

200828008A

厚生労働科学研究費補助金

感覚器障害研究事業

脈絡膜上経網膜電気刺激(STS)法による人工視覚システムの臨床応用

平成 20 年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 不二門 尚

平成 21 (2009) 年 4 月

厚生労働科学研究費補助金

感覚器障害研究事業

脈絡膜上経網膜電気刺激(STS)法による人工視覚システムの臨床応用

平成 20 年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 不二門 尚

平成 21 (2009) 年 4 月

目次

I. 総括研究報告		
脈絡膜上経網膜電気刺激 (STS) 法による人工視覚システムの臨床応用 ——	1	
(電極長期埋植における組織損傷の評価)		主任研究者 田野保雄、不二門尚
(分担研究者: 大路正人, 研究協力者: 瓶井資弘、坂口裕和、北口善之)		
II. 分担研究報告		
1. 網膜刺激電極における生体適合性の研究	6	
(動物眼における人工網膜チップの組織学的検討)		分担研究者 平形明人
2. 網膜障害の精密評価システムの開発	13	
(補償光学眼底鏡による生体眼視細胞の評価)		分担研究者 不二門尚
		(研究協力者 北口善之)
3. 脈絡膜上経網膜電気刺激による人工視覚の実用機の開発	21	
		分担研究者 小澤素生
4. 脈絡膜上-経網膜電気刺激に対する皮質視覚野応答の時空間特性の解析	30	
(膜電位イメージングを用いた解析法の確立)		分担研究者 澤井 元
5. 人工視覚システムの急性臨床試験の結果と術前の経角膜電気刺激による網膜内層機能の評価の検討	40	
		分担研究者 不二門 尚
		(研究協力者 森本 壮)
6. 中型動物における視細胞障害モデルの作成	46	
		主任研究者 田野保雄
(分担研究者: 大路正人, 研究協力者: 瓶井資弘、坂口裕和、西田健太郎)		
7. トランスジェニックウサギの網膜変性過程の層別解析	52	
		分担研究者 近藤 峰生
8. 網膜下刺激電極の開発	57	
		分担研究者 太田 淳
III. 研究成果の刊行に関する一覧表	60	
IV. 研究成果の刊行物・別刷	62	

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

—電極長期埋植における組織損傷の評価—

主任研究者 田野 保雄 大阪大学医学系研究科眼科学 教授*
不二門 尚 大阪大学医学系研究科感覚機能形成学 教授**

(* 2008. 4. 1-2009. 1. 31, ** 2009. 2. 1-3. 31)

分担研究者 大路 正人 滋賀医科大学眼科学 教授

研究協力者 瓶井資弘、坂口裕和 大阪大学医学系研究科眼科学、北口善之 大阪大学
医学系研究科感覚機能形成学

研究要旨

人工網膜の長期埋植にあたっては、電極の素材や形態に対する生体適合性が安全確保のために必須である。我々は既に急性臨床試験で使用した弾丸電極の長期埋植における安全性を評価するため、有色家兎6眼に対してダミー9極電極の1年間埋植を行い、組織及び電極の評価を行った。その結果、一部の電極において接触部分の視細胞変性を認めた。網膜の変性が網膜色素上皮との距離が短い電極でのみ観察されたことから、突出した電極形状による圧迫が変性の主な要因であると考えられた。人眼の強膜は、家兎眼と比較して厚いので、弾丸電極による網膜障害の危険性は低いと考えられるが、圧迫による影響を少なくするような術式及び電極デザインの開発が必要と考えられる。

A. 研究目的

我々は昨年度までの4例の急性臨床試験において、短期的には電極埋植により視覚を誘発できることを示してきた。人工網膜の目標は長期に渡って視覚を獲得することであり、次は長期埋植における評価を視野に入れていく必要がある。

長期埋植にあたっては、①電極の素材や形態に対する生体適合性、②長期通電に対する組織の耐電流性、が安全性確保のために重要であり、ヒトでの埋植に先立ちモデル動物を使用した評価が必要である。

我々は電気刺激の効率を上げる目的で弾丸型の電極をデザインし、前回の臨床試験より使用している。しかしこのデザインの電極に対しては長期的な埋植に伴う形態の安全性が明らかでない。

そこで、弾丸型電極の生体適合性を調べるため、有色家兎の強膜内に1年間の電極留置を行い、組織損傷及び電極変化について検討したので報告する。

B. 対象と方法

I.

対象：正常眼有色家兎6眼

方法：

ケタミン、キシラジンをういて有色家兎に全身麻酔を行った後、Visual streak部分の強膜を外側より半層切開し電極を挿入する手術を行った。

使用した電極は、臨床的に使用するものと同じ電極径(0.5mm)、電極間距離(0.7mm)、電極高さ(0.5mm)を持った、3列×3列の弾丸型電極を用いた(図1)。今回は電極の生体適合性検討が目的であったため、通電のための配線はされていない。

有色家兎は、埋植直前、埋植直後、埋植2週後、埋植3ヵ月後、埋植6ヵ月後、埋植1年後に、眼底写真及び蛍光眼底造影を行い、損傷の評価を行った。また眼球摘出後に電極接触部位の網膜組織標本を作製し、損傷の評価を行った。摘出した電極は走査型電子顕微鏡による溶出の評価を行った。

