

ネコにおける蛍光眼底造影検査
に関する研究

酪農学園大学大学院

獣医学研究科

獣医学専攻博士課程

林 美里

伴侶動物医療学 画像診断学

指導教員 教授 中出哲也

2017年度

目 次

	頁
緒 論	1
第 I 章 ネコにおけるインドシアニンググリーン蛍光眼底造影検査 (IA) とフルオレセイン蛍光眼底造影検査 (FA) の比較 による検討	
小 緒	4
材料と方法	6
結 果	10
考 察	16
小 括	19
第 II 章 ネコの IA における ICG 色素投与濃度の検討	
小 緒	20
材料と方法	22
結 果	25
考 察	32
小 括	35

第Ⅲ章 ネコの蛍光眼底造影検査における血圧降下とその予測試験に関する検討

小緒	36
材料と方法	38
結果	41
考察	47
小括	50

第Ⅳ章 ネコの IA における静脈内 ICG 色素投与が網膜機能に及ぼす影響の検討

小緒	51
材料と方法	53
結果	56
考察	64
小括	67

第Ⅴ章 ネコの網膜・脈絡膜疾患に対する蛍光眼底造影検査法の臨床応用における検討

小緒	68
材料と方法	70
結果	74
考察	82

小括	84
総括	85
謝辞	89
引用文献	90

緒 論

獣医眼科臨床において、ネコの眼底疾患はしばしば遭遇する疾患であり、中でも高血圧性網膜症は高齢のネコにおける眼底疾患で高い割合を占める。高血圧による眼底病変は網膜および脈絡膜血管の障害程度により変化し、初期にみられる網膜血管の狭細化や直線化といった軽度なものから、網膜出血や網膜血管の蛇行などといった変化まで様々である。また最終的に脈絡膜毛細血管板の機能不全によって網膜色素上皮が障害されることで漿液性網膜剥離が引き起こされ、視覚喪失に至ることも少なくない[2, 54, 67, 78]。

ネコの網膜・脈絡膜疾患の診断には、直像検眼鏡や倒像検眼鏡による眼底検査、電気生理学的検査である網膜電図検査およびフルオレセイン (Fluorescein; FLUO) 色素を用いた蛍光眼底造影検査 (Fluorescein angiography; FA) が用いられている[13, 25, 65, 66]。しかしながら、これらの検査法は、いずれも網膜における形態および機能評価には適しているものの、広範囲のタペタム細胞層およびノンタペタム領域の色素層に遮られた脈絡膜を評価するには至っていない[3, 91]。脈絡膜は網膜と強膜の間にある薄い膜で、毛細血管が張り巡らされ、網膜視細胞層へ酸素、養分を運び支持する重要な器官である[58]。網膜に隣接し構造的、機能的関与の深い脈絡膜の血行動態の異常を把握することは、網膜の異常を捉えるのと同様にネコの視覚異常を評価する上で極めて重要であり、低侵襲な検査法の開発が望まれている。

医学領域では、このような欠点を補う方法として、インドシアニングリーン (Indocyanine green; ICG) 色素を用いた蛍光眼底造影検

査 (Indocyanine green angiography; IA) が用いられている [5, 96]。ICG 色素は、その光学的大よび生物物理学的特性により、脈絡膜血管の造影剤として広く用いられ研究されている。ICG は分子量 774.96 の水溶性色素であり、励起波長、吸収波長のいずれも近赤外領域にあるという特性を有している。最大吸収波長は 780 nm (血漿蛋白と結合後は 810 nm)、最大蛍光波長は 825 nm であり、そのためこれらの波長は、網膜色素上皮層やキサントフィルなどの眼内組織、網膜下の漿液や出血、滲出斑などを容易に透過することができる [9, 40, 99]。また、ICG 色素は約 98 %以上が血漿蛋白と結合し、高分子化することから、有窓構造を有する脈絡膜毛細血管板からの漏出が生じにくく、脈絡膜血管を明瞭に描出できる利点を有している [4, 12, 19, 40, 48]。一方、FLUO 色素は分子量が 376 と小さく、励起光が短波長であることから網膜色素上皮層の透過性が低く、また約 20 %が血漿蛋白と結合せずにフリーな状態で存在することから、脈絡膜血管の描出は困難である [70, 72, 97]。

IA は、FA では困難である脈絡膜病変の検出に優れており、医学領域においては網膜あるいは網膜色素上皮層への脈絡膜新生血管の伸展により滲出性病変を生じる加齢黄斑変性症や、ブルッフ膜断裂による脈絡膜血管の破綻と新生血管を伴う強度近視、脈絡膜血管透過性亢進に伴い漿液性網膜剥離を生じる中心性漿液性脈絡網膜症、および脈絡膜炎を呈すフォークトー小柳ー原田病などの診断において必要不可欠な方法として位置付けられている [74, 83, 96]。また、FA は網膜病変の描出に、IA が脈絡膜病変の描出に適するという両者の特性を利用することで、網膜および脈絡膜における病態の相互関係を明らかにしている [35, 40]。

本研究の目的は、ネコの網膜および脈絡膜疾患に対する診断上の問題点を解決するために新たな診断法を開発することであり、ヒトで実施されている ICG 色素を用いた蛍光眼底造影法をネコに応用するとともに、従来から主として網膜に対する蛍光眼底造影法としてネコにおいても実施されてきた FA を併用し、基礎的および臨床的にその有用性を検討した。第 I 章では、正常猫を用いて、IA の有用性を従来から用いられている FA と比較することによって検証し、ネコにおける IA の適応を検討した。第 II 章では、ネコにおいて最適な投与濃度を決定するために、IA における ICG 色素投与濃度を検討した。第 III 章では、臨床応用するにあたり、その安全性を確認するために ICG 色素と FLUO 色素投与における副作用の発現頻度を検討し、その予防策として予測試験の有用性を検討した。第 IV 章では、IA での ICG 色素投与による網膜毒性を評価するために、IA を実施したネコにおいて ICG 色素投与前後で ERG を記録し、ICG 色素の静脈内投与が網膜機能に及ぼす影響を検討した。第 V 章では、IA および FA を併用した新たな検査法が臨床応用可能かを検証するため、臨床症例を用いてその有用性を検討した。

第 I 章 ネコにおけるインドシアニングリーン蛍光眼底造影検査 (IA) とフルオレセイン蛍光眼底造影検査 (FA) の比較に よる検討

小 緒

眼底検査では、構造的異常の有無を捉えるのに対して、蛍光眼底造影検査では、網膜や脈絡膜循環、網膜色素上皮細胞間のバリア機能(血液網膜関門)異常や細かな血管の異常を捉えることができる。蛍光眼底造影検査法には、FLUO色素を用いるFAとICG色素を用いるIAの二者が存在する[35, 40]。FAは1961年にNovotonyら[71]によって開発されて以来急速に普及し、現在では多くの眼底疾患の診断治療に必要不可欠な検査法となっている。一方、IAは1973年にFlowerら[15]によって開発された蛍光眼底造影法であるが、撮影装置の改良に伴い、近年になって医学領域で臨床応用が活発となり始めた比較的新しい検査法である。FAは網膜血管の描出に、IAは脈絡膜血管の描出に優れることから、両者の造影所見を併せて解釈することにより、眼底疾患の適格な診断、治療および発生病理をより詳しく理解することが可能となっている。

ICG色素より得られる蛍光の強さは、FLUO色素と比較すると1/50~1/25と弱く、医学領域で従来用いられていた赤外線フィルムでは解像度が悪いという問題があった[4, 40, 87]。近年、Hayashiら[22]は、その弱い蛍光を撮影するために赤外線領域に高感度なビデオカメラ(charged coupled device; CCD)を眼底カメラに装備することで、解像度の高い蛍光眼底造影を可能とした。これにより、医

学領域での臨床使用が容易となり、最近の IA の発展に至っている [81]。一方、ICG 蛍光眼底造影法の動物での研究は、サル [87]、ネコ [26]、家兎 [38]、ラット [5] およびイヌ [93] において報告がなされている。Hill ら [26] は、ネコに対して IA を適用しているが、タペタムによる遮蔽効果や、ノンタペタム領域の色素層が原因で、脈絡膜血管を観察することは不可能であったと報告している。しかしながら、これは感度の低い赤外線フィルムを用いたためであり、Wakaiki ら [93] は、高感度 CCD 眼底カメラを用いることで、ネコの眼底に類似するイヌにおいて、脈絡膜動脈および静脈の観察が、タペタムおよびノンタペタム領域にかかわらず可能であったと報告している。

そこで、本章では、高感度 CCD カメラを備えた眼底カメラを用い、正常猫における IA 像を、既に行われている FA 像と比較して評価し、ネコにおける IA の有用性を検討した。

材料と方法

1. 供試動物

酪農学園大学伴侶動物医療学分野において飼育管理されている临床上健康な実験猫 6 頭を用いた。品種はアメリカ在来種で、年齢は全頭 1 歳齢、性別は雄 3 頭、雌 3 頭、体重は 3.5 kg~4.9 kg (平均 4.1 kg) であった。被検眼はすべての対象において右眼とした。すべての対象は、蛍光眼底造影検査前に眼科検査として威嚇瞬目反応、眩目反射、対光反射、細隙灯顕微鏡 (SL-D7, トプコン, 東京) による前眼部検査、倒像鏡 (充電式ブライトスコープ, ナイツ, 東京) および眼底カメラ (TRC50IX, トプコン, 東京) による眼底検査を行い、異常がみられなかったものを用いた。対象は、蛍光眼底造影検査開始 12 時間前より絶食、8 時間前より絶水処置を行った。本研究は酪農学園大学実験動物委員会に定めるガイドラインに従って実施した (動物実験承認番号: 第 VH25B7 号)。

2. 蛍光眼底造影装置

IA および FA には、高感度 CCD が装備されている眼底カメラ (TRC50IX, トプコン, 東京) を用いた。眼底カメラには、IA の透過光線波長 805 nm の励起フィルターおよび 835 nm の濾過フィルター、FA の 490 nm の励起フィルターおよび 520 nm の濾過フィルターがそれぞれ内蔵されており、得られた造影像の記録はトプコン IMAGENet2000 システムおよび HDD レコーダーにて行った。撮影は、画角が 50° の通常撮影に加え、Sutoh ら [86] の方法を参考に 20 D 倒像レンズ (OI-20, Ocular Instrument, U.S.A) をカメラ前面に装着さ

せることによって画角を広角に変更する広角撮影も行った（図 1）。

3. 蛍光眼底造影

蛍光眼底造影検査は、0.5%トロピカミドと0.5%塩酸フェニレフリンの合剤（ミドリン P，参天，大阪）の点眼による散瞳処置後に実施した。撮影は、塩酸メデトミジン 0.01 mg/kg（ドルベネ注，共立製薬，東京）、ミダゾラム 0.15 mg/kg（ミダゾラム注，サンド株式会社，東京）および酒石酸ブトルファノール 0.025 mg/kg（ベトルファノール，Meiji Seika ファルマ，東京）の混合静脈内投与による鎮静処置下にて行った。対象を不動化させた後、伏臥位で頭部が眼底カメラの中央に位置するように保定した。また、撮影は被検眼を用手にて開眼させ行った。

ICG 色素（ジアグノグリーン，第一製薬，東京）は、1 mg/kg を橈側皮静脈に設置した血管カテーテル（サーフロー F&F，テルモ，東京）よりボラス投与し、その直後に生理食塩液 5 ml（生食注，大塚製薬，東京）にてカテーテル内をフラッシュした。撮影は、赤外光量を最大の 20 mW に固定した状態で開始し、蛍光輝度に合わせ赤外光量を調節しながら 40 分まで継続的に 30 フレーム/秒で撮影した。

FLUO 色素（10%フルオレサイト注射液 1号，日本アルコン，東京）は、Schaepdrijver ら [80] の方法に準じ、10 mg/kg を ICG 蛍光眼底造影と同様の手順で投与し、眼底カメラにて造影像を撮影した。

4. 造影像の解析

IA 像の詳しい観察や測定は、造影終了後に HDD レコーダーの記

録をもとに行った。得られた造影像は、Iida ら [32] および Orlock ら [73] の報告に従い、造影開始から色素が消退するまでの造影像の変化を初期、中期および後期に分類した。造影初期はさらに、脈絡膜動脈の流入が始まる脈絡膜動脈相、脈絡膜静脈の流入が始まる脈絡膜動静脈相、脈絡膜静脈の蛍光が脈絡膜動脈より優位になる脈絡膜静脈相の 3 つの時期に区分した。造影中期は眼底全域にび慢性の淡い蛍光が加わる時期、造影後期は脈絡膜血管の蛍光が消退する時期とし、ICG 色素投与後の各時相の開始時間を測定した。

FA 像の解析は、造影終了後にトプコン IMAGENet2000 システムの記録をもとに行い、色素を静脈内投与してから、色素が眼底に出現するまでの時間を表す腕-網膜時間、網膜動脈の流入が始まる網膜動脈相、網膜静脈の流入が始まる網膜動静脈相、網膜静脈の蛍光が網膜動脈より優位になる網膜静脈相の開始時間をそれぞれ測定した。



図 1. 眼底カメラ TRC501X

高感度 CCD カメラが装備されている（赤矢印）。また広角撮影のために、眼底カメラの前面に 20D 倒像レンズを装着している（黄矢印）。

結果

各供試猫の ICG 色素投与後における各時相の開始時間を表 1 に示した。造影初期である脈絡膜動脈相は ICG 色素投与後 12.3 ± 3.4 秒（平均値 \pm 標準偏差）に始まり、脈絡膜動脈が視神経乳頭を中心とし、赤道部へ向かって放射状に造影されるのが観察された（図 2B）。網膜動脈への ICG 色素の流入開始は、脈絡膜動脈とほぼ同時に観察された。脈絡膜動静脈相は 16.2 ± 4.1 秒に始まり、造影された血管径の太い脈絡膜静脈が同動脈の脇に沿って走行するように観察された（図 2C）。その後、網膜および脈絡膜に見られるすべての血管に ICG 色素が満たされるようになった。この時期に視神経乳頭の蛍光の検出も同様に始まり、徐々に蛍光強度が増していった。脈絡膜静脈相は 22.0 ± 4.3 秒に始まり、眼底全域の充盈に伴い脈絡膜動脈の蛍光は徐々に減弱し、タペタムおよびノンタペタム領域の両領域において放射状に広がる脈絡膜静脈が顕著に観察された（図 2D）。造影中期は ICG 色素投与後、 5.8 ± 1.5 分に始まり、眼底全域にび慢性の淡い蛍光が加わると同時に、脈絡膜血管の退色が徐々に観察された（図 2E）。造影後期は ICG 色素投与後、 18.8 ± 2.9 分に始まり、脈絡膜血管および視神経乳頭から色素が完全に退色し、び慢性のベール状脈絡膜蛍光が顕著に観察された（図 2F）。

各供試猫の FLUO 色素投与後における各時相の開始時間を表 2 に示した。FLUO 色素を静脈内投与してから、色素が眼底に出現するまでの時間を表す腕－網膜時間は FLUO 色素投与後 15.7 ± 3.8 秒（平均値 \pm 標準偏差）であった（図 3A）。網膜動脈に蛍光がみられる網膜動脈相は 17.3 ± 3.6 秒に始まった。また、脈絡膜血管への色素

の流入もほぼ同時に始まり、タペタム領域にび慢性の蛍光が観察された（図 3B）。網膜動静脈相は 22.0 ± 3.6 秒に始まり、血管径の太い網膜静脈が同動脈の脇に沿って走行するように観察された（図 3C）。すべての網膜静脈に色素が充盈する網膜静脈相は 31.2 ± 4.1 秒に始まり、網膜動脈の蛍光が徐々に減弱するとともに、網膜静脈の蛍光が顕著に観察された（図 3D）。

IA および FA 像を比較すると、造影初期の間は IA 像において、FA 像にはない多数の点状蛍光が、タペタム領域に限局して観察された（図 4）。また、IA 像では網膜血管の主要な血管は FA 像と同様に観察できるものの、網膜細動脈や同毛細血管については FA 像ほど明瞭に描出することはできなかった。

ICG 色素 1mg/kg によるネコの IA は、FA では確認不可能な脈絡膜血管を観察することが可能であった。広角撮影は、画角 50° の撮影に比べ、タペタム領域を一画像で捉えることができ、脈絡膜動脈と同静脈の違いや血管の走行を容易に観察することが可能であった。

表 1. 各供試猫の ICG 色素投与後における各時相の開始時間

供試猫 No.	造影開始時間				
	造影初期 (秒)			造影中期 (分)	造影後期 (分)
	脈絡膜 動脈相	脈絡膜 動静脈相	脈絡膜 静脈相		
1	11	16	24	7	20
2	13	17	23	7	23
3	9	12	16	6	19
4	18	23	28	4	14
5	14	17	23	7	19
6	9	12	18	4	18
AVG ± SD	12.3 ± 3.4	16.2 ± 4.1	22.0 ± 4.3	5.8 ± 1.5	18.8 ± 2.9

AVG ± SD : 平均値 ± 標準偏差

表 2. 各供試猫の FLUO 色素投与後における各時相の開始時間

供試猫 No.	造影開始時間 (秒)			
	腕－網膜時間	網膜動脈相	網膜動静脈相	網膜静脈相
1	19	20	22	31
2	17	18	23	33
3	10	12	16	24
4	20	22	27	36
5	15	17	23	33
6	13	15	21	30
AVG ± SD	15.7 ± 3.8	17.3 ± 3.6	22.0 ± 3.6	31.2 ± 4.1

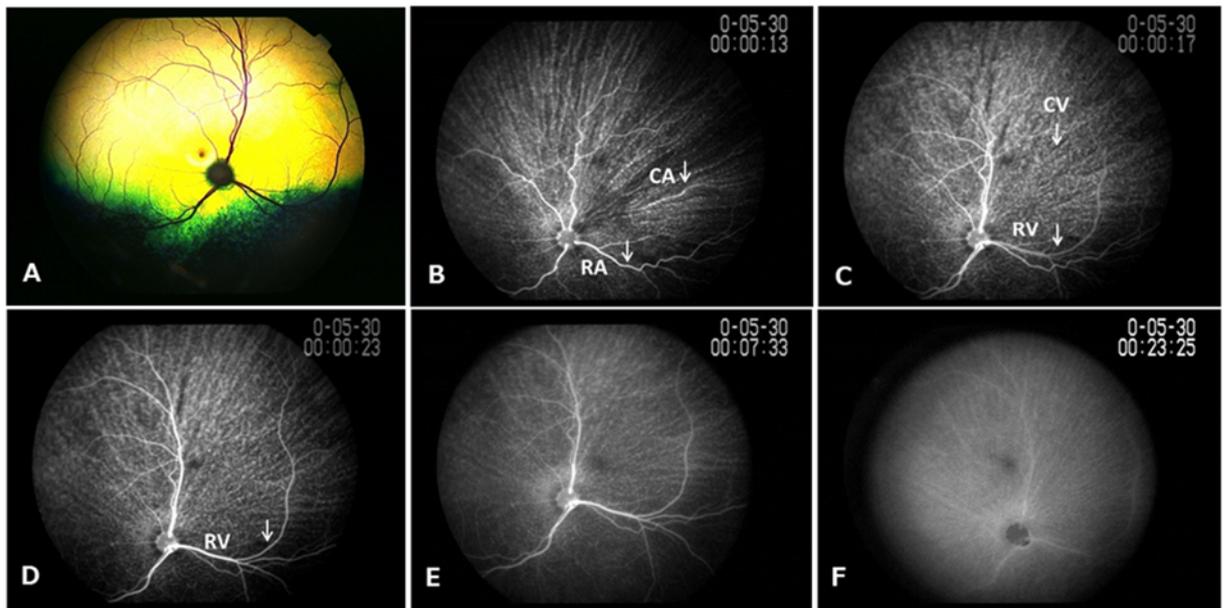


図 2. ICG 色素投与後の造影像の変化

A : 正常眼底像, B : 脈絡膜動脈相, C : 脈絡膜動静脈相
 D : 脈絡膜静脈相, E : 造影中期, F : 造影後期
 CA : 脈絡膜動脈, CV : 脈絡膜静脈, RA : 網膜動脈, RV : 網膜静脈

供試猫 No.2 の右眼の広角撮影像である。写真右上の数字のうち、下段は色素投与後の経過時間を示す。造影初期である脈絡膜動脈相では、脈絡膜動脈が視神経乳頭を中心とし、赤道部へ向かって放射状に造影されるのが観察された。網膜動脈の造影も脈絡膜動脈とほぼ同時に観察された。脈絡膜動静脈相では、造影された血管径の太い脈絡膜静脈が同動脈の脇に沿って走行するように観察された。脈絡膜静脈相では、眼底全域の充盈に伴い脈絡膜動脈の蛍光は徐々に減弱し、タペタムおよびノンタペタム領域の両領域において放射状に広がる脈絡膜静脈が顕著に観察されるようになった。造影中期では、眼底全域にび慢性の淡い蛍光が加わると同時に、脈絡膜血管の退色が徐々に観察された。造影後期では、脈絡膜血管および視神経乳頭から色素が完全に退色し、び慢性のベール状脈絡膜蛍光が顕著に観察された。

