

厚生労働科学研究費補助金
感覚器障害研究事業

黄斑部疾患診断のための
客観的網膜機能評価法の確立

平成 19 年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 角田 和繁

平成 20 年 (2 0 0 8) 4 月

目 次

I. 総括研究報告書

黄斑部疾患診断のための客観的網膜機能評価法の確立に関する研究
角田 和繁

II. 分担研究報告書

1. 網膜内因性信号における網膜内層神経活動の関与についての検討
谷藤 学
2. 黄斑部局所網膜電図を用いたオカルト黄斑症家系の調査
三宅養三
3. 経強膜網膜電気刺激による網膜電図変化の検討
篠田 啓
4. 網膜内因性信号計測装置性能向上のための設計開発
楠城 紹生

III. 研究成果の刊行に関する一覧表

IV. 研究成果の刊行物・別刷

I . 総括研究報告書

厚生労働科学研究費補助金（感覚器障害研究事業）
総括研究報告書

黄斑部疾患診断のための客観的網膜機能評価法の確立

主任研究者 角田和繁
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：本研究では、黄斑部の他覚的機能評価を統合的に行い、より質の高い診断・治療に結びつけるために、黄斑部網膜の神経活動を非侵襲的かつ客観的に評価する新しい検査技術を確立することを目指している。初年度においては、測定機器の精度を向上させるための改良を行うとともに、網膜内因性信号計測法については、網膜内層とくに神経節細胞の機能に信号起源への関与を詳細に検討し、遅い信号成分を抽出することで神経節細胞の活動をマッピングできる可能性を示した。また、色素褪色変化をスナップショットで記録する簡便な方法を新たに開発した。黄斑部局所ERGについては、オカルト黄斑症の全容解明を目指した家系調査を新潟大学眼科と共同で開始し、同疾患における黄斑部の電気生理学的評価を体系的に行う準備を行った。機能的OCTについては、これまでの内因性信号計測法の測定結果をもとに、動物実験用のプロトタイプ的设计を行った。

各計測法の開発段階は異なるものの、それぞれの部門において実用に向けた大きな進展が得られた。

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
三宅養三	愛知淑徳大学 医療福祉学部 視覚科学専攻 教授
篠田啓	大分大学医学部 脳・神経機能 統御講座 感覚運動医学分野・ 眼科学 准教授
楠城紹生	株式会社ニデック研究開発本部 探索研究部 主席研究員

術を確立し、黄斑部の他覚的機能評価を統合的に行い、より質の高い診断・治療に結びつけることを目的としている。

視覚的機能を他覚的に正しく評価することは、眼疾患の早期発見、失明予防および治療効果の判定のために基本的かつ重要な課題である。特に加齢黄斑変性症を始めとして、糖尿病黄斑症、黄斑円孔、黄斑前膜など、読書視力に不可欠な黄斑部を脅かす疾患の罹患者数が増加傾向にあり、その機能評価は極めて重要性が高まっている。さらに近年の黄斑部疾患に対しては最先端技術を用いた手術的治療や新しい薬物療法が次々に開発され、今ほどその生理学的評価が重要な時代はないと思われる。現在利用可能な網膜画像診断法（OCT、SLOなど）は様々あるが、いずれも解剖学的な計測のみ可能で神経機能は一切反映していない。このため、我々は三宅により開発された黄斑部局所ERGを一般臨床家にも利用

A. 研究目的

本研究は、黄斑部網膜の神経活動を非侵襲的かつ客観的に評価する三種類の検査技

可能なように改良し、また、角田・谷藤らにより開発中の網膜内因性信号計測法および機能的干渉断層計（機能的OCT）を新しい黄斑部機能診断法として実用化することで、その検査情報を統合し、黄斑部網膜疾患のより正確かつ詳細な診断のための総合的な客観的検査法を確立する。

B. 研究方法

① 黄斑部局所ERG

（担当：角田、三宅、篠田）

今回新たに導入されたプロトタイプは、現行機種とは異なり刺激光としてLED光源を用いている。このためa波、b波、d波、律動様小波に加えフリッカー反応も記録でき、黄斑部の機能的層別診断が可能となる。今年度は、東京医療センターおよび新潟大学において経過観察中のオカルト黄斑症患者7名および、その家系内のその他の罹患者および健常者について、調査を行う。本年度は、黄斑部電気生理学的検査の準備段階として、すでに通院中の患者からの聞き取り調査、ならびに視力、視野などの自覚的検査、蛍光眼底造影などの他覚的検査を行った。電気生理学的な他覚的機能評価検査として、全視野刺激ERGおよび多局所ERGを施行した。

② 網膜内因性信号計測法

（担当：角田、谷藤、楠城）

今年度は特に、内因性信号における網膜内層の関与を検討するための基礎的実験を行った。実験は以下の3部により構成された。1)異なる波長の観察光(570、630および870nm)によって眼底(視神経乳頭部)と第1次視覚野から同時計測を行った。2)レーザードップラー血流計を経強膜的に硝子体内に挿入し、フラッシュ刺激による眼底後極部の血流変化を直視下に測定した。3)硝子体内にテトロドトキシン(TTX)を注入し、網膜神経節細胞の活動を抑制した状態で内因性信号計測を行った。

さらに、より短時間で、高画質の機能的マッピングを得る目的で、今年度は新たにC-MOSカメラを用いたスナップショット

撮影による、色素褪色変化のマッピングに向けた機器開発を行った。

③ 機能的OCT

（担当：角田、谷藤、楠城）

機能的OCTは分担研究者の谷藤らによって開発され、現在ネコ第1次視覚野、ラット嗅覚野において基礎的実験を行うと同時に、生体網膜にて記録するための試作器を設計中である。今回は、これまでの内因性信号計測法の測定結果をもとに、網膜での動物実験用のプロトタイプの設計を行った。

（倫理面への配慮）

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、必要に応じて各施設の倫理委員会の承諾を得た上で研究を遂行した。また、被験者および患者に対しては研究の趣旨、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。

装置の全般的安全性については、以下の国内及び国際安全規格に関わり、研究の実験の進捗段階で特にヒトへの適用に向けてこれらの遵守を前提とした。(JIS T 0601-1、JIS T 0601-1-1、JIS T 0601-1-2、ISO10940、ISO15004)

