

200828011A

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 20 年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 角田 和繁

平成 21 年（2009）4 月

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 20 年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 角田 和繁

平成 21 年（2009）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

角田 和繁

### II. 分担研究報告書

1. 可視光を用いた網膜色素褪色変化による機能的イメージング

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. 黄斑局所網膜電図による黄斑機能の層別マッピングの試み

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複数の検査技術を開発、あるいは臨床応用し、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。本年度も昨年度に引き続き1)黄斑部局所ERG、2)網膜内因性信号計測法、3)機能的OCTという、それぞれ異なる原理に基づき、網膜黄斑部の神経機能を1)電気生理学的に、2)平面的空間パターンとして、3)断層的空間パターンとして計測する技術を開発する研究を行い、黄斑部網膜の神経生理機構ならびに病態生理を多面的かつ統合的に明らかにすることを旨とした。各計測法について実用化レベルには大きな開きが存在するものの、それぞれの研究部門において実用化および臨床応用貢献に向けた着実な成果、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

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

### 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術を確認し、黄斑部の他覚的機能評価を統合的に

一般臨床家にも利用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）

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った。本年度は、一般的な眼科検査として、視力、視野、眼底検査、蛍光眼底造影を行い、また電気生理学的検査として、全視野ERG、黄斑部局所ERG、あるいは多局所ERGを施行した。

また、大分大学においては、黄斑部局所ERGを用いて網膜内層成分を分離測定する目的で、Photopic negative response (PhNR)をサル網膜から記録した。

### ② 網膜内因性信号計測法（担当：角田、谷藤、楠城）

網膜視細胞は周辺に多く分布して暗所で働く杆体細胞と、中心に多く分布して明所で働く錐体細胞に分けられる。このうち錐体細胞は、その最適感度の波長によりS、MおよびL錐体の3つに分けられる。これらの視細胞は、それぞれ異なる疾患で独立して傷害されることがあり、その機能的分布を生体で捕らえることは臨床的な意義が大きい。今年度はこれまでの近赤外光による網膜内因性信号計測の他に、特に、同計測システムを用いて、色素褪色変化によるこれら杆体、錐体細胞の機能的マッピングを目指した。

a) 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、ハロゲン定常

光によって惹起される網膜反射率変化を経時的に記録した。観察光はバンドパス・フィルターによって各波長に分離された。用いた波長は、445, 500, 535, 565, 590, 630nmである。このうち、445 nmはL錐体、500 nmは杆体、535 nmおよび565 nmはM/L錐体の反応を抽出するために用い、590 nmはM/L錐体の反応を抑制するために用いた。

b) 正常ヒト被験者を対象とした網膜色素褪色変化について。本年度は、眼底カメラAFC-210を用いて、眼底撮影を繰り返す方法でヒト網膜でのブリーチング反応の実験を行った。頭蓋骨の固定のためにバイトバーを使い、装置内の内部固視灯を固視して眼を安定させた。また、上記に加えて実験プロトコルや固視灯の改良、画質の改善、ブリーチング計測に不要な鏡面反射成分の除去等を試みた。解析については、眼の上下左右の動きに加え、旋回についても半自動で補正できるスタビライザーソフトを開発し、実験に用いた。

### 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た原理に基づき、刺激装置を付加した眼底カメラベースの実験用SD-OCTを作製した。麻酔下サルにおいて、フラッシュ刺激前後のOCT信号を比較し、機能的OCT信号を記録した。

#### （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 単一家系における、10名の罹患者(年齢17—81歳。男性5名、女性5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、黄斑部局所ERGについては振幅の低下もしくは反応消失を認め、多局所ERGについては中心部においてのみ振幅の低下を認めた。初発年齢は6から50才と幅広く分布し、最終診察時までの罹患者期間は6から62年間であった。特筆すべきは、発症後60年以上経過した患者の眼底所見が現時点でも正常であったこと。また、父と息子が発症している女性を検査したところ、自覚症状がなく視力が正常であるにもかかわらず、局所ERGで異常がみられ、オカルト黄斑症患者の可能性が疑われたことである。