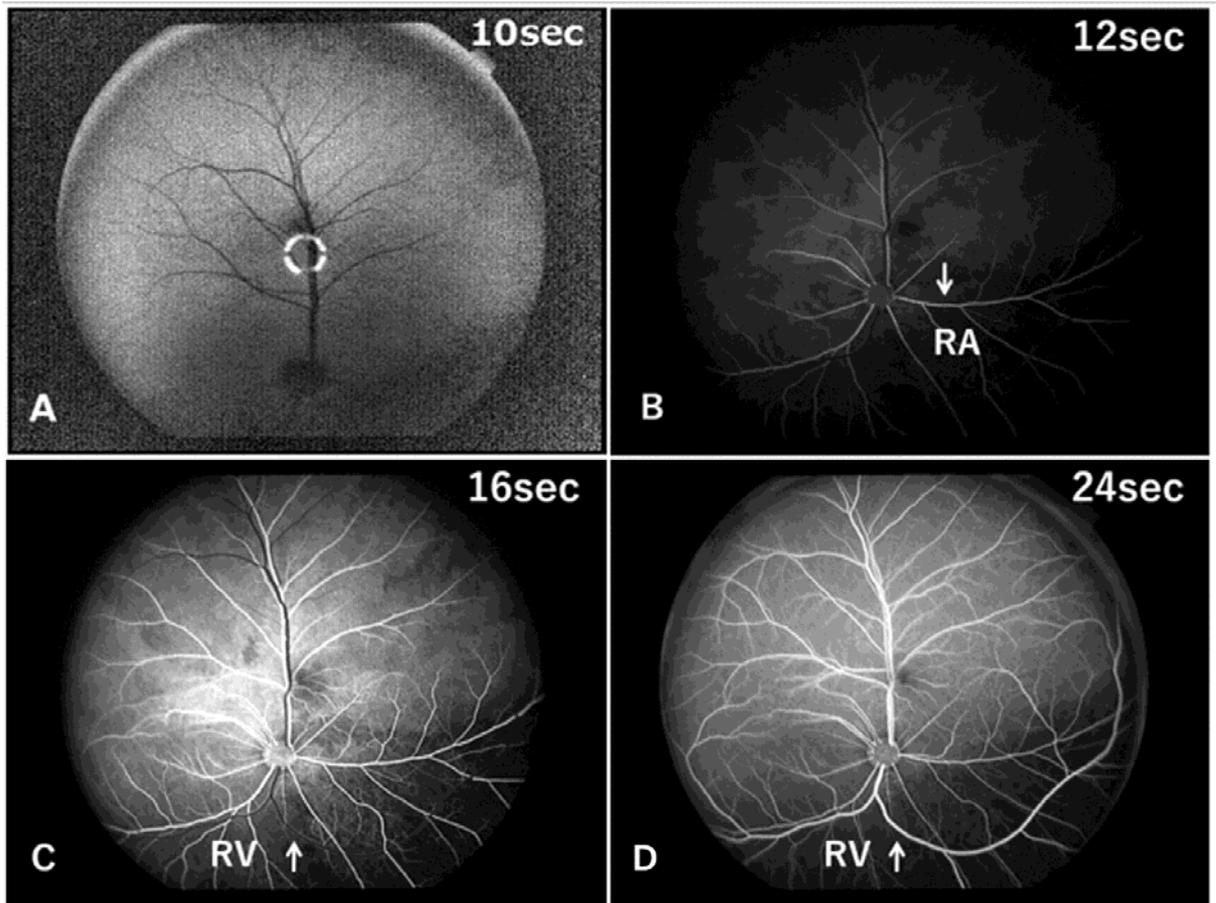


図 3. FLUO 色素投与後の造影像の変化

A : 腕－網膜時間, B : 網膜動脈相, C : 網膜動静脈相,
 D : 網膜静脈相
 RA : 網膜動脈, RV : 網膜静脈

供試猫 No.3 の右眼の広角撮影像である。写真右上の数字は色素投与後の経過時間を示す。腕－網膜時間は FLUO 色素投与後 15.7 ± 3.8 秒（平均値 \pm 標準偏差）であった。網膜動脈相では、網膜動脈が造影されるのが顕著に観察された。また、脈絡膜血管の造影も、網膜動脈とほぼ同時に始まり、タペタム領域にび慢性の蛍光が観察されるようになった。網膜動静脈相では、血管径の太い網膜静脈が同動脈の脇に沿って走行するように観察された。網膜静脈相では、網膜動脈の蛍光が徐々に減弱し、網膜静脈の蛍光が顕著に観察されるようになった。

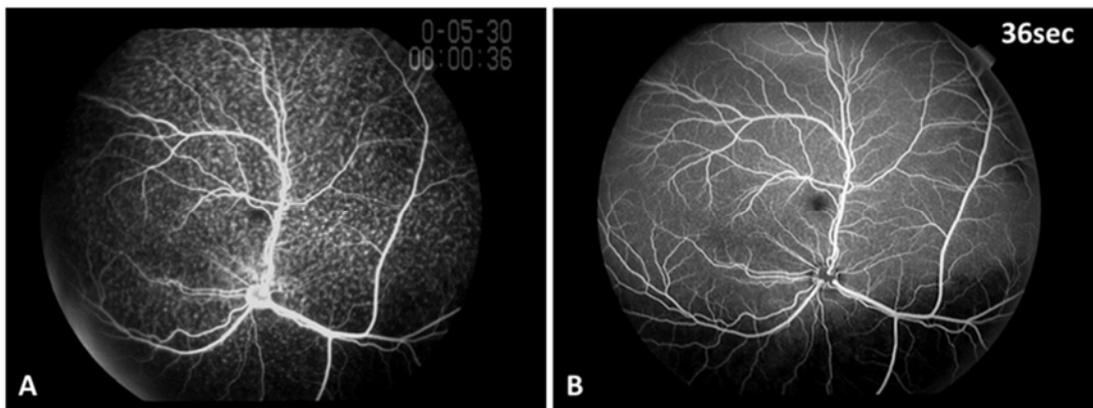


図 4. IA および FA 像の比較

A : IA 像, B : FA 像

供試猫 No.4 の右眼の広角撮影像である。A のタペタム領域に、B ではみられない点状蛍光が多数みられる。

考察

Hill ら [26] は、イヌの眼底に類似したネコに対して、ICG 蛍光眼底造影検査を適用しているが、タペタムによる遮蔽効果やノンタペタム領域の色素層が原因で、脈絡膜血管を観察することは不可能であったと報告している。しかしながら、これは感度の低い赤外線フィルムを用いたためであり、本研究では、IA に高感度 CCD 眼底カメラを用いることで、健常猫における脈絡膜動脈および静脈の観察が、タペタムおよびノンタペタム領域にかかわらず可能であった。また、ネコにおける IA は、鎮静下で円滑に実施可能であり、イヌと同様の色素投与量 [93] で FA では観察不可能であった脈絡膜血管を容易に描出できた。

ネコの IA における脈絡膜血管流入から退色までの過程は、ヒトの報告 [32, 73] と同様に、初期、中期および後期に分類することが可能であった。色素の流入遅延や欠損によってみられる低蛍光や、漏出によってみられる過蛍光といった異常所見を見分けるうえで、造影時間は重要な判断材料の一つである。故に、この分類は、ネコにおいても脈絡膜層の各部位を評価する手段として役立ち、注目すべき造影像を観察する時間を推測する助けになると考えられる。

本研究のネコの IA 像において、イヌと同様ではあるが、ヒトとは異なる所見が 2 つ観察された。まず第 1 に、ヒトでは網膜血管よりわずかに脈絡膜血管の流入開始時間が早いと報告されているが [4, 99]、ネコもイヌ同様に、網膜血管と脈絡膜血管への色素流入がほぼ同時に開始した。これはイヌと同様にネコとヒトでは眼底の血管構築が異なるためと考えられる。ヒトでは網膜中心動脈が網膜動

脈へ、短毛様体動脈が脈絡膜動脈へ別々に血液を供給している[4]。しかしながら、イヌやネコでは網膜中心動脈が存在せず、短毛様体動脈が網膜および脈絡膜の両動脈に連結しているため[77]、網膜動脈相および脈絡膜動脈相の開始時間が同時であったと考えられる。第2に、脈絡膜動脈は、ヒトでは黄斑部を起始として広がると報告されているが[98]、ネコでは視神経乳頭周囲を起始として広がるのが観察された。これは、ヒトとネコでの脈絡膜における血流の違いによるものと考えられる。ヒトに類似の眼底構造を持つサルでは、黄斑部の脈絡膜血流量が周辺部と比較し約10倍多いが、ネコではそのような血流量の異なる領域は存在しないと報告されている[73]。このことから脈絡膜動脈が視神経乳頭周囲を起始とし広がったものと考えられる。

また、本研究において、イヌとも異なる2つの所見が観察された。第1に、造影開始時間はすべての時相において、イヌのIAに関する既報[93]と比較すると短時間であった。造影開始時間に影響を及ぼす因子として、造影剤の投与速度、造影剤の投与部位および検査時の動物の循環状態などがあげられる[31]。しかし、本研究では、イヌに関する既報と同様の投与速度で造影剤を投与しており、また造影剤投与部位も同様の橈側皮静脈からであったため、これらが造影開始時間の違いに影響したとは考え難い。蛍光眼底造影検査時の動物の循環状態は、主に鎮静に使用する薬剤に影響される。本研究で検査時に使用した鎮静剤のうち、メデトミジンは循環抑制を起こすことが知られている薬剤である[62]。本研究で使用したメデトミジンの投与量はイヌの既報と同様であったものの、イヌとネコではメデトミジン投与による循環抑制の程度が異なる可能性があり、こ

れによって造影開始時間に違いがみられたとも考えられる。一方で Wakaiki ら[93]は、蛍光色素の半減期の違いにより、造影開始時間が変化すると報告している。ICG 色素の半減期は、イヌで約 9 分[7]であるのに対し、ネコでは約 4 分[8]であるため、イヌとネコで造影開始時間に違いがみられたものと考えられた。第 2 に、造影初期に多数の点状蛍光がタペタム領域に数多く観察された。脈絡膜毛細血管板への血液供給は短毛様体動脈が担っており、タペタム層を通過する部分が脈絡膜毛細血管板の面に対してほぼ垂直に連絡している[77]。つまり、この垂直方向に横切る短毛様体動脈が点状の蛍光となって描出されたと考えられる。また、タペタム領域は動物種によりその範囲は異なっており、眼底の広範囲を発達したタペタム領域が占めるネコでは、イヌに比べて多数の点状蛍光が描出されたと考えられた。

本研究の結果から、FA が網膜血管の描出に、IA が脈絡膜血管の描出にネコでも使用できることが明らかとなった。網膜および脈絡膜は、網膜色素上皮という色素層を挟み上下に隣接した構造を形成しており、眼底にみられる疾患の病態は網膜または脈絡膜どちらか一方に限局することはない [4]。FA が色素層による遮蔽のない網膜血管を、IA が色素層に遮蔽された脈絡膜血管をそれぞれ評価する利点を有しており、その両者を併せて用いることはネコにおいても重要であると考えられた。結論として、IA は、ネコの脈絡膜血管を評価する検査法として有用であり、FA と併用することで、ネコの網膜・脈絡膜を相互評価する正確かつ簡便な生体検査法として有効であると考えられた。

小括

脈絡膜血管の描出に適する IA は、イヌでは造影像の評価が報告されているものの、ネコでは報告されていない。そこで本章では、正常猫における IA 像を、従来から用いられている FA 像と比較することで評価した。

正常猫においても IA によって FA では観察不可能であった脈絡膜動脈および静脈の観察が、タペタムおよびノンタペタム領域にかかわらず可能であった。また、ネコの IA における脈絡膜血管流入から退色までの過程は、ヒトの報告と同様に、初期、中期および後期に分類することが可能であった。脈絡膜動脈相は ICG 色素投与後 12.3 ± 3.4 秒（平均 \pm 標準偏差）、脈絡膜動静脈相は 16.2 ± 4.1 秒、脈絡膜静脈相は 22.0 ± 4.3 秒に始まり、視神経乳頭を中心とし脈絡膜動脈が放射状に広がった後、脈絡膜動脈に沿って脈絡膜静脈が観察された。造影中期は 5.8 ± 1.5 分に始まり、眼底全域にび漫性の蛍光が観察された。造影後期は 18.8 ± 2.9 分に始まり、脈絡膜血管の退色が徐々に観察された。また、造影初期の間は IA 像において、FA 像ではみられなかった脈絡膜血管が明瞭に観察された。

以上より、IA は、ネコの脈絡膜血管を評価する検査法として有用であり、FA と併用することで、ネコの網膜・脈絡膜を相互評価する正確かつ簡便な生体検査法として有効であると考えられた。

第Ⅱ章 ネコの IA における ICG 色素投与濃度の検討

小 緒

IA は、脈絡膜血管を評価する検査法として有用であり、網膜血管の描出に有用な FA と併用することで、ネコにおいても網膜および脈絡膜を相互評価できる、正確かつ簡便な生体検査法として期待されている[35, 40]。

FA における FLUO 色素の投与濃度はほとんどの動物種において確立されている[24]。一方、IA においては使用される ICG 色素投与濃度に関する過去の研究にはさまざまな報告があり、Guyer ら[18]はヒトで 1~2 mg/kg、Suzuki ら[87]はサルで 1 mg/kg、そして Kano ら[38]は家兎で 0.8~1.6 mg/kg の投与濃度を使用している。また、ICG 色素の最大蛍光が得られる血中濃度に関する報告では、0.015 mg/ml[99]または 0.03 mg/ml[16]であると考えられており、この値より濃度を高くしても蛍光強度は変わらないとされている。イヌに 1 mg/kg の ICG 色素を静脈内投与した場合、投与後 3 分まで最大蛍光と考えられる血中濃度を維持していたと Center ら[7]は報告している。

IA は、ICG 色素を静脈内に投与して眼底血管を造影する検査法であるが、投与する ICG 色素の濃度により造影像が変化することが予想される。眼底の解剖学的構造は動物種によって大きく異なる[77]。中でもネコは他の動物種に比べ、眼底の広範囲を発達した反射性の強いタペタム領域が占めており、脈絡膜の血管構造は極めて複雑である[13, 77]。また、脈絡膜循環の血流速度は網膜循環の 40~50 倍

ほどに相当し、非常に速い血流速度を有するといわれている[13]。このため、ネコの IA において明瞭な造影像の描出および詳しい解析を行う際には特有の ICG 色素投与濃度を設定する必要がある。しかしながら、ネコの IA に関する報告は乏しく、IA を行うにあたって最適である ICG 色素投与濃度についての報告は見当たらない。

そこで、本章では、ネコの IA において脈絡膜を評価する際に、有効な ICG 色素投与濃度を検討することを目的とし、ICG 色素投与濃度を変化させて IA を実施し、その造影像および造影時間の変化を観察した。

材料と方法

1. 供試動物

酪農学園大学伴侶動物医療学分野において飼育管理されている臨床健康な実験猫 5 頭を用いた。品種はアメリカ在来種で、年齢は全頭 2 歳齢、性別は雄 3 頭、雌 2 頭、体重は 3.1 kg~5.4 kg (平均 4.3 kg) であった。被検眼はすべての対象において右眼とした。すべての対象は、蛍光眼底造影検査前に眼科検査として威嚇瞬目反応、眩目反射、対光反射、細隙灯顕微鏡 (SL-D7, トプコン, 東京) による前眼部検査、倒像鏡 (充電式ブライトスコープ, ナイツ, 東京) および眼底カメラ (TRC50IX, トプコン, 東京) による眼底検査を行い、異常がみられなかったものを用いた。対象は、蛍光眼底造影検査開始 12 時間前より絶食、8 時間前より絶水処置を行った。本研究は酪農学園大学実験動物委員会に定めるガイドラインに従って実施した (動物実験承認番号: 第 VH14B5 号)。

2. 蛍光眼底造影装置

IA には、第 I 章と同様の高感度 CCD が装備されている眼底カメラ (TRC50IX, トプコン, 東京) を用いた。得られた造影像の記録はトプコン IMAGEnet2000 システムおよび HDD レコーダーにて行った。撮影は、20 D 倒像レンズ (OI-20, Ocular Instrument, U.S.A) をカメラ前面に装着させることによる広角撮影で行った。

3. 蛍光眼底造影

IA は、0.5 %トロピカミドと 0.5 %塩酸フェニレフリンの合剤 (ミ

ドリン P, 参天, 大阪) の点眼による散瞳処置後に実施した。

ICG 色素 (ジアグノグリーン, 第一製薬, 東京) は、投与する濃度を 0.1、0.5、1.0、2.0 および 4.0 mg/kg の 5 段階に設定した。投与量の設定は Hill ら [26] の報告を参考にし、ICG 色素 25 mg を蒸留水 (注射用水, 日本薬局方, 東京) 2.5 ml で溶解し、最大投与濃度の 4.0 mg/kg に投与量を合わせて、設定した 5 段階全濃度で体重当たりの投与量を一定にした。メスアップには蒸留水を使用した。

撮影は、第 I 章と同様に、塩酸メデトミジン 0.01 mg/kg (ドルベネ注, 共立製薬, 東京)、ミダゾラム 0.15 mg/kg (ミダゾラム注, サンド株式会社, 東京) および酒石酸ブトルファノール 0.025 mg/kg (ベトルファノール, Meiji Seika ファルマ, 東京) の混合静脈内投与による鎮静処置下にて行った。対象を不動化させた後、伏臥位で頭部が眼底カメラの中央に位置するように保定した。また、撮影は被検眼を用手にて開眼させ行った。その後、ICG 色素を橈側皮静脈に設置した血管カテーテル (サーフロー F&F, テルモ, 東京) よりボラス投与し、その直後に生理食塩液 5 ml (生食注, 大塚製薬, 東京) にてカテーテル内をフラッシュした。撮影は、赤外光量を最大の 20mW に固定した状態で開始し、蛍光輝度に合わせ赤外光量を調節しながら、視神経乳頭の蛍光が消失するまで継続的に 30 フレーム/秒で撮影した。

4. 造影像の解析

第 I 章と同様に IA 像の解析は、HDD レコーダーの記録をもとに行い、得られた造影像を造影初期、中期および後期に分類した。造影初期はさらに、脈絡膜動脈相、脈絡膜動静脈相、脈絡膜静脈相の

3つの時相に区分した。また、造影中期は眼底全域にび慢性の淡い蛍光が加わる時期、造影後期は脈絡膜血管の蛍光が消退する時期とし、ICG色素投与後の各時相の開始時間を測定した。加えて、視神経乳頭の蛍光が消失した時期を色素消退時間とし、これを測定した。

5. 評価および統計学的解析

各 ICG 色素投与濃度における各時相の開始時間および色素消失時間を比較した。比較には多重比較検定の一元配置分散分析法を用いて、 $P < 0.05$ で有意とした。

結果

1. IA 像の変化

得られた造影像の変化について図 5~7 に示した。ICG 色素を橈側皮静脈より注入すると、まず脈絡膜動脈が視神経乳頭を中心として赤道部へ向かって放射状に造影された。この時、網膜動脈もほぼ同時に造影された。その後、脈絡膜静脈の中でも径の太い血管が脈絡膜動脈の脇に沿って走行するように造影され、次第に網膜および脈絡膜の全ての血管が造影された。この時期にタペタム領域の中心部に点状の蛍光が出現し、さらに視神経乳頭も造影され始めた。その後、脈絡膜動脈の蛍光は徐々に減弱し、タペタムおよびノンタペタム領域の両領域において放射状に広がる脈絡膜静脈が顕著に観察されるようになった。放射状に広がる脈絡膜血管の蛍光強度が減弱した後に、再び脈絡膜血管の蛍光強度が増加した。この再蛍光は ICG 色素投与濃度 0.1、0.5 および 1.0 mg/kg では観察されなかったが、ICG 色素投与濃度 2.0 mg/kg では 2 頭で観察された。観察された再蛍光はタペタム領域の点状蛍光のみであった。ICG 色素投与濃度 4.0 mg/kg では全頭で再蛍光が観察され、タペタム領域の点状蛍光のみでなく、放射状に走行する脈絡膜血管にも再蛍光が観察された。眼底全域の蛍光がび慢性の淡い蛍光になるのと同時に、脈絡膜血管の蛍光が減弱していった。脈絡膜血管および視神経乳頭の蛍光が減弱するのに伴って、び慢性のベール状脈絡膜蛍光が顕著に観察された。その後、脈絡膜血管の蛍光が消失した後に視神経乳頭の蛍光が消失した。

2. 各 ICG 色素投与濃度における各時相の開始時間および ICG 色素消失時間

各 ICG 色素投与濃度で得られた IA 像から時相を分類し、測定した各時相の開始時間および ICG 色素消失時間を表 3 に示した。脈絡膜動脈の流入が始まる脈絡膜動脈相の開始時間は、各 ICG 色素投与濃度とも 10 秒前後であり、設定したすべての濃度間で開始時間に有意な差はみられなかった。脈絡膜静脈の流入が始まる脈絡膜動静脈相の開始時間は、各 ICG 色素投与濃度とも 13 秒前後であり、設定したすべての濃度間で開始時間に有意な差はみられなかった。脈絡膜静脈の蛍光が脈絡膜動脈より優位になる脈絡膜静脈相の開始時間は、各 ICG 色素投与濃度とも 20 秒前後であり、設定したすべての濃度間で開始時間に有意な差はみられなかった。

眼底にび漫性の淡い蛍光が加わる造影中期の開始時間は、ICG 色素投与濃度 0.1 mg/kg では 2.0 ± 0.7 分（平均値 \pm 標準偏差）、0.5 mg/kg では 4.4 ± 1.1 分、1.0 mg/kg では 7.0 ± 0.7 分、2.0 mg/kg では 10.2 ± 0.8 分、4.0 mg/kg では 15.8 ± 1.6 分であった。ICG 色素投与濃度 4.0 mg/kg における造影中期の開始時間は、他の ICG 色素投与濃度のそれと比較し有意に延長していた。ICG 色素投与濃度 2.0 mg/kg における造影中期の開始時間は、ICG 色素投与濃度 0.1 および 0.5 mg/kg のそれと比較し有意に延長していた。

