. Riva CE, Petrig B: Blue field entoptic phenomenon and blood velocity in the retinal capillaries. J Opt Soc Am. 1980;70:1234-1238.
37. Martin JA, Roorda A: Direct and noninvasive assessment of parafoveal capillary leukocyte velocity. Ophthalmology. 2005;112:2219-2224.
38. Riva C, Ross B, Benedek GB: Laser Doppler measurements of blood flow in capillary tubes and retinal arteries. Invest Ophthalmol. 1972;11:936-944.
39. Riva CE, Grunwald JE, Sinclair SH, et al: Fundus camera based retinal LDV. Appl Opt. 1981;20:117-120.
40. Feke GT, Tagawa H, Deupree DM, et al: Blood flow in the normal human retina. Invest Ophthalmol Vis Sci. 1989;30:58-65.
41. Leitgeb R, Schmetterer L, Drexler W, et al: Real-time assessment of retinal blood flow with ultrafast acquisition by color Doppler Fourier

domain optical coherence tomography. *Opt Express*. 2003;11:3116-3121.

42. Michaely R, Bachmann AH, Villiger ML, et al: Vectorial reconstruction of retinal blood flow in three dimensions measured with high resolution resonant Doppler Fourier domain optical coherence tomography. *J Biomed Opt*. 2007;12:041213.

43. Wang Y, Bower BA, Izatt JA, et al: In vivo total retinal blood flow measurement by Fourier domain Doppler optical coherence tomography. *J Biomed Opt*. 2007;12:041215.

44. Werkmeister RM, Dragostinoff N, Pircher M, et al: Bidirectional Doppler Fourier-domain optical coherence tomography for measurement of absolute flow velocities in human retinal vessels. *Opt Lett*. 2008;33:2967-2969.

45. Werkmeister RM, Dragostinoff N, Palkovits S, et al: Measurement of absolute blood flow velocity and blood flow in the human retina by dual-beam bidirectional Doppler fourier-domain optical coherence tomography. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2012;53:6062-6071.

46. Werkmeister RM, Palkovits S, Told R, et al: Response of retinal blood flow to systemic hyperoxia as measured with dual-beam bidirectional Doppler Fourier-domain optical coherence tomography. *PLoS One*. 2012;7:e45876.

47. Yoshida Y, Sugiyama T, Utsunomiya K, et al: A pilot study for the effects of donepezil therapy on cerebral and optic nerve head blood flow, visual field defect in normal-tension glaucoma. *J Ocul Pharmacol Ther.* 2010;26(2):187-192.
48. Sugiyama T, Kojima S, Ishida O, et al: Changes in optic nerve head blood flow induced by the combined therapy of latanoprost and beta blockers. *Acta Ophthalmol.* 2009;87(7):797-800.
49. Sugiyama T, Araie M, Riva CE, et al: Use of laser speckle flowgraphy in ocular blood flow research. *Acta Ophthalmol.* 2010;88:723-729.
50. Chiba N, Omodaka K, Yokoyama Y, et al: Association between optic nerve blood flow and objective examinations in glaucoma patients with generalized enlargement disc type. *Clin Ophthalmol.* 2011;5:1549-1556.
51. Yokoyama Y, Aizawa N, Chiba N, et al: Significant correlations between optic nerve head microcirculation and visual field defects and nerve fiber layer loss in glaucoma patients with myopic glaucomatous disk. *Clin Ophthalmol.* 2011;5:1721-1727.
52. Shiga Y, Shimura M, Asano T, et al: The influence of posture change on ocular blood flow in normal subjects, measured by laser speckle flowgraphy. *Curr Eye Res.* 2013;38:691-698.

53. Takahashi H, Sugiyama T, Tokushige H, et al: Comparison of CCD-equipped laser speckle flowgraphy with hydrogen gas clearance method in the measurement of optic nerve head microcirculation in rabbits. *Exp Eye Res.* 2013;108:10-15.
54. Wang L, Cull GA, Piper C, et al: Anterior and posterior optic nerve head blood flow in nonhuman primate experimental glaucoma model measured by laser speckle imaging technique and microsphere method. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2012;53(13):8303-8309.
55. Nagahara M, Tamaki Y, Araie M, et al: Real-time blood velocity measurements in human retinal vein using the laser speckle phenomenon. *Jpn J Ophthalmol.* 1999;43(3):186-195.
56. Nagahara M, Tamaki Y, Tomidokoro A, et al: In vivo measurement of blood velocity in human major retinal vessels using the laser speckle method. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2011;52(1):87-92.
57. Sugiyama T, Utsumi T, Azuma I, et al: Measurement of optic nerve head circulation: comparison of laser speckle and hydrogen clearance methods. *Jpn J Ophthalmol.* 1996;40:339-343.
58. Aizawa N, Nitta F, Kunikata H, et al: Laser Speckle and Hydrogen Gas Clearance Measurements of Optic Nerve Circulation in Albino and Pigmented

Rabbits With or Without Optic Disc Atrophy. Invest Ophthalmol Vis Sci. 2014; 55:7991-7996.

59. Isono H, Kishi S, Kimura Y, et al: Observation of choroidal circulation using index of erythrocytic velocity. Arch Ophthalmol. 2003;121:225-231.

60. Fabick MM. Ethical considerations for research on human subjects. Plast Surg Nurs. 1995;15(4):225-227.

61. Enserink M. Bioethics: Helsinki's new clinical rules: fewer placebos, more disclosure. Science. 2000;290(5491):418-419.

62. 日本ポリープ状脈絡膜血管症研究会:ポリープ状脈絡膜血管症の診断基準. 日眼会誌. 2005;109:417-427.

63. Yoshida A, Feke GT, Mori F, et al: Reproducibility and clinical application of a newly developed stabilized retinal laser Doppler instrument. Am J Ophthalmol. 2003;135:356-361.

64. Aizawa N, Yokoyama Y, Chiba N, et al: Reproducibility of retinal circulation measurements obtained using laser speckle flowgraphy-NAVI in patients with glaucoma. Clin Ophthalmol. 2011;5:1171-1176.

65. Hanada N, Iijima H, Sakurada Y, et al: Recurrence of macular edema associated with branch retinal vein occlusion after intravitreal bevacizumab. Jpn J Ophthalmol. 2012; 56(2):165-74.

66. Rabena MD, Pieramici DJ, Castellarin AA, et al: Intravitreal bevacizumab (Avastin) in the treatment of macular edema secondary to branch retinal vein occlusion. *Retina*. 2007;27(4):419-25.
67. Wu L, Arevalo JF, Roca JA, et al. Pan-American Collaborative Retina Study Group (PACORES): Comparison of two doses of intravitreal bevacizumab (Avastin) for treatment of macular edema secondary to branch retinal vein occlusion: results from the Pan-American Collaborative Retina Study Group at 6 months of follow-up. *Retina*. 2008;28(2):212-9.
68. Arevalo JF, Fromow-Guerra J, Quiroz-Mercado H, et al. Pan-American Collaborative Retina Study Group: Primary intravitreal bevacizumab (Avastin) for diabetic macular edema: results from the Pan-American Collaborative Retina Study Group at 6-month follow-up. *Ophthalmology*. 2007;114(4):743-50.
69. Okuno T, Sugiyama T, Kojima S, et al: Diurnal variation in microcirculation of ocular fundus and visual field change in normal-tension glaucoma. *Eye (Lond)*. 2004;18(7):697-702.
70. Kida T, Liu JH, Weinreb RN: Effect of aging on nocturnal blood flow in the optic nerve head and macula in healthy human eyes. *J Glaucoma*. 2008;17(5):366-71.

