

200930004A

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 21 年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 角田 和繁

平成 22 年 (2010) 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 21 年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 角田 和繁

平成 22 年（2010）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. フーリエドメイン光干渉断層計による暗順応に伴う網膜微細形態変化検出の試み

篠田 啓

3. 網膜内因性信号計測装置性能向上のための設計開発

柴田 尚久

## 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

研究代表者 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目指した。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。

### 研究分担者氏名・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
篠田啓	帝京大学医学部眼科学講座 准教授
柴田尚久	株式会社ニデック 医療機器開発部 先端技術開発課 技師

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。

### 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

### B. 研究方法

#### ① 黄斑部局所ERG（担当：角田、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、フリードメイン OCT 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。

## 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。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 装置を用い、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 FC9 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。これまでの方法とはことなり、「snapshot imaging」による記録を行ったため、頭蓋骨の固定のためにバイトバーは用いる必要がなくなった。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。また、眼球運動によるノイズを定量化するために、正常被験者にも記録をおこなった。

（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 単一家系における、12名の罹患者（年齢17-83歳。男性6名、女性6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。以上から、患者では発症初期から黄斑部局所ERGの振幅が低下しており、これが本疾患の最も正確な診断情報である等の事実が確認できた。

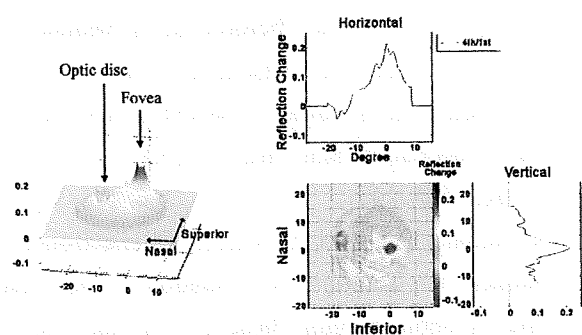
② 網膜内因性信号計測に関しては、本年度は以下の新たな知見がえられた。

1) 500 nm を用いた計測では、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。これらの計測の信頼性を高めるため、各個体での比較を行ったところ、いずれのサルでも同様の信号が得られた。

また、時間経過を詳細に分析することにより、ブリーチングにおける代謝産物である、メタ III のマッピングを行うことに初めて成功した。

2) 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。昨年は、590 nm の前照射によりM/L錐体の反応を抑制したが、S錐体のマッピングを得ることは成功しなかった。本年度は445 nm の波長を用いて微弱光による計測をおこない、中心小窩に欠損部をもつS錐体の特徴的なマッピングを行うことができた。

3) FC-9 を用いたヒトのブリーチング計測については、侵襲の少ない「Snapshot imaging 法」によって、特殊な頭部固定等を行わずに、多数の正常被験者から安定した黄斑部錐体のブリーチングをマップすることに成功した(図)。



Snapshot imaging of flash-induced photopigment bleaching in a normal human subject.

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20%程度の内因性信号が発生することが確認された。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進行中であり、健常ヒト被験者での計測の準備段階である。

#### 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。

本年度は、これまでのML錐体、杆体のマップに加えて、S錐体の特徴的なマップを描出することに成功した。また、時間経過を詳細に分析することにより、ブリーチングにおける代謝産物である、メタ III のマッピングを行うことに初めて成功した。

健康ヒト被験者に関しては、昨年度までの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。しかし、本年度から、記録時間が短く侵襲の少ない「Snapshot imaging 法」を完成することにより、これらの課題を克服することに成功した。現時点での、網膜機能的マッピングのための、もっとも実用化に近い方法と思われ、今後患者からの計測をすすめる予定である。

#### 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. 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

2. Tsunoda K, Hanazono G, Inomata K, Kazato Y, Suzuki W, Tanifuji M. Origins of retinal intrinsic signals: a series of experiments on retinas of macaque monkeys. *Jpn J Ophthalmol*. 2009 Jul; 53(4): 297-314. Epub 2009 Sep 8
3. Fujinami Kaoru, Akahori Masakazu, Fukui Masaki, Tsunoda Kazushige, Iwata Takeshi, Miyake Yozo. Stargardt Disease with Preserved Vision: identification of a novel mutation in ATP-binding cassette transporter gene. *Acta Ophthalmologica*. in press
4. Yoko Kazato, Naohisa Shibata, Gen Hanazono, Wataru Suzuki, Manabu Tanifuji, and Kazushige Tsunoda. Snapshot Imaging of Photoreceptor Bleaching in Macaque and Human Retinas. *Jpn J Ophthalmol*. in press
5. M. Tanifuji, T. Sato, G. Uchida, Y. Yamane and K. Tsunoda. How images of objects are represented in macaque inferotemporal cortex. *Anna W. Roe. Imaging the Brain with Optical Imaging*. Springer. New York. 93-117, 2009