脈絡膜血管の蛍光が消退する造影後期の開始時間は、ICG 色素投与濃度 0.1 mg/kg では 6.6 ± 1.1 分、0.5 mg/kg では 9.2 ± 2.2 分、1.0 mg/kg では 15.6 ± 3.4 分、2.0 mg/kg では 20.4 ± 1.8 分、4.0 mg/kg では 35.6 ± 6.3 分であった。ICG 色素投与濃度 4.0 mg/kg における造影後期の開始時間は、他の ICG 色素投与濃度のそれと比較し有意に

延長していた。また、ICG 色素投与濃度 2.0 mg/kg における造影後期の開始時間は、ICG 色素投与濃度 0.1 および 0.5 mg/kg のそれと比較し有意に延長しており、ICG 色素投与濃度 1.0 mg/kg における造影後期の開始時間は、ICG 色素投与濃度 0.1 および 0.5 mg/kg のそれと比較し有意に延長していた。

視神経乳頭の蛍光が消失した色素消退時間は、ICG 色素投与濃度 0.1 mg/kg では 10.8 ± 2.3 分、0.5 mg/kg では 16.2 ± 3.9 分、1.0 mg/kg では 25 ± 5.0 分、2.0 mg/kg では 35 ± 3.7 分、4.0 mg/kg では 68.2 ± 5.8 分であった。ICG 色素投与濃度 4.0 mg/kg における色素消退時間は、他の ICG 色素投与濃度のそれと比較し有意に延長していた。また、ICG 色素投与濃度 2.0 mg/kg における色素消退時間は、ICG 色素投与濃度 0.1、0.5 および 1.0 mg/kg のそれと比較し有意に延長しており、ICG 色素投与濃度 1.0 mg/kg における色素消退時間は、ICG 色素投与濃度 0.1 および 0.5 mg/kg のそれと比較し有意に延長していた。

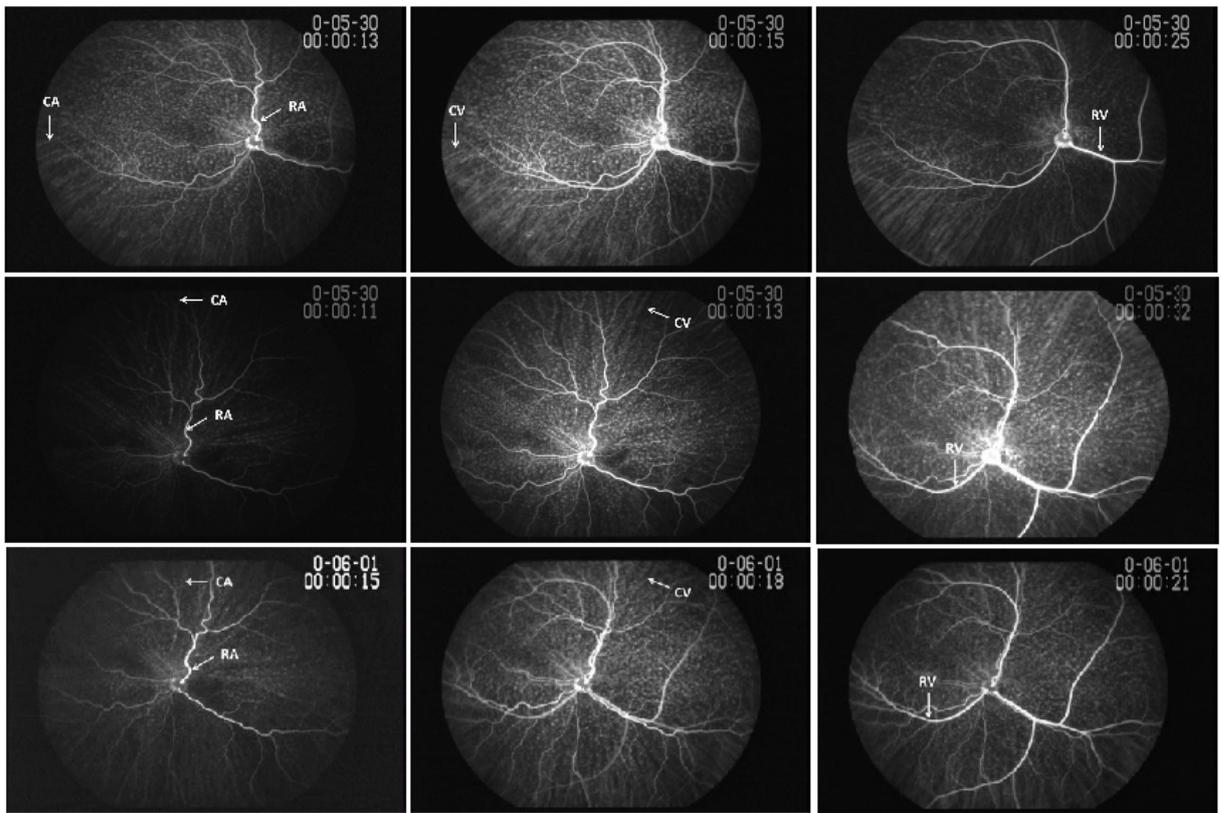


図 5. 各 ICG 色素投与濃度における造影初期の IA 像

上段：0.1 mg/kg, 中段：2.0 mg/kg, 下段：4.0 mg/kg

左列：脈絡膜動脈相, 中列：脈絡膜動静脈相, 右列：脈絡膜静脈相
 CA：脈絡膜動脈, CV：脈絡膜静脈, RA：網膜動脈, RV：網膜静脈

供試猫 No.4 の右眼の広角撮影像である。写真右上の数字のうち、
 下段は色素投与後の経過時間を示す。

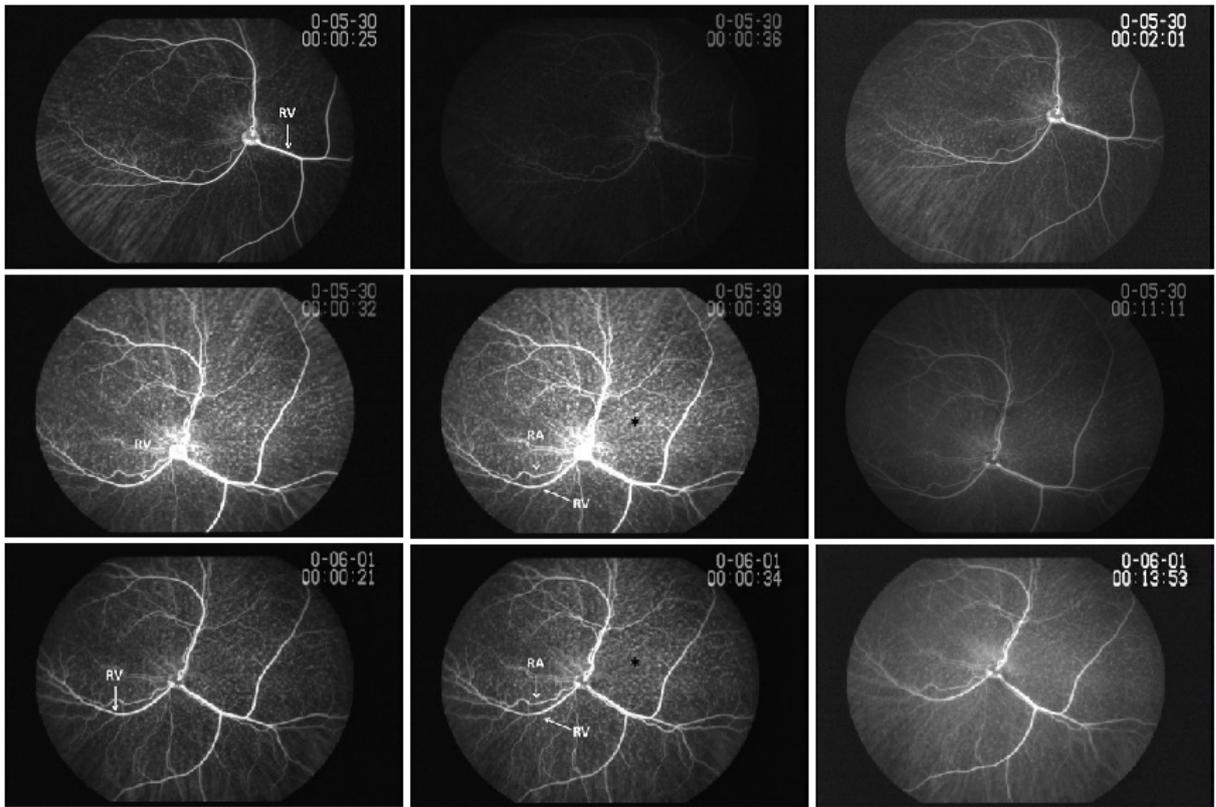


図 6. 各 ICG 色素投与濃度における脈絡膜静脈相から造影中期の IA 像

上段：0.1 mg/kg，中段：2.0 mg/kg，下段：4.0 mg/kg
 左列：脈絡膜静脈相，中列：再蛍光，右列：造影中期
 *：点状蛍光，RA：網膜動脈，RV：網膜静脈

供試猫 No.4 の右眼の広角撮影像である。写真右上の数字のうち、下段は色素投与後の経過時間を示す。ICG 色素投与濃度 0.1 mg/kg では再蛍光は見られなかった。2.0 mg/kg では点状蛍光のみ、4.0 mg/kg では網膜血管、脈絡膜血管のすべてで再蛍光がみられた。

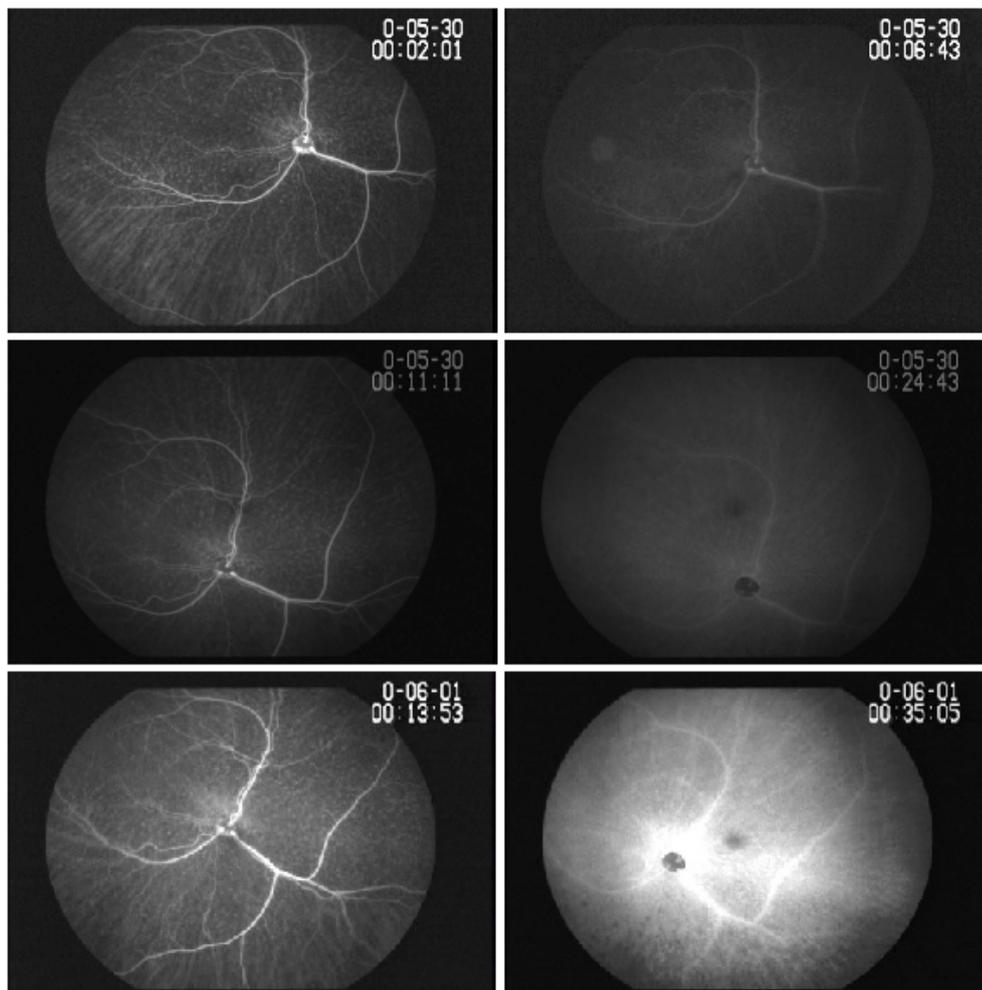


図 7. 各 ICG 色素投与濃度における造影中期から
造影後期の IA 像

上段：0.1 mg/kg, 中段：2.0 mg/kg, 下段：4.0 mg/kg
左列：造影中期, 右列：造影後期

供試猫 No.4 の右眼の広角撮影像である。写真右上の数字のうち、
下段は色素投与後の経過時間を示す。

表 3. 各 ICG 色素投与濃度における IA の各時相の開始時間および色素消退時間

ICG 色素 投与濃度 (mg/kg)	造影初期 (秒)			造影中期 (分)	造影後期 (分)	色素消退 時間 (分)
	脈絡膜 動脈相	脈絡膜 動静脈相	脈絡膜 静脈相			
0.1	10.8±2.9	14.4±2.9	20.2±4.0	2.0±0.7* †	6.6±1.1* † †	10.8±2.3* † †
0.5	10.2±1.9	13.6±2.4	22.8±2.8	4.4±1.1* †	9.2±2.2* † †	16.2±3.9* † †
1.0	10.8±2.2	14.4±2.7	23.8±1.5	7.0±0.7*	15.6±3.4*	25.0±5.0* †
2.0	9.8±1.8	12.8±2.4	22.6±3.8	10.2±0.8*	20.4±1.8*	35.0±3.7*
4.0	11.8±1.6	15.2±1.3	19.2±1.5	15.8±1.6	35.6±6.3	68.2±5.8

各時相の開始時間および色素消退時間は平均値±標準偏差で示した。造影初期開始時間には、各 ICG 色素投与濃度間で有意な差はみられなかった。*: 4.0 mg/kg との有意差 ($P < 0.05$), †: 2.0 mg/kg との有意差 ($P < 0.05$), ††: 1.0 mg/kg との有意差 ($P < 0.05$)。

考察

本研究では、健常猫を用いて様々な ICG 色素投与濃度で IA を行ったところ、すべての ICG 色素投与濃度で脈絡膜血管の描出は可能であったが、ICG 色素投与濃度が高いほうがより明瞭に描出された。

IA における各時相の造影開始時間を検討したところ、設定したすべての色素投与濃度で造影初期の開始時間に差はみられなかった。造影開始時間に影響を及ぼす因子として、造影色素の投与速度、投与量、投与部位および血流速度などがあげられる[31]。本研究では、すべての色素投与濃度において、同じ投与速度および投与量で造影色素を投与しており、また造影色素の投与部位も同じ橈側皮静脈からであった。このことから造影初期の開始時間は血流速度に起因していると考えられた。

一方、ICG 色素投与濃度を上げるにつれて、造影中期および後期の開始時間は延長した。ICG 色素は 98 %以上が血漿蛋白と結合しているため、窓構造を有する脈絡膜毛細管板からの色素漏出が少ないという特徴を有する[4, 12, 40, 48]。また、Hunton ら[30]はイヌにおいて ICG 色素投与濃度が高くなるにつれて、血漿消失率が低下することを報告している。ICG 色素は、血中から選択的に肝臓に取り込まれた後、腸管循環や腎臓では排泄されることなく、遊離型で肝臓より胆汁中に高率かつ速やかに排泄される [31, 64]。また、この代謝時に ICG 色素は化学的変化を受けないといわれている[64]。以上より、ICG 色素投与濃度を上げていくと、網膜および脈絡膜血管腔内に残存する ICG 色素量が多くなり、代謝しきれずに残存した ICG 色素により脈絡膜の蛍光が持続しているものと考えられた。

今回、ICG 色素投与濃度を上げると脈絡膜静脈相開始後に、脈絡膜血管の再蛍光が観察された。これまで IA に関する様々な報告があるが、脈絡膜静脈相開始後に再蛍光がみられたことは本研究で初めての報告となる。ICG 色素投与濃度 2.0 および 4.0 mg/kg で IA を行った場合、再蛍光が観察されたが、供試猫において脈絡膜静脈の蛍光が減弱してから再蛍光がみられるまでに要した時間は、造影初期の開始時間と一致していた。造影初期の開始時間は、橈側皮静脈に投与した ICG 色素が心臓を経て動脈系に入り、脈絡膜へ達するのに要する時間である。このことから、再蛍光は色素が再循環することにより生じていることが示唆された。また色素投与濃度が高いものほど、再蛍光が顕著に認められたのは、造影中期および後期の開始時間の延長と同様の理由からであると思われた。実際の IA の評価において、脈絡膜新生血管や癒痕組織などが造影される組織染では、IA 像において初期では造影不明瞭、後期に病変部の造影が明瞭となる所見を呈する [70]。そのため、病態解析には後期像までの連続的な評価および造影時間が重要となる。しかしながら、この再蛍光は IA において IA 像の時相による病態の解釈を困難にする可能性が示唆された。

すべての ICG 色素濃度において脈絡膜血管の形態や分布などに相違はなく、脈絡膜血管は描出されたが 2.0 および 4.0 mg/kg では他の濃度と比べて造影中期および後期開始時間が有意に延長していた。また、検査にはカメラを固視することが不可欠であり、そのため鎮静や全身麻酔による検査対象動物の不動化が必要となる。Martin ら [56]によると、麻酔薬は造影所見に影響を及ぼさないことが報告されている。しかしながら、臨床応用するにあたり、簡便で

かつ容易な方法で、なおかつ再蛍光の影響を受けず、経時的に変化する造影像を迅速に評価するうえで、ネコの IA において脈絡膜を評価するのに最も有用な ICG 色素投与濃度は 1.0 mg/kg であると考えられた。

小括

ネコにおいても IA は有用な検査であることを前章で示したが、ネコの IA を行うにあたって最適な ICG 色素投与濃度に関する報告はない。そこで本章では、ネコの IA において脈絡膜を評価するのに、最も推奨される ICG 色素投与濃度を検討することを目的とし、投与濃度を変化させた際の造影像の変化を観察した。

0.1、0.5、1.0、2.0 および 4.0 mg/kg の 5 段階全ての色素投与濃度において、脈絡膜血管は描出されたものの、ICG 色素投与濃度が高いほうがより明瞭に描出された。各時相の開始時間は、造影初期では投与濃度により差は認められなかったが、中期および後期では投与濃度を上げるにつれて開始時間が延長した。また 2.0 および 4.0 mg/kg の投与濃度では、脈絡膜静脈相の後に脈絡膜血管に再蛍光が確認された。この再蛍光は ICG 色素の再循環による造影像と思われた。しかしながら、この再蛍光は IA において IA 像の時相による病態の解釈を困難にする可能性が示唆された。

臨床応用するにあたり、簡便でかつ容易な方法で、なおかつ再蛍光の影響を受けず、経時的に変化する造影像を迅速に評価するうえで、ネコの IA において脈絡膜を評価するのに最も有用な ICG 色素投与濃度は 1.0 mg/kg であると考えられた。

第Ⅲ章 ネコの蛍光眼底造影検査における血圧降下とその予測試験に関する検討

小 緒

ICG および FLUO 色素を用いた蛍光眼底造影検査は、脳脊髄造影検査などで使用する他の血管造影剤と比較すると重篤な副作用の発生頻度は低く、安全な検査であると考えられている[17, 79]。医学領域では、その使用は古く、1950年代より ICG 色素は肝機能検査として、FLUO 色素は蛍光眼底造影検査として使用されてきた[40]。いずれも化学的に安定した物質で、静脈内投与による LD50 の報告は、家兎[28]では ICG 色素が 50~80 mg/kg、FLUO 色素が 300 mg/kg、マウス[90]では ICG 色素が 60~80 mg/kg、FLUO 色素が 600 mg/kg であり、医学領域で使用する投与量と比較するとおよそ 1/50~1/80 とわずかである。さらに、体内への蓄積率は低く、遅くとも 24 時間以内には完全に排泄されるため、これらを静脈内投与しても障害はほとんどないと考えられていた[40]。

しかしながら、近年、ICG 色素が蛍光眼底造影検査として使用されるなど、両造影色素の使用頻度が増すにつれ、種々の副作用が報告されるようになってきた。一般的に造影色素における副作用は軽症、中等症、重症および死亡事故に分類される[72]。軽症は悪心や嘔吐、くしゃみ、掻痒感などの治療を必要としないものであり、中等症は蕁麻疹や発疹などの皮膚炎症状、迷走神経反射（失神、徐脈、血圧低下）などが含まれる。重症は気管支痙攣、喉頭痙攣、緊張性間代性痙攣、アナフィラキシーおよびアナフィラキシー様ショック

などの生命が脅かされる重篤なものが含まれ、死亡事故に移行する場合もある[29]。そのため、医学領域では、検査の安全性を含め、副作用の回避策として、蛍光眼底造影検査前のアレルギー歴の聴取や全身状態の観察、造影色素による重篤な副作用対策としての皮内試験などの予測試験の施行や、検査前後の血圧測定の実施などを行っている[37, 69]。また、ヒトでは一般的に蛍光眼底造影検査は無鎮静で実施しており、検査中に何か症状があれば直ちに検査員に知らせるようにすることで、副作用に対して迅速な対処が可能である[72]。