C. 結果

眼底写真において全例とも電極が見えられた(図2)。電極による圧迫が強いと思われる部分では、眼底写真における透見度合いが強く、蛍光眼底写真でも脈絡膜腔の圧排による電極直下の低蛍光を認めた(図3)。網膜組織像では、軽度の線維化は認めるものの炎症所見は認めず、電極直上の強膜構造は良好に保たれていた。

標本を作製した12箇所中6箇所の電極接触部分で網膜外顆粒層の菲薄化を、4箇所で見細胞光受容器の欠落を認めた(図4)。これらの所見を認めた部分は全例、電極から網膜色素上皮までの距離が50 μ m以下と、強膜ポケットの深い症例であった。電極から網膜色素上皮までの距離が100 μ m以上の電極

では網膜の損傷を認めなかった(図5)。

走査型電子顕微鏡による電極の評価では、電極の形状は挿入前のものと変化なく、長期埋植による溶出は認めていないと思われた。

D. 考察

約半数の電極接触部位において、軽度の網膜視細胞損傷を示唆する所見を得た。損傷の原因としては、強膜ポケットが深い症例においてのみ損傷所見を認めた事、走査型電子顕微鏡において電極自体の変化を認めなかったことから、電極の素材というより突出した形態による圧迫によるものが大きいと推察される。

蛍光眼底造影所見との比較では、強膜ポケットの薄さと、脈絡膜圧排による電極直下低蛍光は比較的良く対応していた。従って網膜損傷の機序には直接の圧迫の他に、脈絡膜虚血による影響も考えられる。

今回の実験ではモデル動物として有色家兎を使用した。ヒトでは強膜厚が1mm程度であるのに対し家兎では0.5mm弱と薄く、今回の実験ではポケットの形態を安定させるためには強膜ポケットが深くせざるを得なかった。ヒトにおいては強膜が十分に厚く、ポケット下の厚さを十分に確保することが可能である。電極から網膜色素上皮までの距離が100 μ m以上保たれていた電極では網膜損傷は全く起こっていないことから、ヒトにおける手術では、強膜ポケットが深くなり過ぎない事に注意すれば本電極は安全といえる。

弾丸型の電極形態は、電極と網膜との接触面積を拡大し、効率良い通電に有用と思われる。しかし本実験によりその力学的な危

険性も明らかになったことから、通電の効率及び安全性を両立するためには、新たな電極デザインの設計が必要である。我々は高さを0.3mmと低くした弾丸電極を試作し、評価を開始している。このデザインでは現時点では蛍光眼底写真でも電極直下の低蛍光は認めておらず、安全性は今回使用したものより高い事が予想される。

E. 結論

網膜の変性が網膜色素上皮との距離が短い電極でのみ観察されたことから、突出した電極形状による圧迫が変性の主な要因であると考えられた。人眼の強膜は、家兎眼と比較して厚いので、弾丸電極による網膜障害の危険性は低いと考えられるが、圧迫による影響を少なくするような術式及び電極デザインの開発が必要と考えられる。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

特になし

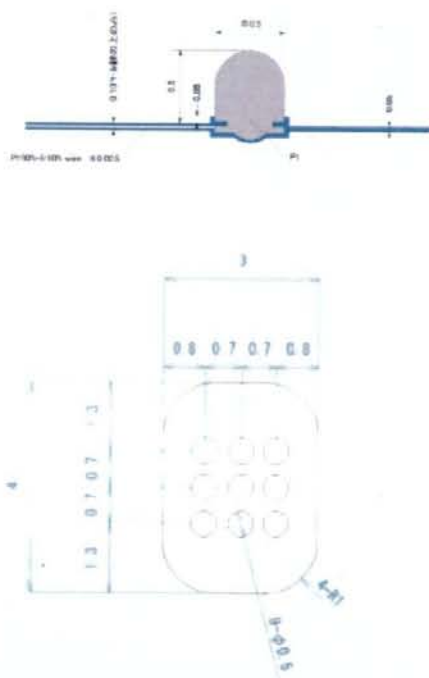
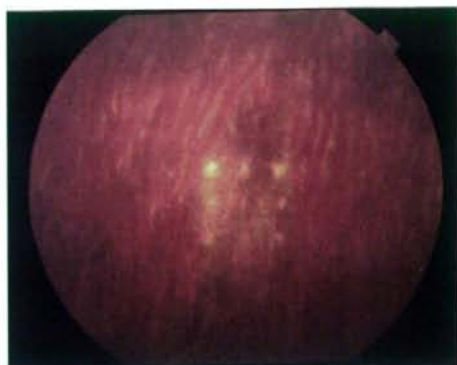


図2：電極挿入部の眼底写真

図とその解説

図1：弾丸型電極(ダミー)のデザイン



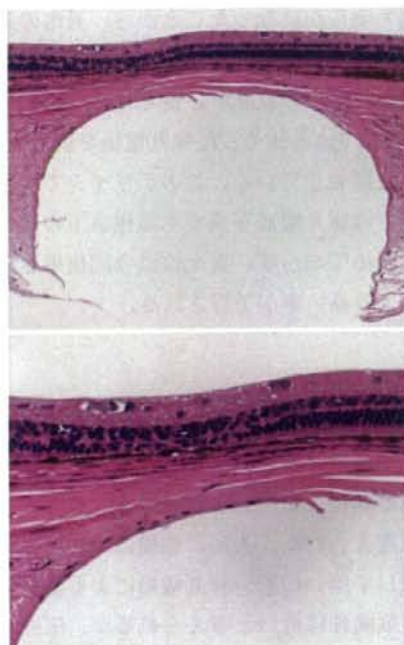
電極が透見される。透見の程度は電極により異なる。

図3：電極挿入部の蛍光眼底造影



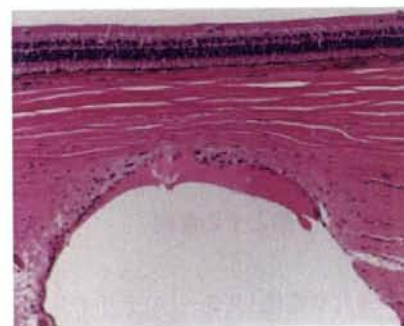
奥側(写真では上側)の3極において、電極直下に低蛍光を認める。脈絡膜腔の圧排が示唆される。

