

厚生労働科学研究費補助金

感覚器障害研究事業

新しい無侵襲的網膜機能計測法の開発および  
臨床応用に関する研究

平成16年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 角田 和繁

平成17(2005)4月

厚生労働科学研究費補助金

感覚器障害研究事業

新しい無侵襲的網膜機能計測法の開発および  
臨床応用に関する研究

平成16年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 角田 和繁

平成17(2005)4月

## 目次

I. 総括研究報告書	
新しい無侵襲的網膜機能計測法の開発および臨床応用に関する研究	5
角田 和繁	
II. 分担研究報告書	
1. 動物眼における網膜内因性信号の測定および性能評価に関する研究	11
谷藤 学	
2. 未熟児網膜症の網膜循環と機能に関する検討	16
東 範行	
3. 黄斑疾患に対する硝子体手術適応の評価と課題	20
平形 明人	
4. 網膜剥離眼における黄斑部機能評価	26
篠田 啓	
5. 網膜内因性信号計測装置性能向上のための設計開発	33
楠城 紹生	
III. 研究成果の刊行に関する一覧表	37
IV. 研究成果の刊行物・別刷	47



# I. 総括研究報告書



## 新しい無侵襲的網膜機能計測法の開発および臨床応用に関する研究

主任研究者 角田和繁

独立行政法人国立病院機構東京医療センター臨床研究センター視覚生理学研究室長

研究要旨： 網膜内因性信号計測装置（FRG）の実用化に向けて、実験動物および正常ヒト被験者において網膜の機能的マッピングを行い、基礎的データとして必要な生理学的知見の蓄積および、測定性能向上のためのソフトウェア・ハードウェア面の改良を行った。合わせて、臨床応用に向けた適応疾患の選定、および各疾患における測定条件の検索を目的として、成人および小児における網膜疾患の機能的・形態学的研究を行った。一連の研究により、FRGの測定精度を向上させることができ、また網膜機能についての新しい様々な生理学的・病理学的知見が得られ、FRGの適応疾患範囲を広げる可能性が開かれた。

### 分担研究者氏名・所属機関名及び所属機関における職名

谷藤学	理化学研究所脳科学総合研究センター脳統合機能研究チーム チームリーダー
東範行	国立成育医療センター 眼科医長
平形明人	杏林大学医学部眼科学教室 助教授
篠田啓	慶應義塾大学医学部 眼科学教室 助手
楠城紹生	株式会社ニデック医療事業部 診断機器グループ診断機器開発チームプロダクトリーダー

網膜機能イメージング法を確立することを最終目標としている。目標が達成されれば、黄斑部を含む様々な網膜疾患のスクリーニング的評価、手術等の治療前後における網膜機能の客観的評価、検査の施行が困難な乳幼児における客観的網膜機能評価等について応用が可能であり、視覚的機能を的確に評価することによる眼疾患の早期発見、失明予防に大きく寄与しうる可能性がある。

平成16年度においては、①測定装置本体、周辺機器およびデータ解析ソフトウェアの開発（製作、改良）、②実験動物および正常ヒト眼底を用いた網膜内因性信号の基礎データの収集、③患者を対象とした臨床治験に向けての準備、を目的としてそれぞれの研究施設で研究が進められた。

### A. 研究目的

本研究は、独自に開発した網膜内因性信号計測装置（FRG：網膜の局所的神経活動を画像化する装置）を実用段階に発展させ、これを臨床応用することで新しい非侵襲的

### B. 研究方法

①測定装置本体、周辺機器およびデータ解析ソフトウェアの開発（製作、改良）、②実験動物および正常ヒト眼底を用いた網

膜内因性信号の基礎データの収集については、主任研究者および分担研究者のうち谷藤、楠城が担当した。既存のFRGプロトタイプを用いて、麻酔下の動物と正常ヒト被験者における理想的な測定条件（観察光波長、観察光量、刺激光強度、暗順応時間等）を詳細に検討した。得られたデータについてはその都度三者間で協議検討し、測定機器の性能を向上させるための改良を逐一行った。