また、大分大学においては、独自に開発した黄斑部局所ERGを用いた実験において、サル網膜からPhNRを安定して記録することに成功した。今後は刺激サイズ、領域を様々なに設定することにより、網膜内層機能の新しいマッピング法としての確立を目指していきたい。

② サル網膜を用いた実験に関しては、以下の新たな知見がえられた。

1) 535 nm および 565 nm を用いた差分計測により、最大40%ほどの反射率変化が得られた。反応ピークは中心窩に一致し、後極周辺部に向かって徐々に減衰していた。

2) 500 nm を用いた計測では、強い観察光では杆体・錐体の反応が混在して観察される。しかし、極めて微弱な観察光を用いることにより、初期には杆体のみの褪色変化を、数分後に杆体・錐体の混合変化捕らえることが出来る。すなわち、初期の変化に着目すると、杆体反応のみをマッピングすることが出来る。この方法により、解剖学的な杆体リングに一致した機能的分布を、直径30度の範囲においてマップすることに初めて成功した。

3) 445 nm はS錐体の中心感度波長であるが、S錐体は絶対数が少ないため、その計測結果には杆体反応およびM/L錐体の反応が混在してしまう。このため、590 nm の前照射によりM/L錐体の反応を抑制する必要がある。さらに、反応の時間経過の違いを利用して杆体反応を除外する必要があるが、現時点ではS錐体単独のマッピングを得るには至っていない。

健常ヒト被験者については、計測が良好な被検眼の場合、繰り返し良く似たML錐体細胞起因の反応を空間的に観察することに成功した。また、うまく計測できない被検眼の場合、内境界膜起因と思われる鏡面反射成分が眼の動きに応じて動く為、単純に画像を描えるだけのスタビライザーソフトでは限界があることが判明した。この鏡面反射成分除去については偏光板を用いた方法を試みたが、他の光学系の影響を受けてしまい、現段階では成果が出ていない。

③ 機能的OCTについては、白色フラッシュ刺激によってサル網膜視細胞外節から2

0%程度の内因性信号が発生することが確認された。ただし、覚醒下の実験に応用するためのオンライントラッキングシステムの開発が未完成であり、健常ヒト被験者での計測は行われていない。

#### D. 考察

① 本家系における調査によって、以下の重要な知見が得られた。

1) 同一家系の中にオカルト黄斑症を早く発症する人から遅く発症する人まで混在していること。

2) 同一家系内に視力が正常である患者がいることが再確認され、これからの遺伝子検索に極めて留意すべき事実であることが分かったこと。

3) 過去の各症例報告にあるように本疾患においては罹患後にそれほど視機能が障害されないことが、大家系で再確認されたこと。

4) 年齢が長じても、眼底に検眼鏡的变化が出ないことが、再確認されたこと。

5) 年齢が長じても全視野 ERG は保存されることが、再確認されたこと。

6) 過去の数例の家系分析では、必ずしも優性という証拠はなかったが、今回の家系調査で、オカルト黄斑症の遺伝形式が常染色体優性であることがはっきりしたこと。

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開始し、これまでに明確でなかった本疾患の特徴を明らかにすることができた。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している患者が存在しており、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 サル網膜を用いた実験に関しては、杆体および錐体視細胞は、その光に対する反応の性質が著しく異なっており、これを利用することで各種視細胞を分離してマッピングす

る可能性が示された。特に、杆体細胞は網膜色素変性症等の遺伝性ジストロフィーで極めて傷害されやすい部位であり、この技術によって杆体細胞の単一マッピングが可能になれば臨床的意義は大きい。また、錐体細胞は視力に大きく影響を与える部位であり、各種網膜疾患の進行度を診断する上で意義が大きい。このため、Retinal Densitometry はすでに幾つかの海外の施設で臨床応用が試みられているが、従来の光学系では中心 10 度程度の狭い範囲でのマッピングが限界である。本研究において、直径 30 度までの広範囲で上記のマッピングに成功したことは、本法の応用に向けた大きな突破口となる可能性がある。