C. 研究結果

① 2施設、合わせて7名の罹患者(年齢17-81歳。男性3名、女性4名)について、診察、検査を行うことができた。すべての患者において、視力低下、視野検査による中心感度の低下が認められたが、眼底所見および蛍光眼底造影検査は前例正常であった。全視野ERGは正常であり、多

局所ERGが施行可能であった症例6例については、中心部のみにおいて振幅の低下が認められた。一部の患者においては、固視不良のため検査不能であった。これら7名は、同一家系に属するオカルト黄斑症の罹患者である可能性が高いと思われた。

② 近赤外光を用いた網膜内因性信号計測については、以下の結果が得られた。すなわち1) 視神経乳頭部においては、可視光、近赤外光いずれの波長においても、ゆっくりとした反射率の低下が観察され、その時間的経過は波長によらず同様であった。第1次視覚野においては、各波長に特徴的な時間的経過を示していたが、近赤外光による計測結果が、視神経乳頭部における信号の時間的経過と一致していた。2) レーザードップラー血流計によって、視神経乳頭部および網膜後極部において、光刺激後のゆっくりとした血流上昇が観察された。とくに視神経乳頭部における血流上昇は、内因性信号の時間経過とほぼ一致していた。網膜後極部においても、内因性信号の遅い成分に一致した血流変化が観察された。中心窩網膜においては、光刺激による血流上昇は認められなかった。3) TTX 注入翌日の内因性信号は、視神経乳頭において完全に消失していた。後極部網膜においては、早い信号は部分的に低下し、遅い信号は完全に消失した。網膜中心窩の信号に変化はなかった。

さらに、スナップショットによるヒトでのブリーチング計測においては、RGBの各色に色分解したところ、特に緑色において明瞭な錐体反応のマッピングを得ることができ、この方法の実用性の高さが示された。

③ 機能的OCTについては、これまでの大脳皮質における計測から、近赤外の波長帯を有するSLDを用いて、眼底カメラ型の装置の設計を行った。とくに、断層撮影と平面撮影の比較が信号起源の解明のためには重要であるため、内部にダイクロプリズムを組み込み、内因性信号計測を網膜の同部位から撮影できるプロトタイプを設計した。

D. 考察

① 今回調査の対象とした家系は、これまでに施行された自覚的、他覚的検査からオカルト黄斑症の罹患者の多数含まれる家系と思われる。今後、遺伝子検索を含めた調査を遂行するためには、とくに固視不良な罹患者において黄斑部局所ERGによる他覚的機能検査が必須であると思われる。また、多局所ERGが施行可能であった症例においても、黄斑部機能の詳細な解析(a波、b波、OP波)が必要であると思われた。さらに、視力が良好な家族の中にも黄斑部電気生理機能の低下が生じている患者が存在する可能性があり、今後、黄斑部局所ERGによるスクリーニングが大変重要であると考えられた。

② 上記1-3)の結果は、網膜内因性信号の遅い成分が網膜内層、とくに神経節細胞の活動にともなう血流上昇を反映していることを示唆している。さらに、後極部網膜の早い反応の一部にも、網膜内層の関与があることも明らかになった。一連の実験により、網膜内因性信号の遅い反応成分を抽出することで、網膜神経節細胞の活動を空間的にマッピングすることができることが分かった。緑内障においては、自覚的な視野欠損が生じる時点でかなりの神経節細胞の機能が低下していることが分かっている。内因性信号計測法は、自覚的視野欠損が明らかになる前の早期の段階における、緑内障の診断および治療を可能にするポテンシャルを持つことが示された。

スナップショットによる色素褪色変化のマッピングは、固視が容易であること、光暴露による侵襲が少ないこと、オフラインの網膜位置補正が容易であることなどの理由により、これまでのビデオを用いた連続撮影よりも眼球運動等のノイズも少ないことが分かった。ただし、撮像時間の短さのために眼底画像の情報量は少なく、いかに大きな信号を抽出するかがより高画質の画像を得るための鍵となることが分かった。

E. 結論

黄斑部の統合的な他覚的機能評価にむけて、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

G Hanazono, K Tsunoda, K Shinoda, K Tsubota, Y Miyake and M Tanifuji
'Intrinsic Signal Imaging in Macaque's Retina Reveals Different Types of Flash-induced Light Reflectance Changes of Different Origins'
Investigative Ophthalmology & Visual Science, 2007, vol. 48, no.6, 2913-2912

Koichi Inomata, Kei Shinoda, Hisao Ohde, Kazushige Tsunoda, Gen Hanazono, Itaru Kimura, Mitsuko Yuzawa, Kazuo Tsubota, Yozo Miyake
'Transcorneal Electrical Stimulation of Retina to Treat Longstanding Retinal Artery Occlusion'
Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol, 2007 Dec; 245(12): 1773-80

N Terauchi, K Fujinami, K Shinoda, K Tsunoda, G Hanazono, K Inomata and Y Miyake
'Transient Retinal Ischemia Determined by Focal Macular Electroretinography'
British Journal of Ophthalmology, 2007 Dec; 91 (12): 1709-10

Koichi Inomata, Kazushige Tsunoda, Gen Hanazono, Yoko Kazato, Kei Shinoda, Mitsuko Yuzawa, Manabu Tanifuji, and Yozo Miyake
'Distribution of Retinal Responses Evoked by Trans-scleral Electrical

Stimulation Detected by Intrinsic Signal Imaging in Macaque Monkeys'
Investigative Ophthalmology & Visual Science, 2008, (in press)

Rajagopalan U. M., Tsunoda K and Tanifuji M. 'Using the Light Scattering Component of Optical Intrinsic Signals to Visualize in vivo Functional Structures of neural tissues.' in Dynamic Brain Imaging (Methods in Molecular Medicine).

Edited by Farmed Hyder. Humana Press, U.S.