図4：電極の圧迫による光受容器層の乱れと外顆粒層の非薄化例



光受容器層の乱れと外顆粒層の非薄化を認める。下は拡大図。電極先端から網膜色素上皮までの距離は40 μ m程度。

図5：網膜損傷を認めない部位



網膜損傷を認めない部位。ポケットが比較的浅く、電極先端から網膜色素上皮までの距離は200 μ m程度保たれている。

図6：走査型電子顕微鏡写真



表面は平滑で電極の損傷を認めない。

厚生科学研究費補助金（感覚器障害研究事業）
分担研究報告書

網膜刺激電極における生体適合性の研究
（動物眼における人工網膜チップの組織学的検討）

分担研究者：平形明人 杏林大学眼科学教室

研究要旨：脈絡膜上一経網膜電気刺激（STS）方式による人工視覚の臨床応用に向けて、電極数を増やしたり、電極サイズを小型化するために、電極形状、基盤の種類、刺激電流などの改良が求められる。これまで、その形状によっては、強膜ポケットから脱出する危険性もあることを組織学的にも確認してきた。また、STS方式による強い電流刺激で網膜は傷害され得る事、いいかえれば網膜がSTS方式で刺激を受けていることを組織学的に認め、蛍光眼底造影検査で検出される網膜障害は、光学顕微鏡組織所見で明らかとならないこともあることが判明した。今回は、家兎眼の慢性埋め込み実験の過程で、事故的に予想以上の電流が流れた場合の組織を検討した。電極設置付近の強膜、脈絡膜は傷害され、滲出性網膜剥離と網膜変性を来していることを組織学的に観察した。したがって、電極設置の臨床応用を考えた場合、電極不具合を想定して、交換できる部位に設置する必要がある。電極設置のための、強膜ポケットや脈絡膜露出手術の部位は、電極交換操作の可能性を想定して選択する必要があり、現在滲出性網膜剥離や血管新生緑内障の治療として実際の臨床で行われている強膜窓作成術式を参考に、手術操作の部位や大きさについて検討する必要性が示唆された。

A. 研究目的

脈絡膜上一経網膜電気刺激（STS）方式による人工視覚は、動物眼（有色家兎）の人工チップの挿入時の外科的侵襲予防、安定な固定において、網膜上、網膜下人工チップ挿入より優れていることを組織学的に観察してきた。昨年度までに、STS方式による強い電流刺激で網膜は傷害され得る事、いいかえれば網膜がSTS方式で刺激を受けていることを組織学的にも観察し、その電流値の安全域を検討する重要性が確認され

た。そして、安全域の検討に、STS刺激で生じる蛍光造影検査によるRPEレベルの変化と網膜浮腫状変化に注目する必要があることが示唆された。

さらに臨床応用に向けて検討するためには、慢性刺激実験が共同研究者によって行われているが、その過程で、予想以上の電流が流れたり、電極の故障が生じることも少なくなかった。今回、家兎眼の慢性埋め込み実験過程で、事故的に予想以上の電流が流れた場合の組織学的損傷を検討した。

そして、電極交換や設置箇所などについて検討した。

B. 研究方法

臨床応用に向けて共同研究者が開発、検討している電極埋め込み家兎眼で、予想以上の電流が流れた対象の組織学的検討を施行した。

それぞれの実験眼について、眼球を摘出し、ホルマリンと2.5%グルタルホルムアルデヒドの1:1混合液に浸透させ、眼球を半割した。実体顕微鏡によるマクロ的な組織観察で、チップの固定状態、網膜剥離の有無などを観察し、その後、10%シュクロース、20%シュクロース、CMCによる凍結包埋し、タングステンカーバイドプレート替え刃を装着させた全自動回転式マイクローム(ライカ CM3050S)を用いて、面だしし、粘着フィルムを貼り付けて、5~10 μ の薄切切片を作成した。純エタノールで固定し水洗して、ヘマトキシリン・エオジン染色を施行し、グリセリン封入して光学顕微鏡による観察を行った。

(倫理面への配慮)

ARVO 動物実験の規定に準じて動物を取り扱い、最小限の苦痛で実験を行なった。

C. 研究結果

1. Biphasic pulse 電極の誤作動による monophasic pulse 通電の影響

Biphasic pulse 電極の誤作動で monophasic pulse 通電が生じ、短時間の通電にも関わらず、網膜側、硝子体側の両者に肉眼的に変化が見られた対象眼を観察し

た。

肉眼観察では、電極設置付近の強膜に凝固癬や電極と周囲組織の強い癒着は見られなかった。

全眼球断面(図1A)では電極設置部を含む赤道部から後極にかけて網膜剥離が存在した(B,C)。網膜下には滲出液の貯留があり、剥離網膜は変性していた(C)。電極に接する網膜は裂隙が存在した(B)が、これが組織作成中のアーチファクトか鑑別はできなかった。