③患者を対象とした臨床治験に向けての準備については、分担研究者のうち東、平形、篠田が担当した。それぞれの施設において、蛍光眼底造影および網膜電図による未熟児網膜症の網膜形態および機能の検討、硝子体手術を施行した黄斑分離症のOCT画像診断による形態学的検討、Scanning Laser Doppler Flowmetry法による網膜剥離眼黄斑部の機能評価の検討が行われた。

（倫理面での配慮）

実験動物の取り扱いについては、各施設における動物実験規約を遵守し、また、ARVO (Association for Research in Vision and Ophthalmology : 米国視覚眼科研究学会) で定められた動物実験規約に従った。さらに、正常ヒト被験者において測定実験を行う際には、実験の目的、方法、安全性についての説明を十分にした上で被験者の同意を得た。

また各施設における臨床研究に関しては、研究の趣旨、安全性についての十分な説明を行った後、インフォームド・コンセントを取得して実施した。また臨床研究としてのデータ作成の同意を得た。

### C. 研究結果

麻酔下サルにおいては、近赤外観察光お

よび一発フラッシュ刺激を用いることで、錐体・杆体視細胞の機能的トポグラフィーを描出することができた。また570および630ナノメートル等の可視光を観察光とすると、中心窩にピークを持つ錐体色素褪色変化のマッピングをすることができた。さらに10ヘルツ・フリッカーによる刺激を行ったところ、視神経乳頭部での局所的な信号トポグラフィーを描出することができ、これは視神経乳頭部における血流上昇を反映していると考えられた。いずれも測定には数秒間しか要しておらず、高い再現性が得られた。データのノイズレベルも初期プロトタイプに比べ格段に向上していた。

ヒト正常被験者における計測では、1発フラッシュ刺激を用いて刺激後500ミリ秒以内にピークを持つ後極全体の吸光度上昇が観察された。しかし眼球運動に伴う差分画像のノイズが比較的大きく、中心窩にピークを持つトポグラフィーを描出するには至らなかった。

また、病的網膜における機能評価については、成育医療センターにおいて未熟児網膜症、杏林大学において高度近視眼や乳頭ピット黄斑症に伴う黄斑分離、慶應義塾大学において網膜剥離の患者について、それぞれ新たな知見が得られた（詳細は分担研究報告書参照）。

### D. 考察

近赤外光観察下でのFRG計測により、霊長類生体網膜における視細胞の神経活動分布が初めて明らかになった。すなわち今まで摘出人眼や摘出動物眼のみで確認されていた視細胞の解剖学的分布が、生体におけるマクロな機能的マッピングとして可能となり、新しい非侵襲的網膜機能評価法の



高い有望性が示された。

可視光観察下での計測では、杆体色素、錐体色素の吸光度特性を反映した早い褪色変化が観察された。これは内因性信号とは異なる信号成分であるが、従来、Retinal Densitometry として観察されていた褪色変化に比べて、空間的、時間的により鮮明な情報が短時間で得られており、FRGの新たな検査適応の可能性を示すことができた。

またフリッカー刺激によって描出された視神経乳頭部の機能的トポグラフィは、神経節細胞の興奮による代謝変化を反映していると考えられた。これはレーザードップラー法による血流測定に代わる新しい視神経機能の評価法であり、緑内障を始めとする視神経疾患の検査法となりうる可能性が示された。

また、内因性信号の信号起源については、毛細血管構造を有しない中心窩で刺激後100ミリ秒以内にピークを持つ信号が得られ、また豊富な血管を持つ視神経乳頭部では刺激後3秒以降にピークが存在することから、網膜面での信号源として神経活動に伴う光散乱変化の寄与が大きいことが証明された。しかし観察光波長を変えることで、色素褪色変化や、血流変化が大きく信号の発生に寄与することも示されており、FRGは様々な神経活動や代謝変化を捉えうる multi modal な計測法であることが示された。また、実験結果のフィードバックにより最適CCDカメラの選択、照明効率の高い光学設計、フラッシュ刺激周波数の適正化がなされ、機能的トポグラフィの質が大幅に向上した。