##### 学会発表

1. 平成21年5月4日  
W. Suzuki, Y. Kazato, T. Nanjo, N. Shibata, K. Ito, T. Ueno, J. Nishiyama, M. Tanifuji, K. Tsunoda. Flash-evoked Inner and Outer Retinal Activity Revealed by Functional Optical Coherent Tomography (OCT) and Intrinsic Signal Imaging in Anesthetized Macaque. ARVO annual meeting 2009, Fort Lauderdale, Florida, USA
2. 平成21年5月4日  
Y. Kazato, G. Hanazono, W. Suzuki, M. Tanifuji, M. Yuzawa, K. Tsunoda. Topography of Rod, S-cone, and ML-cone Photoreceptors Bleaching in Posterior Pole of Macaques Measured by Modified Fundus Camera. ARVO annual meeting 2009, Fort Lauderdale, Florida, USA
3. 平成21年5月4日  
N. Shibata, T. Nanjo, Y. Kazato, G. Hanazono, W. Suzuki, M. Tanifuji, K. Tsunoda. Topographic Map of Photoreceptor Bleaching in Macaque and Human Retinas measured by Commercial Fundus



- Camera. ARVO annual meeting 2009, Fort Lauderdale, Florida, USA
4. 平成21年5月6日  
K. Fujinami, G. Hanazono, K. Tsunoda, K. Shinoda, Y. Miyake. A Case of Stargardt Disease with Localized Retinal Pigment Epithelium Hypertrophy at Fovea. ARVO annual meeting 2009, Fort Lauderdale, Florida, USA
  5. 平成21年5月5日  
Kazushige Tsunoda. Intrinsic signal imaging of the ocular fundus - Assessing neuronal activity of the retina by the stimulus-evoked light reflectance changes of infrared light -. Symposium, Multidisciplinary Ophthalmic Imaging Group: New Horizons in Optical Imaging, ARVO 2009, Fort Lauderdale, Florida, USA
  6. 平成 21 年 5 月 28 日  
鈴木航、伊藤晃一、西山潤平、楠城紹生、谷藤学、角田和繁. サル網膜における機能的 OCT 計測. 第 45 回日本眼科学学会総会. 東京
  7. 平成 21 年 7 月 10 日  
Kazushige Tsunoda, Tetsuhisa Hatase, Tomoaki Usui, Kaoru Fujinami, Gen Hanazono, Hisao Ohde, Kei Shinoda, Haruki Abe and Yozo Miyake. Clinical features of occult macular dystrophy in a large family in Japan. International Society for Clinical Electrophysiology of Vision (ISCEV), 47th Symposium, Padova, Italy
  8. 平成 21 年 7 月 9 日  
Y. Miyake, G. Hanazono, K. Tsunoda, K. Shinoda, K. Fujinami, M. Kondo. What we learn from unilateral retinal dystrophy?. International Society for Clinical Electrophysiology of Vision (ISCEV), 47th Symposium, Padova, Italy
  9. 平成 21 年 10 月 11 日  
角田和繁. インストラクションコース「光干渉断層計を用いたクリニカルスタディへのいざない」「網膜機能と OCT」. 第 63 回日本臨床眼科学会, 福岡
  10. 平成 21 年 10 月 19 日  
W. Suzuki, K. Ito, J. Nishiyama, T. Nanjo, G. Hanazono, M. Tanifuji, K. Tsunoda. Cross-sectional distribution of retinal intrinsic signals in the stimulated and non-stimulated regions revealed by functional optical coherence tomography (fOCT) in anesthetized macaques. Society for Neuroscience, 39<sup>th</sup> Annual Meeting Chicago, USA
  11. 平成 21 年 10 月 30 日  
福井正樹, 藤波芳, 篠田啓, 角田和繁, 三宅養三. 錐体機能不全を認める 2 症例の検討. 第 57 回日本臨床視覚電気生理学学会, 千葉
  12. 平成 21 年 10 月 30 日  
三宅養三, 花園元, 角田和繁, 藤波芳, 篠田啓, 近藤峰生, 松本惣一セルソ, 船田英明. 錐体 ERG の Photopic hill に関する一考察. 第 57 回日本臨床視覚電気生理学学会, 千葉
  13. 平成 21 年 10 月 30 日  
藤波芳, 赤堀正和, 福井正樹, 角田和繁, 岩田岳, 三宅養三. 視力・中心窩網膜機能が温存された Stargardt 病の一例. 第 57 回日本臨床視覚電気生理学学会, 千葉
  14. 平成 21 年 11 月 5 日  
Kazushige Tsunoda Invited lecture, Retinal Densitometry and Intrinsic Signal Imaging-Assessing Retinal Function by Stimulus-evoked Light Reflectance Changes-. 2009 Asia Communications and Photonics Conference and Exhibition (ACP). Everbright Convention and Exhibition Center in Shanghai, China
  15. 平成 21 年 11 月 6 日  
Wataru Suzuki, Manabu Tanifuji, R. Uma Maheswari, Kazushige Tsunoda Invited lecture, Depth Resolved Imaging of Neural Activity by Optical Coherence Tomography (OCT). 2009 Asia Communications and Photonics Conference and Exhibition (ACP). Everbright Convention and Exhibition Center in Shanghai, China
  16. 平成 21 年 11 月 25 日  
角田和繁, 鈴木航, 伊藤晃一, 西山潤平, 楠城紹生, 谷藤学. シンポジウム「光コヒーレンストモグラフィの医学応用の新展開」「機能的 OCT による網膜の神経機能評価」. 応用物理学会分科会 日本光学会, OPJ Japan, 新潟
  17. 平成 21 年 12 月 17 日  
角田和繁. 眼底が正常な網膜疾患 -オカルト