健常ヒト被験者に関しては、ML 錐体細胞のブリーチング反応は昨年より再現性よく計測出来るようになりつつあると言える。しかし昨年度の報告にもあるように内境界膜起因と思われる鏡面反射成分および、眼の動きがこの計測を行う上での最も大きな課題といえる。つまりこれらの課題を克服できれば性能を向上できるものと考ええる。さらに、計測の測定精度を向上させる為には以下の 2 つの点に注目する必要があると考える。一つ目は眼の動きに対するものであり、二つ目はフォトブリーチングに関与する光だけを効率的に計測出来るようにする光学的な工夫が必要と言える。

#### E. 結論

各計測法について実用化レベルに大きな開きが存在するものの、それぞれの研究部門において実用化および臨床応用貢献に向けた着実な成果、進展が得られた。

#### F. 健康危険情報

特になし



G. 研究発表

論文発表

1. 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, vol. 49, no.5, 2193-2200.

2. Gen Hanazono, Kazushige Tsunoda, Yoko Kazato, Kazuo Tsubota and Manabu Tanifuji.

Evaluating Neural Activity of Retinal Ganglion Cells by Flash-evoked Intrinsic Signal Imaging in Macaque Retina.

Investigative Ophthalmology & Visual Science, 2008, vol. 49, no.10, 4655-4663.

3. 角田和繁

「脳と眼のサイエンス」

Pharma Medica, Vol. 26: 57-59, 2008/11/26.

4. 角田和繁

「機能的眼底画像解析—網膜内因性信号計測法 FRG—」 Vol.21, 269-271, 2008

5. 角田和繁

特集；視覚障害（1）

「網膜の機能的イメージング」

医療, Vol.62, No.7, 404-406, 2008/11/26.

6. 角田和繁

網膜硝子体診断 update 「機能的 OCT は可能か」  
臨床眼科, 62 巻, 第 11 号 (増刊号) 2008/10.

7. Rajagopalan M U, Tsunoda K, Tanifuji M.  
Using the light scattering component of optical intrinsic signals to visualize in vivo functional structures of neural tissues. Fahmeed Hyder.

Dynamic Brain Imaging : Multi-Modal Methods and In Vivo Applications. Humana Press, New York, 489, 111-132. 2009.

学会発表

1. 平成 20 年 4 月 17 日

角田和繁

シンポジウム「Functional Imaging の最前線」  
「網膜内因性信号計測法—光による網膜機能のマッピング—」

(第 112 回日本眼科学会総会 横浜)

2. 平成 20 年 4 月 27 日

K. Tsunoda

Flash-evoked light reflectance changes of the optic disk reflect the neural activity of the inner retina.

(First Symposium of the Functional Imaging of the Retina, Fort Lauderdale, FL, USA)

3. 平成 20 年 5 月 1 日

G. Hanazono, Y. Kazato, K. Fujinami, M. Tanifuji, Y. Miyake, K. Tsunoda.

Effect of inter-flash intervals on the response characteristics of oscillatory potentials in humans and monkeys.

(2008 Annual meeting, Association for Research in Vision and Ophthalmology Fort Lauderdale, FL, USA)

4. 平成 20 年 5 月 1 日

Fujinami K, Tsunoda K, Kazato Y,  
Hanazono G, Inomata K, Ohde H, Shinoda

K, Miyake Y.

Fundus Autofluorescence in Acute Zonal Occult Outer Retinopathy (AZOOR).  
(2008 Annual meeting, Association for Research in Vision and Ophthalmology Fort Lauderdale, FL, USA)

5. 平成 20 年 7 月 12 日

K. Fujinami, R. Inoue, T. Maeda, T. Inoue, Y. Inoue, K. Tsunoda, K. Shinoda, Y. Miyake.

The photopic negative response of the red on blue electroretinogram using LED built-in contact lens electrodes on open angle glaucoma.

International Society for Clinical Electrophysiology of Vision, 47th Symposium, Morgantown, WV, USA.