いっぽう各施設で得られた患者における網膜機能評価研究では、それぞれ未熟児網

膜症、高度近視眼や乳頭ピット黄斑症に伴う黄斑分離、網膜剥離における病態について新たな知見が得られており、網膜内因性信号計測の適応疾患の選定、ならびに臨床検査に向けた測定条件の検討にとって非常に有意義な資料となった。

未熟児網膜症の検討においては、発達期における重篤な網膜剥離が網膜の機能低下だけでなく形成不全を起こす可能性があることが示され、ERGがその評価に不可欠であった。しかし黄斑部局所ならびに周辺部網膜の機能がERGによる網膜全体の反応とは異なっている可能性は高く、今後のFRGによる部位診断の重要性が示された。

杏林大学においては、高度近視眼や乳頭ピット黄斑症に伴う黄斑分離に対して、硝子体手術施行前後でOCT画像診断を行った。黄斑分離に対する硝子体手術は、OCTの画像診断と視力経過から有用であることが確認された。しかし、OCT画像診断だけで硝子体手術の適応時期を決定する限界や課題も多く、生体におけるマクロな黄斑機能的マッピングを可能とするFRG検査は、本病態における硝子体手術適応を決めるための非侵襲的網膜機能評価法として意義が高いとの知見が得られた。

慶應義塾大学においては、成人網膜剥離眼における黄斑部の機能評価を行った。網膜剥離に対して強膜バックリング術を施行された患者の手術前後の黄斑部血流をScanning Laser Doppler Flowmetry法(SLDF)を用いて測定したところ、術前では黄斑部は剥離していないにもかかわらず患眼の血流量の低下がsubclinicalに存在すること、またその血流の減少量は剥離の範囲に有意に関連していることが明らかにされた。電気生理学的には網膜内層の機能低

下が関与していると考えられるが、今後FRGによって更なる病態の解明がなされる可能性が示された。

## E. 結論

FRGの観察光波長、暗順応時間および刺激光周波数等の測定パラメータを変更することにより、網膜の錐体・杆体視細胞の機能的マッピングばかりでなく、色素褪色変化や血流変化もマッピングすることができ、本計測法の検査適応の拡大が示された。また、網膜内因性信号計測法の臨床応用に向けて機器開発、生体基礎実験、基礎的臨床データ収集の各研究部門が大きな進展を見せ、総合的にも実用化に向けての意義ある進捗が得られた。

## F. 健康危険情報

特になし。

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

Tsunoda, K., Oguchi, Y., Hanazono, G. and Tanifuji, M. (2004) Mapping cone- and rod-induced retinal responsiveness in macaque retina by optical imaging. *Investigative Ophthalmology and Visual Science*. 45 (10):3820-3826

Satofuka S and Tsunoda K. Anterior capsule opacification spanning the anterior surface of an AcrySof intraocular lens. *J Cataract Refract Surg*. 2004; vol. 30, 2230-2231

### 2. 学会発表

Tsunoda K, Oguchi Y, Tanifuji M,

‘Retinal topography of cone-related neural activity revealed by optical imaging with intrinsic signals.’ (Annual meeting of Association for Research in Vision and Ophthalmology) 平成16年4月

角田和繁 「新しい黄斑機能計測法の開発」 (第108回日本眼科学会専門別研究会、黄斑研究会、東京) 平成16年4月

角田和繁、小口芳久、谷藤学 「光学測定法による黄斑部網膜機能の画像化」 (第108回日本眼科学会総会、東京) 平成16年4月

谷藤学、角田和繁 「神経活動によって引き起こされる光散乱変化を利用した脳機能イメージング」 (第27回日本神経科学大会・第47回日本神経化学学会大会 合同大会、大阪) 平成16年9月21日