黄斑症およびAZOOR- 城南眼科集談会, 東京

18. 平成 22 年 2 月 5 日

角田和繁. オカルト黄斑症 一眼底の正常な網膜ジストロフィー、その特徴と診断のポイント. 群馬県眼科医会学術講演会

## H. 知的財産権の出願・登録状況

### 1. 特許取得

なし

### 1. 実用新案登録

なし

### 2. 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

研究分担者 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、可視光を用いてこれまでの差分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。

本年度は、M/L錐体、杆体細胞に加え、445の波長を用いて微弱光による計測をおこない、中心小窩に欠損部をもつS錐体の特徴的なマッピングを行うことができた。

### 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。これらの計測の信頼性を高めるため、各個体での比較を行ったところ、いずれのサルでも同様の信号が得られた。

また、時間経過を詳細に分析することにより、ブリーチングにおける代謝産物である、メタ III のマッピングを行う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。昨年は、590 nmの前照射によりM/L錐体の反応を抑制したが、S錐体のマッピングを得ることは成功しなかった。本年度は445nmの波長を用いて微弱光による計測をおこない、中心小

窩に欠損部をもつS錐体の特徴的なマッピングを行うことができた。

#### 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。また、S錐体、ML錐体、および杆体と各視細胞の分布を簡便に分離マップするための記録法を確立することができた。

#### 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30度までの、杆体細胞、S錐体、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. Sato T, Uchida G, Tanifuji M, (2009) "Cortical columnar organization is reconsidered in inferior temporal cortex"

Cerebral Cortex 19 1870-1888

##### <学会発表>

1. Tanifuji M, "Functional structures and object image representation in inferior temporal (IT) cortex of macaque monkeys" 8th IEEE International Conference on Development and Learning Shanghai 6 2009
2. Hayashi R, Tanifuji M, "Reading out the perceptual status during binocular rivalry using eye movement responses: application of the quadrature motion display" 32nd European Conference on Visual Perception (ECVP2009) Regensburg 8 2009
3. Igarashi K, Yamaguchi Y, An M, Ieki N, Nagayama S, Kobayakawa K, Kobayakawa R, Tanifuji M, Sakano H, Chen W, Mori K, "Segregation of olfactory information into mitral- and tufted-cell streams in olfactory cortex" 39th Annual Meeting of the Society for Neuroscience (Neuroscience 2009) Chicago 10 2009
4. Katsumata N, Tanifuji M, "Parallel and serial processes of attention during natural object search tasks optical coherence tomography (fOCT) in anesthetized macaques" 39th Annual Meeting of the Society for Neuroscience (Neuroscience 2009) Chicago 10 2009
5. Hayashi R, Miyakawa N, Tanifuji M, "Object-selective spike activities simultaneously recorded from multiple neurons in the inferior temporal cortex using a floating microelectrode array macaques" 39th Annual Meeting of the Society for Neuroscience (Neuroscience 2009) Chicago 10 2009
6. Sato T, Uchida G, Lescroart M, Tanifuji M, "Hierarchical organization of functional structures in inferotemporal cortex array macaques" 39th Annual Meeting of the