一方、獣医学領域においても、蛍光眼底造影検査における副作用発現に関する報告はいくつか存在するものの、副作用の回避策は確立されていない[7, 10, 14, 80, 85]。加えて、動物の場合には検査を行うにあたり、カメラを固視させるために、麻酔や鎮静薬による不動化が必要であり、そのため症状の発現に気づきづらく、副作用発現にはより厳密な注意が求められる。

そこで、本章では、ネコの蛍光眼底造影検査における ICG および FLUO 色素投与による副作用としての血圧降下発現の有無およびその予測試験の有効性を検討した。

材料と方法

1. 供試動物

眼科健康診断を目的として酪農学園大学附属動物医療センター眼科診療科を受診した临床上健康なネコ 22 頭 (Cat-1~22) を用いた。性別は雄 9 頭、雌 13 頭、年齢は 6 カ月~13 歳齢、体重は 3.0~7.3 kg (平均 4.5 kg) であった。すべての対象は、一般身体検査および血液生化学的検査を行い、異常がみられなかったものを用いた。対象は、静脈内色素投与による本試験開始 12 時間前より絶食、8 時間前より絶水処置を行った。また、動物所有者には予測試験および静脈内色素投与による本試験を実施することへの了承を得た。

2. 副作用の予測試験

副作用の予測試験として皮内試験を用いた。手技および用量に関しては、医学領域で 2002 年に定められた眼底血管造影実施基準をはじめとし、長谷川[21]、川村[39]、西野ら[68]および野田[69]の報告を参考にした。予測試験は、いずれも本試験である静脈内色素投与試験前に無鎮静下にて実施した。

ICG 色素、FLUO 色素、陰性対照である生理食塩液の 3 種類を用いた。検査試薬は、本試験で使用する濃度の 1/10 に生理食塩液で希釈し、ICG 色素は 0.1%、FLUO 色素は 1%に調整した。片側の臀部を剃毛後、27 G 針で各溶液を 0.05 ml を皮内投与し、皮内投与 30 分後にそれぞれの膨疹直径を測定した。

3. 本試験

本試験である静脈内色素投与試験は、第 I 章の方法と同様に塩酸メデトミジン 0.01 mg/kg (ドルベネ注, 共立製薬, 東京)、ミダゾラム 0.15 mg/kg (ミダゾラム注, サンド株式会社, 東京) および酒石酸ブトルファノール 0.025 mg/kg (ベトルファノール, Meiji Seika ファルマ, 東京) の混合静脈内投与による鎮静処置下にて実施した。ICG 色素は第 II 章で決定した投与濃度である 1 mg/kg を用い、FLUO 色素は第 I 章と同様の投与濃度である 10 mg/kg を用いた。まず、ICG 色素を鎮静剤投与後 15 分に、橈側皮静脈に設置した血管カテーテルより静脈内投与した。続いて、ICG 色素投与後 20 分に FLUO 色素を静脈内投与した。

4. 血圧測定

血圧の変化は、各色素投与前後における非観血的平均動脈血圧 (Mean Arterial Blood Pressure; MABP) を測定した。MABP は、血圧モニタ (BP - 88V, 日本コーリン, 愛知) を用い、オシロメトリック法により尾根部で測定した。測定は、各色素投与後 1、3、5 および 10 分に行い、各測定時間で得られた MABP を色素投与前の測定値と比較した。また、計 4 回の平均と色素投与前の測定値を比較し、その変化率を算出した。

5. 評価および統計学的解析

本試験における臨床症状の発現の有無、各色素投与前後における MABP の比較および皮内試験での膨疹直径と本試験での MABP 変化率との間の相関性を評価した。各色素投与前後における MABP の比

較には paired-t 検定を用い、皮内試験での膨疹径と本試験での MABP 変化率との相関性の検定にはスピアマンの順位相関係数を用い、いずれも $P < 0.05$ で有意とした。

結果

1. 予測試験

生理食塩液投与では、30分後の観察において全頭とも皮内注射部位に膨疹はみられず生理食塩液は吸収されていた。ICG色素投与では、22頭中3頭（13.6%：Cat-1、16、22）で膨疹の発現がみられた。30分後の膨疹直径は2～5mmであり、その平均値±標準偏差は 0.4 ± 1.2 mmであった。FLUO色素投与では、22頭中7頭（31.8%：Cat-4、5、7、10、15、16、22）で膨疹の発現がみられた。30分後の膨疹直径は2～7mmであり、その平均値±標準偏差は 1.1 ± 2.0 mmであった。

2. 本試験

ICG色素投与前後におけるMABPの変化を図8に示した。ICG色素投与前後において有意な変化はみられなかったが、22頭中4頭（Cat-1、5、16、22）でICG色素投与後1、3および5分にMABPの低下がみられた（MABP変化率：-0.3～15.9%）。

FLUO色素投与前後におけるMABPの変化を図9に示した。FLUO色素投与前後において有意な変化はみられなかったが、22頭中14頭（Cat-1、4、5、6、7、8、10、13、14、15、16、19、20、22）でFLUO色素投与後1、3および5分にMABPの低下がみられた（MABP変化率：-0.8～37.4%）。また、内1頭（Cat-16）でFLUO投与後1分に嘔吐がみられた。

3. 予測試験と本試験の関連性

ICG色素投与による皮内試験での膨疹直径と本試験でのMABP変化率の関係を図10に示した。皮内試験において膨疹がみられた3頭ではいずれもMABPの低下がみられ、皮内試験の結果と本試験でのMABP変化率との間に有意な負の相関関係が認められた($r_s=0.59376$ 、 $P<0.05$)。

FLUO色素投与による皮内試験での膨疹直径と本試験でのMABP変化率の関係を図11に示した。皮内試験において膨疹がみられた7頭ではいずれもMABPの低下がみられ、皮内試験の結果と本試験でのMABP変化率との間に有意な負の相関関係が認められた($r_s=0.81997$ 、 $P<0.05$)。

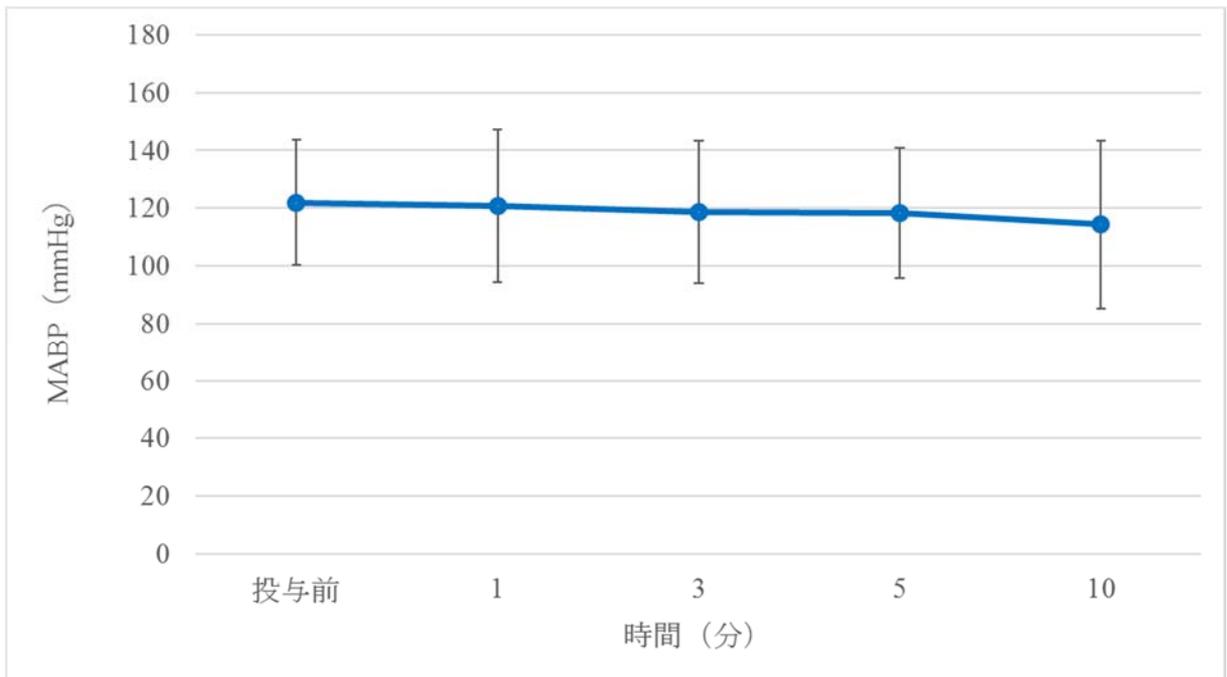


図 8. ICG 色素投与による MABP の経時的変化

シンボルは各時間で得られた 22 頭の平均値を、垂線は標準偏差を示す。すべての測定時間において投与前と比較し、有意な変化はみられなかった。

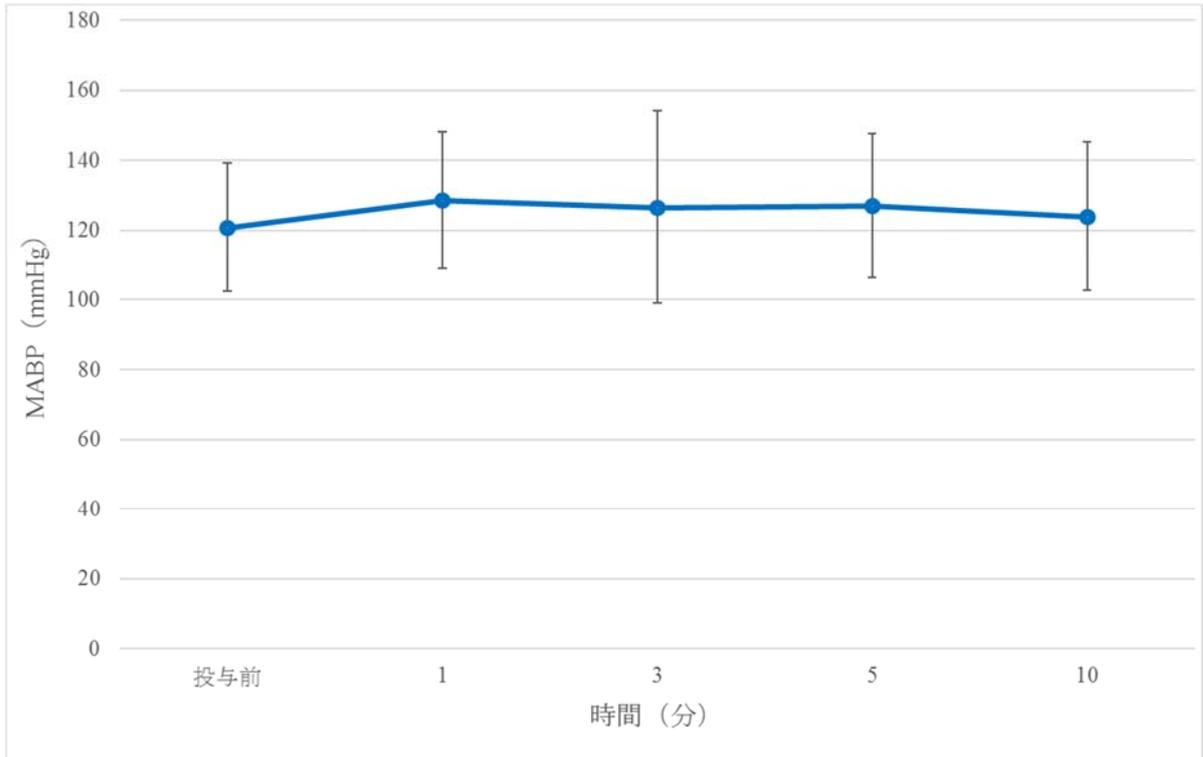


図 9. FLUO 色素投与による MABP の経時的変化

シンボルは各時間で得られた 22 頭の平均値を、垂線は標準偏差を示す。すべての測定時間において投与前と比較し、有意な変化はみられなかった。

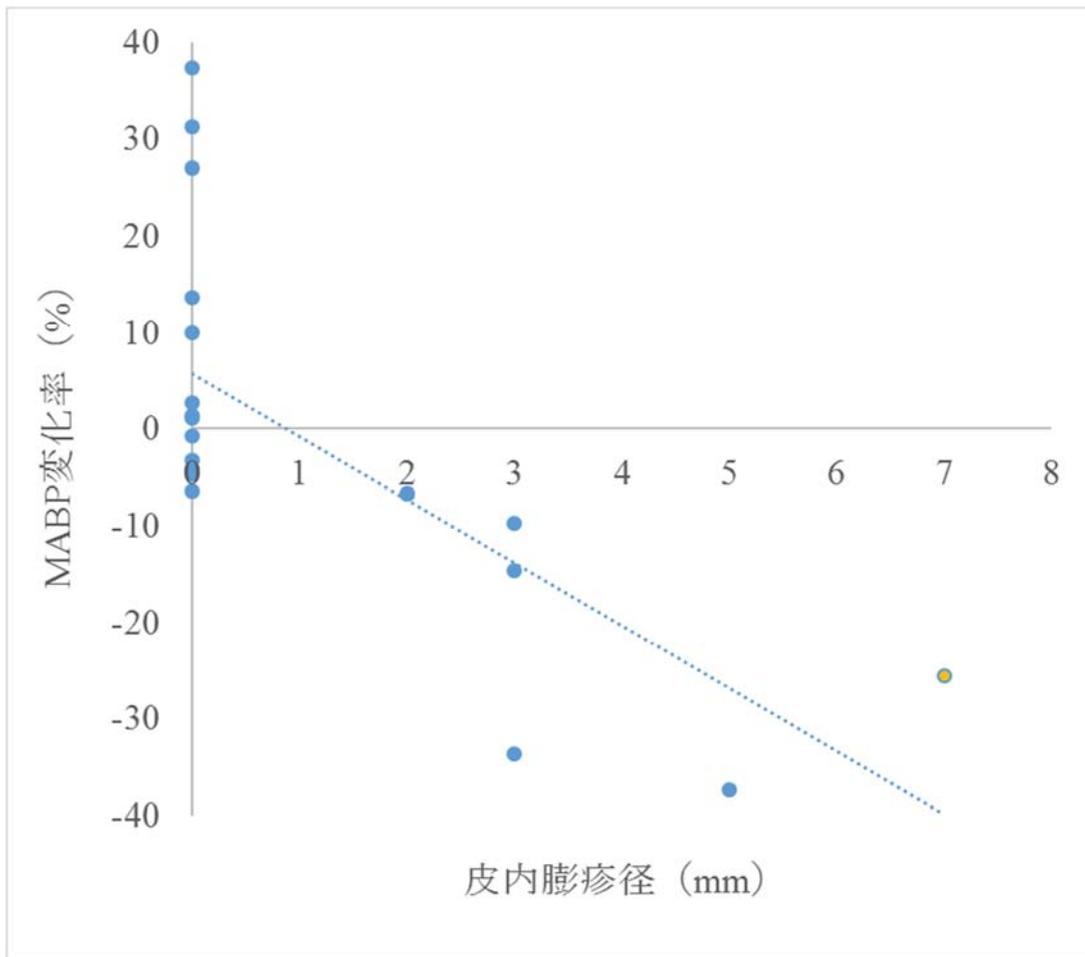


図 11. FLUO 色素投与による皮内試験での膨疹直径と本試験での MABP 変化率の関係

皮内試験において膨疹がみられた 7 頭ではいずれも MABP の低下がみられ、皮内試験の結果と本試験での MABP 変化率との間に有意な負の相関関係が認められた ($r_s=0.81997$ 、 $P<0.05$)。図に示す黄点は本試験の FLUO 色素投与後に嘔吐が確認された供試猫を示す (Cat-16)。

考察

本研究において、ICG および FLUO の両造影色素ともネコの蛍光眼底造影検査に用いる投与濃度ではショック症状などの重篤な副作用は観察されなかった。医学領域における ICG 色素での全副作用の発現率は 0.05～0.68 % であり、嘔吐や嘔気、くしゃみ、掻痒感などの軽症が 0.10～0.11 %、発疹や蕁麻疹などの皮膚炎症状、失神、迷走神経反射などの中等症が 0.03～0.11 %、気管支痙攣、アナフィラキシーショックなどの重症が 0.1 % 以下と報告されている [29, 33]。一方、FLUO 色素での全副作用の発現率は 1.1～11.2 % であり、軽症が 1.4～8.18 %、中等症が 0.2～1.5 %、重症が 0.005～0.48 % と、副作用の発現頻度は ICG 色素と比較し FLUO 色素で多いことが報告されている [28, 29, 44, 45, 55, 59, 61, 75, 95, 100]。本研究でも、ヒトと同様にネコにおいても、ICG 色素よりも FLUO 色素において MABP の低下が多く認められた。

Wakaiki ら [93] はイヌの ICG 色素に対する副作用の発現率に関して、対象の半数以上で血圧の低下がみられたと報告している。これは渡辺ら [94] による人での報告に類似し、造影色素が循環器に少なからず影響があったことを示している。一般的に造影色素に対する反応は、アナフィラキシー、あるいはアナフィラキシー様ショックであると考えられている。アナフィラキシーショックは、抗原物質が生体内に侵入したときに免疫反応により発症し、IgE 介在型 (Gell&Coombs 分類で I 型)、抗原抗体反応およびそれに伴う補体の活性化 (同 II 型)、免疫複合体によるもの (同 III 型) が考えられている [69]。一方でアナフィラキシー様ショックの発生機序は、抗

原抗体反応を介さない状態での直接的な肥満細胞の脱顆粒、あるいは補体系の第二経路の非特異的な活性化が原因である[69]。しかしながら、発生時にはこれらは臨床的に区別できないため、すべてアナフィラキシーショックとして治療される[39, 69]。いずれも血圧低下を特徴とし、適切な対処が行われなければ、死に至る病態を招くことがある。Hope-Ross ら[29]によると、ICG 色素による死亡事故は、333,333 回に 1 例、FLUO 色素による死亡事故は 222,000 回に 1 例の割合であり、いずれもその原因はショックによるものであった。本研究では、イヌと異なり ICG 色素投与による血圧低下は 22 頭中 4 頭と少なかったことから、ネコではヒトやイヌと比較し ICG 色素が循環動態へ及ぼす影響は少ないことが示唆された。しかしながら、ショックなどに至る前駆症状として血圧低下は必発であることから、血圧の変化に注目することは、ネコの蛍光眼底造影検査を安全に行う上で必要不可欠であると考えられる。

ICG および FLUO 色素とも膨疹がみられた個体すべてで血圧低下がみられ、また両造影色素ともに MABP 変化率と膨疹直径において負の相関関係がみられた。医学領域と比較して獣医学領域では造影色素による副作用に対する回避策は確立していないのが現状であり、また、臨床現場において検査を実施する症例の中には、高血圧や腎臓病、心臓病など循環動態に関わる全身性疾患を合併している症例も存在する。Lira ら[51]が行った蛍光眼底造影検査における副作用の前向き調査では、副作用発現のリスクファクターとして高血圧、糖尿病、アレルギー歴などを挙げている。これらの症例では、副作用の発現頻度が高まることが予想されるため、本研究結果からも、副作用の予測として蛍光眼底造影検査前の予測試験の実施は有

用であると考えられた。

結論として、ICGおよびFLUO色素を用いた蛍光眼底造影検査をネコの臨床に応用するにあたり、各造影色素に対する副作用の発現に注意すべきであることが改めて示された。予測試験の結果と副作用の予測は必ずしも確実ではないため、アレルギー歴や全身状態の観察に加え、重篤な前駆症状の把握、検査前後の血圧測定の実施や救急用器具の準備を併用することで、今後の安全なネコの蛍光眼底造影検査につながるものとする。

小括

医学領域では蛍光眼底造影検査を安全に実施するにあたり、副作用の回避策として、検査前のアレルギー歴の聴取や全身状態の観察、皮内試験などの予測試験の施行や、検査前後の血圧測定の実施などを行っている。一方、獣医学領域においても ICG および FLUO 色素に対する副作用に関する報告はあるものの、その回避策に関する報告は見当たらない。そこで本章では、両造影色素に対する副作用発現と、その予測試験の有効性を検討した。

ICG および FLUO の両造影色素ともネコの蛍光眼底造影検査に用いる投与濃度ではショック症状などの重篤な副作用は観察されなかったが、FLUO 色素において MABP の低下が多く認められた。また、イヌと異なり ICG 色素における血圧低下は 22 頭中 4 頭と少なかったことから、ネコではヒトやイヌと比較し ICG 色素が循環動態へ及ぼす影響は少ないことが示唆された。予測試験としての皮内試験では、ICG および FLUO 色素とも膨疹がみられた個体すべてで血圧低下がみられ、また両造影色素ともに MABP 変化率と膨疹直径において負の相関関係がみられた。

ICG および FLUO 色素を用いた蛍光眼底造影検査をネコの臨床に応用するにあたり、副作用の予測として蛍光眼底造影検査前の予測試験の実施は有用であると考えられた。