谷藤学、山根ゆか子、角田和繁 「脳における図形特徴の組み合わせを使った物体像の表現」 (第42回生物物理学会、京都) 平成16年12月

花園元、小口芳久、谷藤学、角田和繁 「光学計測法による視神経乳頭部の機能評価」 (第109回日本眼科学会総会、京都) 17年3月24日

## H. 知的財産権の出願・登録状況

### 1. 特許取得

「網膜機能の光学計測方法と装置」

特願 2004-044055

### 2. 実用新案登録 なし

### 3. その他 なし

## II. 分担研究報告書



## 動物眼における網膜内因性信号の測定および性能評価に関する研究

分担研究者 谷藤学

理化学研究所脳科学総合研究センター脳統合機能研究チーム チームリーダー

研究要旨： FRGを用いてマカク属サル網膜にて光学計測を行い、白色フラッシュ刺激に対する視細胞の神経応答を計測した。観察光として近赤外光を用いることで、画角40度における錐体視細胞および杆体視細胞の機能局在を反映した機能的網膜マッピングを作成することができた。観察光波長として630ナノメートルの可視光を用いることで、黄斑部における錐体視細胞の褪色現象の局在を2次的にマッピングすることができた。また、刺激光として10ヘルツのフリッカー光を用いることで、神経節細胞の活動に起因すると思われる視神経乳頭部での神経応答を捉えることができた。一連の実験により、FRGの網膜機能測定機器としての適応範囲を広げ、信号測定精度を向上させることができた。

### A. 研究目的

網膜の中心部にあたる黄斑部には錐体視細胞が集中しており、日常生活に有効な視機能を維持する上で最も重要な部位である。このため生理学的にも臨床的にも、黄斑部を含む網膜の活動をイメージングし、その機能を正確に評価することは重要な課題である。しかし現在臨床で利用可能な網膜画像診断法（眼底写真、蛍光眼底造影法、光干渉網膜断層撮影法、走査型レーザー眼底鏡など）は、いずれも解剖学的な解析を目的としており、網膜の神経活動を一切反映していない。

Intrinsic Signal Optical Imaging の技術を用いて角田らにより開発された網膜内因性信号計測法（FRG）は黄斑部を含む網膜視細胞機能を詳細に画像化することができ、その臨床応用によりこれまで困難であった視細胞機能の非侵襲的イメージングが

実現する可能性がある。本研究はマカク属サル網膜にてFRG計測を行い、その信号の性質、起源を明らかにするとともに、網膜視細胞の機能的マッピングをするうえで最も適した測定条件の追究、および測定機器の改良をすることを目的とする。

### B. 研究方法

FRGを用いて、麻酔下マカクザルにおいて光学測定を行った。観察光波長は、可視光から近赤外光までの様々な干渉フィルターを用いて可変とし、刺激は白色のdiffuse flicker ストロボ（1-80 Hz）を用いた。内因性信号強度の分布をもとに網膜の機能的トポグラフィーを作成し、その空間的、時間的分布について記録条件ごとに検討した。また、正常ヒト被験者については、近赤外観察光のみを用いて記録を行った。さらに輝度計、温度計を用いて、

観察光量、刺激光量、観察光による発熱等についての安全性の検査も行った。

(倫理面での配慮)

実験動物の取り扱いについては、理化学研究所における動物実験規約を遵守し、また、ARVO (Association for Research in Vision and Ophthalmology : 米国視覚眼科研究学会) で定められた動物実験規約に従った。さらに、正常ヒト被験者において測定実験を行う際には、実験の目的、方法、安全性についての説明を十分にした上で被験者の同意を得た。

#### D. 研究結果

麻酔下サルにおける近赤外観察光を用いた実験では、一発フラッシュ刺激による錐体・杆体視細胞の神経活動を網膜反射率の低下として正確に描出することに成功した。すなわち、明順応下の機能的トポグラフィーでは中心窩を頂点とする信号のピークが見られ、周辺に向けて信号が落ち込んでいた。暗順応下の機能的トポグラフィーでは、中心窩でのピークが見られる以外に、20度付近の周辺網膜で輪状の反応ピークが観察された。網膜面における反応は大脳皮質における内因性信号に比べて著しく早く、刺激後100ミリ秒以内でピークに達していた。

570および630ナノメートル等の可視光を観察光として記録した場合、黄斑の中心部にピークを持つ反射率の上昇がみられた。これは近赤外光観察下における反射率低下と逆の極性を持つ信号であった。反応時間は非常に早く、刺激後100ミリ秒以内でピークに達していた。