71. Polska E, Polak K, Luksch A, et al: Twelve hour reproducibility of choroidal blood flow parameters in healthy subjects. *Br J Ophthalmol.* 2004;88(4):533-7.
72. Pemp B, Georgopoulos M, Vass C, et al: Diurnal fluctuation of ocular blood flow parameters in patients with primary open-angle glaucoma and healthy subjects. *Br J Ophthalmol.* 2009;93(4):486-91.
73. Bonnin P, Pournaras JA, Lazrak Z, et al: Ultrasound assessment of short-term ocular vascular effects of intravitreal injection of bevacizumab (Avastin®) in neovascular age-related macular degeneration. *Acta Ophthalmol.* 2010;88(6):641-645.
74. Okuno T, Sugiyama T, Kohyama M, et al: Ocular blood flow changes after dynamic exercise in humans. *Eye (Lond)* 2006;20(7):796-800.
75. Patel V, Rassam S, Newsom R, et al: Retinal blood flow in diabetic retinopathy. *BMJ.* 1992;305(6855):678-683.
76. Gracner T: Ocular blood flow velocity determined by color Doppler imaging in diabetic retinopathy. *Ophthalmologica.* 2004;218(4):237-242.
77. Nagaoka T, Kitaya N, Sugawara R, et al: Alteration of choroidal circulation in the foveal region in patients with type 2 diabetes. *Br J Ophthalmol.* 2004;88(8):1060-1063.

78. Ciulla TA, Amador AG, Zinman B: Diabetic retinopathy and diabetic macular edema: pathophysiology, screening, and novel therapies. *Diabetes Care*. 2003;26(9):2653-2664.
79. Shimura M, Nakazawa T, Yasuda K, et al: Comparative therapy evaluation of intravitreal bevacizumab and triamcinolone acetonide on persistent diffuse diabetic macular edema. *Am J Ophthalmol*. 2008;145(5):854-861.
80. Forte R, Cennamo GL, Finelli M, et al: Intravitreal bevacizumab vs intravitreal triamcinolone combined with macular laser grid for diffuse diabetic macular oedema. *Eye (Lond)*. 2010;24(8):1325-1330.
81. Arevalo JF, Sanchez JG, Wu L, et al: Pan-American Collaborative Retina Study Group Primary intravitreal bevacizumab for diffuse diabetic macular edema: the Pan-American Collaborative Retina Study Group at 24 months. *Ophthalmology*. 2009;116(8):1488-1497.
82. Paccola L, Costa RA, Folgosa MS, et al: Intravitreal triamcinolone versus bevacizumab for treatment of refractory diabetic macular oedema (IBEME study) *Br J Ophthalmol*. 2008;92(1):76-80.
83. Lai TY, Chan WM, Lam DS: Transient reductoin in retinal function revealed by multifocal electroretinogram after photodynamic therapy. *Am J Ophthalmol*. 2004;137:826-833.

84. Schmidt-Erfurth U, Schlotzer-Schrehard U, Cursiefen C, et al:
Influence of photodynamic therapy on expression of vascular endothelial
growth factor (VEGF), VEGF receptor 3, and pigment epithelium-derived
factor. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2003. 44:4473-4480.
85. 白神千恵子: Reduced fluence photodynamic therapy-低照射エネルギー光線力
学療法. *あたらしい眼科.* 2009;26:503-505, .
86. Azab M, Boyer DS, Bressler NM, et al: Verteporfin therapy of subfoveal
minimally classic choroidal neovascularization in age related macular
degeneration: 2-year results of a randomized clinical trial. *Arch Ophthalmol.*
2005;123:448-457.
87. Sacu S, Varga A, Michels S, et al: Reduced fluence versus standard
photodynamic therapy in combination with intravitreal triamcinolone: short-
term results of a randomized study. *Br J Ophthalmol.* 2008;92:1347-1351.
88. Watanabe G, Fujii H, Kishi S: Imaging of choroidal hemodynamics in eyes
with polypoidal choroidal vasculopathy using laser speckle phenomenon. *Jpn
J Ophthalmol.* 2008;52:175-181.
89. Werkmeister RM, Dragostinoff N, Palkovits S, et al: Measurement of
absolute blood flow velocity and blood flow in the human retina by dual-
beam bidirectional Doppler fourier-domain optical coherence tomography.

Invest Ophthalmol Vis Sci. 2012;53:6062-6071.

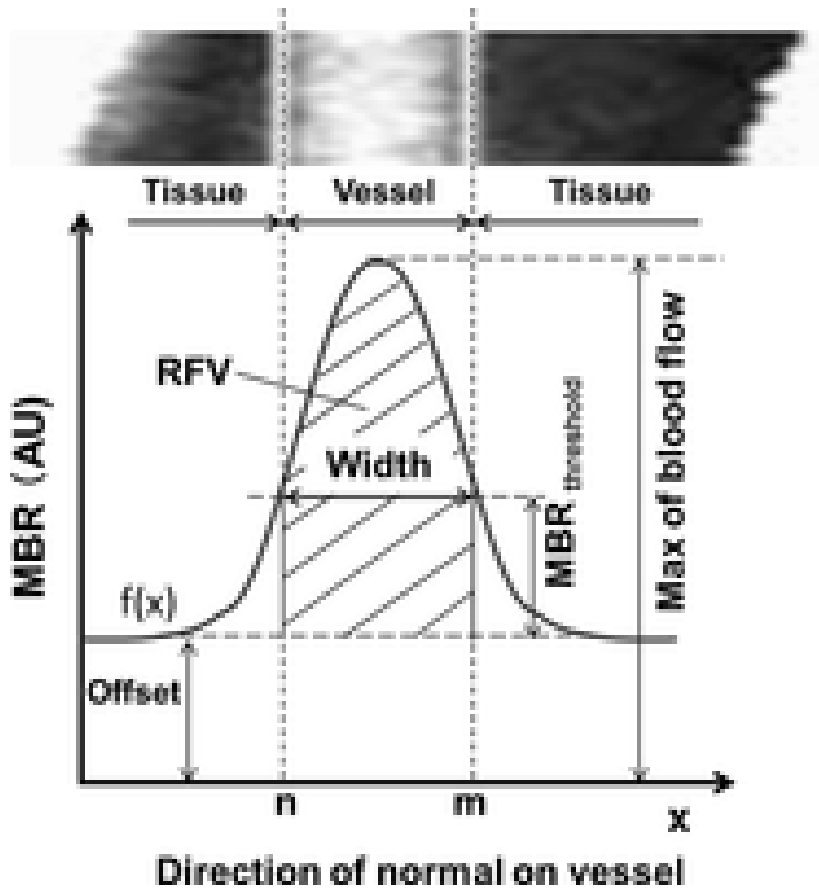
90. Tamaki Y, Araie M, Kawamoto E, et al: Noncontact, two-dimensional measurement of retinal microcirculation using laser speckle phenomenon.

Invest Ophthalmol Vis Sci. 1994;35:3825-3834.

91. Shiga Y, Omodaka K, Kunikata H, et al: Waveform analysis of ocular blood flow and the early detection of normal tension glaucoma. Invest Ophthalmol Vis Sci. 2013;54:7699-7706.