花園元、柴田尚久、楠城紹生、角田和繁、谷藤学；「膜内因性信号測定装置」、視覚の科学（日本眼光学学会誌）第28巻 31-33, 2007

角田和繁 「網膜内因性信号計測法 -Functional Retinography (FRG)-」
日本眼科紀要 58: 477-478, 2008年3月24日

風戸陽子、谷藤学、角田和繁 「新しい網膜機能のイメージング法 —網膜内因性信号計測法—」
臨床眼科 62 (3) : 227-235, 2008

2. 学会発表

平成19年5月6日

G. Hanazono, K. Tsunoda, Y. Kazato, M. Tanifuji
'Flash-evoked light reflectance changes of the optic disk reflect the neural activity of the inner retina'
(2007 Annual meeting, Association for Research in Vision and Ophthalmology Fort Lauderdale, FL, USA)

平成19年5月8日

K. Inomata, K. Tsunoda, G. Hanazono, Y. Kazato, K. Shinoda, Y. Miyake, M. Tanifuji

'The distribution of retinal responsiveness evoked by trans-scleral electrical stimulation observed by intrinsic signal imaging in Macaque retina'

(2007 Annual meeting, Association for Research in Vision and Ophthalmology Fort Lauderdale, FL, USA)

平成 19 年 5 月 8 日

K. Fujinami, G. Hanazono, K. Tsunoda, K. Inomata, H. Ohde, K. Shinoda, Y. Miyake
'Fundus Autofluorescence in occult macular dystrophy'

(2007 Annual meeting, Association for Research in Vision and Ophthalmology Fort Lauderdale, FL, USA)

平成 19 年 9 月 28 日

K. Fujinami, K. Tsunoda, K. Shinoda, M. Nakamura, Y. Oguchi, Y. Miyake
'A case of Oguchi's disease without night blindness'

International Society for Clinical Electrophysiology of Vision, 45th Symposium
Hyderabad, India

平成 19 年 9 月 28 日

Y. Kazato, K. Tsunoda, G. Hanazono, M. Yuzawa, M. Tanifuji, Y. Miyake
'Effect of inter-flash intervals on the response characteristics of human oscillatory potentials'

International Society for Clinical Electrophysiology of Vision, 45th Symposium
Hyderabad, India

平成 19 年 4 月 19 日

猪俣公一、角田和繁、花園元、篠田啓、湯沢美都子、三宅養三、谷藤学

「網膜電気刺激により惹起される神経活動分布：網膜内因性信号計測法による観察」

(第 111 回 日本眼科学会総会 大阪)

平成 19 年 4 月 21 日

藤波芳、花園元、猪俣公一、角田和繁、大出尚郎、篠田啓、中村誠、小口芳久、三宅養三

「夜盲を示さない小口病の一例」

(第 111 回 日本眼科学会総会 大阪)

平成 19 年 4 月 21 日

花園元、角田和繁、篠田啓、猪俣公一、藤波芳、三宅養三

「刺激間隔の違いによる律動様小波の振幅変化についての検討」

(第 111 回 日本眼科学会総会 大阪)

平成 19 年 9 月 8 日

角田和繁

シンポジウム「眼光学の最先端」

「Functional Retinography: FRG」

(第 43 回日本眼光学学会総会 旭川)

平成 19 年 11 月 3 日

木村至、永井紀博、篠田啓、角田和繁、大出尚郎、北和典、小口芳久

「不等像視と両眼加算の多極所視覚誘発電位による検討」

(第 55 回 日本臨床視覚電気生理学会、名古屋)

平成 20 年 1 月 30 日

角田和繁

シンポジウム「光による生体制御・機能計測の最前線」

「光による網膜機能イメージング —網膜内因性信号計測法—」

(レーザー学会学術講演会 第 28 回年次大会)

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得 なし
2. 実用新案登録 なし
3. その他 なし

Ⅱ. 分担研究報告書

網膜内因性信号における網膜内層神経活動の関与についての検討

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： 網膜内因性信号計測法の実用化のためには、測定機器の性能向上のみでなく、その発生活起源を解明することが重要な課題である。本年は特に、内因性信号における、網膜内層の関与を検討するための基礎的実験を行った。

A. 研究目的

これまでの研究から、近赤外光観察下における網膜内因性信号は早い反応と遅い反応に分かれ、早い反応は網膜外層、遅い反応は網膜内層が関与している可能性が示唆されている。網膜内層、とくに神経節細胞は緑内障によって傷害される部位であり、その機能的マッピングは臨床的にも非常に意義が大きい。本年は網膜内因性信号における網膜内層の関与を検討するために、さまざまな実験手法を用いて遅い信号の発生活起源についての検討を行った。

B. 研究方法

麻酔下のマカクザルを対象とした。暗順応下でFRG-M4を用い、フラッシュ刺激によって惹起される内因性信号を記録した。

実験は以下の3部により構成された。1) 異なる波長の観察光（570、630 および870nm）によって眼底（視神経乳頭部）と第1次視覚野から同時計測を行った。2) レーザードップラー血流計を経強膜的に硝子体内に挿入し、フラッシュ刺激による眼底後極部の血流変化を直視下に測定した。3) 硝子体内にテトロドトキシン（TTX）を注入し、網膜神経節細胞の活動を抑制した状態で内因性信号計測を行った。

C. 研究結果

1) 可視光で網膜を観察してフラッシュ刺激を行った場合、眼底後極部においてはブリーチングによる強い反射率の上昇が観察される。しかし、視神経乳頭部においては、可視光、近赤外光いずれの波長においても、ゆっくりとした反射率の低下が観察され、その時間的経過は波長によらず同様であった。第1次視覚野においては、各波長に特徴的な時間的経過を示していたが、近赤外光による計測結果が、視神経乳頭部における信号の時間的経過と一致していた。

2) レーザードップラー血流計によって、視神経乳頭部および網膜後極部において、光刺激後のゆっくりとした血流上昇が観察された。とくに視神経乳頭部における血流上昇は、内因性信号の時間経過とほぼ一致していた。網膜後極部においても、内因性信号の遅い成分に一致した血流変化が観察された。中心窩網膜においては、光刺激による血流上昇は認められなかった。

3) TTX 注入翌日の内因性信号は、視神経乳頭において完全に消失していた。後極部網膜においては、早い信号は部分的に低下し、遅い信号は完全に消失した。網膜中心窩の信号に変化はなかった。

D. 考察

上記1-3)の結果は、網膜内因性信号の遅い成分が網膜内層、とくに神経節細胞の活動にともなう血流上昇を反映していることを示唆している。さらに、後極部網膜の早い反応の一部にも、網膜内層の関与があることも明らかになった。