フリッカー刺激による内因性信号を検討したところ、10ヘルツから80ヘルツま

でのフリッカー刺激による網膜反応は、一発フラッシュと同様の信号分布を示した。視神経乳頭部における血流上昇を最も強く引き起こすとされる10ヘルツのフリッカー刺激を用いると、視神経乳頭部での局所的な信号トポグラフィーを描出することができた。信号の時間経過は観察光波長によって大きく異なり、近赤外光においては刺激後3秒をピークとするゆっくりとした反射率の低下がみられ、570ナノメートルにおいては、早期の反射率低下に続いて大きな反射率上昇が観察された。

#### D. 考察

近赤外光観察下での網膜内因性信号は錐体視細胞および杆体視細胞の解剖学的分布と一致しており、さらに杆体反応による輪状ピークは明順応により消失していた。これにより霊長類生体網膜における視細胞の神経活動分布が初めて明らかになった。いままですでに摘出人眼や摘出動物眼のみで確認されていた視細胞の解剖学的分布が、生体におけるマクロな機能的マッピングとして可能となり、新しい非侵襲的網膜機能評価法の高い有望性が示された。

可視光観察下での計測では、杆体色素、錐体色素の吸光度特性を反映した早い褪色変化が観察された。これは内因性信号とは異なる信号成分であるが、従来、Retinal Densitometry として観察されていた褪色変化に比べて、空間的、時間的に鮮明な情報が短時間で得られており、FRGの新たな検査適応の可能性を示すことができた。

またフリッカー刺激によって描出された視神経乳頭の機能的トポグラフィーは、神経節細胞の興奮による代謝変化を反映して

いると考えられた。これはレーザードップラー法による血流測定に代わる新しい視神経機能の評価法であり、緑内障を始めとする視神経疾患の検査法となりうる可能性が示された。

内因性信号の信号起源については、毛細血管構造を有しない中心窩で刺激後100ミリ秒以内にピークを持つ信号が得られ、また豊富な血管を持つ視神経乳頭部では刺激後3秒以降にピークが存在することから、網膜面での信号源として神経活動に伴う光散乱変化の寄与が大きいことが証明された。しかし観察光波長を変えることで、色素褪色変化や、血流変化が大きく信号の発生に寄与することも示されており、FRGは様々な神経活動や代謝変化を捉えうる multi modal な計測法であることが示された。

測定の安全性については、網膜における光学計測法は外科的侵襲を必要としない検査法であり、造影剤等の注射も必要としない非侵襲的な計測法である。しかし眼底照明用の観察光、および網膜刺激用のフラッシュ光の強度については、対象眼の網膜光障害を起こさないように事前に確認を行った。すなわち、眼前における光エネルギーを測定し、眼底カメラの光障害に関する国際安全規格 (ISO 10940, Ophthalmic instruments – Fundus cameras) で定められた範囲内であることを確認した。また、近赤外観察光の熱障害については、眼底カメラの焦点位置に設置した黒色紙を通常測定の2倍の光量で長時間照射し(20分間)、対象の温度が全く上昇しないことを確認した。これらより、本計測法は対象網膜に対して無侵襲の検査法であることが確認された。

## E. 結論

FRGの観察光波長、暗順応時間および刺激光周波数等の測定パラメータを変更することにより、網膜の錐体・杆体視細胞の機能的マッピングばかりでなく、色素褪色変化や血流変化もマッピングすることができ、本計測法の検査適応の拡大が示された。

## F. 健康危険情報

特になし。

## I. 研究発表

### 1. 論文発表

Tsunoda, K., Oguchi, Y., Hanazono, G. and Tanifuji, M. (2004) Mapping cone- and rod-induced retinal responsiveness in macaque retina by optical imaging. *Investigative Ophthalmology and Visual Science*. 45 (10):3820-3826

Fukuda, M., Rajagopalan, U., Homma, R., Matsumoto, M., Nishizaki, M. and Tanifuji, M. (2004) Localization of activity-dependent changes in blood volume to submillimeter-scale functional domains in cat visual cortex. *Cerebral Cortex*. *in press*