10. 図

図 1



図説 1

RFV の定義

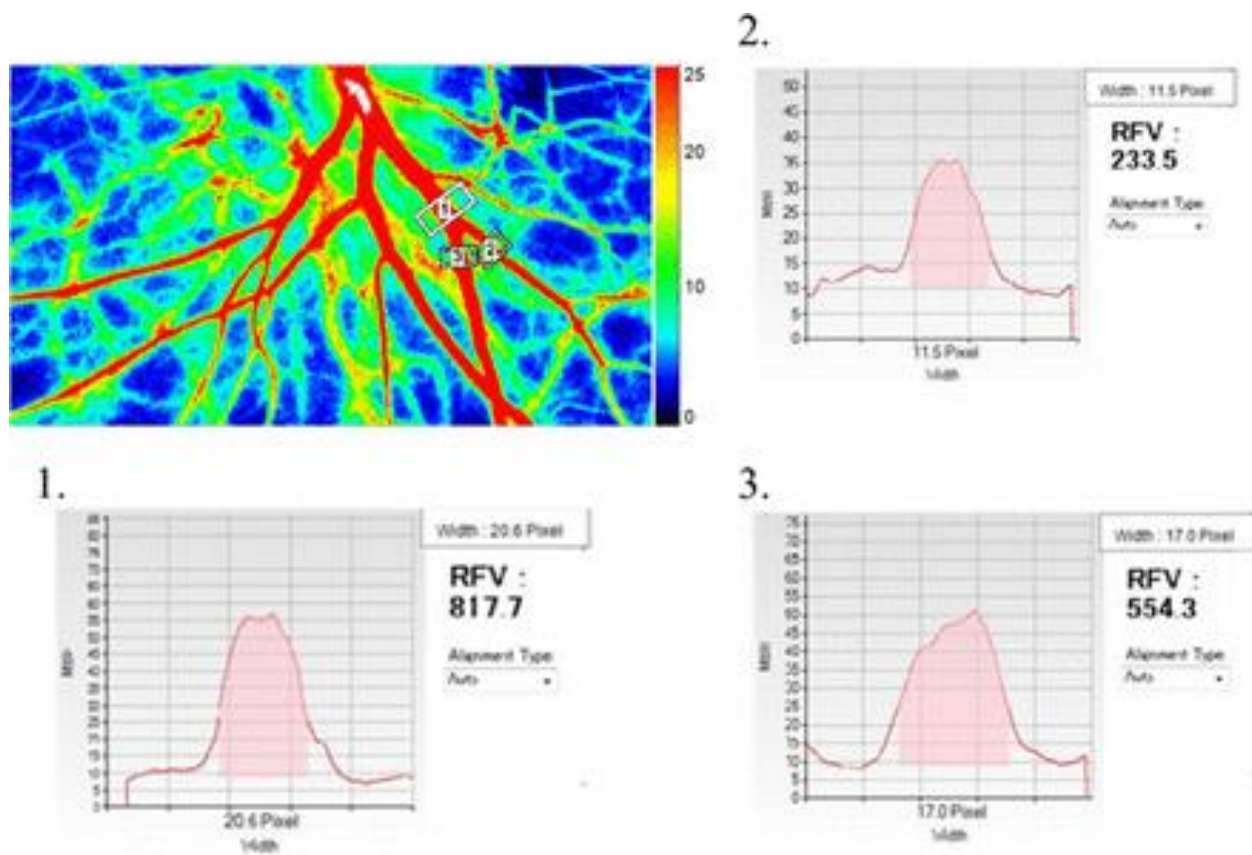
$MBR_{\text{threshold}}$ は網膜血管と背景の脈絡膜由来の MBR 値のしきい値である。

$f(x)$ は網膜血管の断面積の MBR 分布を示す。

網膜血管領域の幅を $MBR_{\text{threshold}}$ から m から n 間と決定した。

網膜血流を示す RFV は全体の MBR から脈絡膜の MBR を減算し計算される。

図 2

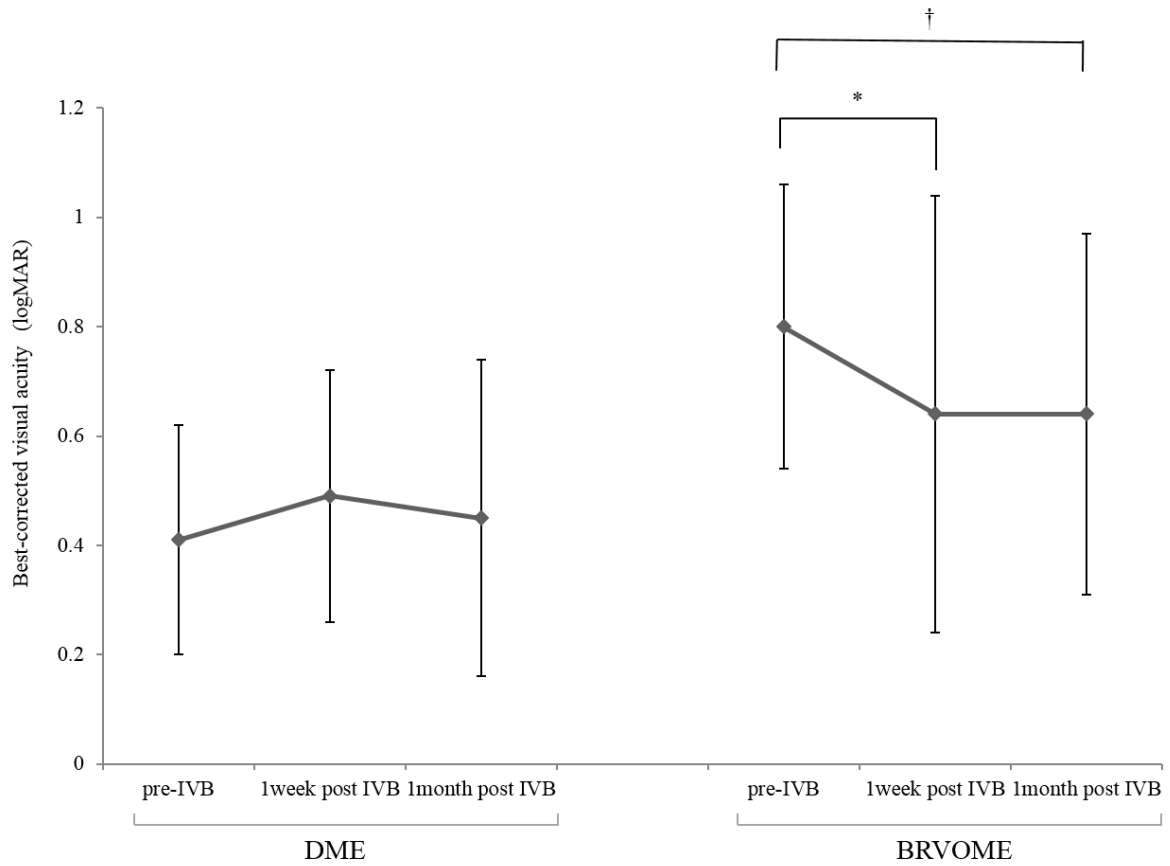


図説 2

レーザースペックルフローグラフィにて静脈の分岐前後での計測した実例

親血管(四角形 1)と 2 本の子血管(四角形 2、四角形 3)は画面上で手動にて選択した。

図 3.



Friedman test : comparing three related points (Pre IVB, 1 week post-IVB, 1 month post-IVB) †P<0.05 ††P<0.01
 Scheffe's Paired Comparison: comparing between groups * P<0.05 ** P<0.01