第IV章 ネコのIAにおける静脈内ICG色素投与が網膜機能に及ぼす影響の検討

小緒

ICG色素はその光物理学的特性から、医学領域において、肝機能の評価や心拍出量の測定に用いられるなど、IAによる脈絡膜病変の検出や評価以外にも多くの場面で利用されている[43, 50, 52, 92]。医学眼科領域では、黄斑円孔に対する硝子体手術時に内境界膜を剥離する際の内境界膜の染色に用いられている[46]。また、この手法は高度近視黄斑円孔網膜剥離や糖尿病性黄斑浮腫などの様々な疾患へと応用範囲が広がったことにより、手術成績の向上に寄与している[36, 46]。しかしながら、近年、これらの手術を行った患者において術後に視野異常が生じるなど、ICG色素による網膜毒性が報告されている[6, 20, 89]。Iriyamaら[34]、Balaiyaら[1]およびMurataら[63]は、ICG色素に暴露されたラットの網膜神経節細胞(Retinal Ganglion Cell; RGC)において生存細胞の減少や網膜形態の変化が生じることを報告しており、同様に培養ウズラのミュラー細胞[57]やヒトの網膜色素上皮細胞(Retinal Pigment Epithelium; RPE)[27]においてもICG色素の暴露による網膜毒性が報告されている。

IAではICG色素を静脈内投与することにより実施される。ICG色素はFLUO色素と比較し、アナフィラキシーなどの全身的な副作用が生じる確率は低く[29, 33]、安全な検査法であるといわれているが、前述したようにICG色素による網膜毒性も報告されている。しかし、ICG色素の静脈内投与による網膜機能への影響を評価した

報告はない。そこで、本章では、IA を実施したネコを用いて ICG 色素投与前後で網膜電図（Electroretinogram; ERG）を記録し、ICG 色素による網膜機能への影響を検討した。

材料と方法

1. 供試動物

眼科健康診断を目的として酪農学園大学附属動物医療センター眼科診療科を受診した临床上健康なネコ 20 頭 (Cat-1~20) を用いた。性別は雄 7 頭、雌 13 頭、年齢は 6 カ月~13 歳齢、体重は 3.0~7.3 kg (平均 4.5 kg) であった。すべての対象は、IA 前に眼科検査として威嚇瞬目反応、眩目反射、対光反射、細隙灯顕微鏡 (SL-D7, トプコン, 東京) による前眼部検査、倒像鏡 (充電式ブライトスコープ, ナイツ, 東京) および眼底カメラ (TRC50IX, トプコン, 東京) による眼底検査を行った。対象は、蛍光眼底造影検査開始 12 時間前より絶食、8 時間前より絶水処置を行った。また、動物所有者には蛍光眼底造影検査を実施することへの了承を得た。

2. IA

IA は、第 I 章の方法と同様に 0.5 %トロピカミドと 0.5 %塩酸フェニレフリンの合剤 (ミドリリン P, 参天, 大阪) の点眼による散瞳処置後に、塩酸メデトミジン 0.01 mg/kg (ドルベネ注, 共立製薬, 東京)、ミダゾラム 0.15 mg/kg (ミダゾラム注, サンド株式会社, 東京) および酒石酸ブトルファノール 0.025 mg/kg (ベトルファノール, Meiji Seika ファルマ, 東京) の混合静脈内投与による鎮静処置下にて実施した。ICG 色素は第 II 章で決定した投与濃度である 1 mg/kg を用い、橈側皮静脈に設置した血管カテーテルより静脈内投与した。撮影は、第 I 章と同様に赤外光量を最大の 20 mW に固定した状態で開始し、蛍光輝度に合わせて赤外光量を調整しながら 40 分まで

継続的に撮影した。

3. ERG 検査

ERG は、IA 前および IA 後に記録した。ERG 記録装置には、portable ERG LE-3000 (TOMEY, 愛知) を用いた。関電極には光源一体型コンタクトレンズ型電極 (LED 電極 H2000, 京都コンタクトレンズ, 京都) を用い、角膜表面麻酔として 0.4 %塩酸オキシブプロカイン (ベノキシール 0.4 %液, 参天, 大阪) を点眼した角膜上に設置した。LED 電極設置時には角膜保護のため、エチルセルロース (スコピゾル眼科用液, 武田, 大阪) を電極の角膜設置面に滴下した。不関電極、接地電極には針電極を使用し、不関電極は正中前頭部皮下、接地電極は右耳介根部の皮下に設置した。白色刺激光を用い、刺激強度 6000 cd/m^2 、刺激時間 0.5 msec および白色背景光 25 cd/m^2 、加算回数 8 回で ERG を記録した。その後、ICG 色素を投与して IA を実施したのち、再度同様の記録条件で ERG を記録した。ERG は ICG 色素投与前および IA 終了後にそれぞれ 4 回ずつ記録し、その平均を結果とした。得られた ERG 波形から b 波および Photopic Negative Response (PhNR) の振幅および頂点潜時、PhNR と b 波の振幅比 (PhNR/b) を測定した。

また、IA において蛍光漏出による過蛍光所見がみられた 2 頭 4 眼においては約 1 カ月後に、同様の条件で ERG を記録した。

4. 統計学的解析

b 波および PhNR の振幅と頂点潜時、PhNR/b を ICG 色素投与前および IA 後で比較した。また、IA1 回目と 1 カ月後に行った 2 回目

の ICG 色素投与前における b 波および PhNR の振幅と頂点潜時、PhNR/b も同様に比較した。b 波と PhNR の振幅および PhNR/b の比較には paired-t 検定を用い、b 波および PhNR の頂点潜時の比較にはウィルコクソンの符号付順位和検定を用い、いずれも $P < 0.05$ で有意とした。

結果

1. IA

IAにおいて、20頭40眼のうち18頭36眼では異常と思われる所見は観察されなかった(図12)。しかし残りの2頭4眼においては造影初期から後期にかけて蛍光漏出による過蛍光所見が観察された(図13)。過蛍光の最大範囲は1頭の右眼においては視神経乳頭から8乳頭径離れた7時方向に7乳頭径の範囲で、左眼においては視神経乳頭から2.5乳頭径離れた6時方向に6乳頭径の範囲で観察された。もう1頭の右眼においては視神経乳頭から1乳頭径離れた7時方向に4.5乳頭径の範囲で、左眼には視神経乳頭から4乳頭径離れた6時方向に4乳頭径の範囲で過蛍光所見が観察された。さらに過蛍光所見が観察された2頭4眼において1カ月後に再度IAを実施したが、1カ月後においても4眼すべてで同様の所見が観察された。

2. ERG

ICG色素投与前とIA終了後のb波およびPhNRの振幅、頂点潜時およびPhNR/bの値を表4に示した。また、供試猫1頭のICG色素投与前とIA終了後におけるERG波形を図14に示した。

ICG色素投与前のb波振幅は 43.94 ± 12.34 (平均 \pm 標準偏差) μV 、b波頂点潜時は 23.53 ± 0.96 msec、PhNR振幅は 27.16 ± 7.57 μV 、PhNR頂点潜時は 53.41 ± 8.35 msec、PhNR/bは 0.65 ± 0.21 であった。ICG色素投与後のb波振幅は 45.33 ± 10.76 μV 、b波頂点潜時は 26.81 ± 1.85 msec、PhNR振幅は 26.79 ± 8.89 μV 、PhNR頂点潜時は 51.77

± 9.09 msec、PhNR/b は 0.61 ± 0.23 であり、ICG 色素投与前後における b 波および PhNR の振幅、頂点潜時および PhNR/b に有意な変化はみられなかった。

再度 IA を行った対象について、1 回目と 1 カ月後に行った 2 回目の ICG 色素投与前における b 波および PhNR の振幅、頂点潜時および PhNR/b の変化をそれぞれ表 5 に示した。また、再検査を行った供試猫 1 頭の 1 回目の ICG 色素投与前と 2 回目の ICG 色素投与前における ERG 波形を図 15 に示した。再検査を実施した供試猫における 1 回目の ICG 色素投与前の b 波振幅は 37.94 ± 7.84 (平均 ± 標準偏差) μV 、b 波頂点潜時は 27.90 ± 2.71 msec、PhNR 振幅は 21.96 ± 4.72 μV 、PhNR 頂点潜時は 46.35 ± 10.98 msec、PhNR/b は 0.62 ± 0.22 であった。また、1 カ月後に行った 2 回目の ICG 色素投与前における b 波振幅は 36.41 ± 8.68 (平均 ± 標準偏差) μV 、b 波頂点潜時は 27.28 ± 0.46 msec、PhNR 振幅は 20.63 ± 3.30 μV 、PhNR 頂点潜時は 56.12 ± 2.68 msec、PhNR/b は 1.43 ± 0.65 であり、IA1 回目と 2 回目においても b 波および PhNR の振幅、頂点潜時および PhNR/b に有意な変化はみられなかった。

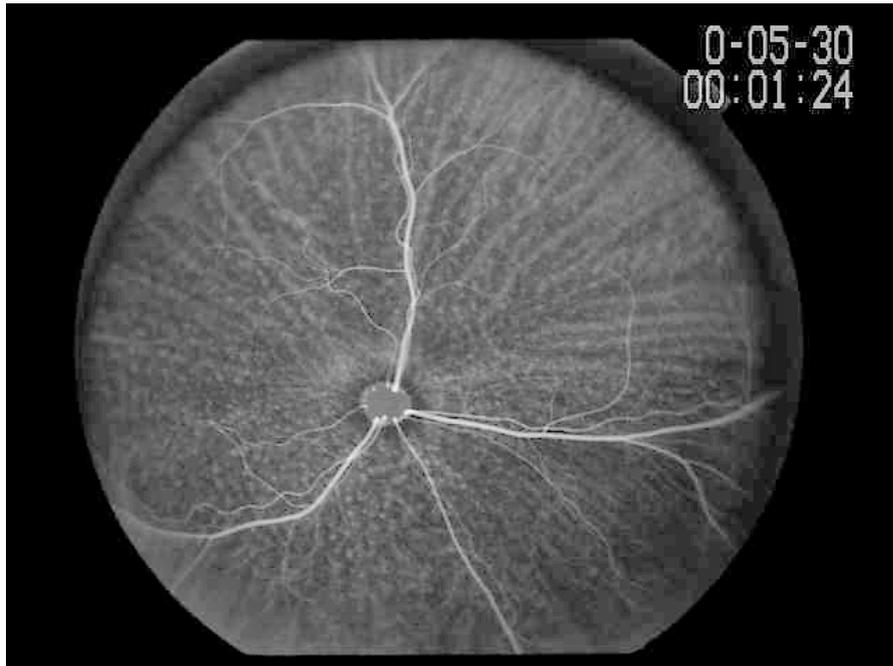


図 12. 供試猫 1 頭の右眼から得られた IA における広角撮影像

写真右上の数字は色素投与後の経過時間を示す。造影時期に関わらず、明らかな異常は観察されなかった。

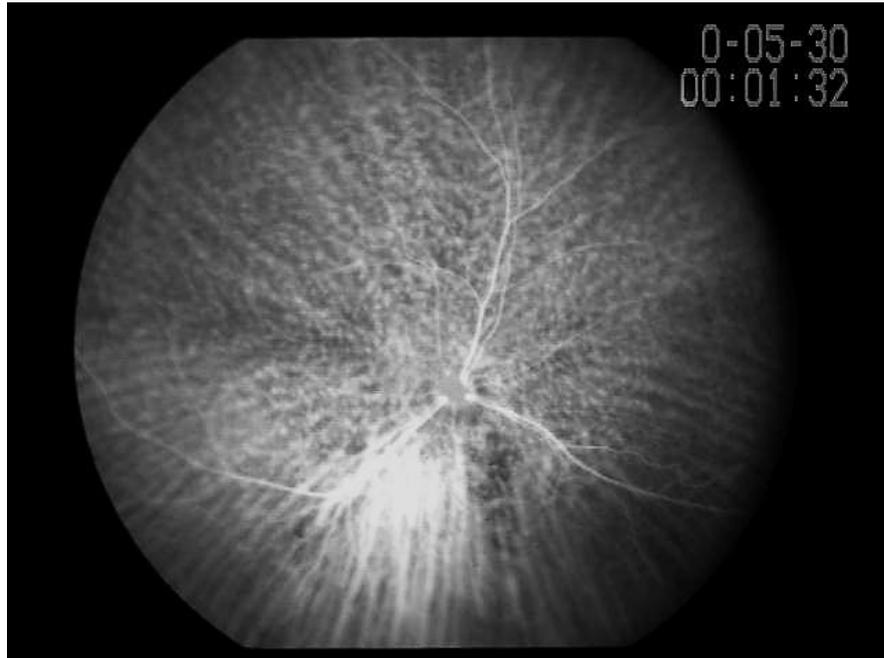


図 13. 過蛍光所見がみられた供試猫 1 頭の右眼から得られた
IA における広角撮影像

写真右上の数字は色素投与後の経過時間を示す。視神経乳頭から 1
乳頭離れた 7 時方向に 4.5 乳頭径大の範囲で、ICG 色素の漏出によ
る過蛍光所見が観察された。

表 4. ICG 色素投与前後における b 波および PhNR の振幅、頂点潜時
および PhNR/b

	ICG 色素投与前	ICG 色素投与後
b 波振幅 (μV)	43.94 \pm 12.19	45.33 \pm 10.60
b 波潜時 (msec)	26.53 \pm 0.94	26.81 \pm 1.83
PhNR 振幅 (μV)	27.16 \pm 7.48	26.49 \pm 8.77
PhNR 潜時 (msec)	53.41 \pm 8.25	51.77 \pm 8.97
PhNR/b	0.65 \pm 0.20	0.61 \pm 0.23

各値は平均値 \pm 標準偏差で示した。ICG 色素投与前後において、b 波の振幅と潜時、PhNR の振幅と潜時、PhNR/b に有意差はみられなかった。

表 5. 1 回目と 2 回目の ICG 色素投与前における b 波および PhNR の
振幅、頂点潜時および PhNR/b

	1 回目	2 回目
b 波 振 幅 (μV)	37.94 ± 9.06	36.41 ± 10.02
b 波 潜 時		
(msec)	27.9 ± 3.13	27.28 ± 0.54
PhNR 振 幅		
(μV)	21.96 ± 5.45	20.63 ± 3.81
PhNR 潜 時		
(msec)	46.35 ± 12.67	56.12 ± 3.10
PhNR/b	0.62 ± 0.26	1.43 ± 0.75

各値は平均値 \pm 標準偏差で示した。1 回目と 2 回目の ICG 色素投与前において、b 波の振幅と潜時、PhNR の振幅と潜時、PhNR/b に有意差はみられなかった。

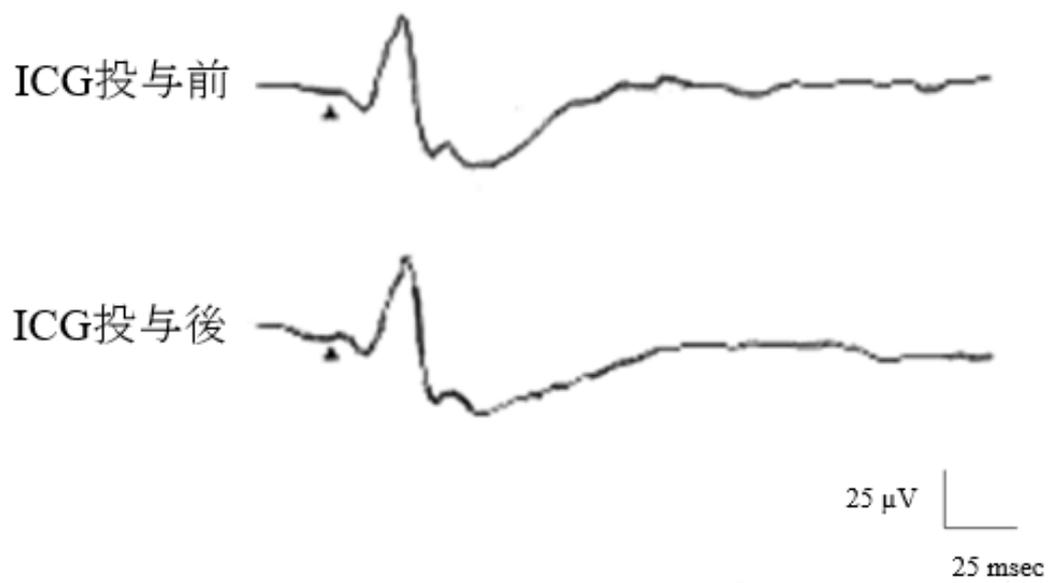


図 14. ICG 色素投与前後における 1 眼から得られた
錐体応答の ERG 波形

矢頭は光刺激を行った時点を示す。ICG 色素投与前後において ERG 波形に明らかな変化はみられなかった。

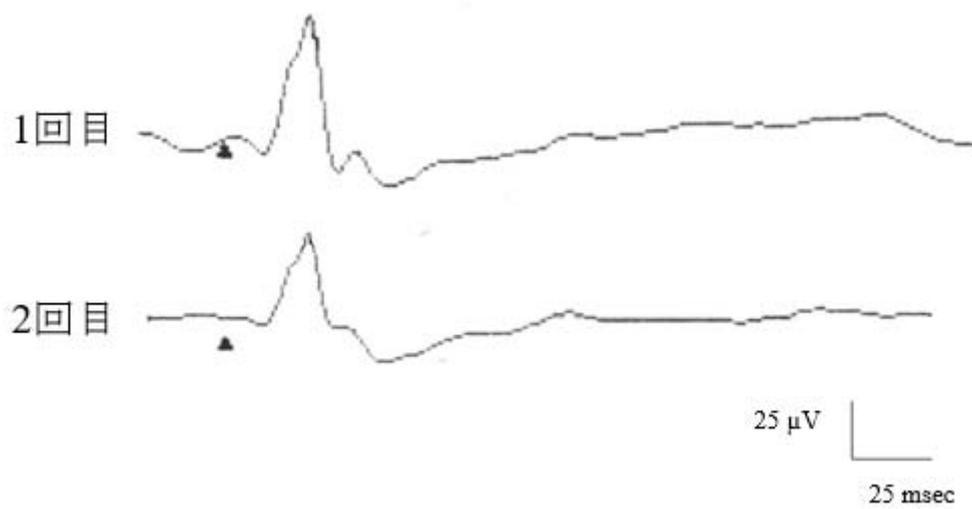


図 15. 1 回目と 2 回目の ICG 色素投与前における
1 眼から得られた錐体応答の ERG 波形

矢頭は光刺激を行った時点を示す。IA1 回目と 2 回目において ERG 波形に明らかな変化はみられなかった。

考察

本研究において、ネコに ICG 色素を静脈内投与して IA を行い、ICG 色素投与前後における錐体応答を記録したところ、ICG 色素投与前後で b 波および PhNR の振幅と頂点潜時および PhNR/b に有意な変化はみられなかった。このことからネコの IA における ICG 色素の静脈内投与は、網膜機能への影響はないということが明らかとなった。

Machida ら [53] は、ICG 色素、Brilliant blue G 色素および Triamcinolon Acetonide 色素を硝子体内に投与して硝子体手術を行った患者に対して錐体 ERG を記録し、ICG 色素を用いた群で PhNR 振幅が有意に減少したと報告している。PhNR は、ヒトでは RGC およびその軸索に起源があるとされており、この報告から ICG 色素は RGC に対して機能的な障害を与えることが示唆されている。また、Michaella ら [60] はウサギの硝子体内に ICG 色素を投与し、ERG の記録および網膜形態の観察を行ったところ、ICG 色素投与後 3 時間で b 波振幅が減弱し、網膜の全層にわたる菲薄化がみられたと報告しており、RGC [1, 34]、RPE [27]、ミュラー細胞 [57]、視細胞 [49] など ICG 色素により障害される網膜部位に関してはさまざまな報告がある。Rodrigues ら [76] は硝子体内に投与された ICG 色素の毒性に関するメカニズムとして、ICG 色素によるストレスシグナルの一つである p38 mitogen-activated protein kinase のリン酸化を介したアポトーシス誘導や、ICG 色素がアポトーシスおよび変性を誘導する遺伝子発現を増加させるといった作用を提唱している。本研究では ICG 色素を静脈内投与していることから、網膜に直接 ICG 色素

が接触する可能性は低く、また静脈内に投与された ICG 色素は投与後、全身循環に回るため、網脈絡膜血管内に残存する ICG 色素は少ないことが推測される。このことから、本研究では ERG 波形に影響がみられなかったと考えられた。

本研究において、IA で蛍光漏出による過蛍光所見がみられた 4 眼において 1 カ月後に同様の条件で再度錐体応答を記録したが、IA1 回目と 1 カ月後に行った 2 回目の ICG 色素投与前における b 波および PhNR の振幅と頂点潜時、PhNR/b に有意な変化はみられなかった。蛍光漏出による過蛍光は、脈絡膜血管の破綻に伴って生じる造影異常[70]であり、このときには ICG 色素が網膜と直接接触する可能性が考えられる。一般に 3 乳頭径以下の範囲の異常は、本研究で用いた全視野 ERG では検出することができないといわれている[97]。しかし、本研究において、過蛍光所見が観察された範囲は 4 眼すべてで 3 乳頭径を上回っていたものの、今回の投与濃度では、ICG 色素の漏出があっても全視野 ERG の結果に影響はなかった。したがって、この結果からも、ネコの IA で用いる投与濃度での ICG 色素の静脈内投与では網膜機能への影響はないものと考えられた。

本研究では、IA1 回目の ICG 色素投与前後と、1 カ月後に行った IA2 回目の ICG 色素投与前後において ERG を記録している。そのため 1 回目の ICG 色素投与後から 1 カ月後の再検査を行うまでの期間、あるいはそれ以降の網膜機能への影響は評価できておらず、また眼内の ICG 色素がどれほどの量が存在しているかは不明である。Sippy ら[82]はヒト培養網膜色素上皮細胞を ICG 色素に単独で暴露させたときよりも、ICG 色素と同時に光を暴露させたときの方が有意に網膜色素上皮細胞のミトコンドリア活性が減少したことから、