Sugai, T., Miyazawa, T., Fukuda, M., Yoshimura, H. and Onoda, N. (2005) Odor-concentration coding in the guinea-pig piriform cortex. *Neuroscience* 130:769-781

Yoshimura, H., Sugai, T., Fukuda, M., Segami, N. and Onoda, N. (2004) Cortical spatial aspects of optical intrinsic signals in response to sucrose and NaCl stimuli. *Neuroreport*. 15 (1):17-20

Ojima, H., Takayanagi, M., Potapov, D. and Homma, R. (2005) Isofrequency band-like zones of activation revealed by optical imaging of intrinsic signals in the cat primary auditory cortex. *Cerebral Cortex*. *in press*

### 3. 学会発表

Tanifuji, M. Representation of object images in the monkey inferotemporal cortex: Workshop on Generic Object Recognition and Categorization. Washington DC., USA  
2004年6月

Uchida, G., Fukuda, M. and Tanifuji, M. Synchronous transition between two activity states of neurons in area TE of macaque monkeys: 34th Annual Meeting of Society for Neuroscience. San Diego, USA  
2004年10月

Tanigawa, H., Rockland, K. S. and Tanifuji, M. Relationship between horizontal connections and functional structure revealed by intrinsic signal imaging, unit recording, and anatomical tracing in macaque anterior inferotemporal cortex (area TE): 34th Annual Meeting of Society for Neuroscience. San Diego, USA

2004年10月

Sato, T., Uchida, G. and Tanifuji, M. Nature of neuronal clustering in inferotemporal cortex of macaque monkey revealed by optical imaging and extracellular recording: 34th Annual Meeting of Society for Neuroscience. San Diego, USA  
2004年10月

Rajagopalan, U. and Tanifuji, M. Functional optical coherence tomography for depth functional imaging of cortex: A comparison with extracellular activities. 34th Annual Meeting of Society for Neuroscience. San Diego, USA  
2004年10月

Tanifuji, M. Neural representation of object images in the monkey inferotemporal cortex: Shanghai International Conference on Physiological Biophysics (Shanghai ICPB'04), Shanghai, China  
2004年11月

Tanifuji, M. Representation of object images in the brain: Brain, Mind and Culture, Modern insights into 2,500-year-old riddles, A neuroscience forum on the island of Aphrodite. Limassol, Cyprus  
2004年11月

Tanifuji, M. Functional brain imaging



with light scattering changes elicited by neural activities: 5th IBRO Asia-Pacific Neuroscience School. The Thai Neuroscience Society and others. Bangkok, Thailand 2004年12月

5. 実用新案登録 なし
6. その他 なし

Tanifuji, M. Representation of object images in the brain: 10th TNS Annual Conference 2004. The Thai Neuroscience Society and others. Bangkok, Thailand 2004年12月

佐藤 多加之、内田 豪、谷藤 学「光学測定と細胞外記録を用いた下側頭葉皮質における細胞集団の性質の解明」第81回日本生理学会大会。札幌 2004年6月

本間 良太、谷藤 学「サルTE野における内因性光信号イメージングと膜電位イメージングにより計測した神経活動の空間パターンの直接比較」第27回日本神経科学大会。大阪2004年9月

内田 豪、福田 光洋、谷藤 学「TE野神経細胞の2つの発火状態と状態遷移の細胞間同期」第27回日本神経科学大会。大阪2004年9月

谷藤 学「サル視覚連合野における図形特徴の組み合わせを使った物体像の表現」第42回生物物理学会年会。京都 2004年12月

J. 知的財産権の出願・登録状況

4. 特許取得

「網膜機能の光学計測方法と装置」

特願 2004-044055

## 未熟児網膜症の網膜循環と機能に関する検討

分担研究者 東 範行 国立成育医療センター

研究要旨： 未熟児網膜症の網膜形態および機能を、蛍光眼底造影および網膜電図(ERG)によって検討した。Stage 4 網膜症に至ると、牽引乳頭や網膜ひだを形成していても、毛細血管網がある程度は形成され、ERG は normal～subnormal であった。これに対して、ひとたび stage 5 に至って網膜全剥離になれば、硝子体手術によって復位が得られても、毛細血管網の欠損がみられ、ERG は大部分が extinguished であった。発達期における重篤な網膜剥離は、網膜の機能低下だけでなく、形成不全を起こす可能性がある。