図説 3

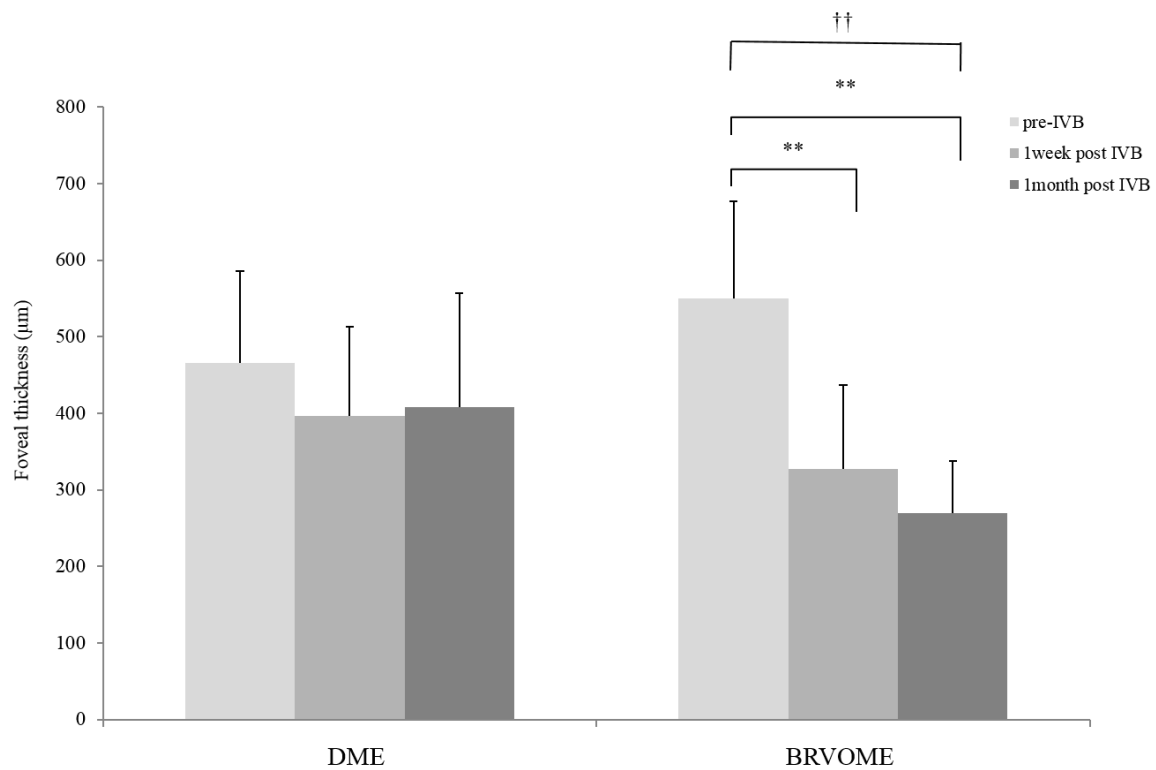
IVB 施行前後の BCVA の変化

BCVA は IVB 施行前、施行 1 週間後、施行 1 ヶ月後の 3 群間では有意な変化を DME 群

では認めなかったが (P=0.34)、BRVOME 群では有意な変化を認めた。(P=0.049)

また IVB 施行前と比較し施行 1 週間後で有意な改善を認めた。(P=0.03)

図 4.



Friedman test: comparing three related points (Pre IVB, 1 week post-IVB, 1 month post-IVB) †P<0.05 ††P<0.01
Scheffe's Paired Comparison: comparing between groups * P<0.05 ** P<0.01

図説 4

IVB 施行前後の FT の変化

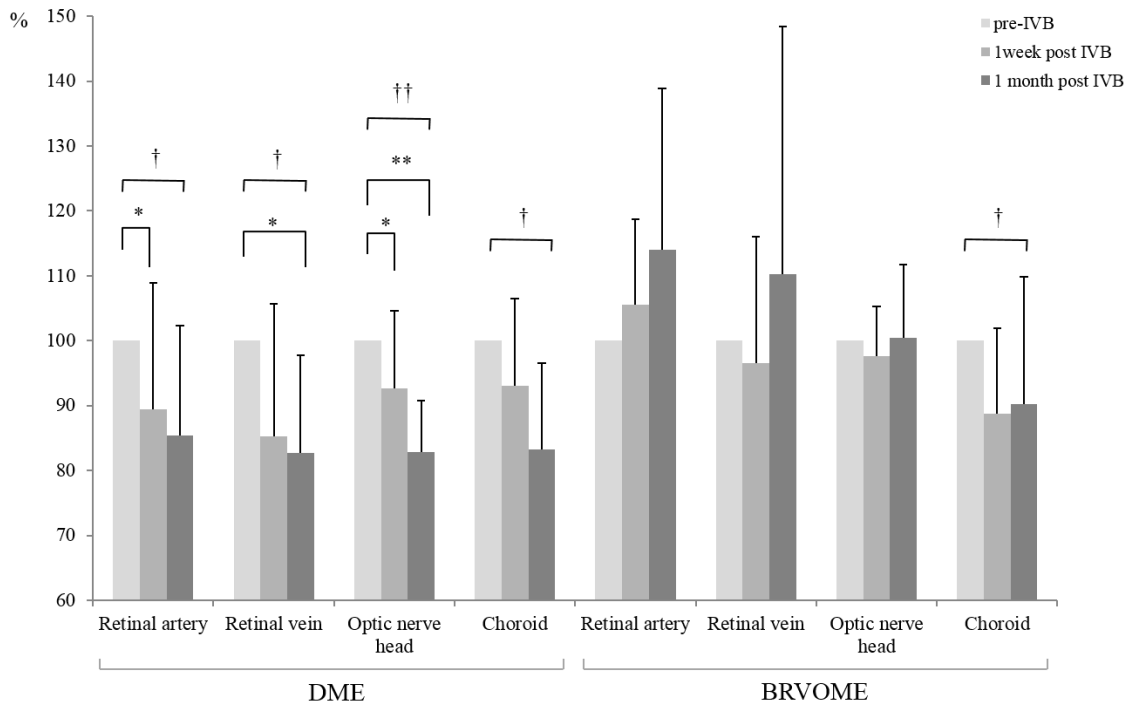
FT は IVB 施行前、施行 1 週間後、施行 1 ヶ月後の 3 群間では有意な変化を DME 群で

は認めなかったが (P=0.20)、BRVOME 群では有意な変化を認めた。(P<0.001)

また IVB 施行前と比較し施行 1 週間後、施行 1 ヶ月後で有意な改善を認めた。

(P=0.007、P<0.001)

図 5.



Friedman test: comparing three related points (Pre IVB, 1 week post-IVB, 1 month post-IVB) †P<0.05 ††P<0.01
 Scheffe's Paired Comparison: comparing between groups * P<0.05 ** P<0.01

図説 5

IVB 施行前後の網膜動脈、網膜静脈、ONH、脈絡膜の MBR の変化

DME 群では MBR の IVB 施行前、施行 1 週間後、施行 1 ヶ月後の 3 群間での変化はすべての部位において有意差を認めた。(網膜動脈 P=0.02、網膜静脈 P=0.04、ONH P<0.001、脈絡膜 P=0.04)

施行前と比較し施行 1 週間後では網膜動脈で 10.6% (P=0.03)、ONH で 7.27%

(P=0.049) の有意な MBR の低下を認めたが、網膜静脈では 14.8% (P=0.19)、脈絡膜では 6.97% (P=0.15) の MBR の低下を認めたが有意差は認めなかった。施行前と

比較し施行 1 ヶ月後では網膜静脈で 17.3% (P=0.049)、ONH で 17.1% (P<0.001)

の有意な MBR の低下を認めたが、網膜動脈では 14.7% (P=0.08)、脈絡膜では

16.7% (P=0.06) の MBR の低下を認めたが有意差は認めなかった。施行 1 週間後と

施行 1 ヶ月後ではすべての部位で有意な MBR の変化は認めなかった。(網膜動脈

P=0.92、網膜静脈 P=0.83、ONH P=0.19、脈絡膜 P=0.92)

BRVOME 群での MBR の IVB 施行前、施行 1 週間後、施行 1 ヶ月後の 3 群間での変化は

脈絡膜においてのみ有意差を認めたが(脈絡膜 P=0.04)、網膜動脈 (P=0.09)、網

膜静脈 (P=0.33)、ONH (P=0.50) では有意差は認めなかった。施行前と比較し施行

1 週間後(網膜動脈 P=0.39、網膜静脈 P=0.84、ONH P=0.50、脈絡膜

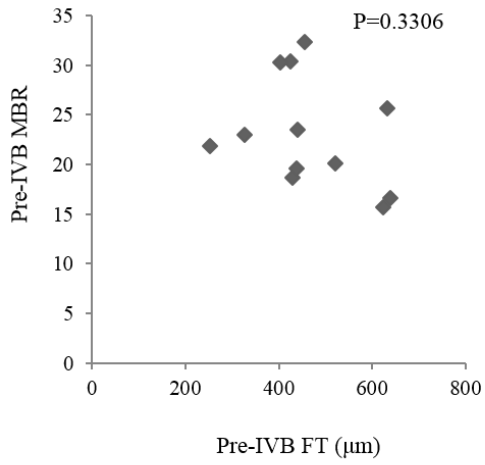
P=0.09)、施行 1 ヶ月後(網膜動脈 P=0.10、網膜静脈 P=0.67、ONH P=0.84、