- Society for Neuroscience (Neuroscience 2009) Chicago 10 2009
7. 林 隆介, 宮川 尚久, 谷藤 学, "浮動型微小電極アレイを用いた下側頭葉ニューロン活動の多細胞同時記録" 第 32 回日本神経科学大会 名古屋 9 2009
  8. 林 隆介, 佐藤 多加之, 谷藤 学, "埋め込み型多電極アレイから得られた神経活動に基づく物体像情報の解読" 第 14 回日本バーチャルリアリティ学会大会 東京 9 2009
  9. 林 隆介, 宮川 尚久, 佐藤 多加之, 谷藤 学, "アレイ型電極を用いた側頭葉ニューロンの同時活動記録—現状と展望" 日本視覚学会 2009 年夏季大会 京都 7 2009
  10. 佐藤 多加之, 内田 豪, Lescroart Mark, 谷藤 学, "下側頭葉皮質における階層的な機能構造" 第 32 回日本神経科学大会 名古屋 9 2009
  11. 宮川 尚久, 谷藤 学, "サル下側頭葉顔選択性領域のポピュレーション活動による顔アイデンティティのデコーディング" 第 32 回日本神経科学大会 名古屋 9 2009
  12. 五十嵐 啓, 家城 直, 山口 幸恵, 安 明浩, 永山 晋, 小早川 高, 小早川 怜子, 谷藤 学, 坂野 仁, Chen Wei, 森 憲作, "単一神経細胞の軸索可視化によって明らかになった嗅球—嗅皮質間の並列回路" 第 32 回日本神経科学大会 名古屋 9 2009
  13. 谷藤 学, "視覚的に捉えた物体像の脳内表現" 日本神経回路学会 オータムスクール ASCONE2009 「脳科学への数理的アプローチ」 諏訪湖 10 2009
  14. 佐藤 多加之, 内田 豪, Lescroart M, 谷藤 学, "Hierarchical organization of functional structures in inferotemporal cortex" 第56回 NIBB CONFERENCE "Neocortical Organization" 岡崎 3 2010
  15. 谷藤 学, "Hierarchically organized 'functional structures' in monkey inferior temporal cortex" 第 56 回 NIBB CONFERENCE "Neocortical Organization" 岡崎 3 2010

#### 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

フーリエドメイン光干渉断層計による暗順応に伴う網膜微細形態変化検出の試み

研究分担者 篠田啓  
帝京大学医学部 眼科学講座 准教授

研究要旨

近年黄斑疾患に対する診療の進歩やイメージング技術の著しい進歩に伴って、種々の黄斑疾患の形態の詳細が *in vivo* で検出でき、他の検査所見とあわせることで病態をより深く理解出来るようになってきた。本研究で開発中の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際し、この進歩しつつある形態評価の技術と組み合わせて機能を評価できないかという観点から、機能変化をイメージングで捕らえられるかどうかを探索した。

A. 研究目的

近年黄斑疾患に対する診療の進歩は著しく、治療に関しては中でも種々の黄斑疾患を手術ないし分子を標的とした薬剤による治療が急速に普及している。診断や評価に関してもイメージング技術の著しい進歩に伴い、光干渉断層計 (optical coherence tomography:以下 OCT) を用いることにより、種々の黄斑疾患の形態の詳細が数秒ないしそれ以下の時間単位で *in vivo* で検出できるようになった。この検査所見を従来の眼底写真、眼底造影検査、網膜電図、などと組み合わせて解釈することや、さらには治療前後の変化を見ることで、病態をより深く理解出来るようになってきた。我々は、3D-OCT を用いて旧来種々の検査所見から桿体機能すなわち暗順応が著しい遅延をきたす小口病という疾患患者について、この機能障害がイメージングで検出できないかどうかを調べた。

B. 研究方法

図1に示した3D-OCT撮影装置を用いて対象患者の黄斑部形態の詳細を記録した。黄斑部横断面の正常所見を図2に示す。これを用いて小口病患者 (75歳、女性) に対し、4時間の暗順応前後に3D-OCTで黄斑部を撮影し、微小構造変化を解析した。本患者は検眼鏡的に本疾患に特徴的ないわゆるはげた金屏風様眼底反射を示し (図3)、全視野網膜電図でb波がa波の振幅よ

りも低く ( $b/a$  比  $< 1.0$ ) 典型的な陰性型を示した (図4)。この眼底反射は4時間の暗順応後に正常な色調となり (図3)、いわゆる水尾・中村現象を示した。

OCT撮影はフーリエドメイン OCT 撮影装置 (FD-OCT; Topcon, Tokyo, Japan) を用いた。黄斑部  $6.0 \times 6.0$  mm の範囲を  $4.0$  mm の深度でスキャンした。撮影にあたり、水平解像度  $11.7 \mu\text{m}$ 、垂直解像度  $46.9 \mu\text{m}$  で  $512 \times 128$  ピクセルのラスタで像を記録するデフォルトのプロトコールで行った。