電極付近の強膜のコラーゲンの収縮と脈絡膜の非薄化も観察された(D)。電極設置から離れた部位の強膜、網脈絡膜に明らかな異常は見られなかった(E)。

2. 過剰な高電圧による網膜障害

マイナスとなる硝子体電極の代わりに、誤って家兎の耳にマイナス電極をとって、脳皮質で誘発電位を観察していた対象である。マイナス電極の取り方が悪かったためか、回路に予期しない過剰な高電圧が生じた網膜下に出血が観察された対象眼で、これを組織学的に検討した。

強膜と電極の癒着は強くなく、強膜に明らかな凝固癬などは肉眼的には観察されなかった(A,B)。しかし、電極設置部位近傍に網膜剥離は存在し(C,D)、剥離網膜は層構造はあるものの空砲化を認めた(G)。電極から離れた部位の網脈絡膜、強膜組織に異常は見られなかった(F)。

2. 強膜開窓術における操作性や術野の観察

原因不明の多発性色素上皮裂孔による難

治性胞状網膜全剥離を生じた 50 歳代男性症例において、強膜開窓術と硝子体手術を併用して網膜復位を得た珍しい症例を経験した。本術式の強膜窓作成時の経験から、強膜に電極設置をする場合の部位や大きさについて考察した。

幅 5mm 経線方向に深さ 10mm の強膜総 20 作成するには、渦静脈の位置や外眼筋肉の関係で、外眼筋附着部付近が前端となるような強膜弁作成となる。それ以上の後方へ同じ大きさの強膜ポケット作成するには、電極の幅を狭くするか、外眼筋を一端はずさないと操作性において難しくなる。

電極誤作動などの不具合で電極交換などを考慮して、設置部位を選択するならば、術野の広さや電極の大きさを考慮する必要がある。

D. 考察

STS 方式の臨床応用に向けて、電極の不具合や異常電流の事故などの対応も検討する必要がある。

今回、biphase pulse 電極の誤操作で monophasic pulse 電流がかかり、網膜以外に脈絡膜、強膜にも傷害が生じることが観察された。また、慢性埋植電極作成中に生じた高電圧によって著明な網膜変性像が生じ、組織学的にはジアテルミーや冷凍凝固による網膜変性像に類似していたことも観察された。

異常電流や高電圧が生じた場合、電極と周囲組織との癒着は見られないものの、網膜剥離が生じた。しかし、剥離網膜の変性はわずかで、脈絡膜と強膜コラーゲンの明らかな変性は見られなかった。短時間の高電圧は、熱凝固と異なる網膜傷害を生じる

可能性が示唆された。

これらの結果から、事故が生じた場合、網膜剥離治療とともに強膜異常部位の観察と必要に応じて補強治療する可能性も考慮しなければならない。

現在、血管新生緑内障などの症例に対して臨床で施行されることがある強膜窓開放術などの術式を参考に適切な手術部位や電極の大きさも検討することは意義がある。

F. 健康危険情報

なし。

G. 研究発表

1. 論文発表

報告 (論文・総説)

- 1) 平形明人:網膜上組織からの情報. 日本
の眼科 78:589-593, 2007
- 2) 平形明人, 生野恭司, 大野京子:強度近
視眼底研究における現時点での理解と問
題点. 日本強度近視眼底研究会, 日本眼
科学会雑誌 112:127-135, 2008
- 3) 平形明人:最近の網膜硝子体手術の進歩.
日本医師会雑誌 136:1759-1764, 2007
- 4) 平形明人:網膜硝子体疾患治療における
長期滞留ガス. 日本眼科学会雑誌
112:3-6, 2008
- 5) Inoue M, Hirakata A, Iizuka N, Futagami
S, Hida T: Tractional macular detachment
associated with optic disc astrocytic
hamartoma. Acta Ophthalmol (in press)

- 6) Taki, Hirakata A, Ohira: Macular edema from distant branch retinal vein occlusion subsiding after vitrectomy. Jpn J Ophthalmol : -, 2008
- 7) Futagami S, Inoue M, Hirakata A: Removal of internal limiting membrane for recurrent myopic traction maculopathy. Clinical Experimental Ophthalmology. 2008 36(8):782-5
- 8) Keino H, Watanabe T, et al: Therapeutic effect of the potent IL-12/IL-23 inhibitors STA-5326 on experimental autoimmune uveoretinitis. Arthritis Research & Therapy 10:122, 2008
- 5) Hirakata A: Wide-Viewing System. Advanced Vitreous Surgery Course, Tokyo, 2007.9.22-23
- 6) 平形明人(インストラクションコース):硝子体手術に使用するシリコーンオイルについて. C3F8 ガス, SF6 ガスシリコーンオイルインストラクションコース, 東京, 2008. 8. 9
- 7) 平形明人:黄斑疾患の病態総論. 平成 20 年度卒業後研修会, 東京, 2008. 10. 18

- 8) Hirakata A: Vitrectomy without Laser Treatment and Gas Tamponade for Macular Detachment Associated with an Optic Disc Pit. VAIL VITRECTOMY 2007, Vail, 2007.3.10-14