脈絡膜 P=0.07) ともに有意な MBR の変化は認めなかった。

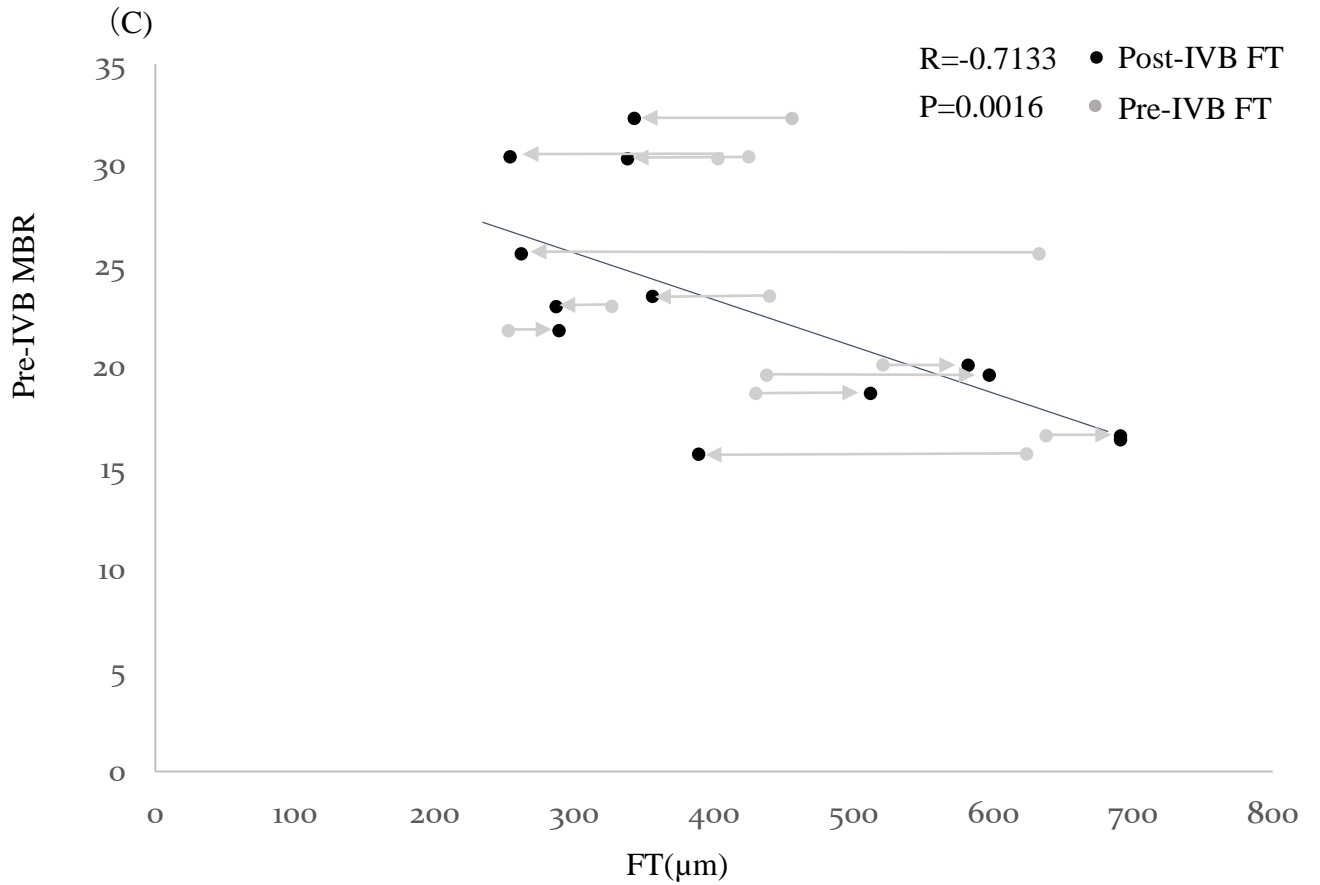
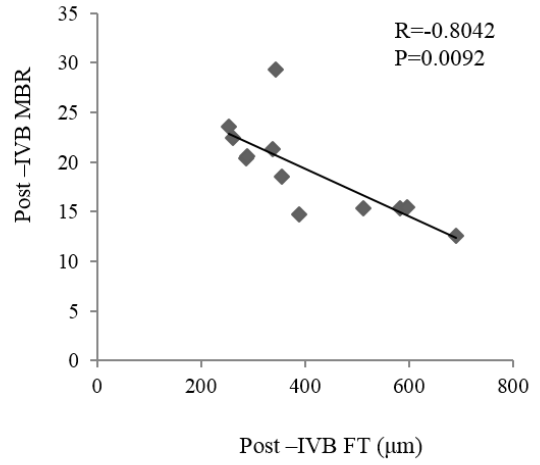
施行 1 週間後と施行 1 ヶ月後ではすべての部位で有意な MBR の変化は認めなかつ

た。(網膜動脈 P=0.73、網膜静脈 P=0.33、ONH P=0.84、脈絡膜 P=1.00)

図 6. (A)



(B)



図説 6

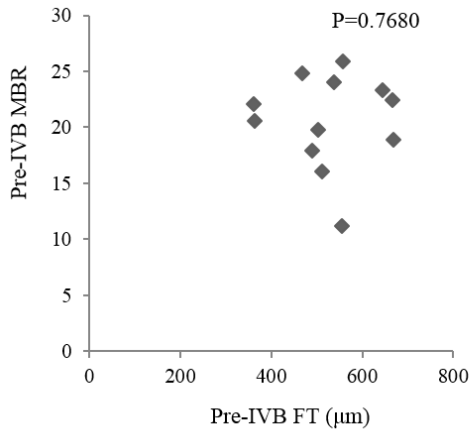
IVB 施行前後の DME 眼における FT と MBR の相関

IVB 施行前の MBR と施行前の FT には相関を認めなかったが ($P=0.33$) (A)、施行後の

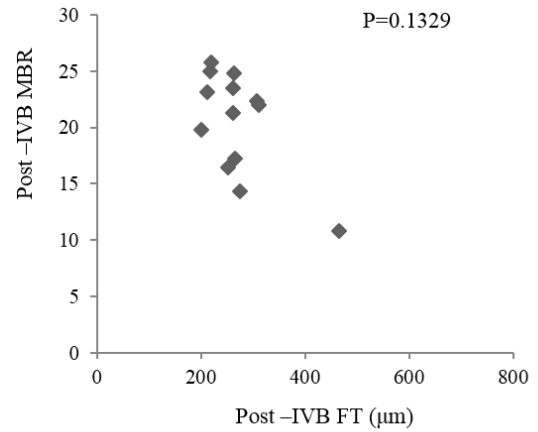
MBR と施行後の FT では相関を認めた。(R=-0.80、P=0.01) (B)

さらに施行前の MBR は施行後の FT との相関を認めた。(R=-0.71、P=0.002) (C)

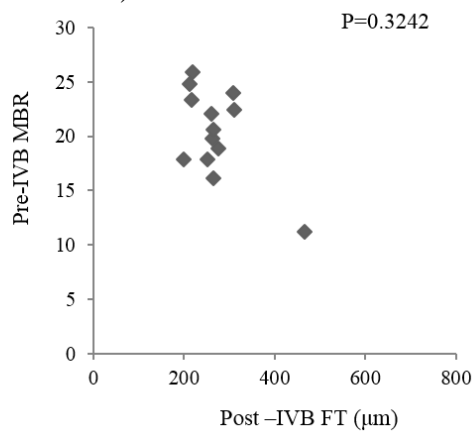
図 7. (A)



(B)



(C)