図1 3D-OCTの撮影装置

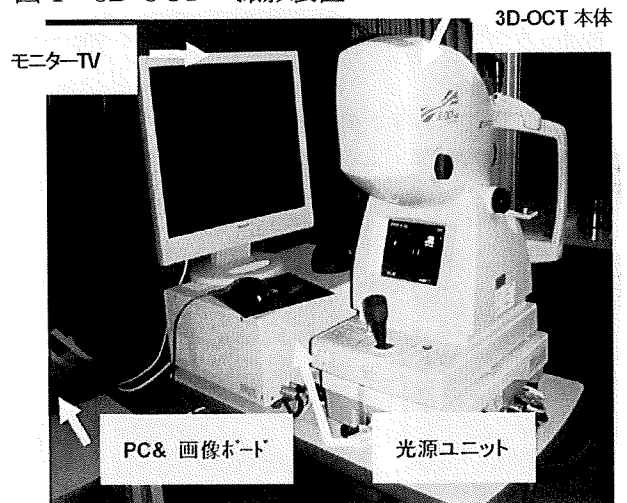
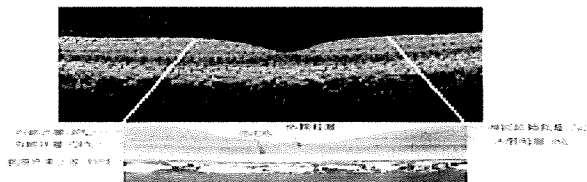


図2 3D-OCTによる黄斑横断面の正常所見



C. 研究結果

暗順応前後の眼底写真及び3D-OCTイメージを図3に示す。正常者では、網膜外層に認められる3本の高輝度のバンドは境界膜(external limiting membrane:ELM)、視細胞外節内節境界(photoreceptor inner segment outersegment boundary line: IS/OS line)、網膜色素上皮・ブルッフ膜混合帯(retinal pigment epithelium and Bruch's membrane : RPE/Bruch band)と解釈されている(図2)。この3本が、本患者の場合、傍黄斑部においては暗順応前には2本しか見られずこれはELMとRPE/Bruch bandと解釈された(図3のb, c2, d)。しかし、長時間暗順応の後にはRPE/Bruch bandの内層側に1本高輝度の帯が認められた(図3のf, g2, h)。この新たに出現した帯は、中心窩に見られる帯との連続性からIS/OS lineと考えられた。この暗順応後の帯の出現は水尾-中村現象と一致していた。

図3 4時間暗順応前後の眼底写真及び3D-OCTイメージ。

左：暗順応前、右：4時間暗順応後

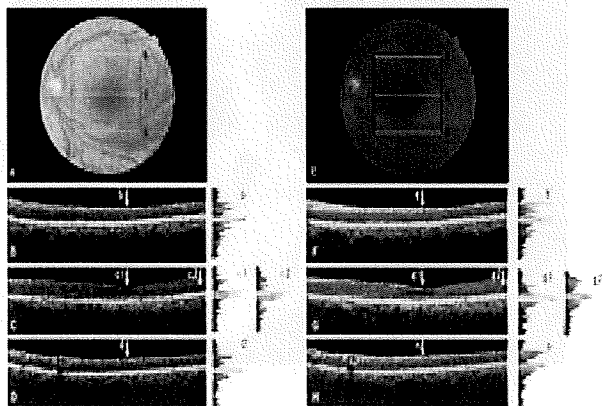
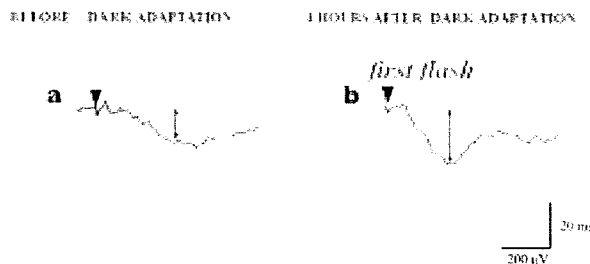