E. 結論

一連の実験により、網膜内因性信号の遅い反応成分を抽出することで、網膜神経節細胞の活動を空間的にマッピングすることができることが分かった。緑内障においては、自覚的な視野欠損が生じる時点でかなりの神経節細胞の機能が低下していることが分かっている。内因性信号計測法は、自覚的視野欠損が明らかになる前の早期の段階における、緑内障の診断および治療を可能にするポテンシャルを持つことが示された。

F. 健康危険情報

特になし。

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Hanazono G, Tsunoda K, Shinoda K, Tsubota K, Miyake Y, Tanifuji M, "Intrinsic signal imaging in macaque retina reveals different types of flash-induced light reflectance changes of different origins" Investigative Ophthalmology and Visual Science Vol.48 6 2903-2912 (2007)
2. Rajagopalan U, Tanifuji M, "Functional optical coherence tomography reveals localized layer-specific activations in cat primary visual cortex in vivo" Optics Letters Vol.32 17 2614-2616 (2007)
3. Vidal-Naquet M, Tanifuji M, "The effective resolution of correlation

filters applied to natural scenes" Proceedings of 2007 IEEE Conference on Computer Vision and Pattern Recognition (CVPR 2007), Beyond Patches Workshop 0 0 IEEE Computer Society USA Minneapolis pp1-6 (2007)

4. Przybyszewski A, Sato T, Fukuda M, "Optical filtering removes non-homogenous illumination artifacts in optical imaging" Journal of Neuroscience Methods Vol.168 1 140-145 (2008)
5. 内田 豪, "神経細胞の膜電位がもつ双安定性と状態遷移: その仕組みと情報処理における役割" 生物物理 Vol.47 6 362-367 (2007)
6. 谷藤 学, "ミニ特集「脳における情報処理: 時間構造の中に情報を埋め込む」に寄せて" 生物物理 Vol.47 6 352-354 (2007)

2. 学会発表

1. Vidal-Naquet M, Tanifuji M, "Effective resolution of correlation based filters and image statistics" IEEE Conference on Computer Vision (CVPR 2007), Beyond Patches Workshop Minneapolis 6 2007
2. Inomata K, Tsunoda K, Hanazono G, Kazato Y, Shinoda K, Miyake Y, Tanifuji M, "The distribution of retinal responsiveness evoked by trans-scleral electrical stimulation observed by intrinsic signal imaging in macaque monkey" Annual Meeting of the Association for Research in Vision and Ophthalmology (ARVO2007) Fort Lauderdale 5 2007

3. Hanazono G, Tsunoda K, Inomata K, Kazato Y, Tanifuji M, "Flash-evoked light reflectance changes of the optic disk reflect the neural activity of the inner retina" Annual Meeting of the Association for Research in Vision and Ophthalmology (ARVO2007) Fort Lauderdale 5 2007
4. Kazato Y, Tsunoda K, Hanazono G, Yuzawa M, Tanifuji M, Miyake Y, "Effect of inter-flash intervals on the response characteristics of human oscillatory potentials" International Society of Clinical Electrophysiology of Vision 45th Annual Symposium (ISCEV 2007) Hyderabad 8 2007
5. Igarashi K, Rajagopalan U, Watanabe H, Tanifuji M, "Optical coherence tomography in functional brain imaging studies" International Symposium on Topical Problems of Biophotonics - 2007 Nizhny Novgorod-Moscow-Nizhny Novgorod 8 2007
6. Tanifuji M, "Visualization of neural activities elicited by object images in visual association cortex with optical intrinsic signal imaging and dense multiple electrode array" International Symposium on Topical Problems of Biophotonics - 2007 Nizhny Novgorod-Moscow-Nizhny Novgorod 8 2007
7. Tanifuji M, "Population coding of object images based on visual features and its relevance to view invariant representation" Neural Information Processing Systems Conference (NIPS 2007) Vancouver 12 2007
8. Vidal-Naquet M, Miyakawa N, Ullman S, Tanifuji M, "The effective resolution of visual filters in natural scenes and its application to the receptive field analysis of visual neurons" 37th Annual Meeting of Society for Neuroscience (Neuroscience 2007) San Diego 11 2007
9. Miyakawa N, Vidal-Naquet M, Blake D, Merzenich M, Tanifuji M, "Activities from combination of columns in macaque area TE can encode object identity across viewing angles" 37th Annual Meeting of Society for Neuroscience (Neuroscience 2007) San Diego 11 2007
10. Katsumata N, Vidal-Naquet M, Tanifuji M, "Role of target feature information for guiding saccades during visual search in complex scenes" 37th Annual Meeting of Society for Neuroscience (Neuroscience 2007) San Diego 11 2007
11. 谷藤 学, 宮川 尚久, Blake David, Merzenich Michael, "Functional maps of visual responses with a multiple-electrode array in macaque inferotemporal cortex" 第30回日本神経科学大会・第50回日本神経化学学会大会・第17回日本神経回路学会大会 (Neuro2007) 横浜 9 2007
12. 勝亦 憲子, Vidal-Naquet Michel, 谷藤 学, "Determining factors for endogenous saccadic eye movement during visual search in complex scene" 第30回日本神経科学大会・第50回日本神経化学学会大会・第17回日本神経回路学会大会 (Neuro2007) 横浜 9 2007