図説 7

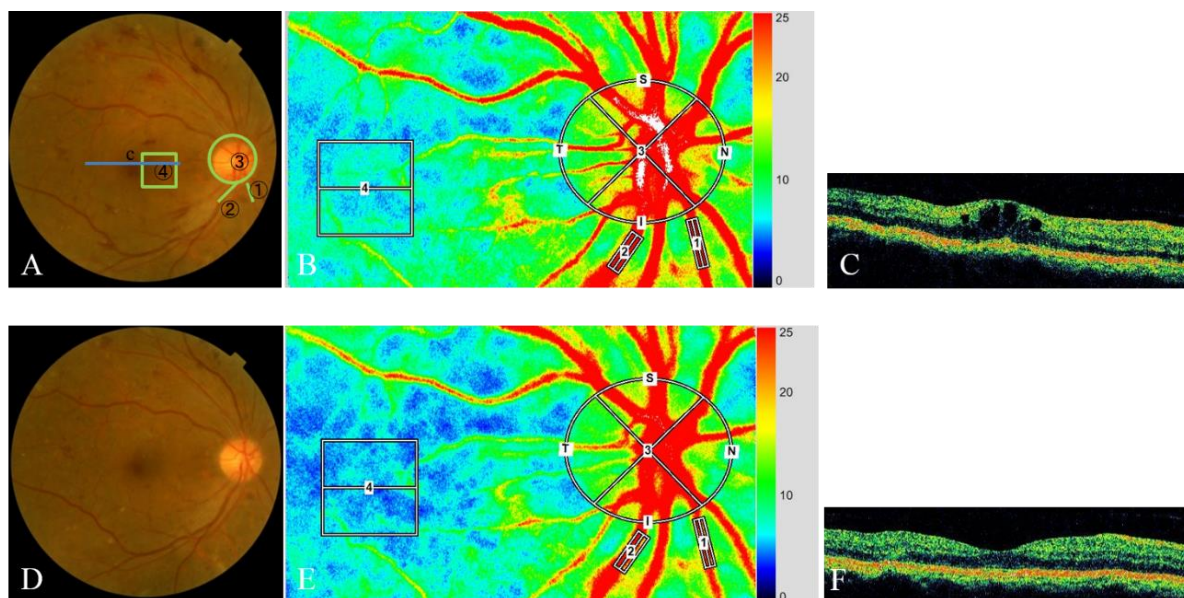
IVB 施行前後の BRVOME 眼における FT と MBR の相関

IVB 施行前の MBR と施行前の FT (P=0.77) (A)、施行後の MBR と施行後の FT

(P=0.13) (B)、施行前の MBR と施行後の FT (P=0.32) (C) いずれも有意な相関は認

めなかった。

図 8.



図説 8

DME 眼の代表症例

59 歳男性右眼。

IVB 施行前の眼底写真 (A)、LSFG マップ (B)、OCT (中心窩、水平断) (C)、施行後の眼底写真 (D)、LSFG マップ (E)、OCT (中心窩、水平断) (F)。

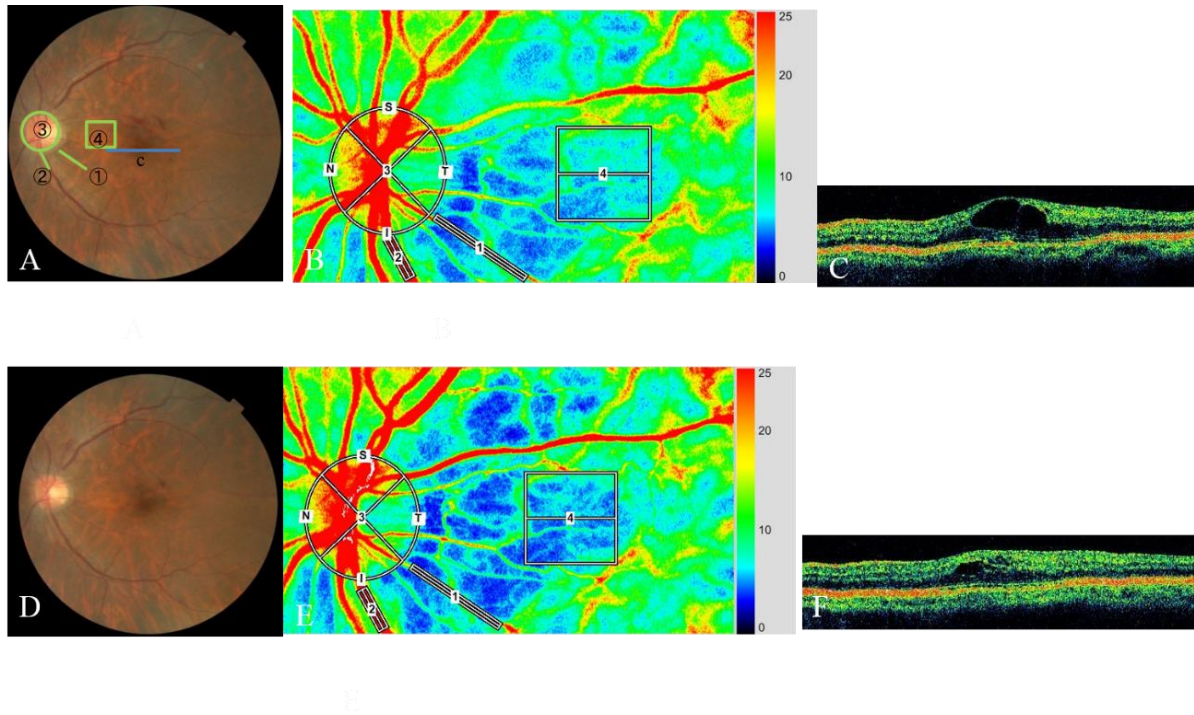
LSFG マップでは No. 1 は網膜動脈、No. 2 は網膜静脈 (いずれも長方形)、No. 3 は ONH (円形)、No. 4 は脈絡膜 (正方形) を示す。

IVB 施行前の MBR は網膜動脈が 30.1、網膜静脈が 43.6、ONH が 31.0、脈絡膜が 7.0 であったが、施行 1 ヶ月後には網膜動脈が 22.6 (24.9%減少)、網膜静脈が 30.3 (30.5%減少)、ONH が 24.2 (21.9%減少)、脈絡膜が 5.8 (17.1%減少) となった。

IVB 施行前の矯正視力は 0.3 だったが施行後も変化はなかった。

FT は IVB 施行前は $425\ \mu\text{m}$ だったが施行 1 ヶ月後には $272\ \mu\text{m}$ となった。

図 9.



図説 9

BRVOME 眼の代表症例

65 歳女性左眼。

IVB 施行前の眼底写真 (A)、LSFG マップ (B)、OCT (中心窩、水平断) (C)、施行後の眼底写真 (D)、LSFG マップ (E)、OCT (中心窩、水平断) (F)。

LSFG マップでは No. 1 は網膜動脈、No. 2 は網膜静脈 (いずれも長方形)、No. 3 は ONH (円形)、No. 4 は脈絡膜 (正方形) を示す。

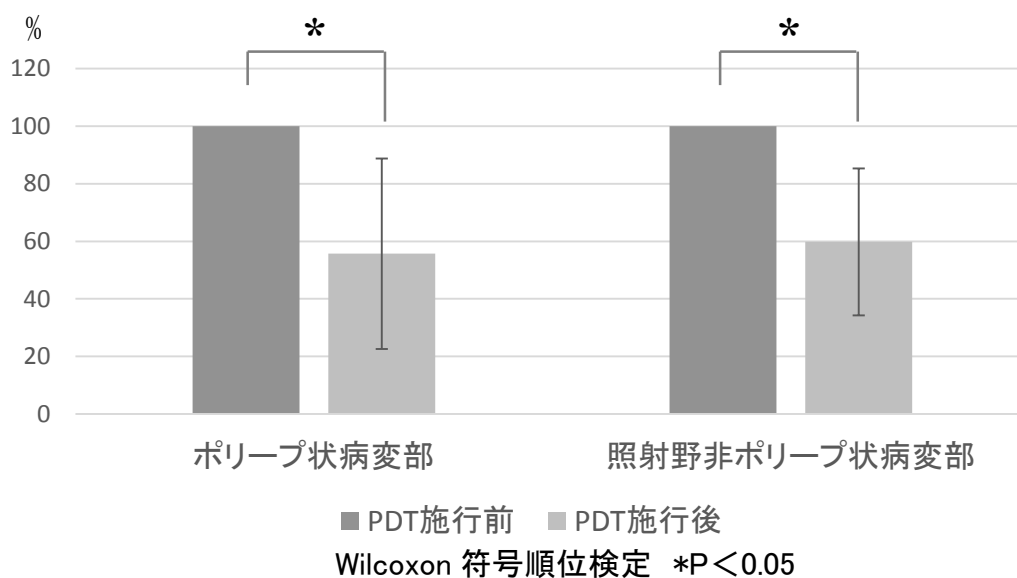
IVB 施行前の MBR は網膜動脈が 15.9、網膜静脈が 35.7、ONH が 23.5、脈絡膜が 7.2

であったが、施行1ヶ月後には網膜動脈が14.0（12.0%減少）、網膜静脈が33.4（6.4%減少）、ONHが26.0（10.6%増加）、脈絡膜が6.2（13.9%減少）となった。

IVB 施行前の矯正視力は0.5だったが施行後も変化はなかった。

FTはIVB 施行前は $364\mu\text{m}$ だったが施行1ヶ月後には $264\mu\text{m}$ となった。

図 10.