特許取得状況 : なし

2. 学会発表

- 1) Hirkatta A: Vitrectomy without Laser Photocoagulation and Gas Tamponade for Optic Disc Pit Maculopathy. The 3rd International Symposium on Macular Diseases, Sydney, 2007 Sep 14-16
- 2) Hirkatta A: Diagnostic Vitreous Surgery. The 3rd International Symposium on Macular Diseases, Sydney, 2007 Sep 14-16
- 3) 平形明人:黄斑分離症の治療と病理. 第 2 回 TMD 眼科研究会, 東京, 2009.1.31
- 4) 平形明人:網膜剥離の術式について. 第 24 回城南眼科集談会, 東京, 2007.11.1
- 9) 二宮夕子, 平形明人, 中山真紀子, 井上真, 田中伸茂:乳頭ビット黄斑症候群における赤外光と自発蛍光の意義. 第 47 回日本網膜硝子体学会総会, 京都, 2008.11.28-30
- 10) 平形明人:眼内タンポナーデ物質再考!. 第 47 回日本網膜硝子体学会総会, 京都, 2008.11.28-30
- 11) 平形明人:黄斑疾患に対する極小切開硝子体手術最前線. 第 62 回日本臨床眼科学会, 東京, 2008.10.23-26
- 12) 廣田和成, 三木大二郎, 平岡智之, 川真田悦子, 平形明人:裂孔原生網膜剥離に

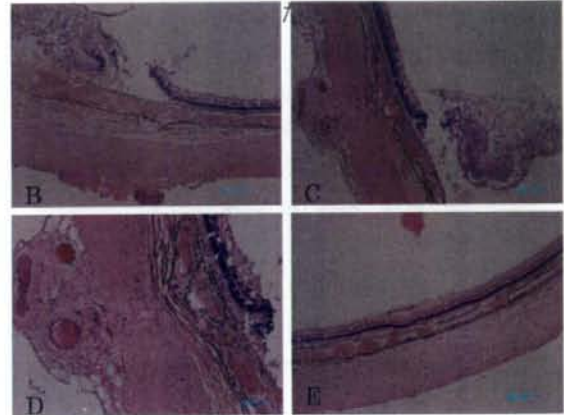
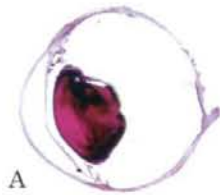
- 対する水晶体温存硝子体手術後の屈折変化. 第 62 回日本臨床眼科学会, 東京, 2008.10.23-26
- 13) 小林泉, 小川学, 平岡智之, 三木大二郎, 永本敏之, 平形明人:手術関連の脈絡膜出血例の検討. 第 62 回日本臨床眼科学会, 東京, 2008.10.23-26
- 14) 谷内修太郎, 井上真, 太田一郎, 三宅謙作, 平形明人:Miyake-Apple View を用いた小切開硝子体手術における強膜創の観察. 第 62 回日本臨床眼科学会, 東京, 2008.10.23-26
- 15) 井上真, 平形明人, 村上悦男:MVR 刃先端形状のトロッカーカニューラを用いた 23G 小切開硝子体手術. 第 62 回日本臨床眼科学会, 東京, 2008.10.23-26
- 16) 小川学, 谷内修太郎, 廣田和成, 二神創, 杉谷篤彦, 平岡智之, 井上真, 三木大二郎, 平形明人:高度近視眼に合併する牽引黄斑剥離再発例の摘出黄斑上膜の組織学的検討. 第 62 回日本臨床眼科学会, 東京, 2008.10.23-26
- 17) 谷内修太郎, 小川学, 廣田和成, 杉谷篤彦, 平岡智之, 井上真, 三木大二郎, 平形明人:強度近視に伴う牽引性黄斑剥離に対する内境界膜剥離の影響. 第 62 回日本臨床眼科学会, 東京, 2008.10.23-26
- なし。
2. 実用新案登録
なし。
3. その他
なし。

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

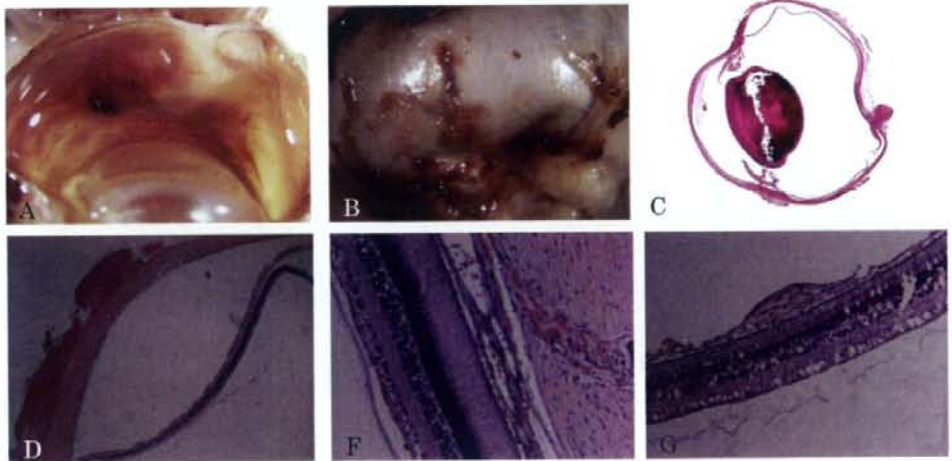
図1. Biphasic pulse 電極の誤作動による
monophasic pulse 通電の影響