13. Vidal-Naquet Michel, 谷藤 学, "Effective resolution of visual filters applied to natural images" 第 30 回日本神経科学大会・第 50 回日本神経化学学会大会・第 17 回日本神経回路学会大会 (Neuro2007) 横浜 9 2007
 14. 宮川 尚久, Blake David, Merzenich Michael, 谷藤 学, "Multiple column activity in macaque area TE can encode object identity across view angles" 第 30 回日本神経科学大会・第 50 回日本神経化学学会大会・第 17 回日本神経回路学会大会 (Neuro2007) 横浜 9 2007
 15. 谷藤 学, 角田 和繁, "生きている動物の神経活動をイメージングする:情報の脳内表現の研究から臨床診断技術の応用まで" 日本光学会年次学術講演会 (OPJ2007) 吹田 11 2007
 16. 猪俣 公一, 角田 和繁, 花園 元, 篠田 啓, 湯沢 美都子, 三宅 養三, 谷藤 学, "網膜電気刺激により惹起される神経活動分布:網膜内因性信号計測法による観察" 第 111 回日本眼科学会総会 大阪市 4 2007
 17. 角田 和繁, "Functional Retinography: FRG" 第 43 回日本眼科学会 旭川市 9 2007
 18. 角田 和繁, "光による網膜機能イメージング —網膜内因性信号計測法—" レーザー学会学術講演会第 28 回年次大会 名古屋市 1 2008
 19. 内田 豪, "TE 野神経細胞に見られる複数の発火状態と状態遷移の細胞間同期—発火系列を記述するモデルの拡張—" 日本生物物理学会第 45 回年会 横浜市 12 2007
 20. 一戸 紀孝, 佐藤 多加之, 谷藤 学, Rockland Kathleen, "新しく開発した生体内大脳皮質線維結合イメージング法:コネクションカラムの可視化とその応用" 第 113 回 日本解剖学会総会・全国学術集会 大分 3 2008
- H. 知的財産権の出願・登録状況
1. 特許取得 なし
 2. 実用新案登録 なし
 3. その他 なし

厚生労働科学研究費補助金（感覚器障害研究事業）

分担研究報告書

黄斑部局所網膜電図を用いたオカルト黄斑症家系の調査

分担研究者 三宅養三

愛知淑徳大学 医療福祉学部視覚科学専攻 教授

研究要旨：黄斑部局所網膜電図（ERG）は、黄斑部のスポット領域を刺激して局所的な電氣的反応を記録する装置である。我々はこの装置を用いることにより、オカルト黄斑症という新たな疾患概念を提示し、すでに数多くの症例を報告している。この疾患は、黄斑部局所ERGが診断の鍵となる最初の遺伝性網膜疾患である。今回、東京医療センター眼科および新潟大学眼科が共同で、この疾患の特徴を備えた常染色体優性遺伝の大家系の患者に対して黄斑部局所ERGを用いた詳細な疾病調査を計画した。

A. 研究目的

黄斑部局所ERGは、改造した眼底カメラを用いて近赤外光観察下で黄斑部にスポット刺激を行い、コンタクト電極によってその電氣的反応を記録する装置である。黄斑部の神経活動を詳細に調べることのできる装置として臨床応用され、これまでに数多くの疾患、病態に対して報告がなされてきた。なかでもオカルト黄斑症（occult macular dystrophy）は、眼底写真、蛍光眼底写真など、形態的にまったく異常がみられないにもかかわらず視力が低下する疾患であり、従来の全視野網膜電図では異常をとらえることができず、黄斑部局所ERGによって初めて異常が明らかにされた。我々は、この疾患の病態生理の完全なる解明のために、本装置を用いた家系調査を計画した。黄斑部の局所的機能評価を確実にを行うことにより、家系内の罹患者および健常者を明確に鑑別し、最終的には血液採取による原因遺伝子検索によって、本疾患の全容が解明されることが期待される。

B. 研究方法

東京医療センターおよび新潟大学において経過観察中の、オカルト黄斑症患者7名

およびその家系内のその他の罹患者および健常者について調査を行う。本年度は、黄斑部電気生理学的検査の準備段階として、すでに通院中の患者からの聞き取り調査、ならびに視力、視野などの自覚的検査、蛍光眼底造影などの他覚的検査を行った。電気生理学的な他覚的機能評価検査として、全視野刺激ERGおよび多局所ERGを施行した。

（倫理面での配慮）

本研究の遂行にあたっては、東京医療センターおよび新潟大学医学部の倫理委員会においてすでに承認を得ている。また対象患者には、この研究の詳細な内容についてのインフォームドコンセントを得た後に検査を行っている。

C. 研究結果

2施設、合わせて現在までに7名の罹患者（年齢17—81歳。男性3名、女性4名）について、診察、検査を行うことができた。すべての患者において、視力低下、視野検査による中心感度の低下が認められたが、眼底所見および蛍光眼底造影検査は全例正常であった。全視野ERGは正常で

あり、多局所ERGが施行可能であった症例6例については、中心部においてのみ振幅の低下が認められた。一部の患者においては、固視不良のため検査不能であった。これら7名は、同一家系に属するオカルト黄斑症の罹患者である可能性が高いと思われた。

D. 考察

本家系は、これまでに施行された自覚的、他覚的検査からオカルト黄斑症の罹患者の多数含まれる家系と思われる。今後、遺伝子検索を含めた調査を遂行するためには、とくに固視不良な罹患者において黄斑部局所ERGによる他覚的機能検査が必須であると思われる。また、多局所ERGが施行可能であった症例においても、黄斑部機能の詳細な解析（a波、b波、OP波）がさらに必要であると思われた。また、視力が良好な家族の中にも黄斑部電気生理的機能の低下が生じている患者が存在する可能性があり、今後、黄斑部局所ERGによるスクリーニングが大変重要であると考えられた。

E. 結論

オカルト黄斑症の病態全容解明のための、黄斑部局所ERGを用いた家系調査プロジェクトを計画、準備し、一部罹患者の検査に着手することができた。

F. 健康危険情報

特になし。

G. 研究発表

1. 論文発表

Miyata K, Nakamura M, Kondo M, Lin J, Ueno S, Miyake Y, Terasaki H:
Reduction of oscillatory potentials and photopic negative response in patients with autosomal dominant optic atrophy with OPA1 mutations. Invest Ophthalmol Vis Sci 48:820-824, 2007

Hanazono G, Tsunoda K, Shinoda K, Tsubota K, Miyake Y, Tanifuji M:

Intrinsic signal imaging in macaque retina reveals different types of flash-induced light reflectance changes of different origins. Invest Ophthalmol Vis Sci 48: 2903-2912, 2007

Ikenoya K, Kondo M, Piao CH, Kachi S, Miyake Y, Terasaki H: Preservation of macular oscillatory potentials in eyes with retinitis pigmentosa and normal visual acuity. Invest Ophthalmol Vis Sci 48: 3312-3317, 2007