6. 平成 20 年 9 月 6 日

角田和繁

シンポジウム「Functional Imaging」  
「Functional OCT」

(第 44 回日本眼科学会総会, 第 56 回日本臨床視覚電気生理学会, 東京)

7. 平成 20 年 10 月 23 日

角田和繁

視野研究会シンポジウム

「網膜内因性信号計測と視野」

(第 62 回日本臨床眼科学会, 東京)

8. 平成 20 年 10 月 25 日

角田和繁

専門医制度第 49 回講習会

「最近の進歩シリーズ 31 新しい眼底疾患」

「Occult macular dystrophy」

(第 62 回日本臨床眼科学会, 東京)

9. 平成 21 年 1 月 11 日

伊藤晃一, 鈴木航, 柴田尚久, 上野登輝夫, 角谷俊文, 角田和繁, 谷藤学.

「生体網膜(サル)を用いた functional OCT 計測システムの開発」

(第 29 レーザー学会, 徳島)

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



## 可視光を用いた網膜色素褪色変化による機能的イメージング

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

我々はこれまで近赤外光をもちいた網膜内因性信号計測法の開発および基礎実験をすすめてきたが、それ以外に網膜機能的マッピングの重要なオプションとして、色素褪色変化を利用した機能的イメージングがある。これは Retinal Densitometry として古くから知られる測定技術であるが、技術的な問題点から広範囲の網膜から測定することは不可能であった。本年度は、可視光を用いて色素褪色変化の計測を行うことにより、各錐体細胞、杆体細胞を機能的に分離してマップすることを目指した。

その結果、中心窩にピークをもつM/L錐体の機能的マップを作ることができたばかりでなく、微弱観察光を用いた長時間計測プロトコルを用いることにより、後極部周辺に分布する杆体細胞を初めて機能的にマップすることが出来た。

### A. 研究目的

網膜視細胞は周辺に多く分布して暗所で働く杆体細胞と、中心に多く分布して名所で働く錐体細胞に分けられる。このうち錐体細胞は、その最適感度の波長によりS、MおよびL錐体の3つに分けられる。

これらの視細胞は、それぞれ異なる疾患で独立して傷害されることがあり、その機能的分布を生体で捕らえることは臨床的な意義が大きい。我々は、網膜内因性信号計測に用いた計測システムを用いて、色素褪色変化によるこれら杆体、錐体細胞の機能的マッピングを目指した。

### 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、ハロゲン定常光によって惹起される網膜反射率変化を経時的に記録した。観察光はバンドパス・フィルターによって各波長に分離された。用いた波長は、445, 500, 535, 565, 590, 630nmである。

このうち、445 nm はL錐体、500 nm は杆体、535 nm および 565 nm はM/L錐体の反応を抽出するために用い、590 nm はM/L錐体の反応を抑制するために用いた。

### C. 研究結果

1) 535 nm および 565 nm を用いた差分計測により、最大40%ほどの反射率変化が得られた。反応ピークは中心窩に一致し、後極周辺部に向かって徐々に減衰していた。

2) 500 nm を用いた計測では、強い観察光では杆体・錐体の反応が混在して観察される。しかし、極めて微弱な観察光を用いることにより、初期には杆体のみの褪色変化を、数分後に杆体・錐体の混合変化捕らえることが出来る。すなわち、初期の変化に着目すると、杆体反応のみをマッピングすることが出来る。この方法により、解剖学的な杆体リングに一致した機能的分布を、直径30度の範囲においてマップすることに初めて成功した。

3) 445 nm はS錐体の中心感度波長であ

るが、S錐体は絶対数が少ないため、その計測結果には杆体反応およびM/L錐体の反応が混在してしまう。このため、590 nmの前照射によりM/L錐体の反応を抑制する必要がある。さらに、反応の時間経過の違いを利用して杆体反応を除外する必要があるが、現時点ではS錐体単独のマッピングを得るには至っていない。

#### D. 考察

杆体および錐体視細胞は、その光に対する反応の性質が著しく異なっており、これを利用して各種視細胞を分離してマッピングする可能性が示された。特に、杆体細胞は網膜色素変性症等の遺伝性ジストロフィーで極めて傷害されやすい部位であり、この技術によって杆体細胞の単一マッピングが可能になれば臨床的意義は大きい。また、錐体細胞は視力に大きく影響を与える部位であり、各種網膜疾患の進行度を診断する上で意義が大きい。このため、Retinal Densitometryはすでに幾つかの海外の施設で臨床応用が試みられているが、従来の光学系では中心10度程度の狭い範囲でのマッピングが限界である。本研究において、直径30度までの広範囲で上記のマッピングに成功したことは、本法の応用に向けた大きな突破口となる可能性がある。