ICG 色素毒性は光暴露により増強されると報告している。また、Stalmans ら [84] は ICG 色素を溶解する際に用いる溶媒の浸透圧が低いほど毒性が増強すると報告しており、ICG 色素の毒性には様々な因子の関与が考えられている。そのため ICG 色素における網膜毒性と光暴露や浸透圧などの関連に関しては今後さらなる検討が必要であると考えられた。

小括

ICG 色素は医学領域において、黄斑円孔手術時の内境界膜の染色に用いられるなど、その応用範囲は広がっているが、その一方で視野障害などをはじめとした様々な網膜毒性も報告されている。しかし、ICG 色素の静脈内投与による網膜機能への影響を評価した報告はない。そこで本章では、ネコの IA において ICG 色素の静脈内投与が網膜機能に及ぼす影響を、ICG 色素投与前後に ERG を記録して検討した。

IA において 18 頭 36 眼では異常はみられず、2 頭 4 眼では蛍光漏出による過蛍光所見が観察された。ICG 色素投与前後における錐体応答では b 波および PhNR の振幅と頂点潜時、PhNR/b に有意な変化はみられなかった。また過蛍光所見がみられた 2 頭 4 眼において、1 カ月後に同様の条件で ERG を記録したが、1 回目の ICG 色素投与前と 2 回目の ICG 色素投与前における錐体応答においても有意な変化はみられなかった。蛍光漏出による過蛍光は、脈絡膜血管の破綻に伴って生じる造影異常であり、このため ICG 色素と網膜が直接接触している可能性が考えられるが、今回の投与濃度では、ICG 色素の漏出があっても全視野 ERG の結果に影響はなかった。

これまでに ICG 色素による網膜毒性は、網膜培養細胞を用いた研究や、硝子体手術時の硝子体内投与で報告されているが、本研究の結果から、ネコの IA で用いる投与濃度での静脈内 ICG 色素投与では網膜機能への影響はないものと考えられた。

第V章 ネコの網膜・脈絡膜疾患に対する蛍光眼底造影検査法の臨床応用における検討

小 緒

網膜および脈絡膜疾患は視機能に直接影響を及ぼすことが知られているが、身体の他の臓器と異なり、眼はその性格上、病変を採材して病態を解明することが困難な組織である。そのため、特に診断や病態評価においては困難を極める。蛍光眼底造影検査は医学領域において網膜および脈絡膜の循環や機能評価の解析に重要な検査法として用いられており、加齢黄斑変性症をはじめとする網膜・脈絡膜疾患における病態把握と予後判定、治療法の決定および治療効果判定において役立っている[41, 42, 74, 83, 96]。

ネコの網脈絡膜疾患はしばしば全身疾患と関連しており、疾患のスクリーニング検査として眼底検査の実施も推奨されている[13, 54]。その中でも、明らかな視覚障害を呈していないネコにおいて眼底異常が発見されることは少なくない。しかしながら、通常眼底検査においては、現在生じている構造的異常を検出できるに過ぎず、網膜および脈絡膜循環などの機能的評価を行うことができない。疾患の中には高血圧性網膜症などのように進行性の病変も存在し、のちに視覚に影響をきたす疾患もある[2, 54, 67]。

本研究において、ネコでも網膜および脈絡膜の循環動態の評価が可能となれば、これまでに詳細が不明であった網膜および脈絡膜疾患の早期発見や病態解明に寄与すると考えられる。そこで本章では、IA および FA によるネコの網膜・脈絡膜の病態を解析し、その特徴

を明らかにすることで蛍光眼底造影検査法の臨床応用の可能性を検討するため、本学附属動物医療センターに来院した明らかな視覚異常を有さないネコを対象として IA および FA を実施した。

材料と方法

1. 症例

眼科健康診断を目的として酪農学園大学附属動物医療センター眼科診療科を受診した临床上健康なネコ 22 頭 43 眼 (Cat-1~22) を対象とした。品種は雑種猫 18 頭、マンチカン 2 頭、メインクーン 2 頭であり、性別は雄 9 頭、雌 13 頭、年齢は 6 カ月~13 歳齢、体重は 3.0~7.3 kg (平均 4.5 kg) であった。すべての対象は、蛍光眼底造影検査前に眼科検査として威嚇瞬目反応、眩目反射、対光反射、細隙灯顕微鏡 (SL-D7, トプコン, 東京) による前眼部検査、倒像鏡 (充電式ブライトスコープ, ナイツ, 東京) および眼底カメラ (TRC50IX, トプコン, 東京) による眼底検査を行った。また、動物所有者には蛍光眼底造影検査を実施することへの了承を得た。

2. 蛍光眼底造影検査

蛍光眼底造影検査は、第 I 章の方法と同様に 0.5 %トロピカミドと 0.5 %塩酸フェニレフリンの合剤 (ミドリン P, 参天, 大阪) の点眼による散瞳処置後に、塩酸メデトミジン 0.01 mg/kg (ドルベネ注, 共立製薬, 東京)、ミダゾラム 0.15 mg/kg (ミダゾラム注, サンド株式会社, 東京) および酒石酸ブトルファノール 0.025 mg/kg (ベトルファノール, Meiji Seika ファルマ, 東京) の混合静脈内投与による鎮静処置下で実施した。ICG 色素の投与濃度は第 II 章で決定した 1 mg/kg を用い、FLUO 色素の投与濃度は第 I 章と同様に 10 mg/kg を用いた。それぞれを橈側皮静脈に設置した血管カテーテルより静脈内投与後、造影初期から造影後期にかけて造影像を撮影した。

結果

蛍光眼底造影検査において 21 頭 39 眼には異常はみられなかったが、3 頭 4 眼（Cat-6、13、21）において IA および FA にて造影異常がみられた。

Cat-6 の眼底像および IA、FA 像を図 16～18 に示した。眼底検査において、左眼は明らかな異常はみられなかったが、右眼の 6 時方向のノンタペタム領域に一部脱色素が観察された。IA では右眼において、視神経乳頭から 1 乳頭離れた 7 時方向のノンタペタム領域に 4.5 乳頭径大の過蛍光が観察された。この過蛍光は造影初期からみられ、眼底検査でみられた脱色素の領域と一致しており、同領域における脈絡膜血管の形状不整も観察された。また左眼においては、視神経乳頭から 4 乳頭離れた 6 時方向のノンタペタム領域に 4 乳頭径大の過蛍光が造影初期から観察された。さらに、視神経乳頭から 3 時方向のタペタム、ノンタペタム領域にまたがって広範囲の低蛍光が観察された。この低蛍光は造影初期からみられ、低蛍光領域内には点状蛍光が多数みられた。FA では、右眼において IA でみられた過蛍光と同じ領域に、造影初期から過蛍光が観察された。また、この過蛍光領域に向かう新生血管が網膜動脈から多数分岐し、その先端で色素漏出が確認された。さらに、赤道部に近接したノンタペタム領域に広範囲の斑状の過蛍光も観察された。左眼においては、IA でみられた過蛍光領域と同じ領域に、造影初期から過蛍光が観察され、右眼と同様に、網膜動脈から分岐した新生血管と、そこからの色素漏出が確認された。

Cat-13 の眼底像および IA、FA 像を図 19～21 に示した。眼底検査

において右眼の 1 時～4 時方向のタペタム領域に色素沈着が観察された。IA では右眼において、視神経乳頭から 5 乳頭離れた 2 時方向のタペタム領域に点状の過蛍光が造影初期から多数みられた。また右眼の FA では、眼底検査で色素沈着がみられた部位に一致した低蛍光が造影初期から後期にかけて観察されたが、造影時期に関わらず網膜血管の異常はみられなかった。

Cat-21 の眼底像および IA、FA 像を図 22～24 に示した。眼底検査では明らかな異常はみられなかった。IA では左眼において、視神経乳頭から 2.5 乳頭離れた 6 時方向のノンタペタム領域に 6 乳頭径大の過蛍光が造影初期から観察された。FA では、左眼において IA でみられた過蛍光領域と同じ領域に、造影初期から過蛍光が観察された。また、この過蛍光領域に向かう新生血管が網膜動脈から多数分岐し、その先端で色素漏出が確認された。さらに、視神経乳頭から 2 乳頭離れた 1 時方向のタペタム領域に点状の過蛍光が確認された。この過蛍光は造影初期にはみられなかったが、時間が経過するにしたがって出現し、そこに向かう新生血管も確認された。

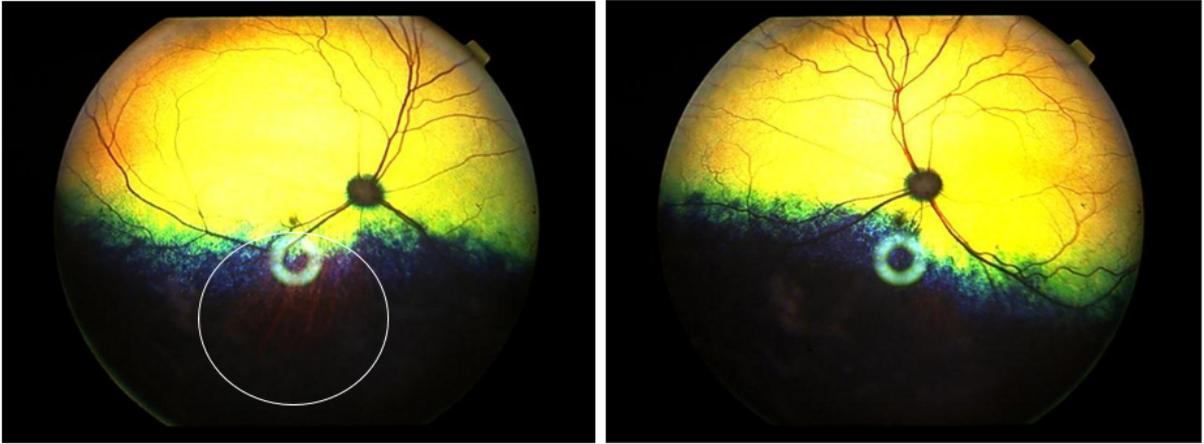


図 16. Cat-6 の眼底像

左列：右眼，右列：左眼

左眼は明らかな異常はみられなかったが、右眼の 6 時方向のノンタペタム領域に一部脱色素が観察された（白丸）。写真中央のリング状の反射は、眼底カメラに設置した倒像レンズの反射である。

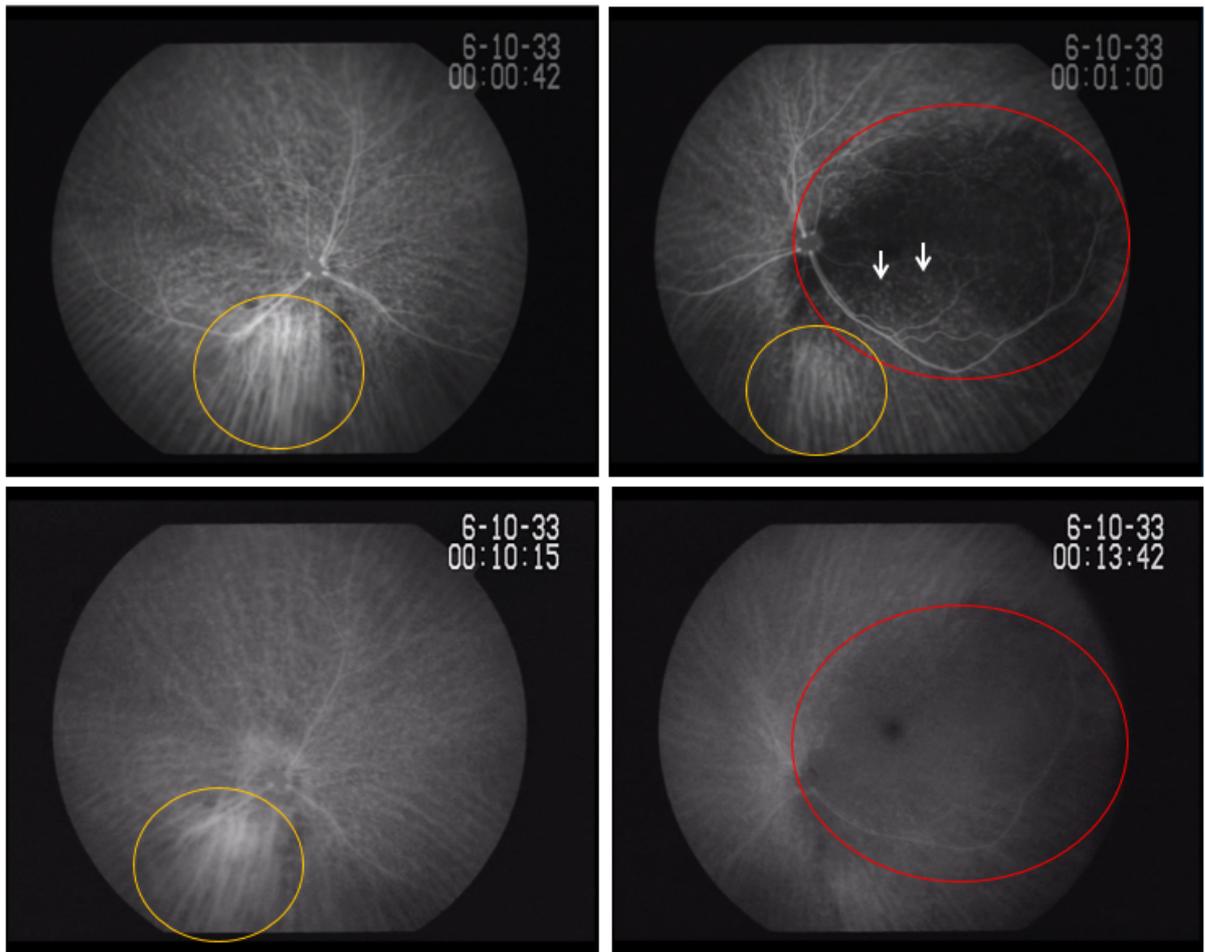


図 17. Cat-6 の IA 像

上段：造影初期，下段：造影後期
 左列：右眼，右列：左眼

写真右上の数字のうち、下段は色素投与後の経過時間を示す。両眼において、視神経乳頭腹側のノンタペタム領域に過蛍光が観察された（黄丸）。この過蛍光は造影初期からみられ、右眼では、眼底検査でみられた脱色素の領域と一致しており、同領域における脈絡膜血管の形状不整も観察された。また左眼においては、タペタム、ノンタペタム領域にまたがって広範囲の低蛍光が観察された（赤丸）。この低蛍光は造影初期からみられ、低蛍光領域内には点状蛍光が多数みられた（白矢印）。

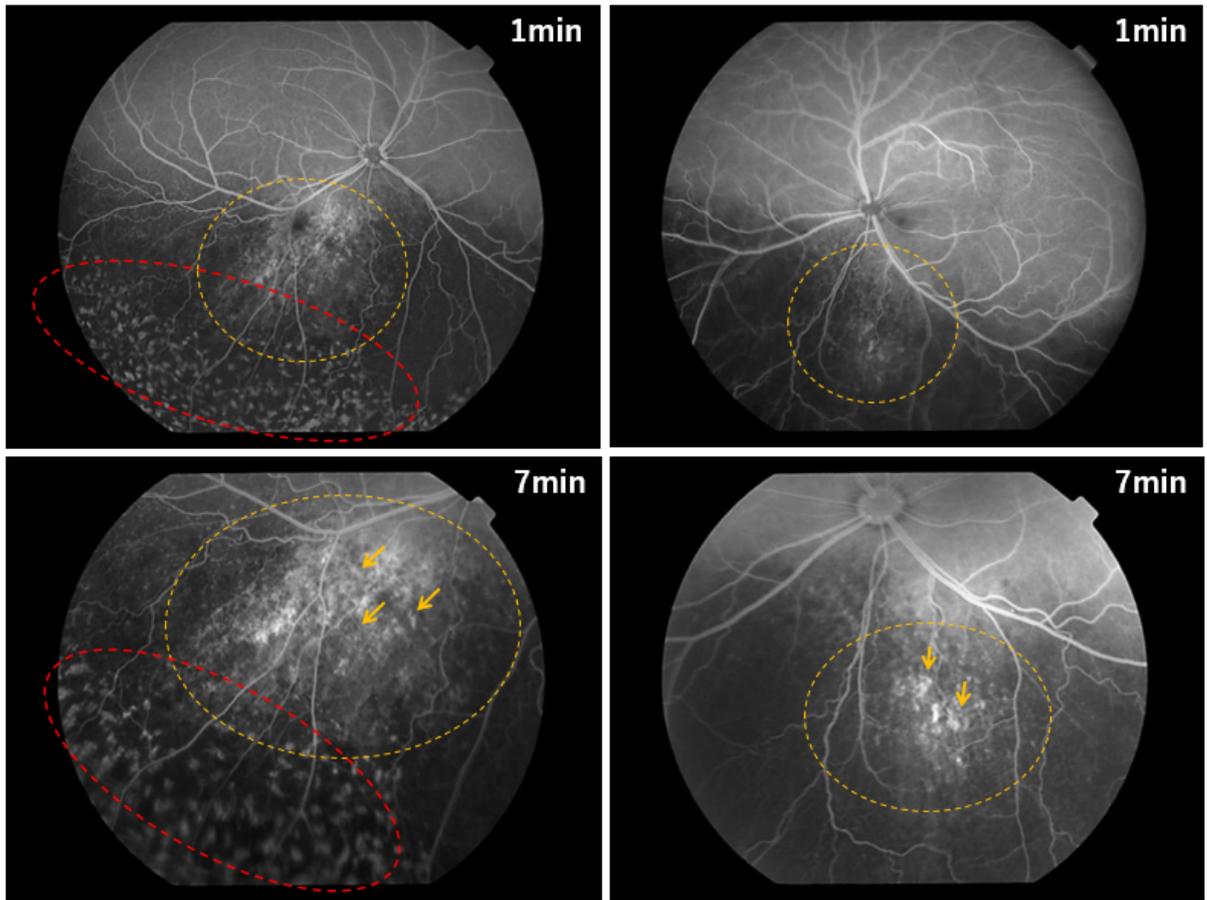


図 18. Cat-6 の FA 像

上段：造影初期，下段：造影後期
 左列：右眼，右列：左眼

写真右上の数字は色素投与後の経過時間を示す。両眼において IA でみられた過蛍光と同じ領域に、造影初期から過蛍光が観察された（黄丸点線）。また、この過蛍光領域に向かう新生血管が網膜動脈から多数分岐し、その先端で色素漏出が確認された（黄矢印）。さらに右眼において、赤道部に近接したノンタペタム領域に広範囲の斑状の過蛍光も観察された（赤丸点線）。

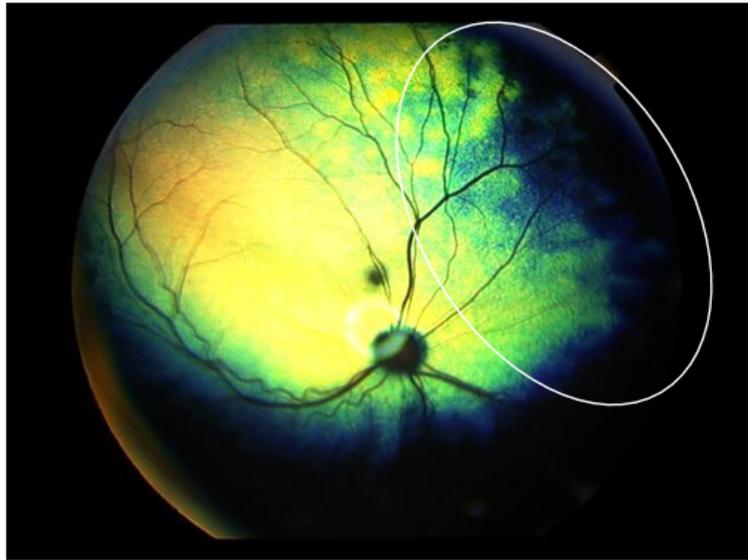


図 19. Cat-13 の右眼の眼底像

1 時～4 時方向のタペタム領域に色素沈着が観察された（白丸）。

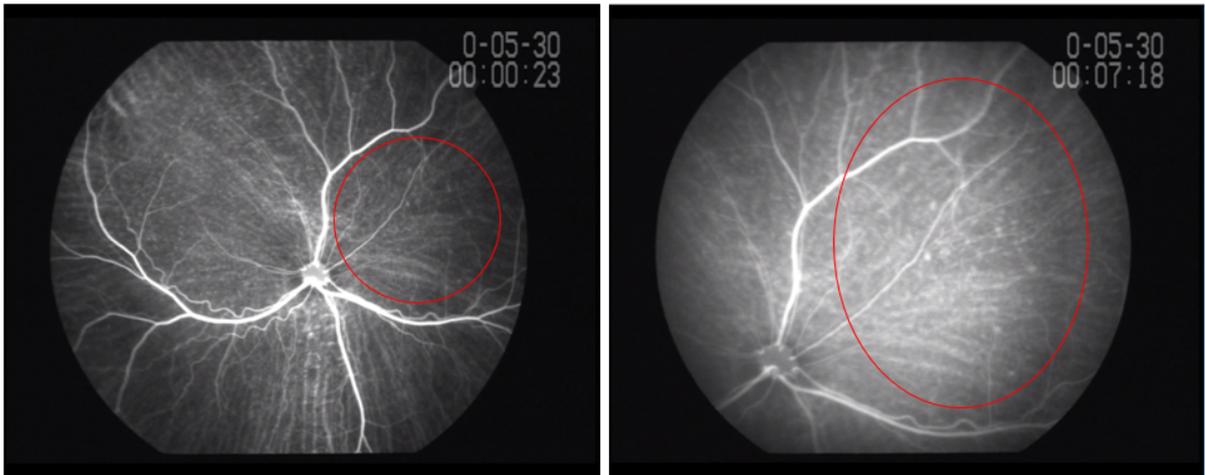


図 20. Cat-13 の右眼の IA 像

左列：造影初期，右列：造影中期

写真右上の数字のうち、下段は色素投与後の経過時間を示す。視神経乳頭から 5 乳頭離れた 2 時方向のタペタム領域に点状の過蛍光が造影初期から多数みられた。またこの点状蛍光は、時間経過に伴って蛍光輝度の増加や範囲の拡大がみられた（赤丸）。