2. 学会発表

なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得 なし

2. 実用新案登録 なし

3. その他 なし

厚生労働科学研究費補助金（感覚器障害研究事業）

分担研究報告書

経強膜網膜電気刺激による網膜電図変化の検討

分担研究者 篠田啓

大分大学医学部 脳・神経機能統御講座 感覚運動医学分野・眼科学 准教授

研究要旨： 経結膜的に網膜に電気刺激を与えることにより（TES）、網膜内層が賦活され内因性信号を発生することを角田らはすでに示している。この内層の反応は一過性であり、持続的に網膜の活動が変化するかどうかは不明である。我々は、電気刺激前後で網膜電図（ERG）を比較することにより、TESによる急性の網膜機能の変化を探索した。

A. 研究目的

本研究で開発を目的とする FRG は、in vivo での黄斑機能のマッピングを可能にせしめるもので、主任研究者らは FRG 成分の起源の探索に当たり、既存の ERG との比較を行ってきた。すなわち、光刺激ではなく電流刺激によって起きる網膜表面の色調変化を FRG を用いて記録し、FRG 成分の変化や挙動を分析した。この網膜電流刺激は、1980 年代に三宅らが精力的に臨床研究を行った経角膜電気刺激を再現したものである。眼球を電気パルスで刺激して得られる誘発反応を人の後頭部から記録したものは EER(electrically evoked response)と呼ばれ、網膜の視細胞ではなくそれより内層網膜を刺激して得られる反応であることが知られていたが、網膜機能検査法としての臨床での普及には至らなかった。しかし 20 年以上経過して近年、網膜色素変性症で視細胞機能を失った患者において、内層網膜の残存機能を他覚的に評価できるため、人工網膜開発に利用されている。さらに、近年網膜を電気刺激することにより、網膜神経節細胞のアポトーシス抑制効果、網膜賦活作用が報告され、網膜および視神経の変性疾患に対する治療法としても着目されている。これらの背景から我々は一昨年、昨年と、網膜機能障害を有する患者に対する治療法

としての可能性を探索してきた。本年は経強膜的網膜電気刺激（TES）による急性の網膜機能の変化を探索した。

B. 研究方法

屈折異常（軽度近視）以外の眼疾患を有さない 33 歳男性に EER を行い、その前後で網膜機能を他覚的に評価した。EER 刺激方法は三宅らの方法に準拠した。すなわち、点眼麻酔下にてビスコートを滴下し、DTL 電極を装着し、刺激は電気刺激装置(BPG-1)にて発生させ、アイソレータ(BSI-2)を介して電流量を調節する。電気刺激は経角膜網膜電気刺激(TES:transcorneal electrical stimulation)と呼ぶ。刺激条件は二相性パルス刺激、パルス幅 10ms、刺激強度 20～1000uA、刺激頻度は 20Hz とした。本プロトコルによる刺激を片眼に行い、TES 前後の網膜機能を ISCEV プロトコルに準拠した網膜電図(electroretinogram:ERG)を用いて評価した。

治療効果の検討

上記方法を用いて 30 分間刺激を行い、この前後で、ERG にて視機能評価を行った。

（倫理面での配慮）

本研究は、健常篤志家に対して研究の趣

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

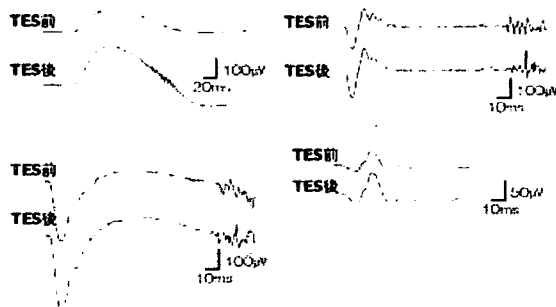
対象は、矯正視力両眼ともに 1.2、TES の前後に置いて視力変化を認めなかった。TES により phosphene の自覚が得られた。また、TES 前後での ERG の変化を示す。

TES 治療前後の全視野網膜電図(ERG)

記録方法は ISCEV protocol

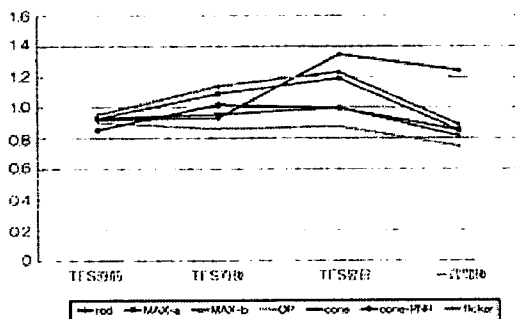
(<http://www.iscev.org/standards/pdfs/erg-standard-2004.pdf>) に準拠した。

TES前後におけるERGの変化
(33歳、男性)



ERG 振幅は増加する傾向があった。

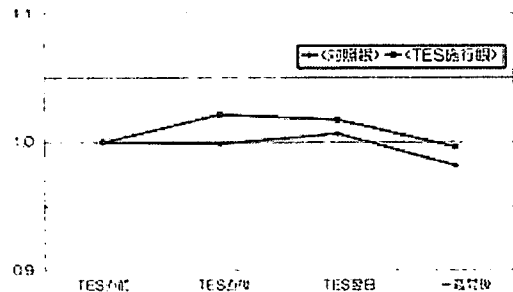
TES前後におけるERGの変化
(33歳、男性)



ERG 各成分ごとに baseline に対する振幅の比をプロットしたところ、flicker ERG を

除いて、おおむね直後ないし翌日は振幅増加を認め、1週間後には baseline に戻る傾向があった。

TES前後におけるb/a比の変化
(33歳、男性)



Mixed rod and cone ERG の b/a 比の変化を調べたところ対照として TES を行わなかった傍眼では b/a 比は大きな変動を示さなかったが、TES 施行眼においては直後および翌日に b/a 比の上昇を認めた。

D. 考察

網膜微少電流刺激による網膜神経細胞への賦活効果、臨床的な治療効果の背景として、①米国で網膜色素変性症等の網膜変性疾患に対して人工網膜チップを埋植された患者において網膜電位図、視野等の臨床検査にて網膜機能の改善が認められ、微弱電流刺激による網膜機能の賦活作用が注目されている (Chow-A et al. Arch Ophthalmol. 2004;122:460-9)。②成体ラットの網膜神経節細胞が変性するモデルで、経角膜電気刺激により網膜神経節細胞の生存が促進することが示されており、網膜視神経の変性疾患に対する治療法として着目されている (Morimoto-T, et al. IOVS. 2005;46:2147-55)。③ラットの視神経障害モデルで障害直後に行った TES の治療効果が VEP で示され、voltage 依存性の Ca²⁺ チャンネルや N-methyl-D-aspartate (NMDA) 受容体の賦活を介した奏功機序が示唆された (Miyake K, et al. IOVS. 2007; 48:2356-61)。④網膜血管