#### E. 結論

網膜内因性信号測定装置FRGを改良したRetinal Densitometryの計測により、網膜後極部直径30度までの、杆体細胞、ML錐体細胞の機能的マッピングを行うことが出来た。従来の近赤外光を用いた内因性信号計測、およびスナップショット(FC-9)を用いた後極部の褪色変化計測と合わせて、本計測法が視細胞機能のより多面的な診断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

<論文発表>

1. Op de Beeck HP, Dicarlo JJ, Goense JB, Grill-Spector K, Papanastassiou A, Tanifuji M, and Tsao DY. (2008) "Fine-scale spatial organization of face and object selectivity in the temporal lobe: do functional magnetic resonance imaging, optical imaging, and electrophysiology agree?" *J. Neurosci.* 28, 11796-11801
2. Sato T, Uchida G, and Tanifuji M. (in press) "Cortical columnar organization is reconsidered in inferior temporal cortex." *Cerebral Cortex*
3. Rajagopalan M U, Tsunoda K, Tanifuji M. Using the light scattering component of optical intrinsic signals to visualize in vivo functional structures of neural tissues. Fahmeed Hyder. *Dynamic Brain Imaging : Multi-Modal Methods and In Vivo Applications.* Humana Press, New York, 489, 111-132. 2009.

#### Proceedings

1. Nakahara H, Shimono M, Uchida G, Tanifuji M, "Stimulus induced pairwise interaction can be revealed by information geometric approach." (2008) *In Advances in Cognitive Neurodynamics: Proceedings of the International Conference on Cognitive Neurodynamics-2007*, Wang Rubin, Gu



Fanji, Shen Enhua, editors, pp71-75  
Springer, Netherlands

Society for Neuroscience (Neuroscience  
2008) Washington DC Nov. 2008

<学会発表>

1. Tanifuji M, "Object representation in IT cortex at a columnar level - Comparison between columnar and single cell level representation" Cosyne 2008 Workshop: What can functional imaging tell us about population coding in sensory systems?: Bridging computation, single neurons and imaging. Utah March 2008
2. Ichinohe N, Sato T, Kurotani T, Tanifuji M, Rockland K, "In vivo imaging of connections in the monkey temporal cortex" 38th Annual Meeting of Society for Neuroscience USA Washington DC Nov. 2008
3. Borra E, Ichinohe N, Sato T, Tanifuji M, Rockland K, "Convergence and divergence of cortical connections to monkey area TE, visualized by small injections of multiple retrograde tracers" 38th Annual Meeting of Society for Neuroscience USA Washington DC Nov. 2008
4. Niimi R, Tanifuji M, "When does the visual attention shrink toward object?" 16th annual meeting of OPAM USA Chicago Nov. 2008
5. Sato T, Uchida G, Tanifuji M, "Reexamination of columnar organizations in inferotemporal cortex of macaque monkeys" 38th Annual Meeting of Society for Neuroscience (Neuroscience 2008) Washington DC Nov. 2008
6. Tanifuji M, "Object representation at a columnar level in macaque IT cortex: Evidence from combination studies of optical imaging and extracellular recording" 38th Annual Meeting of Society for Neuroscience (Neuroscience 2008) Washington DC Nov. 2008
7. Vidal-Naquet M, Ullman S, Tanifuji M, "Extracting MAX-pooling receptive fields with natural image fragments" COSYNE 2009 Salt lake City Feb. 2009
8. 一戸 紀孝, 佐藤 多加之, 谷藤 学, Rockland Kathleen S. "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 由布 3月 2008
9. 一戸 紀孝, 佐藤 多加之, 黒谷 亨, 谷藤 学, Rockland Kathleen S., "In vivo imaging of connections in the monkey cerebral cortex" 第 31 回日本神経科学大会 (Neuroscience 2008) 東京 7月 2008
10. 林 隆介, 谷藤 学, "眼球運動を手がかりとした図地反転タイミングの推定" 日本視覚学会 2008 年夏季大会 東京 8月 2008
11. Rajagopalan Uma Maheswari, 渡邊 秀行, 五十嵐 啓, 谷藤 学, "機能的 OCT による脳機能計測" 第 69 回応用物理学会