構造はあるものの空砲化を認めた (G)。電
極から離れた部位の網脈絡膜、強膜組織に



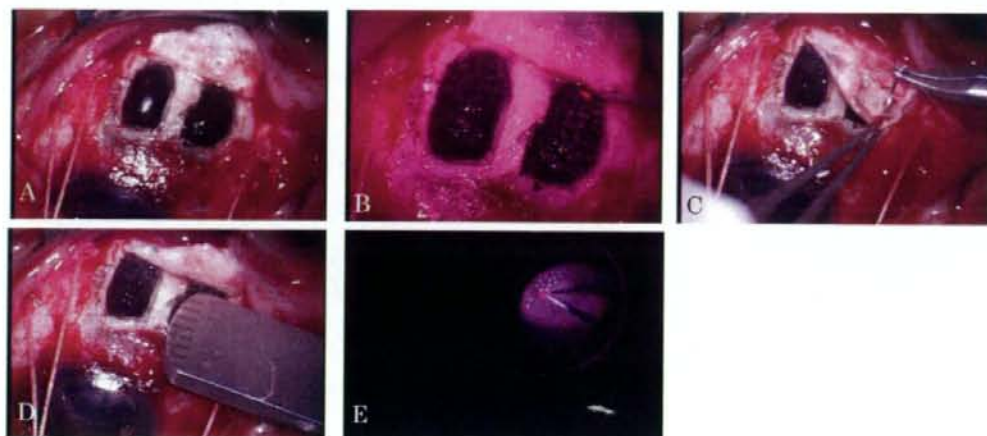
- A 全眼球断面。
赤道部から後極に網膜剥離を認める。
B, C 電極付近の網脈絡膜組織。
網膜裂隙と滲出性変化と剥離網膜の
変性を認める。
D 電極付近の強膜脈絡膜組織。強膜コラ
ーゲンの収縮と脈絡膜の変性を認める。
E 電極対側の網脈絡膜組織。明らかな異常
を認めない。

図2. 過剰な高電圧による網膜障害



強膜と電極の癒着は強くなく、強膜に明
らかな凝固痂などは肉眼的には観察されな
かった (A, B)。しかし、電極設置部位近傍
に網膜剥離は存在し (C, D)、剥離網膜は層

図 3. 強膜弁作成による網膜脈絡膜アプローチ



50 歳男性。多発性色素上皮裂孔に滲出性胞状網膜剥離を合併し、難治性のため強膜開窓術と硝子体手術を併用して治療した。強膜弁は下直筋と外直筋の間に幅 10 mm 経線方向に約 10 mm 作成し、その中にさらに脈絡膜を露出する窓を 2 箇所作成した (A-D)。これだけ大きな開窓するためには、強膜弁の前端は外眼筋筋付着部付近であり、後方は渦静脈が存在するため、さらに大きな開窓を作成するためには幅を狭くする必要がある。また強膜窓を作成後に硝子体手術を施行しても、大きな支障は生じなかった (E)。

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

網膜障害の精密評価システムの開発
（補償光学眼底鏡による生体眼視細胞の評価）

分担研究者 不二門尚 大阪大学医学系研究科感覚機能形成学 教授
研究協力者 北口善之 大阪大学医学系研究科感覚機能形成学 大学院生

研究要旨

人工網膜の適応を決める上で、残存する視細胞を評価することが必要である。これまで補償光学（Adaptive Optics）を用いた眼底カメラの開発を行ってきたが、本年度は昨年度に引き続き、眼底疾患眼での撮影及び所見の検討を行った。微小黄斑円孔、工業用レーザー障害といった視細胞外節の変性が限局する複数の症例について光干渉断層計所見と比較し、補償光学眼底写真で低反射になる部分が視細胞外節の障害と対応する事がわかり、補償光学眼底画像が視細胞外節からの反射を反映していることを示した。また、Occult macular dystrophy などのジストロフィー症例では、視細胞の変性を直接示すと思われる所見の他、バックグラウンドの大きなモザイクの斑状変化を認めており、視細胞より外層の組織（網膜色素上皮、脈絡膜）の変性も示唆された。

A. 研究目的

人工網膜の適応を決める上で、残存する視細胞を評価することが必要である。これまでわれわれは、補償光学（Adaptive Optics）を用いた眼底カメラの開発を行い、視細胞評価の可能性について検討してきた。補償光学は元来天文学で使われている技術で、これを眼底カメラなどの眼底撮影装置に応用すると、眼球の高次波面収差を補正することにより解像度を向上させることが可能で、従来の機器では不可能な視細胞レベルの生体内網膜観察が可能となる。眼底疾患を観察した報告は黄斑ジストロフィーで数例あり、中心窩周辺の細胞密度低下や視細胞の脱落と思われる所見などが報

告されている。画像の解釈法が確立されてくれば、錐体ジストロフィーなど診断が困難な網膜疾患に対する錐体密度など視細胞の情報による補助診断の可能性や、眼疾患による網膜障害・治療に対する回復度などに対する視細胞の形態学的側面からの評価など、臨床的に有用な検査となり得ると思われる。前年度は黄斑ジストロフィーを中心とする病眼で撮影を行い、正常眼同様の構造物が観察される頻度が減少するものの、観察が可能であった症例では正常眼で見られる視細胞のモザイク構造以外の、視細胞の変性・脱落を示すと思われる所見を得た。

今年光干渉断層計の技術革新により病変の垂直方向の情報が得やすくなったため、

微小黄斑円孔、工業用レーザー障害といった黄斑部に病変が限局する症例を中心に補償光学眼底撮影を行い、光干渉断層計所見との対比を行うことで眼底像の解釈について検討した。

また病眼で収差が補正されているにも関わらず明瞭な画像が得られにくい症例は多い。原因を究明するため、今までに撮影した画像を光干渉断層計所見と照合し、網膜構造と画像の明瞭度との関係について検討した。

B. 対象と方法

I.