閉塞性疾患(RAO)で TES により phosphene が惹起されること、さらには、TES が網膜機能の向上 (障害に対する治療) 効果を有する事が報告された(Inomata K, et al. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol.* 2007 Dec;245(12):1773-80)。というエビデンスがある。本治療において網膜のどのレベルで機能変化が生じるかということの評価することは、治療適応や有効かつ安全なプロトコルを決定していく上で非常に重要であると考えられる。

今回の検討では、健常者を対象に 1 例のみではあるが、TES による急性期の網膜機能の他覚的評価を行った。その結果、錐体系、杆体系ともに一過性の機能上昇傾向を示し、約 1 週間後には治療前の機能に戻るという結果であった。また、層別には b/a 比がわずかではあるが上昇傾向であったことから、外層に比して内層機能の上昇のほうが大きいことが予想された。三宅らの EER の詳細な検討では順応の影響をほとんど受けないことなどから視細胞レベルではなく、また、その他種々の検討から比較的内層よりであることがわかっている。また、角田らの FRG を用いた検討では、循環動態の変化も複雑に絡んでいることが示唆されている。今回の検討は 1 例のみであり、TES の網膜機能に対する影響がどのようなメカニズムで起こっているのかを解明するには、今後数を増やし、また循環動態など他の変化の詳細な検討も必要と思われた。

今回の研究では全視野刺激 ERG を黄斑部機能評価の指標として用いたが、引き続き他覚的検査法として、多局所 ERG、黄斑部局所 ERG や FRG でも検討を重ねていく予定である。

E. 結論

TES による健常網膜に対する効果を全視野刺激 ERG によって評価したところ、数日レベルという一過性の機能上昇が惹起される可能性が示唆された。今後は、黄斑局所 ERG や FRG による網膜機能評価を行う予定である。

F. 健康危険情報 特になし。

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Hashizume K, Hirasawa M, Imamura Y, Noda S, Shimizu T, Shinoda K, Ozawa Y, Ishida S, Miyake Y, Shirasawa T, Tsubota K. Retinal Dysfunction and Progressive Retinal Cell Death in SOD1-deficient Mice. *Am J Pathol In press*
2. Kawamura R, Inoue M, Shinoda K, Bissen-Miyajima H. Intraoperative findings during vitreous surgery after implantation of diffractive multifocal intraocular lens. *J Refract Surg. In press*
3. Tatar O, Shinoda K, Kaiserling E, Pertile G, Eckardt C, Mohr A, Yoeruek E, Szurman P, Bartz-Schmidt KU, Grisanti S. Early Effects of Triamcinolone Acetonide on VEGF and Endostatin in Human Choroidal Neovascularization. *Arch Ophthalmol. In press*
4. Yokoyama K, Choshi T, Kimoto K, Shinoda K, Nakatsuka K. Retinal circulatory disturbances following intracameral injection of bevacizumab for neovascular glaucoma. *Acta Ophthalmol Sca. In press*
5. Ikewaki J, Imaizumi M, Nakamuro T, Motomura Y, Ohkusu K, Shinoda K, Kimoto K, Nakatsuka K. Fungal Endophthalmitis Developed Following Posterior Subtenon Injection of Triamcinolone Acetonide. *Acta Ophthalmol Sca. In press*
6. Kimoto K, Kishi D, Kono H, Ikewaki J, Shinoda K, Nakatsuka K. Noninvasive morphologic evaluation for retinal astrocytic hamartoma. *Acta Ophthalmol Sca. In press*
7. Sugisaka E, Ohde H, Shinoda K, Mashima Y. Woman with Atypical Unilateral Leber's Hereditary Optic Neuropathy with Visual Improvement. *Clin Exp Ophthalmol.*

- 2007 Dec;35(9):868-70.
8. Inomata K, Hanazono G, Tsunoda K, Shinoda K, Tsubota K, Miyake Y, Tanifuji M. Distribution of Retinal Responses Evoked by Trans-scleral Electrical Stimulation Detected by Intrinsic Signal Imaging in Macaque Monkeys Intrinsic signal imaging in macaque retina reveals different types of flash-induced light reflectance changes of different origins. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. In press
 9. Takaki Y, Nagata M, Shinoda K, Tatewaki S, Yamada K, Matsumoto CS, Hazuku T, Yamashita H, Ikebe T, Nakatsuka K. Severe Acute Ocular Ischemia Associated with Spontaneous Internal Carotid Artery Dissection. *Int Ophthalmol*. In press
 10. Ideta S, Noda M, Kawamura R, Shinoda K, Inoue M, Tsubota K. Successful Treatment for Subsequent Ptosis after Subtenon Injection of Triamcinolone acetonide. *Ophthalmology*. In press
 11. Shinoda K, Rejidak R, Schuettauf F, Blatsios G, Völker M, Tanimoto N, Olcay T, Gekeler F, Lehaci C, Naskar R, Zagorski Z, Zrenner E. Early electroretinographic features of streptozotocin-induced diabetic retinopathy. *Clin Exp Ophthalmol*. 2007 Dec;35(9):847-54.
 12. Sato EA, Inoue M, Kimura I, Ohtake Y, Shinoda K. Reduced Chroidal Blood Flow can Induce Visual Field Defect in Open Angle Glaucoma Patients without Intraocular Pressure Elevation following Encircling Scleral Buckling. *RETINA*. In press
 13. Inoue M, Shinoda K, Shinoda H, Kawamura R, Suzuki K, Ishida S. Two-step Oblique Incision during 25-gauge Vitrectomy Reduces Incidence of Postoperative Hypotony. *Clin Exp Ophthalmol*. 2007 Nov;35(8):693-6.
 14. Sato EA, Shinoda K, Kimura I, Ohtake Y, Inoue M. Microcirculation in Eyes after Rhegmatogenous Retinal Detachment Surgery. *Curr Eye Res*. 2007 Sep;32(9):773-9.
 15. Inomata K, Shinoda K, Ohde H, Tsunoda K, Hanazono G, Kimura I, Yuzawa M, Tsubota K, Miyake Y. Transcorneal Electrical Stimulation of Retina to Treat Longstanding Retinal Artery Occlusion. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. 2007 Dec;45(12):1773-80.
 16. Torii H, Miyata H, Sugisaka E, Ichikawa Y, Shinoda K, Inoue M. Bilateral Endophthalmitis in Patient with Bacterial Meningitis Caused by Streptococcus pneumoniae. *Ophthalmologica* in press
 17. Shinoda H, Nakajima T, Shinoda K, Suzuki K, Ishida S, Inoue M. Jamming of 25-gauge instruments in the cannula during vitrectomy for vitreous haemorrhage. *Acta Ophthalmol Scand*. 2007 Oct 1; [Epub ahead of print]
 18. Shinoda H, Shinoda K, Satofuka S, Imamura Y, Ozawa Y, Ishida S, Inoue M. Visual Recovery after Vitrectomy for Macular Hole Using 25-gauge Instruments. *Acta Ophthalmol Sca* 2007 Aug 28; [Epub ahead of print]
 19. Inoue M, Shinoda K, Shinoda H, Suzuki K, Kawamura R, Ishida S. 25-gauge cannula system with microvitoretinal blade trocar. *Am J Ophthalmol*. 2007 Aug;144(2):302-4.
 20. Kawamura R, Noda K, Negishi K, Shinoda K, Ishida S, Inoue M, Tsubota K. Intraoperative dehiscence of laser subepithelial keratomileusis (LASEK) flap during retinal detachment surgery. *Acta Ophthalmol Scand*. 2007 Jun;85(4):459.
 21. Hanazono G, Tsunoda K, Shinoda K, Tsubota K, Miyake Y, Tanifuji M. Intrinsic signal imaging in macaque retina reveals different types of flash-induced light reflectance changes of different origins. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2007 Jun;48(6):2903-12.
 22. Nagai N, Ishida S, Shinoda K, Shinoda H,