学術講演会 春日井市 9月 2008

12. 谷藤 学, "視覚連合野における物体像の表現と物体像の視点に依存しない認識のメカニズム" 第 56 回日本臨床視覚電気生理学会, 第 44 回日本眼光学学会総会 東京 9月 2008
13. 谷藤 学, " Object representation in IT cortex at a columnar level" 第 31 回日本神経科学大会 (Neuroscience 2008) 東京 7月 2008
14. Vidal-Naquet Michel, 宮川 尚久, Ullman Shimon, 谷藤学, "Complex Receptive Fields Modeled with a combination of Multiscale, Fixed Resolution Features." 第 31 回日本神経科学大会 (Neuroscience 2008) 東京 7月 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。本年度は、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開始し、小さな家系における調査では知り得なかった本疾患のさまざまな特徴を捕らえることができた。

### 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することにより、家系内の罹患者および健康者を明確に鑑別し、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およびその家系内のその他の罹患者および健康者について調査を行う。本年度は、一般的な眼科検査として、視力、視野、眼底検査、蛍光眼底造影を行い、また電気生理学的検査として、全視野ERG、黄斑部局所ERG、あるいは多局所ERGを施行した。

#### （倫理面への配慮）

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

単一家系における、10名の罹患者（年齢17—81歳。男性5名、女性5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、黄斑部局所ERGについては振幅の低下もしくは反応消失を認め、多局所ERGについては中心部においてのみ振幅の低下を認めた。初発年齢は6から50才と幅広く分布し、最終診察時までの罹患期間は6から62年間であった。特筆すべきは、発症後60年以上経過した患者の眼底所見が現時点でも正常であったこと。また、父と息子が発症している女性を検査したところ、自覚症状がなく視力が正常であるにもかかわらず、局所ERGで異常がみられ、オカルト黄斑症患者の可能性が疑われたことである。

#### D. 考察

本家系における調査によって、以下の重要な知見が得られた。

- 1) 同一家系の中にオカルト黄斑症を早く発症する人から遅く発症する人まで混在していること。
- 2) 同一家系内に視力が正常である患者がいることが再確認され、これからの遺伝子検索に極めて留意すべき事実であることが分かったこと。
- 3) 過去の各症例報告にあるように本疾患においては罹患後にそれほど視機能が障害されないことが、大家系で再確認されたこと。
- 4) 年齢が長じても、眼底に検眼鏡的变化が出ないことが、再確認されたこと。
- 5) 年齢が長じても全視野ERGは保存されることが、再確認されたこと。
- 6) 過去の数例の家系分析では、必ずしも優性という証拠はなかったが、今回の家系調査で、オカルト黄斑症の遺伝形式が常染色体優性であることがはっきりしたこと。

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している患者が存在して

おり、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開始し、これまでに明確でなかった本疾患の特徴を明らかにすることができた。

#### F. 健康危険情報

特になし

#### G. 研究発表

論文発表

1. Kondo M, Ueno S, Piao CH, Miyake Y, Terasaki H: Comparison of focal macular cone ERGs in complete-type congenital stationary night blindness and APB-treated monkeys. *Vision Res* 48: 273-280, 2008
2. Marmor MF, Fulton A, Holder GE, Miyake Y (Chair), Brigell M, Bach M (for the International Society for Clinical Electrophysiology of Vision). ISCEV Standard for clinical electroretinography (2008 update) *Doc Ophthalmol* in press.
3. 三宅養三: 小口病の100年. *日本の眼科* 79: 1235-1239, 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



## 黄斑局所網膜電図による黄斑機能の層別マッピングの試み

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

本研究で開発中の網膜内因性信号計測法(functional retinography:FRG)は、新しい黄斑機能のマッピング法である。その信号の由来や解釈に当たり既存のマッピング法との比較が必要であると考え、我々は黄斑局所網膜電図(fmERG)を記録し、この方法による層別の黄斑機能評価を行い、特に、神経節細胞機能を反映するとして近年注目を浴びている photopic negative response: PhNR についても、fmERG での記録及び評価が可能かどうかを探索した。