図4 4時間暗順応前後の全視野網膜電図 左：暗順応前、右：4時間暗順応後



D. 考察

暗順応前にはほぼ全ての桿体細胞は機能しておらず光感度閾値は上昇している点、傍黄斑部は桿体細胞密度が高い部位であるという点を考慮すると、暗順応前には傍黄斑部ではIS/OS lineが恐らくRPE/Bruch bandと一体化して不明瞭になっていたものと考えられる。そして、閾値が正常に近い値まで低下した長時間暗順応後にIS/OS lineが明瞭化したことから、IS/OS lineの明瞭化は桿体機能を反映しているとも解釈できる。また、黄斑部中心窩において暗順応前後においてIS/OS lineに明らかな変化が認められなかったことは、中心窩ではそもそも桿体細胞密度が極めて低く、網膜外層は、一般に本疾患においては正常とされている錐体によって構成されているということと関連があるものと考えられた。本検査所見はただ一例の所見に基づくもので、普遍的なものとして良いかどうかは他の症例などでの更なる解析が必要であるが、これまで明らかにされている小口病の病態と合わせて解釈を考えると非常に興味深い。さらには、黄斑部の微細形態をin vivoで捕らえられる技術が進歩することにより、あるポピュレーションの細胞の機能変化をイメージングで捕らえられる可能性を示唆する所見としても有意義な所見と考えられた。

E. 結論

網膜桿体細胞が暗順応前後で不応状態からほぼ正常の感度を持つ状態に変化することがわかってきた小口病において、この桿体機能の変化に伴った網膜断面像での視細胞層の微細構造の変化を捕らえることが出来た。更なるイメージング技術の進歩や他の評価法との組み合わせにより、

イメージング技術が機能評価に応用できる可能性を臨床症例で示すことが出来た。

## F. 健康危険情報

特になし。

## G. 研究発表

### 論文発表

1. Kurihara T, Ohde H, Inoue M, Ogata M, Shinoda K, Tsubota K. Bilateral acute functional disturbance in the retina following placental abruption. *Jpn J Ophthalmol* 2009 Nov;53(6):663-5.
2. Ideta S, Noda M, Kawamura R, Shinoda K, Suzuki K, Ishida S, Inoue M. Dehiscence of Levator Aponeurosis in Ptosis after Subtenon Injection of Triamcinolone Acetonide *Can J Ophthalmol* 2009 Dec; 44(6):668-672.
3. Kurihara T, Suzuki K, Noda K, Kawamura R, Nagai N, Shinoda H, Shinoda K, Tsubota K, Ishida S, Inoue M. New retractor capable of aspirating fluids during scleral buckling surgery. *Retina*. 2009 Nov-Dec; 29 (10): 1542-4. No abstract available.
4. Inoue M, Shinoda K, Hirakata A. Twenty-three Gauge Cannula System with Microvitrectomy Blade Trocar. *Br J Ophthalmol*. 2009 Oct 14. [Epub ahead of print]
5. Yamada K, Motomura Y, Matsumoto CS, Shinoda K, Nakatsuka K. Optical Coherence Tomographic Evaluation of Outer Retinal Architecture in Oguchi Disease. *Jp J Ophthalmol* 2009 Sep;53(5):449-51. Epub 2009 Oct 22.
6. 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 Plana Vitrectomy under Retrobulbar Anesthesia. *Ophthalmologica* 2009 Sep 1;224(2):103-108. [Epub ahead of print]
7. Matsumoto CS, Shinoda K, Yamada K, Nakatsuka K. The photopic negative response reflects the

severity of circulation damage in central retinal arterial occlusion. *Ophthalmologica*. 2009 Jul 8; 223 (6): 362- 369.

8. Tatar O, Adam A, Shinoda K, Kaiserling E, Boeyden V, Claes C, Eckardt C, Eckert T, Pertile G, Scharioth GB, Yoeruek E, Szurman P, Bartz-Schmidt KU, Grisanti S. Early effects of intravitreal triamcinolone acetonide on inflammation and proliferation in human choroidal neovascularization. *Arch Ophthalmol*. 2009 Mar;127(3):275-81.
9. Tatar O, Shinoda K, Kaiserling E, Claes C, Eckardt C, Eckert T, Boeyden V, Yoeruek E, Szurman P, Bartz-Schmidt KU, Grisanti S. Implications of bevacizumab on VEGF and endostatin in human choroidal neovascularization. *Br J Ophthalmol*. 2009 Feb;93(2):159-65.
10. Yamada K, Matsumoto CS, Kimoto K, Tanimoto N, Shinoda K, Nakatsuka K. Functional and Morphological Evaluation of Purtscher's Retinopathy. *Retinal Cases & Brief Reports*. In press