- Imamura Y, Noda K, Inoue M. Surgical effect and complications of indocyanine green-assisted internal limiting membrane peeling for idiopathic macular hole. *Acta Ophthalmol Scand*. 2007 Jul 28; [Epub ahead of print]
23. Koto T, Inoue M, Shinoda K, Ishida S, Tsubota K. Residual crystals of triamcinolone acetonide in macular hole may prevent complete closure. *Acta Ophthalmol Scand*. 2007 Jul 25; [Epub ahead of print]
24. Terauchi N, Fujinami K, Shinoda K, Tsunoda K, Hanazono G, Inomata K, Miyake Y. Transient macular dysfunction determined by focal macular electroretinogram. *Br J Ophthalmol*. 2007 Dec;91(12):1709-10.
25. Tatar O, Adam A, Shinoda K, Yoeruek E, Szurman P, Bopp S, Eckardt C, Bartz-Schmidt KU, Grisanti S. Influence of Verteporfin Photodynamic Therapy on Inflammation in Human Choroidal Neovascular Membranes Secondary to Age-Related Macular Degeneration. *Retina*. 2007 July/August;27(6):713-723.
26. Sugisaka E, Shinoda K, Ishida S, Imamura Y, Ozawa Y, Nakajima T, Shinoda H, Suzuki K, Kawaguchi N, Inoue M. Patients' Description for Visual Sensations during Pars Plana Vitrectomy under Retrobulbar Anesthesia. *Am J Ophthalmol*. 2007 Aug;144(2):245-51. Epub 2007 Jun 18.
27. Gekeler F, Gmeiner H, Volker M, Sachs H, Messias A, Eule C, Bartz-Schmidt KU, Zrenner E, Shinoda K. Assessment of the posterior segment of the cat eye by optical coherence tomography (OCT). *Vet Ophthalmol*. 2007 May-Jun;10(3):173-8.
28. Tatar O, Adam A, Shinoda K, Eckert T, Scharioth GB, Klein M, Yoeruek E, Bartz-Schmidt KU, Grisanti S. Matrix metalloproteinases in human choroidal neovascular membranes excised following verteporfin photodynamic therapy. *Br J Ophthalmol*. 2007 Sep;91(9):1183-9.
29. Sailer H, Shinoda K, Blatsios, Kohler K, Bondzio L, Zrenner E, Gekeler F. Investigation of thermal effects of infrared lasers on the rabbit retina: a study in the course of the development of an active subretinal prosthesis. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. 2007 Aug;245(8):1169-78.
30. Ban Y, Shinoda K, Ohde H, Kaneda E. Enlargement of Optic Nerve Resembling Orbital Mass in Case of Optic Neuritis. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. 2007 Jun;245(6):911-3.
31. Tatar O, Shinoda K, Adam A, Eckert T, Eckardt C, Lucke K, Deuter C, Bartz-Schmidt KU, Grisanti S. Effect of verteporfin photodynamic therapy on endostatin and angiogenesis in human choroidal neovascular membranes. *Br J Ophthalmol*. 2007 Feb;91(2):166-73.
32. Watanabe K, Shinoda K, Kimura I, Mashima Y, Ohde H. Dissociation of Conventional Visual field Tests and Multifocal Visual Evoked Potentials in Patients with Hemianopsia. *Am J Ophthalmol*. 2007 Feb;143(2):295-304.
33. 玉沖朋子、篠田啓、大出尚郎、小沢洋子、及川亜希子、鈴木浩太郎、石田晋、井上真. 黄斑前膜に対する硝子体手術後の網膜感度. *眼科* 49(7):973-977,2007
34. 太田優、鈴木浩太郎、川村亮介、篠田肇、今村裕、小沢洋子、篠田啓、石田晋、井上真. 25 ゲージ網膜下注入針を用いた黄斑下手術. *眼科* 49(2):193-198,2007
35. 佐藤裕理, 篠田啓, 鈴木浩太郎, 小沢洋子, 石田晋, 井上真. 酢酸トリアムシノロンのテノン嚢下投与併用光線力学療法. *眼科* 49(1): 71-77, 2007.

著書

1. 篠田啓. 2. 視機能検査 I. 網膜電図 (ERG), 視覚誘発電位 (VEP), 暗順応検査. 1.