### A. 研究目的

未熟児網膜症は、発達過程の網膜血管が異常増殖する疾患であるが、この時期は網膜の層構造形成の最終期にあたる。近年、重症網膜症が増加していることを鑑み、本研究では Stage 4 あるいは stage 5 に至った網膜症の網膜機能につき、毛細血管造影と電気生理学的見地から検討した。

### B. 研究方法

活動期 stage 4 に達し、瘢痕化して牽引網膜あるいは網膜ひだにいたった未熟児網膜症 10 例 14 眼（牽引網膜 6 眼、網膜ひだ 8 眼）、stage 5 で全網膜剥離になり、硝子体手術で復位を得た 10 例 16 眼の未熟児網膜症を対象とした。これらの症例で、全身麻酔下に、蛍光眼底造影によって網膜変性の程度と毛細血管網構築を検討した。併せて、photopic、scotopic、single flash ERG を行い、網膜機能を電気生理学的に検査した。（倫理面での配慮）

本研究は、健常者ならびに網膜剥離患者に対して研究の趣旨、安全性についての十

分な説明を行った後、インフォームド・コンセントを取得して実施した。

### C. 研究結果

活動期 stage 4 に達した網膜症では、牽引網膜を示した 6 眼は、血管の走行異常はあるものの、網膜血管の異常吻合や毛細血管網の異常はみられなかった。これに対して、網膜ひだを示した 8 眼では、いずれも、ひだの中の血管異常吻合と毛細血管網の欠如、鼻側で伸展された網膜の毛細血管網の欠如が観察された。網膜電図は、牽引網膜を示した 6 眼は、全例で、photopic、scotopic、single flash ERG いずれも normal response であった。一方、網膜ひだを示した 8 眼のうち、2 眼は photopic、scotopic、single flash ERG いずれも normal response、6 眼は a 波、b 波ともに低下した subnormal response であった。

stage 5 で、ひとたび網膜全剥離となった 16 眼では、すべての症例が、蛍光眼底造影で網膜血管の異常吻合と毛細血管網の部分的ないしは広汎な欠損を示した。ERG は、14

眼で photopic、scotopic、single flash いずれも extinguished であり、2 眼でごく微弱な反応がみられた。

#### D. 考察

活動期末熟児網膜症では、stage 3 に至ると光凝固を行って治療するが、これに抵抗して新生血管がさらに形成され、線維組織となって網膜に牽引性剥離を来たすと、牽引網膜や網膜ひだ (stage 4)、網膜全剥離 (stage 5) へ進行する。中には、急速に進んで網膜全剥離に至る劇症型も存在する。従来は、stage 3 に光凝固を行い、悪くとも牽引網膜と定めることが治療の目的とされていた。しかし、近年全身管理の進歩に伴って、体重がきわめて少ない低出生体重児の生存率が向上すると、光凝固治療に抵抗して stage 4 や stage 5 に進行する症例や、劇症型が急速に増加している。これに対して、強膜バックリングや硝子体手術が行われるようになり、ある程度の復位率が得られてはいるが、復位しても視力は手動弁程度にとどまることも多い。

今回、進行例において、蛍光眼底造影で網膜血管網の、ERG で網膜機能の検討を行ったが、牽引網膜、網膜ひだ、全剥離と進行すると、網膜血管の異常吻合や毛細血管網の欠損が増加することが判明した。未熟児網膜症の有血管領域では、ひとたび網膜血管が形成されていたとしても、初期の網膜虚血、増殖に至ってからの網膜牽引あるいは剥離などによって血管網は一部破壊され、異常吻合などが作られることが推測される。これは、糖尿病や血管閉塞に伴う成人の牽引性網膜剥離とは異なり、発達期特有の変化と考えられる。

また、ERG による網膜機能も、網膜の牽引

が進行すると急速に低下することが推測された。これは、眼底検査で網膜が復位していると判断していても、実際は層構造の発達停止は変性がかなりの程度進んでおり、重篤な機能障害を起していると思われる。