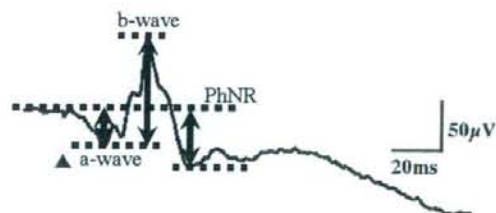
### A. 研究目的

本研究で開発を目的とする網膜内因性信号計測法(functional retinography: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、既存の網膜電図(electroretinogram:ERG)との比較を行ってきた。ERGによる黄斑部機能のマッピングはこれまで多局所網膜電図(multifocal ERG:mFERG)や黄斑部局所網膜電図(focal macular ERG:fmERG)などによって行われていて、特に前者は後極部半径約 25 度の範囲について、数十から百以上に分割された局所機能のマッピングに優れ、後者はスポットサイズを変えることにより半径約 1-20 度の範囲について全視野刺激 ERG に対応した層別の機能解析に優れている。近年、全視野刺激 ERG の 1 成分(photopic negative response: PhNR)が神経節細胞機能、すなわち網膜最内層の機能を反映することが注目を浴び、臨床応用が期待されている(図 1)が、これまで a 波、b 波および Op 波の解析により、網膜外層、内層などの評価に効力を発揮して

きた fmERG を用いて、この最内層成分の記録が可能かどうかを確認したいと考えた。

これらの背景から我々は、今回、カニクイザルの黄斑部から fmERG を記録し、正常眼での a,b,Op 波に加え、PhNR 成分の特性を調査した。

図 1 PhNR: photopic negative response



### B. 研究方法

対象はカニクイザルで、塩酸ケタミン (7 mg/kg)、キシラジン (0.6mg/kg)、酒石酸ブトルファノール (0.6mg/kg) を用いて全身麻酔を施行した。図 2 のごとく、細隙燈顕微鏡

によるコンタクトレンズを用いた眼底観察系に、LEDを用いた光による局所刺激装置を組み込んだ装置を用いた。円形刺激を用い 0~316 cd/mm<sup>2</sup>の範囲で26段階の強度を用いて、long-flash ERGを記録した。背景光は白色、3.5 cd/m<sup>2</sup>で、刺激には円形の白色光を、強度10cd/m<sup>2</sup>で黄斑 20° に投影するよう設定し、持続時間は ON 100 msec および OFF 110 msec とした。

図2 記録時の様子



### C. 研究結果

代表的な波形を図3に示す。刺激強度と振幅の関係をプロットしたものを図4,5に示す。a波, b波, PhNR, d波, Op波のいずれも、刺激強度が増加すると、振幅は増加した。また、刺激強度と潜時の関係をプロットしたものを図6に示す。潜時は、a波, b波, PhNR, d波はほぼ一定であったが、PhNRでは刺激強度が50~178cd/m<sup>2</sup>の間は一定で、これより弱くても強くても短縮した。

図3 代表的な波形、bandpass filterの調整により、上段はa,b,d,PhNRを、下段はOp波を記録したものの。

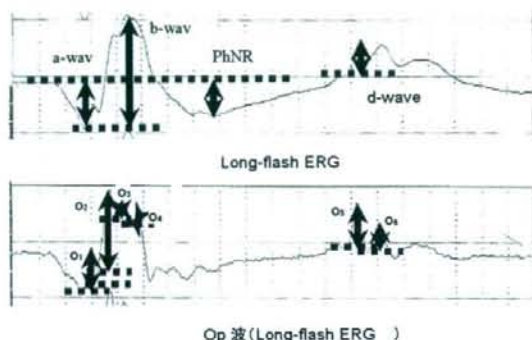


図4 刺激強度—振幅のプロット (a,b,d波とPhNR)

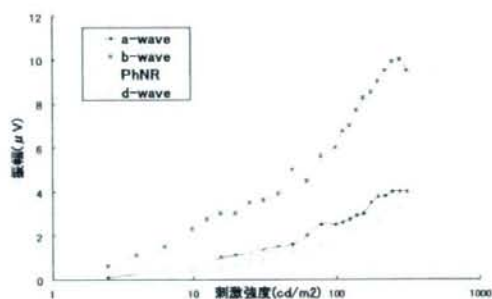


図5 刺激強度—振幅のプロット (Op波)