### 学会発表

1. 木許賢一、山田喜三郎、河野博文、篠田啓、中塚和夫. 中心性漿液性網脈絡膜症に対する光線力学的療法後の視力予後因子の検討. 第113回日本眼科学会 2009.4.東京
2. 山田喜三郎、木許賢一、河野博文、篠田啓、中塚和夫. ポリープ状脈絡膜血管症に対する光線力学的療法の1年成績. 第113回日本眼科学会 2009.4.東京
3. 調枝聡治、木許賢一、篠田啓、中塚和夫、高木康宏. 黄斑円孔術後に生じる黄斑耳側網膜の菲薄化. 第113回日本眼科学会 2009.4.東京
4. 岸大地、調枝聡治、篠田啓、中塚和夫. 高齢者の朝顔症候群に伴う網膜剥離の1例. 第79回九州眼科学会 2009.5.29-31 福岡
5. 松本惣一セルソ、篠田啓、山田喜三郎、本村由香、中塚和夫. 光干渉断層計による小口病の網膜外層評価. 第57回 日本臨床視覚電気

生理学会. 2009.10 千葉.

6. 三宅養三、花園元、角田和繁、藤波芳、篠田啓、松本惣一セルソ、船田英明. 錐体 ERG の Photopic hill に関する一考察. 第 57 回 日本臨床視覚電気生理学会. 2009.10 千葉.
7. 福井正樹、藤波芳、篠田啓、角田和繁、三宅養三. 錐体機能不全を認める 2 症例の検討. 第 57 回 日本臨床視覚電気生理学会. 2009.10 千葉.
8. 篠田啓 硝子体手術における抗 VEGF 療法の意義. シンポジウム「血管新生緑内障の治療戦略」第 63 回 日本臨床眼科学会 2009.10 福岡
9. 山田喜三郎、木許賢一、河野博文、篠田啓. 2 型脈絡膜新生血管を伴うポリープ状脈絡膜血管症に対する Bevacizumab 併用 PDT. 第 63 回 日本臨床眼科学会 2009.10 福岡
10. 木許賢一、高山徹也、河野博文、篠田啓. Bevacizumab 硝子体注入後の増殖糖尿病網膜症の繊維血管膜の組織学的変化. 第 63 回 日本臨床眼科学会 2009.10 福岡
11. 池脇淳子、調枝聡治、本村由香、河野博文、篠田啓. 診断が困難であった眼・中枢神経悪性リンパ腫の 1 例. 第 63 回 日本臨床眼科学会 2009.10 福岡
12. 横山勝彦、木許賢一、調枝聡治、篠田啓. 硝子体手術後に発症した黄斑円孔が自然閉鎖しその後黄斑前膜の形成が見られた 1 例. 第 63 回 日本臨床眼科学会 2009.10 福岡
13. 河野博文、木許賢一、山田喜三郎、伊東真知子、池脇淳子、篠田啓. ステロイド誘発性の中心性漿液性網脈絡膜症に対して光線力学的療法が有効であった 1 例. 第 63 回 日本臨床眼科学会 2009.10 福岡

#### 講演

篠田啓. 本邦でのアバスチン使用の現状. 帝京大学千葉市原総合センター眼科カンファレンス, 千葉, 2009.12.18.

#### 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

## 網膜内因性信号計測装置性能向上のための設計開発

研究分担者 柴田尚久  
株式会社ニデック 医療機器開発部先端技術開発課 技師

研究要旨：本研究は網膜に刺激を与え、その前後での網膜の変化を捉えることにより、非侵襲的に網膜の光に対する神経活動を他覚的且つ空間的に計測することを課題としている。

研究当初は被検者への負担が比較的軽いと言える近赤外光を観察光として用いた研究を中心に進めてきたが、この方法では得られる反応が弱く生理的にも信号起源が複雑という問題点があった。そこで一昨年度より可視光を用いた比較的反応も大きく信号起源も分かりやすい視細胞の退色反応の研究まで視野を広げて研究を行っている。

今年度の成果としてはサルとヒトで以下のことが挙げられる。動物眼(サル)のフルブリーチングの時間変化を計測することに成功し、また空間分布や各錐体細胞を選択的に調査することにも成功した。一方、ヒトの研究では正常眼に於いて、視細胞の空間的な反応を比較的安定的に捉えることに成功した。しかし被検眼の固視の状態や網膜色素の違い、そのほかにも内境界膜の反射の影響などがあり、定量的に網膜色素の変化を求めるにはこれらをいかに除去して計測するかが今後の課題と言える。

### A. 研究目的

近年、網膜の形態観察をする診断機器は飛躍的に進歩し、3次元的に各細胞層を観察できるようになってきた。これと対照的に、網膜の機能を診断する装置としては自覚的な視力計・視野計の他には、客観的な方法としては電気生理を応用した網膜電図(ERG)しかなく、網膜の機能を空間的に計測するには必ずしも十分とは言えない。