対象：大阪大学付属病院眼科にて臨床的に診断された網膜疾患を有する41眼。

方法：①補償光学眼底カメラの光学系

試作機には波面収差測定用と照明用の2系統の光源（波面測定用光源に波長690nmのSLD光源、照明光として638nmのLD光源）を設定した。光源の出力は角膜上で測定した場合、波面測定用光源が $0.5\mu\text{W}$ 、照明用光源が 1.5mW で、撮影（1-2秒）における安全係数は両光源とも100以上である。これとHartmann-Shack波面センサー（ 28×28 lenslet）、液晶位相変調素子（Hamamatsu PAL X8287）を図1の如く組み込み、波面収差のフィードバックループを形成した。まず内部可動プリズムにて球面値の粗補正を行った後、被検眼からの波面に対して、Zernike係数で8次までの収差測定を約100ms毎に行い、その情報からコンピュータで位相変調素子に発生させるべき逆位相の収差を計算し、位相変調素子を通過した後の波面がフラットになるように素子をコントロールする（約300ms毎）。

補正された波面に対してさらにフィードバックがかかり、このループを周回することで波面収差はさらに低減される。設定した目標閾値に到達するとシャッターが開き撮影が行われる。撮像素子は $1000\times 1000\text{pixel}$ のCCDを用い、露光2-3ms、30fpsにて撮影し、10-bit grayscaleのTiff画像約20フレームを得た。

②撮影

大阪大学医学部倫理委員会の承認下で、説明を行い文書による同意を得た後、0.5%トロピカマイド・0.5%フェニレフリン（ミドリリンP[®]）による散瞳下で眼底撮影を行った。収差補正フィードバックの目標閾値は初期値を $0.15\mu\text{m}$ （Total RMS（総高次収差：2次のSC面值を含む）、解析瞳孔径5mmのとき）として、実際の補正状況に応じて増減した。内部視標（図2）を用いて、中央固視、中央から耳側2度を固視させ、撮影を行った。黄斑部に限局した病変を持つ症例においては病変を網羅できるように適宜固視点を変更し撮影を行った。黄斑疾患などの固視不良例については、Rodstock SLOまたはNidek MP-1を用いたMicroperimetryにより網膜上の固視点を確認した上で、結果画像のオリエンテーションを検討した。画像は可能であれば残存収差によるDeconvolution処理、フレームの重ね合わせ処理を行い画質の向上を図った。

C. 結果

白内障症例、眼内レンズ症例を除き、ほとんどの例で個々の錐体視細胞を識別可能な画像の取得が可能であった（図3）。正常眼において輝点の密度を検討したところ、約 $30000/\text{mm}^2$ 程度であり、近視が強い眼ほど密

度が低い事が示された(図4)。現時点まで対象となった眼底疾患症例は表1の通りである。黄斑ジストロフィーなど黄斑部全体が障害されている病変では前年同様、識別可能な構造物が明瞭に観察される頻度が減少し、観察が可能であった症例では正常眼で見られる視細胞のモザイク構造以外の、視細胞の変性・脱落を示すと思われる所見を得た(図5)。今までに撮影した補償光学眼底画像を光干渉断層計所見と照合し、網膜構造と画像の明瞭度との関係について検討したところ、視細胞外節に相当する部位が厚い症例ほど明瞭な画像が得られる傾向を認めた(図6)。

微小黄斑円孔、工業用レーザー障害、Acute zonal occult outer retinopathyといった病変が黄斑部に限局する症例では、病変部周辺の視細胞モザイク構造は正常に近く、病変部のみモザイク構造の抜けが見られた(図7)。光干渉断層計との比較により、モザイク構造の抜けは視細胞外節の障害部位と一致することが分かり、補償光学眼底カメラにおけるモザイク構造は視細胞外節からの反射を反映していることが示された(図8)。

D. 考察

視細胞の2次元的観察は、摘出標本での検討は詳細になされており(Curcio et al)、中心窩中央での錐体密度が最も高く、網膜周辺へ向かって杆体密度の増加とともに錐体密度は減少していくこと、錐体密度そのものには大きい個体差が存在することなどが報告されている。我々は正常眼における撮影から、補償光学眼底撮影における輝点の密度が報告されている錐体密度とほぼ一

致することを示した。近視眼にて輝点の密度が減少するのは眼軸の延長に伴う網膜伸展が関与しているものと思われる。

深さ方向においては、補償光学眼底撮影が錐体を可視化するものであるとは言われていたものの実際は網膜のどの層からの反射を反映しているか明らかでなかった。我々は障害が視細胞外節に限局する病変において光干渉断層計と補償光学眼底画像との対比を行うことで、補償光学眼底画像が視細胞外節からの反射を反映していることを最初に示した。この結果は視細胞外節に相当する部位が厚い症例ほど明瞭な画像が得られるという結果とも矛盾しない。