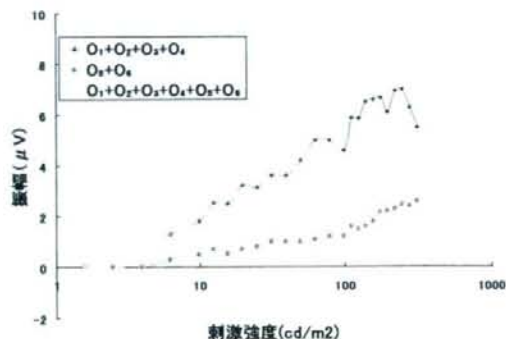
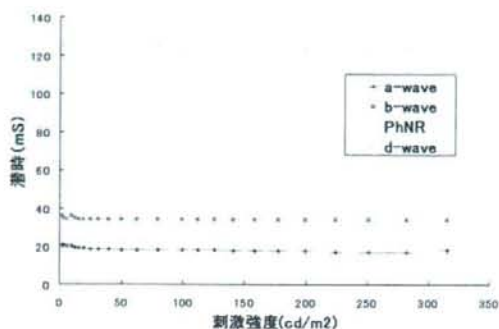




図6 刺激強度—潜時のプロット



#### D. 考察

現在広く行われているERGによる黄斑部機能のマッピング法として、mfERGは黄斑部を数十から百以上に分割しその各部位での局所反応をマッピングすることが可能であるが、いわゆる標準的なERGの波形と全く同じものではないため、層別機能評価という観点からはその解釈に議論がある。一方、fmERGは、全視野刺激ERGに対応した層別の機能解析に優れているものの、同時に多数カ所の局所機能の記録をすることにはむいていない。

今回の検討では、サル眼からfmERGを記録することが出来、fmERGにおいても全視野網膜刺激による標準的なERGと同様に、層別の機能評価が可能であること、特に、近年神経節細胞層の機能評価への可能性が期待されているPhNRにおいても黄斑局所機能が評価できる可能性が示された。

今後は現在のスポット刺激を修飾することで刺激範囲を上半分、下半分、ないし耳側半分、鼻側半分などに変化させ、黄斑部局所別の層別機能の評価を行い、各波形成分の、すなわち各層別の機能の正常眼黄斑部のマッピングを行う予定である。さらには、これらをFRGと比較することや、黄斑機能を損なうような種々の疾患眼での評価など、臨床への応用の可能性を探っていく予定である。

#### E. 結論

黄斑機能のマッピングにおいて層別の評価まで可能かどうかを調べるため、標準的な全視野刺激 ERG で近年確立された、a,b,d,Op波などの各波形成分、そして更に近年確立されつつあるPhNR成分について、fmERGでの記録が可能かどうかを調べたところ、いずれの成分も機能評価の指標として利用可能であると考えられた。今後は、さらに黄斑部の分割された局所毎の波形特性を調べる、またFRGとの比較を行う予定である。

#### F. 健康危険情報

特になし。

#### G. 研究発表

論文発表

1. Tatar O, Shinoda K, Kaiserling E, Pertile G, Eckardt C, Mohr A, Yocruet E, Szurman P, Bartz-Schmidt KU, Grisanti S. Early effects of triamcinolone on vascular endothelial growth factor and endostatin in human choroidal neovascularization. *Arch Ophthalmol*. 2008 Feb; 126(2):193-9.
2. Ideta S, Noda M, Kawamura R, Shinoda K, Inoue M, Tsubota K. Ptoisis after sub-Tenon's capsule triamcinolone. *Ophthalmology*. 2008 Feb;115(2):410-410.e1.
3. 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*. 2008 Mar;28(3):493-7.
4. Sugisaka E, Shinoda K, Sano RY, Ishida S, Imamura Y, Ozawa Y, Shinoda H, Suzuki K, Tsubota K, Inoue M. Mechanism of Patients' Visual Sensations during Pars