今回の結果は、さらに他の検査による網膜血管循環あるいは機能判定を行う必要があるが、未熟児網膜症では、網膜の障害を来たさないためには、牽引を起こさないことが重要である。この観点から、従来より早期に光凝固を開始することも、検討されるべきと考える。

#### E. 結論

未熟児網膜症の蛍光眼底造影および ERG を討した。Stage 4 網膜症では、牽引乳頭や網膜ひだを形成しても毛細血管網が形成され、ERG は normal~subnormal であった。これに対して、ひとたび stage 5 に至ると、硝子体手術によって復位が得られても、毛細血管網の欠損がみられ、ERG は extinguished と、障害は重篤であった。

#### F. 健康危険情報

特になし。

#### K. 研究発表

(論文発表)

Azuma N, Tadokoro K, Asaka A, Yamada M, Yamaguchi Y, Handa H, Matsushima S, Watanabe T, Kohsaka S, Kida Y, Shiraishi T, Ogura T, Shimamura K and Nakafuku M. The *Pax6* isoform bearing an alternative spliced exon promotes the development of the neural retinal structure. Hum Mol Genet, 2005; 14: 735-745.

- Azuma N, Tadokoro K, Asaka A, Yamada M, Yamaguchi Y, Handa H, Matsushima S, Watanabe T, Kida Y, Ogura T, Shimamura K and Nakafuku M. Transdifferentiation of the retinal pigment epithelia to the neural retina by transfer of the Pax6 transcriptional factor. *Hum Mol Genet*, 2005; 14: (in press).
- Kawase E, Nishina S, Kumagai K and Azuma N. Infantile case for occlusive microvascular retinopathy after bone marrow transplantation. *Jpn J Ophthalmol* (in press).
- Nishina S, Azuma N, Miyauchi J and Kaneko T. Surgical treatment of recurrent juvenile xanthogranuloma of the eyelid. *Jpn J Ophthalmol*, 2004; 48:598-599.
- Kanaji A, Kosuga M, Li XK, Fukuhara Y, Tanabe A, Kamata Y, Azuma N, Yamada M, Sakamaki T, Toyama Y and Okuyama T. Improvement of skeletal lesions in mice with mucopolysaccharidosis type vii by neonatal adenoviral gene transfer. *Molecular Therapy*, 2004 8: 718-725.
- Nishitai G, Shimizu N, Negishi T, Kishimoto H, Nakagawa K, Kitagawa D, Watanabe T, Momose H, Ohata S, Tanemura S, Asaka S, Kubota J, Saito R, Yoshida H, Mak TW, Wada T, Penninger JM, Azuma N, Nishina H and Katada T. Stress induces mitochondria-mediated apoptosis independent of SAPK/JNK activation in ES cells. *J Biol Chem*, 2004; 279: 1621-1626.
- Nishina, H., Nakagawa K, Azuma N, Katada K. [review] Activation mechanism and physiological roles of stress-activate protein kinase/c-Jun NH<sub>2</sub>-terminal kinase in mammalian cells. *J. Biol. Regul. Homeost. Agents*. 2003, 17: 295-302.
- Suzuki Y, Nishina S, Azuma N. Two case with different features of congenital optic disc anomalies in each eye. *Graefe Arch Clin Exp Ophthalmol* (in press).
- 東 範行. 水晶体の形成遺伝子とその変異. *日本白内障学会誌*, 2004; 16:13-22.
- 東 範行. 完全ペーパーレス電子カルテの現状と問題点. *新しい眼科*, 2004; 21:867-872.
- 東 範行. 未熟児網膜症. *小児科診療*, 2004; 8:1217-1223.
- 鈴木由美, 川瀬英理子, 仁科幸子, 東 範行. 乳頭ぶどう腫の光干涉断層像. *臨眼*, 2004; 58, 1241-1243.
- 仁科幸子, 東 範行. 臨床の場における弱視の治療方針. *日本の眼科*, 2004; 75, 157-161.
- 東 範行. 視交叉の謎. *日本の眼科*, 2004; 75, 447-448.
- 東 範行. 網膜の再生と移植. *日本の眼*