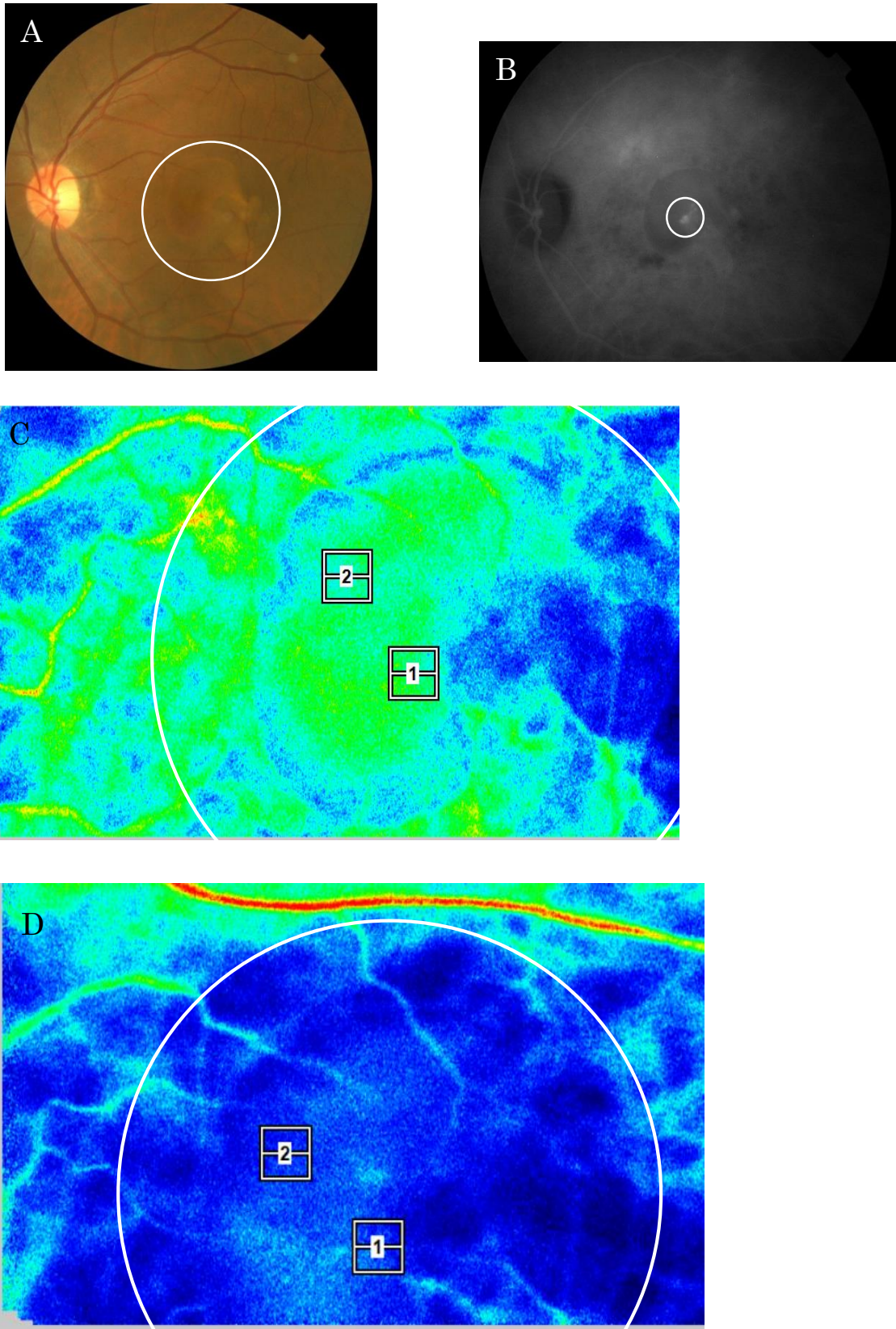


図説 10

PDT 施行後の MBR 変化

PDT 施行後に脈絡膜血流はポリープ状病変部で平均 $44.3 \pm 33.1\%$ ($P=0.028$)、それ以外の PDT 照射部位で平均 $40.2 \pm 25.5\%$ ($P=0.028$) の有意な減少を認めた。

图 11.



図説 11

代表症例. 62 歳男性左ポリープ状脈絡膜血管症。

PDT 施行前の眼底カラー写真 (A)、PDT 施行前の IA 写真 (B)、PDT 施行前の LSFSG マップ (C)、PDT 施行後の LSFSG マップ (D)

眼底カラー写真 (A) では 1.5 乳頭径大の網膜色素上皮剥離を認める。

白円の範囲は PDT 照射野を示す。(GLD3900 μm 、PDT 照射野 4900 μm)

PDT 施行前の IA 写真 (B) では白円の範囲にポリープ状病変を認める。

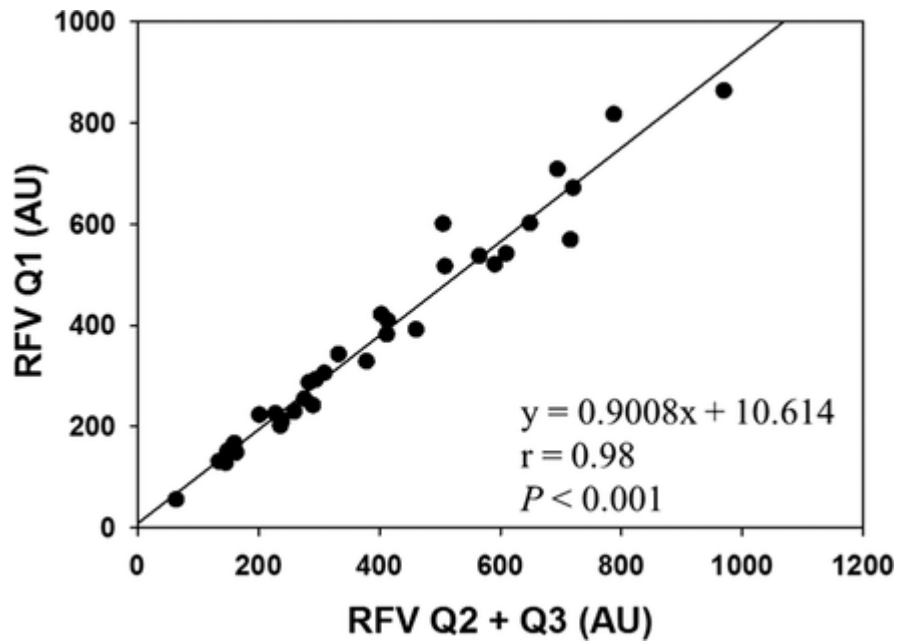
PDT 施行前の LSFSG マップ (C)、PDT 施行後の LSFSG マップ (D) では No. 1 (正方形)

はポリープ状病変部、No. 2 (正方形) はそれ以外の PDT 照射部位、白円の範囲は PDT 照射野を示す。

PDT 施行前の LSFSG マップ (C) での MBR は No. 1 (ポリープ状病変部) 9.1、No. 2 (それ以外の PDT 照射部位) 8.0 であった。