以上より、補償光学眼底カメラにより視細胞外節の錐体を生体内で観察できることが明らかになった。現時点では、①初期錐体ジストロフィーやOccult macular dystrophyの診断や経過観察、②病変が黄斑部に限局する症例における病変の平面的評価、に有用と考えられる。電気生理学的検査で検出できるぎりぎりの初期錐体ジストロフィーでは、視神経疾患との鑑別が困難である。補償光学眼底カメラは黄斑の網膜病変があるかどうかのスクリーニングに用いる事ができる。また、黄斑部に限局する微小な病変では他の眼科的検査では解像度が低く十分に解像できず、光干渉断層計でも眼球運動の影響などで検出困難なものがある。これらの病変を平面的に評価することで病変の進行の有無などを判定することが可能となる。

視細胞外節が薄いと補償光学眼底カメラで明瞭な画像が得にくいことについては、網膜色素上皮や脈絡膜からの散乱光の影響が強くなりS/N比が下がることが考えられ

るが、その機序についてはいまだ明らかではない。この現象は網膜厚減少が見られるような網膜ジストロフィーにおける診断を困難にしており、今後は垂直解像度を補完する走査レーザー検眼鏡 (SLO) との併用効果などの検討が必要と思われる。

現時点の問題点として白内障及び眼内レンズ眼において有効な画像が得られないことがある。これはこのような眼において有効な波面測定が困難なことに起因しており、波面測定システムの改良が課題である。

E. 結論

補償光学 (Adaptive Optics) を用いた眼底カメラは、網膜変性のある眼における網膜異常の検出、黄斑部局所病変の平面的解析に役立つことが示された。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

Kitaguchi Y, Bessho K, Yamaguchi T, Nakazawa N, Mihashi T, Fujikado T.

In vivo measurements of cone photoreceptor spacing in myopic eyes from images obtained by an adaptive optics fundus camera.

Jpn J Ophthalmol. 2007 Nov-Dec;51 (6) :456-61

Kitaguchi Y, Fujikado T, Bessho K, Sakaguchi H, Gomi F, Yamaguchi T, Nakazawa N, Mihashi T, Tano Y.

Adaptive Optics Fundus Camera to Examine Localized Changes in the Photoreceptor Layer of the Fovea.

Ophthalmology. 2008 Oct;115 (10) :1771-7.

OPTICAL REVIEW Vol. 15, No. 3 (2008)

Adaptive Optics Fundus Camera Using a Liquid Crystal Phase Modulator

山口達夫, 中澤直樹, 別所建一郎, 北口善之, 前田直之, 不二門尚, 三橋俊文

2. 学会発表

第112回日本眼科学会 (2008年4月17日~20日 横浜市)

補償光学眼底カメラの画像に残存収差および網膜形態が及ぼす影響

北口善之, 不二門尚, 別所建一郎, 山口達夫, 中澤直樹, 広原陽子, 三橋俊文, 前田直之, 田野保雄

2008 ARVO (The Association for Research in Vision and Ophthalmology) Annual Meeting, April 30th, 2008, Fort Lauderdale, Florida, U.S.A

Reduced photoreceptor thickness causes blur of photoreceptor mosaic in the image by flood-illumination adaptive optics fundus camera.

Yoshiyuki KitaguchiA, Takashi FujikadoA, Kenichiro BesshoC, Tatsuo YamaguchiD, Naoki NakazawaD, Yoko HiroharaD, Toshifumi MihashiD, Naoyuki MaedaB, Yasuo TanoB

第 33 回日本小児眼科学会 (2008 年 7 月 4 日～5 日 東京都品川区)

小児の外傷性視神経症に対する経角膜電気刺激治療

北口善之、下條裕史、大川賀孝、松下賢治、森本壮、不二門尚、田野保雄

「工業用レーザーによる網膜障害」
眼科プラクティス 26 巻、2008

第 56 回日本臨床視覚電気生理学学会 (2008 年 9 月 5 日～7 日 東京都千代田区)

補償光学眼底撮影で錐体の配列異常が示された Occult macular dystrophy の一例

北口善之、不二門尚、別所建一郎、山口達夫、中澤直樹、広原陽子、三橋俊文、前田直之、田野保雄

第 1 回眼科画像診断研究会 (2008 年 9 月 6 日 東京都千代田区)

補償光学眼底カメラを用いた Foveal microhole の解析

北口善之、山口達夫、広原洋子、三橋俊文、不二門尚

第 62 回臨床眼科学会 (2008 年 10 月 23 日～26 日 東京都)

チタンサファイアレーザー障害に対する、高解像度網膜イメージング

北口善之、不二門尚、日下俊二、山口達夫、中澤直樹、広原陽子、三橋俊文、前田直之、田野保雄

3. 原稿

「補償光学」

臨床眼科増刊号「網膜硝子体 update」、2008

図とその解説

図 1 : 補償光学眼底カメラの模式図

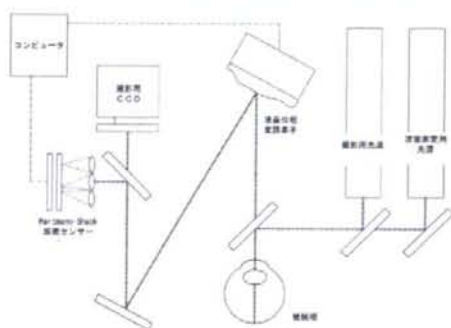


図 2 : 内部視標

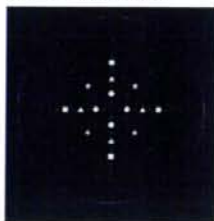


図 3 : 正常眼の視細胞像