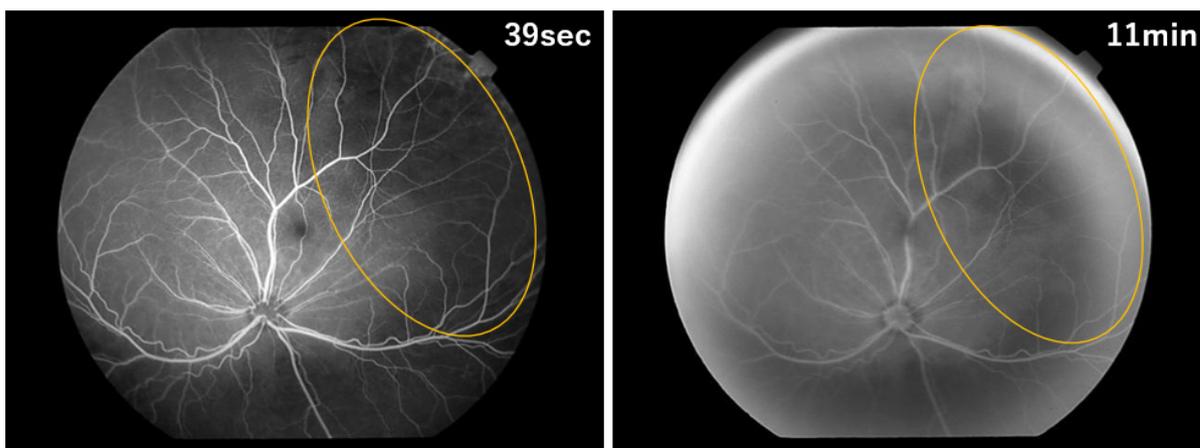


図 21. Cat-13 の右眼の FA 像

左列：造影初期，右列：造影後期

写真右上の数字は色素投与後の経過時間を示す。眼底検査で色素沈着がみられた部位に一致した低蛍光が造影初期から後期にかけて観察されたが、造影時期に関わらず網膜血管の異常はみられなかった（黄丸）。

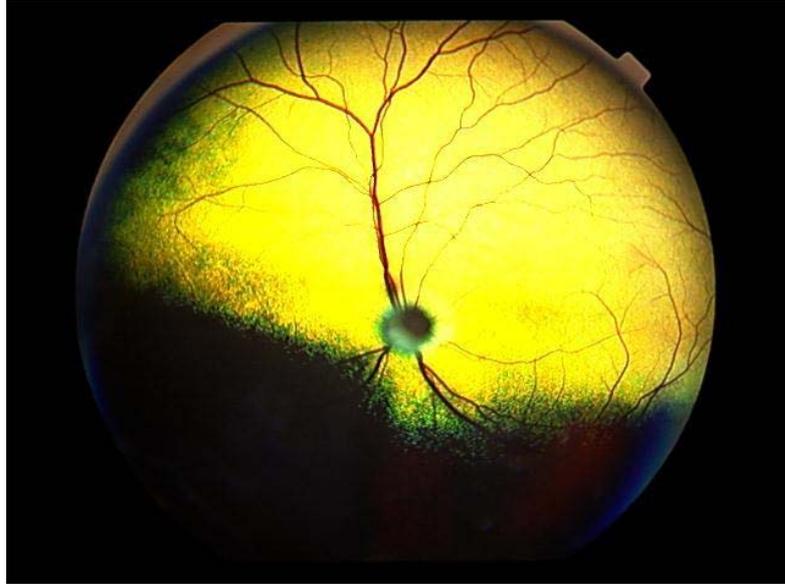


図 22. Cat-21 の左眼の眼底像

眼底検査では明らかな異常はみられなかった。



図 23. Cat-21 の左眼の IA 像

左列：造影初期，右列：造影後期

写真右上の数字のうち、下段は色素投与後の経過時間を示す。視神経乳頭腹側のノンタペタム領域に6乳頭経大の過蛍光が造影初期から観察された（赤丸）。

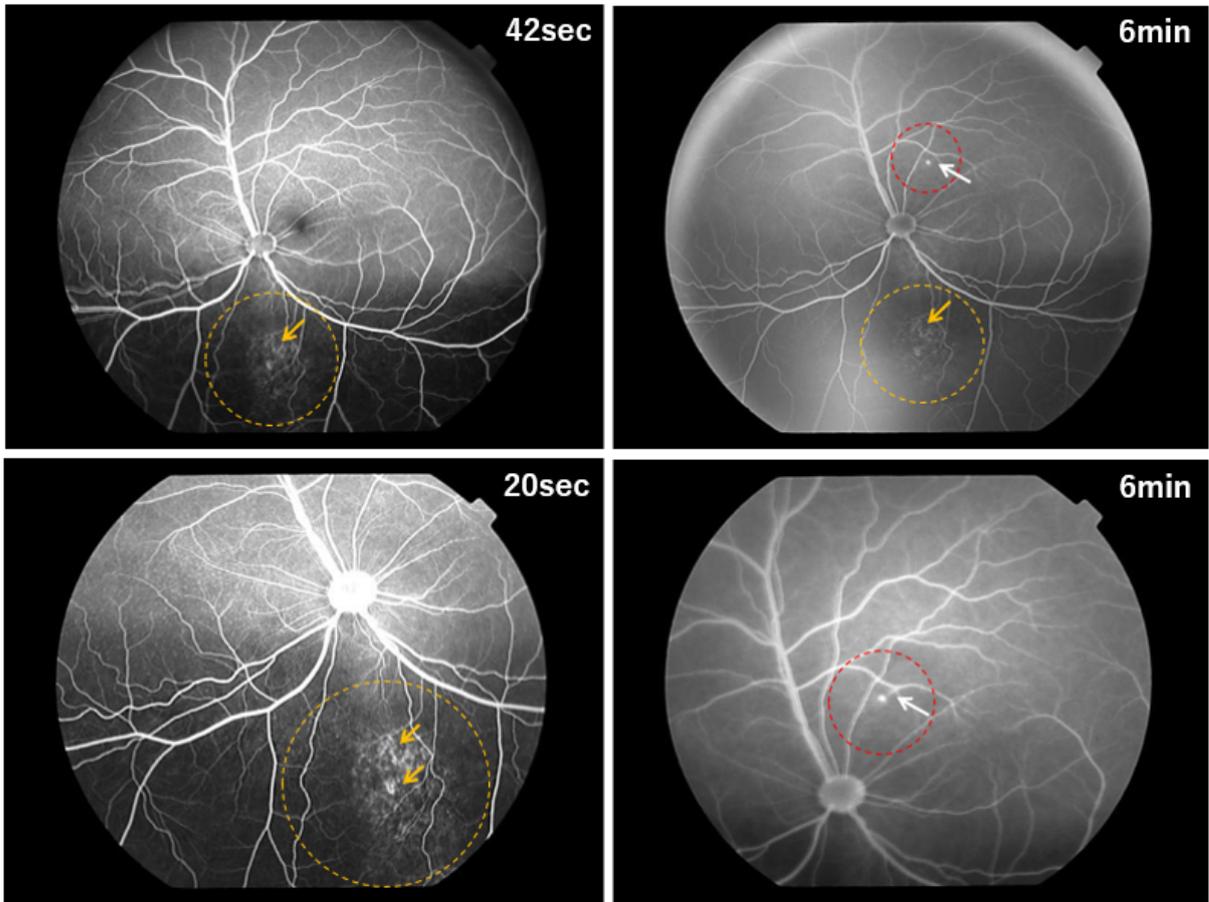


図 24. Cat-21 の左眼の FA 像

上段：広角撮影像，下段：拡大像
 左列：造影初期，右列：造影後期

写真右上の数字は色素投与後の経過時間を示す。IA でみられた過蛍光領域と同じ領域に、造影初期から過蛍光が観察された（黄丸点線）。また、この過蛍光領域に向かう新生血管が網膜動脈から多数分岐し、その先端で色素漏出が確認された（黄矢印）。さらに、視神経乳頭から 2 乳頭離れた 1 時方向のタペタム領域に点状の過蛍光が確認された（赤丸点線）。この過蛍光は造影初期にはみられなかったが、時間が経過するにしたがって出現し、そこに向かう新生血管も確認された（白矢印）。

考察

IA および FA を併用した蛍光眼底造影検査法は、眼底検査では明らかな異常が検出されない確認困難な網膜・脈絡膜病変の描出も可能であった。

Cat-6 において、IA で両眼にみられたノンタペタム領域の過蛍光は、形状不整な脈絡膜血管が描出されたことや、FA においても同部位に新生血管と、その先端からの色素漏出が観察されたことから、網膜下から脈絡膜層にかけての活動性の炎症が示唆された。また左眼の IA において、広範囲にみられた低蛍光は、FA では同領域に造影異常がみられなかったことから網膜下の病変であり、かつ初期から後期にかけて低蛍光の範囲に変化がなかったことから脈絡膜毛細血管板の萎縮によるものと推察された。また、脈絡膜毛細血管板へはタペタムを垂直に横切る短毛様体動脈が連結している[77]。したがって、低蛍光領域においてみられた点状蛍光は、この短毛様体動脈が描出されたものと考えられた。FA では同領域に造影異常がみられなかったことから網膜下の病変であり、FA のみでは病変の存在はわからず、IA も併用することによって明らかとなった病変であった。右眼の FA において赤道部近接でみられた過蛍光は、明らかな新生血管は無く、また初期から後期にかけて過蛍光の範囲は変化がなかったことから、網膜色素上皮の萎縮によるものと推察された。Cat-21 の左眼における IA および FA でみられたノンタペタム領域の過蛍光も、Cat-6 と同じ造影像を呈しており、同様の病態であることが考えられた。

Cat-13 の右眼において IA でみられた多数の点状過蛍光は、時間

経過に伴って蛍光輝度の増加や範囲の拡大がみられ、脈絡膜新生血管からの色素漏出が示唆された。脈絡膜新生血管からの色素漏出は、医学領域で報告されている加齢黄斑変性症の病態に類似しており[96]、加えてネコでは未だ報告されていない病態の診断や分類に役立つのではないかと考えられた。また眼底検査にて色素沈着がみられた領域と一致して FA において造影初期から後期にかけて低蛍光がみられ、その部分を横切る明瞭な網膜血管が観察されたことから脈絡膜層よりも上部の網膜下に存在する色素沈着による蛍光遮断であり、活動性の炎症と非活動性の炎症の両者が共存しているものと考えられた。光透過性の高い ICG 色素は出血や色素沈着下の病態を描出できる利点を有しており、FA と併用することで、その炎症の局在や活動状況を明確にすることが可能であった。ネコの網膜・脈絡膜における炎症の原因には、感染性、外傷性、腫瘍性、免疫介在性、特発性など多岐にわたり、全身疾患に関連して生じる場合が多い[11, 88]。医学領域では免疫介在性疾患であるフォークトー小柳ー原田病において抗炎症薬であるステロイド剤の漸減評価として蛍光眼底造影検査が施行されており、治療計画における有用性が報告されている[23]。蛍光眼底造影検査は医学領域同様に、これらの病態の程度を把握するとともに、抗炎症治療の評価にも有効であると思われた。

結論として、IA と FA を併用した検査法は、色素漏出の原因血管の同定や、血管障害の範囲、程度、新生血管の検出、炎症の評価を相互評価できることからネコの網膜脈絡膜の病態解釈、および治療評価の重要な指標となると考えられた。

小括

本章では、明らかな視覚障害を有さないネコを対象として、IA および FA を実施し、ネコの網膜・脈絡膜病態の解析において蛍光眼底造影検査が臨床応用可能かを検討した。

IA および FA を併用した蛍光眼底造影検査法は、眼底検査では明らかな異常が検出されない確認困難な網膜・脈絡膜病変の描出も可能であった。ICG 色素は出血や色素沈着下の病態を描出できる利点を有しており、脈絡膜毛細血管板の萎縮などの FA では異常を捉えることのできない病変を描出することが可能であった。また、色素の光学的および生物物理学的特性の違いを利用した IA と FA と併用は、その炎症の局在や活動状況を明確にすることが可能であった。

以上のことから、IA および FA を併用した蛍光眼底造影検査法は、ネコにおいても検眼鏡では確認困難な病変を描出し、網膜・脈絡膜における病態の程度や、障害部位の特定、新生血管の検出、ならびに炎症の評価などに対して適しており、臨床応用にあたり有用であると考えられた。

総 括

高血圧性網膜症をはじめとしたネコの眼底疾患は、網膜と脈絡膜の両者が関与し、病態によってその障害度合は変化する。網膜外層に位置する視細胞は角膜や水晶体などの中間透光体を通過し、網膜に照射された光を神経伝達するために化学的なエネルギーに変換する重要な役割を果たしているが、その視細胞への酸素および栄養供給は脈絡膜が担っている。すなわち脈絡膜が障害される疾患では視細胞の障害により視覚障害が現れる。しかし、現在の獣医学領域において、ネコの網膜・脈絡膜疾患に対する生体検査法では、直像検眼鏡や倒像検眼鏡による眼底検査、電気生理学的検査である網膜電図検査およびフルオレセイン蛍光眼底造影検査（FA）が用いられているものの、これらの検査法はいずれも脈絡膜の異常を的確に評価するには至っておらず、脈絡膜の血行動態の異常を把握する低侵襲な検査法の開発が望まれる。医学領域ではこの欠点を補う方法として、ICG色素を用いた蛍光眼底造影検査（IA）が用いられている。また、FAが網膜血管の描出に、IAが脈絡膜血管の描出に適するという両者の特性を利用することで、網膜・脈絡膜における病態の相互関係を明らかにしている。本研究は、ネコの網膜・脈絡膜疾患に対する新たな診断法を開発することを目的とし、IAをネコに応用するとともに、従来のFAと併せて、基礎的および臨床的にその有用性を検討した。

第I章では、高感度CCDビデオカメラを備えた眼底カメラを用い正常猫に対してIAの有用性を従来から用いられているFAと比較することによって検証し、ネコにおけるIAの適応を検討した。正

常猫においても IA によって FA では確認不可能であった脈絡膜動脈および静脈の観察が、タペタムおよびノンタペタム領域にかかわらず可能であった。また、ネコの IA における脈絡膜血管流入から退色までの過程は、ヒトの報告と同様に、初期、中期および後期に分類することが可能であった。以上のことから、IA は、ネコの脈絡膜血管を評価する検査法として有用であり、FA と併用することで、ネコの網膜・脈絡膜を相互評価する正確かつ簡便な生体検査法として有効であると考えられた。

第Ⅱ章では、ネコの IA において脈絡膜を評価する際に、有効な ICG 色素投与濃度を検討することを目的とし、ICG 色素投与濃度を変化させて IA を実施し、変化させた際の造影像の変化を観察した。0.1、0.5、1.0、2.0 および 4.0 mg/kg の 5 段階全ての色素投与濃度において、脈絡膜血管が描出されたものの、ICG 色素投与濃度が高いほうがより明瞭に描出された。造影中期および後期では投与濃度を上げるにつれて開始時間が延長した。また 2.0 および 4.0 mg/kg の投与濃度では、脈絡膜静脈相の後に脈絡膜血管に再蛍光が確認された。この再蛍光は IA において IA 像の時相による病態の解釈を困難にする可能性が示唆された。以上のことから、ネコの IA において脈絡膜を評価するのに最も有用な ICG 色素投与濃度は 1.0 mg/kg であると考えられた。

第Ⅲ章では、臨床応用するにあたり、その安全性を確認するために、ネコの蛍光眼底造影検査における ICG および FLUO 色素投与による副作用としての血圧降下発現の有無およびその予測試験として皮内試験の有効性を検討した。ICG および FLUO の両造影色素ともネコの蛍光眼底造影検査に用いる投与濃度ではショック症状な

どの重篤な副作用は観察されなかったが、FLUO色素においてMABPの低下が多く認められた。また、予測試験としての皮内試験では、ICGおよびFLUO色素とも膨疹がみられた個体すべてで血圧低下がみられ、また両造影色素ともにMABP変化率と膨疹直径において負の相関関係がみられた。以上のことから、ICGおよびFLUO色素を用いた蛍光眼底造影検査をネコの臨床に応用するにあたり、副作用の予測として蛍光眼底造影検査前の予測試験の実施は有用であると考えられた。

第IV章では、IAでのICG色素投与による網膜毒性を評価するために、IAを実施したネコにおいてICG色素投与前後でERGを記録し、ICG色素の静脈内投与が網膜機能に及ぼす影響を検討した。ICG色素投与前後における錐体応答ではb波およびPhNRの振幅と頂点潜時、PhNR/bに有意な変化はみられなかった。また、IAにおいてICG色素漏出による過蛍光所見がみられた対象で、1カ月後に同様の条件でERGを記録したが、1回目のICG色素投与前と2回目のICG色素投与前における錐体応答においても有意な変化はみられなかった。以上のことから、ネコのIAで用いる投与濃度での静脈内ICG色素投与では網膜機能への影響はないものと考えられた。

第V章では、IAおよびFAによるネコの網膜・脈絡膜の病態を解析し、その特徴を明らかにすることでネコにおける蛍光眼底造影検査法の臨床応用の可能性を検討するため、本学附属動物医療センターに来院した明らかな視覚異常を有さないネコを対象としてIAおよびFAを実施した。IAおよびFAを併用した蛍光眼底造影検査法は、眼底検査では明らかな異常が検出されない確認困難な網膜・脈絡膜病変の描出も可能であった。IAは、脈絡膜毛細血管板の萎縮

などの FA では異常を捉えることのできない病変を描出することが可能であった。また、IA と FA との併用は、その炎症の局在や活動状況を明確にすることが可能であった。以上のことから、IA および FA を併用した蛍光眼底造影検査法は、ネコにおいても網膜・脈絡膜における病態の程度や、障害部位の特定、新生血管の検出、ならびに炎症の評価などに対して適しており、臨床応用にあたり有用であると考えられた。

以上の結果により、高感度 CCD ビデオカメラを備えた眼底カメラ撮影による IA は、FA では確認できない脈絡膜血管を鮮明に描出することができ、両造影検査法を併用することがネコの網膜・脈絡膜の臨床的な病態解析法として有用であることが明らかとなった。本検査法は低侵襲、簡便かつ正確に眼底病変を把握でき、再現性が高いことから今後普及し、臨床的に評価し難い症例の早期発見や未知なる病態の検出、治療計画や予後判定の指標として獣医眼科診療に大いに寄与することが期待される。

謝 辞

本論文作成にあたり御懇篤なる御指導頂いた酪農学園大学大学院獣医学研究科画像診断学 中出哲也教授に感謝致します。本研究の御指導および本論文作成にあたり御指導、御校閲を賜りました酪農学園大学大学院獣医学研究科獣医眼科学 前原誠也准教授に深甚なる謝意を表します。また、懇切丁寧な御校閲を賜りました本学院獣医学研究科獣医麻酔学 山下和人教授、ならびに本学院獣医学研究科獣医薬理学 北澤多喜雄教授に感謝致します。本研究の遂行にあたりご助言ご指導を賜りましたトライアングル動物眼科診療室 若生晋輔先生、ならびに動物眼科 VECS 伊藤洋輔先生に深謝致します。

在学中、多大なご指導を賜りました酪農学園大学大学院獣医学研究科分子診断治療学元教授 打出毅先生に深く感謝申し上げます。

本研究遂行にあたり、多大なご協力を頂きました本学獣医学部伴侶動物医療教育群内科学 I 卒業生 千葉春佳さん、本学大学院獣医学研究科大学院生 益子亜里沙獣医師、本学附属動物医療センター研修医 加藤礼子獣医師に誠意を表します。また、本研究において御協力下さった本学獣医学部卒業生ならびに学生諸君に感謝の意を表します。

引用文献

1. Balaiya, S., Brar, V. S., Murthy, R. K. and Chalam, K. 2009. Effects of Indocyanine green on cultured retinal ganglion cells in-vitro. *BMC. Res. Notes.* **2**: 236.
2. Barnett, K. C. and Crispin, S. M. 2000. 14章 眼底. pp. 157-181. 猫の臨床眼科学（朝倉宗一郎，太田充治 監訳），文永堂，東京.
3. Bellhorn, R. W. 1991. An overview of the blood-ocular barriers. *Prog. Vet. Comp. Ophthalmol.* **1**: 205-217.
4. Bischoff, P. M. and Flower, R. W. 1985. Ten years experience with choroidal angiography using indocyanine green dye: a new routine examination or an epilogue. *Doc. Ophthalmol.* **60**: 235-291.
5. Bradey, M. E., Cheng, L., Bartsch, D. U., Appelt, K., Rodanant, N., Bergeron, Lynn. G. and Freeman, W. R. 2004. Preventive versus treatment effect of AG3340, a potent matrix metalloproteinase inhibitor in a rat model of choroidal neovascularization. *J. Ocul. Pharmacol. Ther.* **20**: 217-236.
6. Carolin, A. G., Christos, H., Markus, S. and Anselm, K. 2003. Functional outcome of macular hole surgery with and without indocyanine green-assisted peeling of the internal limiting membrane. *Graefe's Arch. Clin. Exp. Ophthalmol.* **241**: 716-720.
7. Center, S. A., Bunch, S. E., Baldwin, B. H., Hornbuckle, W. E. and Tennant, B. C. 1983. Comparison of sulfobromophthalein and indocyanine green clearances in the dog. *Am. J. Vet. Res.* **44**: 722-726.