角田らは最近の脳研究分野における光学計測法という神経活動を捕らえる技術を網膜に応用することを提案し、眼底カメラの利用でその可能性を見出すことに成功した。そこで理化学研究所、国立東京医療センター、ニデック社の三者を中心とした研究チームで、全く新しい客観的な網膜機能計測手段の確立を目指すとした。

以上の概要については、当初から同様であり変更はない。

被検者への負担が比較的軽いと言える近赤外光を観察光として用いた計測が理想ではあるが、この方法では得られる反応が弱く、生理的にも信号起源が複雑という問題点があった。そこで比較的反応も大きく信号起源も分かりやすい可視光を用いた退色反応の研究を重点的に行った。

### B. 研究方法

弊社としては以下の項目（内容）に関わり、主として研究装置開発及び逐次の改良を施すことで研究協力、バックアップを実施する。

#### 1. 近赤外光を用いた内因性信号の計測実験

引き続き従来の内因性信号を計測する実験を行った。

弊社眼底カメラ NM-1000 を改造した装置を用いて、観察光側に IR フィルタ( $\lambda=800\sim 900\text{nm}$ )を挿入して、光刺激前後の動物眼

(麻酔下のサル)の網膜画像の変化を捉えた。

この研究は昨年度に引き続き行われており、装置については主に保守と若干の改良を行った。

#### 2. 連続可視光を用いたブリーチング実験

弊社眼底カメラ NM-1000 を改造した装置を用いて、刺激兼観察光側に可視の単色フィルタを挿入して、動物眼(麻酔下のサル)の網膜画像の変化を捉えた。

今年度はフルブリーチング反応の計測を進めるにあたり、長時間レコーディングや照明光の均一化等の改造を主に行った。

### 3. 可視のフラッシュ光を用いた ブリーチング実験

弊社眼底カメラ AFC-210 を用いて、眼底撮影を繰り返す方法でブリーチング反応の実験を行った。

実験は主にヒトについて行った。

実験を進めるにつれて、バイトバーがあまり有効でないことや光量が不足している点も判明して、撮影方法を改善することにより健常者での網膜色素の変化を空間的にマッピングすることが出来た。

また眼の光刺激による動きを緩和させるために高速2枚撮りの開発も検討した。

#### (倫理面での配慮)

動物およびヒトへ対する倫理的配慮については各研究施設の規定に従っている。

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

前記、研究方法の手順に従った進捗状況は以下のとおりである。

#### 1. 赤外光を用いた内因性信号の計測実験

内因性信号の信号機序について等の研究を角田らが報告している。

#### 2. 連続可視光を用いたブリーチング実験

フルブリーチングや視細胞の変化の空間分布、SML 錐体細胞の選択的な反応の観察などで成果を上げている。

これらの成果は角田らが報告している。

#### 3. 可視のフラッシュ光を用いた ブリーチング実験

去年は非常に限られた被検者しか結果を得られ

なかったが、固視が良好で睫毛がかからない眼であれば比較的再現性良く結果を得ることができるようになった。

しかし、内境界膜や網膜色素の個人差に大きく影響を受けるため、健常者でも結果に個人差が大きく現れることとなった。

今回の実験では市販品のカメラを用いて白色光で眼底を撮影した。そこでカメラの分光感度と網膜色素の比較することで今回得られた反応は主にM, L錐体細胞起因の反応を捉えたものであると推測出来る。

### D. 考察

サルを用いたフルブリーチングの実験では暗順応の状態の眼底に単色光を照射する

ことにより、ある値に収束する平衡曲線を得ることが出来た。加えて各網膜色素の吸収波長帯の違いを利用することで、各視細胞を分けて評価することに成功した。

この成果は今後のブリーチングの研究を進める上で重要なデータになると言える。

一方、ヒトの実験結果だが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ったと言える。固視が優れている被検眼では再現性のある結果が得られるものの、健常者間で違いがみられた。これは網膜の色素や内境界膜による反射光が網膜色素の退色変化に重畳するので、変化を”比”で求める手法ではどうしても影響を避けることが出来なかった。反応を”差”で求めることも可能ではあるが、課題が多く結果が出ていない。

ヒトのブリーチング反応を計測する上で眼の動きも大きなアーチファクトとなる。これの対策として昨年度に引き続き光に対する反射運動より短い時間(200msec)以内に2枚撮影することも検討した。一番の問題はストロボ光が等しい光量で2回発光しないという問題があり、ヒトでの実験まで進めることは出来なかった。結局構想のみで実用化はできなかったが、制御の難しいストロボ光ではなく、高輝度の白色LEDを用いて照射光量をモニタリングしながら照明する方法もある。