PDT 施行後の LSFSG マップ (D) での MBR は No. 1 (ポリープ状病変部) 3.6 (60%減少)、No. 2 (それ以外の PDT 照射部位) 3.1 (61%減少) であった。

図 12



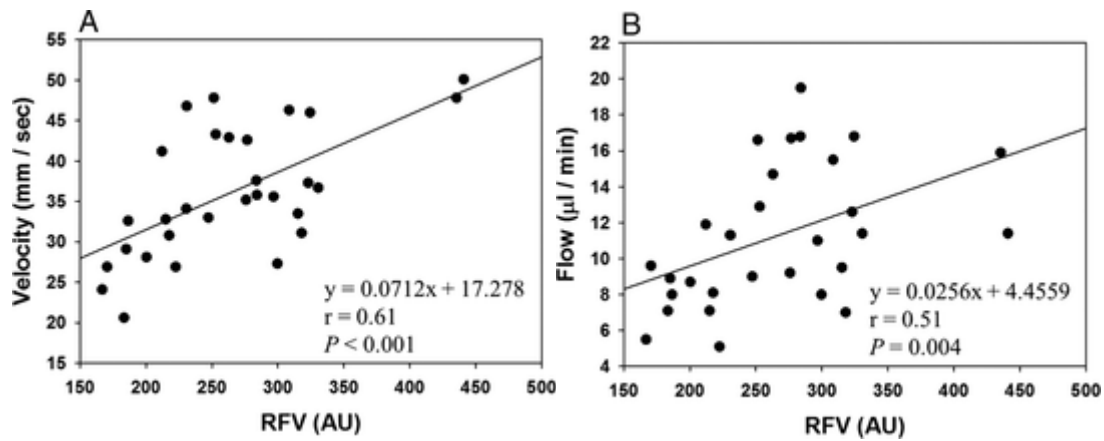
図説 12

分岐前の網膜血流 (Q1: y) と分岐後の 2 本の網膜血流の和 (Q2 + Q3: x) の相関

分岐前の網膜血流 (Q1: y) と分岐後の 2 本の網膜血流の和 (Q2 + Q3: x) は線形相

関となった。

図 13



図説 13

図 13A 同じ部位の網膜血管の RFV とレーザードップラー血流速度計で得た血流量の
相関

図 13B 同じ部位の網膜血管の RFV とレーザードップラー血流速度計で得た血流速度
の相関

同じ部位の網膜血管の RFV とレーザードップラー血流速度計で得た血流量、血流速度 (y) は線形相関の関係となった。

11. 表

表 1 . BRVOME 群と DME 群間 IVB 前後の患者背景と検査結果の比較

Group		BRVOME	DME	P value
Number of eyes		13	12	
Age		71.0±9.6	63.8±9.2	0.0565 ^a
Sex (M: F)		(4:9)	(7:2)	*0.0402 ^b
Optic media (lens: pseudophakia)		(11:1)	(10:3)	0.3278 ^b
BCVA (logMAR)	Pre-IVB	0.8±0.26	0.41±0.21	**0.0016 ^a
	1 week post-IVB	0.64±0.4	0.49±0.23	0.3355 ^a
	1 month post-IVB	0.64±0.33	0.45±0.29	0.1245 ^a
IOP (mmHg)	Pre-IVB	13.6±2.4	12.8±1.5	0.2409 ^a
	1 week post-IVB	12.1±2.3	13.4±2.3	0.1818 ^a
	1 month post-IVB	12.9±2.1	12.6±2.2	0.8062 ^a
Foveal thickness (µm)	Pre-IVB	549.8±127.7	465.7±120.1	0.0727 ^a
	1 week post-IVB	327.5±110.1	396.8±116.1	0.2108 ^a
	1 month post-IVB	270.2±67.9	408.3±148.6	**0.0036 ^a

^aMann-Whitney U test^bFisher's exact test

BRVOME = branch retinal vein occlusion-associated macular edema, DME = diabetic macular edema, BCVA = best-corrected visual acuity, logMAR = logarithm of the minimum angle resolution, IVB = intravitreal bevacizumab, IOP = intraocular pressure

表 2 非検者の背景と網膜血管の RFV (研究 3-1)

Subjects, <i>n</i>	34
Age, y	49.0 ± 14.8
Sex, male:female	13:21
Vessel location, upper:lower	18:16
RFV in trunk vessel, AU	373.6 ± 209.3
RFV in daughter vessel 1, AU	256.9 ± 164.7
RFV in daughter vessel 2, AU	136.5 ± 63.4
RFV in sum of 2 daughter vessels, AU	393.4 ± 221.6
Systolic blood pressure, mm Hg	123.3 ± 19.0
Diastolic blood pressure, mm Hg	75.8 ± 12.1
Mean arterial blood pressure, mm Hg	91.6 ± 13.3
IOP, mm Hg	13.4 ± 2.9
Ocular perfusion pressure, mm Hg	47.7 ± 8.4

RFV : Relative flow volume、AU: arbitrary units、IOP: Intraocular pressure

数値は平均値±標準偏差で示されている。

分岐前の血管を親血管、分岐後の 2 本の血管を子血管とし、それぞれ LSFG で RFV を計測した。

表 3 非検者の臨床的背景とレーザースペックルフローグラフィとレーザードップラ

ー血流速度計にて得た網膜血管の計測値

Subjects, <i>n</i>	18
Age, y	30.3 ± 7.7
Sex, male:female	9:9
Vessel measurements, number	30
Vessel location, upper:lower:temporal	18:16:1
RFV, AU	264.9 ± 68.4
Diameter, μm	112.0 ± 12.7
Velocity, mm/s	36.1 ± 7.9
Flow, μL/min	11.2 ± 3.8
Systolic blood pressure, mm Hg	115.8 ± 12.3
Diastolic blood pressure, mm Hg	69.7 ± 11.7
Mean arterial blood pressure, mm Hg	85.1 ± 11.3
IOP, mm Hg	15.3 ± 1.6
Ocular perfusion pressure, mm Hg	41.4 ± 7.4

RFV : Relative flow volume、AU: arbitrary units、IOP: Intraocular pressure

数値は平均値±標準偏差で示されている。

LSFGにてRFV値とレーザードップラー血流速度計にて血管径、血流速度、血流量を計測した。

12. 略語集

AMD : age-related macular degeneration、加齢黄斑変性症

AU : arbitrary units、任意単位

BCVA : Best-corrected visual acuity、矯正最高視力

BRVOME : Branch retinal vein occlusion associated macular edema、網膜静脈分枝閉塞症黄斑浮腫

BRVO : branch retinal vein occlusion、網膜静脈分枝閉塞症

CCD : Charge Coupled Device

CDI : Color doppler imaging

CLBF : Canon Laser Blood Flowmeter

COV : Coefficient of variation、変動係数

DME : Diabetic macular edema、糖尿病黄斑浮腫

DR : diabetic retinopathy、糖尿病網膜症

FA : Fluorescein angiography、フルオロセイン蛍光眼底造影検査

FD-OCT : Doppler fourier domain-optical coherence tomography

FT : Foveal thickness、網膜中心窩厚

GLD : Greatest linear dimension、病巣最大径

IA : indocyanine green angiography、インドシアニングリーン眼底造影検査

IOP : Intraocular pressure、眼圧

IVB : intravitreal bevacizumab、ベバシズマブ硝子体注射

LDV : laser doppler velocimetry、レーザードップラー血流速度計

LSFG : laser speckle flow graphy

MAP : Mean arterial blood pressure、平均動脈圧

MBR : mean blur rate

NO : Nitric oxide、一酸化窒素

OCT : Optical coherence tomography、光干渉断層計

ONH : Optic nerve head、視神経乳頭

OPP : Ocular perfusion pressure、眼灌流圧

PCV : polypoidal choroidal vasculopathy、ポリープ状脈絡膜血管症

PDT : Photodynamic therapy、光線力学的療法

RFPDT : Reduced fluence photodynamic therapy、低照射エネルギー光線力学的療法

RFV : Relative flow volume

TA : Triamcinolone acetonide

VEGF : Vascular endothelial growth factor、血管内皮細胞増殖因子