8. Center, S. A., Bunch, S. E., Baldwin, B. H., Hornbuckle, W. E. and Tennant, B. C. 1983. Comparison of sulfobromophthalein and indocyanine green clearances in the cat. *Am. J. Vet. Res.* **44**: 727-730.
9. Chang, A. A., Zhu, M. and Billson, F. 2005. The Interaction of Indocyanine green with human retinal pigment epithelium. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* **46**: 1463-1467.
10. Cherrick, G. R., Stein, S. W., Leevy, C. M. and Davidson, C. S. 1960. Indocyanine green: observations on its physical properties, plasma decay, and hepatic extraction. *J. Clin. Invest.* **39**: 592-600.
11. Colitz, C. M. H. 2005. Feline Uveitis: Diagnosis and Treatment. *Clin. Tech. Small. Anim. Pract.* **20**: 117-120.
12. Costa, D. L., Huang, S. J., Orlock, D. A., Freund, K. B., Yannuzzi, L. A., Spaide, R. F. and Gross, N. E. 2003. Retinal-choroidal indocyanine green dye clearance and liver dysfunction. *Retina.* **23**: 557-561.
13. Crispin, S. M. and Mould, J. R. B. 2001. Systemic hypertensive disease and the feline fundus. *Vet. Ophthalmol.* **4**: 131-140.
14. Davidson, M. G. and Baty, K. G. 1991. Anaphylaxis associated with intravenous sodium fluorescein administration in a cat. *Prog. Vet. Comp. Ophthalmol.* **1**: 127-128.
15. Flower, R. W. and Hochheimer, B. F. 1973. A clinical technique and apparatus for simultaneous angiography of the separate retinal and choroidal circulation. *Invest. Ophthalmol.* **12**: 248-261.
16. Grahn, B. H. and Cullen, C. L. 2001. Retinopathy of Great Pyrenees

- dogs: Fluorescein angiography, light microscopy and transmitting and scanning electron microscopy. *Vet. Ophthalmol.* **4**: 191-199.
17. Greenberger, P. A. 1984. Contrast media reactions. *J. Allergy Clin. Immunol.* **74**: 605.
18. Guyer, D. R., Puliafito, C. A., Mones, J. M., Friedman, E., Chang, W. and Verdooner, S. R. 1992. Digital indocyanine-green angiography in chorioretinal disorders. *Ophthalmology.* **99**: 287-291.
19. Haller, M., Brechtelsbauer, H., Finsterer, U., Forst, H., Bein, T., Briegel, J. and Peter, K. 1992. The determination of plasma volume using indocyanine green in man. *Anaesthesist.* **41**: 115-120.
20. Haritoglou, C., Ganderfer, A., Gass, C. A., Schaumberger, M., Ulbig, M. W. and Kampic, A. 2003. The effect of indocyanine green on functional outcome of macular pucker surgery. *Am. J. Ophthalmol.* **135**: 328-337.
21. 長谷川豊. 2002. 造影剤 (ICG) の特徴. pp. 6-9. ICG 蛍光眼底造影マニュアル (三木徳彦, 林一彦 編), メディカル葵出版, 東京.
22. Hayashi, K., Hasegawa, Y. and Tokoro, T. 1986. Indocyanine green angiography of central serous chorioretinopathy. *Int. Ophthalmol.* **9**: 37-41.
23. 林一彦, 町田繁樹. 2002. ICG 蛍光眼底造影の臨床. pp. 47-184. ICG 蛍光眼底造影マニュアル (三木徳彦 編), メディカル葵出版, 東京.
24. Hayreh, S. S. 1974. Recent advances in fluorescein angiography. *Br. J. Ophthalmol.* **58**: 391-412.

25. Hayreh, S. S. 1998. Hypertensive retinopathy. *Ophthalmol. Clin. North. Am.* **11**: 535-558.
26. Hill, D. W. and Young, S. 1975. Infrared angiography of the cat fundus oculi. *Arch. Ophthalmol.* **93**: 131-133.
27. Ho, J. D., Tsai, R. J. F., Chen, S. N. and Chen, H. C. 2003. Cytotoxicity of indocyanine green on retinal pigment epithelium: implications for macular hole surgery. *Arch. Ophthalmol.* **121**: 1423-1429.
28. Hope-Ross, M. W. 1997. ICG dye: physical and pharmacologic properties. pp. 46-49. *In: Indocyanine Green Angiography* (Yannuzzi, L. A., Flower, R. W. and Slakter, J. S. ed.). Mosby Inc, St. Louis.
29. Hope-Ross, M. W., Yannuzzi, L. A., Gragoudas, E. S., Guyer, D. R., Slakter, J. S., Sorenson, J. A., Krupsky, S., Orlock, D. A. and Puliafito, C. A. 1994. Adverse reactions due to indocyanine green. *Ophthalmology* **101**: 529-533.
30. Hunton, D. B., Bollman, J. L. and Hoffman, H. N. 1960. Studies of hepatic function with indocyanine green. *Gastroenterology* **39**: 713-724.
31. 市川智章, 間石成人, 八町淳, 山口功, 石田智一, 傳法昌幸, 本杉宇太郎, 塚本達明, 松木充, 可児弘行, 芳川秀司. 2004. CT造影理論のすべて 基礎編. pp. 35-51. CT造影理論(市川智章編), 医学書院, 東京.
32. Iida, T. 2004. ICG angiography. pp. 606-613. *In: Complete Guide of Ophthalmology* (Maruo, T., Honda, Y., Usui, M. and Tano, Y. ed.),

Bunkodo, Tokyo (in Japanese).

33. 今本量久, 三木徳彦, 林一彦, 武田宗泰, 武藤勉, 小松仁, 川村昭之, 張野正誉. 1993. インドシアニンググリーン蛍光眼底造影の副作用について. *眼科* **35**: 793-798.
34. Iriyama, A., Uchida, S., Yanagi, Y., Tamaki, Y., Inoue, Y., Matsuura, K., Kadonosono, K. and Araie, M. 2004. Effects of indocyanine green on retinal ganglion cells. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* **45**: 943-947.
35. Jorzik, J. J., Bindewald, A., Dithmar, S. and Holz, F. G. 2005. Digital simultaneous fluorescein and indocyanine green angiography, autofluorescence, and red-free imaging with a solid-state laser-based confocal scanning laser ophthalmoscope. *Retina.* **25**: 405-416.
36. Kadonosono, K., Itoh, N., Uchio, E., Nakamura, S. and Ohno, S. 2000. Staining of internal limiting membrane in macular hole surgery. *Arch. Ophthalmol.* **118**: 1116-1118.
37. Kalogeromitros, D. C., Makris, M. P., Aggelides, X. S., Mellios, A. I., Giannoula, F. C., Sideri, K. A., Rouvas, A. A. and Theodossiadis, P. G. 2011. Allergy skin testing in predicting adverse reactions to fluorescein: a prospective clinical study. *Acta. Ophthalmol.* **89**: 480-483.
38. Kano, K., Kohno, T., Miki, T. and Shiraki, K. 2001. Rapid injection of indocyanine green dye for evaluation of choroidal venous circulation. *Jpn. J. Ophthalmol.* **45**: 453-462.
39. 川村昭之. 1994. ICG の副作用とその対策. *眼科* **36**: 157-164.

40. 川村昭之. 1999. インドシアニンググリーン (ICG) の特性 (薬理、代謝、血中での動態). pp. 9-11. インドシアニンググリーン蛍光眼底アトラス (湯沢美都子 編), 南山堂, 東京.
41. Kohno, T., Miki, T., Shiraki, K. and Moriwaki, M. 1995. Indocyanine green angiography in choriocapillary atrophy induced by sodium iodate. *Graefe's Arch. Clin. Exp. Ophthalmol.* **233**: 642-648.
42. Kohno, T., Miki, T., Shiraki, K. and Matsushita, M. 1998. Choriocapillary changes and hyperfluorescence on indocyanine green angiography. *Graefe's Arch. Clin. Exp. Ophthalmol.* **236**: 122-131.
43. Krovetz, L. J. and Gessner, I. H. 1965. A new method utilizing indicator-dilution technics for estimation of left-to-right shunts in infants. *Circulation.* **32**: 772-777.
44. Kwan, A. S., Barry, C., McAllister, I. L. and Constable, I. 2006. Fluorescein angiography and adverse drug reactions revisited: the Lions Eye experience. *Clin. Exp. Ophthalmol.* **34**: 33-38.
45. Kwiterovich, K. A., Maguire, M. G., Murphy, R. P., Schachat, A. P., Bressler, N. M., Bressler, S. B. and Fine, S. L. 1991. Frequency of Adverse Systemic Reactions after Fluorescein Angiography: Results of a Prospective Study. *Ophthalmology* **98**: 1139-1142.
46. Kwok, A. K., Li, W. W., Pang, C. P., Lai, T. Y., Yam, G. H., Chan, N. R. and Lam, D. S. 2001. Staining of internal limiting membrane in macular hole surgery. *Am. J. Ophthalmol.* **132**: 178-183.
47. Lamont, L. and Tranquilli, W. 2002. α 2-Agonists. pp. 199-219. *In*:

- Handbook of veterinary pain management (Gaynor, J. S. and Muir, W. W. ed.), Mosby Inc, St Louis.
48. Lampariello, D. A. and Primo, S. A. 1997. Role of indocyanine green fluorescence videoangiography in evaluation of subretinal disease. *J. Am. Optom. Assoc.* **68**: 343-352.
49. Lee, J. E., Yoon, T. J., Oum, B. S., Lee, J. S. and Hee, Y. 2003. Toxicity of indocyanine green injected into the subretinal space: subretinal toxicity of indocyanine green. *Retina.* **23**: 675-681.
50. Leevy, C. M., Smith, F., Longueville, J. Paumgartner, G. and Howard, M. M. 1967. Indocyanine green clearance as a test for hepatic function: evaluation by dichromatic ear densitometry. *J. Am. Med. Assoc.* **200**: 236-240.
51. Lira, R. P., Oliveira, C. L., Marques, M. V., Silva, A. R. and Pessoa, C. C. 2007. Adverse reactions of fluorescein angiography: a prospective study. *Arq. Bras. Oftalmol.* **70**: 615-618.
52. Lund-Johansen, P. 1990. The dye dilution method for measurement of cardiac output. *Eur. Heart. J.* **11**: 6-12.
53. Machida, S., Toba, Y., Nishimura, T., Ohzeki, T., Murai, K. and Kurosaka, D. 2014. Comparidon of cone electroretinograms after indocyanine green-, Brilliant blue G-, or triamcinolone acetamide-assisted macular hole surgery. *Graefe's Arch. Clin. Exp. Ophthalmol.* **252**: 1423-1433.
54. Maggio, F., DeFrancesco, T. C., Atkins, C. E., Pizzirani, S., Gilger, B. C. and Davidson, M. G. 2000. Ocular lesions associated with systemic hypertension in cats: 69 cases (1985-1998). *J. Am. Vet.*

- Med. Assoc.* **217**: 695-702.
55. Mai, G., Yan, H., Li, M., Ou, j. and Liu, S. 2004. The adverse reactions and treatment of fundus fluorescein angiography. *Yan. Ke. Xue. Bao.* **20**: 237-239.
56. Martin, E., Redondo, J. I., Molleda, J. M., Santisteban, J. M., Lopez, R. and Gomez-Villamandos, R. 2001. Effects of Sevoflurane, Isoflurane and Halotane Anaesthesia on Fluorescein Angiographic Phases of Dogs: A Comparative Study. *J. Vet. Med. A. Physiol. Pathol. Clin. Med.* **48**: 267-275.
57. Matsui, H., Karasawa, Y., Satoh, T. and Okisaka, S. 2007. Toxicity of indocyanine green dye on müller cells. *J. Jpn. Ophthalmol. Soc.* **111**: 587-593.
58. 松坂利彦. 1986. 細胞生物学的調節機構. pp. 174-226. 脈絡膜循環, 圧生社, 大阪.
59. McLauchlan, R., Waterman, H., Waterman, C., Hillier, V. and Dodd, C. 2001. Ethnic variation in fluorescein angiography induced nausea and vomiting. *Eye* **15**: 159-162.
60. Michaella, G., Esther, Z., Anat, L. and Ido, P. 2006. Retinal Toxicity of Indocyanine Green in Albino Rabbits. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* **47**: 2100-2107.
61. 光畑裕正. 2008. アナフィラキシーの臨床診断. pp. 61-80. アナフィラキシーショック (光畑裕正 編), 克誠堂, 東京
62. Muir, W. W., Hubbell, J. A. E., Bedanarski, R. M. and Skarda, R. T. 2009. 第3章 麻酔前投薬に用いる薬物. pp. 25-54. 麻酔オペレーション・ハンドブック, 第4版 (山下和人, 久代季子 監訳),

インターズー，東京．

63. Murata, M., Shimizu, S., Horiuchi, S. and Sato, S. 2005. The effect of indocyanine green on cultured retinal glial cells. *Retina*. **25**: 75-80.
64. 浪久利彦．1963．Indocyanine Green による肝機能検査法．*肝臓* **5**: 114-120.
65. Narfstrom, K. 1985. Progressive retinal atrophy in the Abyssinian cat. Clinical characteristics. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* **26**: 193-200.
66. Narfstrom, K. and Ekesten, B. 1998. Diseases of the canine ocular fundus. pp. 869-933. *In: Veterinary Ophthalmology*, 3rd ed. (Gelatt, N. K. ed.), Lea and Febiger, Philadelphia.
67. Narfstrom, K. and Ekesten, B. 1998. Diseases of the posterior segment. pp. 1034-1052. *In: Veterinary Ophthalmology*, 3rd ed. (Gelatt, N. K. ed.), Lea and Febiger, Philadelphia.
68. 西野和明，武田宗泰，中川喬，曾根聡，其田一，土田英昭．1992．フルオレイン皮内テスト強陽性に発生した重篤な副作用の1例．*臨床眼科* **46**: 725-728.
69. 野田保雄．2002．眼底血管造影実施基準．*日本眼科学会雑誌* **106**: 121-127.
70. 野本浩之．2011．蛍光眼底造影からみた網膜血管障害．pp. 8-16．*専門医のための眼科診療クオリファイ 網膜血管障害*（白神史雄編），中山書店，東京．
71. Novotony, H. R. and Alvis, D. L. 1961. A method of photographing fluorescence in circulating blood in human retina. *Circulation* **24**:

82.

72. 大野京子, 森隆三郎. 2011. 蛍光眼底造影および眼底自発蛍光を理解するための基礎知識. pp. 1-8. 身につく蛍光眼底造影検査手技と所見の読み方, 金原出版, 東京.
73. Orlock, D. A. 1997. Acquisition of ICG angiograms. pp. 50-62. *In: Indocyanine Green Angiography* (Yannuzzi, L. A., Flower, R. W. and Slakter, J. S. ed.), Mosby Inc, St. Louis.
74. Oshima, Y., Harino, S. and Hara, Y. 1996. Indocyanine green angiographic findings in vogt-koyanaghi-harada disease. *Am. J. Ophthalmol.* **122**: 58-66.
75. Pacurariu, R. I. 1982. Low incidence of side effects following intravenous fluorescein angiography. *Ann. Ophthalmol.* **14**: 32-36.
76. Rodrigues, E. B., Meyer, C. H., Mennel, S. M. and Farah, M. E. 2007. Mechanisms of intravitreal toxicity of indocyanine green dye: implications for chromovitrectomy. *Retina.* **27**: 958-970.
77. Samuelson, D. A. 1998. Ophthalmic anatomy. pp. 31-150. *In: Veterinary Ophthalmology*, 3rd ed. (Gelatt, N. K. ed.), Lea and Febiger, Philadelphia.
78. Sansom, J., Barnett, K. C., Dunn, K. A., Smith, K. C. and Dennis R. 1994. Ocular disease associated with hypertension in 16 cats. *J. Small. Anim. Pract.* **35**: 604-611.
79. 佐藤武雄. 2002. 眼底血管造影検査法を安全に施行するコツ. あたらしい眼科 **19**: 3-5.
80. Schaepdrijver, L. D., Simoens, P. and Lauwers, H. 1996. Fluorescein Angiography of the Canine Retina. *Vet. Ophthalmol.* **6**: 111-118.

81. Shiraki, K., Moriwaki, M., Yanagihara, N., Kohno, T. and Miki, T. 2001. Indocyanine green angiograms of choroidal nevi: comparison between confocal and nonconfocal scanning laser ophthalmoscope and fundus video camera. *Jpn. J. Ophthalmol.* **45**: 368-374.
82. Sippy, B. D., Engelbrecht, N. E., Hubbard, G. B., Moriarty, S. E., Jiang, S., Aaberg, T. M. Jr., Aaberg, T. M. Sr., Grossniklaus, H. E. and Sternberg, P. Jr. 2001. Indocyanine green effect on cultured human retinal pigment epithelia cells: implication for macular hole surgery. *Am. J. Ophthalmol.* **132**: 433-435.
83. Spaide, R. F., Yannuzzi, L. A., Slakter, J. S., Sorenson, J. and Orlich, D. A. 1995. Indocyanine green videoangiography of idiopathic polypoidal choroidal vasculopathy. *Retina.* **15**: 100-110.
84. Stalmans, P., Aken, E. H. V., Veckeneer, M., Feron, E. J. and Stalmans, I. 2002. Toxic effect of indocyanine green on retinal pigment epithelium related to osmotic effects of the solvent. *Am. J. Ophthalmol.* **134**: 282-285.
85. Strubbe, D. T. and Gelatt, K. N. 1998. Ophthalmic examination and diagnostic procedures. pp. 427-466. *In: Veterinary Ophthalmology*, 3rd ed. (Gelatt, N.K. ed.), Lea and Febiger, Philadelphia.
86. Sutoh, N., Muraoka, K., Tokui, K. and Takahashi, K. 1995. Wide-angle indocyanine green angiography in diabetic retinopathy after panretinal photocoagulation. *Jpn. J. Clin. Ophthalmol.* **49**: 121-127.
87. Suzuki, M., Cho, F. and Yoshikawa, Y. 1997. Application of indocyanine green angiography for cynomolgus monkeys. *Anim. Eye*

- Res.* **16**: 107-110.
88. Townsend, W. M. 2008. Canine and Feline Uveitis. *Vet. Clin. North Am.* **38**: 323-346.
89. Uemura, A., Kanda, S., Sakamoto, Y. and Kita, H. 2003. Visual Field Defects after uneventful vitrectomy for Epiretinal membrane with Indocyanine Green-assisted internal limiting membrane peeling. *Am. J. Ophthalmol.* **136**: 252-257.
90. 宇山昌延, 馬嶋昭生, 松井端夫, 野寄喜美春, 清水弘一, 水野勝義. 1983. フルレオセインの副作用と安全性. 日本眼科学会雑誌 **87**: 300-305.
91. Villagrasa, M. and Cascales, M. J. 2000. Arterial Hypertension: angiographic aspects of the ocular fundus in dogs. A study of 24 cases. *Eur. J. Companion. Anim. Pract.* **10**: 177-190.
92. Vogin, E. E., Skeggs, H. R., Bokelman, D. L. and Mattis, P. A. 1967. Liver function: postprandial urea nitrogen elevation and indocyanine green clearance in the dog. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **10**: 577-585.
93. Wakaiki, S., Maehara, S., Abe, R., Tsuzuki, K., Igarashi, O., Saito, A., Itoh, N., Yamashita, K. and Izumisawa, Y. 2007. Indocyanine green angiography for examining the normal ocular fundus in dogs. *J. Vet. Med. Sci.* **69**: 465-470.
94. 渡辺敏明, 清野雅子. 1987. 蛍光眼底撮影時の血圧および脈拍の変動. 日本眼科紀要 **38**: 1521-1528.
95. Yannuzzi, L. A., Rohrer, K. T., Tindel, L. J., Sobel, R. S., Costanza, M. A., Shields, W. and Zamg, E. 1986. Fluorescein angiography

- complication survey. *Ophthalmology* **93**: 611-617.
96. Yannuzzi, L. A., Slakter, J. S., Sorenson, J. A., Guyer, D. R. and Orlock, D. A. 1992. Digital indocyanine green videoangiography and choroidal neovascularization. *Retina*. **12**: 191-223.
97. 米谷新. 1999. 網膜の検査法. pp. 63-75. 網膜 (本田孔士, 小椋祐一郎, 根木昭 編), 廣濟堂, 東京.
98. Yoneya, S. 2004. A new approach for studying the retinal and choroidal circulation. *J. Jpn. Ophthalmol. Soc.* **108**: 836-861.
99. Yoneya, S. Mori, K. 2004. ICG angiography. pp. 9-18. *In: Choroidal Circulation and Fundus Disorder* (Shimizu, K. ed.), Igaku-shoin, Tokyo (in Japanese).
100. Zografos, L. 1983. Enquete internationale sur l'incidence des d'angéiographies fluoresceiniques. *J. Fr. Ophthalmol.* **6**: 495-506.